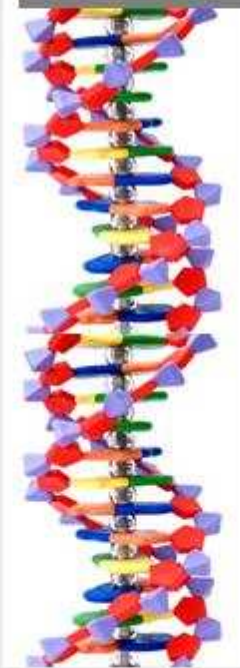




Recomendaciones para la recogida y remisión de muestras con fines de Identificación Genética en Grandes Catástrofes



GRUPO ESPAÑOL Y PORTUGUES DE LA ISFG
20 de Julio 2007

COMPONENTES DEL GRUPO DE TRABAJO QUE HAN ELABORADO ESTE DOCUMENTO

Elena Rivas San Martín

Laboratorio de Biología-ADN. Unidad Central de Análisis Científicos. Comisaría General de Policía Científica. Madrid.

M^a Victoria Prieto Ruiz-Canela

Servicio de Biología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Sevilla. Sevilla

Mercedes Aler Gay

Sección de Genética Forense y Criminalística. Servicio de Laboratorio. Instituto de Medicina Legal de Valencia. Valencia.

Lourdes Fernández de Simon

Servicio de Biología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Madrid. Madrid.

INDICE:

Introducción.....	3
Recogida de muestras para análisis de ADN.....	3
1. Restos Humanos.....	4
Identificación de las muestras	
Documentación y material gráfico	
Equipo de recogida y manejo de muestras	
Tipo de muestras más adecuadas para el análisis genético	
Procedimiento de recogida	
2. Muestras de Referencia de familiares.....	5
Identificación de las muestras	
Documentación	
Equipo de recogida y manejo de muestras	
Familiares más adecuados	
Tipo de muestras y procedimiento de recogida	
3. Muestras de referencia antemortem.....	7
Identificación de las muestras	
Documentación	
Equipo de recogida y manejo de muestras	
Tipo de muestras y procedimiento de recogida	
Preservación de las muestras.....	8
Cadena de custodia.....	9

INTRODUCCIÓN

El análisis de ADN es una herramienta esencial en la identificación de víctimas de una gran catástrofe, en especial cuando existe un alto grado de fragmentación de los cadáveres ya que además de permitir su identificación, posibilita llevar a cabo de forma sistemática estudios de reasociación de restos humanos y cadáveres. La recogida de muestras con fines de identificación genética es, por tanto, una fase de especial trascendencia del complejo proceso de la identificación forense que debe realizarse por personal especializado siguiendo una serie de recomendaciones que afectan a:

- La identificación y documentación de las muestras
- El procedimiento de recogida y las precauciones que deben tomarse
- La cadena de custodia

En la actualidad los estudios de ADN están basados en el análisis comparativo entre perfiles genéticos obtenidos de:

- La toma de **muestras post-mortem** procedentes de los cadáveres y restos humanos
- La toma de **muestras de referencia (ante-mortem y familiares)** necesarias para su identificación.

RECOGIDA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE ADN

La recogida de muestras, en casos de catástrofes, se realizará normalmente en dos escenarios distintos:

- *El área de depósito de cadáveres*, lugar donde se recogen las muestras procedentes de los cadáveres y de los restos humanos, aparecidos en el escenario del desastre.
- *El centro de asistencia a los familiares*, lugar donde se recogen las muestras de referencia (de familiares o ante-mortem) necesarias para la identificación de los restos humanos.

En algunos casos, cuando hay indicios de que la catástrofe puede ser provocada, algunas muestras y vestigios biológicos pueden ser recogidos directamente en *el escenario del siniestro*.

1. RESTOS HUMANOS

La complejidad en la recogida de las muestras postmortem va a depender de diversos factores tales como el número de víctimas, el grado de fragmentación de los cadáveres y el estado de conservación de los mismos.

No obstante y con independencia de la complejidad que pueda presentar la recogida de muestras, es deseable recoger muestras para análisis de ADN de todos los cadáveres y de los restos humanos que se estime oportuno en base a las características de la

catástrofe, para poder garantizar, por un lado, la posibilidad de realizar estudios de reasociación entre restos humanos y cadáveres y, por otro lado, realizar estudios complementarios siempre que surjan dudas o discrepancias con otros métodos de identificación (dactiloscópicos, odontológicos... etc).

1.1. Identificación de las muestras

Todos los cadáveres y restos humanos obtenidos en la escena de la catástrofe deben ser identificados mediante un sistema único y sencillo, que se mantendrá invariable a lo largo de todo el proceso, para evitar errores.

Este sistema incluirá la identificación dada al cadáver en el levantamiento y en el IML. Si de un cadáver o resto humano fuese necesario recoger varias muestras, a cada una de ellas se le asignara un número correlativo:

Número levantamiento / Número IML / Número muestra ADN

1.2. Documentación y material gráfico

- Se fotografiarán o documentarán gráficamente los cadáveres y restos humanos, antes de realizar la toma de muestras.

- Se utilizará un formulario estandarizado (***Formulario para la toma de muestras post-mortem de ADN***) para describir el resto humano y el tipo de muestra recogida de él, con una breve descripción.

Si fuese necesario recoger más de una muestra del cadáver o fragmento humano, es conveniente reseñarlas todas en el mismo formulario.

- Se cumplimentará la cadena de custodia.

1.3. Equipo de recogida y manejo de muestras

La recogida de muestras debe hacerse durante la autopsia o con posterioridad a ella por el Médico Forense con la colaboración de personal entrenado y con experiencia en la toma de muestras para análisis de ADN.

Los miembros del equipo deben extremar las precauciones para evitar o minimizar el riesgo de contaminación, tanto exógena como cruzada que puede producirse durante el proceso. Para ello deben ir equipados con ropa protectora (guantes, mascarilla, batas o mono...etc.) y siempre que sea posible deben utilizar material estéril o bien disponer de los medios necesarios para realizar una limpieza adecuada del material y de las superficies de trabajo (p.e. una solución de lejía comercial al 10% o alcohol).

1.4. Tipo de muestras más adecuadas para el análisis genético

El tipo de muestra más adecuado para el análisis de ADN viene determinado por las características de la catástrofe y el estado de los restos humanos. Las más frecuentes son:

- *Músculo esquelético*, especialmente cuando disponemos de cadáveres completos
- *Fragmentos de órganos*
- *Piel*
- *Sangre*

Cuando los restos humanos están putrefactos, es más adecuada la recogida *de piezas dentales, huesos o uñas* (indistintamente de las manos o de los pies).

En casos de incendios, dependiendo del estado de carbonización, puede recogerse *músculo esquelético* de zonas profundas o *sangre semisólida* de las cavidades cardíacas. Si la carbonización es severa, se recogerán *huesos, piezas dentales o uñas* (los menos afectados).

1.5. Procedimiento de recogida

- *Músculo esquelético, órganos y piel*: Se recogerá un fragmento de 10-15 g de las zonas mejor conservadas que se introducirá en un frasco de plástico de boca ancha con cierre hermético o con cierre de rosca precintado, que se mantendrá refrigerado hasta su llegada al laboratorio.

Las muestras para análisis genético nunca deben ser recogidas ni almacenadas en líquido fijador (p.e. formaldehído)

- *Sangre*: Se recogerán de 5-10 ml en un tubo con anticoagulante tipo EDTA. Dicho tubo deberá introducirse en una bolsa o tubo de transporte correctamente precintado, que se mantendrá refrigerado hasta su llegada al laboratorio.

Si se requiere sangre para la realización de otro tipo de análisis, p.e. toxicológico, deberán recogerse muestras adicionales.

- *Piezas dentales*: Se recogerán de 2 a 6 piezas que no estén dañadas ni restauradas, que se introducirán en un frasco de plástico de boca ancha o en una bolsa correctamente precintada.

- *Huesos*: Se recogerá, si es posible, un hueso largo descarnado que se introducirá en una bolsa correctamente precintada.

- *Uñas*: Se recogerán las uñas, se envolverán por separado en papel absorbente y se introducirán en una bolsa correctamente precintada.

2. MUESTRAS DE REFERENCIA DE FAMILIARES

2.1. Identificación de las muestras

Al igual que con los restos humanos, la identificación de los familiares debe realizarse mediante un sistema único y sencillo, que se mantendrá invariable a lo largo del proceso.

2.2. Documentación

- Se utilizará un formulario estandarizado (**Formulario para la toma de muestras de referencia de ADN de los familiares**) en el que esté incluido “el consentimiento” de la persona que cede la muestra, así como la garantía del uso restringido de la muestra y la confidencialidad del resultado.

Este formulario siempre tendrá que estar firmado por la persona que aporta la muestra.

- Se confirmarán los datos del donante mediante el DNI o el pasaporte, cuando sea posible. Cuando sea necesario se realizará una fotocopia del mismo que se adjuntará al formulario.

- Se Documentará de forma clara la relación de parentesco entre el donante y la víctima, mediante un árbol genealógico donde quede bien establecida la relación, sin que esta pueda dar lugar a equívocos.

- Se cumplimentará la cadena de custodia

- Se rellenará un formulario (**Formulario de familiares disponibles para la toma de ADN**) en el que consten ***los familiares disponibles*** por si es necesario recurrir a otras muestras.

2.3. Equipo de recogida y manejo de las muestras

El equipo de recogida de muestras de referencia debe estar constituido por personas formadas y entrenadas no solo para recoger las muestras sino para informar a los familiares, con la mayor sensibilidad posible, del uso que se va a dar a las muestras, del tipo de análisis que se va a realizar, del tiempo estimado hasta la obtención de resultados....etc. Además dicho equipo deberá evaluar que familiares son los más adecuados como donantes e incluso en que casos es mas apropiado la utilización de muestras de referencia directas.

Deben ir equipados de guantes y bata protectora y usar el material adecuado para llevar a cabo la recogida, teniendo en cuenta que el número de muestras puede ser muy elevado.

2.4. Familiares más adecuados

Los familiares mas adecuados para proceder a la identificación, son los siguientes, por orden de prioridad:

2.5.1. Ascendientes y descendientes directos. Para estudios de paternidad con marcadores STRs autosómicos.

- ***Padre y madre biológicos del fallecido.*** Si no es posible obtener muestras de ambos padres, se puede realizar la prueba únicamente con uno de ellos.

- *Cónyuge e hijos del fallecido.* Si no es posible obtener muestras del cónyuge, se puede realizar la prueba únicamente con los hijos.

2.5.2. Hermanos del fallecido. Con estos familiares se reduce bastante el poder de discriminación. Si la víctima es un varón es más recomendable la obtención de muestras de hermanos varones para investigar la línea paterna mediante marcadores de cromosoma Y, además de la línea materna mediante ADN mitocondrial.

2.5.3. Otros familiares. Si no es posible obtener muestras de los familiares anteriormente descritos, es recomendable la obtención de muestras de familiares que mantengan la línea paterna y/o materna.

2.5. Tipo de muestras y procedimiento de recogida

- **Saliva:** Se recogerán dos hisopos con muestra indubitada de saliva, frotando la parte interna de las mejillas.

Es recomendable utilizar kits específicos, en los que todos los componentes sean de cartón y por tanto permitan el secado de los hisopos, bien preservados, a temperatura ambiente. Si no es posible disponer de estos kits, la muestra de saliva puede ser recogida con hisopos estériles que introduciremos en sus carcassas de plástico, bien precintadas, teniendo la precaución de mantenerlas refrigeradas hasta su llegada al laboratorio. Si no se puede mantener refrigerada, se dejara secar, en un lugar protegido de posibles contaminaciones, antes de introducirla en la carcassas de plástico.

- **Sangre:** Se recogerán 2-3 gotas de sangre obtenidas por punción dactilar, sobre tarjetas especiales para dicha recogida. Se recomienda la utilización de kits.

3. MUESTRAS DE REFERENCIA ANTEMORTEM

Otra estrategia de análisis es el uso de *muestras ante-mortem del fallecido* que pueden proceder del entorno familiar o de centros hospitalarios.

3.1. Identificación de las muestras

La identificación de las muestras de referencia ante-mortem debe realizarse mediante un sistema único y sencillo, que se mantendrá invariable a lo largo del proceso.

3.2. Documentación

- Se utilizará un formulario estandarizado (**Formulario para la toma de muestras de referencia de ADN ante-mortem**) en el que se describa la muestra o muestras aportadas, especificando claramente la correlación existente entre dicha/s muestra/s y la víctima.

- Se especificarán los datos de la persona que aporta la/s muestra/s.

- Se cumplimentará la cadena de custodia

3.3. Equipo de recogida y manejo de muestras

El equipo debe estar constituido por personas formadas y entrenadas para la recogida de muestras que puedan informar a los familiares, con la sensibilidad adecuada, del uso que se va a dar a las muestras, del tipo de análisis que se va a realizar, del tiempo estimado para la obtención de resultados....etc. Además dicho equipo deberá evaluar que muestras son las más adecuadas para el análisis.

Deben ir equipados de guantes y bata protectora y usar el material adecuado para llevar a cabo la recogida, teniendo en cuenta que el tipo de muestras aportado puede ser muy variado.

3.4. Tipo de muestras y procedimiento de recogida

3.5.1. Muestras del entorno familiar

- Cepillos de dientes
- Navajas y/o maquinillas de afeitarse
- Peines y cepillos de pelo
- Ropa interior
- Piezas dentales extraídas previamente (dientes de leche)
- Otras muestras

3.5.2. Muestras de centros hospitalarios

- Sangre almacenada en hospitales
- Biopsias
- Citologías o frotis
- Otras muestras

Las muestras deben ser recogidas de forma individual, en recipientes adaptados a su tamaño y siempre que sea posible de papel o cartón. Todos los recipientes deben estar bien precintados, pudiendo mantenerse a temperatura ambiente durante su recogida y transporte.

PRESERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras deben ser correctamente envasadas para garantizar una adecuada preservación hasta su llegada al laboratorio. Para ello, es conveniente seguir las siguientes recomendaciones generales:

- Empaquetar las muestras de forma individual
- Utilizar recipientes con cierre irreversible o doble envase, especialmente cuando se trate de fluidos biológicos
- Precintar los recipientes utilizados
- Mantener siempre por separado las muestras dudosas y las muestras de referencia.

Todos los recipientes utilizados para el envasado de muestras, deben estar correctamente etiquetados y con la cadena de custodia cumplimentada.

CADENA DE CUSTODIA

Tanto en los formularios de recogida de muestras (dubitadas y de referencia) como en los recipientes utilizados para el envasado de dichas muestras debe existir un espacio dedicado a la cadena de custodia, que siempre debe ser correctamente cumplimentado.

En los formularios, los datos específicos que deben constar son:

- El código asignado a la muestra
- El número de precinto del envase
- La fecha y hora de la toma
- El nombre o identificación de la persona que realiza la toma
- El nombre o identificación de la persona que chequea la toma

En los envases primarios y/o secundarios, los datos específicos que deben constar son:

- La fecha de la toma
- El nombre o identificación y firma de la persona que realiza la toma.