Casos teóricos – Control de Calidad 2009 del GEP-ISFG

Miguel Marino
Laboratorio de Análisis de ADN, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo – Mendoza, Argentina
António Amorim
IPATIMUP – Porto, Portugal

Paternidad Teórica:

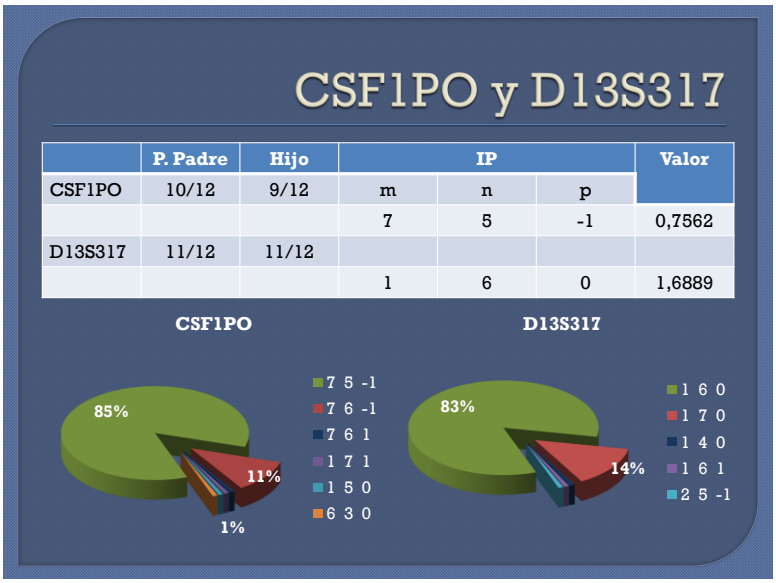
Si bien el ejercicio de Paternidad Teórica de este año tenía algunas dificultades, los ejercicios teóricos anteriores eran relativamente más complejos, por lo menos en cuanto al vínculo a determinar.
El planteo este año fue el siguiente:

- Se trata de determinar la probabilidad de paternidad del presunto padre respecto al hijo (no se cuenta con la madre)
- Se informa la tasa de mutación y la frecuencia de alelos silentes
- Se plantea informarlo según la formula m.n x10^p
- Se solicita no redondear e informar el IP total con la mayor precisión disponible

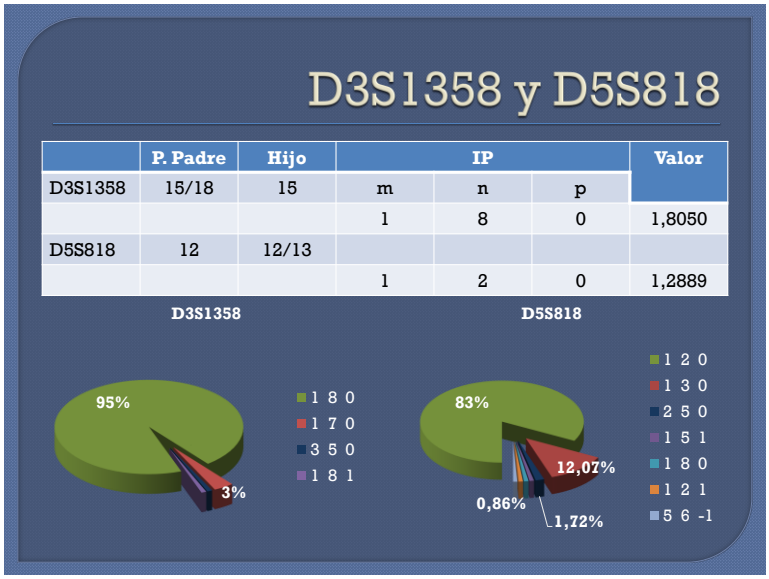
	Presunto Padre	Hijo
CSF1PO	10/12	9/12
D13S317	11/12	11/12
D3S1358	15/18	15
D5S818	12	12/13
D7S820	8/10	10/12
FGA	21/22	22/23.2
THO1	9/9.3	6/9.3
TPOX	8	8
vWA	16	17

Como se puede observar en la tabla, la determinación del vínculo biológico de paternidad es relativamente sencilla, salvo en el marcador vWA en el que encontramos una discordancia padre/hijo, la que analizaremos en forma separada.
Participaron 116 laboratorios, número que se mantiene en los últimos ejercicios, de los cuales 115 envían resultados para todos los marcadores y el resultados "TOTAL", salvo el laboratorio 564097 que no envía el resultado para vWA y "TOTAL".
Del total de 1160 determinaciones (116 laboratorios informando 8 marcadores y el Total) encontramos 290 (25%) determinaciones fuera del consenso, tomando como consenso a aquel valor dado por la mayor parte de los laboratorios; 80 de estas determinaciones fuera del consenso pertenecen a un solo marcador, el vWA.
Por otro lado, 30 de los 116 laboratorios participantes están fuera del consenso en por lo menos 1 marcador y de ellos 19 laboratorios concentran el 85.7% de los valores fuera del consenso (108/126) sin tener en cuenta al marcador mas problemático, uno de ellos (563794) se encuentra fuera del consenso en 7 de 8 marcadores no conflictivos.

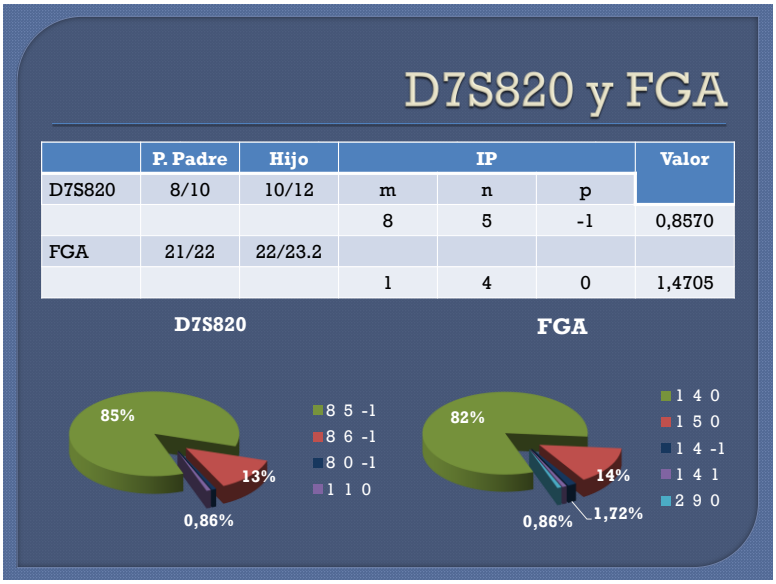
A continuación se presenta una distribución de los resultados reportados para cada marcador:



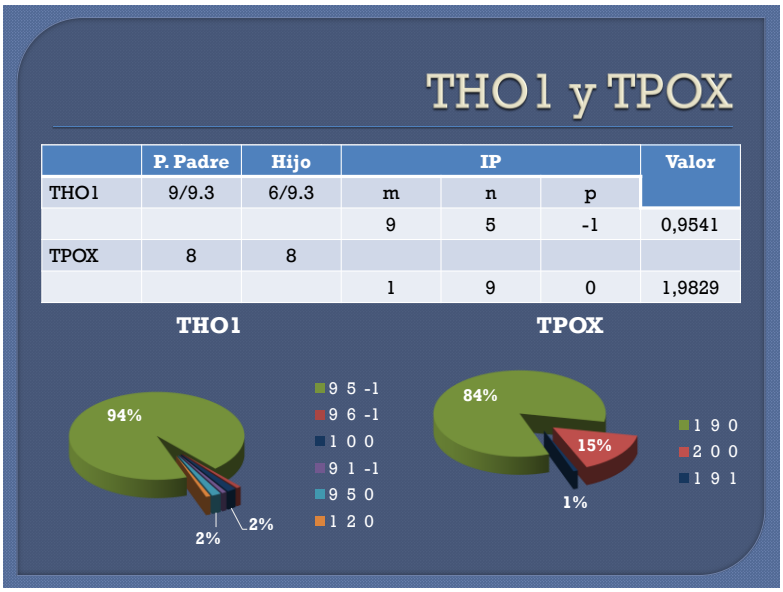
	P. Padre	Hijo	IP			Valor
CSF1PO	10/12	9/12	m	n	p	
			7	5	-1	0,7562
D13S317	11/12	11/12				
			1	6	0	1,6889



	P. Padre	Hijo	IP			Valor
D3S1358	15/18	15	m	n	p	
			1	8	0	1,8050
D5S818	12	12/13				
			1	2	0	1,2889

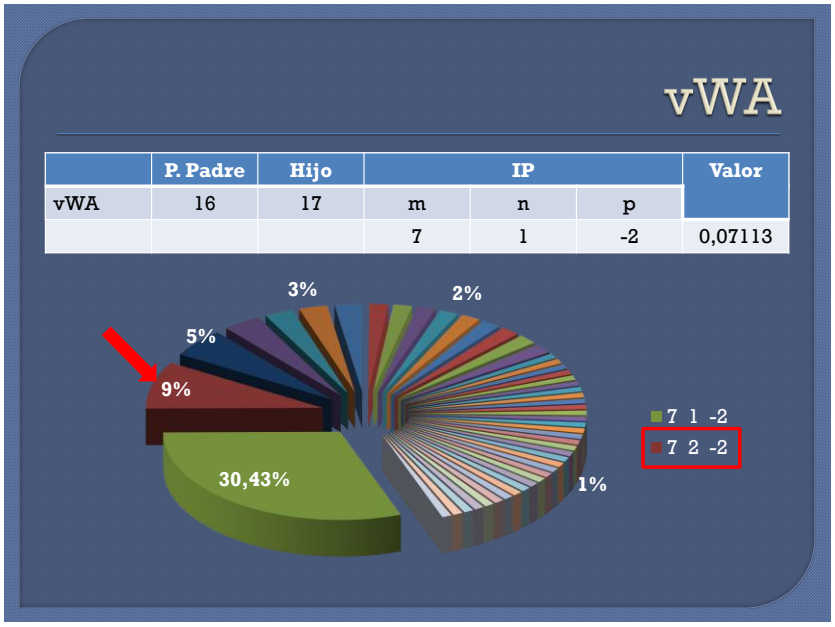


	P. Padre	Hijo	IP			Valor
D7S820	8/10	10/12	m	n	p	
			8	5	-1	0,8570
FGA	21/22	22/23.2				
			1	4	0	1,4705



Como puede observarse en todos los marcadores existe un valor consensuado por la mayoría de los laboratorios y luego encontramos valores muy cercanos al valor consenso derivado de errores en el redondeo o en el cálculo de los IP parciales. Además, para todos estos marcadores los valores consensuados coinciden con el valor reportado como "correcto" por el experto que propuso el ejercicio.

Esta situación cambia cuando analizamos el marcador vWA, en el cual encontramos una inconsistencia padre/hijo que puede deberse a una mutación de un paso o a un alelo silente. Esto hace que encontremos una gran dispersión en los resultados, según la fórmula utilizadas y según se considere mutación, alelo silente o ambas.



Los resultados para este marcador cambian sustancialmente, hay aproximadamente un 30% de los laboratorios que obtiene un mismo resultado que difiere del resultado considerado como "correcto" por el experto que propuso el ejercicio, que lo reporta solo el 9% de los laboratorios (marcado en rojo).

Si bien la gran mayoría de los laboratorios considera para este marcador la posibilidad de la ocurrencia de una mutación, o la posibilidad de la existencia de un alelo silente, solo un pequeño grupo de laboratorios considera en el cálculo ambas posibilidades, obteneniendo una formula combinando la posibilidad de una mutación **o** alelo silente.

vWA

- Alelo silente (formula según Brenner)

$$IP = o / q\text{``}\ r\text{``}$$

donde $o = f_{(o)} = 0.05$ $q\text{``} = f_{(17)} + 2o$ y $r\text{``} = f_{(16)} + 2o$

- Mutación

$$IP = \mu / 2f_{(17)}$$

donde μ= tasa de mutación= 0.001

vWA

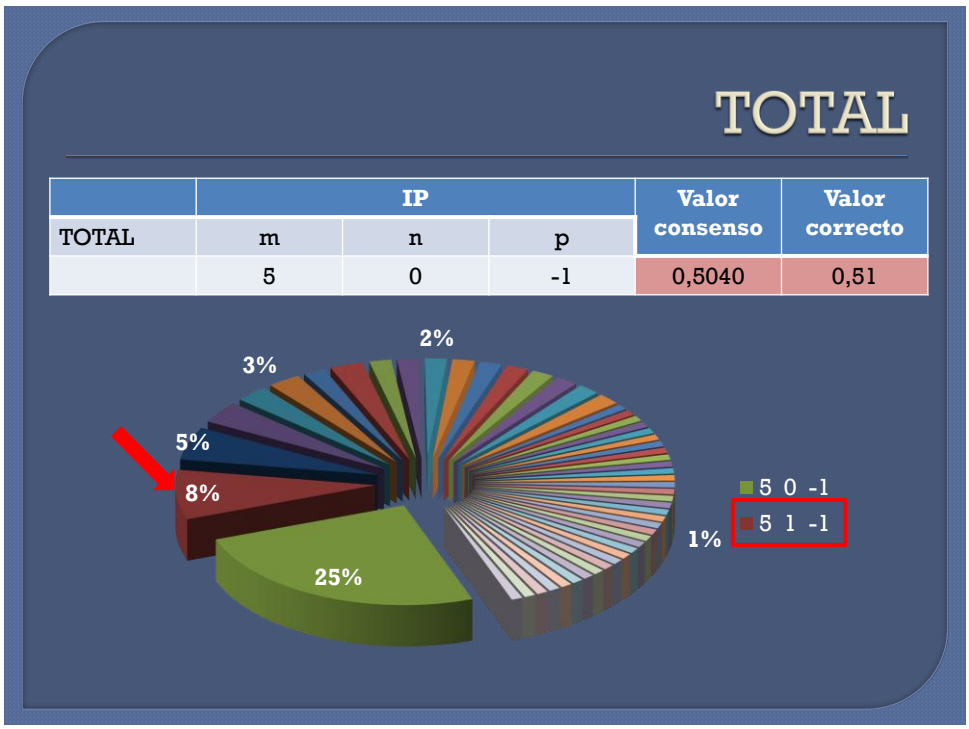
- Combinación alelo silente + mutación

$$IP = \frac{2f_{16}f_0 x 1/2[1/2\ \mu\ (f_{17}+f_0)+f_{17}]+f_{16}^2 x 1/2\ \mu\ (f_{17}+f_0)}{(2f_{16}f_0+f_{16}^2)x(2f_{17}f_0+f_{17}^2)}$$

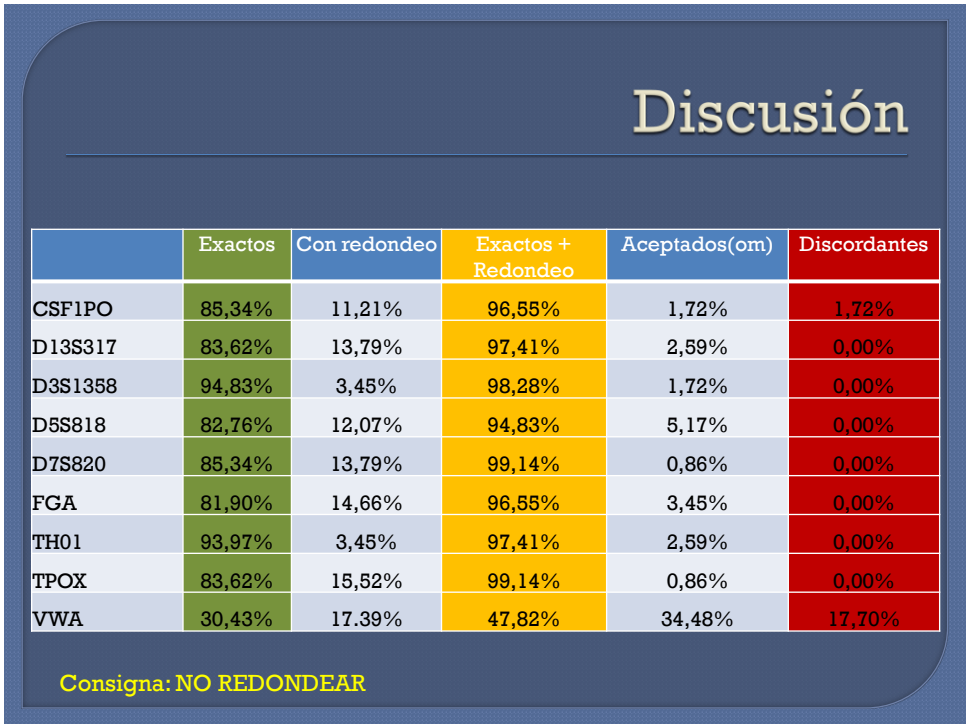
donde $f_{(o)} = 0.05$, $f_{(17)}$=0,2886 y $f_{(16)}$=0,2254

Esta variabilidad en los resultados es la que motiva una gran dispersión en el resultado final, con un grupo de laboratorios (≈25%) que informa el valor "TOTAL" que difiere mínimamente con el valor considerado como "correcto", que lo informa solo el 8% de los laboratorios (marcado en rojo). Luego existe una gran dispersión de resultados,

algunos por errores en el redondeo y otros por errores en los cálculos; lo que hace que se observen valores que van desde $1x10^{-3}$ a $7.2x10^{3}$.



Mas allá de esto, si tenemos en cuenta los valores exactos y los valores que difieren por errores de redondeo vemos que prácticamente el 96 al 99% de los laboratorios coinciden en todos los marcadores, salvo en el vWA.



	Exactos	Con redondeo	Exactos + Redondeo	Aceptados(om)	Discordantes
CSF1PO	85,34%	11,21%	96,55%	1,72%	1,72%
D13S317	83,62%	13,79%	97,41%	2,59%	0,00%
D3S1358	94,83%	3,45%	98,28%	1,72%	0,00%
D5S818	82,76%	12,07%	94,83%	5,17%	0,00%
D7S820	85,34%	13,79%	99,14%	0,86%	0,00%
FGA	81,90%	14,66%	96,55%	3,45%	0,00%
TH01	93,97%	3,45%	97,41%	2,59%	0,00%
TPOX	83,62%	15,52%	99,14%	0,86%	0,00%
VWA	30,43%	17.39%	47,82%	34,48%	17,70%

A continuación se presentan los puntos más importantes de la discusión de este ejercicio y sobre los ejercicios teóricos en general:

1- La forma de informar los cálculos, con la fórmula $m.nx10^p$, si bien resultó algo confusa en un principio, tanto los organizadores como los participantes coincidieron en su gran utilidad, tanto para la presentación de los resultados del control, como para lograr consensos a la hora de informar los valores.

2- Todos los laboratorios participantes sugirieron la utilización de un mayor número de marcadores para la resolución de estos casos lo que permitiría, además de arribar a resultados mas concluyentes, acercarse a la realidad en como se resuelven estos casos en los laboratorios.

3- En el casos del marcador vWA los participantes de las jornadas estuvieron de acuerdo en que la mejor opción para resolver el caso era considerando ambas posibilidades en el calculo (mutación o alelo silente), aunque se aclaró que no se podía considerar como incorrecto la consideración de solo mutación o solo alelo silente, aunque por la frecuencia la segunda opción era mas correcta que la primera.

4- De la discusión también surgió la importancia de, en un futuro, fijar qué se va a considerar dentro y fuera del consenso:

- Los valores que informan la mayoría de los laboratorios?
- Los valores que reporta el experto organizador del ejercicio?
- Los valores exactos?
- Los valores exactos + valores con redondeo?
- Los valores exactos + valores con redondeo + los valores dentro del orden de magnitud?

Desafío Paternidad Teórica:

El desafío de este año no era en cuanto a la complejidad del vínculo a determinar, sino que apuntaba a la elección de las formulas a utilizar debido a las particularidades de los perfiles genéticos de los individuos involucrados.
El planteo este año fue el siguiente:

- Se trata de determinar la probabilidad de paternidad de P respecto de H asumiendo que M es la madre
- Se informa la tasa de mutación y la frecuencia de alelos silentes
- Se plantea informarlo según la fórmula m.n x10^p
- Se solicita no redondear e informar el IP total con la mayor precisión disponible

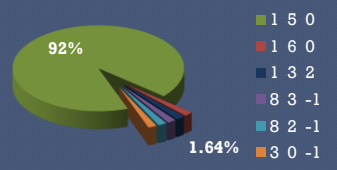
	P	M	Hijo
CSF1PO	10/12	10/11	10/12
D2S1338	18	19	19
D3S1358	12/15	17/18	12/18
D5S818	11/14	11	11
D7S820	11/13	7/9	10/13
D8S1179	10/11	10/11	10/12
D13S317	8	8	8
FGA	21/24	24	21/24
THO1	6/9	6/9	6/9
TPOX	8	8/11	8
vWA	16	16/18	16

Como se puede observar en la tabla en los marcadores D2S1338, D7S820 y D8S1179 existen algunas inconsistencias en el trío madre/hijo/padre.
Enviaron resultados para este desafío 61 laboratorios, de los cuales un laboratorio, el 564114, informa 0 en los marcadores D2S1338 y D8S1179, y en el valor “Total”.
Del total de 732 determinaciones (61 laboratorios informando 11 marcadores y el Total) encontramos 250 (34.15%) determinaciones fuera del consenso, tomando como consenso a aquel valor dado por la mayor parte de los laboratorios; 174 de estas determinaciones fuera del consenso pertenecen a los marcadores conflictivos D2S1338, D8S1179 y D3S1358 y al resultado “Total”.
Por otro lado, el 69% (42/61) de los laboratorios se encuentran “fuera del consenso” en por lo menos 1 marcador, y 25 laboratorios concentran el 84.3% de los valores fuera del consenso(91/108), uno de ellos (563800) se encuentra fuera del consenso en 9 de 9 marcadores no conflictivos.
A continuación se presenta una distribución de los resultados reportados para cada marcador:

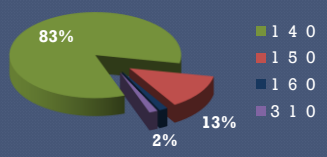
CSF1PO y D5S818

	P	M	H	IP			Valor
CSF1PO	10/12	10/11	10/12	m	n	p	
				1	5	0	1,5124
D5S818	11/14	11	11				
				1	4	0	1,4823

CSF1PO



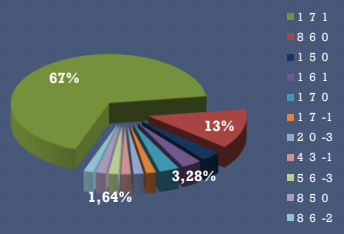
D5S818



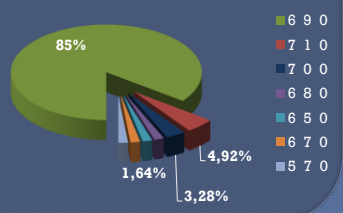
D7S820 y D13S317

	P	M	H	IP			Valor
D7S820	11/13	7/9	10/13	m	n	p	
				1	7	1	17,2413
D13S317	8	8	8				
				6	9	0	6,9108

D7S820



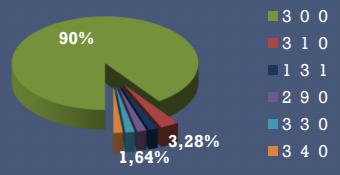
D13S317



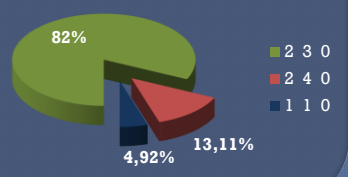
FGA y THO1

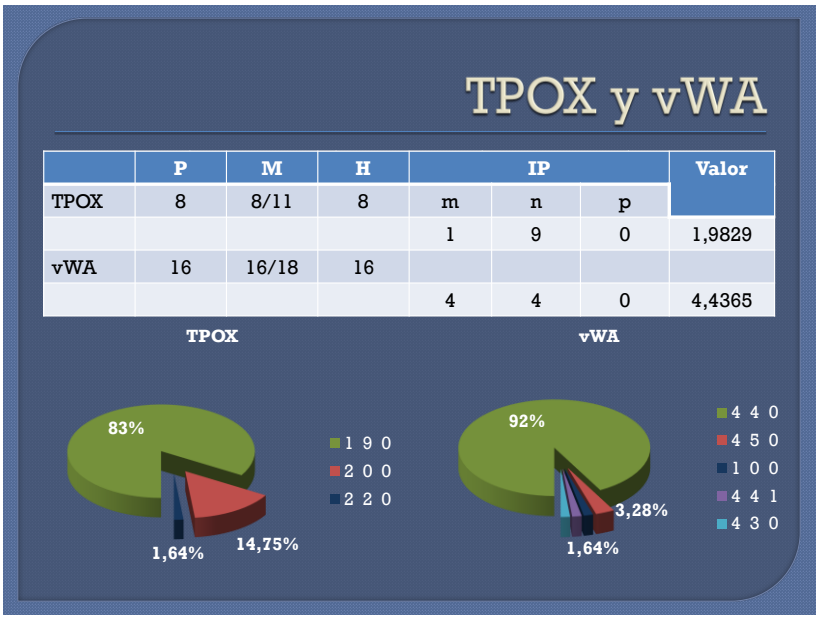
	P		H	IP			Valor
FGA	21/24	24	21/24	m	n	p	
				3	0	0	3,0211
THO1	6/9	6/9	6/9				
				2	3	0	2,3584

FGA



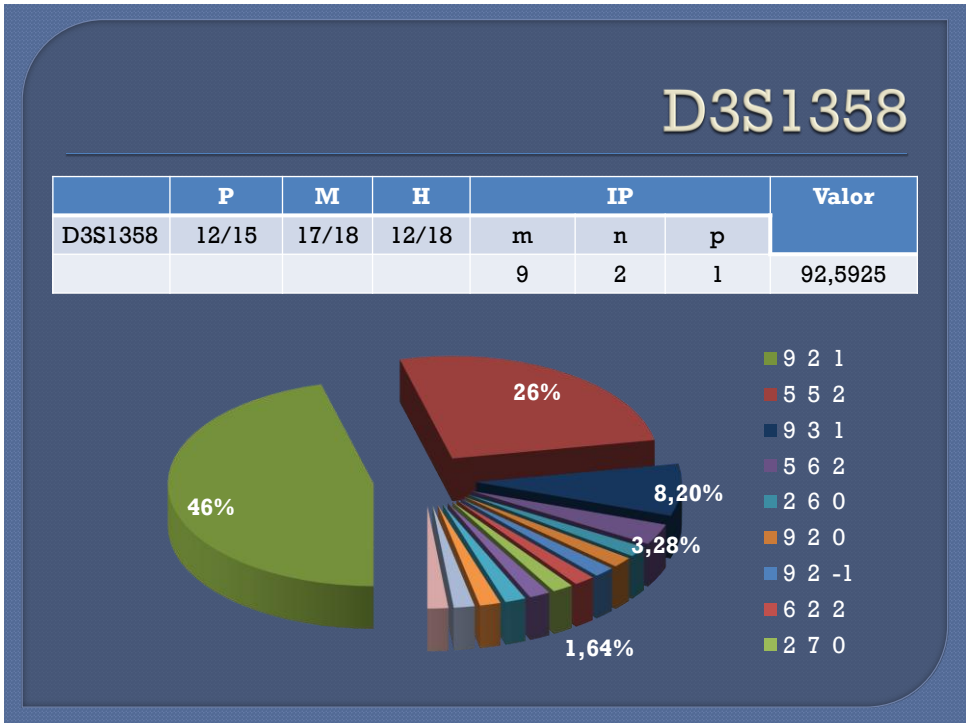
THO1





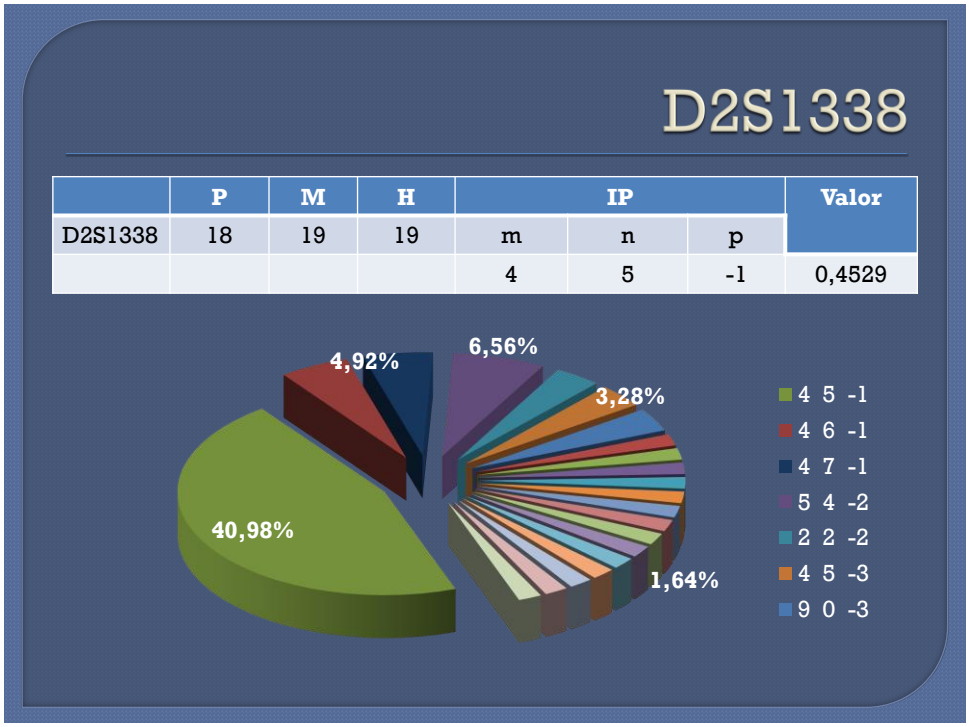
En el marcador D7S820 vemos una mutación madre/hijo, que al considerarla en el cálculo no genera inconvenientes en la fórmula (al anularse por estar en el numerador y en el denominador), aunque hay laboratorios que cometieron errores en este cálculo.

Para el marcador D3S1358, si bien no existe una inconsistencia en el trío madre/hijo/padre se observa una gran dispersión en los resultados, que en su mayoría se debe a la utilización errónea de la frecuencia del alelo 12, cuando se debía utilizar la frecuencia mínima, al ser la frecuencia del alelo menor a ésta.

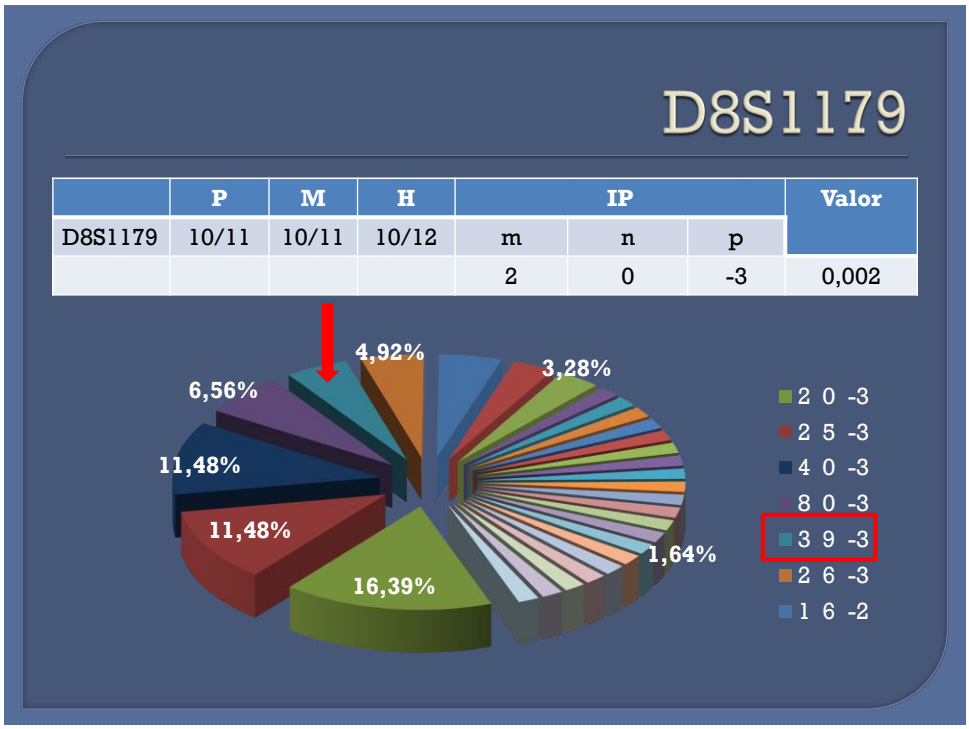


En el marcador D2S1338 observamos que los tres individuos son homocigotas y que hay una posible mutación padre/hijo o la existencia de un alelo silente, siendo esta

ultima opción la más probable al observar los genotipos y así lo consideró el 41% de los laboratorios. No obstante esto, la consideración para el cálculo en forma combinada de la mutación y el alelo silente es la opción más correcta.



En el marcador D8S1179 vemos otra inconsistencia en el trío analizado, pero esta vez no podemos determinar si es de origen paterno o materno, es por eso que lo correcto es considerar la posibilidad de que la mutación sea de origen paterno **o** de origen materno, consideración que solo hicieron un 5% de los laboratorios (marcado en rojo). Esta situación es la que genera una gran dispersión en los resultados.



D8S1179

- Mutación considerando la posibilidad de que sea paterna o materna

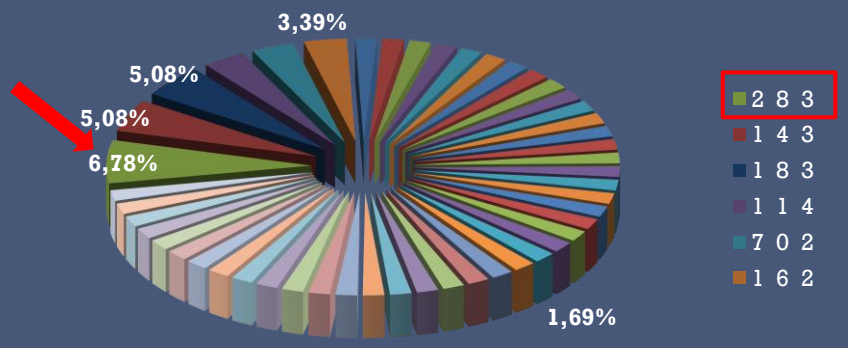
$$IP = \frac{[(2f_{10}f_{11})^2 \times 1/2 \times 1/2\ \mu]}{[(2f_{10}f_{11}) \times 1/2\ [f_{12} + (f_{10} \times 1/2\ \mu)] \times (2f_{10}f_{11})]}$$

donde μ= tasa de mutación= 0.001

Todos los inconvenientes encontrados en estos marcadores "conflictivos" hicieron que en el resultado total exista una gran dispersión, sin tener un consenso claro, o prácticamente logrando tantos resultados como laboratorios participaron. Quedando el consenso mayoritario conformado por 4 laboratorios, y en este caso coincide con el valor aportado como "correcto" por el experto organizador.

TOTAL

	IP			Valor consenso	Valor correcto
TOTAL	m	n	p		
	2	8	3	2800	2800



Desafío Teórico Forense:

El desafió teórico forense era realmente muy sencillo lo que permitió conseguir un gran consenso en los resultados. No obstante, su sencillez hizo que algunos participantes busquen "trampas" que no existían.

El planteo fue el siguiente:

- Se trata de determinar si en dos casos de robo ha intervenido la misma
- Se cuenta con el perfil genético obtenido a partir de un mancha de sangre y de un guante de látex
- Se plantea informar la "FRECUENCIA"
- Se solicita responder si existe coincidencia entre ambos perfiles

	Guantes	Cristales
AMEL	X/Y	X/Y
D8S1179	13/14	13/14
D21S11	29/31.2	29/31.2
D7S820	8/11	8/11
CSF1PO	11/12	11/12
D3S1358	16/19	16/19
THO1	6/9.3	6/9.3
D13S317	8/12	8/12
D16S539	12/13	12/13
D2S1338	17/20	17/20
D19S433	14/15	14/15
vWA	17/18	17/18
TPOX	8	8
D18S51	14/19	14/19
D5S818	12	12
FGA	20/22	20/22

Enviaron resultados para este desafío 46 laboratorios, de los cuales 7 laboratorios no se ajustan a la consigna de informar frecuencias e informan para cada marcador el LR quedando fuera del consenso para todas las determinaciones. Estos laboratorios son: 564092, 564087, 564072, 564120, 564116, 564141 y 564106. Por otro lado, hay 2 laboratorios (564083 y 564071) que se encuentran fuera del consenso del valor de frecuencia en 2 marcadores. Todos los laboratorios responden afirmativamente a la pregunta sobre si existía coincidencia entre ambos perfiles. El valor consenso de LR fue de $8{,}2 \times 10^{16}$ y lo informó el 66% de los laboratorios participantes. A continuación se presenta una distribución de los resultados reportados para cada marcador:

	Valor reportado	n	%
CFS1PO	f=0,19	37	80,43%
	LR= 5,14	7	15,22%
	f=0,097	2	4,35%
D13S317	f=0,08	38	82,61%
	LR= 11,83	7	15,22%
	f=0,0423	1	2,17%
D16S539	f=0,11	38	82,61%
	LR= 8,33	7	15,22%
	f=0,059	1	2,17%
D18S51	f=0,01	39	84,78%
	LR= 79	7	15,22%
D19S433	f=0,11	38	82,61%
	LR= 9,5	7	15,22%
	f=0,017	1	2,17%
D21S11	f=0,05	38	82,61%
	LR= 21	7	15,22%
	f=0,005	1	2,17%
D2S1338	f=0,08	38	82,61%
	LR= 12,3	7	15,22%
	f=0,81	1	2,17%
D3S1358	f=0,01	39	84,78%
	LR= 153,8	6	13,04%
	LR= 11,8	1	2,17%
D5S818	0,15	39	84,78%
	LR= 6,64	7	15,22%
D7S820	f=0,07	39	84,78%
	LR= 14,76	6	13,04%
	LR= 36,81	1	2,17%
D8S1179	f=0,13	39	84,78%
	LR= 7,57	6	13,04%
	LR= 8,14	1	2,17%
FGA	f=0,05	39	84,78%
	LR= 19,8	7	15,22%
TH01	f=0,12	39	84,78%
	LR= 8,3	7	15,22%
TPOX	f=0,25	39	84,78%
	LR= 3,9	7	15,22%
VWA	f=0,09	38	82,61%
	LR= 11,2	6	13,04%
	f=0,04	1	2,17%
	LR= 9,6	1	2,17%