

EJERCICIO COLABORATIVO DE PERFILES MEZCLA GHEP-ISFG

2009

Manuel Crespillo Márquez

Juan Antonio Luque Gutierrez

Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Barcelona

PRESENTACIÓN

Se planteo ante la última Asamblea del GHEP-ISFG (Buenos Aires, 2009) la posibilidad de la creación de una comisión de trabajo que abundara sobre la problemática que comporta el análisis de perfiles mezclados. Tras ser considerada esta comisión de interés para el grupo. Se diseño el ejercicio colaborativo cuyo motivo, objetivos y planteamiento se exponen a continuación

Motivo:

- Dificultad interpretación (desbalanceo de picos, drop-out, stutter...).
- Ausencia de criterios.
- Bases de datos de criminales

Objetivo:

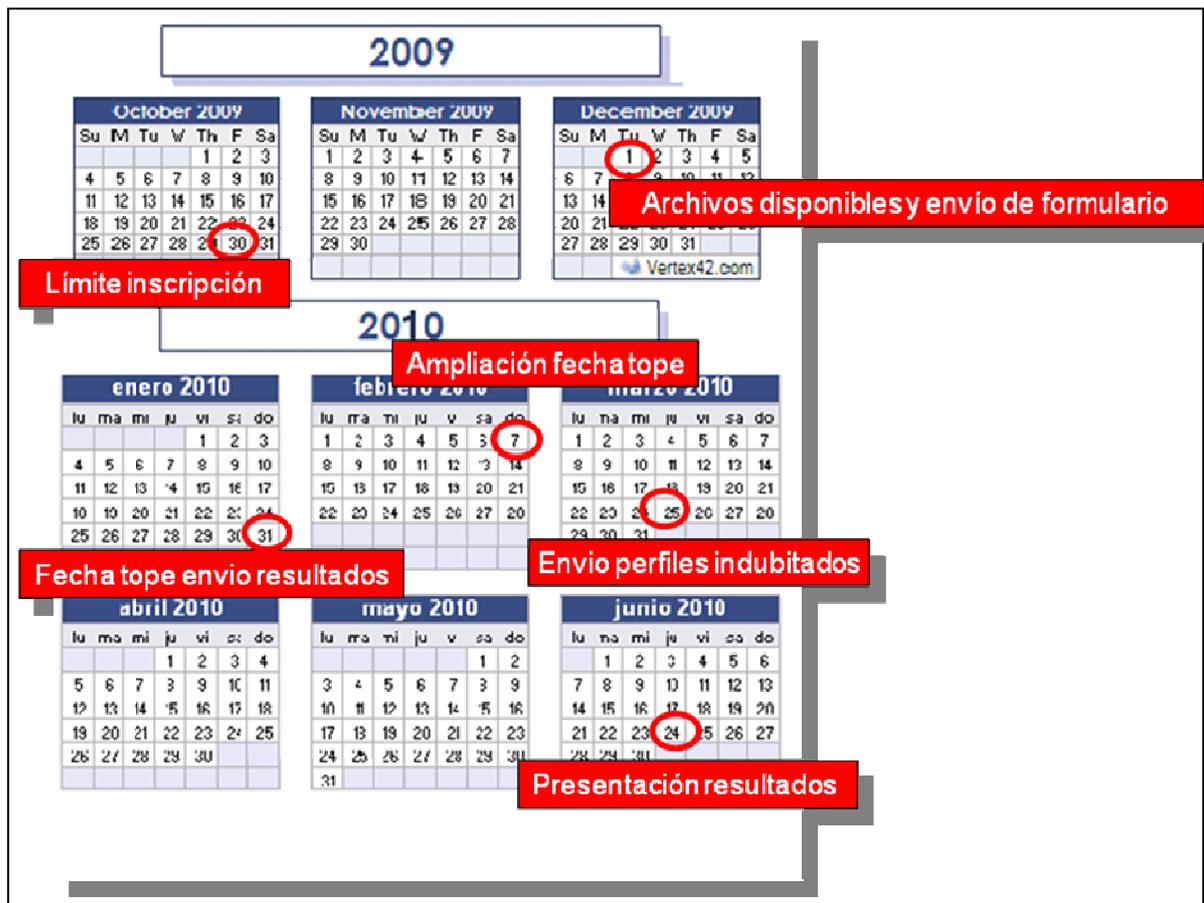
- Poner de manifiesto la dificultad interpretativa de este tipo de perfiles.
- Poder establecer una guía sencilla y básica para llevar a cabo dicho tipo de interpretaciones.
- Si se considera oportuno, y a la vista de los resultados, proponer un ejercicio con un grado superior de complejidad.

Planteamiento:

- Cuatro mezclas de dos componentes (cada una de ellas) a distintas concentraciones (desconocidas para los participantes).
- Las muestras serán analizadas con los kits Identifiler® y PowerPlex16®.
- Disponibles los archivos electrónicos en <http://www.gep.isfg.org> (muestras, escalera alélica y los controles negativos y positivos).
- Formulario de respuestas.

CALENDARIO

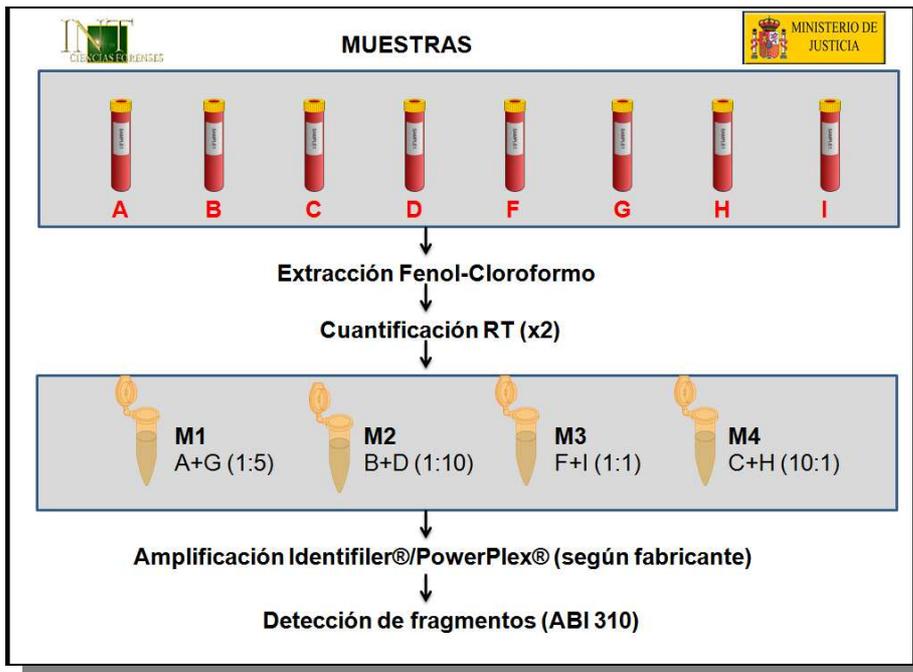
Se resumen en la imagen adjunta los plazos marcados para cada una de las distintas fases en las que se desarrollo este ejercicio.



MUESTRAS

Se partió de ocho muestras indubitadas de sangre completa (A, B, C, D, F, G, H e I). La obtención del ADN se realizó mediante extracción orgánica. Dichos extractos fueron cuantificados mediante real time PCR. El paso de cuantificación se realizó por duplicado con el fin de reproducir las cantidades de ADN de partida de cara a la preparación de las mezclas. Los extractos de ADN fueron mezclados de dos en dos en diferentes proporciones para elaborar las mezclas problemas. Así:

Muestra	Componentes	Proporción
Muestra 1	A + G	1:5
Muestra 2	B + D	1: 10
Muestra 3	F + I	1:1
Muestra 4	C + H	5:1



FORMULARIO

A los laboratorios participantes junto con las muestras problema se adjuntó un formulario que pretendía recopilar información acerca de las estrategias y el quehacer diario de los laboratorios en la interpretación de perfiles mezcla. Dicho cuestionario constaba de dos partes. La primera de ellas pretendía abordar cuestiones generales (1-6) relacionadas con el tratamiento de mezclas mientras que el segundo bloque de preguntas del cuestionario intentaba recopilar información sobre aspectos más técnicos (7-13).

El número de laboratorios que solicitaron participar fue de 51, aunque finalmente fueron 32 los que remitieron resultados.

Laboratorios	Nº
Solicitantes	51
Participantes	32 (68 %)

Se detalla a continuación las respuestas dadas por los laboratorios a las distintas cuestiones planteadas.

1. Indique que tipo/s de casuística se lleva a cabo en su laboratorio:

La mayoría de los laboratorios (24) realizan habitualmente casuística forense y análisis de paternidades

Tipo de casuística	Nº
Forense	3
Paternidades	5
Ambas	24

2. ¿Remite su laboratorio perfiles de ADN a bases de datos de interés criminal?

Preguntados sobre el envío a bases de datos de interés criminal (BDC) los laboratorios mayoritariamente no enviaban los perfiles a BDC (60 %). Por su parte el 33 % (Nacionales + Ambas- 21 % + 12 %)de los laboratorios si que lo hacían.

Laboratorios	Nacionales	Propias	Ambas	No
Total	7	2	4	19
Total (%)	21,875	6,25	12,5	59,375

3. Indique si en la casuística diaria su laboratorio emite resultados de perfiles mezclados de marcadores autosómicos

Laboratorios	Si	No	Si hay muestra de referencia
Total	14	9	9
Total (%)	43,75	28,125	28,125

4. En el caso de obtener un perfil mezcla...:

Los perfiles...	Si son remitidos a B de D Criminales	No son remitidos a B de D Criminales	Se reflejan sólo en el dictamen
Total	3	14	15
Total (%)	9,375	43,75	46,875

De los 11 laboratorios que indican en la pregunta 2 (Nacionales + Ambas) que sí envían resultados a BDC tan solo 3 de ellos declaran enviar perfiles mezcla.

5. Cuando interpreta perfiles mezclados, la asignación alélica de los componentes de la mezcla mediante

Mediante método	Automático	Manual	Ambos
Total	3	18	10
Total (%)	9,375	56,25	31,25

La mayoría de laboratorios no se limitan a la asignación alélica que los distintos software empleados realizan, sino que emplean la apreciación e interpretación del analista.

6. Los criterios empleados para llevar a cabo la interpretación de mezclas en su laboratorio han sido validados.

Validados	Si	No
Total	5	26
Total (%)	15,625	81,25

Son pocos los laboratorios que trabajan e interpretan mezclas con estrategias validadas internamente. Esta cuestión, la validación interna de métodos, supone una exigencia para el laboratorio forense en la interpretación de perfiles, y mucho más si cabe en la interpretación de perfiles mezclas.

7. Para la interpretación de las mezclas en este ejercicio han utilizado los resultados obtenidos mediante los marcadores de:

Kit	Identifiler	Powerplex	Ambos
Total	7	4	21
Total (%)	26,6	11,7	61,7

El empleo simultaneo de 2 kits va a ayudar, como más adelante se pondrá de manifiesto, a acabar de esclarecer la “autenticidad” o no de un determinado perfil, y por tanto a aumentar la confianza sobre el perfil editado.

8. ¿Qué programa de edición ha utilizado?

Mediante método	Genemapper	Genescan	Genotyper
Total	29	2	1
Total (%)	90,6	6,25	3,15
	Versión	Nº	
	ID-X	3	
	3.2	26	

Los datos que se reflejaron en este ejercicio no pusieron de manifiesto una relación entre programa de análisis empleado e incidencia de error.

9. ¿Qué criterios emplea para definir un perfil como mezcla?

	> 4 STRs con >3 alelos	> 3 STRs con >3 alelos	> 2 STRs con >3 alelos	Desbalanceo alelos	Desbalanceo amelogenina (exclusivamente)	Otros
Total	4	8	18	19	2	4
Total (%)	12,5	25	56		6,5	

Para la mayor parte de laboratorios (56 %) es suficiente al menos con detectar un mínimo 2 STRs con al menos 3 alelos, y adicionalmente otros indicadores (principalmente desbalanceo alélico).

Un 25 % requería al menos 3 STRs con >de 3 alelos y para un 12,5% era necesario que al menos fueran 4 los STRs con >3 alelos más. Sin embargo para 2 lab (6,5 %) era suficiente con detectar un desbalanceo en la amelogenina. Por su parte, la mayor parte de los participantes adicionalmente valoran la presencia de desbalanceo entre los alelos y algunos otros factores como el tipo de muestra y delito, los resultados de la cuantificación, la altura y posición de los picos, la altura de los picos en posición *stutters* o el desbalanceo de la amelogenina.

Creemos que además del criterio general de al menos dos STRs con presencia de al menos 3 alelos descartando irregularidades genéticas. (Pej. trisomias, mutaciones somáticas, duplicaciones...). La constatación de que estamos ante una mezcla debe quedar definido con la ayuda de la observación de picos en posición *stutter* con altura > 15 %, el desbalanceo alélico (heterocigotos < 60%) y en definitiva aplicando una observación general (en conjunto) del EFG.

10. En el presente ejercicio los alelos han sido asignados cuando el pico supera los:

	150 RFUs	100 RFUs	50 RFUs	Otros
Total	1	10	21	11
Total (%)	3,125	31,25	65,625	

La mayor parte de labs (21) consideran que picos >50 RFUs pueden ser asignados como alelos, tan solo 1 laboratorio exigió al menos 150 RFUs para considerar un pico como un alelo real. Algunos de los laboratorios, adicionalmente, emplearon otros criterios para dar categoría de alelo a un pico. Algunos de esos criterios fueron el nivel del ruido de fondo existente en el EFG, el kit utilizado y número de ciclos de la PCR empleados, el hecho de que se tratara de un pico en posición stutter, cuando dichos picos stutter superaban el 15% del alelo principal o incluso la propia morfología del pico.

Otros
Nivel del ruido de fondo
Kit utilizado y número de ciclos de la PCR
Posición de posible stutter
> 15% del alelo principal
Morfología del pico

11. Las posiciones “stutter” (n-4) han sido asignadas como posibles alelos:

	Superan 15%	Ninguna <150 RFUs	Ninguna < 100 RFUs	Ninguna < 50 RFUs	Variable
Total	16	2	2	4	20

La mayor parte de los participantes consideran 2 parámetros principalmente para poder discriminar entre un alelo o un stutter:

- 1º. Si superan o no el 15 % del alelo principal
- 2º La variabilidad achacable al tipo de marcador y alelo en cuestión.

12. ¿Cree que la resolución de las mezclas de este ejercicio hubiera requerido análisis adicionales tales como?

	MiniSTRs	Cromosoma Y	Parámetros electroforéticos	Otros
Total	9	23	11	15

Hay una opinión general de que análisis adicionales posibilitarían una mejor definición del perfil, especialmente el de la muestra 2. (el ejercicio está planteado como si este fuera el único perfil disponible, cuestión en la que nos hemos visto los laboratorios en más de una ocasión).

En referencias a las estrategias, se describen algunas como aumentar en número de ciclos o cantidad de ADN. Si bien es cierto que en determinados casos puede ayudar, sin embargo en muestras muy desbalanceadas puede ocasionar una mejoría del perfil minoritario y también paralelamente en incremento de señal del constituyente mayoritario con un consiguiente riesgo de la aparición de drop-in y artefactos que pueden inducir a incrementar en algunos casos la duda sobre el perfil definitivo. Otras estrategias de mejora de los perfiles incluye el aumentar el número de STRs analizados, purificar/concentrar o re-extraer y re-genotipar.

Otros
Aumentar nº de ciclos
Aumentar la cantidad de ADN amplificado
Diluciones de las muestras ??
Aumentar nº de STRs
Purificar/concentrar
Extracción diferencial
Repetir amplificación
Re-extraer y re-genotipar

13 ¿Cuál o cuáles son los principales obstáculos en su laboratorio a la hora de interpretar mezclas?

	Falta de criterio único	Falta de formación	No obstáculos	Otros
Total	14	17	2	17

Otros
Difícil aplicación de los criterios publicados
Mezclas muy desproporcionadas (< 1:16)
Falta de experiencia/casuística
Mezclas con más dedos individuos

Otros
Muestras con poco ADN y/o degradado
Falta de recursos informáticos validados
Diferente comportamiento de los kits
Interpretación manual laboriosa

Salvo los 2 laboratorios que indicaron no tener problemas a la hora de interpretar un perfil mezcla, los 30 restantes aparte de la falta de criterio único/falta de formación incluyeron otras cuestiones, entre otras:

- Difícil aplicación de los criterios teóricos publicados
- Mezclas muy desproporcionadas (< 1:16)
- Falta de experiencia/casuística
- Falta de criterio inter-laboratorio
- Mezclas con más de 2 individuos

- Muestras con poco ADN y/o degradado
- Falta de recursos informáticos validados para mezclas
- Diferencias ente *kits*
- Interpretación manual laboriosa

Los laboratorios reconocen, en general, tener importantes limitaciones de cara a la interpretación de perfiles mezclados

RESULTADOS

Se muestra a continuación dos tablas que representan el grado de discordancia en por muestra y marcador mostrado tanto para los resultados observados como para los perfiles emitidos a una hipotética base de datos.

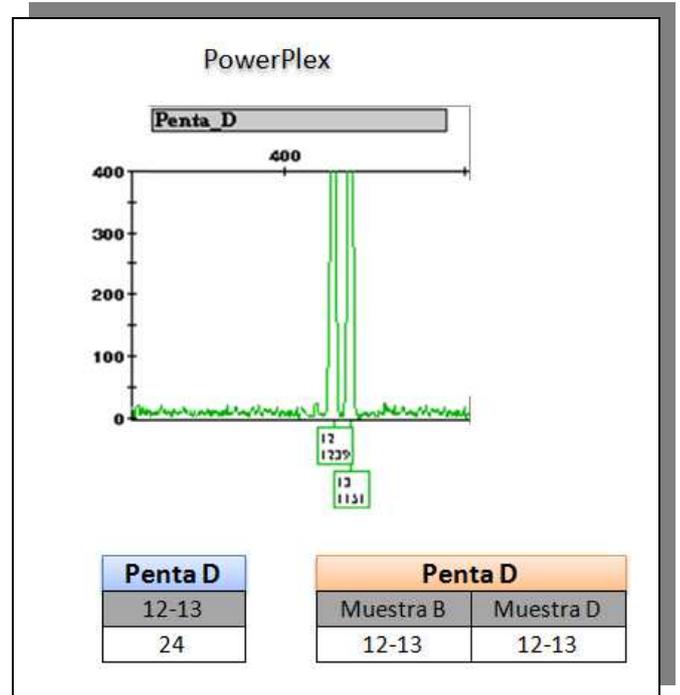
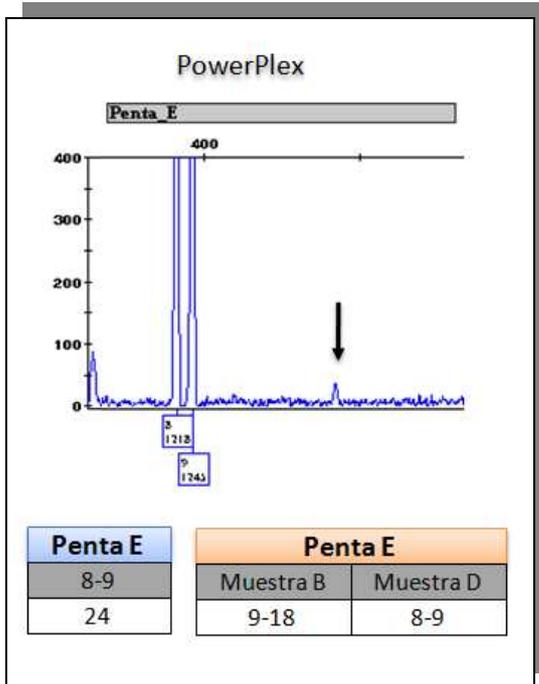
RESULTADOS									
OBSERVADOS					ENVIADOS a Base de Datos				
	M1	M2	M3	M4		M1	M2	M3	M4
	1:5	1:10	1:1	1:5		1:5	1:10	1:1	1:5
D8S1179	4				D8S1179	5			4
D21S11		5			D21S11	4	6	4	4
D7S820					D7S820		6		4
CSF1PO		5			CSF1PO		5	4	4
D3S1358		4		4	D3S1358	4	7	4	4
TH01					TH01	4	5	4	6
D13S317					D13S317	4	5	4	
D16S539		4			D16S539	4	7	4	
D2S1338		4			D2S1338		5	4	
D19S433					D19S433	4			4
vWA					vWA		4	4	
TPOX					TPOX		4		
D18S51		5			D18S51		6		
D5S818		5			D5S818		4	4	
FGA					FGA	4	6	4	
Penta E					Penta E	4			4
Penta D					Penta D				

1 resultado 2 resultados 3 resultados >3 resultados

Resultados observados.

En los anexos I, II, III y IV se adjunta un detalle del EFG de cada marcador STRs analizado (Identifiler/PowerPlex), así como tablas que muestran los distintos resultados emitidos y una tabla correspondiente al perfil esperado (a la vista de los contribuyentes) para cada marcador y muestra.

Para las muestras M3 y M4 Se observa una importante homogeneidad en referencia a los resultados emitidos por parte de los laboratorios. Por su parte las muestras M1 y M2 presentaron una mayor dispersión de resultados, especialmente la M2 (1:10) achacable sin duda a la alta desproporción en la que se presentaron los componentes de la mezcla. En esta muestra, la M2, hasta para 7 marcadores se emitieron al menos 4 resultados diferentes por STR. Consensuándose un resultado tan solo para los dos pentas, sin embargo para penta E, tal y como se expondrá a continuación, el consenso es un “falso consenso”. Las figuras adjuntas ilustran algunos detalles de dicho “consenso”.



Los 24 laboratorios que analizan Penta E para dicha muestra M2 emiten como resultado 8-9, sin embargo el resultado debiera haber sido 8-9-18, no asignándose por tanto el alelo 18 por ninguno de ellos (no alcanza la altura de 50 RFUs).

Por su parte en referencia al consenso conseguido en el marcador Penta D hay que indicar que en este caso ambos componentes de la mezcla (A y D), mayoritario y minoritario, coinciden en el genotipo.

Tipos de errores

Al final de este documento se adjunta un anexo donde se desglosa por muestra y marcador los tipos de errores cometidos. Nos remitimos a él para una visión más en detalle.

***IMPORTANTE:** Se entiende por errores las diferencias respecto al resultado esperado a la vista de los genotipos de los donantes. Podría haberse adoptado otros términos alternativos a error como por ejemplo “no esperados” o “discrepantes”, pedimos por tanto que el término error sea considerado en su justa medida.*

Hemos intentado clasificar los errores en tres grandes bloques y a su vez los dos primeros quedarían desglosados en otros dos:

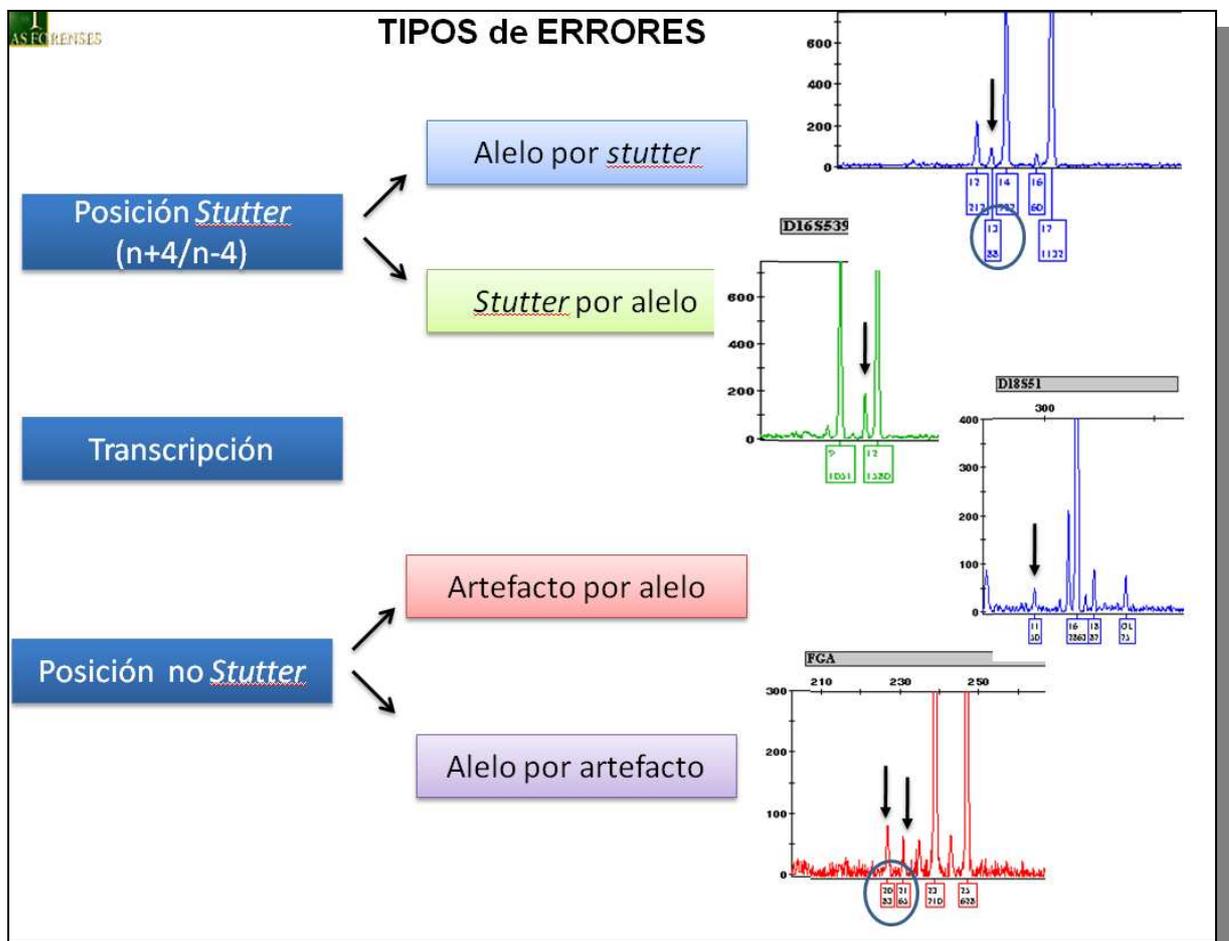
1. Aquellos que se producen en posición *stutter* (n-4/n+4).

- 1.1. Alelo por *stutter*: Alelos reales son catalogados como *stutter*
- 1.2. *Stutter* por alelo: Picos *stutter* se les da categoría de alelo.

2. Los que aparecen fuera de dichas ubicaciones *stutter*.

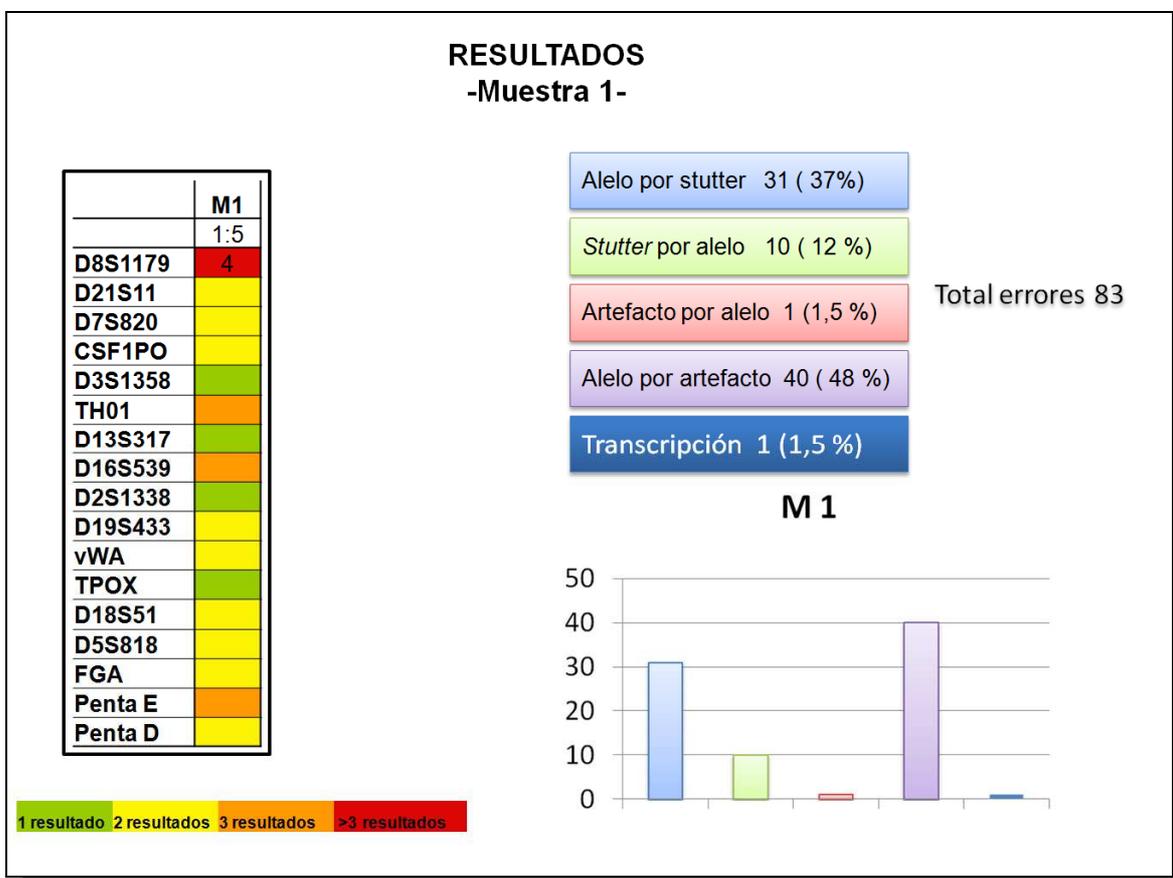
- 2.1. Artefacto por alelo: artefactos (electroforesis/amplificación) son catalogados como alelos
- 2.2. Alelo por artefacto: Alelos reales son confundidos como artefactos, perdiendo así su categoría de alelo real.

3. Errores achacables a una incorrecta transcripción

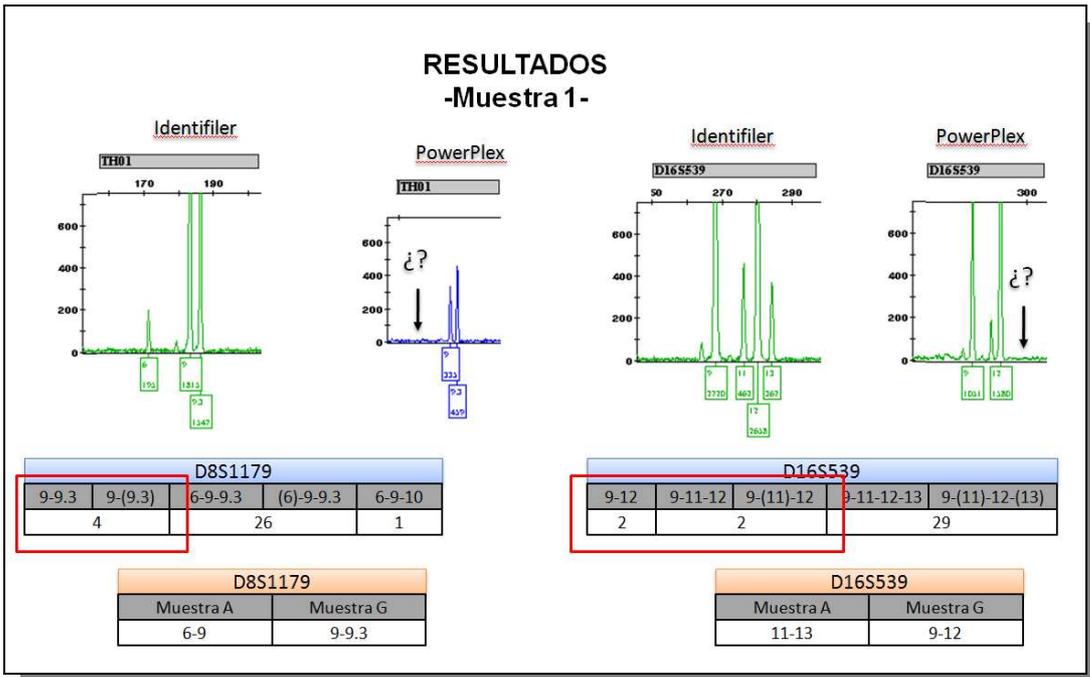


En referencia a los tipos de errores que se comentieron las siguientes gráficas y tablas indican su distribución por muestra :

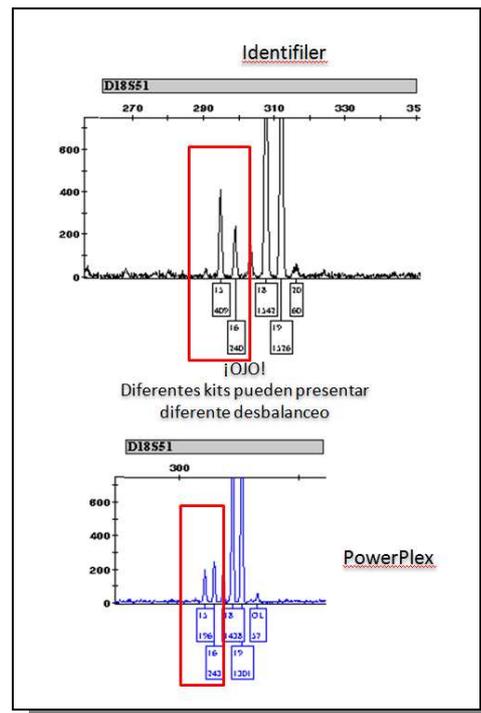
MUESTRA 1



Resulta reseñable en esta Muestra M1 lo que acontece para los marcadores STR TH01 y D16S539, ya que los laboratorios que sólo emplearon el análisis de *Powerplex* (4 laboratorios) no detectaron alelos que si fueron puestos de manifiesto con *Identifiler*. **Resulta importante, siempre que exista la posibilidad, contrastar resultados con un segundo kit en lugar de repetir con el mismo kit. Ello nos puede ayudar a confirmar o descartar alelos. Para ciertos marcadores y en determinados tipos de mezclas diferentes kits pueden mostrar comportamientos diferentes**



Otra cuestión que merece la pena destacar, y que se puso de manifiesto con esta primera muestra M1, es el diferente comportamiento que pueden presentar distintos kits ante la misma mezcla en referencia al balanceo de los constituyentes. Concretamente en el ejemplo que se adjunta se observa como dependiendo del kit, los alelos del componente minoritario (enmarcados) muestras un diferente balanceo. Esta cuestión, en determinadas situaciones, puede inducir a una asignación errónea respecto al número de contribuyentes de la mezcla.



MUESTRA 2

Se trata de la muestra que más dispersión de resultados mostró, sin duda achacable al acusado desbalanceo de sus componentes (1:10) (el componente minoritario a niveles de LT-DNA). Hasta un total de 162 errores . Como se indicaba anteriormente hasta para 7 marcadores se emitieron al menos 4 resultados diferentes para cada uno de dichos STRs.

RESULTADOS -Muestra 2-

	M2
	1:10
D8S1179	
D21S11	5
D7S820	
CSF1PO	5
D3S1358	4
TH01	
D13S317	
D16S539	4
D2S1338	4
D19S433	
vWA	
TPOX	
D18S51	5
D5S818	5
FGA	
Penta E	
Penta D	

Alelo por stutter 21 (13%)

Total errores 162

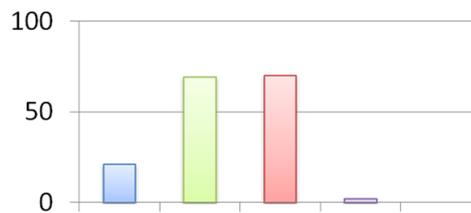
Stutter por alelo 69 (42,5 %)

Artefacto por alelo 70 (43,2 %)

Alelo por artefacto 2 (1,3 %)

Transcripción 0

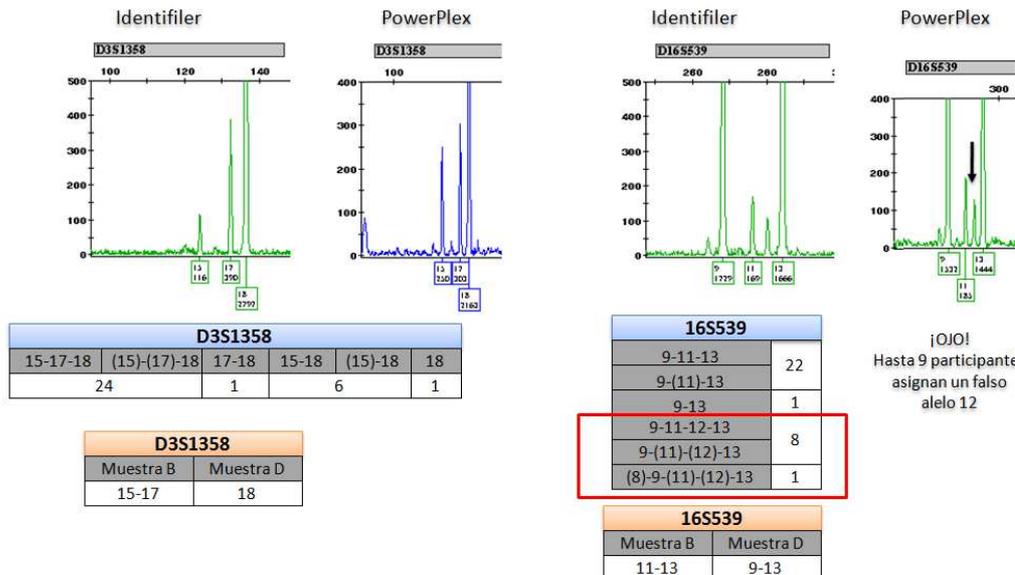
M 2



1 resultado 2 resultados 3 resultados >3 resultados

Como muestra de la gran diversidad de resultados presentada en esta muestra adjuntamos un detalle. Remitimos al anexo para mayor lujo de detalles.

RESULTADOS -Muestra 2-

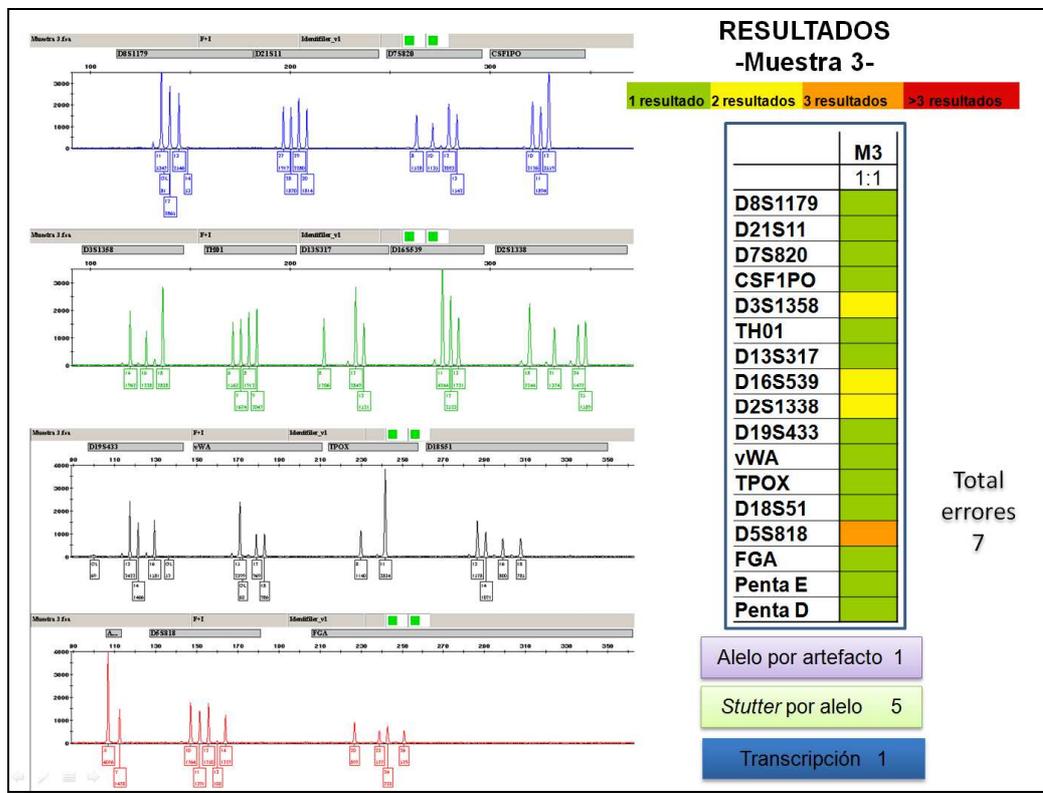


*En las tablas los parentesis muestran aquellos alelos que los laboratorios indicaron como minoritarios en la mezcla. A efectos de computo no fueron considerados como resultados diferentes a los que no indicaron la naturaleza minoritaria de dichos marcadores en la mezcla.

En los ejemplos de la figura anterior se muestra por un lado la alta dispersión de resultados que genera el perfil mezcla el marcador D3S1358, donde podemos apreciar una buena asignación alélica, sin indicios de artefactos o dudas en posiciones stutter que puedan inducir a la duda. Siendo esta situación repetitiva con los dos kits empleados. Por su parte, para D16S539, hasta 9 laboratorios llegaron a asignar un alelo 12 inexistente como componente real de la muestra.

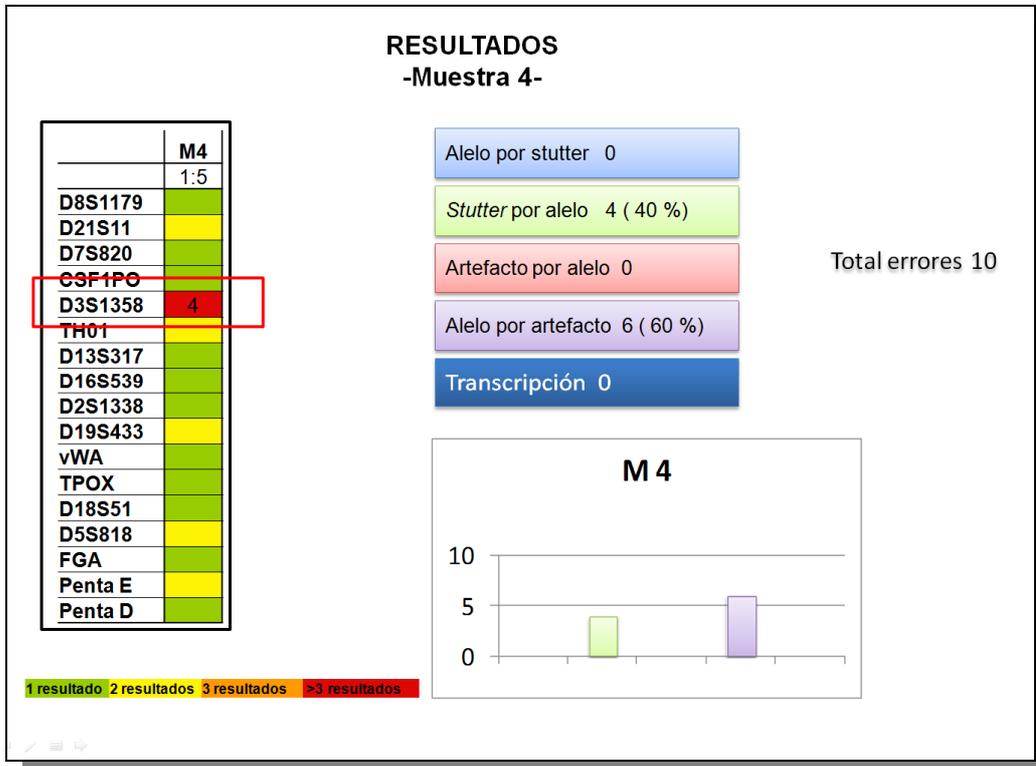
MUESTRA 3

En referencia a esta muestra hay poco que comentar salvo el alto grado de consenso entre los laboratorios participantes, que coincide por otra parte con el resultado esperado a la vista de los genotipos que presentan las muestras indubitadas. Se trata de una muestra en proporción 1:1 donde no se puede, por tanto, definir un componente mayoritario y donde no hay indicios de lapresencia de fenómenos estocásticos. Es lo que según en grupo alemán se categorizaría como una mezcla de clase A (Int J Legal Med (2009) 123:1–5).



MUESTRA 4

A pesar de tratarse otra muestra (M4) en la que la proporción de los constituyentes era 1:5, al igual que la muestra M1, la cantidad de errores fue sensiblemente menor que la detectada con aquella (83), en este caso tan sólo se emitieron 10. Siguiendo dichos errores el patrón descrito en la figura siguiente. La mayor parte de esos errores se centraron en el marcador STR D3S1358.



A continuación se muestra en la figura siguiente un resumen total de los errores detectados.



CONCLUSIONES

- 1º. Criterios muy variados por parte de los laboratorios a la hora asignar alelos de una mezcla, especialmente en muestras con gran desbalanceo de sus contribuyentes (<1:10)
- 2º. Ausencia, mayoritariamente, de una validación interna para análisis de mezclas.
- 3º. Especialmente resulta preocupante, la aún mayor dispersión de resultados a la hora de introducir un perfil mezcla en una base de datos criminal, incluso muestras bien balanceadas (M3-1:1).
 - Una misma mezcla incluida con diferentes perfiles.
 - Aumento de *adventitious match* y falsas exclusiones.
- 4º. Según manifiestan los laboratorios, existe una falta de formación en esta faceta del análisis genético.
- 5º. Necesidad de formar e intercambiar ideas para ayudar a superar la problemática que plantean estas muestras (nuevos ejercicios, workshops...).
- 6º. Necesidad de establecer una nomenclatura estandarizada para asignar los alelos de una mezcla.

REQUISITOS y SUGERENCIAS PARA LLEVAR A CABO EL ANÁLISIS DE PERFILES MEZCLAS de ADN AUTOSÓMICO

El análisis de un perfil mezcla en el mejor de los casos (mezcla interpretable y muestras indubitadas de cotejo) comporta la ejecución de dos grandes pasos:

- 1º- Definir los alelos constituyentes de la mezcla (hasta donde sea posible) y posible número de contribuyentes.
- 2º- En base a la información del caso plantear hipótesis de trabajo y realizar un tratamiento estadístico de los resultados.

En el presente ejercicio se ha pretendido valorar la capacidad de los participantes dentro del primero de dichos pasos, es decir, en la definición del perfil alélico. Dejando la valoración estadística para otra ocasión, si este extremo se considera adecuado.

Desde nuestro punto de vista consideramos necesario para poder afrontar con ciertas garantías la valoración de perfiles mezclas cumplir una serie de **requisitos mínimos**, entre ellos:

- 1º- **Estudios de validación interna**, que deben incluir al menos:
 - Sensibilidad.
 - Balanceo de heterocigotos (por locus).

- Establecer los niveles de stutter.
- Estudios de mezclas a distintas proporciones.

2º- Mantenimiento adecuado de los equipos, que debe incluir al menos:

- Termocicladores.
- Secuenciadores automáticos.

3º- Uso adecuado del software

- Módulos de análisis correctos.
- Matrices adecuadas.
- Filtros de stutter

Asimismo a continuación se exponen una serie de **sugerencias** que pueden ayudar en el análisis e interpretación de perfiles mezcla.

1º- Evitar analizar e interpretar muestras con perfiles mezclados (si es posible). Buscar otras evidencias en el contexto del caso que permitan aportar información útil desde el punto de vista judicial. Como vemos la primera sugerencia es evitar el análisis de este tipo de muestras, precisamente por la complejidad que en numerosas ocasiones comportan. Esta cuestión es una obviedad pero en ocasiones podemos perder de vista esta sencilla recomendación.

2º- Establecer criterios internos del laboratorio claros y sencillos (basados en la validación) que permitan responder si un perfil mezcla es interpretable o no por parte de nuestro laboratorio. Desde nuestro laboratorio tenemos que tener claro que tipo de perfiles mezcla, según nuestros medios (equipos, formación del personal, materiales-batería de marcadores-...) podemos dar respuesta. El empeño en el análisis de muestras únicas puede acabar por agotar dicho indicio dejando de esta manera la imposibilidad de análisis en otro laboratorio con medios para ello.

3º- Reproducir el perfil obtenido (si es posible) mediante duplicación de la extracción y/o amplificación (p ej por distintos *kits*). En el presente ejercicio se ha observado que en algunas ocasiones una verificación hubiera corregido ciertas discrepancias.

4º -Conocer y en su caso emplear distintas estrategias para mejorar resultados (según se requiera) de las mezclas problema

- **Nº de ciclos** (OJO!! Dependiendo del porcentaje de los contribuyentes se puede ocasionar SATURACIÓN de SEÑAL y efectos de drop-in).
- **Purificación de productos de PCR.**
- Aumentar *input* ADN amplificado en la electroforesis.
- **Condiciones de electroforesis.**
- **Repetir amplificación aumentando la cantidad de ADN** (especialmente en mezclas >1:10).En ocasiones SATURACIÓN de SEÑAL y efectos de drop-in.

No hay que olvidar que el empleo de alguna/s de dicha/s estrategias va a obligar al laboratorio al laboratorio a validar dichos métodos/estrategias para su empleo seguro.

5º- Realizar una asignación alélica del perfil mezcla independientemente de los perfiles de sospechoso/s y/o víctima (“a ciegas”).

6º Observar/estimar la proporción de los componentes (2 individuos)

Balaceo 1:1 a 1:3 (aproximadamente)	BUENA INTERPRETACIÓN
Balaceo > 1:5 (aproximadamente)	CAUTELA EN LA INTERPRETACIÓN DEL PERFIL MINORITARIO
Balaceo > 1:10 (aproximadamente)	OBVIAR EL PERFIL MINORITARIO??, DIFICILMENTE REPRODUCIBLE.

Nos gustaría acabar este resumen incluyendo algunas recomendaciones internacionales sobre este respecto que conviene tener presente.

 ELSEVIER	Available online at www.sciencedirect.com  Forensic Science International: Genetics 1 (2007) 291–292	 www.elsevier.com/locate/fsig
Letter to the Editor		

Interpretation of DNA mixtures—European consensus on principles

We propose that the German paper and the UK response can provide a model for other countries to follow in formulating their local national recommendations. This seems to be the best way forward to resolve the inevitable ‘finer’ points that may have national relevance, but might be of limited international relevance, and are therefore not covered by the ISFG DNA commission document.

The ISFG recommendations on DNA mixtures were formulated by international experts within the field and have now been supported by a formal network of European and national forensic genetic, scientific organisations. We consider

Having clarified the status of the ISFG recommendations on DNA mixtures, we would like to draw the attention to three very important issues that must still be addressed at all levels, i.e. the need for:

- (1) clarification of working practices for the interpretation of DNA profiles based on accreditation according to recognised laboratory standards such as ISO 17025,
- (2) education in the interpretation of the weight of the evidence of complicated DNA profiles, and
- (3) development of computer based expert systems that can assist in the interpretation of complicated DNA profiles.



DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the interpretation of mixtures

P. Gill^{a,*}, C.H. Brenner^b, J.S. Buckleton^c, A. Carracedo^d, M. Krawczak^e, W.R. Mayr^f,
N. Morling^g, M. Prinz^h, P.M. Schneiderⁱ, B.S. Weir^j

^a Forensic Science Service, Trident Court, 2960 Solihull Parkway, Birmingham, UK

^b Forensic Science Group, School of Public Health, University of California, Berkeley, CA 94720-7300, USA

best practice that can be universally applied to assist with mixture interpretation. In addition the commission was tasked to provide guidance on low copy number (LCN) reporting. Our discussions have highlighted a significant need for continuing education and research into this area. We have attempted to present a consensus from experts but to be practical we do not claim to have conveyed a clear vision in every respect in this difficult subject. For this reason, we propose to allow a period of time for feedback and reflection by the scientific community. Then the DNA commission will meet again to consider further recommendations.

Received 4 April 2006; accepted 10 April 2006
Available online 5 June 2006

Abstract

The DNA commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG) was convened at the 21st congress of the International Society for Forensic Genetics held between 13 and 17 September in the Azores, Portugal. The purpose of the group was to agree on guidelines to encourage best practice that can be universally applied to assist with mixture interpretation. In addition the commission was tasked to provide guidance on low copy number (LCN) reporting. Our discussions have highlighted a significant need for continuing education and research into this area. We have attempted to present a consensus from experts but to be practical we do not claim to have conveyed a clear vision in every respect in this difficult subject. For this reason, we propose to allow a period of time for feedback and reflection by the scientific community. Then the DNA commission will meet again to consider further recommendations.

© 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: STR typing; Biostatistical analysis; Likelihood ratio; Probability of exclusion; Mixtures; ISFG DNA commission

AGRADECIMIENTOS

Por último nos gustaría agradecer a nuestros compañeros Miguel Paredes Herrera y Estel Enreig Cabanes por el esfuerzo invertido en su colaboración con la preparación de las muestras así como en la valoración del presente ejercicio.