

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN A LA GENÉTICA FORENSE NO HUMANA

DEFINICIÓN E HISTORIA DE LA GENÉTICA FORENSE, ÁREAS DE
INCUMBENCIA, OBJETIVOS Y APLICACIONES

Guillermo Giovambattista, c, Pilar Peral García

1.1. Historia de la Genética Forense

La genética forense se define como la especialidad que engloba las aplicaciones de las técnicas de genética molecular basadas en el análisis de los polimorfismos del ADN y en la identificación de individuos, razas o especies con el fin de auxiliar a la justicia en la resolución de casos judiciales.

El origen de la genética se remonta a los estudios de Mendel publicados en el año 1866. Desde ese hito inicial, una serie de eventos como el desarrollo de los primeros marcadores genéticos, los mapas de ligamiento, la teoría de la genética de poblaciones, entre otros (Roewer, 2014), fueron cimentando las bases de esta disciplina en las últimas tres décadas, permitiendo el surgimiento de la genética forense (Figura 1.1).

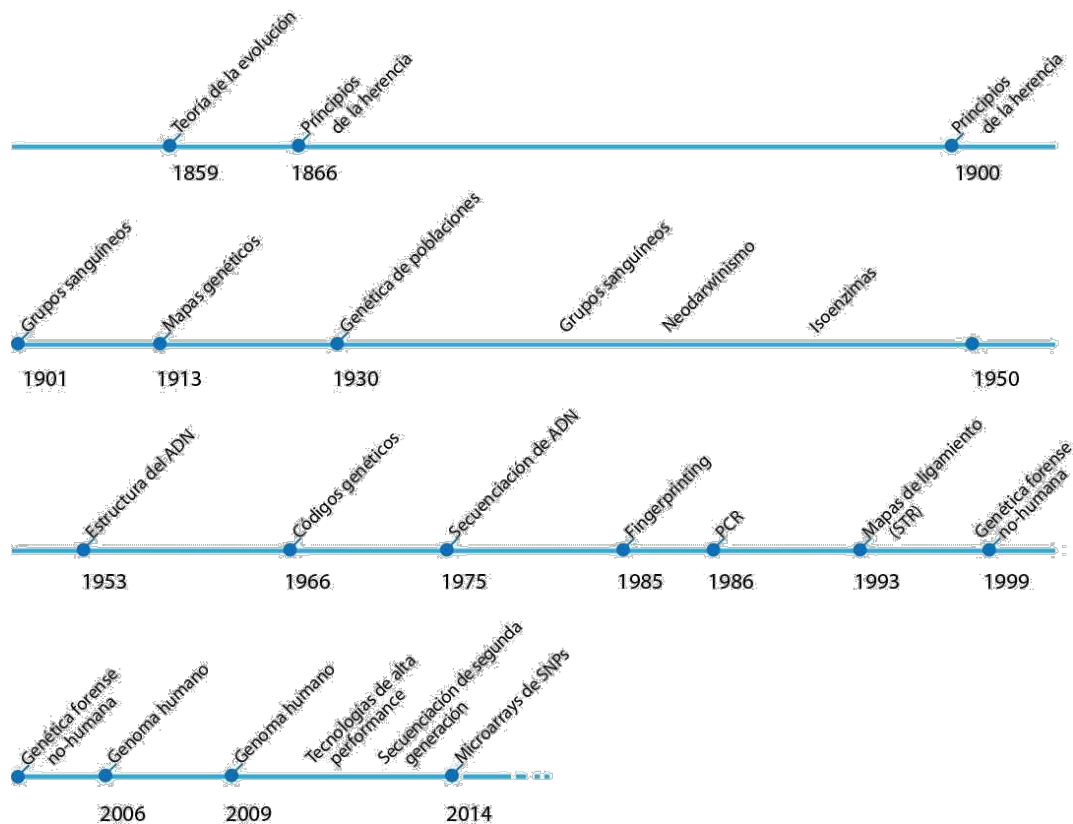


Figura 1.1: Cronología de los principales hitos en el desarrollo de la genética.

Inicialmente, los estudios de identificación genética y la resolución de filiaciones se realizaban a través de la tipificación de grupos sanguíneos, de genes del sistema principal de histocompatibilidad (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*) y de polimorfismos bioquímicos o isoenzimas (Ripoli y Villegas Castagnasso, 2010). Estas técnicas se basan en el análisis de las variaciones a nivel proteico mediante geles de electroforesis o reacciones serológicas e inmunológicas, por lo que su uso se limitaba al estudio de polimorfismos que producen cambios no sinónimos en las proteínas y a partir del análisis de muestras frescas de unos pocos tipos de tejidos, como por ejemplo la sangre. Sin embargo, a partir de la década del '50 del siglo XX, con la descripción de la estructura del ADN y el descubrimiento del código genético y con el desarrollo de las técnicas de biología molecular (secuenciación del ADN,

enzimas de restricción, técnicas de hibridación) comenzaron a sentarse las bases para el surgimiento de la genética forense.

En 1985, Sir Alec John Jeffreys, genetista británico de la Universidad de Leicester, descubrió un patrón de variable y heredable basado en el análisis del ADN mediante sondas multi-locus del tipo minisatélites, lo que permitió desarrollar la técnica de las huella genéticas de ADN (*DNA fingerprinting*; Figura 1.2) (Jeffreys et al., 1985; Kirby, 1990). Esta metodología permitió por primera vez determinar los perfiles de ADN de un individuo o de una muestra biológica. Por lo tanto, la huella digital (*forensic genetic fingerprinting*) puede definirse como “la comparación del ADN nuclear de una persona con aquel identificado en una muestra biológica encontrada en la escena del crimen o con el ADN de otra persona con el propósito de realizar una identificación o una exclusión” (Roewer, 2014).



Figura 1.2: Fotografía de la primera huella genética de Sir Alec John Jeffreys expuesta en el Museo de Ciencias de Londres, Reino Unido

La primera aplicación de esta metodología consistió en la identificación de los parientes residentes en el Reino Unido de un menor en un caso de inmigración ilegal. Los resultados obtenidos permitieron

evitar la deportación del menor (Jeffreys et al., 1985). En el año 1987, la técnica de la huella genética se utilizó por primera vez como técnica forense policial para identificar al violador y asesino de dos jóvenes británicas, Lynda Mann y Dawn Ashworth, que habían sido asesinadas en la ciudad de Narborough (Leicestershire, Reino Unido) en los años 1983 y 1986, respectivamente (Cuadro 1.1). La resolución de este caso puso en evidencia la gran potencialidad de los métodos de identificación genética basados en el análisis del ADN. La tecnología de la huella genética fue rápidamente aplicada a la identificación de otros organismos, incluyendo plantas y hongos (Nybom et al., 2014). En este contexto, los animales domésticos no fueron la excepción (Jeffreys et al., 1987). A pesar de que la técnica desarrollada por Jeffreys fue aplicada con éxito hasta mediados de los '90 para resolver casos forenses y de filiación, ésta presentaba varias limitaciones en cuanto a la cantidad y la calidad del ADN requerido, a la repetitividad y la estandarización y al análisis estadístico de los resultados (Ripoli y Villegas Castagnasso, 2010; Roewer, 2014).

En los años sucesivos, otros desarrollos tecnológicos en el área de la biología molecular (por ejemplo, la aplicación de la tecnología de electroforesis capilar a la secuenciación del ADN y la mejora de los métodos de purificación de ADN a partir de diferentes tipos de muestras y estados de conservación) y en otras disciplinas como la informática y la genética de poblaciones aplicada a las ciencias forenses (*ver capítulos 3, 5 y 6*) fueron cimentando las bases para la consolidación de la genética forense. Sin embargo, el hito que marcó un cambio radical en las posibilidades reales de aplicación de las ciencias forenses fue el desarrollo que realizó Kary Mullis en 1985: la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polimerase chain reaction*). Esta metodología permite la amplificación de cientos de miles de copias de ADN a partir de una secuencia molde específica (*target*) limitada por un par de oligonucleótidos (*primers*). Aunque las primeras versiones de la PCR resultaron poco eficaces, el uso de polimerasas de ADN

termoestables extraídas de microorganismos hemofílicos, como por ejemplo la Taq polimerasa, permitió su uso masivo.

Finalmente, el uso de la PCR para amplificar secuencias repetidas en tándem del tipo microsatélites (STRs, del inglés *short tandem repeat*) (Goldstein y Schlötterer, 1999) y la posterior separación de los fragmentos (alelos) mediante secuenciadores capilares (originalmente en geles de poliacrilamida) permitió el desarrollo de los actuales métodos de identificación genética y la asignación racial, mientras que la amplificación y secuenciación de fragmentos de ADN correspondientes principalmente a genes mitocondriales es la base de los métodos usualmente empleados para la identificación de especies (*ver capítulos 3, 7, 8 y 9*).

En las tres últimas décadas, las metodologías antes mencionadas se han usado extensivamente en todo el mundo en el área de las ciencias forenses para asistir en el trabajo de los fiscales y policías y de esta forma aportar evidencias para resolver casos judiciales. La genética forense se aplicó inicialmente a la resolución de *casos humanos*, donde tanto la víctima como el sospechoso eran de esta especie. Así por ejemplo, pueden mencionarse casos de paternidades, asesinatos, violaciones, inmigración ilegal, catástrofes naturales, desaparición de personas, atentados terroristas y guerras (Roewer, 2014). La disponibilidad de técnicas sensibles y precisas de biología molecular ha permitido el análisis de restos orgánicos como pelos, semen, saliva y sangre, secuestrados en las escenas de un crimen, delito sexual o catástrofe. Por esta razón, cuando se piensa en genética forense se la asocia a la resolución de este tipo de casos. Sin embargo, esta situación ha comenzado a cambiar en los últimos quince años con el surgimiento de una nueva disciplina denominada *genética forense no humana*, la que se describirá a lo largo del presente libro.

1.2. Genética Forense No Humana

Los primeros casos forenses que involucraron muestras biológicas no humanas surgen ante la necesidad de resolver casos donde las víctimas eran humanos, como por ejemplo ataques de animales a personas, accidentes de autos que involucraban animales, o asesinatos (Menotti-Raymond et al., 1997; Savolainen y Lundeberg, 1999; Schneider et al., 1999; Halverson y Basten, 2005; Nussbaumer y Korschineck, 2006; Ogden et al., 2009). Se han utilizado evidencias provenientes de las mascotas de las víctimas o de los sospechosos para resolver casos judiciales humanos y de esta forma condenar o absolver al acusado (Figura 1.2). En 1999, Savolainen y Lundeberg reportaron seis casos forenses que incluían tres asesinados, un asalto a banco, un robo y un caso de caza furtiva, donde las evidencias consistían en restos de pelos presuntamente originados en perros y/o lobos. El ADN procedente de los bulbos pilosos fue analizado mediante la secuenciación de un fragmento de la región control del ADN mitocondrial (ADNmt). Los resultados obtenidos se compararon con las secuencias reportadas en las base de datos establecidas para las poblaciones de perros y lobos. Dichas comparaciones permitieron la exclusión de los ocho sospechosos de los casos de asesinatos. Sin embargo, las evidencias permitieron vincular dos de los asesinatos, ya que compartían la misma secuencia rara de ADNmt, característica de una raza de perros. En el caso de robo y en el asalto del banco se pudo establecer un vínculo entre las muestras biológicas y los sospechosos. Finalmente, en el caso de caza furtiva, se pudo establecer que los pelos provenían de un perro y no un lobo. Los estudios demostraron que el análisis genético de muestras de origen animal es una valiosa herramienta para las investigaciones forenses.

En los últimos años la disciplina ha evolucionado independientemente de la genética humana con el fin de resolver casos donde el objeto de estudio es un animal o un vegetal. Es por esta razón que la *genética forense animal*, *vegetal* o en forma más genérica *genética forense no humana* es una nueva disciplina que puede ser definida como “la

aplicación de técnicas y teorías genéticas en asuntos legales que involucran materiales biológicos de origen animal o vegetal” (Animal Forensic Workshop, ISAG Conference 2008, Amsterdam, The Netherlands, http://www.isag.us/Docs/Proceedings/ISAG_Proceedings_2008.pdf). Esta área del conocimiento provee perfiles de ADN que permiten relacionar al sospecho, la víctima y la escena del crimen, en los cuales el animal puede haber sido la víctima (casos de crueldad animal, robo de animales, tráfico ilegal de fauna silvestre), el culpable (animales involucrados en ataques a personas u otro animal, causantes de accidentes, responsables de daños a propiedades) o el testigo (muestras de ADN de origen animal pueden relacionar al sospechoso con la escena del crimen o con la víctima) (Giovambattista et al., 2001; Lirón et al., 2007; Díaz et al., 2007; Himmelberger et al., 2008; van de Goor et al., 2009; Grahn et al., 2010; Di Rocco et al., 2011; Frosch et al., 2011; Ogden et al., 2012; Wictum et al., 2012). Los resultados del análisis de microsatélites de muestras biológicas se han presentado en los Juzgados como evidencias en casos que involucraban animales domésticos, tales como bovinos, ovejas, cabras, caballos y llamas (<http://www.vgl.ucdavis.edu/forensics/index.php>).

La Argentina fue pionera en el desarrollo de la genética forense animal. En 1990, el grupo de genética de animales domésticos del Instituto de Genética Veterinaria (IGEVEV, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata) resolvió para el Poder Judicial de la Provincia de Buenos Aires el primer caso de genética forense animal, que consistió en la resolución de un caso de robo de ganado o abigeato (Giovambattista et al., 2001). Desde esa fecha se han resuelto en el país varios centenares de casos judiciales que involucraban muestras de origen animal: robo de ganado y mascotas, adulteración de alimentos, fauna ilegal y dopaje de caballos (Lirón et al., 2007; Díaz et al., 2008; Di Rocco et al., 2011). En la actualidad, existe una red de laboratorios compuesta por las Facultades de Ciencias Veterinarias de las Universidades Nacionales de La Plata, del Centro de

la Provincia de Buenos Aires y de La Pampa, dedicadas a la resolución de casos de genética forense animal, como así también el laboratorio de Genética Aplicada de la Sociedad Rural Argentina (SRA). Estos casos han tenido una alta visibilidad social en el país (Figura 1.3).



Figura 1.3: Visibilidad social de la genética forense animal en la Argentina.

Debido al surgimiento de la genética forense no humana y el posterior crecimiento del número de laboratorios especializados en esta disciplina, comenzaron a publicarse artículos sobre esta temática en diferentes revistas periódicas de ciencias forense y medicina legal (Tabla 1.1; <http://www.forensicswiki.org/wiki/Journals>), así como también libros especializados en genética forense animal (van de Goor, 2011; Merck, 2012; Linacre y Tobe, 2013; Rivers y Dahlem, 2014) o vegetal (Hall y Byrd, 2012).

Tabla 1.1. Lista de las principales revistas dedicadas a las ciencias forenses.

Nombre	Asociación	Editorial	Web
Forensic Science International		Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/forensic-science-international/
Forensic Science International Supplement Series		Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/forensic-science-international-supplement-series
Forensic Science International: Genetics	ISFG	Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/forensic-science-international-genetics
Forensic Science International: Genetics Supplement Series	ISFG	Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/forensic-science-international-genetics-supplement-series
Journal of Forensic Sciences	American Academy of Forensic Sciences	Wiley	http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1556-4029
Legal Medicine	Japanese Society of Legal Medicine	Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/legal-medicine
Investigative Genetics		BioMed Central	http://www.investigativegenetics.com/
Journal of Forensic and Legal Medicine		Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/journal-of-forensic-and-legal-medicine
Science & Justice	Journal of the Forensic Science Society	Elsevier	http://www.journals.elsevier.com/science-and-justice
Journal of Forensic Research		OMICS Publishing Group	http://www.omicsonline.org/forensic-research.php
Journal of Forensic Science & Criminology		Annex Publishers	http://www.annexpublishers.com/journals/journal-of-forensic-science-and-criminology/jhome.php
Problems Of Forensic Sciences		Instytut Ekspertyz Sądowych	http://www.forensicscienc.e.pl/content/view/8/14/lan
Australian Journal of Forensic Sciences	Australian Academy of Forensic Sciences	Taylor & Francis	http://www.tandfonline.com/toc/tajf20/current#.UlsqyfvQWo8o

Una de las consecuencias del crecimiento de la genética forense no humana fue la aparición de cursos de especialización en instituciones académicas como respuesta a la necesidad de formar recursos humanos. En el anexo se mencionan algunos ejemplos de la amplia oferta de cursos sobre genética forense que se dictan en distintas instituciones académicas.

Simultáneamente, se organizan talleres de discusión sobre genética forense no humana en reuniones científicas de diferentes asociaciones científicas internacionales, como la Asociación Internacional para la Genética Animal (ISAG, <http://www.isag.us/>) y la Sociedad Internacional de Ciencias Forenses (ISFG, <http://www.isfg.org/>), y en sociedades locales, como la Sociedad Argentina de Genética Forense (SAGF, <http://www.sagf.org.ar/>). En estas reuniones se discuten diferentes temas de interés para la genética forense no humana, tales como el desarrollo y mejoramiento de los métodos de genotipificación, el desarrollo de bases de datos para los diferentes tipos de marcadores en diferentes especies, la descripción de casos de aplicación, los mecanismos de colaboración inter-laboratorio (*Proficiency test* vs. *Comparison test*) y las recomendaciones para la estandarización de laboratorios dedicados a la genética forense no humana (acreditación/certificación). Con respecto a los dos últimos puntos, no se puede dejar de mencionar los esfuerzos realizados con el fin de proponer listas de recomendaciones para los laboratorios dedicados a la genética forense animal (Budowle et al., 2005), así como la validación de los métodos de genotipificación y la estandarización de las nomenclaturas (Van de Goor et al., 2009; Wictum et al., 2012). En la Tabla 1.2 se detallan los principales talleres sobre genética forense no humana realizados hasta el momento.

Tabla 1.2. Lista de talleres sobre genética forense no humana.

Taller	Asociación	Lugar/fecha	Web
22nd Congress of the International Society for Forensic Genetics	ISFG	Copenhague, Dinamarca, 2007.	http://www.isfg.org/Meeting
23rd Congress of the International Society for Forensic Genetics	ISFG	Buenos Aires, Argentina. 2013	http://www.isfg.org/Meeting
24th World Congress of the International Society for Forensic Genetics	ISFG	Viena, Austria. 2011	http://www.isfg.org/Meeting
25th Congress of the International Society for Forensic Genetics.	ISFG	Melbourne, Australia, 2013	http://www.isfg.org/Meeting
Primer Workshop sobre Genética Forense No-Humana	ISAG	Porto Seguro, Brasil, 2008	http://www.isag.us/conferences_past.asp
Segundo Workshop sobre Genética Forense No-Humana	ISAG	Amsterdam. Países Bajos, 2008.	http://www.isag.us/conferences_past.asp
Tercer Workshop sobre Genética Forense No-Humana	ISAG	Edimburgo, Escocia. 2010.	http://www.isag.us/conferences_past.asp
Cuarto Workshop sobre Genética Forense No-Humana	ISAG	Cairns, Australia, 2012	http://www.isag.us/conferences_past.asp
SWFS 2012 meeting	SWFS	Jackson Lake Lodge near Jackson, WY, USA 2012	http://www.wildlifeforensicscience.org/

Otra consecuencia del desarrollo de la genética forense no humana fue la necesidad de la implementación de bases de datos poblacionales para las diferentes especies domésticas o especies silvestres, información imprescindible para la estimación de los índices forenses, la interpretación de los resultados y la redacción de los informes (Halverson y Basten, 2005; Himmelberger et al., 2008; Grahn et al., 2011; Kanthaswamy et al. 2009; para más detalle ver capítulo 4). En la Argentina, en el marco del Programa Provincial de Identificación Genética para la Prevención y Resolución de Casos de Abigeato en Ganado Mayor (Bovinos y Equinos), en el Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET, CCT-CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata) se implementó una base de datos genéticos para las principales razas de animales de producción (bovinos, equinos, ovinos) y de compañía (perros) para ser usada en la resolución de casos forenses.

1.3. Perspectivas Futuras de la Genética Forense

Como se mencionó anteriormente, los cambios tecnológicos significativos ocurridos en los últimos años han modificado radicalmente el enfoque de los estudios en la mayoría de las ciencias biológicas, migrando los trabajos del análisis de uno o unos pocos genes a los estudios genómicos. Como era de esperar, las ciencias forenses no han sido ajenas a estos cambios tecnológicos y conceptuales. En su momento, la tecnología de Jeffreys significó un importante desarrollo y el puntapié inicial para la genética forense. Sin embargo, la evolución tecnológica la tornó obsoleta para los usos forenses y se pasó del *Southern blot* a la PCR, de las marcas radiactivas a las fluorescentes y de la electroforesis en geles a la electroforesis capilar. Como las técnicas se hicieron más sensibles, automatizables y con mayor repetitividad y los métodos estadísticos se hicieron más potentes, la genética forense

se expandió en numerosos laboratorios de todo el mundo, ampliándose significativamente el campo de aplicación.

Ante los continuos cambios tecnológicos, la comunidad de genética forense usualmente se pregunta en qué dirección se desarrollará la huella genética (Budowle y van Daal, 2009; Kayser y de Knijff, 2011). Mientras que la determinación de la huella genética basado en minisatélites es el pasado, los microsatélites y la secuenciación capilar son el presente, con los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs, del inglés *simple nucleotide polymorphism*), las inserciones y supresiones (INDELs, del inglés *insertions and deletions*) y las tecnologías de microarreglos (*microarrays*) y de secuenciación masiva de segunda generación (NGS, del inglés *Next Generation Sequencing*) estamos adentrándonos en el futuro. Un número creciente de investigadores del área están convencidos que los métodos que utilizan NGS reemplazarán en un futuro cercano a aquéllos basados en análisis de fragmentos (microsatélites). Con el surgimiento de las tecnologías de NGS es posible ampliar significativamente los alcances de la genética forense, ya que, por ejemplo, será posible analizar rápida y económicamente un enorme número de loci informativos (Parson et al., 2013; Roewer, 2014).

En la actualidad, podemos definir cuatro tipos de juegos de polimorfismos desde el punto de vista forense: i. un juego de 12-30 STRs autosómicos estandarizado a nivel internacional; ii. un panel de marcadores del cromosoma Y altamente informativos; iii. polimorfismos de la región control y de regiones codificantes del ADNmt; y iv. SNPs autosómicos que permitan inferencias fenotípicas (Budowle y van Daal, 2008; Roewer, 2014). Recientemente se ha planteado la posibilidad de tipificar los paneles de STRs mediante NGS (Bornman et al., 2012; Warshauer et al., 2013). Por otra parte, Allen et al. (2013) desarrollaron una metodología basada en NGS que permite tipificar simultáneamente estos cuatro tipos de marcadores genéticos: 10 STRs, 386 SNPs marcadores autosomales para determinar ancestría y características

fenotípicas, y el genoma completo del ADNmt. Sin embargo, a pesar de lo promisorio de las técnicas de NGS, éstas aún presentan una tasa de error demasiado elevada para el trabajo rutinario en genética forense (Bandelt y Salas, 2012), aunque es de esperar que estas tecnologías mejoren su precisión y consistencia en el corto plazo.

Una pregunta que ha surgido con la posibilidad de tipificar simultáneamente un número grande de SNPs de regiones codificantes es ¿Con qué precisión se podría predecir la apariencia de un individuo a través del análisis del ADN? Diferentes autores han realizado identikit moleculares mediante el estudio de genes relacionados a pigmentación, ancestría, entre otros, con resultados promisorios (Kayseremail y Schneideremail 2009; Walsh et al., 2011; Walsh, 2013).

Otra área donde las nuevas tecnologías seguramente tendrán un impacto significativo es en el control de alimentos para la detección de contaminaciones y adulteraciones. Proyectos internacionales como el *International Barcode of Life* (iBOL; <http://ibol.org/>) han tenido derivaciones hacia su aplicación en genética forense (Dawnay et al., 2007; Carvalho et al., 2011; Dalton et al. 2011; Haye et al., 2012; Galimberti et al., 2013), existiendo un incremento en el monitoreo de los puntos de ventas para verificar la sustitución de productos comestibles (Wong y Hanner, 2008; Miller y Mariani, 2010) o medicinales (Wallace et al., 2012). En este sentido, organizaciones como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) ya han desarrollado normativas para la identificación de especies acuáticas con el fin de garantizar la seguridad alimenticia (<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/DNASeafoodIdentification/>). En este contexto, las nuevas tecnologías de NGS tendrán un importante papel, especialmente para la determinación de la composición de productos mezclas (por ejemplo, alimento con mezclas como dulces, paté).

Otro tema de discusión es la reducción del tiempo que llevan los análisis genéticos para determinar un perfil de ADN, factor esencial en

las investigaciones policiales. Ya existen instrumentos comerciales que producen en sólo dos horas un perfil de ADN comparable a los almacenados en las bases de datos. Estos equipos se encuentran actualmente en estado de validación (Tan et al., 2013) y cambiarán en el futuro la forma en que se obtiene y analiza el ADN, ya que a partir de un hisopado pueden brindar un perfil de ADN, realizando la extracción, amplificación, separación, detección y lectura (*allele calling*) totalmente automática y sin intervención humana. Esto permitirá la rápida identificación de personas o animales que se encuentren en bases de datos. Sin embargo, y a modo de comentario final, no se tienen que olvidar los beneficios y costos sociales que tendrá la aplicación de las nuevas tecnologías emergentes (Levitt, 2007).

1.4. Acerca del presente libro

A lo largo de los diferentes capítulos del presente libro se hará un recorrido por las diferentes áreas del conocimiento involucradas en la genética forense en general y la genética forense no humana en particular, todas piezas necesarias para la resolución de un caso forense y la posterior redacción e interpretación correcta de los resultados obtenidos. Así, por ejemplo, se abordarán desde el relevamiento de las muestras en el lugar del hecho y las evidencias secuestradas en poder de los sospechosos (Capítulo 2) – primer paso indispensable para la correcta resolución de un caso judicial – pasando posteriormente por la descripción de los métodos de análisis de ADN (Capítulo 3), las bases de datos genéticos (Capítulo 4) y los métodos estadístico poblacionales (Capítulos 5 y 6) más comúnmente empleados en los estudios forenses. Por otra parte, se describe el estado del arte de la genética forense no humana a diferentes niveles de organización (individuo, población/raza y especie), haciendo hincapié en los ejemplos de aplicación para resolver casos forenses animales y vegetales (Capítulos 7, 8 y 9). Finalmente, se discutirán las normas de acreditación y certificación de los laboratorios

genéticos, necesarias para garantizar la calidad y repetitividad de los resultados obtenidos (Capítulo 10).

1.5. Referencias Bibliográficas

Allen, M., Nilsson, M., Havsjö, M., Edwinsson, L., Granemo, J., Bjerke, M., (2013) “Haloplex and MiSeq NGS for simultaneous analysis of 10 STRs, 386 SNPs and the complete mtDNA genome”. 25th Congress of the International Society for Forensic Genetics, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 de septiembre de 2013, Melbourne.

Bandelt, H.J., Salas, A., (2012) “Current next generation sequencing technology may not meet forensic standards” en *Forensic Sci Int Genet*. Número 6, pp. 143–145.

Bornman, D.M., Hester, M.E., Schuetter, J.M., Kasoji, M.D., Minard-Smith, A., et al. (2012) “Short-read, high-throughput sequencing technology for STR genotyping” en *Biotechniques*, pp. 1–6.

Brauner, P., Reshef, A., Gorski, A., (2001) “DNA Profiling of Trace Evidence—Mitigating Evidence in a Dog Biting Case” en *J Forensic Sci*. Número 46(5), pp. 1232-1234.

Budowle, B. and Van Daal, A., (2009) “Extracting evidence from forensic DNA analysis: future molecular biology directions” en *Biotechniques*. Número 46, pp. 342–350.

Budowle, B., Garofano, P., Hellmann, A., Ketchum, M., Kanthaswamy, S., Parsons, W., et al., (2005) “Recommendations for animal DNA forensic identity testing” en *Int J Legal Med*. Número 119(5), pp. 295–302.

Budowle, B., Van Daal, A., (2008) “Forensically relevant SNP classes” en *Biotechniques*. Número 44, pp. 603–608.

Carvalho, D.C., Neto, D.A., Brasil, B.S., Oliveira, D.A., (2011) “DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil” en *Mitochondrial DNA*. Número 1, pp. 97-105.

Dalton, D.L., Kotze, A., (2011) "DNA barcoding as a tool for species identification in three forensic wildlife cases in South Africa" en *Forensic Science International*. Número 207, pp. 1-3, pp. 51–54.

Dawnay, N., Ogden, R., McEwing, R., Carvalho, G.R., Thorpe, R.S., (2007) "Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification" en *Forensic Science International*. Número 173, pp. 1–6.

Di Rocco, F., Posik, D.M., Ripoli, M.V., Díaz, S., Maté, M.L., Giovambattista, G., Vidal-Rioja, L., (2011) "South American Camelid Illegal Traffic Detection by Means of Molecular Markers" en *Legal Medicine*. Número 13, pp. 289-292.

Díaz, S., Kienast, M.E., Villegas-Castagnasso, E.E., Pena, N.L., Manganare, M.M., Posik, D.M., Peral-García, P., Giovambattista, G., (2008) "Substitution of Human for Horse Urine Disproves an Accusation of Doping" en *Journal of Forensic Science*. Número 53, pp. 1145-1148.

Frosch, C., Dutsov, A., Georgiev, G., Carsten Nowak, (2011) "Case report of a fatal bear attack documented by forensic wildlife genetics" en *Forensic Science International: Genetics*. Número 5, pp. 342–344.

Galimberti, A., De Mattia, F., Losa, A., Bruni, I., Federici, S., Casiraghi, M., Martellos, S., Labra, M., (2013) "DNA barcoding as a new tool for food traceability" en *Food Research International*. Número 50, pp. 55–63.

Giovambattista, G., Ripoli, M.V., Lirón, J.P., Villegas-Castagnasso, E.E., Peral García, P., Lojo, M.M., (2001) "DNA typing in a cattle stealing case" en *Journal of Forensic Sciences*. Número 46, pp. 1484-1486.

Goldstein, D.B., Schlötterer, C., (1999) "Microsatellites, Evolution and Applications" en *Oxford University Press*, pp. 352.

Grahn, R.A., Kurushima, J.D. , Billings, N.C., Grahn, J.C., Halverson, J.L., Hammera, E., Ho, C.K., Kun, T.J., Levy, J.K., Lipinski, M.J., Mwenda, J.M., Ozpinar, H., Schuster, R.K., Shoorijeh, S.J., Tarditi, C.R., Waly, N.E., Wictum, E.J., Lyons, L.A., (2011) "Feline non-repetitive mitochondrial DNA control region database for forensic evidence" en *Forensic Sci Int Genet*. Número 5(1), pp 33-42.

- Hall, D.W. y Byrd, J., (2012), "Forensic Botany: A Practical Guide" en *Wiley-Blackwell*, ISBN: 978-0-470-66409-4
- Halverson, J., Basten, C.A., (2005) "PCR multiplex and database for forensic DNA identification of dogs" en *Journal of Forensic Science*, Número 50, pp. 1–12.
- Hanner, R., Becker, S., Ivanova, N.V., Steinke, D., (2011) "FISH-BOL and seafood identification: geographically dispersed case studies reveal systemic market substitution across Canada" en *Mitochondrial DNA*. Suplemento 1, pp. 106-22.
- Haye, P.A., Segovia, N.I., Vera, R., Gallardo, M.Á., Gallardo-Escárate, C., (2012) "Authentication of commercialized crab-meat in Chile using DNA Barcoding" en *Food Control*. Número 25, pp. 239-244.
- Himmelberger, A.L., Spear, T.F., Satkoski, J.A., George, D.A., Garnica, W.T., Malladi, V.S., Smith, D.G., Webb, K.M., Allard, M.W., Kanthaswamy, S., (2008) "Forensic utility of the mitochondrial hypervariable region 1 of domestic dogs, in conjunction with breed and geographic information" en *Journal of Forensic Science*. Número 53(1), pp. 81-9.
- Jeffreys, A.J., Brookfield, J.F.Y., Semeonoff, R., (1985) "Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints" en *Nature*. Número 317, pp. 818-819.
- Jeffreys, A.J., Morton, D.B., (1987) "DNA fingerprinting of dogs and cats" en *Animal Genetic*. Número 18, pp. 1–15.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V., Thein, S.L. (1985) "Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA" en *Nature*. Número 314, pp. 67–73.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V., Thein, S.L., (1985) "Individual-specific 'fingerprints' in human DNA" en *Nature*. Número 316, pp. 76–79.
- Kanthaswamy, S., Tom, B.K., Mattila, A.M., Johnston, E., Dayton, M., Kinaga, J., Erickson, B.J., Halverson, J., Fantin, D., DeNise, S., Kou, A., Malladi, V., Satkoski, J., Budowle, B., Smith, D.G., Koskinen, M.T., (2009) "Canine population data generated from a multiplex STR kit for

use in forensic casework” en *Journal of Forensic Science*. Número 54(4), pp. 829-40.

Kayser, M. and de Knijff, P. (2011) “Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology” en *Nat Rev Genet*. Número 12, pp. 179–192.

Kayser, M., Schneider, P.M., (2009) “DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: Motivations, scientific challenges, and ethical considerations” en *Forensic Science International: Genetics*. Número 3(3), pp. 154-161.

Kirby, L.T. (1990) “DNA Fingerprinting. An introduction” en *Stockton press New York, NY, USA*.

Levitt, M., (2007) “Forensic databases: benefits and ethical and social costs” en *Br Med Bull*. Número 83, pp. 235–248.

Linacre, A., y Tobe, S., (2013) *Wildlife DNA Analysis: Applications in Forensic Science*. Wiley-Blackwell. 350 pages ISBN: 978-0-470-66595-4.

Liron, J.P., Ripoli, M.V., Peral-García, P., Giovambattista, G. (2007) “Implication of population structure in the resolution of cattle stealing cases” en *Journal of Forensic Science*. Número 52(5), pp.1077-81.

Menotti-Raymond, M., Davis, V., O’Brian, S., (1997) “Pet cat hair implicates murder suspect” en *Nature*. Número 386, pp. 774.

Merck, M.D., (ed), (2012) *Veterinary Forensics: Animal Cruelty Investigations*. 2nd Edition, Wiley-Blackwell, 424 pages. ISBN: 978-0-470-96162-9.

Miller, D.D., Mariani, S., (2010) “Smoke, mirrors and mislabeled cod: poor transparency in the European seafood industry” en *Front.Ecol.Environ*. Número 8(19), pp. 517-521.

Nussbaumer, C., Korschineck, I., (2006) “Non-human mtDNA helps to exculpate a suspect in a homicide case” en *International Congress Series* 1288, pp.136 – 138.

Nybom, H., Weising, K., Rotter, B., (2014) “DNA fingerprinting in botany: past, present, future” en *Investigative Genetics*, Número 5, pp. 1.

- Ogden, R., Heap, E., Mc Ewing, R., (2009) "Advances in the DNA analysis of canine trace evidence for serious crime investigation in the UK" en *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. Número 2, pp. 290–291.
- Parson, W., Strobl, C., Strobl, C., Huber, G., Zimmermann, B., Gomes, S.M., Souto, L., Fendt, L., Delport, R., Langit, R., Wootton, S., Lagacé, R., Irwin, J. (2013) "Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM)" en *Forensic Science Int Genet*. Número 7, pp. 632–639.
- Ripoli, M.V., Villegas Castagnasso, E.E., (2010) "Capítulo 1. Marcadores Genéticos" en *Genética de Animales domésticos* Ed Giovambattista G, P Peral García. Inter-médica, Buenos Aires, Argentina.
- Rivers, D.B., y Dahlem, G.A., (2014) *The Science of Forensic Entomology*. Wiley-Blackwell 400 pages ISBN: 978-1-119-94037-1
- Roewer, L., (2014) "DNA fingerprinting in forensics: past, present, future" en *Investigative Genetics*. Número 4, pp. 22.
- Savolainen, P., Lundeberg, J., (1999) "Forensic evidence based on mtDNA from dog and wolf hairs" en *Journal of Forensic Sciences*. Número 44(1), pp. 77-81.
- Schneider, P.M., Seo, Y., Rittner, C., (1999) "Forensic mtDNA hair analysis excludes a dog from having caused a traffic accident" en *International Journal of Legal Medicine*. Número 112, pp.315–6.
- Tan, E., Turingan, R.S., Hogan, C., Vasantgadkar, S., Palombo, L., Schumm, J.W., Selden, R.F., (2013) "Fully integrated, fully automated generation of short tandem repeat profiles" en *Investigative Genetic*. Número 4, pp. 16.
- Van de Goor, L.H.P., (2011) *Bovine and Equine Forensic DNA Analysis*. 141 pages. Utrecht University, ISBN 978-90-9026359-5.
- Van de Goor, L.H., Panneman, H. and van Haeringen, W.A., (2009) "A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for 17 equine-specific STR loci" en *Animal Genetic*. Número 41, pp. 122-127.

- Wallace, L.J., Boilard, S.M.A.L., Eagle, S.H.C., Spall, J.L., Shokralla, S., Hajibabaei, M., (2012) "DNA barcodes for everyday life: Routine authentication of Natural Health Products" en *Food Research International*. Número 49, pp. 446–452.
- Walsh, S., (2013) "DNA Phenotyping: The prediction of human pigmentation traits from genetic data" en *Erasmus University Rotterdam*. Retrieved from <http://hdl.handle.net/1765/40312>
- Walsh, S., Liu, F., Ballantyne, K.N., van Oven, M., Lao, O., Kayser, M., (2011) "IrisPlex: A sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information" en *Forensic Science International: Genetics*. Número 5(3), pp. 170–180.
- Warshauer, D.H., Lin, D., Hari, K., Jain, R., Davis, C., et al., (2013) "STRait Razor: A length-based forensic STR allele-calling tool for use with second generation sequencing data" en *Forensic Science International: Genetic*. Número 7, pp. 409–417.
- Wictum, E., Kun, T., Lindquist, C., Malvick, J., Vankan, D., Sacks, B., (2012) "Developmental validation of DogFiler, a novel multiplex for canine DNA profiling in forensic casework" en *Forensic Science International*. Número 23.
- Wong, E.H.-K., Hanner, R.H., (2008) "DNA barcoding detects market substitution in North American seafood" en *Food Research International*. Número 41(8), pp. 828–837.

1.6. ANEXO

Lista de Cursos sobre Genética Forense No Humana que se dictan en diferentes instituciones académicas

Genética Veterinaria Forense, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina (<http://www.fcv.unlp.edu.ar/>).

Cursos Medicina Forense Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina (<http://www.vet.unicen.edu.ar/>).

Forensic and Conservation Genetics, University of Central Lancashire, Preston, Reino Unido (http://www.uclan.ac.uk/courses/msc_pgdp_pgcert_forensic_and_conservation_genetics.php).

Animal Forensic, Animal Network, Fitzroy, Vic Australia (<http://www.animalforensics.com.au/course.php>).

Veterinary Forensics, College of Medicine and Veterinary Medicine, The University of Florida, Florida, USA (<http://forensics.med.ufl.edu/distance-education/veterinary-forensics-online/>).

Application of Forensic Science to Animal Cruelty, Cummings School of Veterinary Sciences, Tufts University, MA USA. (http://vet.tufts.edu/capp/animal_matters/2011_lectures.html).

Lista de Laboratorios que trabajan en genética forense animal

Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), CCT CONICET La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina (http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?id=21075&info_genera=yes&inst=yes).

Laboratorio de ADN, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

Dra. Adrian Linacre, School of Biological Sciences, Flinders University, Adelaide, South Australia, Australia (<http://www.swansea.ac.uk/undergraduate/courses/medicine/bscgenetics/>).

Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Utrecht, Utrecht, Países Bajos (<http://www.uu.nl/faculty/veterinarymedicine>).

Laboratorio de Genética Aplicada, Sociedad Rural Argentina (SRA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Laboratorio de Genética Animal de la Escuela de Veterinaria de la Universidad Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Laboratorio Van Haeringen Laboratorium BV (VHL), Ámsterdam, Países Bajos (<https://www.vhlgenetics.com/en-us/home.aspx>).

Laboratorio VGL Forensics, Davis, California, USA. (<http://www.vgl.ucdavis.edu/forensics/>).

Forensic DNA Lab., Department of Biotechnology, University of the Western Cape, Cape Town, South África (<http://www.forensicdnalab.org.za/>).

Weatherbys Ireland DNA Laboratory, Irlanda (http://www.irish-equine-centre.ie/index.php?item_id=59).

Laboratorio de Genética Animal, Escuela de Ciencias Veterinarias, Universidad de Queensland, Gatton, Queensland, Australia.

<http://www.uu.nl/faculty/veterinarymedicine/EN/Current/agenda/Pages/Koeienenpaardenvoorhetgerecht.aspx>.

Forensic Molecular Biology, Instituto de Medicina, Universidad Médica de Innsbruck, Innsbruck, Austria (http://gerichtsmedizin.at/forensic_molecular_biology.html).

Wildlife Genetics and Microscopy Unit, Australian, Centre for Wildlife Genomics, Australian Museum, Sidney, Australia
(<http://australianmuseum.net.au/acwg/#sthash.vjYfEljQ.dpuf>).

Lista de recortes periodísticos

<http://www.seguridadydefensa.com/informes/adn-para-combatir-el-robo-de-ganado-10610.html>

<http://infouniversidades.siu.edu.ar/noticia.php?id=769>,

<http://www.colonbuenosaires.com.ar/semanariocolondoce/cgi-bin/hoy/archivos/00001530.html>,

<http://www.todoagro.com.ar/noticias/nota.asp?nid=9055>

<http://www.ruralprimicias.com.ar/noticia-sra-colaboro-con-la-justicia-para-esclarecer-un-caso-de-abigeato-12018.php>,

<http://www.lanacion.com.ar/1580613-la-sra-y-su-ayuda-contr-el-abigeato>

Cuadro 1.1. El caso de los asesinatos de la ciudad de Narborough, Reino Unido.

El primer reporte del uso la técnica de huella genética (ADN fingerprinting) en casos policiales consistió en la exclusión de un hombre de sesenta años acusado de la violación seguida de muerte ocurrida en julio del año 1986 en la ciudad de Narborough, Reino Unido. El sospechoso también había sido acusado de otro caso similar ocurrido en noviembre de 1983 en la misma localidad, y que aún no había sido resuelto. La absolución se basó en que el patrón de bandas de la huella genética obtenido para la muestra de semen recuperada de la víctima y la muestra de sangre perteneciente al sospechoso no coincidían. Sin embargo, las muestras de semen recuperadas en los casos presentaban el mismo perfil genético. Como en base a otras evidencias la policía sospechaba que el violador/asesino era un hombre joven que vivía en el mismo distrito que las víctimas, se procedió a muestrear a toda la población sospechosa de esa localidad (5.500 hombres). El 40% las muestras compartían el mismo grupo sanguíneo que el de las evidencias (muestras de semen), por lo que se procedió a analizarlas mediante la técnica de la huella genética. En principio este análisis no permitió detectar ninguna muestra compatible. Sin embargo, en una conversación fortuita, un cliente admitió al cantinero de un pub que durante el muestreo había donado dos muestras, la suya y la de un compañero de trabajo incapacitado de dar sangre. Posteriormente, el compañero fue identificado y arrestado, y su perfil de ADN coincidió con el de las muestras de semen encontradas en las víctimas. Por lo que finalmente el sospechoso confesó la autoría de ambos crímenes y fue condenado a cadena perpetua.

Cuadro 1.2. *La mascota testifica a favor de su dueño, sospechoso de un crimen.*

En enero de 2005, una joven mujer fue encontrada muerta cerca de una autopista en el sur de Austria. Debido a que el cuerpo había sido quemado, la víctima no podía ser identificada. Sin embargo, se encontró cerca del cuerpo el sweater que vestía la mujer, en el cual se encontraron pelo de origen animal. La morfología de los pelos permitía determinar que podían pertenecer a alguna especie de mustélidos (Mustelidae) o a un perro (Canidae). Simultáneamente, los investigadores policiales identificaron a un joven sospechoso del crimen, en cuyo auto secuestraron pelos de origen animal. De los bulbos pilosos se procedió a extraer y analizar el ADN mitocondrial, con el fin de responder a las dos preguntas planteadas por la Corte: ¿A qué especie pertenecían los pelos? ¿Las muestras del sweater y del auto correspondían al mismo animal? Los resultados obtenidos mostraron que los pelos eran de perro, con la excepción de uno que era de gato. Además, todos los pelos del sweater de la víctima presentaban el mismo haplotipo mitocondrial, mientras que los pelos secuestrados en el auto del sospechoso pertenecían a dos haplotipos diferentes, uno de los cuales coincidía con el haplotipo de la mascota del sospechoso. A su vez, los dos patrones encontrados en el auto no se correspondían a los detectados en el sweater de la víctima.