
Informe de resultados – PRUEBA DE PATERNIDAD (REAGRUPACIÓN FAMILIAR ESPAÑA)

El día AA de MM de AAAA fueron recibidas en el laboratorio Citogen (Cº del Pilón 86, Zaragoza) procedentes xxx 2 muestras indubitadas de Frotis bucal pertenecientes a **INDIVIDUO 1** (*documentación xxx*; nº laboratorio XXDPAA-YYY.N, XXDPAA-YYY.N), quien presta consentimiento para la toma de sus muestras biológicas y aporta como documento identificativo su *documentación xxx* en vigor. Las muestras han sido recogidas y transportadas siguiendo los protocolos de cadena de custodia instaurados por el Centro receptor.

El AA de MM de AAAA fueron recibidas en el laboratorio Citogen (Cº del Pilón 86, Zaragoza) procedentes de xxx 2 muestras indubitadas de Frotis bucal pertenecientes a **INDIVIDUO 2** (*documentación xxx*; nº laboratorio XXDPAA-YYY.N, XXDPAA-YYY.N), quien presta consentimiento para las tomas de las muestras biológicas y aporta como documento identificativo su *documentación xxx* en vigor. Las muestras han sido recogidas y transportadas siguiendo los protocolos de cadena de custodia instaurados por el Centro receptor.

Se solicita proceder a la investigación biológica de paternidad de INDIVIDUO 2 en relación a su presunto padre INDIVIDUO 1.

METODOLOGÍA EMPLEADA

- **EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN**

El ADN fue extraído a partir de las muestras XXDPAA-YYY.N y XXDPAA-YYY.N mediante el protocolo de extracción automática con EZ1 ADVANCED XL de QIAGEN. Posteriormente, el ADN se cuantificó mediante PCR a tiempo real ("kit Investigator® Quantiplex® Pro" de QIAGEN) en un equipo 7500 Real Time PCR de Applied BioSystems.

- **MARCADORES MOLECULARES/POLIMORFISMOS DEL ADN**

La preparación de librerías y amplificación de loci marcadores se llevó a cabo mediante la tecnología ForenSeq™ MAinstAY Kit (Verogen), que permite el análisis de 27 STRs (Short Tandem Repeat) autosómicos de localizaciones cromosómicas diferentes, (**D1S1XX6, TPOX, D2S441, D2S1338, D3S1358, D4S2408, FGA, D5S818, CSF1PO, D6S1043, D7S820, D8S1179, D9S1122, D10S1248, TH01, vWA, D12S391, D13S317, PentaE, D16S539, D17S1301, D18S51, D19S433, D20S482, D21S11, PentaD y D22S1045**) y **Amelogenin**.

Los alelos, para todas las regiones detalladas, han sido identificados mediante secuenciación NGS en un secuenciador de nueva generación MiSeqFGx (Verogen) y los resultados analizados utilizando el software ForenSeq™ Universal Analysis (Verogen).

Los cálculos de la probabilidad de parentesco y del Índice de parentesco se realizan a partir de frecuencias correspondientes a las bases de datos de población global (base de datos popSTR, <http://spsmart.cesga.es/popstr.php>).

Todos los procedimientos de extracción, cuantificación y análisis de ADN se llevan a cabo según los procedimientos internos PNT 02, PNT 03, PNT 08 y PNT 09.

DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS

Sistemas	P.Padre I.1 XXDPAA-YYY.N	Hijo I.2 XXDPAA-YYY.N
AMEL	X/Y	X
D1S1XX6	11	11
TPOX	12	12
D2S441	14/16	11/16
D2S1338	20	13/20
D3S1358	17	17
D4S2408	11	11/12
FGA	24/29	19/29
D5S818	1	1/13
CSF1PO	22	10/22
D6S1043	13	13/15
D7S820	15/19	9/15
D8S1179	13	13/19
D9S1122	12	12/13
D10S1248	13/14	13/17
TH01	7	7/9
vWA	15/17	14/15
D12S391	18/22	12/22
D13S317	11/14	11/13
PentaE	7/16	7/9
D16S539	11/18	11/12
D17S1301	17	12/17
D18S51	16/18	16/19
D19S433	12	12/17
D20S482	12	12/14
D21S11	31/39	23/31
PentaD	8/19	8/13
D22S1045	18	17/18

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el desarrollo del estudio estadístico derivado de los datos genéticos obtenidos, se plantean dos hipótesis:

- H1: "INDIVIDUO 1 es el padre biológico de INDIVIDUO 2".
- H2: "INDIVIDUO 1 es un individuo al azar de la población, no relacionado genéticamente con INDIVIDUO 2".

El Índice de parentesco (IP) expresa el cociente entre las probabilidades de los perfiles genéticos obtenidos, asumiendo cada una de las hipótesis.

La probabilidad de parentesco a posteriori (W) se calcula asignando una probabilidad de parentesco a priori del 50%, es decir, las mismas probabilidades "a priori" de ser el padre biológico como de no serlo.

CONCLUSIÓN

El análisis estadístico de las dos hipótesis planteadas, basado en los datos genéticos obtenidos, ha concedido un índice de parentesco (IP) de **1,32532523·10¹²** y una probabilidad a posteriori (W) de **99,999999%** favorables a la hipótesis H1: **"INDIVIDUO 1 es el padre biológico de INDIVIDUO 2"**.

Según los predicados verbales de Hummel, el valor de IP obtenido corresponde a una paternidad "prácticamente probada".

Fdo.:

Fdo.:

Directora Técnica
Colegiada Nº XXXX-ARN (COB)**Especialista Forense**
Colegiado Nº XXX-ARG (COB)

ANEXO I**Consideraciones científico-legales**

Para cada marcador genético, un individuo hereda un alelo de su madre y uno de su padre. Considerando la maternidad como segura, la comparación de los alelos observados en el padre y en el hijo puede dar lugar a varias situaciones:

NO EXISTENCIA DE DISCORDANCIAS

Cuando no existen discordancias entre las muestras analizadas, se realiza un análisis estadístico en base a las frecuencias alélicas de la población, para determinar IP (Índice de Paternidad) y W (Probabilidad de paternidad), en casos de paternidad simples, y el LR (Likelihood ratio), en los casos de paternidad complejos (casos de paternidad en ausencia del presunto padre). Los cálculos se realizan mediante el programa FAMILIAS. Las frecuencias alélicas que se utilizarán para dichos cálculos, serán las publicadas en la base de datos popSTR <http://spsmart.cesga.es/popstr.php>.

EXISTENCIA DE MÁS DE DOS DISCORDANCIAS

Se excluye la paternidad cuando existan más de dos discordancias entre la muestra perteneciente al hijo y la del presunto padre.

CASOS DE POSIBLE MUTACIÓN Ó ALELO SILENTE-EXISTENCIA DE UNA O DOS DISCORDANCIAS

En el caso de una exclusión de 2º orden aislada, se considera la transmisión de un alelo silente. Si es así, se calcula IP_{silente} siguiendo las fórmulas propuestas por Brenner y empleando las frecuencias de alelo silente (www.cstl.nist.gov/strbase/NullAlleles.htm).

En el caso de que se observen una discordancia de primer orden o dos discordancias de cualquier orden, se calculará el índice de paternidad teniendo en cuenta las tasas de mutación de los STRs implicados según el método propuesto por Charles H. Brenner (C. Brenner, Mutations in paternity, 2006, <http://dna-view.com/mudisc.htm>) y utilizando las tasas de mutación publicadas en <http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/mutation.htm>. Solo se considerarán mutaciones aquellas discrepancias que impliquen alelos cuya diferencia entre progenitor e hijo sea de 1 o 2 unidades de repetición (mutaciones de 1 ó 2 saltos)

Exclusión de primer orden (por observación directa de la presencia o ausencia de los alelos estudiados):

- Cuando el supuesto hijo/a posee un alelo que está **ausente** en el presunto padre y en la madre.
- Cuando en el supuesto hijo/a **no** se detecta ninguno de los alelos que están presentes en el presunto padre (siendo al menos uno de ellos heterocigoto).

Exclusión de segundo orden (basado en el estado de homocigosis deducido de un resultado no coincidente):

- Cuando el supuesto hijo/a y el presunto padre son homocigotos para caracteres distintos.

Índice de Paternidad y Probabilidad de paternidad

Cuando la exclusión de paternidad no es posible, se calcula el Índice de Paternidad, que expresa el cociente entre las probabilidades de las dos hipótesis planteadas. (Individuos relacionados frente a no relacionados).

$$IP = X/Y$$

X es la probabilidad de los perfiles asumiendo la hipótesis de paternidad

Y es la probabilidad de los perfiles, asumiendo que el padre biológico es un hombre al azar de la población, no relacionado con el presunto padre

Además se calcula la probabilidad de paternidad (**W**), valor que expresa la probabilidad de que el presunto padre sea el padre biológico, a la vista de los resultados obtenidos en los diferentes marcadores genético moleculares realizados y presuponiendo la maternidad indubitada. Para realizar estos cálculos se parte de una probabilidad de paternidad a priori de 0.5, es decir, el presunto padre tiene, a priori, las mismas probabilidades de ser el padre como de no serlo.

$$W = p \cdot IP / (p \cdot IP + 1 - p)$$