

PERFILES MEZCLA: NECESIDADES EN MATERIA DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN.

MIXTURE PROFILES: ANALYSIS AND INTERPRETATION NEEDS.

CRESPILO MÁRQUEZ M, BARRIO CABALLERO PA¹, SERRANO SÁNCHEZ A¹.

RESUMEN:

A veces, la muestra recuperada del cuerpo de la víctima o en la escena del crimen puede contener una mezcla de fluidos o tejidos de diferentes personas, como consecuencia de la naturaleza del delito. La valoración del perfil de ADN es el último paso del proceso analítico y, un aspecto muy importante. Sin embargo, la interpretación de perfiles complejos de mezcla de ADN no es tarea fácil y, a veces, podría llevar a una opinión subjetiva, debido a esta complejidad. Los laboratorios que realizan el análisis e interpretación de perfiles mezcla de ADN deben considerar tres aspectos importantes. En primer lugar, como parte de la norma ISO/IEC 17025:2005, el laboratorio debe desarrollar estudios de validación interna bien diseñados para los diferentes métodos utilizados en el laboratorio y, en particular, para el análisis de perfiles mezcla de ADN. En segundo lugar, la formación continua en el análisis e interpretación de perfiles mezcla de ADN debe ser una prioridad para el laboratorio. Varias organizaciones y grupos científicos de trabajo han publicado directrices, recomendaciones y organizado reuniones científicas que ofrecen un apoyo importante a fin de llevar a cabo la interpretación de este tipo de perfiles de ADN. Por último, el laboratorio debe emplear herramientas bioinformáticas que puedan ayudar a una interpretación y valoración más apropiada de los perfiles mezcla de ADN.

PALABRAS CLAVE: Genética Forense; ADN; STRs autosómicos; Perfiles mezcla de ADN.

ABSTRACT:

Sometimes, the sample recovered from the victim's body or at the crime scene may contain a mixture of fluids or tissues from different persons due to the nature of the crime. The assessment of DNA profile is the last step of the analytical process and a very important aspect. However, the interpretation of complex DNA mixture profiles is not an easy task and, sometimes could lead to a subjective opinion due to such complexity. Laboratories that perform analysis and interpretation of mixture DNA profiles should consider three important aspects. Firstly, as part of ISO/IEC 17025:2005, the laboratory must develop well-designed internal validation studies for the different methods used in the laboratory and, in particular, for the analysis of mixture DNA profiles. Secondly, continuing education in the analysis and interpretation of mixture DNA profiles should be a priority for the laboratory. Several organizations and scientific working groups have published guidelines, recommendations, and organized scientific meetings that offer an important support in order to carry out the interpretation of this kind of DNA profile. Finally, the laboratory must employ bioinformatics tools that can help with interpretation and more appropriate valuation of mixture DNA profiles.

KEY WORDS: Forensic Genetics; DNA; Autosomal STRs; Mixture DNA profiles

CONTACTO: MANUEL CRESPILO MÁRQUEZ, C/ La Mercè, 1. 08002 – Barcelona (España), manuel.crespillo@mju.es, Tel.: (+34) 93 3174061.

1. INTRODUCCIÓN.

El análisis genético de indicios biológicos se ha convertido en una pieza de especial trascendencia en gran número de procesos judiciales, tanto en el ámbito civil como criminal, siendo, desde hace ya varias décadas, aceptada por una gran mayoría de Tribunales de Justicia de todo el mundo.

La estandarización de los métodos analíticos empleados por la comunidad forense para llevar a cabo este tipo de estudios resulta absolutamente imprescindible para garantizar la fiabilidad y certeza sobre los resultados y conclusiones que de estos análisis se derivan. Existen distintas organizaciones internacionales (ISFG –*International Society for Forensic Genetics*–, EDNAP –*European DNA Working Group*–, ENFSI –*European Network Forensic*

¹ Facultativos. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Barcelona.

Science Institutes–, SWGDAM –Scientific Working Group on DNA Analysis Methods–, GHEP-ISFG –Grupo de Habla Española y Portuguesa de la International Society for Forensic Genetics–, CNUFADN –Comisión Nacional para el Uso Forense del ADN–) que trabajan permanentemente en la emisión de recomendaciones y guías de estandarización sobre distintos aspectos que afectan a alguna de las fases del análisis genético (p.ej.: conservación y preservación de las muestras biológicas, metodología, nomenclatura, tratamiento estadístico de los datos, etc.).

Sin embargo, aún hoy, existen para la genética forense algunos aspectos sobre los que no hay una completa estandarización. El

análisis e interpretación de perfiles mezcla complejos es uno de ellos. En ocasiones, los laboratorios forenses deben analizar perfiles mezcla, que por sus características, convierten su interpretación en una labor de extraordinaria dificultad. En los perfiles mezcla complejos concurren aislada o conjuntamente algunas circunstancias como son:

- Desproporción acusada entre los contribuyentes que componen el perfil mezcla.
- Degradación del ADN, en todos o alguno de los componentes de la mezcla.
- Cantidad escasa de ADN.
- Existencia de más de dos contribuyentes.

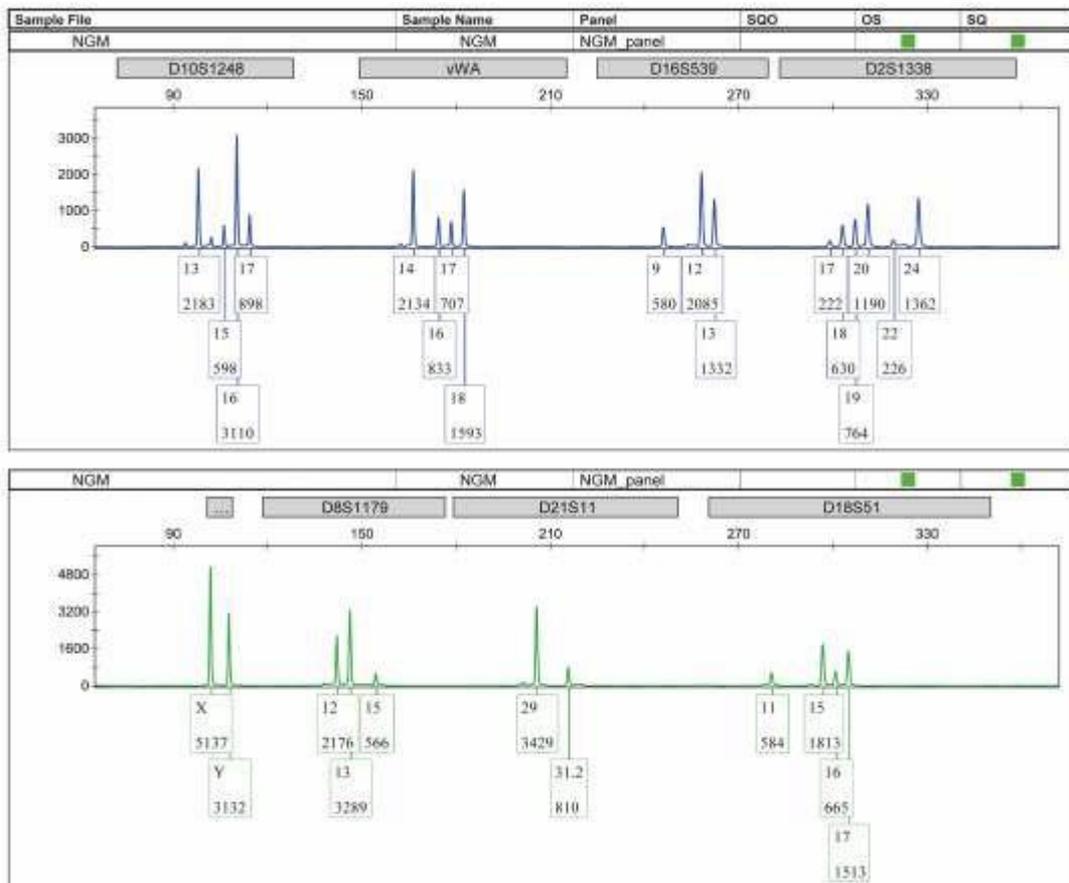


Figura 1. Ejemplo de representación gráfica (Electroferograma, EPG) de un perfil mezcla de al menos 3 contribuyentes.

El análisis de perfiles mezclas es un debate abierto en la comunidad forense [1-8]. En datos presentados por el profesor J.M. Butler en el *Meeting DNA Analyst Training on Mixture Interpretation* [9], se pone de manifiesto el elevado interés que a la vista del número de publicaciones en las principales revistas científicas forenses, suscita distintos aspectos que tienen que ver con la interpretación y análisis de perfiles mezcla (recomendaciones, validación, tratamiento estadísticos, *low template DNA mixtures*, etc.).

El profesor P. Gill acertadamente afirma “*If you show 10 colleagues a mixture, you will probably end up with 10 different answers*”. Este hecho ha sido constatado en diferentes ejercicios colaborativos organizados desde el propio Grupo de Habla Española y Portuguesa de Genética Forense (GHEP-ISFG) [10]. La interpretación de determinados perfiles mezclas puede convertirse en una actividad sometida a la subjetividad del especialista que debe valorar ese perfil genético [11], y por tanto, muy lejos de la estandarización que la genética forense exige en sus prácticas.

En ocasiones, la interpretación de perfiles mezcla se convierte en una tarea laboriosa que suele comportar un gasto importante de tiempo y medios económicos, a menudo, sin los resultados deseables y que obligan al perito a no poder emitir conclusiones sobre el resultado obtenido. De nuevo, P. Gill afirma que “*Don't do mixture interpretation unless you have to*” (*comunicación personal*). En el contexto de determinados casos forenses, se puede plantear el análisis de otras muestras alternativas y la introducción de estrategias de mejora sobre los análisis (p.ej. mejoras en las técnicas de extracción, tiempos de inyección del producto de PCR, purificación/desalinización de los productos de PCR). La comunicación con las distintas partes implicadas en el proceso judicial (jueces, fiscales, médicos forenses, policía judicial) puede resultar de gran importancia a la hora de decidir la/s muestra/s óptimas con el fin de evitar, en la medida de lo posible, el análisis e interpretación de perfiles mezcla.

En el año 2007, la ISFG, mediante una carta al editor publicada en la revista *Forensic Science International: Genetics* [12], abundaba sobre la necesidad de avanzar en tres vías fundamentales para mejorar y poder garantizar la interpretación de perfiles mezcla. En primer lugar, la acreditación de los laboratorios forenses según la norma ISO 17025 [13]; en segundo lugar, incidir en la necesidad de una adecuada y óptima cualificación por parte del personal implicado en este tipo de análisis; y en último lugar, la necesidad de desarrollar herramientas informáticas que puedan ser utilizados por la comunidad forense como ayuda en la interpretación de este tipo de perfiles.

Lo cierto es que actualmente esas tres recomendaciones que dictaba la ISFG en 2007 se encuentran en pleno desarrollo en la comunidad forense. Este artículo pretende revisar la situación actual en referencia a estas tres necesidades en materia de interpretación de perfiles mezcla: acreditación, formación y desarrollo de herramientas bioinformáticas.

2. IMPORTANCIA DE LA ACREDITACIÓN DE LOS LABORATORIOS Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO.

La acreditación de laboratorios forenses acorde a la norma EN ISO/IEC 17025 [13] es hoy una realidad, tanto en el ámbito nacional como internacional [14]. Distintos acuerdos convertidos en normativas y recomendaciones han insistido en esta necesidad. En particular, de especial importancia resulta la decisión marco 2009/905/JHA del Consejo de Europa [15], del 30 de noviembre de 2009, que acuerda la necesidad de establecer normas comunes para los prestadores de servicios forenses, en lo que respecta a datos personales tan delicados como los perfiles de ADN y los datos dactiloscópicos. En referencia a los perfiles genéticos, se acuerda que los Estados miembros tomarán las medidas necesarias para garantizar la integridad de los perfiles de ADN que se envíen o se pongan a disposición de los demás Estados a efectos de comparación. Además, velarán por que dichas medidas se

atengan a las normas internacionales (tales como la norma EN ISO/IEC 17025), estableciendo como fecha para este cumplimiento el 30 de noviembre de 2013.

En España, anualmente se publica por parte de la CNUFADN un catálogo de laboratorios forenses acreditados y que cumplen con los acuerdos sobre acreditación establecidos por la propia Comisión [14].

La validación interna de los métodos de ensayo empleados resulta una parte importante del manual de calidad de un laboratorio ya que permite un mejor conocimiento de las peculiaridades y comportamiento de los equipos, así como el mejorar y solventar las deficiencias de los métodos de trabajo. En definitiva, ayuda a garantizar la calidad de los resultados emitidos por el laboratorio. La norma EN ISO/IEC 17025 contempla en su punto 5.4.5 aspectos relativos a la validación de los métodos de ensayo empleados por el laboratorio. En este sentido, conviene señalar que la validación del método empleado para interpretar y analizar perfiles mezcla presenta suficientes peculiaridades como para merecer una validación exhaustiva por parte del laboratorio [10, 14].

La validación resulta un elemento clave para el laboratorio a la hora de tomar decisiones sobre el perfil mezcla obtenido y en la posterior emisión de conclusiones sobre el mismo. Sin embargo, no existe un único modelo para llevar a cabo la validación de un método de análisis [16, 17]. En este sentido, existen diversas propuestas [18] que pueden ser validas. Cada laboratorio debe realizar el diseño que mejor se ajuste a sus particularidades, sin renunciar a su efectividad.

Parece bastante extendido en la comunidad forense [10, 14, 19] que la validación interna de perfiles mezcla debe contemplar al menos, el establecimiento de algunos parámetros que van a resultar de gran utilidad a la hora de interpretar este tipo de perfiles, entre ellos: umbral analítico, umbral estocástico, umbral de *stutter*, así como, establecer un valor en relación al equilibrio entre alelos de marcadores heterocigotos. En

cualquier caso, debe considerarse que los valores obtenidos para los distintos umbrales deben actuar de manera orientativa, y nunca de una forma tan restrictiva que imposibilite el análisis de este tipo de perfiles genéticos.

3. . NECESIDAD DE FORMACIÓN Y CUALIFICACIÓN.

La complejidad en el análisis e interpretación de los perfiles mezcla a los que se han de enfrentar los laboratorios de genética forense en la casuística diaria, hace necesario que su personal encargado tenga las herramientas y la formación oportunas, que les capacite para ello. De este modo, la existencia de guías y/o recomendaciones mínimas facilitarán su labor, permitiéndoles, por tanto, la validación interna de los procedimientos que aplicarán, y en los que basarán las conclusiones de sus dictámenes. Con esta perspectiva, y las limitaciones siempre implícitas en este tipo de perfiles genéticos, desde la ISFG, sensible a esta problemática, en el año 2006 [1] publicó las primeras recomendaciones para la interpretación de mezclas, haciendo una revisión de la bibliografía existente al respecto [20-22; entre otros] y los acuerdo alcanzados por su comisión.

Al año siguiente, en una “carta al editor” [12], esta misma sociedad instaba a que otros grupos regionales o nacionales establecieran recomendaciones adicionales en su propio contexto. Con ello, en años sucesivos, diversos grupos científicos fueron editando sus propias recomendaciones o complementando las directrices marcadas, teniendo en cuenta sus peculiaridades regionales: en 2008, Inglaterra [2]; en 2009, Alemania [3], Australia y Nueva Zelanda [4]; y entre 2011 y 2012, Holanda [6-7].

Dentro de este ámbito, también destaca la guía del grupo de trabajo de análisis de ADN del FBI [19], así como el artículo de Budowle y colaboradores [23], como recomendaciones en el contexto de EEUU. En el caso de España, se ha de subrayar las recientemente publicadas recomendaciones de la CNUFADN [14], así como los criterios mínimos recomendados por la

Comisión de Mezclas del GHEP-ISFG [10].

Junto a toda la literatura generada entorno a este tema, y también dentro de la labor formativa de los profesionales del campo de la genética forense, a lo largo de los últimos años han ido organizándose algunos ejercicios inter-laboratorios y/o colaborativos. Su misión fundamental, es la formación, adquisición de destrezas y capacitación de los analistas, así como, poner de manifiesto los problemas y limitaciones que presentan este tipo de perfiles complejos. En este sentido, la institución norteamericana NIST (*National Institute of Standards and Technology*) fue pionera con la organización de los tres primeros ejercicios inter-laboratorios sobre el “Estudio de Manchas Mezcla” entre los años 1997 y 2001 [18]. Sin embargo, no fue hasta el 2005, cuando organizó el primer ejercicio sobre “Interpretación de Perfiles Mezcla” (MIX05). El siguiente y último, está actualmente en desarrollo (MIX13). En esta misma dirección, destacan los ejercicios colaborativos que la Comisión de Mezcla del GHEP-ISFG ha ido organizando año tras año desde 2009 (GHEPMIX1, 2, 3 y 4) [10].

Dentro de este catálogo de ejercicios de formación y capacitación, la Red Europea de Genética Forense (EUROFORGEN, *European Forensic Genetics Network of Excellence*), financiada por el 7º Programa Marco de la Unión Europea [24], organizó en el año 2012 el “Ejercicio colaborativo EUROFORGEN sobre LRmix”, que se trata de un software para la valoración estadística de perfiles mezcla complejos [25-26]. Y uno de los últimos ejercicios colaborativos sobre la interpretación de perfiles mezcla, realizados durante el año 2013, fue organizado por ENFSI [27].

Finalmente, y como complemento a las guías, recomendaciones y ejercicios colaborativos mencionados, en los últimos años se han venido organizando diversas reuniones científicas en todo el mundo. En este sentido, destaca la prolífica participación en multitud de conferencias del equipo investigador que dirige J.M. Butler en el NIST, a muchas de cuyas presentaciones se puede acceder libremente desde la propia web del grupo [18]. Una de las

últimas, tuvo lugar en abril del año 2013, a la que asistieron participantes de todo el mundo, de forma *on-line* desde la web del NIST [9].

A nivel internacional, también hay que destacar los congresos que organiza cada dos años la sociedad ISFG, y que en los dos últimos (Viena, 2011; Melbourne, 2013), de forma paralela se han desarrollado *workshops* monográficos en los que se ha tratado intensamente el tema de las mezclas [28]. En Europa, el “Paquete de Trabajo 5” (WP5) del EUROFORGEN [24] está dedicado a la educación, entrenamiento y desarrollo profesional en genética forense. Desde el mismo, en los últimos años, se han organizado cursos de formación sobre interpretación de perfiles mezcla, alguno en España, y hay previsión de que en el 2014 se organicen más. Y finalmente, a nivel nacional, se pueden señalar los *workshops* sobre perfiles mezclas organizados por la Comisión de Mezclas del GHEP-ISFG, el primero, que tuvo lugar en Barcelona en el 2011 y, el último, en Sevilla en el 2013, durante las jornadas anuales del GHEP-ISFG [10].

4. HERRAMIENTAS EXISTENTES PARA EL ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y EVALUACIÓN DE PERFILES MEZCLA COMPLEJOS.

La evaluación de perfiles mezcla puede ser llevada a cabo mediante distintos tipos de parámetros estadísticos [1]: el cálculo del LR (*Likelihood Ratio* o coeficiente de verosimilitud), del RMNE (*Random Man Not Excluded* o probabilidad de inclusión) o del RMP (*Random Match Probability* o probabilidad de coincidencia al azar). El LR esta basado en el Teorema de Bayes, y representa la proporción de dos probabilidades del mismo evento bajo hipótesis mutuamente excluyentes. Normalmente, el numerador contempla la hipótesis de la acusación, mientras que el denominador expresa la de la defensa. Por otro lado, el RMNE busca determinar la fracción de la población que sería excluida cómo contribuyente del perfil mezcla. Y finalmente, el RMP es la probabilidad de seleccionar al azar un individuo no

relacionado de la población, que pudiera ser un contribuyente potencial al perfil mezcla encontrado en la evidencia. Cada una de estas aproximaciones tiene una serie de ventajas e inconvenientes, que las hacen más o menos idóneas [29-30]. De manera resumida, se puede decir que la aproximación del LR es más compleja de exponer ante el Tribunal, y su cálculo estadístico es más complicado. Sin embargo, como ventaja, se puede destacar que no se pierde información sobre la composición genética de la mezcla (cómo sí se podría entender que ocurre con el RMNE). Además, puede ser usado en situaciones de escasa cantidad de ADN, en que puede perderse parte del perfil genético de uno de los contribuyentes. Este hecho no está contemplado ni en el RMNE ni en el RMP y, puede darse con frecuencia en perfiles mezcla. Mientras que la SWGDAM [19] no manifiesta especial preferencia por el uso de una aproximación u otra, desde la ISFG se recomienda el uso del LR en la interpretación de perfiles mezcla [1].

Independientemente del parámetro que se use para la interpretación, se requiere llevar a cabo un cálculo estadístico que, en ocasiones, se vuelve más complejo debido a la problemática intrínseca que presentan los perfiles mezcla. Es por ello, que el desarrollo de *software* que lleve a cabo esta tarea, es de especial importancia para facilitar el trabajo del analista. Hoy en día, existen una gran variedad de programas informáticos disponibles [18,28]. Algunos de ellos provienen de iniciativas privadas (p.ej. DनावIEW de C. Brenner, GeneMapper ID-X de Life Technologies, Investigator IDproof Mixture de Qiagen o Geneproof Mixture de Qualitytype) o son de acceso libre (p.ej. *forensim* o DNAMIX). Las últimas recomendaciones de la ISFG [31] hacen una mención especial al paquete informático *forensim* (acceso libre) [25-26,30], el cual se encuentra en plena fase de validación por la comunidad forense. Como parte de la misma, desde el EUROFORGEN se organizó el ejercicio colaborativo sobre el LRmix (módulo del paquete *forensim*) y, el último ejercicio del ENFSI (2013), que también contempla la posibilidad de su uso. Es por ello que se hará una alusión especial a este *software*.

El paquete *forensim* ha sido desarrollado basándose en el software R (lenguaje de programación para análisis estadístico y gráfico, de acceso libre), que presenta fundamentalmente dos tipos de utilidades:

- Herramientas de simulación: que permiten la generación de datos genéticos virtuales (frecuencias poblacionales, genotipos únicos, perfiles mezclas), que normalmente se usan en la casuística forense, y que, a su vez, permitirían validar los métodos estadísticos usados para la valoración de perfiles mezcla. Para el laboratorio de genética forense, el uso de simuladores supone un ahorro de tiempo y material respecto al uso de muestras reales.
- Herramientas de interpretación de perfiles genéticos: donde se incluiría el módulo LRmix, que permite el cálculo del LR en perfiles mezclas complejos, considerando distintas variables: número de contribuyentes, escasa cantidad de ADN, degradación de alguno de los componentes de la mezcla y presencia de contaminación genética.

Aunque las herramientas informáticas son muy útiles, nunca se debe olvidar que el analista tiene la última palabra y, para una acertada interpretación y un planteamiento más correcto de las hipótesis de trabajo, es necesaria la comunicación entre el laboratorio y los otros profesionales implicados de alguna manera en la investigación judicial (jueces, médicos forenses, policía judicial).

Por último, cabe mencionar que, al referirse a perfiles mezcla, se ha hecho en relación al estudio de marcadores de cromosomas autosómicos. Sin embargo, es muy habitual, especialmente en casos de agresión sexual, que no se pueda separar la fracción de células procedentes de la víctima de la fracción celular que aporta el agresor. En estas circunstancias, se hace necesario el estudio de marcadores genéticos de origen masculino localizados en el cromosoma Y. Dichos marcadores presentan la peculiaridad de heredarse en bloque (haplotipo) de padres a hijos. Debido a esta circunstancia, la

interpretación de perfiles mezcla de dos o más varones para este tipo de marcadores, se hace más compleja. Sin embargo, según algunos autores [32-33], su valoración también puede ser abordada mediante la aproximación estadística del LR. En este sentido, existen igualmente a disposición del analista herramientas informáticas que permiten la valoración estadística de perfiles mezcla de marcadores genéticos de cromosoma Y [34], aunque su uso, todavía se encuentra en discusión en la comunidad forense.

5. NOTAFINAL.

La genética forense es una de las disciplinas científicas que ha alcanzado una mayor estandarización. Sin embargo, el análisis, interpretación y evaluación de perfiles mezcla complejos aún sigue siendo un tema de debate permanente en la comunidad científica. Determinados perfiles constituidos por una mezcla de ADN pueden generar la expresión de opiniones opuestas al ser analizados por distintos especialistas [11]. Esta situación puede llegar a tener una especial trascendencia en el proceso judicial, pudiendo incluso generar ciertas dudas sobre la fiabilidad de la prueba. La futura incorporación de herramientas bioinformáticas eficaces y validadas, resulta absolutamente clave en el objetivo de conseguir una estandarización en esta materia. Hasta que llegue ese momento, consideramos que los laboratorios que aborden el estudio de este tipo de muestras deberían al menos contemplar:

- Una validación interna de los métodos empleados para llevar a cabo el análisis de perfiles mezcla de ADN, de acuerdo con lo establecido en la norma EN ISO/IEC 17025.
- Una adecuada cualificación del personal implicado en el análisis de este tipo de análisis, lo que supone un conocimiento de los equipos, métodos y *softwares* implicados en las distintas fases del análisis.
- Una comunicación con otros profesionales del proceso judicial, que ayudaran sin duda a la elección de las muestras más adecuadas

y, a recopilar datos que puedan ser importantes de cara a la propia valoración final del perfil mezcla.

AGRADECIMIENTOS:

Los autores quieren expresar su agradecimiento al INTCF (Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses) por su apoyo institucional.

BIBLIOGRAFÍA:

1. GILL P, BRENNER CH, BUCKLETON JS, CARRACEDO A, KRAWCZAK M, MAYR WR, et al. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the interpretation of mixtures. *Forensic Sci Int*. 2006;160:90–101.
2. GILL P, BROWN RM, FAIRLEY M, LEE L, SMYTH M, SIMPSON N, et al. National recommendations of the Technical UK DNA working group on mixture interpretation for the NDNAD and for court going purposes. *Forensic Sci Int Genet*. 2008;2(1):76–82.
3. SCHENEIDER PM, FIMMERS R, KEIL W, MOLSBERGER G, PATZELT D, PFLUG W, et al. The German Stain Commission: recommendations for the interpretation of mixed stains. *Int J Legal Med* 2009;123:1–5.
4. STRINGER P, SCHEFFER JW, SCOTT P, LEE J, GOETZ R, IENTILE V, et al. Interpretation of DNA mixtures—Australian and New Zealand consensus on principles. *Forensic Sci Int Genet*. 2009;3(2):144-145.
5. BUDOWLE B, ONORATO AJ, CALLAGHAN TF, DELLA MANNA A, GROSS AM, GUERRIERI RA, et al. Mixture interpretation: defining the relevant features for guidelines for the assessment of mixed DNA profiles in forensic casework. *J Forensic Sci*. 2009;54(4):810-21.
6. MEULENBROEK AJ, SIJEN T, BENSCHOP CCG, KLOOSTERMAN AD. A practical model to explain results of comparative DNA testing in court. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*. 2011;3:e325–e326.
7. BENSCHOP CCG, HANED H, DE BLAEIJ TJP, MEULENBROEK AJ, SIJEN T. Assessment of mock cases involving complex low template DNA mixtures: A descriptive study. *Forensic Sci Int Genet*. 2012;6(6):697–707.
8. BENSCHOP C, HANED H, SIJEN T. Consensus and pool profiles to assist in the analysis and interpretation of complex low template DNA mixtures. *Int J Legal Med*. 2013;127:11–23.
9. BUTLER JM, COBLE MD, COTTON RW, HEIDEBRECHT BJ, WORD CJ. DNA Analyst Training on Mixture Interpretation. National Institute of Standards

- and Technology (NIST). April 12, 2013. URL: <http://www.nist.gov/oles/forensics/dna-analyst-training-on-mixture-interpretation.cfm>
10. <http://www.gep-isfg.org/es/comisiones-trabajo/>
 11. DROR IE, HAMPIKIAN G. Subjectivity and bias in forensic DNA mixture interpretation. *Science & Justice*. 2011;51:204–208.
 12. MORLING N, BASTISCH I, GILL P, SCHNEIDER MP. Interpretation of DNA mixtures—European consensus on principles. *Forensic Sci Int Genet*. 2007;1: 291–292.
 13. ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
 14. https://www.administraciondejusticia.gob.es/paj/publico/ciudadano/informacion_institucional/organismos/instituto_nacional_de_toxicologia_y_ciencias_forenses/cnadm/
 15. Council framework Decision 2009/905/JHA of 30 November 2009 on Accreditation of forensic service providers carrying out laboratory activities. (Official Journal of the European Union L 322/14-16, 9th December 2009). Available at <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:322:0014:0016:EN:PDF>
 16. BUTLER J. Validation: Debunking some urban legends surrounding validation within the forensic community. *Profiles in DNA*. 2006;9(2):3-6.
 17. Enfsi dna working group. Recommended Minimum Criteria for the Validation of Various Aspects of the DNA Profiling Process (approved November 2010). URL: <http://www.enfsi.eu>
 18. <http://www.cstl.nist.gov/strbase/>
 19. Scientific working group on dna analysis methods. Swgdam Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by Forensic DNA Testing Laboratories (approved January 2010). URL: <http://www.swgdam.org/docs.html>
 20. CLAYTON TM, WHITAKER JP, SPARKES R, GILL P. Analysis and interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling. *Forensic Sci Int*. 1998;91(1):55-70.
 21. GILL P, SPARKES R, BUCKLETON JS. Interpretation of simple mixtures when artefacts such as a stutters are present—with special reference to multiplex STRs used by the Forensic Science Service, *Forensic Sci. Int*. 1998;95:213–224.
 22. LADD C, LEE H, YANG N, BIEBER F. Interpretation of complex forensic DNA mixtures, *Croat. Med. J*. 2001;43:244–246.
 23. BUDOWLE B, ONORATO AJ, CALLAGHAN TF, DELLA MANNA A, GROSS AM, GUERRIERI RA, et al. Mixture interpretation: defining the relevant features for guidelines for the assessment of mixed DNA profiles in forensic casework. *J Forensic Sci*. 2009;54(4):810-21.
 24. <http://www.euroforgen.eu/>
 25. HANED H. Forensim: An open-source initiative for the evaluation of statistical methods in forensic genetics, *Forensic Sci. Int. Genet*. 2011;5(4):265–268.
 26. GILL P, HANED H. A new methodological framework to interpret complex DNA profiles using likelihood ratios, *Forensic Sci. Int. Genet*. 2013;7(2):251–263.
 27. <http://www.enfsi.eu>
 28. <http://www.isfg.org/>
 29. BUCKLETON J, CURRAN J. A discussion of the merits of random man not excluded and likelihood ratios. *Forensic Sci Int Genet*. 2008;2(4):343-348.
 30. <http://forensim.r-forge.r-project.org/>
 31. GILL P, GUSMAO L, HANED H, MAYR WR, MORLING N, PARSON W, et al. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the evaluation of STR typing results that may include drop-out and/or drop-in using probabilistic methods. *Forensic Sci Int Genet*. 2012;6(6):679-88.
 32. GE J, BUDOWLE B, CHAKRABORTY R. Comments on "Interpreting Y chromosome STR haplotype mixture". *Leg Med (Tokyo)*. 2010;13(1):52-53.
 33. Scientific working group on dna analysis methods. Y-chromosome Short Tandem Repeat (Y-STR) Interpretation Guidelines. *Forensic Science Communications* 2009; 11(1). URL: <http://www.swgdam.org/docs.html>
 34. <http://www.yhrd.org/>