

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

DOCUMENTO INFORMATIVO RELACIONADO CON EL INFORME DE ENSAYO MD-02/23-Celanova

UNIDAD: Genética Forense

SECCIÓN: Identificación

Se realiza este documento informativo a partir de los resultados del Informe MD-02/23-Celanova, previamente emitido, eliminando datos genéticos y personales de carácter confidencial de las muestras de referencia (hija biológica y nieta biológica de los desaparecidos objeto de búsqueda).

Nombre del peticionario: Convenio Xunta de Galicia – Universidade de Santiago de Compostela (USC) Memoria Democrática

Solicitud: Identificación de restos cadavéricos recogidos en fosa en el Cementerio San Breixo de Celanova (Ourense).

1.- INFORMACIÓN GENERAL

Por el médico forense Dr. Fernando Serrulla Rech del IMELGA, subdirección de Ourense, han sido enviadas a este Instituto de Ciencias Forenses unas muestras biológicas rotuladas como “Celanova. Indubitada” y con el nombre una hija biológica de Marcelino Fernández García y una nieta biológica de Abelardo Suarez del Busto.

Posteriormente, por el mismo médico forense, han sido enviadas a este Instituto de Ciencias Forenses unas muestras biológicas, solicitando:

1) Estudio de paternidad tomando como muestra indubitada la remitida a ese laboratorio de una hija biológica de Marcelino Genaro Fernández García. Como muestra dubitada

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

más probable se recomienda analizar en primer lugar la muestra M3 (Individuo 3) y en segundo lugar la muestra M6 (Individuo 8).

2) Estudio de identificación de Abelardo Suarez del Busto tomando como muestra indubitada la remitida a ese laboratorio de una nieta por vía materna de Abelardo Suarez del Busto. Como muestra dubitada se recomienda analizar en primer lugar la muestra M7 (Individuo 9), en segundo lugar, la muestra M4 (Individuo 4) y en tercer lugar la muestra M2 (Individuo 2).

Fecha de recepción de las muestras: 18 de marzo de 2022 y 2 de febrero de 2023.

2.- IDENTIFICACIÓN ÚNICA DE LAS MUESTRAS RECIBIDAS

Las muestras remitidas y el código interno que se les ha asignado, según el procedimiento PG/XF/05, se indica en la siguiente tabla:

ETIQUETA ORIGINAL	CÓDIGO INTERNO
Celanova. Individuo 1	MD-02/23-Celanova M1
Celanova. Individuo 2	MD-02/23-Celanova M2
Celanova. Individuo 3	MD-02/23-Celanova M3
Celanova. Individuo 4	MD-02/23-Celanova M4
Celanova. Individuo 5 Petroso. Cerebro	MD-02/23-Celanova M5
Celanova. Individuo 8	MD-02/23-Celanova M6
Celanova. Individuo 9	MD-02/23-Celanova M7
Fosa 1. Individuo 1	MD-02/23-Celanova M8
Celanova. Individuo 6	MD-02/23-Celanova M9
Celanova. Indubitada	MD-referencia-11
Celanova. Indubitada	MD-referencia-12

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

3.- DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS RECIBIDAS Y SU ESTADO

Se recibe un sobre con membrete del IMELGA de Verín, conteniendo las muestras que se describen a continuación y se codifican internamente como:

- **MD-referencia-11:** sobre más pequeño, con membrete del IMELGA de Verín, rotulado como “Celanova. Indubitada. M2” y el nombre de la donante de la muestra. En su interior contiene la caja porta hisopos rotulada como “Celanova. Indubitada” y el nombre de la donante de la muestra, conteniendo dos hisopos, y el “Formulario para la toma de muestras de ADN de familiares de personas desaparecidas en la Guerra Civil española. Convenio Xunta de Galicia-USC”. Según dicho formulario, la donante de la muestra es nieta por vía materna (hija de una hija de la víctima) del desaparecido Abelardo Suárez del Busto.
- **MD-referencia-12:** sobre con membrete del IMELGA de Verín, rotulado como “Celanova. Indubitada. M1” y el nombre de la donante de la muestra. En su interior contiene una caja porta hisopos rotulada como “Celanova. Indubitada” y el nombre de la donante de la muestra, conteniendo dos hisopos, y el “Formulario para la toma de muestras de ADN de familiares de personas desaparecidas en la Guerra Civil española. Convenio Xunta de Galicia-USC”. Según dicho formulario, la donante de la muestra es hija del desaparecido Marcelino Genaro Fernández García.

Posteriormente, se recibe un sobre con membrete del IMELGA de Verín, rotulado como “Celanova” que contiene sobres de menor tamaño con las muestras que se describen a continuación y se codifican internamente como:

- **MD-02/23-Celanova-M1:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense, rotulado como “M1”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 1”, que contiene 3 molares.
- **MD-02/23-Celanova-M2:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M2”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 2”, que contiene 3 molares.

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

- **MD-02/23-Celanova-M3:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M3”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 3”, que contiene 3 molares. Se analiza un molar, que se codifica internamente como MD-02/23-Celanova M3a.
- **MD-02/23-Celanova-M4:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M4”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 4”, que contiene 4 molares.
- **MD-02/23-Celanova-M5:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M5”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 5. Petroso. Cerebro”, que contiene fragmento de cerebro y peñasco izquierdo (según la documentación adjunta).
- **MD-02/23-Celanova-M6:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M6”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 8”, que contiene dos peñascos (según la documentación adjunta).
- **MD-02/23-Celanova-M7:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M7”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 9”, que contiene 4 molares. Se analiza un molar, que se codifica internamente como MD-02/23-Celanova M7a.
- **MD-02/23-Celanova-M8:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M9”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Fosa 1. Individuo 1”, que contiene 2 molares.
- **MD-02/23-Celanova-M9:** Sobre blanco con membrete del IMELGA Ourense rotulado como “M9”, con una bolsa de plástico en su interior rotulada como “Celanova. Individuo 6”, que contiene 4 molares.

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

Se adjunta, además, el documento de Cadena de custodia y la Solicitud de análisis genético-forenses, en la que se solicita “practiquen en las muestras que se envían los análisis que se solicitan a fin de contribuir al proceso de identificación de MARCELINO GENARO FERNANDEZ GARCIA y ABELARDO SUAREZ DEL BUSTO fallecidos en 1939 tras su paso por la prisión de Celanova (Ourense)”.

En dicha documentación también se indica que, de acuerdo con el estudio histórico de esta fosa, se recuperaron 7 individuos en una zanja enfrente del panteón de Isauro del cementerio de San Breixo de Celanova. Durante la exhumación se recuperaron también dos esqueletos más (el individuo Fosa1-Individuo1 y el Individuo 6) que no estaban en la zanja y que, según los datos estratigráficos, fueron enterrados antes y después de la realización de la zanja. Por ello durante la entrega de las muestras el médico forense indicó que las muestras objeto de estudio son las rotuladas como “M1” a “M7”.

4.- MUESTRAS ANALIZADAS

Muestra MD-02/23-Celanova M3a: molar del individuo 3.

Muestra MD-02/23-Celanova M7a: molar del individuo 9.

Muestra MD-referencia-11: muestra indubitada de nieta por vía materna del desaparecido Abelardo Suárez del Busto.

Muestra MD-referencia-12: muestra indubitada de hija del desaparecido Marcelino Genaro Fernández García.

Tras los resultados obtenidos para las muestras analizadas, las demás muestras no se analizarán hasta no disponer de otros familiares de desaparecidos para la identificación de los demás restos cadavéricos.

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

5.- PROCEDIMIENTOS DE ENSAYO

5.1. Extracción de ADN:

5.1.1. Se ha realizado una extracción de ADN mediante el kit *PrepFiler® Express BTA Forensic DNA Extraction Kit* de Applied Biosystems (AB), a partir de las muestras MD-02/23-Celanova M3a y MD-02/23-Celanova M7a, ensayo descrito en el procedimiento PE/XF/02.

Ensayo amparado por la acreditación de ENAC.

5.1.2. Se ha realizado una extracción de ADN mediante el kit *PrepFiler® Express Forensic DNA Extraction Kit* (AB), a partir de las muestras MD-referencia-11 y MD-referencia-12, ensayo descrito en el procedimiento PE/XF/02.

Ensayo amparado por la acreditación de ENAC.

5.2. Cuantificación de ADN: se ha realizado la cuantificación de ADN humano mediante el kit *Quantifiler® TRIO* (AB), ensayo descrito en el procedimiento PE/XF/03.

Ensayo amparado por la acreditación de ENAC.

5.3. Análisis de polimorfismos de ADN:

5.3.1. Se analizaron 21 *Short Tandem Repeats* (STRs) autosómicos, además de la amelogenina como marcador de sexo, un indel de cromosoma Y y un STR de cromosoma Y, mediante PCR multiplex, utilizando el kit *GlobalFiler™ Amplification Kit* (AB), ensayo descrito en el procedimiento PE/XF/04. Los sistemas analizados fueron: D3S1358, VWA, D16S539, CSF1PO, TPOX, D8S1179, D21S11, D18S51, D2S441, D19S433, TH01, FGA, D22S1045, D5S818, D13S317, D7S820, SE33, D10S1248, D1S1656, D12S391, D2S1338, Y InDel, DYS391 y amelogenina. Para la electroforesis capilar se utilizó un secuenciador automático *3500 Genetic Analyzer* (AB) y el programa de análisis y lectura de datos *GeneMapper™ ID-X Software v1.4* (AB).

Ensayo amparado por la acreditación de ENAC.

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

5.3.2. Se analizaron 12 *Short Tandem Repeats* (STRs) autosómicos, además de la amelogenina como marcador de sexo, mediante PCR multiplex, utilizando el kit *Investigator HDplex Kit PCR Assay* (Qiagen). Los sistemas analizados fueron: D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055, D10S2325, SE33 y amelogenina. Para la electroforesis capilar se utilizó un secuenciador automático *3500 Genetic Analyzer* (AB) y el programa de análisis y lectura de datos *GeneMapper™ ID-X Software v1.4* (AB).

5.4. Evaluación estadística de los resultados de marcadores autosómicos con el software Familias 3: Se ha empleado el módulo DVI del *software* Familias 3 (v. 3.3.1) (<https://familias.no>), específico para la identificación de víctimas múltiples mediante el cálculo de la Razón de Verosimilitud (R.V.), que calcula la probabilidad de la evidencia genética comparando diferentes hipótesis alternativas, y de la probabilidad *a posteriori* (W). Para el cálculo estadístico se han utilizado frecuencias alélicas recogidas en publicaciones científicas internacionales [1-3] y una probabilidad *a priori* establecida según la fórmula $1/(N+1)$, siendo $N=7$, teniendo en cuenta el número de desaparecidos o víctimas objeto de búsqueda en la fosa del Cementerio San Breixo de Celanova (Ourense), según la información recibida.

En el presente informe se comunican únicamente aquellas comparaciones que resultan en una probabilidad *a posteriori* suficiente para asumir una identificación genética [4-5].

1. Fernandez-Formoso L., et al. *Allele frequencies of 20 STRs from Northwest Spain (Galicia)*. *Forensic Sci Int Genet* (2012) 6(5): p. e149-50.
2. Pestoni C, et al. *Genetic data on three complex STRs (ACTBP2, D21S11 and HUMFIBRA/FGA) in the Galician population (NW Spain)*. *Int J Legal Med* (1999) 112: 337-339.
3. Phillips C, et al. *Global population variability in Qiagen Investigator HDplex STRs*. *Forensic Sci Int Genet* (2014) 8: 36-43.
4. Parsons TJ, et al. *Large scale DNA identification: The ICMP experience*. *Forensic Sci Int Genet* (2019) 38: 236-244.
5. Prinz M, et al. *DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI)*. *Forensic Sci Int Genet* (2007) 1(1): 3-12.

No existen desviaciones de los métodos de ensayo realizados.

Fecha de inicio de los ensayos: 6 de abril de 2022.

Fecha de finalización de los ensayos: 27 de marzo de 2023.

6.- RESULTADOS

6.1. Resultados del análisis de STRs autosómicos y marcadores de sexo:

En este documento informativo, por motivos de confidencialidad de los datos, no se emiten los perfiles genéticos de las muestras de referencia (hija biológica y nieta biológica de los desaparecidos objeto de búsqueda).

6.1.1. Resultados de *GlobalFiler™*

Muestras Sistema	MD-02/23- Celanova M3a	MD-02/23- Celanova M7a
	molar del individuo 3	molar del individuo 9
D3S1358	15-16	16
VWA	14-18	14-19
D16S539	9-14	11
CSF1PO	10-11	10-12
TPOX	8	n.c.
Y indel*	2	2
Amelogenina*	XY	XY
D8S1179	13	10-12
D21S11	29-31	29-30
D18S51	15-17	n.c.
DYS391*	negativo	negativo
D2S441	11.3-14	14
D19S433	13-15	12-13
TH01	6	8-9.3
FGA	20	20-24
D22S1045	15	15
D5S818	11-12	12-13
D13S317	10-12	8-11
D7S820	9-11	12
SE33	22.2-26.2	22.2-27.2
D10S1248	16-17	12-14
D1S1656	14-15.3	15-16
D12S391	18-22	18-19
D2S1338	17-23	17-25

*Marcadores de sexo; n.c.= no concluyente

Ensayo amparado por la acreditación de ENAC.

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

6.1.2. Resultados de *Investigator HDplex*

Muestras	MD-02/23- Celanova M7a
Sistema	molar del individuo 9
Amelogenina*	XY
D7S1517	20-22
D3S1744	17-18
D12S391	18-19
D2S1360	21-24
D6S474	13-15
D4S2366	12
D8S1132	20-22
D5S2500	12-15
D18S51	15-20
D21S2055	n.c.
D10S2325	9
SE33	22.2-27.2

*Marcadores de sexo
n.c.= no concluyente

Dadas las características de las muestras no se pueden descartar eventos de *drop-in* y *drop-out*.

7.- VALORACIÓN ESTADÍSTICA

7.1. Marcadores STRs autosómicos Dada la información del caso, y asumiendo las relaciones de parentesco indicadas por los familiares de los desaparecidos, se ha calculado la Razón de Verosimilitud (R.V.), que calcula la probabilidad de la evidencia genética comparando diferentes hipótesis alternativas, y una probabilidad *a posteriori* de las hipótesis planteadas.

$$\text{Razón de Verosimilitud (R.V.)} = \Pr (E/H1)/\Pr (E/H2)$$

Donde:

E = perfil genético de la evidencia

H1: Hipótesis 1

H2: Hipótesis 2

La evaluación estadística se ha realizado teniendo en cuenta los perfiles genéticos de STRs autosómicos obtenidos para las muestras dubitadas MD-02/23-Celanova M3a y MD-02/23-Celanova M7a, y para las muestras de los familiares de desaparecidos MD-referencia-11 y MD-referencia-12.

Se han obtenido resultados que superan el umbral necesario para establecer una identificación genética en los siguientes casos:

- Se ha observado compatibilidad genética para la relación de parentesco “padre-hija” entre las muestras MD-02/23-Celanova M3a y MD-referencia-12, obteniendo:
 - Razón de Verosimilitud (R.V.) = 63484500 a favor de H1
 - Probabilidad de Parentesco (W) = 99,9999 % para la H1
- Se ha observado compatibilidad genética para la relación de parentesco “abuelo-nieta” entre las muestras MD-02/23-Celanova M7a y MD-referencia-11, obteniendo:
 - Razón de Verosimilitud (R.V.) = 2330870 a favor de H1
 - Probabilidad de Parentesco (W) = 99,9997 % para la H1

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

8.- CONCLUSIONES

Primera:

Tras el análisis de STRs autosómicos para la muestra MD-02/23-Celanova M3a: molar del individuo 3, y teniendo en cuenta las relaciones de parentesco descritas entre los desaparecidos y sus familiares, se ha obtenido una razón de verosimilitud que establece la probabilidad de la evidencia dada la hipótesis (H1) de que el donante de la muestra MD-02/23-Celanova M3a sea el padre biológico de la donante de la muestra MD-referencia-12, en contra de la hipótesis alternativa (H2) de que un hombre al azar de la población, no relacionado biológicamente con el donante de la muestra MD-02/23-Celanova M3a sea el padre biológico de la donante de la muestra de la muestra MD-referencia-12 es de 63484500 (a favor de la hipótesis H1). En términos porcentuales, el valor de la probabilidad para la hipótesis H1 es de 99,9999 %.

Solamente están amparados por la acreditación ENAC los ensayos expresamente identificados como tales.

Segunda:

Tras el análisis de STRs autosómicos para la muestra MD-02/23-Celanova M7a: molar del individuo 9, y teniendo en cuenta las relaciones de parentesco descritas entre los desaparecidos y sus familiares, se ha obtenido una razón de verosimilitud que establece la probabilidad de la evidencia dada la hipótesis (H1) de que el donante de la muestra MD-02/23-Celanova M7a sea abuelo de la donante de la muestra MD-referencia-11, en contra de la hipótesis alternativa (H2) de que un hombre al azar de la población, no relacionado biológicamente con el donante de la muestra MD-02/23-Celanova M7a sea el abuelo de la donante de la muestra MD-referencia-11 es de 2330870 (a favor de la hipótesis H1). En términos porcentuales, el valor de la probabilidad para la hipótesis H1 es de 99,9997 %.

Nota- Las muestras de ADN quedan custodiadas en esta Unidad. Para cualquier solicitud de información adicional, pueden ponerse en contacto con la Unidad de Genética Forense del Instituto de Ciencias Forenses Luis Concheiro.

En Santiago de Compostela, a 13 de abril de 2023.

Prof. Dra. María Victoria Lareu Huidobro

Dra. Ana Mosquera Miguel

Este informe sólo afecta a las muestras sometidas a ensayo, y no puede ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita del Instituto de Ciencias Forenses Luis Concheiro.

El laboratorio queda eximido de cualquier responsabilidad ajena a los análisis realizados, por ejemplo, cuando la información o la muestra sean proporcionadas por el cliente y puedan afectar a la validez de los resultados. afectar a la validez de los resultados.