

2022

INSTITUTO NACIONAL DE
MEDICINA LEGAL Y
CIENCIAS FORENSES

Rocío Lizarazo Quintero.
Coordinadora Grupo
de Genética Forense –
Dirección Regional
Bogotá

[Secuenciación de Nueva Generación, nuestro aliado para resolución de casos complejos]

En este documento, describe como se ha trabajado el enfoque diferencial en el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, para lograr una atención incluyente con cero discriminación

USO DE LA TÉCNICA DE SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN EN EL SERVICIO FORENSE

El Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses - INMLCF, quien tiene como misión direccionar, prestar y controlar el servicio forense en todo el territorio nacional, soportado en el Sistema de Medicina Legal, el conocimiento técnico y científico innovador, y las tecnologías, optimizando el uso de recursos, para contribuir a la justicia y a la convivencia social, ha identificado las ventajas en la ciencia genómica para los informes forenses, los cuales se detallan en este documento.

La secuenciación masiva en paralelo del ADN o Secuencia de Nueva Generación (NGS/MPS), es una tecnología de la ciencia genómica implementada en la última década, que permite el análisis de genomas completos. La cobertura del estudio genómico varía; puede ir desde la secuenciación de todo un genoma, hasta la de solo un grupo de sitios específicos del ADN, igualmente numerosos, con una variedad de aplicaciones en la medicina y en general las ciencias naturales.

Actualmente, es de gran utilidad en el diagnóstico de enfermedades genéticas, donde es posible analizar todo el genoma de un paciente y detectar la mutación causante de su patología. En el estudio de la muerte súbita, por ejemplo, permite analizar más de 700 genes asociados a esta entidad; de ser positivo, el estudio establecería la causa de la muerte, lo que constituye un importante hallazgo para el patólogo forense, dado el notable número de casos de muerte sin causa aparente que se observan en nuestras salas de necropsias. El estudio NGS/MPS se considera, por lo tanto, como una autopsia molecular.

A nivel forense tiene un impacto importante, puesto que permite el análisis de STRs (Short Tandem Repeat) autosómicos, de cromosomas Y y X y de ADN mitocondrial. Recientemente se han diseñado paneles de marcadores genéticos dirigidos a la identificación de cadáveres gracias a los cuales, la tecnología NGS/MPS puede construir un perfil genético de más de 230 loci del ADN de una persona en un mismo análisis de laboratorio. Además, incluye marcadores de amplicón corto como los SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), de longitudes tan cortas como 60 pb, que facilitan el análisis de muestras degradadas. El estudio es también útil en la identificación de cuerpos donde solo se cuenta con familiares genéticamente poco informativos como hermanos, medio hermanos, primos, sobrinos, etc., en estos casos, dado el alto número de marcadores que se analizan que se logra incrementar los valores de probabilidad del parentesco, lo que resulta difícil de lograr con la tecnología convencional que manejan los laboratorios actualmente.

Estas aplicaciones forenses han sido recientemente validadas y puestas a punto por un equipo de genetistas del INML (Forero, C y Paredes, M. 2018), sobre una plataforma de la firma Illumina Co. denominada MiSeq FGx instalada en el laboratorio de la Dirección Regional Bogotá, y dado que ya se han cumplido los requisitos científicos y de calidad para su implementación, se propone su uso de rutina como apoyo a los laboratorios en la resolución de casos complejos; a continuación, se describen los requisitos y condiciones del servicio propuesto.

El año 2017 el INMLCF adquirió la tecnología de Secuenciación de Nueva Generación (NGS) de la plataforma Illumina (Verogen). Esta fue validada, estandarizada e implementada en el sistema de Genómica Forense MiSeq FGx en el laboratorio de Genética Forense de la Dirección Regional Bogotá.

MiSeq FGx, es el primer sistema de secuenciación de ADN de próxima generación completamente validado, diseñado para la ciencia forense y permite que el flujo de trabajo sea más completo e integrado.

La validación, se trabajó mediante el procesamiento de muestras complejas (parentescos poco informativos en casos de filiación o identificación) así como los de difícil análisis, como los son los restos óseos de casos forenses, los cuales previamente no han podido ser resueltos mediante la tecnología estándar PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) -Electroforesis Capilar (EC). Inicialmente se realizó el análisis de ADN de restos óseos, siguiendo el protocolo del fabricante con 96 muestras y a partir de los resultados obtenidos surgió la necesidad de hacer ajustes en la cantidad de muestras analizadas simultáneamente. Los parámetros de calidad fueron estandarizados al analizar tipo de muestra y capacidad de la celda que emplea el secuenciador.

Posteriormente, se realizó un estudio poblacional para estimar las frecuencias de los marcadores SNPs. En la actualidad, con esta tecnología, se están analizando de casos de difícil análisis relacionado con la degradación y escasez de ADN.

Por lo anteriormente expuesto y en aras de mejorar resultados de casos complejos, se proponen variaciones en los protocolos empleados. De esta forma la propuesta es ofrecer el servicio de NGS, como tecnología compatible con los estándares de calidad bajo los cuales trabajan los laboratorios de ensayo de Genética Forense.

Se ha considerado que este servicio se prestará en el laboratorio de Genética Forense de la Dirección Regional Bogotá, donde se encuentra el equipo MiSeq FX de Illumina y con cubrimiento a nivel nacional en lo referente a los servicios de genética forense que demanda el país, soportaría el procesamiento de casos difíciles de las áreas de: Identificación de personas, cadáveres y fragmentos corporales humanos, la Individualización de vestigios biológicos de interés en la investigación criminal y la Investigación genética de la filiación o pruebas de paternidad y/o maternidad, como apoyo a investigaciones judiciales.

Específicamente, permitiría el análisis de los siguientes casos:

- Perfilamiento genético de restos humanos no identificados con alto nivel de degradación: El estudio NGS/MPS es útil para la investigación de identidad o uniprocendencia de restos óseos degradados en los cuales el laboratorio no ha logrado obtener un perfil genético informativo con kits STR-multiplex convencionales, en plataformas de electroforesis capilar (CE).
- Perfilamiento genético de familiares de desaparecidos, de bajo grado de consanguinidad: casos de identificación de restos humanos o cadáveres, en los cuales no se cuente con referentes familiares en 1er grado de consanguinidad (padres o hijos). Se aceptan todos los casos de identificación donde solo existan como referentes, hermanos o medios hermanos, o sobrinos, o primos, o tíos de la persona desaparecida.
- Investigaciones de la paternidad o maternidad con escenarios complejos: reconstrucción de perfil del padre ausente o el abuelo (a) paterno fallecido (a).
- Investigaciones criminalísticas:
 - Perfilamiento de EMPs (Elementos Materiales Probatorios) sin titular conocido, asociados a delitos sexuales, con espermatozoides o PSA (Antígeno Prostático Específico) o Semenogelina positivos. Incluye estudio del fenotipo y ancestría biogeográfica.

- Perfilamiento de personal carcelario: condenados o imputados según la ley del banco genético.
- Perfilamiento de sospechosos, indiciados o imputados.
- Sangre o saliva sobre tarjeta FTA

Por lo anterior y a partir de la validación del método y el desarrollo de los ensayos adicionales y en aras de mejorar la cantidad y calidad del ADN, se han propuesto nuevos protocolos para el procesamiento de las muestras. Así mismo, variaciones en el procedimiento indicado por el fabricante.

Integración y participación de las partes interesadas

Para la puesta en marcha de la técnica de NGS en la entidad se trabajó con los expertos técnicos de genética, Dr. Manuel Paredes, Dra. Constanza Forero, Dra. Andrea Pinzón, Dra. Schyrly Carrillo, con el apoyo inicial de la casa matriz para el entrenamiento y apoyo técnico científico.

Proyectó: Andrea Pinzón Reyes. Profesional Especializado Forense. Grupo Nacional de Ciencias Forenses.

Schyrly Andrea Carrillo. Profesional Especializado Forense. Grupo de Genética Forense – Dirección Regional Bogotá

Revisó y aprobó: Rocío Lizarazo Quintero. Coordinadora Grupo de Genética Forense – Dirección Regional Bogotá