

Casos teóricos – Control de Calidad 2010 del GHEP-ISFG

Miguel Marino

Laboratorio de Análisis de ADN, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo – Mendoza, Argentina

Paternidad Teórica:

Por ser la primera vez que se incluían los resultados de este ejercicio teórico en los certificados, la “Paternidad Teórica” de este año era un caso muy sencillo. No tenía ningún tipo de dificultad, solo había que prestar atención al uso de frecuencias mínimas y tener en cuenta las formulas a utilizar en el caso de que la madre y el hijo/a sean heterocigotos e iguales.

El planteo este año fue el siguiente:

- Se trata de establecer la probabilidad de paternidad del presunto padre respecto de Hijo.
- La base de datos a utilizar es la de la tabla anexa
- La tasa de mutación de un paso es de 1×10^{-3}
- La frecuencia de alelos silentes es de 5×10^{-3}

	Madre	Hijo	Supuesto Padre
D8S1179	14/15	13/14	13/15
D21S11	29	29/32.2	30/32.2
D7S820	11	11/14	10/14
CSF1PO	10/12	11/12	11/13
D3S1358	15	15/16	16
TH01	7/9.3	9/9.3	6/9
D13S317	9/10	10	10/12
D16S539	10/12	10/12	12
D2S1338	18/21	21	18/21
D19S433	13.2/14	13/14	13
vWA	16/17	16/18	17/18
TPOX	8/11	8/11	8/11
D18S51	12/14	14/17	17
AMEL	X	X	X/Y
D5S818	11/13	11/13	12/13
FGA	23/25	21/25	19/21

Como en ejercicios anteriores se solicita informar las X, Y e IP parciales y totales utilizando la fórmula $m.n \times 10^p$ y se pide que en todos los casos **NO** se redondee y que el IP total se informe con la mayor precisión posible.

Participaron 106 laboratorios, 10 menos que en el ejercicio 2009, de los cuales, salvo el laboratorio 560163, envían resultados parciales y totales para todos los marcadores.

Por otro lado, el 50% (53) de los laboratorios se encuentra fuera del consenso en por lo menos 1 marcador, tomando como consenso el número exacto que informa la mayoría. En el marcador D7S820 es en el que se concentra la mayor parte de los resultados fuera del

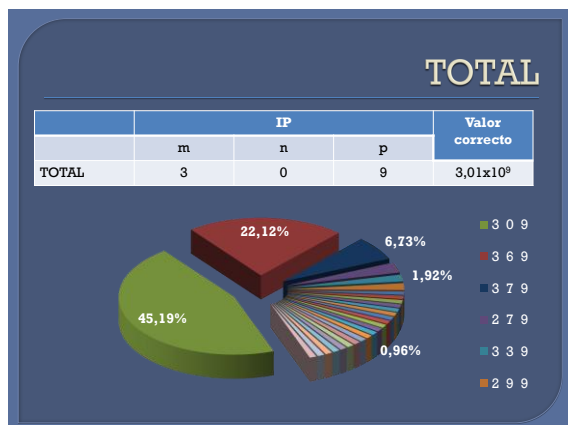
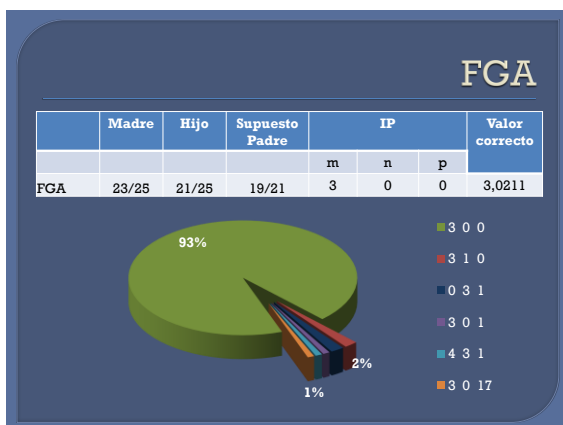
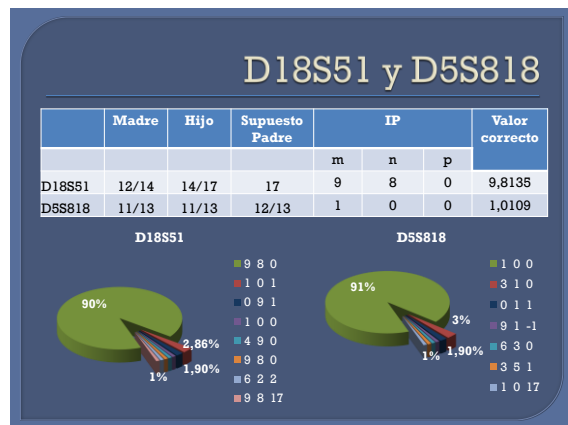
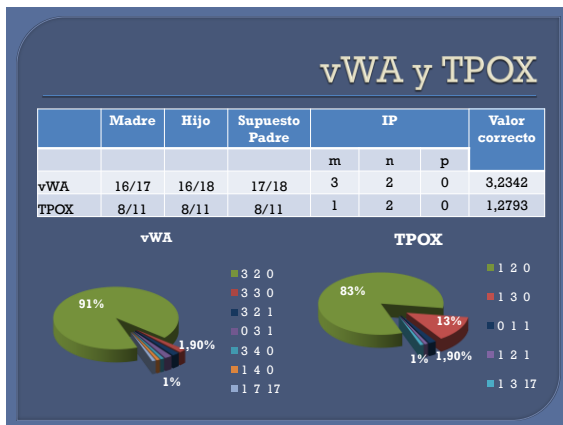
consenso, esto se debe a que el 44% de los laboratorios no utilizaron la frecuencia mínima para realizar el cálculo.

Por ultimo, al igual que en el 2009 hay 19 laboratorios que concentran la mayoría de los resultados fuera del consenso, concentrando el 72,17% de los valores fuera del consenso (153/212), uno de ellos (560178) se encuentra fuera del consenso en los 15 marcadores analizados y otro laboratorio (560192) en 14. Con respecto al primero de estos dos laboratorios, sorprende los números informados, del orden de 10^{17} a 10^{21} , teniendo los resultados parciales correctos.

Además, existen 2 laboratorios (560190 y 560193) que comenten ambos el mismo error al informar todos los marcadores, por ejemplo si tienen que informar un IP parcial de 5,1 en vez que colocar en la tabla 5 1 0, colocan 0 5 1. Si bien el resultado no esta mal, se está perdiendo precisión.

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





Como puede observarse en prácticamente todos los marcadores existe un valor consensuado al que arriban entre el 80 y el 95% de los laboratorios. Luego, encontramos valores muy cercanos al valor consenso, derivados de errores en el redondeo o en el cálculo de los IP parciales.

Los errores por redondeo y los resultados derivados de no utilizar frecuencia mínima en el marcador D7S820 llevan a una gran dispersión en los resultados finales. Como puede observarse en el IP total solo llegan al resultado consenso exacto el 45% de los laboratorios y luego encontramos valores cercanos al consenso derivados de los errores anteriormente comentados.

A partir de estos resultados surgieron algunos puntos de discusión durante la reunión, siendo los siguientes los más relevantes:

1- Genero mucha sorpresa la dispersión de resultados y los errores cometidos en un caso tan simple.

2- Se hablo sobre la utilización de las frecuencias mínimas. Si bien existen diferentes puntos de vistas sobre su uso, ya hace varios años se llevo a un consenso y por lo tanto para el ejercicio se deberían utilizar.

3- Además se discutió nuevamente lo que se debería 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:

En el desafío de este año se buscaba la determinación de la probabilidad de existencia o no de vínculo biológico de paternidad de un padre fallecido respecto de un hijo. Para eso contábamos con la madre biológica de ese hijo y a los supuestos abuelos biológicos. Si bien no era un vínculo complejo de determinar, se apuntó a verificar la uniformidad en la elección de las formulas a utilizar y a la resolución de una posible mutación o alelo silente en un marcador.

El planteo este año fue el siguiente:

- Se trata de establecer la probabilidad de existencia de vínculo biológico de un individuo fallecido, hijo de la pareja de presuntos abuelos, respecto de Hijo, dando por cierta a la madre.
- Se informa la tasa de mutación y la frecuencia de alelos silentes
- Se plantea informarlo según la fórmula $m.n \times 10^p$
- Se solicita no redondear e informar el IP total con la mayor precisión disponible

	Madre	Hijo	Presunta Abuela	Presunto Abuelo
D8S1179	10/14	10/16	13/15	13/16
D21S11	29/33.2	29/32.2	29/32.2	30/31.2
D7S820	8/11	9/11	9/12	10
CSF1PO	10/13	10/11	10/11	10/11
D3S1358	15/16	15/17	17/18	17
TH01	8/9	9/9.3	6/9.3	9.3
D13S317	10/11	11	11	11/12
D16S539	12	9/12	9/11	11/12
D2S1338	20/22.2	19/20	21/23	19
D19S433	12/14	12/14	14/15	12/14
vWA	16	12/16	12	17/18
TPOX	9/11	8/11	8	8/11
D18S51	12/14	14/17	15/18	17
AMEL	X	X/Y	X	X/Y
D5S818	11	11/14	7	13
FGA	21/23	23/23.2	23.2/26	19/24

Solo 60 laboratorios enviaron resultados para este desafío, salvo tres laboratorios (560148, 560149 y 563764) el resto informa los resultados parciales de X e Y, los IP parciales y los resultados totales, salvo para el marcador D5S818 que resulta ser el mas conflictivo.

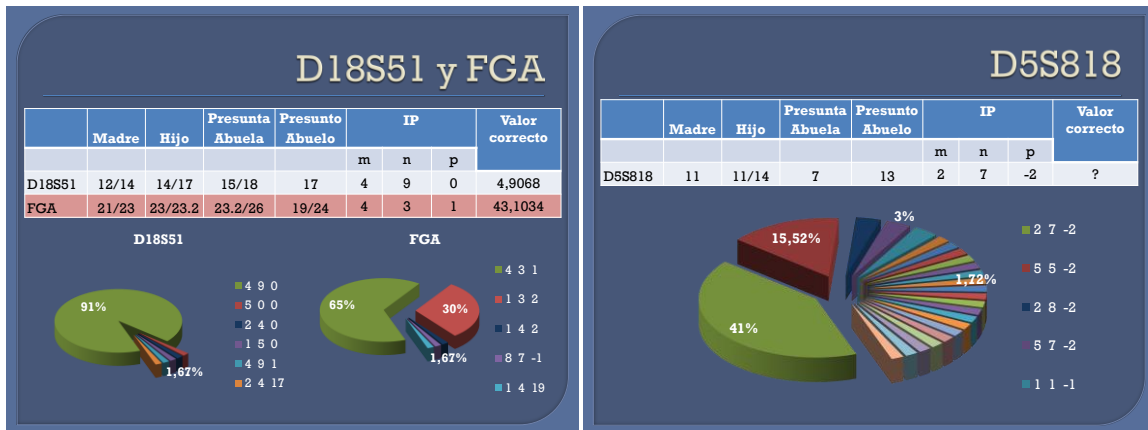
Sorprendentemente la proporción de laboratorios fuera del consenso en por lo menos un marcador es menor que en el ejercicio teórico, con solo el 38,3%. Por otro lado, si no tenemos en cuenta al marcador D5S818, encontramos que solo el 15% de las determinaciones están fuera del consenso (125/840). Además, del total de 60 laboratorios 8 de ellos concentran el 70% de los valores fuera del consenso, con dos (560154 y 560178) laboratorios que se encuentran fuera del consenso en 14 de los 14 marcadores consensuados. Nuevamente el laboratorio 560178 informa todos sus resultados con números del orden de 10^{17} a 10^{26} , teniendo los resultados parciales correctos, error que también comete en el ejercicio teórico.

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



En el marcador vWA se pueden observar dos grupos mayoritarios de resultados, el 61% de los laboratorios informa $1,3 \times 10^2$ (el número correcto era 138,8899) y otro 28% informa $4,1 \times 10^2$, esta diferencia se debe a que este segundo grupo no utilizó la frecuencia mínima en el cálculo.

Lo mismo pasa con el marcador FGA, donde también vemos dos grupos mayoritarios de resultados dados por el 65% y el 30% de los laboratorios, estos últimos no utilizan la frecuencia mínima.



El marcador que más conflicto y más variabilidad en los resultados presenta es el D5S818. En este marcador se observa una inconsistencia entre los supuestos abuelos y el “nieto”, siendo la madre homocigota 11, el hijo 11/14 y los abuelos unos homocigota 7 y el otro homocigota 13.

Observando los genotipos de los abuelos podemos imaginarnos una posible mutación, pero no podemos saber si es una mutación abuelo/padre o una mutación padre/hijo, por lo tanto la forma correcta de resolverlo es teniendo en cuenta las dos posibilidades.

D5S818

- El 41,38% consideró la mutación como:

$$IP = \mu / 4 f_{(14)}$$
- El 15,52% consideró la mutación como:

$$IP = \mu / 2 f_{(14)}$$

donde μ = tasa de mutación

D5S818

- Existe la posibilidad de que la mutación sea Abuelo → Padre
- la posibilidad de que la mutación sea Padre → Hijo:

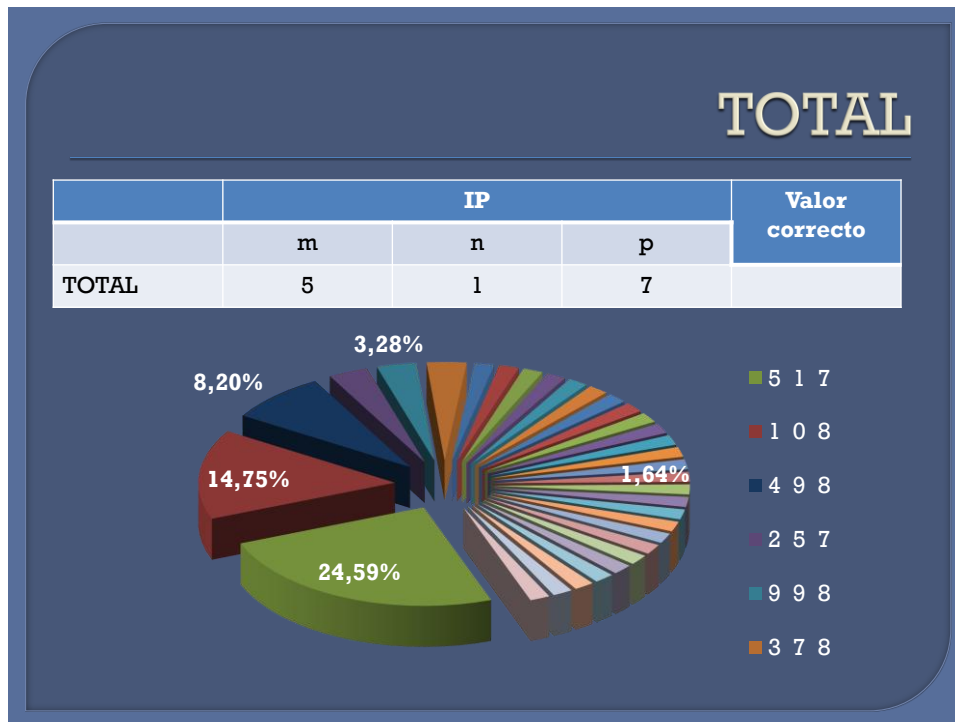
$$\frac{((0,5 * 0,5 * \mu) / 0,009) + (((0,5 * 0,5 * \mu) / 0,009) * 0,5)}{0,009}$$

donde μ = tasa de mutación

Siendo la forma “correcta” de resolverlo la indicada en la ultima diapositiva.

Los inconvenientes encontrados en este último marcador hicieron que en el resultado total exista una gran dispersión, sin tener un consenso claro. Quedando el consenso mayoritario conformado por casi el 25% de los laboratorios que informan $5,1 \times 10^7$. Luego observamos un segundo consenso, informado por el 15% de los laboratorios con $1,0 \times 10^8$.

Si bien se observa una gran diversidad de resultados la gran mayoría de los laboratorios arriba a resultados muy similares, dentro del mismo orden de magnitud o con una diferencia de un orden de magnitud, lo que atribuimos a las diferencias en la resolución del marcador D5S818, al uso o no de las frecuencias mínimas y al problema de redondeo de los valores.



A partir de estos resultados surgieron algunos puntos de discusión durante la reunión, siendo los siguientes los más relevantes:

1- El ejercicio resultó muy útil y sus resultados fueron muy alentadores ya que, si bien fue un desafío teórico, todos los laboratorios participantes llegaron casi en la totalidad de los marcadores al mismo resultado y la dispersión de los resultados fue menor a la del caso teórico, siendo éste un caso muy sencillo de paternidad.

2- En el marcador D5S818, si bien lo importante era plantear la posibilidad de que la mutación sea Abuelo/Padre o la posibilidad de que sea Padre/Hijo, el hecho de que la madre sea homocigota para el alelo 7, nos hace pensar en la posibilidad de tenga un alelo nulo. Esto generaría que el hijo de esa pareja sea heterocigota 7/14 (o 13, si la mutación fue Abuelo/Padre), o heterocigota "alelo nulo"/14 (o 13, si la mutación fue Abuelo/Padre). Como lo pudimos comprobar durante la reunión, si bien en el resultado final numéricamente el efecto de esto es prácticamente imperceptible, es importante tenerlo en cuenta en la teoría para acercarnos a resultados cada vez exactos.