

GRUPO ESPAÑOL Y PORTUGUÉS DE LA ISFG  
GRUPO ESPAÑOL E PORTUGUÉS DA ISFG

C/Avda. Montevideo, 3 - 48002 Bñbao  
Tel. 34- 94- 427 85 27 – Fax 34- 94- 427 25 16  
E-mail: gobias01@sarenet.es

## VII Jornadas de Genética Forense Barcelona 4-7 Junio 2002

Organizado por:



Instituto de Toxicología  
Ministerio de Justicia

Instituto de Toxicología.  
Departamento de Barcelona  
Merced 1. 08002 BARCELONA  
[biolog@bcn.inaltox.es](mailto:biolog@bcn.inaltox.es)

**Boletín informativo nº 6**

**GEP-ISFG**

**Octubre 2002**

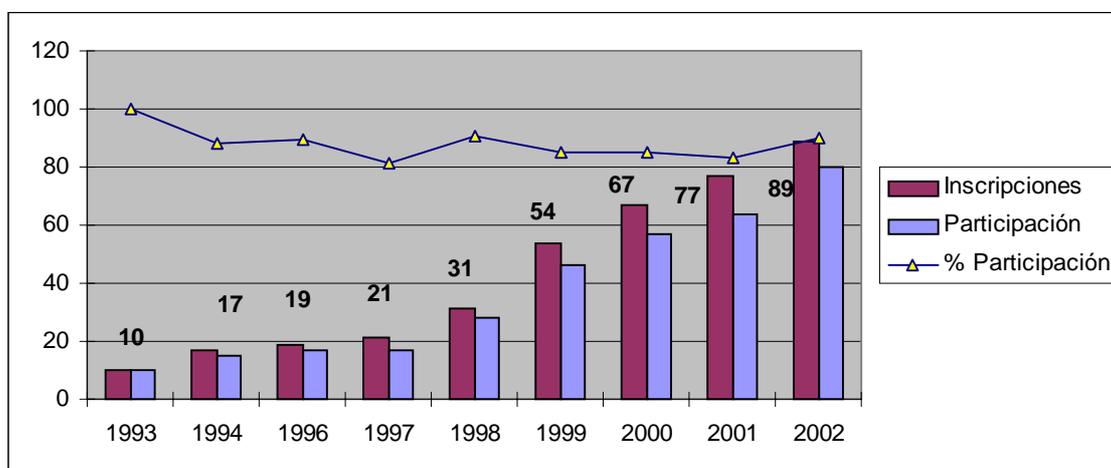
# INDICE

- 1. Resumen del Ejercicio de Polimorfismos de ADN del año 2002**  
Josefina Gómez – Unidad de Garantía de Calidad, Instituto de Toxicología, Madrid
- 2. Resultados STRs autosómicos**  
Oscar García – Area de Laboratorio Ertzaintza, Bilbao
- 3. Resultados Cromosoma Y**  
Leonor Gusmao, Antonio Amorim – IPATIMUP, Oporto
- 4. Resultados ADN mitocondrial**  
Lourdes Prieto, Marta Montesino - Laboratorio Biología – ADN Comisaría General de Policía Científica
- 5. Resultados muestra forense**  
Cristina Albarrán, Sección de Biología, Instituto de Toxicología, Madrid
- 6. Resultados paternidad práctica**  
Gloria Vallejo, Sección de Biología, Instituto de Toxicología, Madrid
- 7. Resultados paternidad teórica**  
Juan Antonio Luque, Sección de Biología, Instituto de Toxicología, Barcelona
- 8. Acta Asamblea General del GEP-ISFG**  
Ion Uriarte, Secretario del GEP-ISFG
- 9. Informe de Tesorería**  
Cristina Albarrán, Tesorera del GEP-ISFG

**EJERCICIO DE COLABORACIÓN PARA LA COMPARACIÓN DE  
RESULTADOS DE ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE ADN EN MANCHAS  
DE SANGRE Y OTROS INDICIOS BIOLÓGICOS**

**RESUMEN DEL EJERCICIO CORRESPONDIENTE AL AÑO 2002**

En el presente ejercicio se han enviado muestras a 89 laboratorios, de los que han remitido resultados 80 (90%). Esto indica que sigue aumentando la participación con una tendencia similar a la de los últimos años, habiéndose registrado en el último ejercicio un aumento del 66%.



Los laboratorios inscritos pertenecen a los siguientes países:

<b>Europa</b>	<b>35</b>
España	27
Portugal	7
Francia	1
<b>América</b>	<b>54</b>
Argentina	16
Colombia	13
Brasil	12
Uruguay	3
Venezuela	4
Cuba	1
Costa Rica	2
Ecuador	1
Perú	1
Paraguay	1
<b>TOTAL</b>	<b>89</b>

### Tipo de laboratorios

	<b>Privados</b>	<b>Públicos</b>
Europa	10	25
América	26	28
	36	53

36 de los laboratorios participantes son privados y 53 públicos, estando bastante equilibrado el número de integrantes de ambos tipos en Latinoamérica, mientras que en los países europeos predominan los laboratorios de carácter público.

En la encuesta realizada entre los participantes sobre el tipo de casuística, forense o estudio biológico de la paternidad, en la que habitualmente trabaja el laboratorio, contestaron 52 laboratorios (58%), de los que un 62% trabajan en casuística forense y todos menos 1 en paternidades.

### Muestras remitidas

En el presente ejercicio se remitieron 6 muestras: 4 muestras de sangre, para estudio práctico de paternidad, una muestra a identificar (M-5) y unos pelos (M-6), incluyéndose también, al igual que en años anteriores, un caso de paternidad teórica, siendo optativo el estudio de las dos últimas muestras.

**M-1:** sangre de madre biológica de M-2

**M-2:** sangre de hijo

**M-3:** sangre de presunto padre

**M-4:** sangre de presunto padre

### **OPTATIVO**

**M-5:** Muestra Forense

**M-6:** 2 pelos

Todas ellas (M1-M5) en una cantidad de 100 µl, en papel **FITZCO,INC de Life Technologies Bloodstain card**, (interesa subrayar que no se trata de papel FTA).

## **Planteamiento propuesto**

1. Investigación práctica de paternidad: Interesa conocer si alguno de los individuos de las muestras M-3 o M-4- pudieran ser el padre biológico del donante de Muestra M-2. No se duda de la maternidad (M-1).
2. Investigación teórica de la paternidad
3. Supuesto de investigación forense. Optativo

En el transcurso de la investigación por agresión sexual se ha encontrado una mancha y unos cabellos en los que interesa conocer:

- 3.1 Naturaleza y especie de la muestra M-5 (Forense).
- 3.2 Especificar si la muestra M-5 pudiera pertenecer a alguno de los donantes de las muestras M-1, M-2, M-3, M-4, o M-6
- 3.3 Investigar si los cabellos encontrados (M-6) pudieran pertenecer a alguno de los donantes de las muestras M-1, M-2, M-3, M-4 o M-5.

## **Antecedentes**

- Las muestras M-1 y M-2 pertenecen a madre e hijo.
- Las muestras M-3 y M-4 pertenecen a dos hermanos del padre biológico
- La muestra M-5 es espermatozoides de un individuo vasectomizado, no relacionado con los restantes donantes. (La sangre se analizó ya en ejercicios anteriores)
- La muestra M-6 son cabellos del mismo individuo de la muestra M-2.

## **Participación y estudios realizados**

- |  |          |
|--|----------|
| • Laboratorios inscritos                                     | 89       |
| • Laboratorios que emiten resultados                         | 80 (90%) |
| • Laboratorios que dan resultados ADN mitocondrial           | 23 (29%) |
| • Laboratorios que dan resultados para STR Y                 | 45 (56%) |
| • Laboratorios que dan resultados para paternidad            | 79 (99%) |
| • Laboratorios que dan resultados para muestra forense (M-5) | 42 (53%) |

	<b>Sistemas N° de Lab.</b>	
<b>VNTR</b>	7	1
<b>PCR</b>	100	80
<b>HLADQA1</b>	1	7
<b>PM</b>	5	7
<b>D1S80</b>	1	10
<b>STR-a</b>	72	80
<b>STR-Y</b>	21	45
<b>Total</b>	<b>107</b>	<b>80</b>

Los sistemas analizados han sido: 7 sistemas VNTR (YNH24, MS43, MS31, MS1, MS205, MS8, y G3) que han sido utilizados por un solo laboratorio, HLADQA1 (7 laboratorios), Polymarker (7 laboratorios), D1S80 (10 laboratorios), 21 sistemas STR-y (45 laboratorios) y 72 STR autosómicos, utilizados por todos los laboratorios. En total se han dado resultados para 107 sistemas.

## **Metodología**

### **Extracción**

	<b>N° lab.</b>	<b>%</b>
<b>Chelex solo</b>	13	16,5
<b>Chelex/Dpfc</b>	6	7,6
<b>Chelex/Cent o mic</b>	2	2,5
<b>Chelex/dpfc/cent o mic</b>	5	6,3
<b>Dig. Prot. Fenol/cloroformo</b>	14	17,7
<b>Dpfc/Cen.o mic.</b>	13	16,5
<b>FTA solo</b>	10	12,7
<b>FTA/dpfc/c o m</b>	3	3,8
<b>FTA/dpfc/c o m</b>	1	1,3
<b>Otros solo</b>	6	7,6
<b>Varios/Otros</b>	6	7,6
<b>Total</b>	<b>79</b>	

En cuanto a la metodología utilizada, en la **extracción**, el 54% de los laboratorios realiza extracción de ADN total y el 46% de ADN humano.

## Cuantificación

	Nº lab
Minigel	17
Quantiblot	7
Espetrofotometría	10
Fluorimetría	2
Dynaquan	3
Genequan	3
Minigel/Quant	5
Minigel/Espec.	2
Varios	4
<b>TOTAL</b>	<b>53</b>

El 74 % de los laboratorios **cuantifican** ADN total y el 26% humano.

## Sistemas analizados

Realizan estudios por PCR el 100 % de los laboratorios, mientras que tan solo 1 laboratorio da resultados para VNTR, lo que significa una disminución significativa frente a años anteriores y la práctica desaparición del uso de este tipo de sistemas en el grupo.



También la investigación de sistemas como HLADQA1 y PM sigue disminuyendo, dando resultados tan solo 7 laboratorios, lo que significa una disminución del 41% frente al anterior ejercicio.

Se realiza un estudio de la evolución de los sistemas analizados a lo largo de los últimos años, confirmándose esta tendencia, mientras que sube la incidencia de los STR-Y, y de algunos loci autosómicos de reciente aparición, como Penta D y Penta E.

Respecto al número de sistemas PCR analizados hay una gran variabilidad. Un laboratorio da resultados para 40 sistemas y tres para 9. Ocho laboratorios dan resultados para 14 sistemas.

Los STR mas utilizados son los de CODIS, siendo los mas utilizados HUMTH01, HUMVWA, D10S317, HUMTPOX, D7S820, HUMCSF1PO, D16S539 y amelogenina. De los 100 analizados han resultado consensuados 56 sistemas; 44 han sido estudiados por menos de tres laboratorios.

Se han remitido resultados para 21 STR y de ellos se han consensuado 18 sistemas. El más utilizado ha sido el DYS390 utilizado por 42 laboratorios, seguido por DYS19 analizado por 41 laboratorios. Se han consensuado nuevos sistemas GATA y un solo laboratorio ha dado resultados para DYS435, DYS 436 y DYS 462.

Hay un laboratorio que da resultados para 17 STR-Y, 3 que dan 16, y el mayor número de laboratorio (29) emiten resultados para entre 5 y 8 sistemas, mientras que 1 laboratorio da resultados para 1 solo sistema. Un estudio más exhaustivo, tanto de la participación como de las discrepancias observadas se les solicita a Antonio Amorim y Leonor Gusmao del Instituto de Patología e Inmunología Molecular de la Universidad de Oporto.

### **Metodología PCR**

Respecto a la metodología utilizada para PCR el 78 % de los sistemas se analizan por primers comerciales.

Hay 5 laboratorios que no utilizan ningún primer comercial. En el concepto de "otros" predominan los laboratorios que utilizan Identifiler, y AmpFISTR, además de los elaborados por el propio laboratorio.

La detección es automática en un 74% de los sistemas, siendo los mas usados ABI 310 (42%), ABI 377 (17%), ALF (10%), FMBIOII (3%) y ABI 3100 (2,5%). El nitrato de plata se ha usado en el 24% de los sistemas. Así utilizan secuenciador automático 56 laboratorios (70%), 28 de ellos utilizan ABI 310 y 3 el 3100.

<b>PRIMERS</b>	<b>SISTEMAS</b>	<b>%</b>
<b>Otros</b>	643	35,2
<b>Power Plex 16 (Promega)</b>	307	16,8
<b>Profiler Plus (AB)</b>	228	12,5
<b>Cofiler (AB)</b>	113	6,2
<b>FFV (Promega)</b>	73	4,0
<b>SGM Plus</b>	69	3,8
<b>CTT (Promega)</b>	64	3,5
<b>Silver STR (Promega)</b>	60	3,3
<b>Y-Plex Reliagene</b>	60	3,3
<b>Monoplex (Promega)</b>	49	2,7
<b>FFFL Promega</b>	36	2,0
<b>Ninguno</b>	29	1,6
<b>Lifescodes</b>	26	1,4
<b>Power Plex 2.1 (Promega)</b>	25	1,4
<b>CTTv Promega</b>	15	0,8
<b>Profiler (AB)</b>	11	0,6
<b>Amplify FLP D1S80 (AB)</b>	8	0,4
<b>Power Plex 1.1(Promega)</b>	8	0,4
<b>Green (AB)</b>	4	0,2
<b>SGM</b>	0	0,0
<b>Blue (AB)</b>	0	0,0
<b>STR Primer set ABI</b>	0	0,0
<b>Power Plex 1.2 (Promega)</b>	0	0,0
<b>SGM PLUS</b>	0	0,0

La mayor parte de los laboratorios utilizan ladder comerciales, pero aun hay algunos, que para algunos sistemas no utilizan ninguno, y son fundamentalmente en STR-Y.

También hay un gran número de sistemas en los que se utilizan ladderes secuenciados en el propio laboratorio o cedidos por otros. (35%)

### Sistemas consensuados.

Se han consensuado 56 sistemas, lo que hace de estas muestras un buen material de referencia, con gran número de sistemas consensuados en número muy superior al de otros ejercicios, debido fundamentalmente a la libertad de los participantes para enviar cualquier tipo de sistema que se analice en su laboratorio. De estos 56 sistemas 18 son STR-Y, D1S80, HLADQA1, los 5 incluidos en Polymarker y el resto STR autosómicos principalmente los incluidos en los kits comerciales.

### Discrepancias observadas

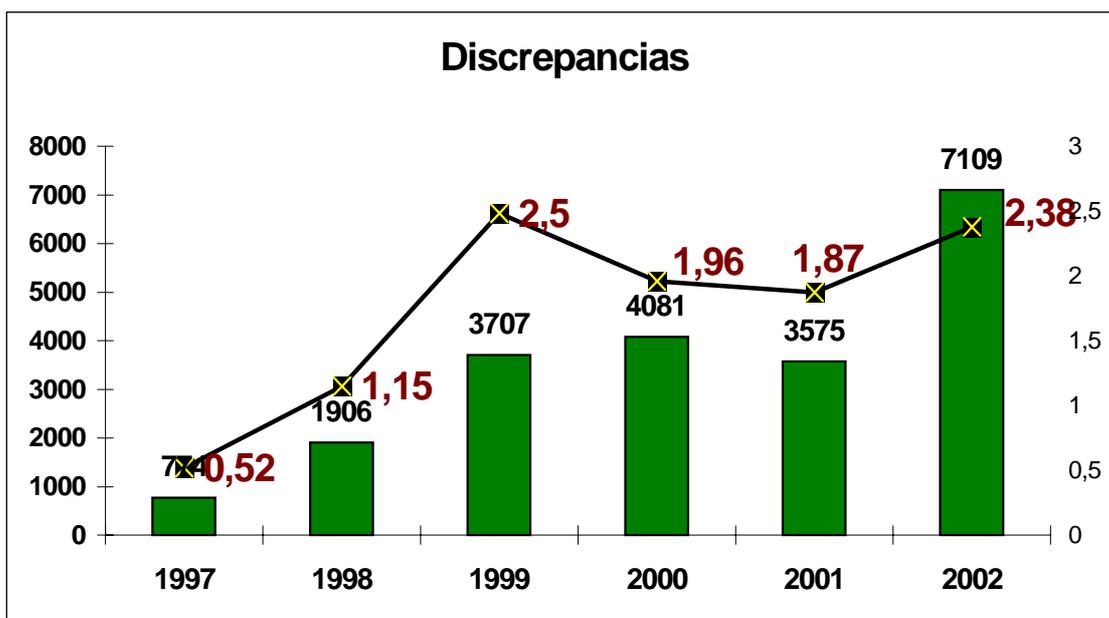
En el actual ejercicio se han detectado un alto número de resultados discrepantes, de manera que frente a 7109 determinaciones se han contabilizado 169 discrepancias, lo que supone un 2,4 % que distribuido son de 3,4% para STR Y y de un 2,1% para el resto de sistemas.



Analizados globalmente estas discrepancias se observa que hay 38 (47,5%) laboratorios que presentan alguna discrepancia, aumentando significativamente frente al 32,8% del pasado año.

Asimismo el porcentaje de discrepancias ha aumentado frente a años anteriores.

Hay discrepancias en 37 sistemas (67%). Todas estas cifras bajan si no se tienen en cuenta errores de los enviados para intercambio de resultados, los de transcripción o discrepancias por nomenclatura, bajando así del 2,4% al 2%, y de 38 a 33 laboratorios (41%).

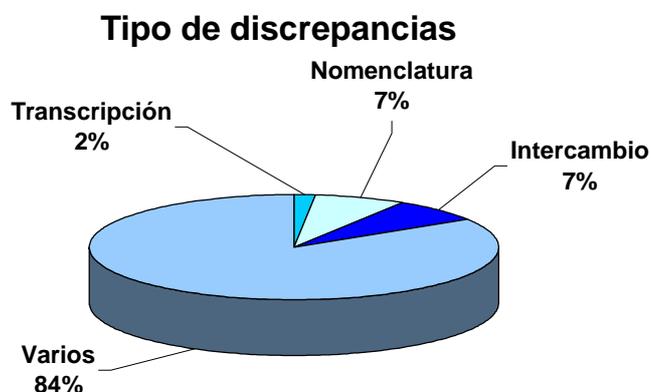


Sin embargo, la mayor parte de las discrepancias se concentran en unos pocos laboratorios, así el 51% de ellas se presentan en 9 laboratorios. Hay un laboratorio con discrepancias en 9 sistemas y 19 laboratorios con una sola discrepancia.

Por este alto porcentaje de discrepancias y por el posible beneficio que se puede obtener de un estudio detallado de los motivos que los ocasionan es por lo que se le pidió a Oscar García, del Área de Laboratorio Ertzaintza, que hiciese una presentación más detallada.

Entre las discrepancias observadas un 7% se dan entre laboratorios que envían los resultados para intercambio. Otro 2% son debidas a los errores de transcripción, unas veces justificada por los propios laboratorios y otras sospechada durante el estudio de los resultados.

Un 7% son debidos a la utilización de distinta nomenclatura y por último un 84 % son producidas por errores metodológicos, no utilización de ladders o utilización de ladders propios, etc.



El sistema que mayor número de discrepancias ha presentado ha sido HUMF13A01, seguido de D13S317, HUMFES, ACTBP2 (SE33), D18S51, D19S253 y D1S1656 y entre los STR-Y son DYS389 II y DYS390 los que mayor número de errores presentan. El porcentaje mas alto lo presenta el D19S253 con un 31% y el D1S1656 con un 23%.

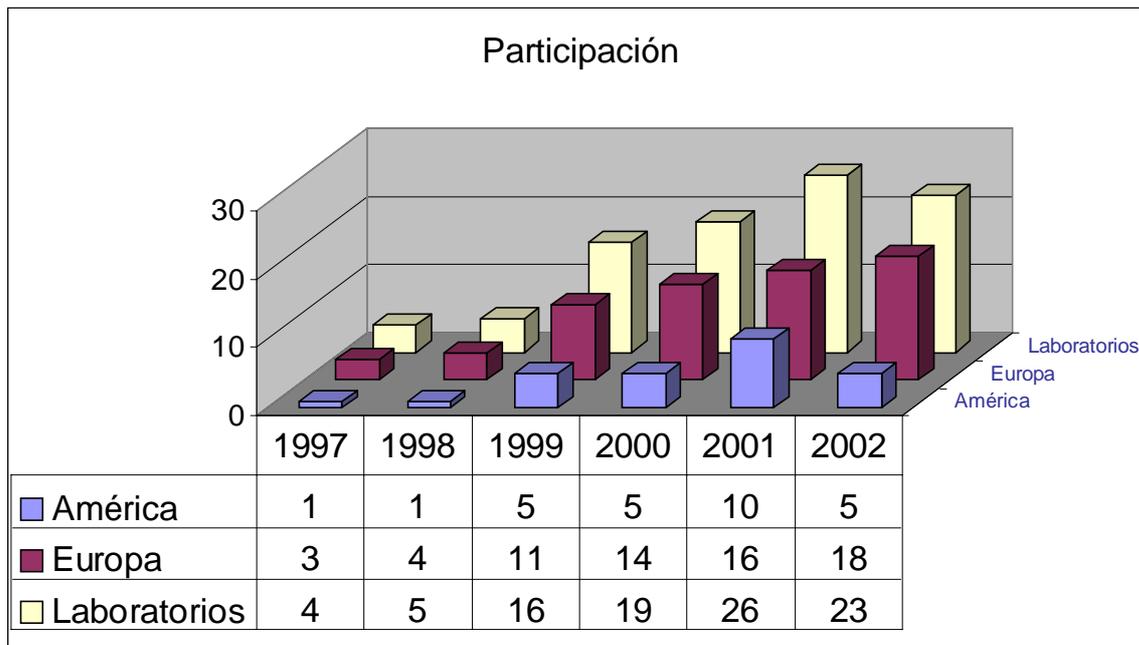
### **ADN Mitocondrial**

Participan 23 laboratorios, habiendo disminuido el número, respecto al pasado ejercicio, a pesar del aumento de número de participantes.

El mayor número de laboratorios pertenece a laboratorios europeos (especialmente españoles), habiendo muy poca participación en este campo de laboratorios de Latinoamérica.

Los primer utilizados son Wilson un 58% y Vigilant un 25% de los laboratorios. La purificación se hace con Microcón 100 (35%), Microspín (22%), Wizard (13%), Centricón (13%) y otros (17%).

El 76% de los laboratorios utilizan termocicladores PE y para la secuenciación utilizan ABI 310 el 44% de los laboratorios, ABI 377 el 36% y ABI 3100 el 20% de los laboratorios.



Para las muestras M-1 y M-2, sangre, dan resultados 23 laboratorios. En HVI hay resultados discrepantes en dos laboratorios, y en HVII otros dos. Emiten resultados iguales al consensuado en ambas regiones 20 laboratorios (87%).

Para las muestras M-3 y M-4, sangre, dan resultados 23 laboratorios. En HVI hay resultados discrepantes en dos laboratorios, y en HVII una. Emiten resultados iguales al consensuado en ambas regiones 21 laboratorios (81%).

Para la muestra M-5, esperma, dan resultados 20 laboratorios. En HVI y HVII hay resultados discrepantes en un laboratorio. Emiten resultados iguales al consensuado en ambas regiones 19 laboratorios (95%).

Para la muestra M-6, pelos, dan resultados 15 laboratorios. En HVI hay resultados discrepantes en dos laboratorios y en HVII tres laboratorios. Emiten resultados iguales al consensuado en ambas regiones 12 laboratorios (80%).

Un estudio más exhaustivo de la metodología utilizada, participación y discrepancias se le solicita a Lourdes Prieto, del laboratorio de la Policía Científica de Madrid.

## **Investigación y resultados de la muestra Forense (M-5)**

Como se ha explicado anteriormente la investigación de la muestra Forense se dio como optativa para laboratorios forenses. Consistía en una muestra de individuo vasectomizado, no relacionado consanguíneamente con ninguno de los restantes donantes y que ya había participado como donante en ejercicios anteriores como donante de la muestra 3 en el año 1996.

Dicen analizar la muestra 46 laboratorios (57%), dando resultados 42 de ellos y especificando la metodología utilizada 33 laboratorios. Como curiosidad, indicar que hay 25 laboratorios de los que especificaban en la encuesta realizar casuística forense que no dan resultados para esta muestra.

De los 33 laboratorios que especifican metodología, 25 realizan pruebas preliminares (luz de Wood, estudio de la fosfatasa ácida, antígeno prostático o pruebas microscópicas) y el resto investigan directamente polimorfismos de ADN. Casi todos los laboratorios que realizan pruebas preliminares dan resultados correctos, excepto 3 laboratorios, uno que dice ver espermatozoides, aunque en escaso número y dos laboratorios que dan negativo para la presencia de semen.

Respecto a las conclusiones emitidas por los 42 laboratorios hay diferentes conclusiones: muestra humana, semen humano, negativo, semen, etc. En total 21 laboratorios dicen que se trata de esperma humano (51%). De ellos 8 laboratorios (20%) dicen que puede ser un individuo azoospermico o vasectomizado.

Se emiten conclusiones erróneas por 4 laboratorios, uno que ve espermatozoides, dos que lo dan como negativo y uno que especifica que puede ser compatible con material de origen humano en condiciones de conservación no adecuadas, o con material proveniente de primates superiores (v.g. *Pan troglodytes*).

Un estudio mas completo sobre la investigación llevada a cabo en la muestra de esperma se solicita a Cristina Albarrán, miembro del Servicio de Biología el Departamento de Madrid del Instituto de Toxicología.

### **Conclusiones**

Muestra humana	8
Muestra humana / Varón	5
Muestra humana / posible esperma	4
Muestra humana / esperma	18
Muestra esperma	3
Negativo esperma	2
Otros	1

### **Paternidad Práctica**

Recordemos que ambos padres biológicos, M-3 y M-4 eran hermanos del padre biológico de M-2.

Realmente el número de sistemas por los que se podían excluir eran bajo, especialmente para el donante de la muestra M-4.

El donante de la muestra M-3, y teniendo en cuenta los sistemas consensuados se excluía por HUMVWA, HUMPRTB, D7S820, D18S535, ACTBP2 (SE33), D19S433, D2S1338, D12S1090, Penta D, Penta E y DYS385

El donante de M-4 se excluía por HUMVWA, D19S433, D2S1338, D18S849, Penta D y Penta E.

Han contestado 79 laboratorios, entre los que ha habido tres tipos de repuestas.

Aquellos que realizan la conclusión correctamente, es decir, que ninguno de los donantes de las muestras M-3 ni M-4 son los padres del donante de M-2. Esta respuesta la han dado 46 laboratorios (58,2%).

Un segundo grupo excluye a M-3 como padre biológico de M-2, pero no excluye al donante de M-4. Esta respuesta ha sido emitida por 30 laboratorios (38,8%).

Un laboratorio excluye a M-3 pero no contesta para M-4.

Por último, 2 laboratorios (2,5%) no excluye a ninguno de los donantes de M-3 o M-4 como padres de M-2.

A estas conclusiones se han llegado de diferentes maneras, algunas sin tener en cuenta correctamente las exclusiones detectadas.

Estudiados el número de marcadores utilizados por los laboratorios de los diferentes grupos se observa que hay laboratorios que no excluyen a M-4 que han utilizado desde 9 hasta 33 marcadores.

Sin embargo hay laboratorios que con 9 sistemas han llegado a la conclusión correcta.

Esto demuestra la importancia de que existan normas claras sobre la manera de considerar las distintas exclusiones observadas y el que exista una batería de marcadores para casos especialmente conflictivos, o que se cuente con la colaboración de un laboratorio de referencia para casos dudosos, como puede ser cuando existen relaciones de consanguinidad.

Dada la importancia del tema se solicitó a Gloria Vallejo, Jefe del Servicio de Biología del Departamento de Madrid del Instituto de Toxicología, que realizara un estudio más exhaustivo de los resultados emitidos.

### **Paternidad teórica**

Recordemos que se envió un caso de paternidad teórica para la evaluación de los cálculos realizados. El ejemplo era especial dado que existía un sistema, HUMVWA, en el que se podían hacer distinto tipo de interpretaciones. Esta prueba es diseñada cada año por un colaborador, al que se lo solicita la

Coordinadora con el objetivo de que se traten temas de actualidad y que puedan servir para hacer un debate del que se saquen conclusiones que hagan avanzar en la estandarización de los cálculos.

Así, este año, se solicitó el diseño del Ejercicio teórico a Juan Antonio Luque miembro del Servicio de Biología del Departamento de Barcelona del Instituto de Toxicología, al que se solicitó hiciera una posterior presentación y discusión de resultados.

El tema propuesto era:

	<b>Presunto padre</b>	<b>Hijo</b>
<b>HUMTH01</b>	9/9.3	6/9.3
<b>HUMTPOX</b>	8	8
<b>HUMCSF1PO</b>	10/12	9/12
<b>D3S1358</b>	15/18	15
<b>HUMVWA</b>	<b>14</b>	<b>17</b>
<b>HUMFGA</b>	21/22	22/23.2
<b>D5S818</b>	12	12/13
<b>D13S317</b>	11/12	11/12
<b>D7S820</b>	8/10	10/12

La interpretación a realizar tenía la dificultad de por una parte si considerar el sistema HUMVWA, o no y si se tenía en cuenta, que fórmula utilizar y que frecuencia. La mayor parte de los laboratorios informan de que la solución pasa necesariamente por el laboratorio, es decir se deberían analizar mas marcadores. Esto supondría tener una batería para casos no rutinarios o contactar con un laboratorio de referencia.

Dejamos, en principio, fuera a HUMVWA y observamos que en el resto de los sistemas existe una gran uniformidad de resultados. Se observan gran número de diferencias debidas al sistema de redondeo utilizado, dado que no se hacía ninguna referencia al número de dígitos a utilizar. Aquí se ve la importancia de cómo y cuando utilizar el redondeo, tema que deberá tenerse en cuenta en futuros ejercicios para tener mayor uniformidad en los datos.

Pasando por alto estas diferencias hay un consenso en los datos emitidos en torno al 90% en todos los sistemas, siendo el sistema con mayor número de discrepancias HUMFIBRA/FGA, seguido por D3S818.

<b>Sistema</b>	<b>Valor</b>	<b>Laboratorios</b>
D13S317	1,69	98%
D3S1358	1,80	98%
D3S818	1,29	90%
D7S820	0,86	91%
HUMCSF1PO	0,76	91%
HUMFIBRA	1,47	86%
HUMTH01	0,95	94%
HUMTPOX	1,98	96%

Se detectan 3 errores de cálculo y discrepancias en 17 laboratorios.

Si tenemos en cuenta el HUMWVA, se observa que lo excluyen de los cálculos 35 laboratorios y otros 35 lo consideran, no especificando nada al respecto 9 laboratorios. Entre los que lo incluyen hay una gran diversidad de resultados, encontrándose mas de 25 resultados diferentes.

El tema tratado este año, si bien bastante discutido, es un tema de gran actualidad que esta siendo discutido en distintos foros, y para el que todavía no hay un acuerdo definitivo, si bien los expertos están de acuerdo en que, ante un caso de estos, hay que incluir el sistema en los cálculos. El debate está en que fórmula y que frecuencia utilizar. Su inclusión ha servido para demostrarnos la necesidad de que se trate este tema dentro del Grupo, y se llegue a un acuerdo consensuado sobre como realizar los cálculos cuando se presente esta situación.

Para la emisión de certificados no se va a tener en cuenta el sistema HUMVWA, ni los errores por redondeos, dado que no se ha especificado como llevarlos a cabo.

## **Conclusiones y sugerencias próximo ejercicio**

Tras la discusión se llegó a los siguientes acuerdos en relación con próximos ejercicios:

- Especificar nomenclatura para STR-Y
- Indicar número de decimales a utilizar y tipo de redondeo a realizar en paternidad teórica
- Suministrar el mayor número de datos posibles para el cálculo de la paternidad teórica
- Solicitar se indiquen fórmulas o programas utilizados
- Enviar la muestra forense a los laboratorios que así lo especifiquen, para ello se volverá a enviar la encuesta sobre el tipo de análisis efectuado y se pedirá ratificación a aquellos laboratorios que deseen participar.

Se van a hacer resúmenes de las exposiciones para publicación en el boletín y en la página web del grupo.

## **Agradecimientos**

Se termina la presentación agradeciendo a los ponentes su colaboración a D. O. García, D<sup>a</sup>. L. Prieto, D. A. Amorim y D<sup>a</sup>. L. Gusmao, D<sup>a</sup> C. Albarrán, D<sup>a</sup> G. Vallejo, y D. J.A. Luque. A los miembros del Instituto de Toxicología especialmente a su Director D. M. Sancho y a los miembros de la Unidad de Garantía de Calidad D<sup>a</sup> A. Vila-Coro y D<sup>a</sup> C. Sánchez de la Torre. A los miembros del GEP-ISFG D. O. García, D. A. Carracedo y D. A. Alonso. A los miembros del Servicio de Biología del Departamento de Barcelona del Instituto de Toxicología que con tanto cariño y profesionalidad han organizado esta Jornada, especialmente a D J.A. Luque y D. M. Crespillo. Y a todos los participantes por vuestra colaboración. Muchas gracias a todos.

Madrid, Junio 2002

Josefina Gómez Fernández  
Coordinadora del Ejercicio  
Unidad de Garantía de Calidad  
Instituto de Toxicología (Madrid)

**Resultados EJERCICIO COLABORATIVO  
DNA 2002 STRs autosómicos**

**Oscar García  
Area de Laboratorio Ertzaintza, Bilbao**

**1.- Laboratorios participantes y número de análisis realizados**

En el ejercicio efectuado en el año 2002 hay que destacar el elevado número de participantes (80 laboratorios), lo cual nos da una cantidad muy grande de datos que hemos de procesar, ya que han sido realizadas 5903 determinaciones. En cuanto a los datos obtenidos, nos encontramos con 34 laboratorios que discrepan con uno o varios de los resultados consensuados (lo que representa un porcentaje del 42'5 %) y, por otro lado, nos encontramos con un total de 130 resultados discrepantes frente a los consensuados (lo que representa un porcentaje del 2'20 %).

En los comentarios, en la discusión mantenida en Barcelona en las VII Jornadas, que surgieron a la presentación de estas cifras, podemos destacar los siguientes:

1. Dado que en otros ejercicios colaborativos y controles de calidad que se realizan (grupo inglés, CAP, etc.) no se analiza una muestra forense (en nuestro ejercicio era la muestra M-5), ¿los resultados obtenidos en el tipaje de la muestra M-5 distorsionaban el porcentaje de error obtenido?
  
2. En aquellos casos en que el error fuera debido a una mala asignación alélica en todas las muestras analizadas, siendo constante el número de repeticiones añadidas o sustraídas al resultado consensuado, ¿la consideración de ello como un único fallo en el tipaje en vez de considerar un fallo cada una de las muestras con resultados diferentes al consensuado, alteraría el porcentaje de error obtenido?

A la vista de estos comentarios anteriormente expuestos, se procedió a reanalizar los datos, obteniendo:

1. Tras eliminar la muestra M-5 (muestra forense)
  - Número de determinaciones: 5189
  - Número de errores en el tipaje: 118 (2'27 %)
  
2. Tras eliminar los errores de desplazamiento de ladder
  - Número de determinaciones: 5903
  - Número de errores: 18 (2'00 %)

Como puede observarse, los dos supuestos planteados no modifican sustancialmente la tasa de error inicialmente reportada (2'20 %).

## 2.- Marcadores y discrepancias

A continuación podemos observar los marcadores genéticos consensuados, con el número de discrepancias que se observan en cada uno de ellos, así como el porcentaje que estas discrepancias representan en el total de determinaciones realizadas para ese marcador.

MARCADOR	DETERMINACIONES	DISCREPANCIAS	%
D19S253	26	8	30,77%
D1S1656	35	8	22,86%
ACTBP2	30	4	13,33%
F13A01	222	24	10,81%
D12S391	61	5	8,20%
HPRTB	47	2	4,26%
FES/FPS	215	9	4,19%
F13B	150	6	4,00%
LPL	132	5	3,79%
D18S51	243	8	3,29%
D12S1090	31	1	3,23%
D18S535	32	1	3,13%
D13S317	344	10	2,91%
D1S80	45	1	2,22%
D7S820	335	7	2,09%
VWA	357	7	1,96%

MARCADOR	DETERMINACIONES	DISCREPANCIAS	%
<b>D5S818</b>	269	5	1,86%
<b>Penta E</b>	114	2	1,75%
<b>D3S1358</b>	250	4	1,60%
<b>TPOX</b>	338	3	0,89%
<b>D8S1179</b>	243	2	0,82%
<b>D21S11</b>	259	2	0,77%
<b>FGA</b>	265	2	0,75%
<b>TH01</b>	356	2	0,56%
<b>CSF1PO</b>	329	1	0,30%
<b>D16S539</b>	331	1	0,30%
<b>DQA1</b>	30	0	0,00%
<b>PM</b>	155	0	0,00%
<b>Amelogenina</b>	309	0	0,00%
<b>D3S1744</b>	35	0	0,00%
<b>D18S849</b>	30	0	0,00%
<b>Penta D</b>	106	0	0,00%
<b>D19S433</b>	90	0	0,00%
<b>D2S1338</b>	89	0	0,00%

Es decir, el marcador que más discrepancias genera es F13A01 (24), lo cual nos da un 10'81 % de discrepancias respecto al total de determinaciones para este marcador (222). Sin embargo, D19S253 tiene 8 discrepancias, pero como el total de determinaciones para este marcador ha sido de 26, esto nos produce un 30'77 % de tasa de error en este marcador.

En la tabla se indica en color rojo, aquellos loci más usados en casuística forense y que corresponden a los que se distribuyen comercialmente en los kits de PowerPlex 16 (promega Corporation) y Identifiler (Applied Biosystems).

En general, tenemos 5903 determinaciones con 130 discrepancias, lo que origina un 2'20 % de tasa de error. Esta tasa de error, se reduce significativamente a un 1'21 % (4627 determinaciones con 56 discrepancias), si sólo consideramos a los loci indicados en color rojo, que resultan ser los más estandarizados, son aquellos que la mayoría de laboratorios analizan mediante kits y ladder comerciales, y mediante plataformas automáticas de tipaje (ABI 310, ABI 377, Hitachi, etc.):

DETERMINACIONES	DISCREPANCIAS	%
5903	130	2,20%
4627	56	1,21%

### 3.- Metodología utilizada y discrepancias observadas

En cuanto a la metodología utilizada, en la siguiente tabla, podemos observar los resultados más destacados en este aspecto. El mayor número de discrepancias tiene lugar en aquellas determinaciones realizadas mediante ALF (son 56 discrepancias que representan un 43'08 % del total de discrepancias) seguido de las determinaciones realizadas con tinción con nitrato de plata (son 42 discrepancias que representan un 32'31 % del total de discrepancias). La técnica más utilizada es el uso de secuenciadores automáticos ABI (310, 377 y 3100) ya que con ellos se realizan el 60'26 % de las determinaciones. En segundo lugar, se encuentra las determinaciones realizadas mediante tinción con nitrato de plata, que representan un 2'23 % del total de determinaciones realizadas.

Pero, la observación más importante radica en saber cuál es la tasa de error cometida con las diversas técnicas analíticas usadas. Así, llama la atención observar como de cada 100 determinaciones realizadas con el sistema ALF, unas 10 son erróneas, respecto al resultado consensuado. La tasa de error, también es muy elevada en el caso de determinaciones realizadas mediante radiactividad. En determinaciones mediante plataformas ABI, la tasa de error se sitúa en torno al 0'7 %, mientras que en plataformas Hitachi y en detección mediante sondas ASO, no se producen ninguna discrepancia frente a los resultados consensuados.

	DISCREPANCIAS	%	% sobre DETERMIN.	Tasa de error
ALF	56	43,08%	9,33%	10,16%
Nitrato de plata	42	32,31%	22,23%	3,20%
ABI	25	19,23%	60,26%	0,70%
Radiactividad	7	5,38%	1,61%	7,37%
Hitachi	0	0,00%	3,44%	0,00%
Sondas ASO	0	0,00%	3,13%	0,00%
	<b>130</b>			

#### 4.- Reactivos utilizados y discrepancias observadas

De las 130 discrepancias observadas, la mayoría de ellas (75 discrepancias que representan un 57'69 %) se observan en sistemas analizados mediante el uso de primers no comerciales y asignación alélica tras comparación con ladders no comerciales. El resto de las discrepancias (55 discrepancias que representan un 42'31 %) ocurren al analizar sistemas genéticos usando kits comerciales. Sin embargo, dentro de este último grupo, la mayoría de discrepancias ocurren cuando se usan sistemas de detección manuales. En la siguiente tabla, podemos observar los resultados anteriormente mencionados:

		<b>DISCREPANCIAS</b>	
<b>Primer no comercial + Ladder propio</b>		75	57,69%
<b>Primer comercial + Ladder comercial</b>			
	<b>Manual</b>	34	26,15%
	<b>Automático</b>	21	16,15%
		<b>130</b>	

Un hecho que ha sorprendido tras analizar los resultados del último control ha sido conocer que de los 80 laboratorios participantes, 24 (lo que representa un 30 %) usaron en sus determinaciones primers y ladders no comerciales.

#### 5.- Concentración de la mayoría de las discrepancias en un número reducido de laboratorios

Otro hecho que debe ser destacado, es que no se ha producido un reparto uniforme de las discrepancias entre los laboratorios participantes en el último ejercicio. Así, un número reducido de laboratorio (10 de un total de 80, que representan el 12'5 de los laboratorios participantes) ha acumulado la mayoría de las discrepancias (84 de un total de 130, lo que representa un 64'62 % de las discrepancias observadas).

#### 6.- Conclusiones

Para finalizar, y a modo de resumen, podemos citar los hechos más destacados observados tras analizar con detalle los resultados enviados por los diferentes laboratorios participantes en el Ejercicio de Polimorfismos de ADN del año 2002 del GEP-ISFG:

- Un porcentaje reducido de laboratorios es el que origina la mayor parte de las discrepancias observadas, respecto a los resultados consensuados
- Es en aquellos sistemas genéticos menos usados donde se detectan el mayor porcentaje de discrepancias observadas
- El uso de primers no comerciales y ladderres “in-house” originan la mayoría de las discrepancias detectadas
- El uso de sistemas automáticos de detección (ABI, Hitachi) y el uso de kits comerciales son las mejores herramientas de cara a minimizar los errores producidos

**Resultados EXERCÍCIO COLABORATIVO  
DNA 2002 cromossoma Y**

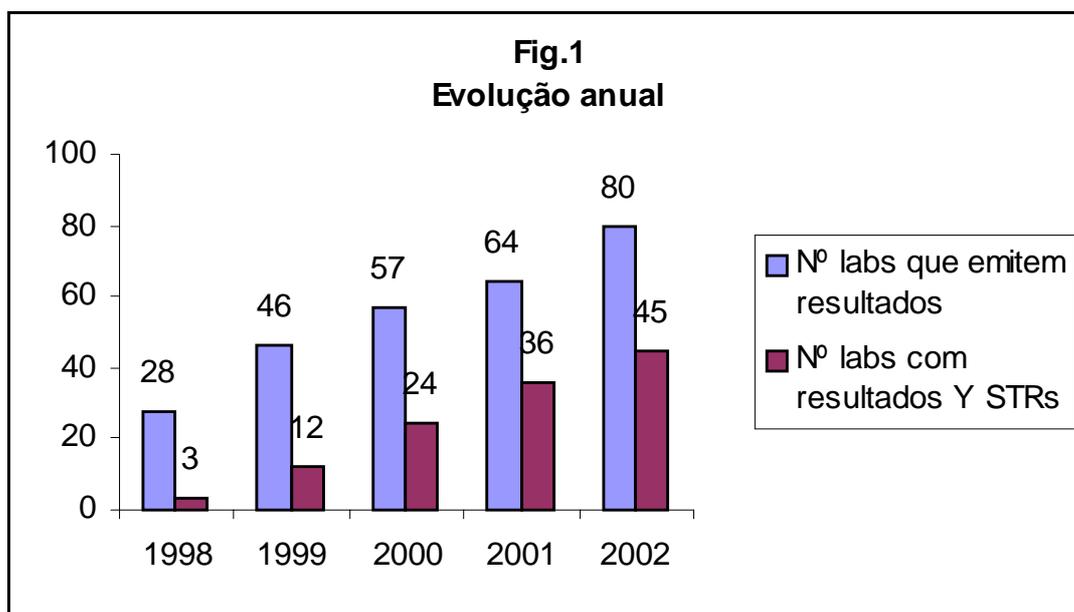
**Leonor Gusmão e António Amorim  
IPATIMUP, Porto, Portugal**

**A participação dos laboratórios pode ser resumida da seguinte forma:**

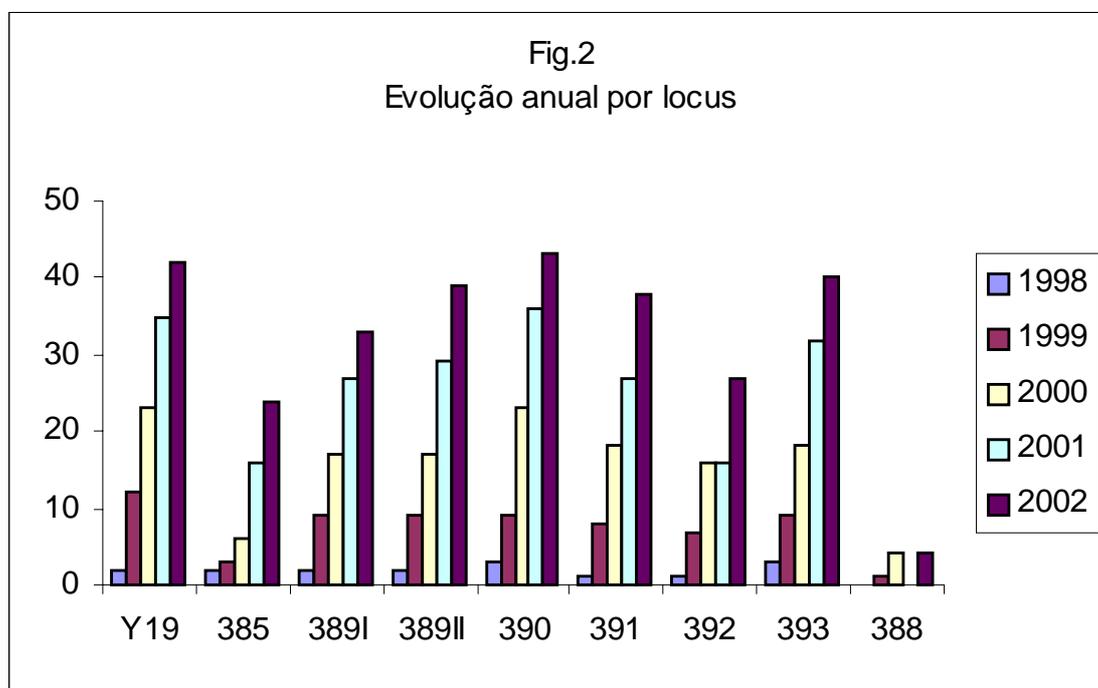
▪ Nº laboratórios inscritos	89
▪ Nº labs que emitem resultados	80 (90%)
▪ Nº labs que emitem resultados mtDNA	23 (29%)
▪ Nº labs que emitem resultados STR Y	45 (56%)
▪ Destes, com haplótipo mínimo	15 (17%)

**Verifica-se que, embora a produção de resultados envolvendo STRs do cromossoma Y tenha ultrapassado a de mtDNA, o número de contribuições com o haplótipo mínimo continua baixo.**

Considerando a evolução anual das participações de resultados de Y- STRs (Fig.1), verifica-se que a proporção de resultados destes marcadores relativamente ao total dos laboratórios que emitem resultados tem aumentado, mas que no corrente exercício se manteve a já atingida no ano anterior (56%).



No que respeita à evolução anual da utilização dos loci, (Fig.2), observa-se que alguns marcadores têm crescido regularmente, em particular os incluídos no haplótipo mínimo.



O aumento de contribuições envolvendo o haplótipo mínimo tem crescido mais rapidamente que o total (Fig.3), tendo passado de 22% para 36%. No entanto, verifica-se a utilização de um kit comercial que não inclui todos os marcadores. Isso mesmo se conclui da análise da Fig.4, onde se mostra, no corrente exercício, a utilização de STRs por laboratório.

Passando à análise da evolução anual dos erros de tipagens (Tabela 1), para além de se referir que os resultados verificados em 1999 estão sobrevalorizados pela mudança de nomenclatura verificada para dois dos marcadores (responsáveis por mais de metade dos «erros» observados) é de salientar que a taxa de erros verificada este ano (ainda que continue elevada: 3,2%) é menos de metade da obtida no exercício anterior (7,3%), o que significa, de todo modo, um progresso notável.

Considerando finalmente, os «novos» STRs, apresentam-se os resultados na Tabela 2. Não considerando a discrepância de nomenclatura assinalada, apenas se terá registado um erro de tipagem em um total de 61 (e mesmo este

seria atribuível a problemas de nomenclatura, mas o laboratório em questão não refere a usada).

**TABELA 1. Evolução anual dos erros de tipagem**

		Y19	385	389I	389II	390	391	392	393	388	Total
<b>1998</b>	tipagens	2	2	2	2	3	1	1	3	-	6
	nº erros	-	-	-	-	0	-	-	0	-	0
<b>1999</b>	tipagens	12**	3	9	9	9**	8	7	9	1	66
	nº erros	3	0	0	2	2	1	0	1	-	9 (13.6%)
<b>2000</b>	tipagens	23	6	17	17	23	18	16	18	4	142
	nº erros	0	1	0	5	1	1	1	4	0	13 (9.2%)
<b>2001</b>	tipagens	35	16	27	29	36	27	16	32	-	218
	nº erros	1	1	1	5	1	1	3	3	-	16 (7.3%)
<b>2002</b>	tipagens	42	24	33	39	43	38	27	40	4	290
	nº erros	0	1	1	3	0	1	2	1	1	10 (3.2%)

\*\*DYS19 e DYS390, mudança de nomenclatura

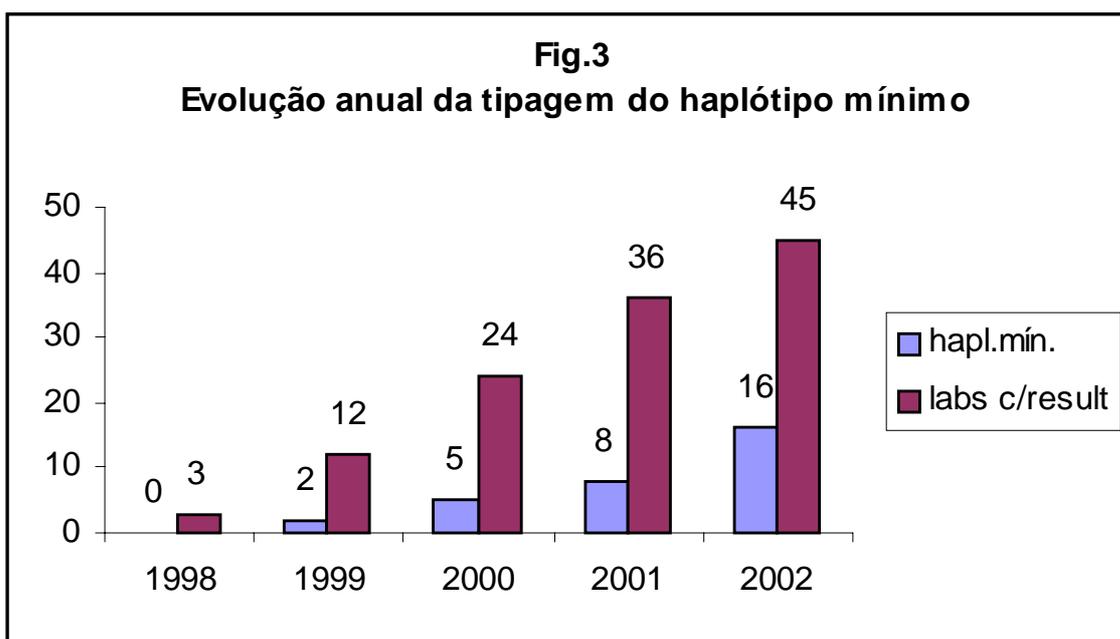
**TABELA 2. «Novos» STRs: evolução anual dos erros de tipagem**

		434	435	436	437	438	439	A7.1	A7.2	A10	C4	H4	462	Total
<b>2001</b>	tipagens	4	1	1	4	1	4	1	1	1	1	1	-	12
	nº erros	0	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2 (16.7%)
<b>2002</b>	tipagens	4	1	1	8	6	8	6	7	6	6	6	1	61
	nº erros	1*	-	-	1	0	0	0	0	0	0	0	-	1 (1.6%)

\*Nomenclatura de Bosch et al. (2002) FSI 125:42-51.

Passando agora à análise dos erros observados no corrente exercício (Tabela 3), constata-se que a análise é prejudicada pelo facto de não se dispor de

informação relevante, nomeadamente quanto à metodologia utilizada. A frequência de erros é elevada (3,3%: 11 em 335 tipagens nas quais foi indicado o método utilizado) e que estão mais associados à utilização de sistemas manuais. De facto, a taxa de erro nos utilizadores de sistemas automáticos é de 1,5% (4 em 266) enquanto que nos primeiros ultrapassa os 10% (7 em 69). Deve, no entanto referir-se que quase metade destes últimos (3) se verifica em DYS389II, provavelmente por problemas de correcta determinação de tamanho alélico.



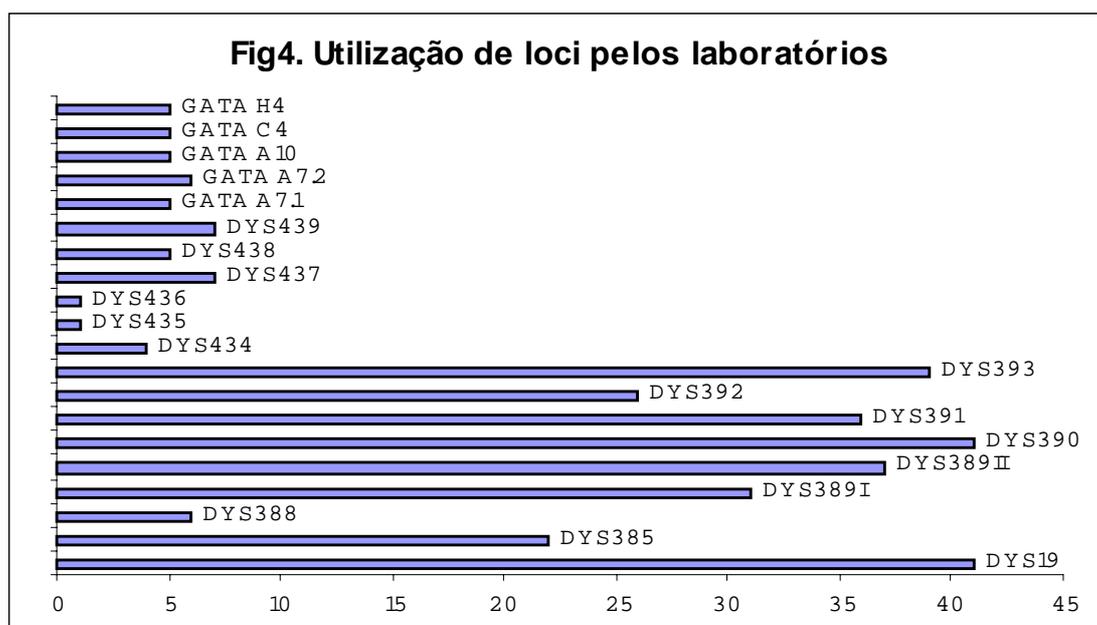
Registe-se também que, embora se verifique um decréscimo de utilizadores da antiga nomenclatura de DYS389, prossegue a coexistência das duas. Relativamente a DYS434, apenas um laboratório usa nomenclatura distinta, o que também parece-se observar-se quanto a DYS437.

Não foi possível avaliar o tratamento estatístico dos marcadores do cromossoma Y no presente exercício.

Estes resultados sugerem as seguintes

## Conclusões

1. Deverá ser especificada a nomenclatura a utilizar ou, em alternativa, tornar obrigatória a referência da utilizada
2. Incluir no próximo exercício teórico o tratamento estatístico dos marcadores do cromosoma Y



## TABELA 3. Erros de tipagem

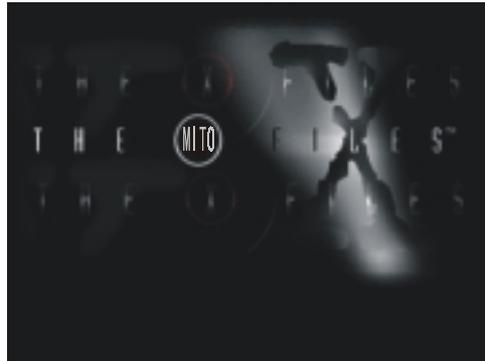
Nos casos assinalados a *itálico* trata-se de situações em que se verificam inconsistências internas nos resultados do mesmo laboratório; nos restantes os erros são sistemáticos: todas as tipagens nesse sistema são reportadas com o mesmo número de repetições a mais ou a menos relativamente ao consensuado

Marcador	Lab.		Primers	Detecção	Ladder
<b>DYS385</b>	1650	(11/15→9/13)	De Knijff et al., 1997	ABI310	Próprio
<b>DYS389I</b>	1125	(13*14)	Kayser et al., 1997	ABI310	Nenhum
<b>DYS389II</b>	1090	(28→29)	?	Nitrato de Prata	Carracedo/Gusmão
	1456	(31→30)	Próprios	Marc. radioactiva	De Knijff
	1753	(31→30)	Gusmão et al.	Nitrato de Prata	Gusmão et al.

<b>DYS391</b>	1048	(10*11)	GDB365251	Nitrato de Prata	GDB365251
<b>DYS392</b>	1090	13→12	?	Nitrato de Prata	?
	1307	(13*14)	Research Gen.	ABI310	?
<b>DYS393</b>	1090	14→13	?	Nitrato de Prata	Carracedo/Gusmão
<b>DYS388</b>	1953	12→11	Kayser (1997) IJLM	ABI310	Kayser (1997) IJLM
<b>DYS437</b>	1971	14→8	Ayub (2000)	Nitrato de Prata	?

## **Resultados EJERCICIO COLABORATIVO**

### **DNA 2002 ADN mitocondrial**



**Lourdes Prieto y Marta Montesino**

**Laboratorio Biología – ADN**

**Comisaría General de Policía Científica**

### **ANTECEDENTES**

Como todos los años, Josefina Gómez pone en acción su ilimitada inteligencia (un poco perversa) planteándonos problemas que nos hacen pensar y recapacitar sobre si nuestros laboratorios están a la altura que deben, cosa que siempre es de agradecer. En esta ocasión, la cuestión a resolver consistió en un expediente X que comprendía seis muestras biológicas: M-1, M-2, M-3 y M-4 (manchas de sangre), M-5 (muestra forense que resultó ser semen de un individuo vasectomizado) y M-6 (dos fragmentos de pelo). La muestra M-1 pertenecía a la madre del donante de la muestra M-2; M-3 y M-4 pertenecían a los presuntos padres de M-2 (que luego resultaron ser hermanos entre ellos y ninguno padre de M-2, sino tíos paternos); el donante de M-5, gracias a Dios, no tenía nada que ver con los anteriores; y finalmente los pelos M-6 pertenecían al donante de M-2.

### **PARTICIPANTES**

De los 80 laboratorios que emitieron resultados para el resto de marcadores sólo 24 intentaron analizar ADNmt (hay que animarse, “si trabajas en mitocondrial serás más jovial”). Para las manchas de sangre M-1, M-2 M-3 y M-

4 dieron resultados 23 laboratorios, para M-5, 20 laboratorios y para los pelos M-6 sólo 15. Así que está claro que “la peluquería” no es el fuerte del grupo.

El año pasado hubo 64 laboratorios que emitieron resultados para ADN nuclear de los cuales 26 analizaron también ADNmt en manchas de sangre y 21 en la muestra de pelo. Esto supone una menor participación en el presente control.

## **METODOLOGÍA**

Existe bastante homogeneidad en cuanto a la metodología usada por los distintos laboratorios. La mayoría utilizan los primers descritos por Wilson (L15997-H16395 y L48-H408) o por Vigilant (L15996-H16401 y L29-H408); el programa de PCR más usado fue: desnaturalización 10'' a 95°C, anillamiento 30'' a 60°C, extensión 30'' a 72°C y extensión final 10' a 72°C, con la variante de predesnaturalización durante 10' a 95°C en los laboratorios que utilizan Taq Gold. Las PCRs se desarrollaron mayoritariamente con 36 y 32 ciclos en termocicladores PE (480, 2400, 9600 y 9700). Las químicas de secuenciación y las purificaciones más frecuentes fueron BigDye y dRhod, y Microcon-100 y Microspin respectivamente. Por último, los secuenciadores estrella fueron el ABI-310 y el ABI-377, aunque los más potentados utilizaron ABI-3100.

Por el contrario no existe homogeneidad en la edición de las secuencias y aunque lo más común ha sido realizar en análisis desde la posición 16024 hasta la 16365 en HV1 y desde la posición 73 hasta la 340 en HV2, muchos laboratorios editan las secuencias desde otras posiciones. Esto no tiene porqué ser un problema en los informes periciales si se hace constar las posiciones de edición de cada laboratorio de cara a posibles contrapericias, pero para personas ajenas a la biología forense como jueces, fiscales y abogados puede inducir a conclusiones erróneas.

## **RESULTADOS DE M-1 Y M-2**

De los 23 laboratorios que emiten resultados para estas muestras 14 informan el haplotipo **16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C**. Otros cuatro más dan el mismo haplotipo pero utilizando una nomenclatura en las inserciones que no

sigue las recomendaciones de la ISFG, un laboratorio da la misma secuencia pero sólo hasta la posición 309, uno añaden una indeterminación (320N) y otros tres difieren en una posición del haplotipo consenso (ver tabla nº 1).

Como Josefina se supera cada año, estas muestras presentaban heteroplasmia de longitud en el stretch de poliC, como es frecuente en secuencias con la transición T→C en 310. Estamos menos acostumbrados a ver esta heteroplasmia en HV2 que la que habitualmente aparece generada por las inserciones de C antes de la posición 310T. Informaron sobre esta heteroplasmia 11 laboratorios.

RESULTADO	Nº LABORATORIOS	
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C	14	CONSENSO
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C/T; 315.1C	1	DISTINTA NOMENCLATURA
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C; 315; 315.1C; 315del	1	
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 309.1C; 310C; 315.1C	1	
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 309.1C; 310C	1	
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; STOP 309	1	INCOMPLETA
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C; 320N	1	1 INDETERMINACIÓN
73G; 152C; 195C; 263G; 310C; 315.1N	1	1 DIFERENCIA
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C; 320T	1	
16365C; 73G; 195C; 263G; 303-315 insC	1	

Tabla nº 1

## RESULTADOS DE M-3 Y M-4

De los 23 laboratorios que obtienen resultados 20 informan el haplotipo 16298C; 195C; 228A; 263G; 309.1C; 315.1C en M3 y 21 en M4. Un laboratorio da el mismo haplotipo sin la posición 16298C y los dos restantes informan secuencias muy diferentes, uno de ellos sólo para la muestra M-3. La secuencia que da este último contiene cinco transversiones (mucho menos frecuentes que las transiciones) y dos polimorfismos no descritos, 16228A y 287T (ver tabla nº 2). Estas muestras también son polimórficas respecto a la secuencia de Anderson en la posición 72 (transición T→C) y de ello dan cuenta 15 laboratorios. No olvidemos que el polimorfismo 16298C suele estar asociado al 72C y estas muestras así lo corroboran.

Hay dos grupos que informan heteroplasmia de longitud originada por una inserción de C antes de 310T.

RESULTADO	Nº LABORATORIOS	
16298C; (72C); 195C; 228A; 263G; 309.1C; 315.1C	20 M-3 y 21 M-4	CONSENSO
195C; 228A; 263G; 309.1C; 315.1C	1	1 DIFERENCIA
16298C; 72C; 152C; 199C; 263G; 309.1C; 315.1C	1	NO CONSENSO
16051C; 16228A; 16249A; 16270T; 16287G; 16298C; 195C; 263G; 287T; 309.1C; 315.1C	1 sólo M-3	

Tabla nº 2.- Se han considerado secuencias consenso tanto las que incluyen el polimorfismo 72C como las que no.

## RESULTADOS DE M5

Intentan el análisis de esta muestra 21 laboratorios y emiten resultados 20. La secuencia consenso es 263G; 309.1C; 315.1C, informada por 18 laboratorios. Es la segunda secuencia más frecuente en población caucasoide (lo único

corriente del control) después de 263G; 315.1C. Otros dos laboratorios dan secuencias que se alejan mucho de la consenso, uno de ellos con cuatro heteroplasmas de secuencia y un polimorfismo no descrito, 254G (ver tabla nº 3).

En esta muestra también informan heteroplasma de longitud en 303-309 tres laboratorios.

RESULTADOS	Nº LABORATORIOS	
263G; 309.1C; 315.1C	18	CONSENSO
16129A; 152C; 263G; 309.1C; 315.1C	1	NO CONSENSO
73G; 146Y; 195Y; 254G; 263G; 302M; 310Y; 315.1C	1	

Tabla nº 3.- M = A/C (aMino); Y = C/T (pYrimidine).

### RESULTADOS DE M-6

Esta muestra fue analizada por 19 laboratorios pero sólo dieron resultados 15. De ellos, 10 emitieron el haplotipo 16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C, un laboratorio informó el mismo haplotipo pero utilizando una nomenclatura en las inserciones que no sigue las recomendaciones de la ISFG, otro laboratorio logró editar HV2 entre los nucleótidos 66 y 250 y dio una heteroplasma de secuencia en HV1 (16365Y) y, finalmente, los tres restantes informaron secuencias muy diferentes a la consenso (ver tabla nº 4).

RESULTADO	Nº LABORATORIOS	
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C	10	CONSENSO
16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C; 315; 315.1C; 315del	1	DISTINTA NOMENCLATURA
16356Y; 73G; 152C;	1	INCOMPLETA

195C		
16093C; 16362C; 239C; 263G; 315.1C	1	NO CONSENSO
16220R; 16223Y; 16325Y; 73G; 146Y; 152Y; 195C; 254G; 263G; 302M; 310Y; 315.1C	1	
16347C; 72C; 195C; 263G; 309.1C; 315.1C	1	

Tabla nº 4.- R = A/G (puRina); Y = C/T (pYrimidine); M = A/C (aMino).

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

A la pregunta *¿puede pertenecer M-6 a alguno de los donantes de las muestras M-1, M-2, M-3, M-4 o M-5?*, 12 laboratorios contestaron "sí, a M-1 o M-2", por lo que este es el resultado consenso. Un laboratorio contestó "sí, a M-5" y los haplotipos que dio para ambas muestras fueron:

**M-5:** 73G; 146Y; 195Y; 254G; 263G; 302M; 310Y; 315.1C

**M-6:** 16220R; 16223Y; 16325Y; 73G; 146Y; 152Y; 195C; 254G; 263G; 302M; 310Y; 315.1C.

es decir, no descarta que ambos haplotipos procedan del mismo linaje porque sólo se diferencian en varias posiciones en las cuales existen ambigüedades (¿heteroplasmias?).

Por último, dos laboratorios informan "no" debido a que la secuencia que obtienen en la muestra M-6 es diferente a la consenso.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Sólo hay un laboratorio que realiza una valoración numérica de los resultados. Busca la secuencia consenso "16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C" en una

base de datos compuesta por 1773 individuos caucasoides, 794 africanos y 345 asiáticos y la encuentra 0 veces.

Ya que las bases de datos se van ampliando se abre la posibilidad de que los laboratorios empiecen a realizar valoraciones estadísticas en los casos forenses. Es de gran importancia conocer la base de datos que se está utilizando pues ha de ser totalmente fiable, es decir, que las secuencias que en ella figuran sean correctas y que los diferentes grupos poblacionales estén bien clasificados. Además, la EDNAP ha propuesto correcciones por error de muestreo cuando la secuencia no ha sido observada en la base de datos de referencia (Forensic. Sci. Int. 124 (2001) 83-91), bien mediante intervalos de confianza (Holland y Parsons, 1999) o bien con el método de Balding y Nichols (1994). Veamos el caso que nos ocupa con ambas correcciones aprovechando los datos ofrecidos por el laboratorio que realizó la valoración numérica:

a) Holland y Parsons (1999)  $\rightarrow p = 1 - \alpha^{1/n}$  siendo

- p es en nuestro caso la probabilidad de obtener la secuencia **16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C** en M-6, M-1 y M-2 suponiendo que no pertenecen al mismo linaje materno.
- $\alpha$  sería 0,05 si queremos suponer un intervalo de confianza del 95%, o 0,01 si suponemos un intervalo del 99%...
- n es el tamaño de la base de datos, 1773 caucasoides en nuestro caso.

Por tanto  $p = 1 - 0,05^{1/1773} = 0,001688$ .

b) Balding y Nichols (1994)  $\rightarrow p = x+2 / n+2$  siendo

- p es en nuestro caso la probabilidad de obtener la secuencia **16356C; 73G; 152C; 195C; 263G; 310C** en M-6, M-1 y M-2 suponiendo que no pertenecen al mismo linaje materno.
- x es el número de veces que aparece la secuencia en estudio en la base de datos, en este caso, 0 veces.
- n es el tamaño de la base de datos, 1773 caucasoides en nuestro caso.

Es decir, estos autores proponen incluir las secuencias a comparar (M-6 y [M-1 y M-2]) en la base de datos de referencia para corregir el error de muestreo ( por eso suman 2). El resultado final será  $p = 0+2 / 1773+2 = 0,001127$ .

Una vez hemos obtenido el valor de p, estamos en disposición de obtener el valor del LR:

$$\text{LR} = \frac{\text{Prob obtener la secuencia M-6 y las secuencias M-1M-2 / M-6 y M-1M-2 pertenecen al mismo linaje materno}}{\text{Prob obtener las secuencias M-6 y M-1M-2 / M-6 y M-1M-2 no pertenecen al mismo linaje materno, es decir, p}}$$

LR = 1 / 0,001688  $\cong$  592 en el caso de Holland y Parsons y LR = 1/0,001127  $\cong$  887 en el caso de Balding y Nichols.

Aportar estos datos a un Tribunal en un caso real es recomendable para evitar que la Sala pueda pensar que el haplotipo obtenido, al no aparecer en la base de datos de referencia, es extraordinariamente raro, es decir, que se pueda equiparar a frecuencias obtenidas con los perfiles STR.

## ESTUDIOS ADICIONALES

Uno de los laboratorios participantes, además del análisis de las regiones hipervariables 1 y 2, estudió la posición 7028 en todas la muestras con el fin de realizar una clasificación en haplogrupos. Si dicha posición está ocupada por una T, se produce una diana para la enzima de restricción *AluI* mientras que si está ocupada por una C, la enzima no reconoce la diana. M-1, M-2, M-3, M-4 y M-6 resultaron ser +7028 *AluI* y M-5 -7028 *AluI* (ver figura nº 1).

Junto con los datos obtenidos en la secuenciación de HV1 y HV2, este laboratorio clasificó las muestras en los siguientes haplogrupos (todos ellos europeos):

M-1, M-2 y M-6  $\rightarrow$  +7028*AluI*  $\rightarrow$  haplogrupo U4

M-3 y M-4 → +7028AluI → haplogrupo pre\*V/V

M-5 → -7028AluI → haplogrupo H

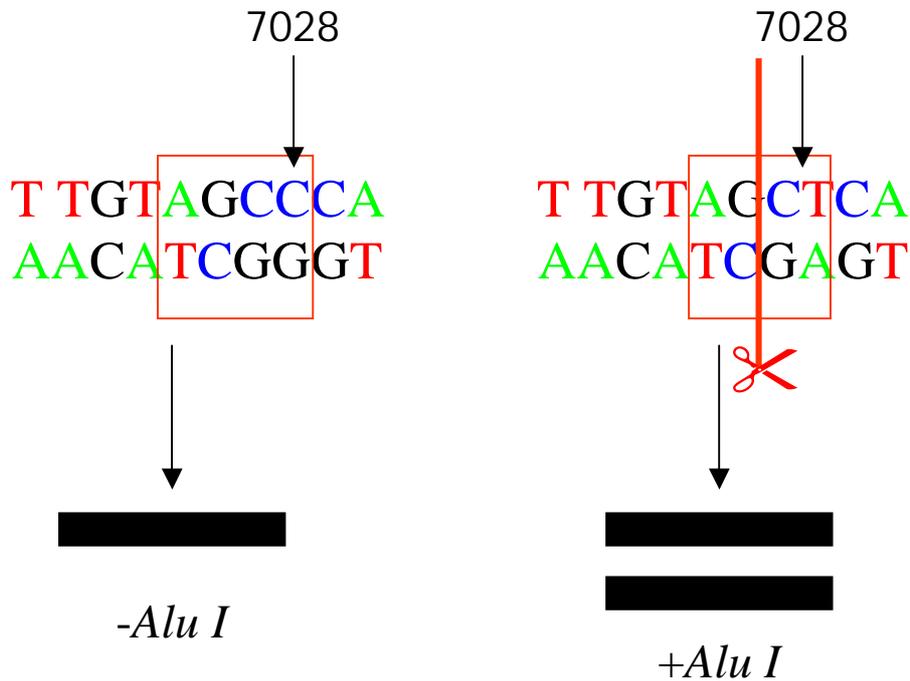


Figura nº 1

## CONCLUSIONES

Como en el ejercicio del año pasado, los resultados obtenidos en el análisis de muestras de sangre son muy buenos. La secuencia de M-1 y M-2 no era sencilla debido a la heteroplasmia originada por la transición de T a C en 310 y a pesar de ello casi todos los laboratorios informaron correctamente el haplotipo. Los laboratorios que no se ajustaron a la secuencia consenso sólo se diferenciaban en una posición o la diferencia se debía muy probablemente a un error de transcripción.

M-3 y M-4 presentaban electros de más fácil interpretación y sólo 3 de los 23 laboratorios que emitieron resultados informaron secuencias diferentes.

En la muestra de esperma (M-5) también se obtuvieron resultados más que aceptables. A pesar de una menor participación en el análisis de esta muestra (20 laboratorios), la mayoría informaron la secuencia correcta (18 laboratorios).

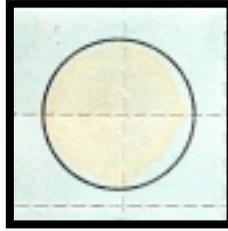
Por último, los peores resultados se obtuvieron en los fragmentos de pelo (M-6). A pesar de que intentan el análisis 19 laboratorios sólo obtienen resultados 15 y de ellos 11 informan la secuencia consenso, uno informa una secuencia incompleta y tres emiten una secuencia muy diferente a la consenso.

Creemos que el análisis de una secuencia no consiste sólo en detectar los polimorfismos respecto al haplotipo Anderson. Hay varios puntos que revisar:

- Consultar si los polimorfismos están descritos en la bibliografía y bases de datos. Si no fuera así, cerciorarse de que la numeración que hemos asignado a las bases es la correcta y de que el polimorfismo se detecta en las dos hebras. Si apareciera más de una posición diferente a la CRS que no estuviera descrita, podríamos empezar a sospechar un error en la numeración.
- Verificar que el haplotipo pertenece a un haplogrupo concreto, es decir, que no es de un extraterrestre, sino de un grupo poblacional conocido. Si en la misma secuencia observamos polimorfismos típicos de un haplogrupo mezclados con polimorfismos típicos de otro, podemos empezar a sospechar una contaminación.
- Como sabemos, las heteroplasmias de secuencia han de confirmarse en ambas hebras y se debe revisar si la posición en la que aparece es "hot spot" (es decir, con elevada tasa de mutación) o no. Si encontramos más de una heteroplasmia de secuencia en posiciones no "hot spots", debemos sospechar una contaminación.
- En los dos últimos puntos puede sernos de gran ayuda comparar los resultados obtenidos en las muestras con los haplotipos del personal del laboratorio.

## Resultados EJERCICIO COLABORATIVO

### DNA 2002 Muestra forense



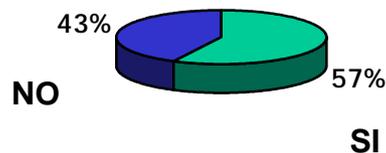
**Cristina Albarrán**

**Sección de Biología**

**Instituto de Toxicología (Madrid)**

**Muestra M-5 analizada:** mancha de esperma de un individuo vasectomizado y no relacionado con el resto de las muestras del control. Una muestra de sangre de este individuo fue analizada en el control del año 1996 (muestra M-3).

**Participación:** de los 80 laboratorios participantes en el control, el 57 % de ellos analizan la muestra M-5 (46 laboratorios) y 34 laboratorios no analizan dicha muestra (20 de los cuales dicen ser forenses)



## RESULTADOS OBTENIDOS

### 1. RESPECTO A LA METODOLOGÍA EMPLEADA:

- 3 laboratorios emiten resultados erróneos: uno visualiza espermatozoides, otro dice que la mancha no es de semen (sin especificar con qué análisis realizados) y otro dice que la mancha no es de semen en base a un resultado negativo en la determinación del antígeno específico de próstata (PSA).

- 1 laboratorio dice que es semen pero no especifica la metodología empleada para llegar a esa conclusión.
- 17 laboratorios sólo realizan el análisis genético (8 de ellos dicen ser forenses).
- 25 laboratorios realizan algún análisis preliminar para determinar la naturaleza de la mancha además del análisis preliminar de ADN.

## 2. RESPECTO A LOS ANALISIS PRELIMINARES REALIZADOS

De los 25 laboratorios que los realizan (55% del total de laboratorios que analizan la muestra M-5):

- 15 laboratorios realizan sólo pruebas **orientativas** (tres de ellos no emiten los resultados)
  - color, textura o aspecto (2 laboratorios)
  - luz ultravioleta (3 laboratorios)
  - visualización microscópica (2 laboratorios)
  - fosfatasa ácida semicuantitativa (7 laboratorios)
  - cristales de espermina, colina (1 laboratorio)
- 10 laboratorios realizan pruebas **confirmativas**
  - determinación de antígeno específico de próstata (PSA) (10 laboratorios)
  - visualización microscópica (8 laboratorios)
  - Fosfatasa acida semicuantitativa (7 laboratorios, 2 de ellos realizan análisis específicos para detectar la de origen prostático)
  - Análisis preliminar a la luz u.v. (3 laboratorios)
- Además algunos laboratorios realizan **otras pruebas** para descartar la existencia de otros fluidos:

- Test de Adler para descartar la presencia de sangre (4 laboratorios)
- Determinación de alfa-amilasa para descartar la presencia de saliva (1 laboratorio)
- Test de ouchterlony (2 laboratorios)

### **3. RESPECTO AL ANALISIS GENÉTICO:**

Todos los laboratorios obtienen resultados en el análisis de todos los marcadores STRs ensayados excepto dos laboratorios que obtienen resultados parciales: un laboratorio obtiene un perfil para 9 de los 15 loci analizados y otro laboratorio concluye que por el estado de degradación de la muestra debe ser material de origen humano en condiciones de conservación no adecuadas o material proveniente de primates superiores, v.g. *Pan troglodites*.

### **CONCLUSIONES**

#### **En la determinación de la naturaleza de la mancha:**

- 8 laboratorios concluyen que la muestra M-5 es de esperma humano y no se visualizan espermatozoides realizando pruebas confirmativas acompañadas de visualización microscópica. En base a estos resultados afirman que la muestra analizada debe provenir de un individuo azoospermico o vasectomizado.
- 2 laboratorios concluyen que la muestra M-5 es de esperma humano con pruebas confirmativas pero no especifican que no se visualizan espermatozoides.
- 12 laboratorios concluyen que la muestra M-5 es de esperma humano sólo en base a pruebas orientativas.

#### **En el análisis genético**

Los 45 laboratorios concluyen que la muestra M-5 no puede provenir de M-1, M-2, M-3 y M-4 y además 23 de esos 45 laboratorios (los que realizan el análisis de ADN mitocondrial) que tampoco puede provenir de la muestra M-6

## Otras conclusiones

- Es llamativo el que algunos laboratorios que realizan casuística forense (según cumplimentan en el cuestionario), no realizan ningún análisis específico para determinar la naturaleza del indicio, algo que en un caso forense puede llegar a ser tan importante como el análisis genético.
- Dadas las características de la muestra analizada (mancha de semen sin espermatozoides) se pone de manifiesto la necesidad de realizar varias pruebas confirmativas para determinar la naturaleza de la mancha ya que la valoración microscópica en estos casos no es de certeza.
- Se confirma mayoritariamente que las técnicas de tipaje genético actuales (PCR-STR) tienen suficiente sensibilidad para el análisis de muestras críticas como ésta, al menos cuando se encuentran aisladas sin mezcla con otros fluidos biológicos.

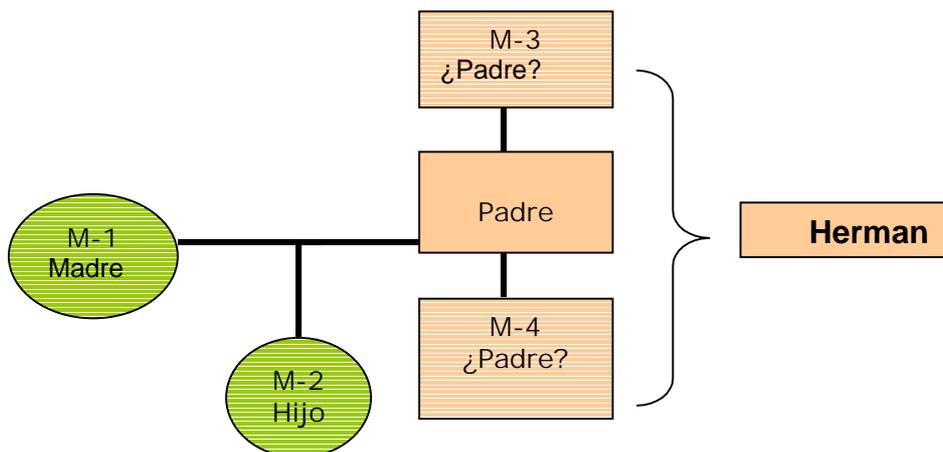
**Resultados EJERCICIO COLABORATIVO  
DNA 2002 Paternidad práctica**

**Gloria Vallejo  
Sección de Biología  
Instituto de Toxicología (Madrid)**

El ejercicio colaborativo de polimorfismos de ADN del año 2002 del Grupo Español- Portugués perteneciente al International Society for Forensic Genetics (GEP-ISFG) ha contado con la participación de 89 Laboratorios.

En dicho ejercicio se planteó un caso de paternidad práctico que textualmente decía: **¿pueden los individuos de las muestras M-3 y M-4 ser padres de la muestra M-2?. De la maternidad M-1, no se duda.**

La respuesta dada fue que el padre de la muestra M-2 era otra persona distinta de los donantes de las muestras M-3 y M-4, pero existía entre ellas una relación de parentesco, M-3, M-4 y el padre biológico de la muestra M-2 eran hermanos.



Del total de los 89 laboratorios participantes, emitieron resultados para el ejercicio de la paternidad práctica 79 laboratorios.

A continuación se presentan las valoraciones sobre las conclusiones emitidas por los laboratorios participantes, se presentan en primer lugar la valoración de

las conclusiones emitidas para el análisis genético de la Paternidad planteada respecto de la muestra M-3 y en segundo lugar respecto de la muestra M-4.

### **I. Valoración del análisis genético del individuo M-3 respecto de la paternidad práctica planteada.**

De los 79 laboratorios que emitieron resultados 2 respondieron que M-3 puede ser padre de M-2 (2.5%). El resto de los laboratorios consideran que M-3 no puede ser padre de M-2 (97.5%).

Los 2 laboratorios que no excluyeron a M-3 de ser padre de M-2, detectaron 2 incompatibilidades genéticas para los sistemas D7S820 y vWA, si se considerasen exclusiones genéticas serían exclusiones de 1º orden.

Los sistemas autosómicos utilizados por los 2 laboratorios para realizar estos análisis fueron:

- Profiler Plus + Cofiler.
- Profiler Plus + Green (AB) (TH01, TPOX, CSF1PO).

Uno de estos laboratorios, en sus observaciones, consideró que las 2 incompatibilidades podrían ser mutaciones que deberían ser valoradas y por lo tanto se debería ampliar el número de marcadores genéticos.

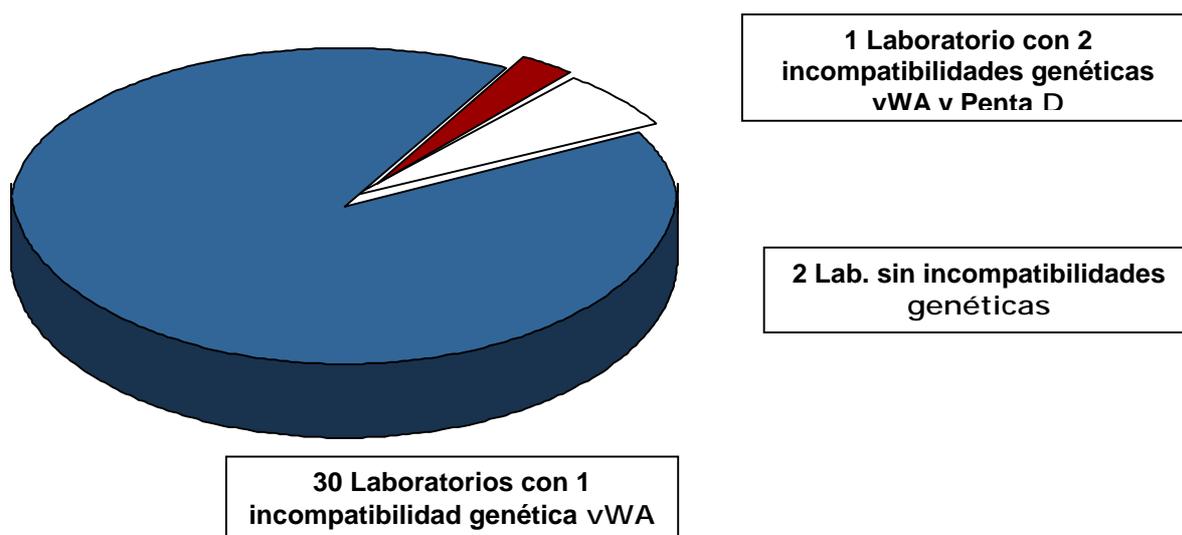
El otro laboratorio escribe en las observaciones *“Al hacer el estudio de STRs, en la M-3 aparece una exclusión en los sistemas HUMWA y D7S820 y en la M4 en el sistema HUMVWA. Aplicando la primera y segunda regla Landsteiner, calculamos la probabilidad de paternidad sin tener en cuenta estos marcadores para M-3 y M-4. Los datos de ADNmt indican que los donantes de ambas muestras están emparentada por vía materna (posiblemente hermanos)”*.

### **II. Valoración del análisis genético del individuo M-4 respecto de la paternidad práctica planteada.**

La valoración del individuo M-4 ha resultado ser más conflictiva para un gran número de laboratorios participantes, debido a que estos tan solo han podido detectar una incompatibilidad genética.

De los 79 laboratorios que han emitido resultados 33 respondieron que M-4 puede ser padre de M-2 (41.8%). El resto de los laboratorios consideran que M-4 no puede ser padre de M-2 (58.2%) .

De los 33 laboratorios, hay 30 que sólo detectan 1 incompatibilidad genética para el sistema vWA, 1 laboratorio que produce 2 incompatibilidades genéticas vWA y Penta D (este laboratorio aunque también estudia el sistema Penta E y lo genotipa correctamente no lo tiene en cuenta en las incompatibilidades genéticas), y otros 2 laboratorios que no producen incompatibilidades genéticas (1 de ellos estudia el sistema vWA, pero lo genotipa incorrectamente). Se adjunta grafica.



En la tabla 1 se presentan los 33 laboratorios que no han excluido a M-4 de ser padre de M-2, se agrupan por el tipo de marcadores autosómicos utilizados en dicho estudio y se calcula la Probabilidad de Exclusión a Priori (PE) acumulada para el supuesto de Investigación de Paternidad Biológica (IBP) con Padre, Madre e Hijo. El cálculo se realiza con las bases de datos poblacionales del Instituto de Toxicología de Madrid.

Se comprueba que la PE que disponen los 33 laboratorios es siempre superior a  $PE = 10.000$ , excepto para 2 laboratorios que no alcanzan dicho valor, pero están muy próximos.

Consideramos que sería interesante conocer la PE para un trío (P, M, H) con relación de parentesco entre el Presunto Padre y el Padre Biológico, ya que en el caso práctico planteado el individuo M-4 ha resultado ser hermano del padre biológico del individuo M-2 .

Hay que tener en cuenta que en la práctica pericial no siempre las IBP realizadas en los laboratorios disponen de la información completa del caso, es decir, si existe relación de parentesco entre el presunto padre y el padre biológico o bien se trabaja con IBP incompletas, bien por que no se dispone de la madre o el presunto padre esta fallecido y la investigación se realiza estudiando a sus familiares directos (hijos legales del fallecido, padres del fallecido o hermanos del fallecido).

En nuestra opinión es necesario, que la PE de IBP con situaciones comprometidas, sea valorada por el propio laboratorio antes de asumir la responsabilidad de iniciar el análisis.

En la tabla 1 se muestran como dos grupos numerosos de laboratorios que no han excluido a M-4 de ser el padre de M-2 trabajan con los siguientes marcadores:

- CODIS (con o sin algún otro marcador).
- FFV+CTT+Silver STR III (con o sin Monoplex o algún otro marcador)

En la valoración del análisis genético del individuo M-4 se han recogido muchas consideraciones, cuyo sentir general es de que se debe aumentar el número de marcadores para obtener una conclusión definitiva. Se han contabilizado 14 laboratorios de los 79 participantes (17.7%) que han manifestado esta idea.

Además 3 laboratorios de los 33 que no excluyen al individuo M-4 plantean respecto al sistema vWA que la mutación puede ser de origen materno o paterno. Recordamos el resultado obtenido para el sistema vWA:

M1: 15/16   M2: 14/15   M4: 15/17

Motivo por el cual alguno de estos laboratorios, no considera el resultado obtenido en el sistema vWA, como de incompatibilidad genética de M-4 respecto de M-2.

**Tabla 1:** Agrupación de los laboratorios (33) que no han excluido a M-4 de ser padre de M-2, según el tipo de marcadores autosómicos utilizados y su correspondiente Probabilidad de Exclusión a Priori (PE).

<b>Sistemas autosómicos utilizados / nº incompatibilides. en M-4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>Sin</b>	<b>PE=10.000 Prob. exclusión priori</b>
CODIS/D1S80+FFV/PMDQA1/F13A0 1/F13B	12			<b>99,99935%</b>
CODIS + PP16 + D1S80 + PM + DQA1		1		<b>99,999993%</b>
FFV + CTT + Silver STR III y/o Monoplex (LPL,PRTB,F13B) / D1S80 o 3 STR o 1 STR	14		1*	<b>99,9903%</b>
CTT + FFFL + Silver STR III + D12S391 + D5S818 + D18S535			1	<b>99,9918%</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ FES/FPS,THO1,F13A01,VWA,F GA,D12S391, D21S11,D1S1656, ACTBP2</li> <li>■ D1S80, TH01, F13A01, VWA, FGA, D12S391, D21S11, D1S1656, D18S51, ACTBP2</li> </ul>	2			<b>99,9776%</b>
	1			<b>99,9911%</b>
ProfilerPlus + PM + DQA1 + CTT + FES/FPS	1			<b>99,999991%</b>

Para realizar este ejercicio se han empleado un número muy variado de sistemas autosómicos, pero se han consensuado (más de 3 laboratorios con el mismo resultado) sólo 32 sistemas autosómicos.

En la tabla 2 se recogen los sistemas autosómicos consensuados que han permitido producir incompatibilidades genéticas en la IBP del individuo M-4 y se comparan con las incompatibilidades posibles que se producirían en esa misma IBP pero sin madre.

**Tabla 2:** Incompatibilidades producidas para M-4 en la IBP planteada y en el supuesto de investigación de paternidad sin madre.

	<b>M-4 (P,M,H)</b>	<b>M-4 (P,H)</b>
<b>VWa: PP16, Identifiler, ProfilerPlus, SGMplus, CTTv, PP2.1</b>	Incompatibilidad	Compatibilidad
<b>D18S849 Lifecodes</b>	Incompatibilidad	Compatibilidad
<b>Penta D PP16</b>	Incompatibilidad	Incompatibilidad
<b>Penta E PP16</b>	Incompatibilidad	Compatibilidad
<b>D19S433 Identifiler, SGMplus</b>	Incompatibilidad	Incompatibilidad
<b>D2S1338 Identifiler, SGMplus</b>	Incompatibilidad	Incompatibilidad

### **III. Sistemas multiplex más utilizados en el ejercicio colaborativo del año 2002 para la resolución de la paternidad práctica.**

El ejercicio colaborativo del GEP-ISFG del 2002 presenta una gran variabilidad de combinaciones diferentes de marcadores autosómicos y STR de cromosoma Y, ya que se han podido contabilizar más de 45 combinaciones distintas.

En la tabla 3 se presentan los sistemas multiplex autosómicos más utilizados en este año y PE. El cálculo se realiza con las bases de datos poblacionales del Instituto de Toxicología de Madrid.

Tabla 3: Sistemas Multiplex Autosómicos Más Utilizados

	<b>Laboratorios</b>	<b>PE Bases datos INT Madrid</b>
<b>(Cofiler,Profiler Plus) CODIS</b>	25	99,99935 %
<b>PowerPlex 16</b>	24	99,99995 %
<b>Identifiler</b>	12	99,99994 %
<b>FFV + CTT + Silver STR III y/o Monoplex (LPL,PRTB,F13B)</b>	21	99,9903 % 99,9987 %
<b>FFFL + Silver STR III + CTT</b>	4	99,9918 %
<b>SGMplus + PowerPlex16</b>	6	99,999995 %

#### **IV. Evolución de los métodos de trabajo usados en la resolución de casos de investigación biológica de paternidad.**

A continuación se presentan en paralelo los métodos de trabajo utilizados por los grupos de trabajo de habla Inglesa (ESWG) de ISFG y los del GEP-ISFG durante los años 2000 y 2001 y se completa con los métodos de trabajo utilizados por nuestro grupo en el presente año. Se recogen en la tabla 4.

Se puede de forma muy resumida concluir que la evolución de ambos grupos de trabajo es similar en la utilización de sus métodos con la excepción de que en nuestro grupo de trabajo se ha reducido notablemente la utilización de los polimorfismos VNTR mediante SLP.

**Tabla 4:** Métodos utilizados en IBP en los años 2000-2001-2002 por los grupos de trabajo ESG-ISFG y GEP-ISFG

Métodos	2000 ESWG (33)/ GEP(57) %	2001 ESWG (36)/ GEP(64) %	2002 GEP (80) %
VNTR/STR (PCR)	94 / 98,2	94 / 98,4	100
SLP	58 / 8,7	42 / 4,6	1,25
ADN Mitocondrial	39 / 33	44 / 42,1	29
STR Cromosoma Y	- / 42	- / 56,2	56
PolyMarker (PCR)	18 / 28	11 / 18,7	8,7
HLA-DQA1	33 / 30,9	25 / 18,7	8,7

Los métodos de trabajo utilizados por ESWG-ISFG han sido recogidos de: C. Hallenberg, N. Morling. *A report of 2000 and 2001 Paternity Testing Workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. Forensic Sci. Int. (En prensa).*

También se presentan los métodos de trabajo utilizados por los laboratorios que han sido incluidos en informe anual del año 2000 de la American Association of Blood Banks (AABB): AABB. *Annual report summary for 2000. Parentage Testing Standards Committee.* <http://www.aabb.org/>. Ver tabla 5.

Se puede comprobar como los laboratorios de AABB también presentan un porcentaje mucho mayor en la utilización de los polimorfismos VNTR mediante SLP si se comparan con los laboratorios del GEP-ISFG. La utilización de PCR con polimorfismos VNTR/ STR es del 98.2% para el GEP-ISFG, del 94 % para el grupo ESWG-ISFG y tan solo del 66.6% para AABB durante el año 2000.

Por otro lado se observa como los laboratorios de AABB o bien trabajan con metodología PCR o RFLP pero muy pocos laboratorios utilizan conjuntamente ambas.

**Tabla 5:** Métodos utilizados en IBP durante el año 2000 por el GEP-ISFG y AABB.

<b><u>Métodos</u></b>	<b>AABB (42) %</b>	<b>GEP-ISFG (57) %</b>
<b>PCR / STR</b>	<b>66,6</b>	<b>98,2</b>
<b>RFLP</b>	<b>33,3</b>	<b>8,7</b>
<b>RFLP + PCR</b>	<b>2,8</b>	<b>8,7</b>

#### **V. Valoraciones estadísticas utilizadas en las conclusiones de la paternidad práctica.**

Este año la paternidad planteada, ha generado que los laboratorios participantes emitan en sus conclusiones un considerable número de valoraciones estadísticas de distinta naturaleza, hecho que le confiere especial protagonismo en la valoración general. El motivo de estas respuestas se debe a que se cuestionaban dos posibles paternidades M-3 y M-4 con vinculo de parentesco con el verdadero padre biológico (eran hermanos).

18 laboratorios (22.5%) han concluido con diferentes valoraciones estadísticas. Se enumeran las expresiones matemáticas utilizadas:

**W = Probabilidad de Paternidad ----44%.**

**IP = Índice de Paternidad ----27.7%.**

**W = Probabilidad de Hermandad ----11%.**

**IP = Índice de Hermandad -----11%.**

**IA = Índice Avuncular -----11%.**

**LR del haplotipo del cromosoma Y -----4.3%.**

10 laboratorios han concluido con cálculo estadístico para las IBP cuestionadas.

- 4 laboratorios han respondido que el individuo M-4 puede ser padre del individuo M-2. Han empleado la fórmula W sin incluir en el cálculo los sistemas para los que observaban incompatibilidades genéticas (vWA y/o D7S820). Todos han obtenido W superiores al 99,99%.
- 4 laboratorios han respondido que el individuo M-4 puede ser padre del individuo M-2. Han empleado la fórmula W con la inclusión del factor de corrección de mutación para el sistema vWA en el cálculo. Ya que estos laboratorios observaban para ese sistema incompatibilidad genética. Todos han obtenido W superiores o muy próximas al 99,99%.

Para el cálculo de W, 2 laboratorios utilizaron la fórmula de Brenner Ch. (mutation in Paternity <http://www.dna-view.com/mudisc.htm>).

$$X/Y = \mu/4P(Q)$$

Otros 2 laboratorios calcularon W utilizando la corrección por mutación mediante la fórmula propuesta por AABB:

$$X/Y = \mu/A$$

También se observa la existencia de diferentes criterios para la utilización de la tasa de mutación ( $\mu$ ). Se han referenciado las siguientes  $\mu$  empleadas.

- Tasa de mutación de vWA (AABB 1999 Annual Report)  $\mu = 0.0034$  (<http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/mutation.htm>).

- Tasa de mutación de vWA (Brikmann et al. 1998 Am.J. Hum. Genet)  
 $\mu = 0.00199$

- 2 laboratorios han expresado la no posibilidad de paternidad en forma de IP, incluyendo en el cálculo el factor de corrección para las mutaciones detectadas.

Ambos laboratorios detectan 3 o más incompatibilidades. Se incluyen los resultados de ambos laboratorios.

1º laboratorio:  $IP = 10^{-6}$  para M-3 (7 incomp) y M-4 (3 incomp).

2º laboratorio: IP tiende 0 para M-4 (3 incomp) utilizando la fórmula de Brenner  $X/Y = \mu/400000P(Q)$ .

Este laboratorio produce una incompatibilidad genética para el sistema Penta E donde se observa un incremento de 6 steps entre el presunto padre M-4 y M-2, de ahí que en la aplicación de la citada fórmula de Brenner se obtenga una IP final tendente a 0.

## **VII. 2 laboratorios han concluido introduciendo valoraciones estadísticas al estudiar los STR del cromosoma Y (STR Cr Y).**

15 laboratorios estudian el haplotipo mínimo completo de STR de cromosoma Y, pero sólo 8 laboratorios describen la mutación probable en el STR DYS385 I/II para M-3.

Recordamos el resultado consensuado: M2:11/15 M3:11/16\* M4:11/15

- Uno de estos dos laboratorios concluye en forma de LR la posibilidad de que se haya detectado una mutación en la muestra M-3 para el loci DYS385 I/II y por lo tanto que las muestras M-2, M-3 y M-4 pertenezcan a individuos emparentados. Su conclusión es expresada por el laboratorio de la siguiente forma: *“Probable mutación loci DYS385 I/II; LR= 2,35. Es 2,35 veces más probable de que se trate de una mutación que de 2 haplotipos de 2 individuos no emparentados”*.

- El otro laboratorio informa mediante W y LR la posibilidad de que las muestras M-2, M-3 y M-4 pertenezcan a individuos emparentados. Expresa su conclusión de la forma siguiente: *“Las muestras M-2, M-3 y M-4 comparten el mismo haplotipo de cromosoma Y y presentan una probabilidad de 0,9990 (99,90% de certeza) de compartir linaje por vía paterna (índice: 1010)”*.

### VIII. Relaciones de hermandad y linaje paterno/ materno entre M-3 y M-4.

**27 laboratorios (34%) han hecho referencia en sus observaciones y/o conclusiones a las relaciones de parentesco entre las muestras M-3 y M-4. Se resumen a continuación:**

- ◆ 15 laboratorios han referido la posibilidad de que de M-3 y M-4 presenten relación familiar por linaje paterno.
- ◆ 8 laboratorios observan la posibilidad de hermandad entre M-3 y M-4 en base a su estudios de STR de cromosoma Y y de ADNmt.
- ◆ 3 laboratorios refieren la posibilidad de que entre M-3 y M-4 exista relación de parentesco por linaje materno.
- ◆ 1 laboratorio comenta la posibilidad de relación de parentesco, posiblemente de hermandad, por la coincidencia de al menos un alelo entre M-3 y M-4, en todos los sistemas autosómicos estudiados.

La valoración estadística de las relaciones familiares se puede sintetizar de la forma siguiente:

- **Cálculos de hermandad entre M-3 y M-4;** emiten cálculos 5 laboratorios utilizando fórmulas de Probabilidad de Hermandad (W) e Índice de Hermandad (IP). Se referencia bibliográficamente una de las fórmulas emitidas (F. Barros Angueira, 2000. La prueba del ADN en medicina Forense).
- **Cálculos de relación familiar (M-3 y M-4 son tíos de M-2);** emiten cálculos de Índice Avuncular 2 laboratorios. Se referencia bibliográficamente (Evetts y Weir en Interpreting DNA. Evidence 1998, Sinauer Asóciate, Inc).
- **Cálculo de paternidad de M-3 respecto de M-4;** emiten cálculos solo 1 laboratorio y utiliza la fórmula de Probabilidad de Paternidad (W).

## **IX. Conclusiones: Consideraciones científicas**

Los resultados obtenidos en este ejercicio de colaboración plantean la necesidad de reconsiderar si es o no realmente importante conocer las **Probabilidades de Exclusión a Priori** para los diferentes supuestos de IBP que se presentan en la pericia diaria.

Es fundamental conocer cuales son nuestras posibilidades de trabajo para abordar con garantías suficientes una investigación de Paternidad, no sólo en casos de tríos (P, M, H), sino en casos incompletos (P, H) o bien en los estudios familiares mediante los cuales tratamos de deducir el patrimonio genético del presunto padre cuestionado y fallecido. Tampoco debemos olvidar la difícil situación que supone realizar una IBP cuando el presunto padre posee vínculo familiar con el padre biológico.

Por otro lado, nuestro grupo de trabajo, parece no ser unánime en los **criterios de Exclusión Paternidad Biológica**: número mínimo de exclusiones detectadas, criterio para ampliar el número de marcadores en situaciones ambiguas (detección de incompatibilidades genéticas en bajo número).

**La Valoración estadística de los resultados** requiere de una interpretación correcta por parte del perito, necesitando de un desarrollo probabilístico cuando se comprueba el hecho de la compatibilidad genética. La realización de cálculos de Probabilidad de Paternidad o Índice de Paternidad con o sin inclusión del factor de corrección de mutación para el /los sistemas estudiados, la aplicación de las diferentes fórmulas para cálculos con mutación, así como la tasa de mutación  $\mu$  elegida, entre otros, creemos que son motivo de debate y discusión de interés en nuestros grupos de trabajo.

Finalmente se hace referencia a dos publicaciones que en nuestra opinión son ilustrativas respecto de los temas anteriormente mencionados, donde se plantean ampliamente la problemática de trabajo de las IBP en relación con el valor que debe adquirir el resultado de la Prueba Genética, su valoración estadística y la forma de transmitir este resultado analítico ante los tribunales.

- Fung W K, Chung Y, Wong D. (2002) Power of exclusion revisited: probability of excluding relatives of the father from paternity. *Int J Legal Med* 116:64-67.
- Lee H, Lee J, Han G, Hwang J.(2000) Motherless case in paternity testing. *Forensic Sci. Int.* 114; 57-65.

**Resultados EJERCICIO COLABORATIVO**  
**DNA 2002 Paternidad teórica**

**Juan Antonio Luque**  
**Sección de Biología**  
**Instituto de Toxicología (Barcelona)**

El ejercicio constaba de una paternidad sin madre (supuesto habitual en casos de paternidades e identificaciones de restos cadavéricos), en la que se proporcionaban datos de tipaje y frecuencias poblacionales para 9 marcadores y ningún dato más. Uno de los marcadores (vWA) presentaba una inconsistencia genética entre presunto padre e hijo simulando la existencia de un alelo nulo, y los otros 8 recogían todas las combinaciones posibles entre padre e hijo, con la particularidad de que las frecuencias de los alelos implicados eran altas, dando un IP muy bajo. El no dar más datos se hizo a propósito para no inducir la respuesta, ya que los casos reales no proporcionan más información que el propio resultado analítico.

Aunque los resultados fueron un poco peores de lo esperado, los errores, son errores "tontos" fácilmente subsanables.

El análisis de los resultados del control tiene que ser diferente entre vWA y los otros 8 marcadores:

**Exceptuando vWA** se emitieron 632 cálculos (79 laboratorios). Se dieron como correctos los que daban el valor exacto de IP con más o menos cifras significativas (redondeo IP: 447), y aquellos en que los parciales daban el valor exacto pero al redondear estos, el IP difería ligeramente (Redondeo X o Y: 62), suponiendo el 80,5%. Se observaron 53 resultados en el que el redondeo había sido incorrecto en su última cifra significativa, aunque el resultado no se apartaba en mucho del real (mal redondeo).

## Errores en las fórmulas

- D13S317 (1052)  $0,25/(a+b) \times 0,25$
- FGA (1665)  $0,25/(a+b)?$
- Todos los marcadores (4)  $0,5/(a+b)$  ó  $1/(a+b)$   
(1099, 1333, 1566, 1871)
- Múltiplos (5)  $\times 2$   $\times 4$   $\times 0,0001$   
(1040 = 1549, 1245) (1381) (1198)

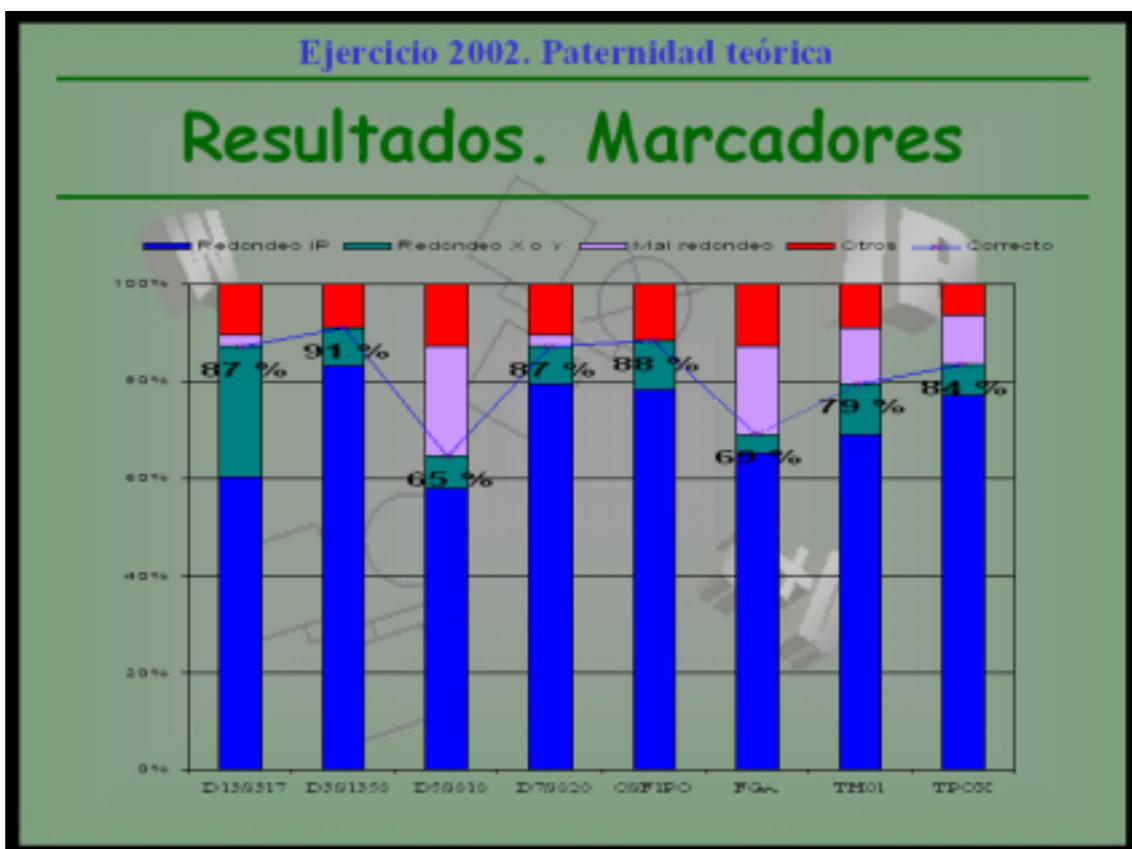


## Errores de transcripción

- (1335) D7 Frecuencia alelo 10: 0,2916 (0,2917)
- (1390) D5 IP: 1,2879 (1,2889)
- (1548) TPOX Frecuencia alelo 8: 0,5048 (0,5043)
- (1575) D7 IP: 0,817 (0,857)
- (1582) CSF1PO Frecuencia alelo 12: 0,3806 (0,3306)
- (1686) CSF1PO IP: 0,7568 (0,7562)
- (1718) D3 IP: 1,805042 (1,8050542)
- (1971) FGA Y: 0,0000343 (0,00003443)
- (1854) TH01 Frecuencia alelo 9 en vez 9.3  
TPOX IP: 1,93 (1,98)

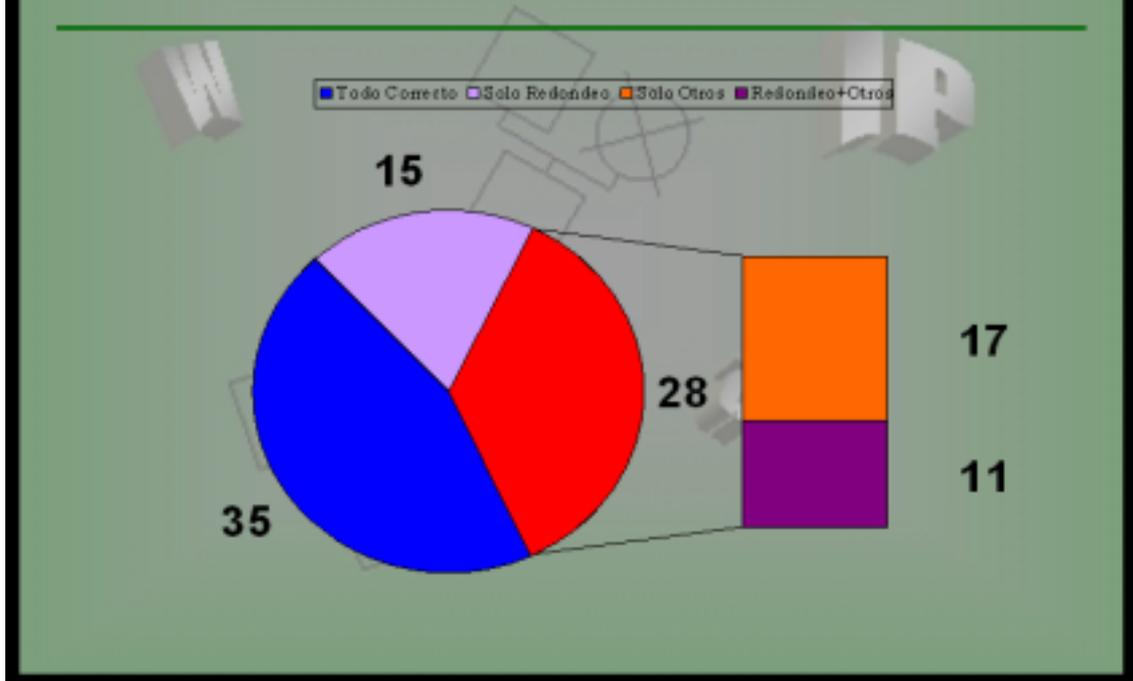
Incluyendo estos resultados al igual que en otros ejercicios, ya que no exceden de la media lo suficiente para afectar a un resultado final, tenemos un 88,9% de resultados correctos. El resto de resultados presentan errores en las fórmulas (11), errores claros de transcripción (10), planteamientos distintos (10), y el resto errores indeterminados.

Por marcadores se observa una incidencia mayor de errores en D5S818 y FGA, que siendo benevolentes alcanzan un 13% si no se tienen en cuenta los errores de redondeo siendo los mejores resultados para TPOX con un 6% de errores.



Por laboratorios, los resultados son desastrosos, ya que 28 laboratorios cometen algún error (no de redondeo) en alguno de los marcadores, normalmente errores puntuales por "despiste", aunque hay laboratorios con todos los resultados mal. Gran parte de los laboratorios que cometen errores, también realizan mal el redondeo en otros marcadores.

## Resultados. Laboratorios



Respecto al **vWA**, en principio, y puesto que no hay una respuesta claramente mayoritaria y que se puede abordar desde varias perspectivas, no se considera como válido para el control de calidad, sino como intercambio de resultados, siendo muy interesante la discusión y reflexión que ha originado. Hay tres posibles explicaciones para este marcador:

1. Se trata de una exclusión real
2. Se ha producido una mutación con ganancia de tres repeticiones
3. Se trasmite un alelo silente

Los apartados 2 y 3 requieren datos adicionales como tasa de mutación, poder de exclusión o tasa de alelos silentes.

## Exclusión de 2º Orden

$$r/(p_i+2r)(p_j+2r)$$

- ABO
- Chakraborty y cols., Int J Legal Med (1994) 107:127-131
- Luque y Valverde. Int J Legal Med (1996) 108:229
- Brenner ([www.dna-view.com](http://www.dna-view.com))

Tasa alelos silentes:

[www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/mutation.htm](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/mutation.htm)

De los 79 laboratorios que hacen el ejercicio teórico hay 43 que dan un resultado para este marcador. Hay laboratorios que han explicado las tres opciones y han valorado las mismas. 6 laboratorios hacen el cálculo como una mutación simple, 2 calculan una mutación de tres pasos, 20 hacen el cálculo teniendo en cuenta la tasa de alelos nulos, 7 ambas opciones, 6 dan 0 como IP y el resto faltan datos para saber que se ha hecho.

Respecto a las conclusiones finales, 54 laboratorios indican la necesidad de realizar más marcadores, 4 descartan la relación de paternidad por el IP o indican exclusión, otros 4 indican no concluyente o indefinida y el resto dan conclusiones varias incluyendo en algunos casos predicados verbales.

## ACTA ASAMBLEA GENERAL

Ion Uriarte

Secretario del GEP-ISFG

**Número de socios presentes al inicio de la misma: 58**

### Laboratorios participantes

- Policía Científica de Madrid. España
- Instituto Nacional de Toxicología de Madrid. España
- Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla. España
- Servicio de Huellas Digitales Genéticas de Buenos Aires. Argentina
- IPATIMUP de Oporto. Portugal
- Instituto de Medicina Legal de La Habana. Cuba
- UFMG. Brasil
- Mossos d'Esquadra. Barcelona
- Laboratorio de Inmunogenética y Diagnóstico Molecular (LIDMO). Argentina
- Facultad de Medicina Lisboa. Portugal
- PRICAI de Buenos Aires. Argentina
- Instituto Nacional de Medicina Legal de Lisboa. Portugal
- Servicios Médicos Yunis Turbay. Colombia
- Instituto Nacional de Toxicología de Barcelona. España
- Instituto de Medicina Legal de Santiago de Compostela. España
- Unidad de Genética Médica. Universidad de Zulia. Venezuela
- Laboratorio de Genética Forense y Huellas Digitales de ADN. Instituto Neurológico de Antioquia. Colombia
- Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia
- Policía Científica de la Ertzaintza. España
- DNA PROBES de Caracas. Venezuela
- Genomic Engenharia Molecular Ltda de Sao Paulo. Brasil
- NUPAD. Brasil
- Centro de Análisis Genéticos C.A.G.T. de Zaragoza. España
- Brigada Provincial de Policía Científica de Barcelona. España
- Instituto Nacional de Toxicología de Canarias. España

- Instituto de Medicina Legal de Valencia. España
- Universidad Complutense de Madrid. España
- Laboratorio de Genética Humana de Funchal. Portugal

En Barcelona el día siete de junio del dos mil dos y durante la asamblea general de los asociados del grupo, con la presencia de cincuenta y ocho miembros al inicio de la misma.

Abre la sesión el **Presidente del GEP** agradeciendo a la organización de las VII Jornadas de Genética Forense, en especial al Coordinador de las mismas, el Dr. Juan Luis Valverde, por la dedicación y los esfuerzos realizados en las mismas.

Comienza exponiendo la necesidad de modificación de los Estatutos del Grupo, (por ejemplo, el cambio de denominación de GEP-ISFH a GEP-ISFG, etc.), pero dado que según los estatutos vigentes se requiere la conformidad de 3/5 partes de los miembros, lo cual es físicamente muy difícil de lograr, se propone enviar desde el Comité Ejecutivo una encuesta abierta a sugerencias con las proposiciones con modificación de Estatutos y tras ser respondida, se remitiría una propuesta definitiva a votar por los miembros por algún sistema a valorar (on line, voto delegado...)

Pasa a informar sobre la nueva página web creada, que todavía tienen opciones sin activar, estando previsto un mantenimiento anual por la empresa. Solicita a los miembros revisar sus datos para verificar si estos son correctos. M<sup>a</sup> José Farfan propone la creación de un link desde la página de Santiago de Compostela hacia la nuestra.

Informa sobre la solicitud recibida de la Sociedad Brasileña de Medicina Legal para centralizar la remisión del Control de Calidad para todos los laboratorios de Brasil. Comenta la posibilidad de hacer extensivo este sistema a los laboratorios de Argentina. Gustavo Penacino da el visto bueno a esta propuesta. Se plantea por parte de laboratorios de Venezuela la posibilidad de que esto retrase mucho la entrega de las muestras. Josefina Gómez plantea la posibilidad de ante el extravío de un envío llevaría consigo la pérdida de gran

cantidad de muestras, hecho que acarrearía mayores problemas que en la actualidad. Se acuerda la necesidad nombrar un responsable de la recepción y que cada laboratorio confirme la recepción de las muestras. Juan Antonio Luque propone que cada laboratorio decida si se lo mandan directamente o a través de un responsable, especificación que podría realizarse al remitir el pago del control.

Pasa la palabra al **Vicepresidente del GEP-ISFG** quien hace mención a la excelente calidad del debate sobre el control de calidad, expresando la necesidad de que el mismo se recoja en el boletín anual del Grupo, exponiendo su queja por la no realización del mismo en el año 2001, y proponiendo que el citado boletín se dedique a reflejar este tipo de datos dejando todo lo relacionado con los Grupos de Trabajo a los Coordinadores de los mismos, al disponerse en la página web de secciones específicas para cada uno de ellos.

Procede a repasar los temas pendientes de cada Grupo de Trabajo:

- Grupo de Acreditación en Genética Forense:
  - Actualización de nuevas normativas
  - Necesidad de realización de dos controles de calidad anuales
  
- Grupo de Base de Datos de ADN nuclear
  - Continuar con la recopilación de frecuencias de los STRs más utilizados para obtener resultados globales
  
- Grupo de Bases de Datos de ADN mitocondrial
  - El propio grupo propone un cambio de orientación de su función, pasando a ser un grupo de apoyo técnico ante la falta de colaboración por parte de los laboratorios del grupo
  - En cuanto a la labor de recopilar datos para la base, labor que considera de sumo interés, estará en manos de todos los laboratorios que realizan análisis de ADN mitocondrial el conseguir que esta función tenga continuidad

- Grupo de Cromosoma Y  
Se aumenta el plazo para recibir resultados sobre el control de nuevos marcadores de cromosoma Y, para poder presentarlos en la próxima reunión sobre cromosoma Y a celebrarse en Noviembre en Oporto
  
- Grupo sobre Recomendaciones para la recogida y envío de muestras con fines de identificación genética  
Continuación con la difusión de la guía de recomendaciones  
Valorar cuestiones relativas a la custodia y postcustodia asociadas a la muestra
  
- Grupo de Formación en Genética Forense  
Queda pendiente la realización de una encuesta sobre necesidades de formación  
Se le propone informar en la página web sobre la oferta actual de formación
  
- Grupo de Estadística  
Continuará con sus actividades de formación y disposición de ejemplos en la red
  
- Grupo de Paternidad  
Establecimiento de un borrador de criterios científicos y de interpretación, para poder actualizar las normas del GEP que han perdido su vigencia
  
- Grupo de Bioética  
Establece como nuevo Coordinador a Emilio Yunis  
Realización de una encuesta a los laboratorios sobre cuestiones bioéticas

Mercedes Aler propone la realización de una recopilación de los métodos utilizados por cada laboratorio en cuanto a los estudios preliminares a realizar a una muestra.

A continuación toma la palabra el **Secretario del GEP** informando que desde el año pasado a fecha de 20 de Mayo se han incorporado al grupo 35 nuevos socios conformando un total de 286 socios y 101 laboratorios, distribuidos en

35 laboratorios en España, 7 en Portugal, 1 en Francia, 1 en Cuba, 1 en Mexico y 56 en Sudamérica.

Seguidamente, toma la palabra la **Tesorerera del GEP-ISFG** informando de la situación económica que a fecha de realización de la Asamblea (7 de junio), y teniendo en cuenta los abonos recibidos durante la celebración de las Jornadas, se dispone de un saldo de unos 7.000 €.

Recuerda que los gastos derivados de transferencias han de ser abonados por los propios laboratorios y que la cuota anual en el año 2001 es de 12 € y del año 2002 es de 17 €.

Carlos Vullo plantea la posibilidad de abaratar el costo del Control de Calidad en vista de la obtención de beneficios en el presente año. Se expone la preocupación por las repercusiones legales que pudiera tener para el grupo el contar con beneficios. Tras aportar sus opiniones José Luis González y Juan Antonio Luque, se observa la necesidad de hacer una consulta legal sobre el tema.

Se acuerda hacer un estudio del coste del control de calidad para poder ajustar el precio del mismo.

Retoma la palabra el Presidente para pasar al siguiente punto del orden del día, la **presentación de propuestas para la celebración de las VIII Jornadas del GEP-ISFG**.

Toma la palabra Antonio Amorim quien propone la organización por parte del IPATIMUP en Oporto. Asimismo, sugiere un cambio en la estructuración de las Jornadas dedicando un primer día a un workshop sobre un tema específico y un segundo y tercer días dedicados a la discusión sobre el control de calidad, los grupos de trabajo y la Asamblea General del grupo, proponiendo la eliminación de la presentación de posters y las comunicaciones orales (que podrían ser virtuales) por el coste económico que suponen y la escasa aportación que ofrecen. Así como sugiere la comunicación obligatoria por laboratorio con la actualización de sus datos.

Se discuten las ventajas y desventajas de esta propuesta acordándose emitir certificados para las presentaciones virtuales (necesario para algunos laboratorios para obtener subvenciones para el viaje).

Se procede a votar a mano alzada la propuesta de Oporto como sede de las próximas Jornadas, tal y como Antonio Amorin plantea, aceptándose por mayoría registrándose una abstención.

El Presidente pasa al siguiente punto del orden del día que es la **renovación de cargos del Comité Ejecutivo** exponiendo la disposición del mismo a continuar su labor los próximos dos años. Se pasa a votar a mano alzada registrándose 3 abstenciones y ningún voto en contra, con lo que se aprueba por mayoría la continuidad del mismo Comité Ejecutivo.

Juan Antonio Luque toma la palabra para solicitar que se mande con suficiente antelación el Orden del Día para las Asambleas del grupo, así como la posibilidad de delegación de voto para poder así llevar a efecto temas como la modificación de estatutos.

Se aborda el último punto en el orden del día, **sugerencias para el próximo Control de Calidad**, discutiéndose en primer lugar la conveniencia de realizar un solo envío de muestras y analizarlos en dos fases o hacerlo en dos envíos diferenciados, acordándose esperar a la evolución de las normas sobre acreditación y la necesidad o no de realizar los dos mencionados controles anuales.

Antonio Alonso plantea la consulta sobre si se ha de mantener la estructura actual del control (paternidad, paternidad teórica, muestra forense, pelo, etc).

Leonor Gusmao comenta la posibilidad de enviar muestras a otros laboratorios externos al grupo, pero sólo para la realización de análisis de cromosoma Y, emitiendo certificados de calidad, de forma que el GEP-ISFG actuase como organizador de un control europeo de cromosoma Y.

Se solicita por parte del Vicepresidente que formulen una propuesta concreta en cuanto a número de laboratorios, forma de pago, precio, etc.

El Presidente da por finalizada la asamblea.

## Informe de Tesorería

Cristina Albarrán

Tesorera del GEP-ISFG

### Estado de las cuentas del GEP-ISFG PERIODO: 1-Enero-02 a 31-Agosto-02

**Saldo de inicio a 1-01-02 = 3.256,9 €**

MES	GASTOS		INGRESOS	Balance
	GESTION BANCARIA	OTROS	CUOTAS SOCIO Y CONTROL	
ENERO-02	11,22	2.744,04 <sup>(1)</sup>	1.080,99	-1.674,27
FEBRERO-02	1,83	--	396,86	395,03
MARZO-02	112,02	240,4 <sup>(2)</sup>	5.878,32	5.525,9
ABRIL-02	10,49	--	1.993,46	1.982,97
MAYO-02	39,47	650 <sup>(3)</sup>	1.811,08	1.121,61
JUNIO-02	4,8	1.994,4 <sup>(4)</sup>	756	-1.243,2
JULIO-02	8,94	--	1.186,38	1.177,44
AGOSTO-02	1,92	--	--	-1,92
<b>TOTAL</b>	<b>- 190,69</b>	<b>- 5.628,84</b>	<b>13.103,09</b>	<b>7.283,56</b>

#### DESGLOSE DE OTROS GASTOS:

- 1- Papel Whatman para el control (1.059,86 €) y envío por correo certificado de las muestras del control (1.684,18 €)
- 2- Compra de una impresora (203,74 €) y envío de cartas de la tesorería (36,66 €)

- 3- Gastos del viaje a Barcelona de la coordinadora del control: avión, alojamiento,... (480 €) y devolución de un cobro erróneo (170 €)
- 4- Pago a los organizadores de las jornadas de Barcelona de las inscripciones cobradas mediante VISA (1.020 €) y diseño de la nueva página web del GEP-ISFG (974,40 €)

Saldo en C/C (a 31-08-02) = 10.540,46 + CAJA = 32,27

**TOTAL EN EUROS: 10.572,73 €**

**Evolución por meses gastos/ingresos**  
**PERIODO: 1-Enero-02 a 31-Agosto-02**

---

