



XVII JORNADAS DO GHEP-ISFG

San Andres (Colombia), 5-6 June 2012

M7

GHEP-ISFG 2012 Exercise

Cíntia Alves



IPATIMUP

Background

Módulo forense /Forensic module

- **M7:** sangre no humana (gato)/*Non human blood (cat)*
- **M8:** mezcla (8:1) de saliva (de mujer de la que no se incluye muestra de referencia) y semen (de D4) /*Mixture (8:1) of saliva (from a female, from who no reference sample is provided) and semen (from D4),*
- **M9:** cabello de mujer (donante D1) contaminado con sangre (M2:2011)/*Hair from a female (D1) contaminated with blood (M2:2011)*

M7 – Non-human blood (cat)

Forensic Module:

- 51 registered labs
- 42 labs send results
- 37 labs send results/observations for **M7**

Results summary for M7

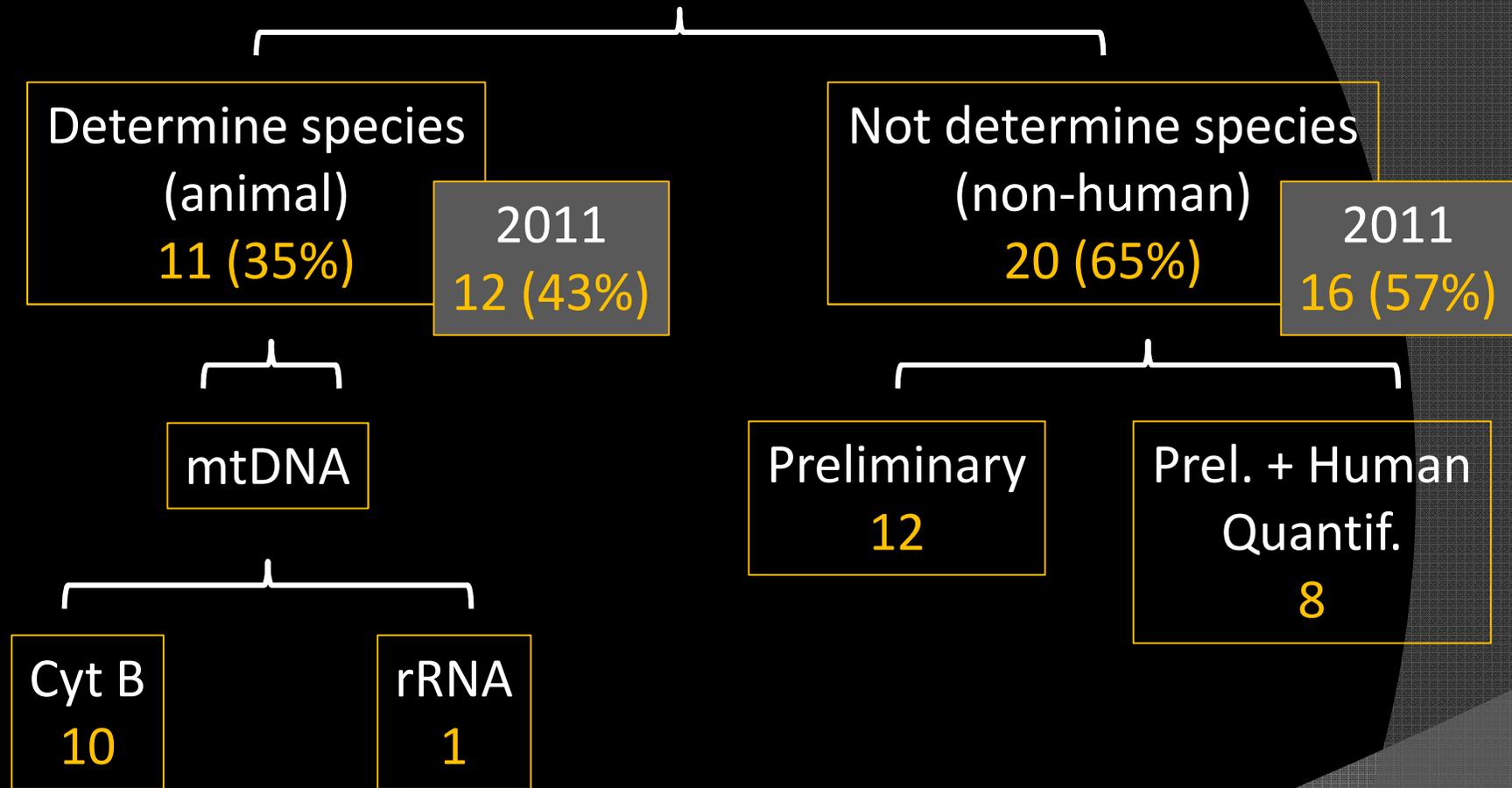
	2011	2012
Participating Laboratories	45	37
Inconclusive results	13 _(29%)	3 _(8%)
Non-Human	28 _(62%)	31 _(84%)
Human	4 _(9%)	3 _(8%)

Inconclusive – 3 (8%)

- No results with human genetic markers
- Negative results in preliminary analyses for human blood
- Human DNA not detected in Rt-PCR

20183	No amplificó para marcadores STR ni para el gen de la betaglobina humana
20209	Para la muestra M7, no se determinó el haplotipo de ADN mitocondrial. En la muestra M7, no se detectó ni presencia de sangre humana ni de PSA. Se realizaron dos extracciones de ADN de las cuales no se obtuvo ningún resultado válido, tan sólo un perfil de STRs autosómicos con picos inespecíficos considerados como inválidos. Se intentó realizar un perfil mediante el kit Minifiler, por si existía ADN degradado, pero tampoco se obtuvo ningún resultado. No se determinaron ni los STRs del cromosoma Y ni el ADN mitocondrial.
20243	ANÁLISIS DE RESULTADOS1) Se realizaron dos extracciones de ADN sobre la muestra M7 utilizando en un caso lisis diferencial y en otro caso protocolo de extracción estándar con proteinasa k fenol / cloroformo.2) No se obtuvieron resultados del análisis de la muestra M7 en ninguno de las extracciones de ADN practicadas.3) En la cuantificación por PCR en tiempo real (Human Quantifiler) no se detectó ADN humano , no habiéndose evidenciado presencia de inhibidores de amplificación en la muestra. CONCLUSIÓN No se obtuvieron resultados del análisis de la muestra M7 para poder realizar las comparaciones solicitadas.

Non-human – 31 (84%)

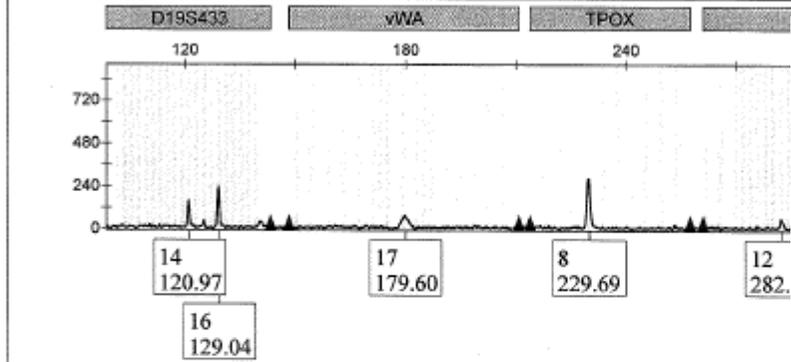


Similar results as in 2011

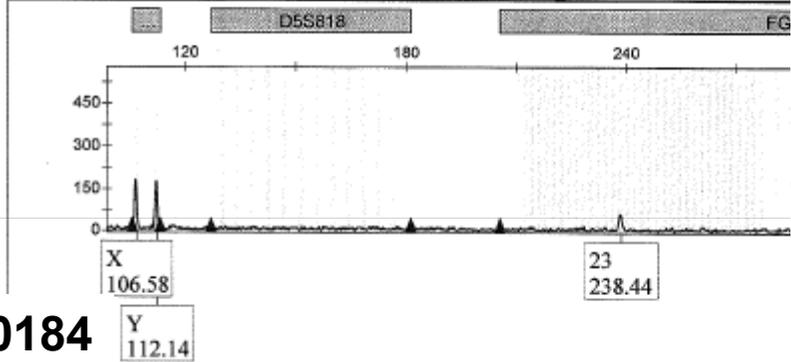
Human – 3 (8%)

20184	<i>No observations; reports STRs and mtDNA.</i>
20216	<p>Pruebas de certeza/orientativas para determinar la naturaleza del fluido. A simple vista, se observa una mancha de una sustancia rojiza (a primera vista presuntamente sangre).sangre POSITIVO:SA3, SA6 y SA7, NEGATIVO:SA8semen NEGATIVO:SE5 y SE11saliva NEGATIVO:SV1.Todas las pruebas se han realizado dos o tres veces por distintos analistas con el mismo resultado siempre.No se ha realizado una extracción diferencial de la muestra 7 ya que no se ha determinado la presencia de semen mediante pruebas de certeza de fluidos biológicos.La amplificación de STR autosómicos y del cromosoma Y dan perfiles de baja calidad/degradados y de resultados contradictorios. Por ejemplo, se obtiene un perfil completo pero desbalanceado y degradado para el PowerPlex y apenas se obtienen algunos marcadores para IdentifilerPlus y NGMSelect no siendo coincidentes en su mayoría, incluso en lo que se refiere al gen de la Amelogenina. Para ambos kits se obtiene más de dos alelos sólo para el marcador D21S11.Aún así los marcadores detectados para el cromosoma Y coinciden con las muestras indubitadas M2 y M4.Por todo lo explicado no se ha reportado ningún perfil de la muestra en el apartado de resultados, pero se pueden comprobar los resultados en los electroferogramas correspondientes. Como conclusión en esta muestra hay sangre humana que ha sufrido algún tipo de proceso de degradación, inhibición o mezcla con otra sustancia que ha afectado a la amplificación de los marcadores. Siendo su resultado inconcluyente.</p>
20274	<p>El resultado del análisis de hemoglobina humana fue positivo en la muestra M7.Los análisis realizados no han confirmado la presencia de restos de semen en la muestra M7.El resultado del análisis de amilasa humana fue negativo en la muestra M7.Respecto al análisis de ADN mitocondrial de la muestra M7 indicar que es practica habitual de este laboratorio, siguiendo las recomendaciones de distintos grupos e instituciones internacionales, el no llevar a cabo análisis de ADN mitocondrial de este tipo de muestras (mezclas)</p>

Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
CC GHEP M7.fsa	CC GHEP M7	Identifier v1			

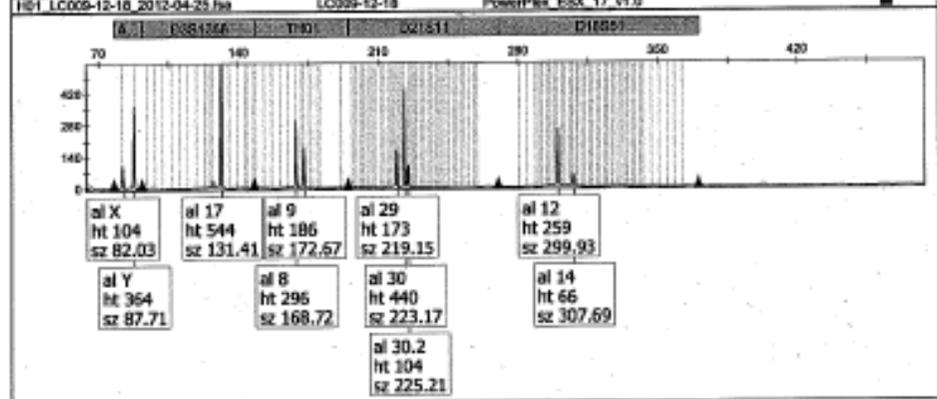


Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
CC GHEP M7.fsa	CC GHEP M7	Identifier v1			

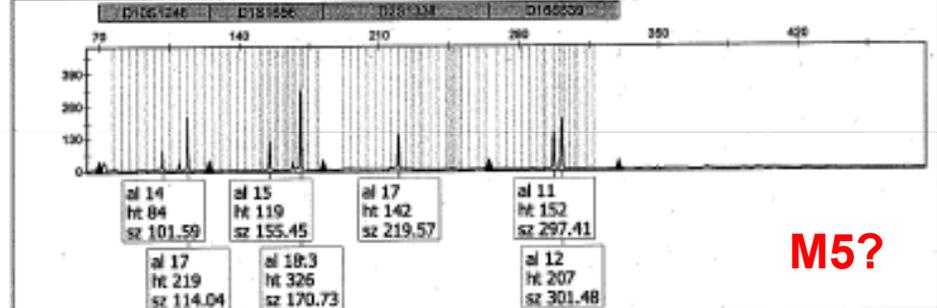


20184

Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
HE1 LC009-12-18_2012-04-25.fsa	LC009-12-18	PowerFlex_ESX_17_v1.0			

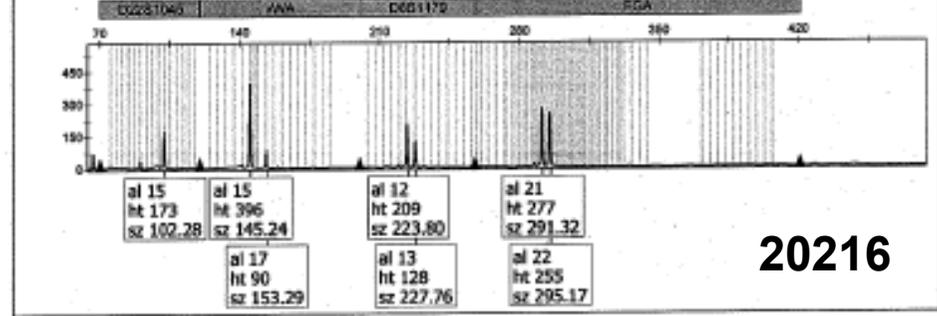


Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
HE1 LC009-12-18_2012-04-25.fsa	LC009-12-18	PowerFlex_ESX_17_v1.0			



M5?

Sample File	Sample Name	Panel	SQ0	OS	SQ
HE1 LC009-12-18_2012-04-25.fsa	LC009-12-18	PowerFlex_ESX_17_v1.0			



20216

Contamination/sample switch with routine casework/GHEP samples

Conclusions for M7

35% labs determine species through mtDNA

Types of answers:

- 97-99%/maximum homology to Felis Catus/ Felis Silvestri
- Cat
- Feline biological material

65% labs only determine that it is not of human origin (through negative results)

Goal of the exercise?

- if laboratories are capable of distinguishing human from non-human material?
- if laboratories are supposed to be capable of determining the origin (animal/species) of non-human material?
- if laboratories check for the presence of non-human material in a routine basis?

Difficult to evaluate when there is no specific question being asked

References on methods

Int J Legal Med. 2000;114(1-2):23-8.

Species identification by means of the cytochrome b gene.

Parson W, Pegoraro K, Niederstätter H, Föger M, Steinlechner M.

Int Congress Series. 2006, 1288: 103-105.

Analysis of inter-specific mitochondrial DNA diversity for accurate species identification.

Pereira F, Meirinhos J, Amorim A, Pereira L.

Recent Pat DNA Gene Seq. 2008;2(3):187-99.

Identification of species with DNA-based technology: current progress and challenges.

Pereira F, Carneiro J, Amorim A.

Forensic Sci Med Pathol. 2010 Sep;6(3):195-206.

DNA typing in wildlife crime: recent developments in species identification.

Tobe SS, Linacre A.

Nucleic Acids Res. 2010 Dec;38(22):e203.

Identification of species by multiplex analysis of variable-length sequences.

Pereira F, Carneiro J, Matthiesen R, van Asch B, Pinto N, Gusmão I, Amorim A.

Am J Forensic Med Pathol. 2011 Jun;32(2):180-2.

Discrimination between human and animal DNA: application of a duplex polymerase chain reaction to forensic identification.