GRUPO DE HABLA ESPAÑOL A Y PORTUGUESA DE LA ISFG

GRUPO DE LÍNGUAS ESPANHOLA E PORTUGUESA DA ISFG

XVIII Jornadas del GHEP-ISFG
Sevilla, 18-20 septiembre 2013

Muestra humanas de origen único
Marcadores autosómicos

EJERCICIO DE INTERCOMPARACIÓN
"ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DE ADN EN MANCHAS DE SANGRE Y OTRAS MUESTRAS BIOLÓGICAS"

EJERCICIO 21 (2013)

Ministerio de Justicia

Julia García-Hirschfeld González
Servicio de Biología
Dpto de Madrid del INTCF

INTCF CIENCIAS FORENSES

- **M1-M3**: muestras de referencia
  - *(1 muestra de sangre, 2 muestras de saliva).*
  - Se solicita el análisis genético de las 3 muestras de referencia. No se pretende investigar relaciones de parentesco entre ellas.

- **M6 y M8**: muestras forenses de origen único
  (muestras de sangre).

- El número de marcadores *totales* aportados por los laboratorios esta 'supeditado' a la nueva exigencia de participación según se solicita en las instrucciones de participación:

  "Es obligatoria la participación con un mínimo de 12 STRs autosómicos (al menos 7 STRs incluidos en el estándar CODIS)."

STR autosómicos analizados

STRs autosómicos	Nº Marcadores
Analizados	52
Consensuados	29
No consensuados	23

STR autosómicos consensuados:

D8S1179	D13S317	D5S818	F13A01	PENTA C
D21S11	D16S539	D2S1338	F13B	D6S1043
D7S820	D18S51	D19S433	FES_FPS	D10S1248
CSF1PO	FGA	PENTA D	LPL	D22S1045
D3S1358	VWA	PENTA E	D1S1656	D2S441
TH01	TPOX	ACTBP2_SE33	D12S391	

- Muestras Indubitadas:
  - M 1: total de 8 discordancias de diferente naturaleza
  - M 2: 10 discordancias + no resultados, 23171, puede deberse a que se trata de saliva en hisopo
  - M 3: 4 discordancias, también se trataba de saliva
- Muestras Dubitadas forenses de origen único:
  - M 6: 4 discordancias
  - M 8: 4 discordancias

contaminación de una muestra

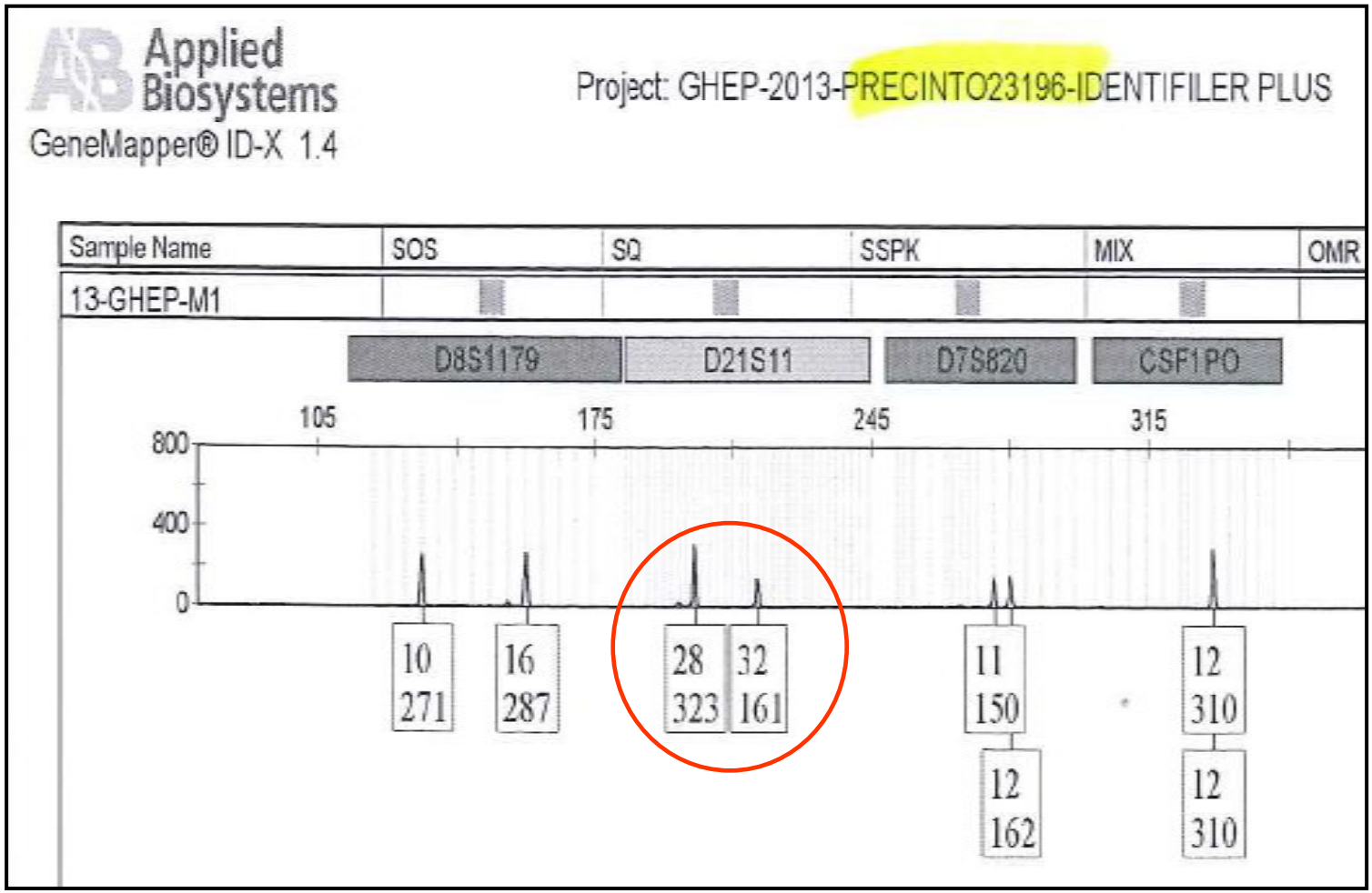
Tipo de discordancias	M referencia	Forense
A. Error de transcripción	6	3
B. Error de asignación alélica	10	2
C. Contenido de ADN:	10	3
• Exceso o defecto *(Drop-out o in)*		
D. Contaminación	0	2

- M1: sangre de varón en tarjetas Whatman

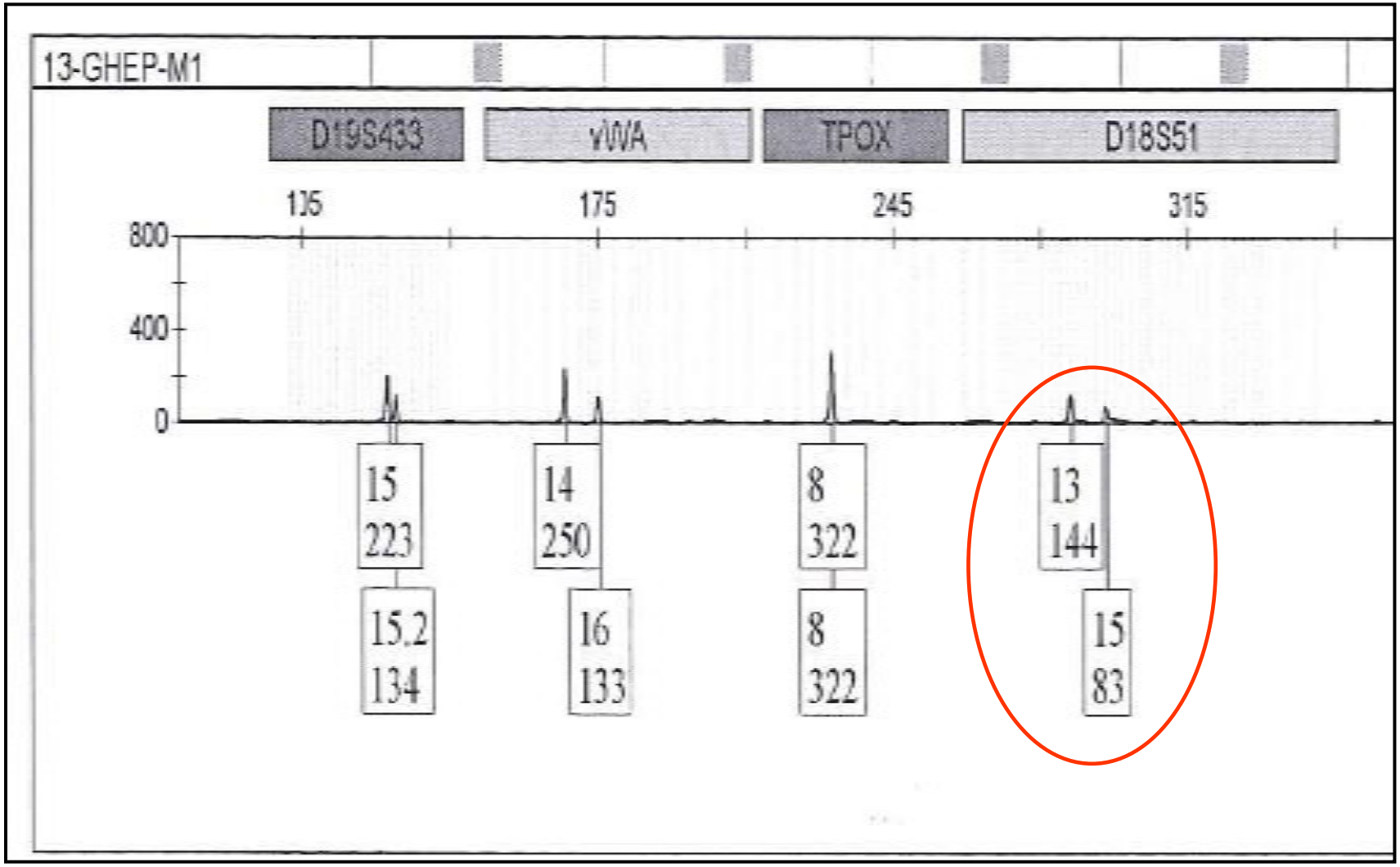
Precinto	Marcador	**Discordancia**	Consenso
20357	D21S11	**28/33.2**	28/32
23196	D21S11	**20/32**	28/32
20338	D13S317	**8/14**	8
20339	D19S433	**15**	15/15.2
20348	Penta_E	**11**	10/11
20294	D2S441	**11**	10/11
20299	D1S1656	**15/16**	15/15.3
20303	*D19S433*	***15/15,2***	*15/15.2*
23193	F13A01	**3.2/5**	3.2/6

23196: D21S11, 20/32----> 28/32

'*Error de transcripción*'-----> baja cantidad de ADN

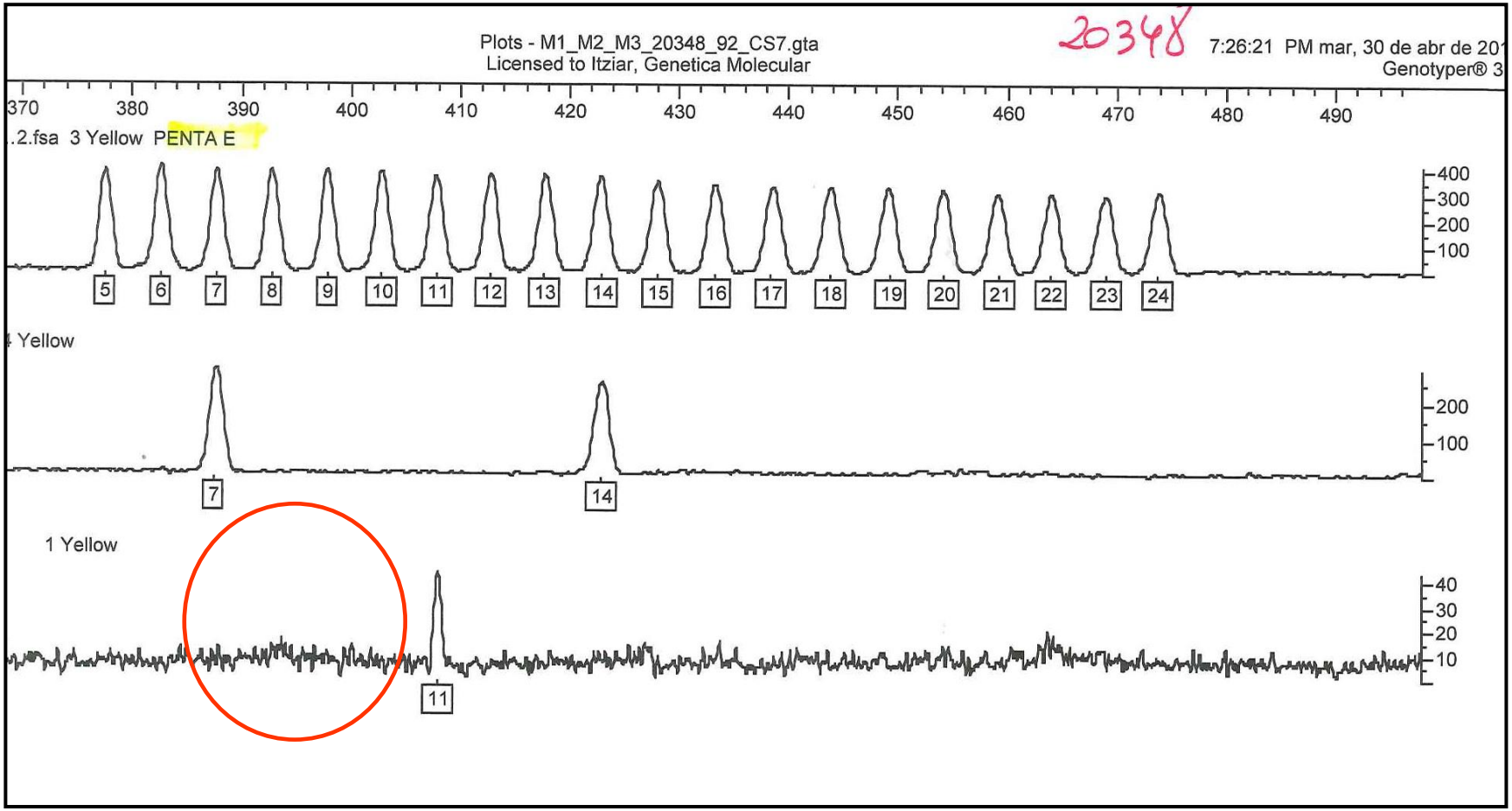


23196


13-GHEP-M1
D19S433
vWA
TPOX
D18S51
135
175
245
315
800
400
0
15
223
14
250
8
322
13
144
15.2
134
16
133
8
322
15
83

Baja cantidad de ADN

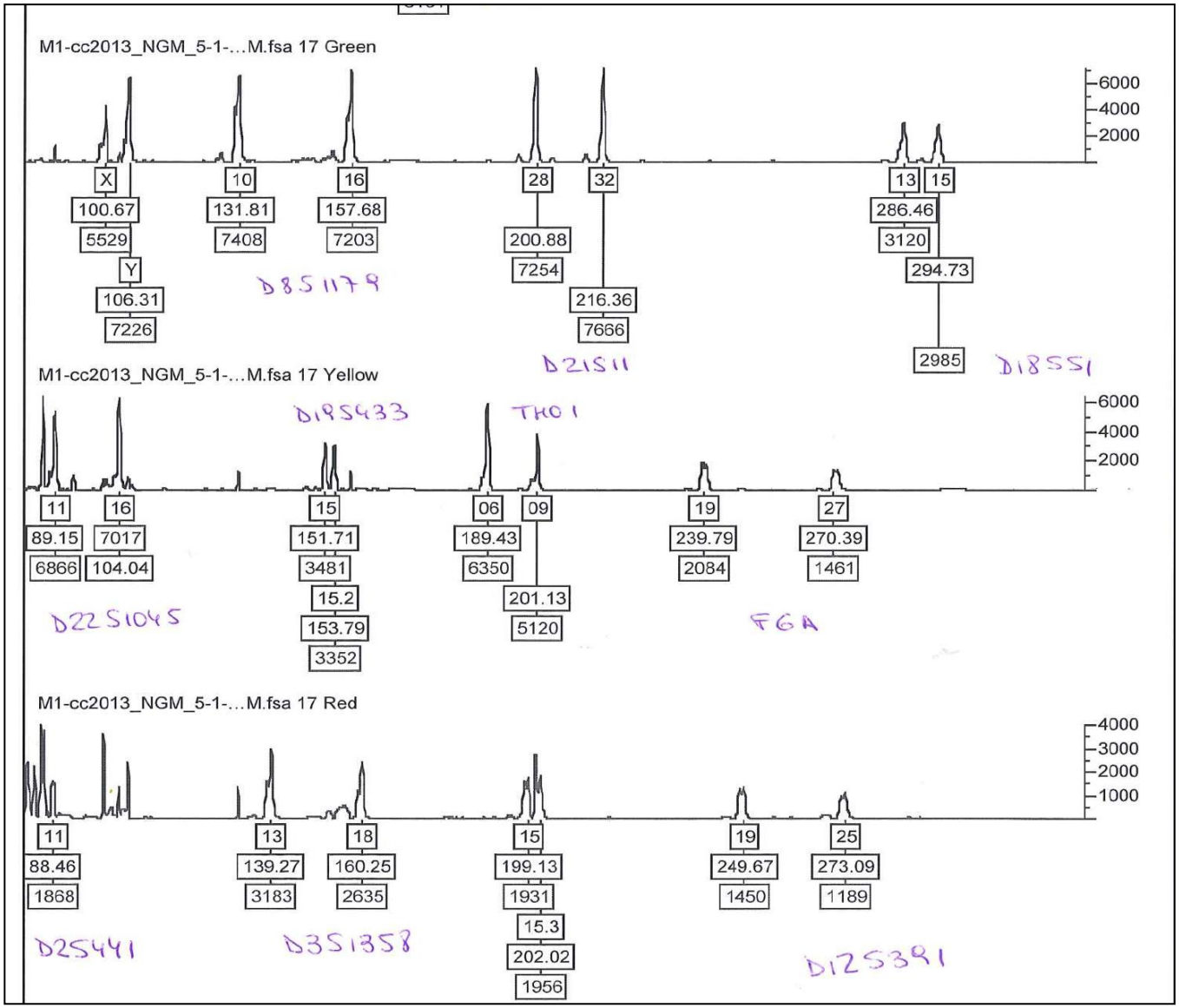
20348: Penta E 11→ 10/11: *drop out* de un alelo, baja calidad de extracto de ADN



Exceso de ADN

20294: D2S441: **11**----->10/11

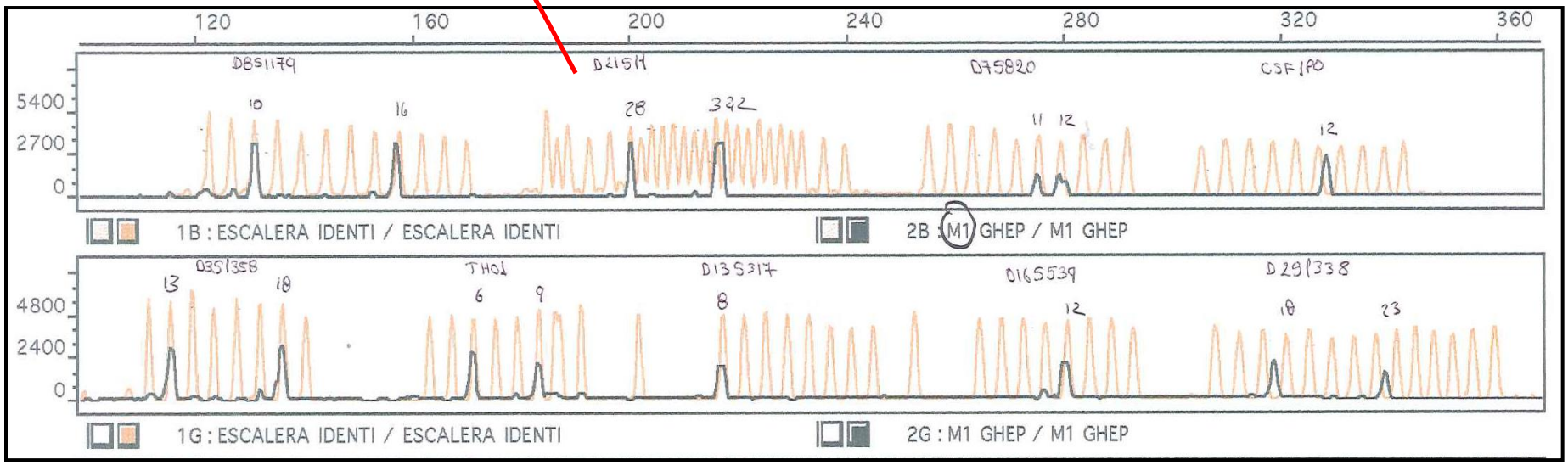
11----->10/11

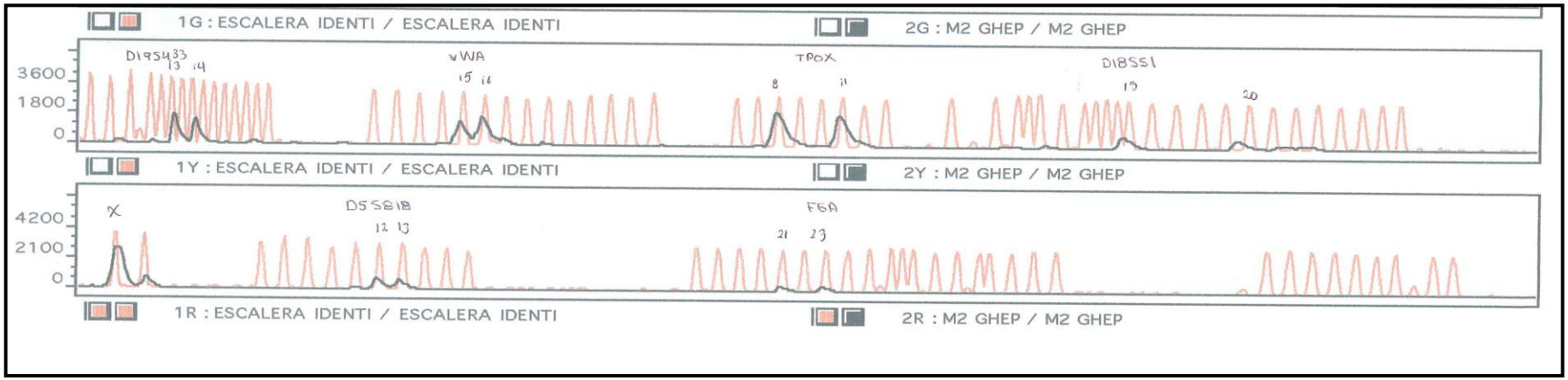


Muestras Indubitadas: M 1 2013

20357: D21S11, 28/33.2--->28/32

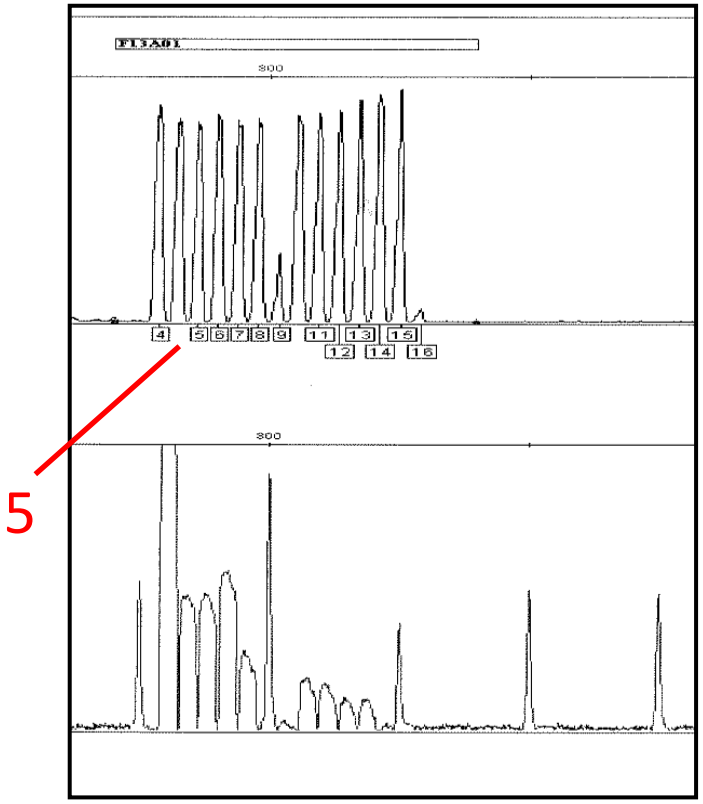
amplificación, movilidad, asignación





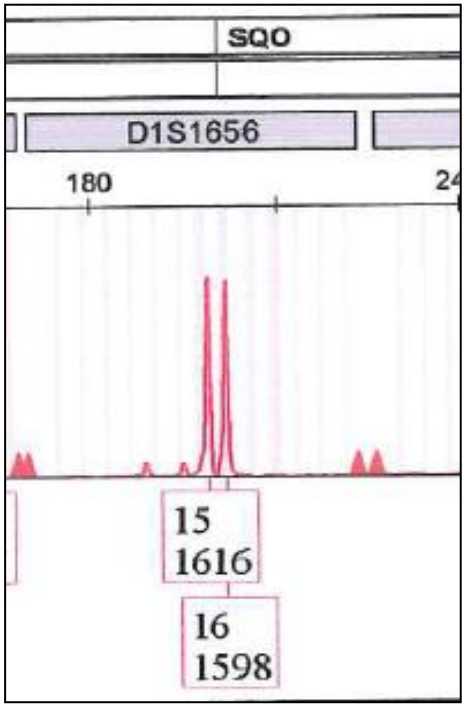
Incorrecta asignación de la ladder

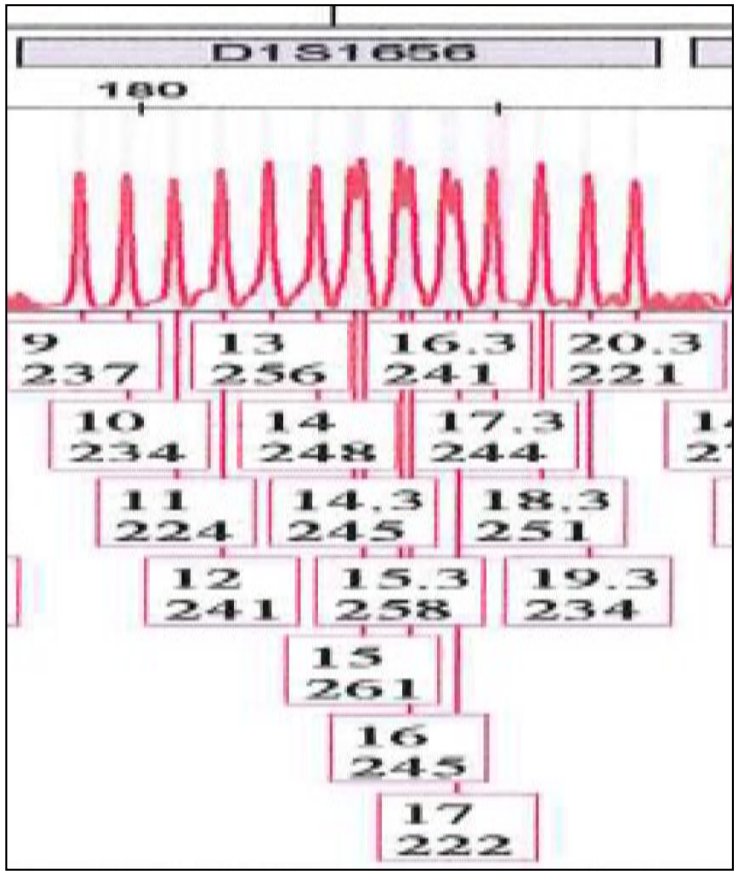
23193: F13A01: 3.2/5----->3.2/6



Incorrecta asignación alélica

20299: D1S1656: 15/16----->15/15.3



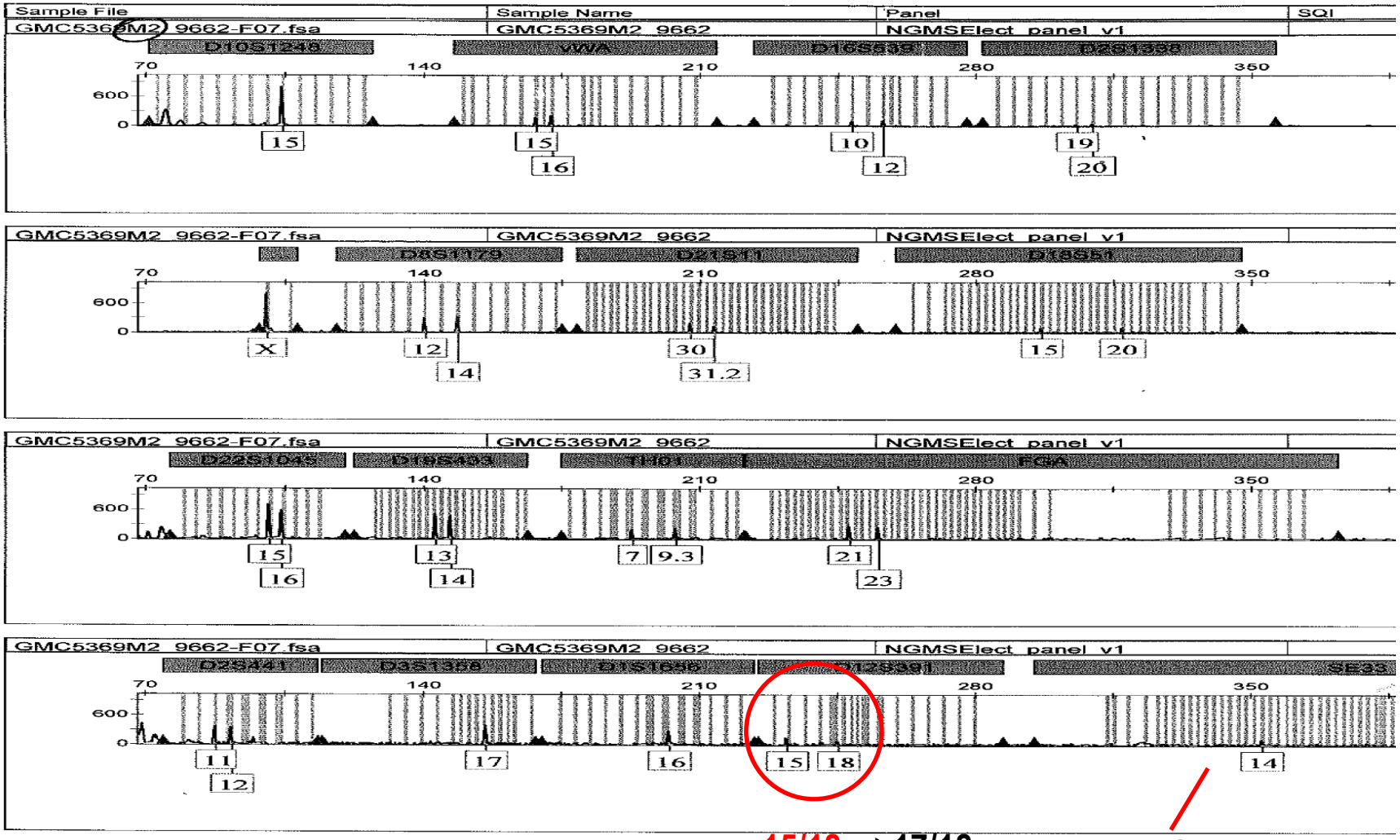


M 2: saliva de mujer en hisopo

Precinto	Marcador	**Discordancia**	Consenso
20321	SE33_ACTBP2	**14**	14/17
20319	D16S539	**12**	10/12
20321	D12S391	**15/18**	17/18
20338	PENTA D	**15/16**	9/12
20343	FES_FPS	**9/10**	10/11
20347	D1S1656	**15.3/16**	16
20348	D18S51	**15/19.2**	15/20
23199	PENTA D	**9**	9/12
23381	D10S1248	**14/15**	15
23193	F13A01	**5/6**	6/7

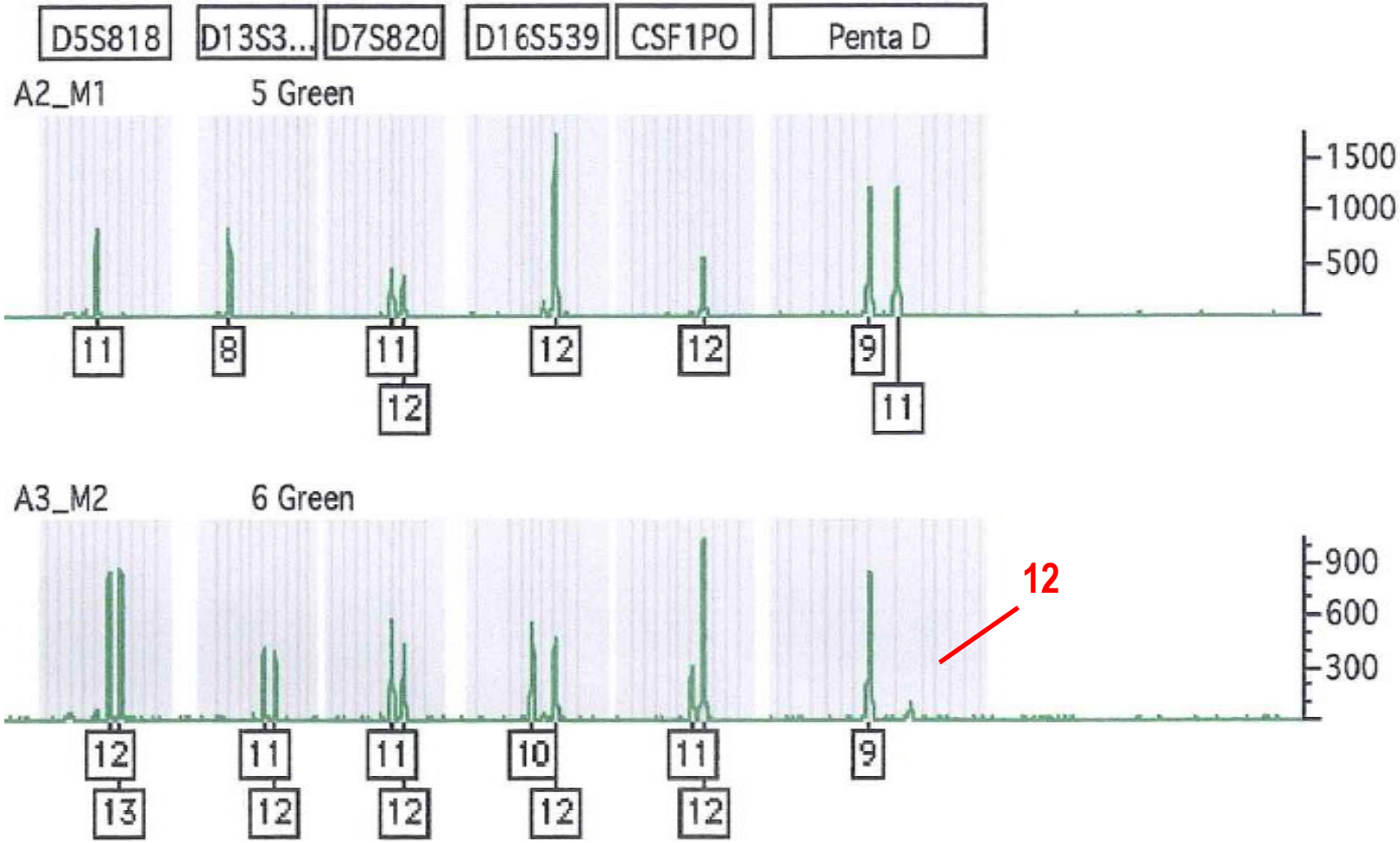
Bajo ADN

20321: 2 discordancias: D12S391 y SE33-ACTBP2



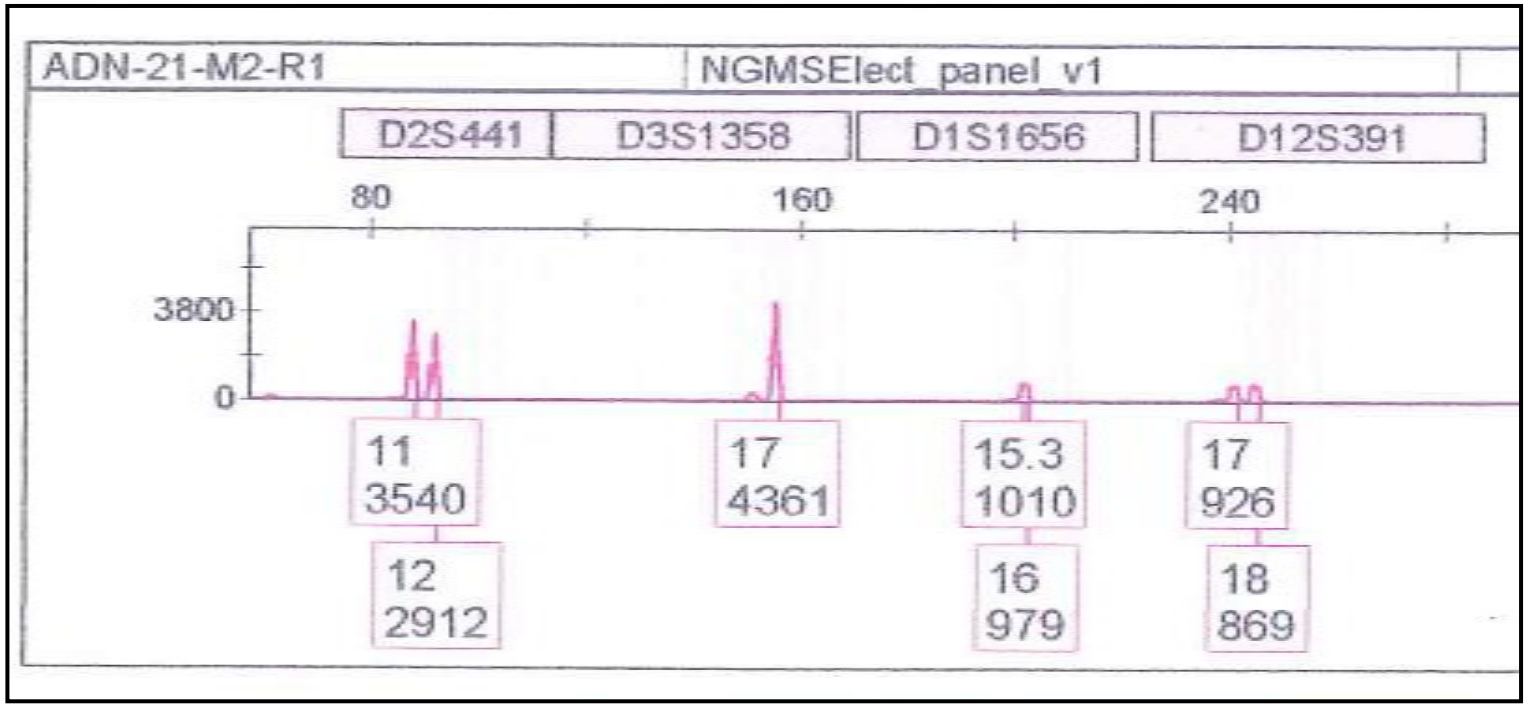
Bajo ADN

23199: Penta D **9** --->9/12, *Drop out*



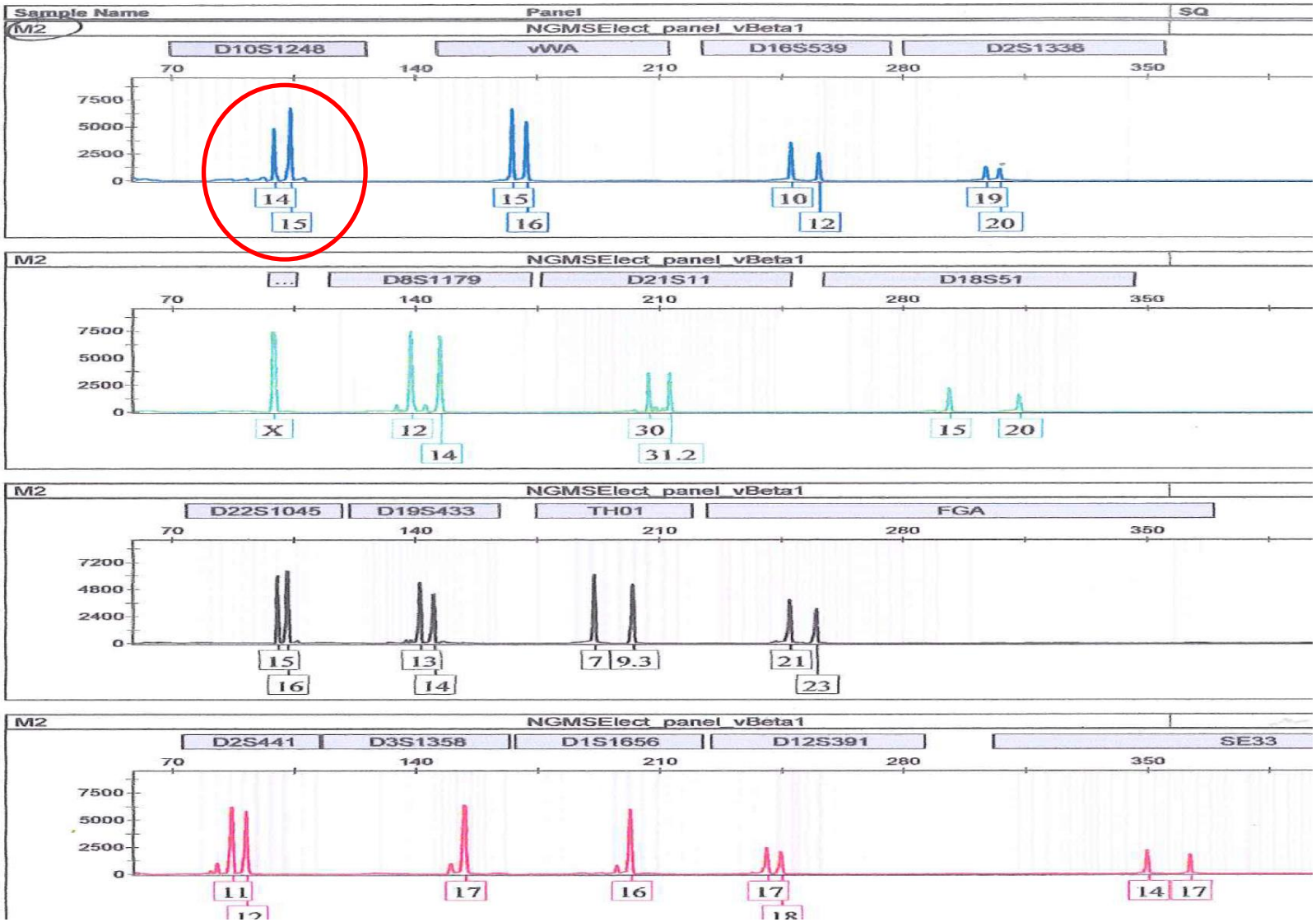
Exceso de ADN

20347: D1S1656, 15.3/16----->16



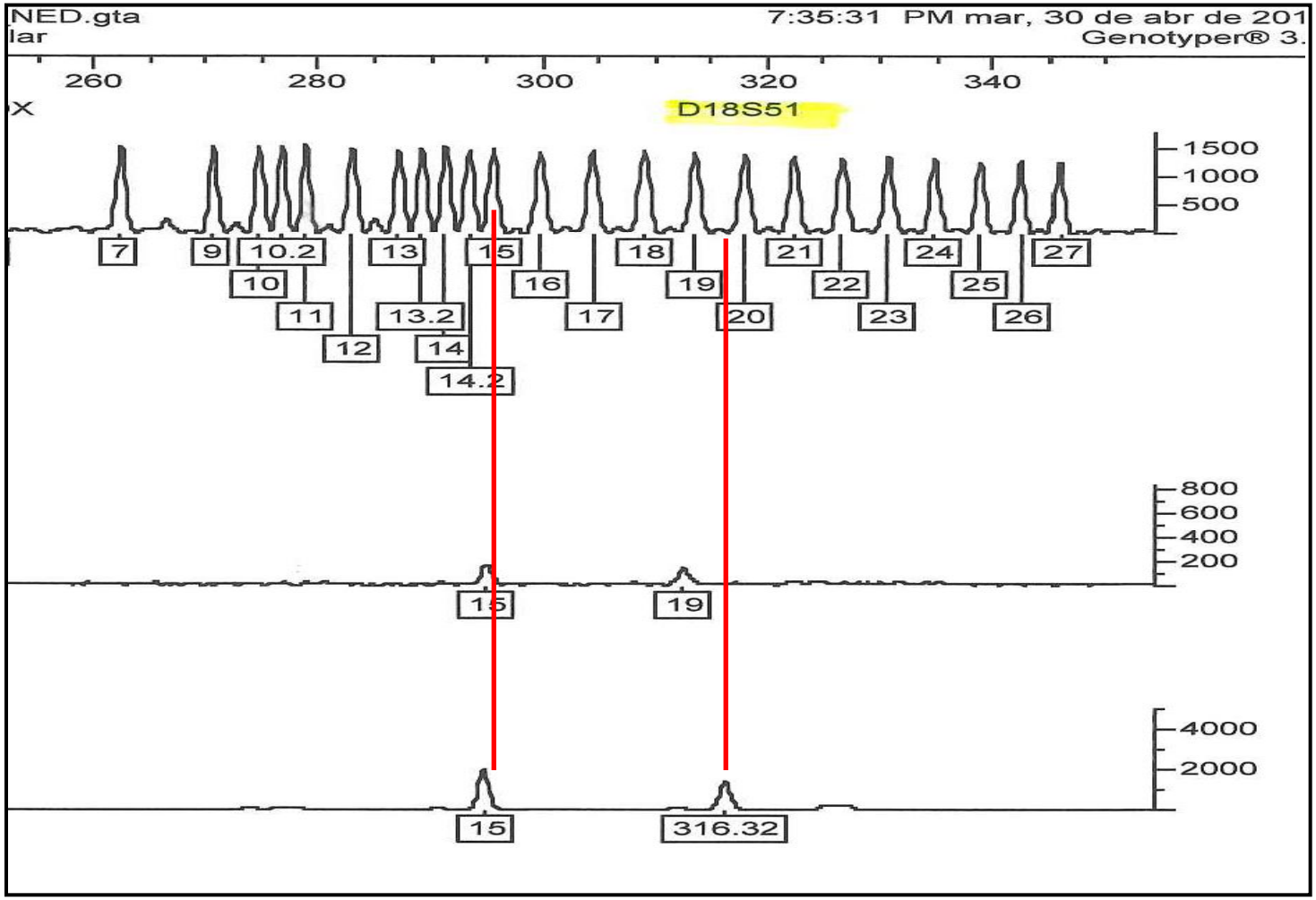
Asignación alélica, Posible *pull-up*

23381: D10S1248, 14/15----> 15



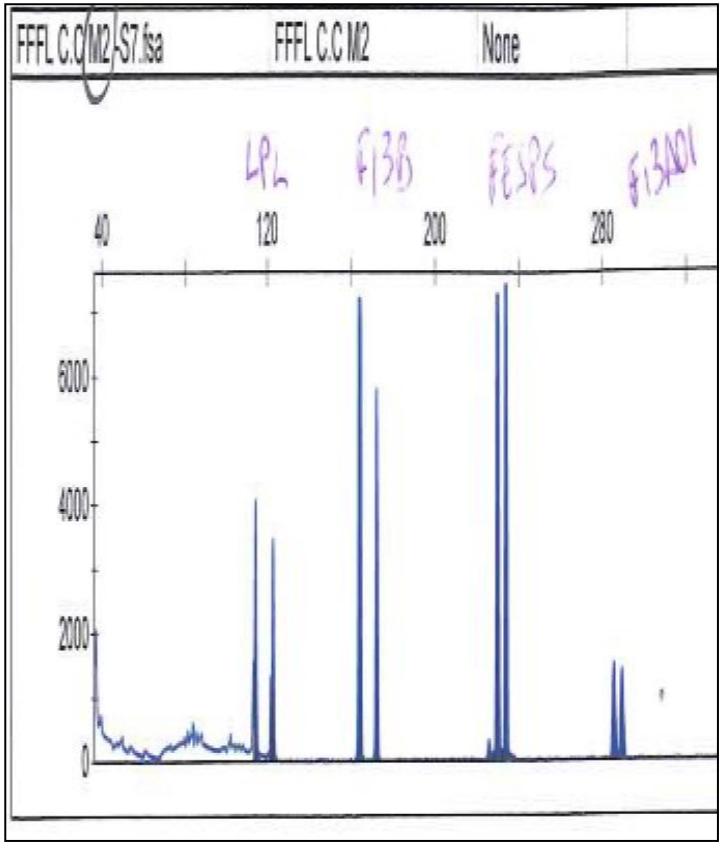
Asignación alélica

20348: D18S51, **15/19.2**--->15/20, Problema de movilidad, pb?

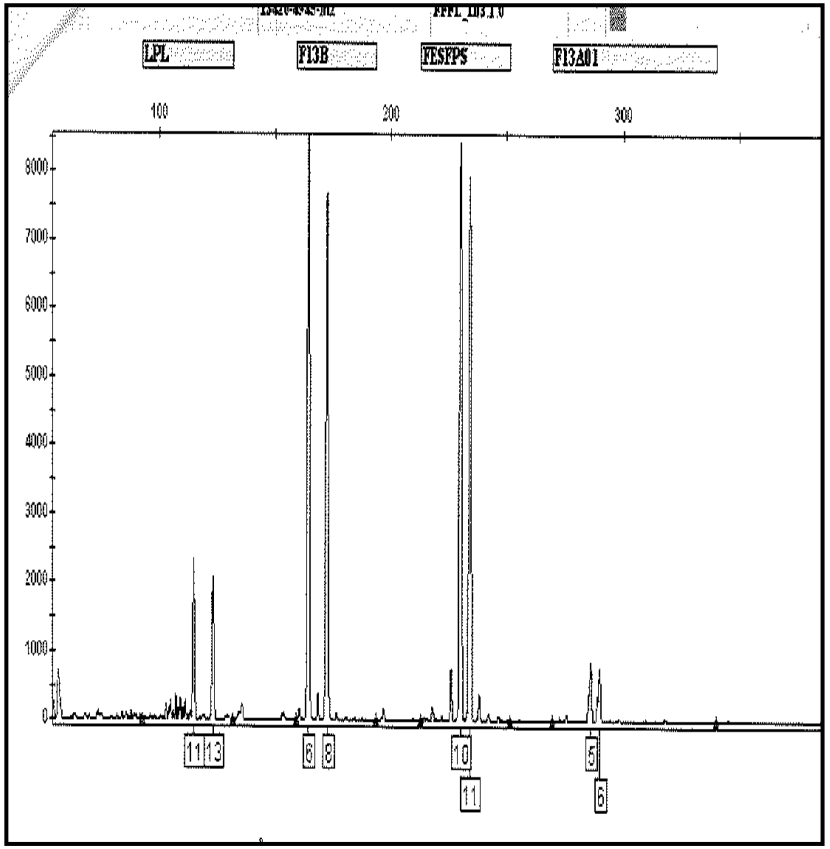


Asignación alélica

20343: FES_FPS, **9/10-**---> 10/11



23193: F13A01, **5/6-**---> 6/7



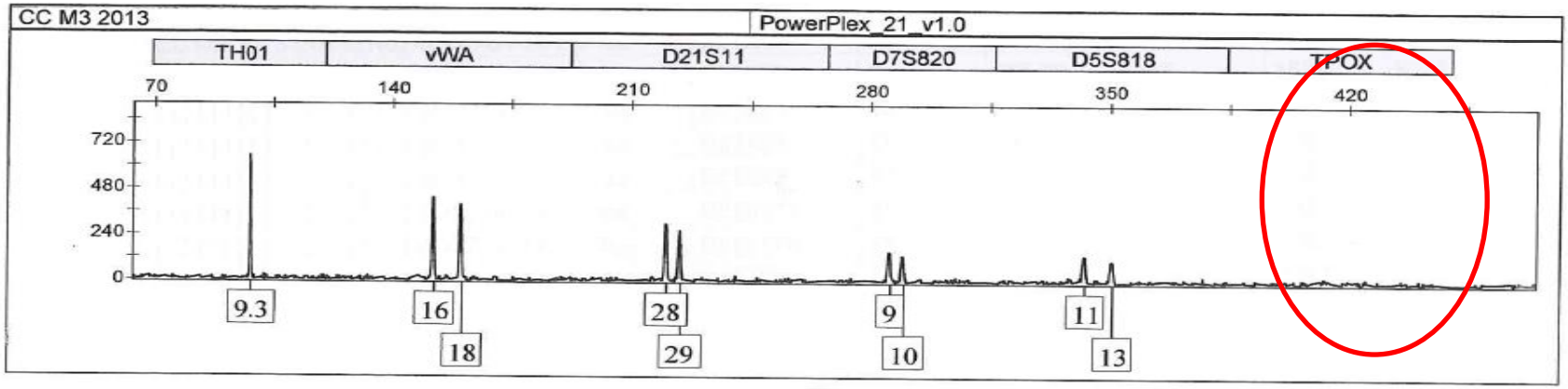
- M3: saliva de varón en tarjeta Whatman

Precinto	Marcador	**DISCORDANCIA**	Consenso
20348	FGA	**22.1/23**	22.2/23
20332	FGA	**23**	22.2/23
20303	*FGA*	***22,2/23***	*22.2/23*
23193	F13A01	**5/6**	6/7
20319	TPOX	**NR**	9/12

Bajo ADN

20319:

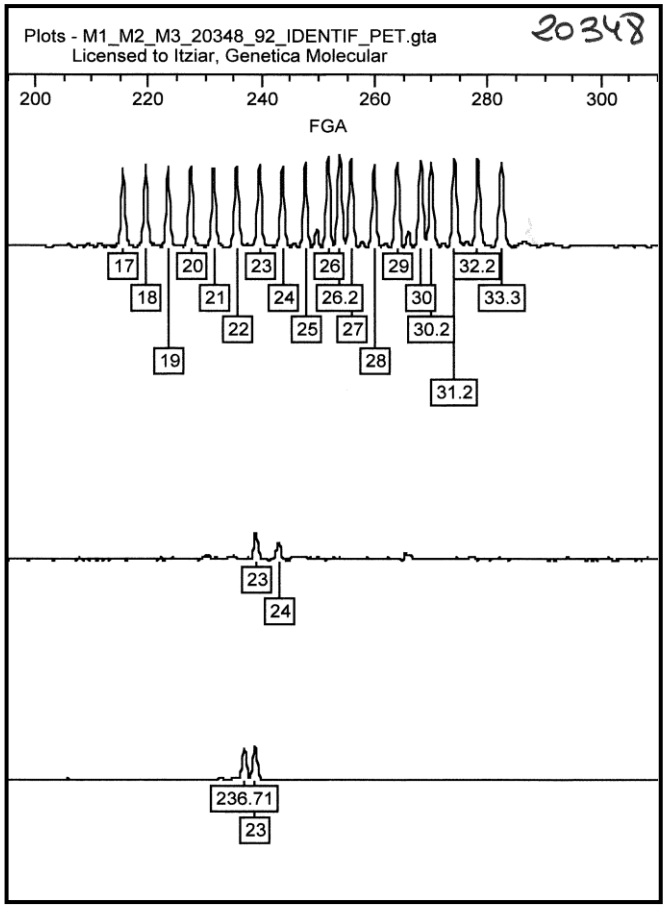
EN LA MUESTRA M3 NO SE PUDO AMPLIFICAR EL MARCADOR TPOX A PESAR DE HABER REALIZADO EL ENSAYO POR VARIAS OCASIONES. LA MISMA MUESTRA NO AMPLIFICO EN LOS MARCADORES DYS19, DYS392.

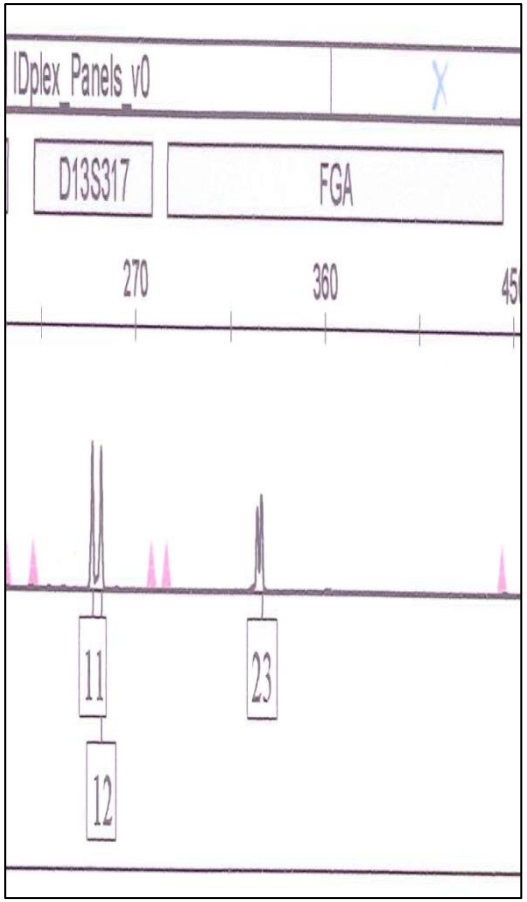


Incorrecta asignación alélica

FGA: necesitamos dato de pares de bases **F13A01**

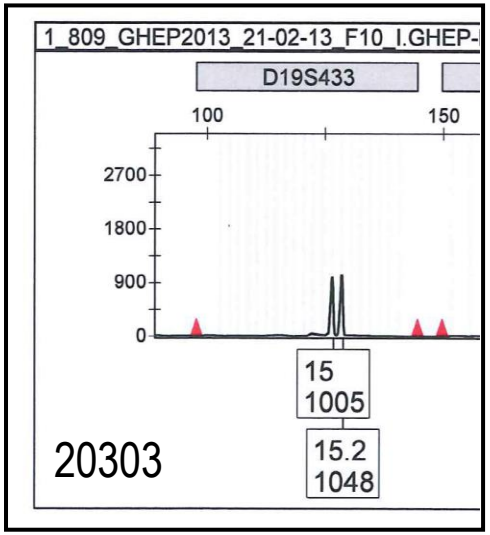
20348: 22.1/23----->22.2/23 **20332:** 23----->22.2/23 **23193:** 5----> 6

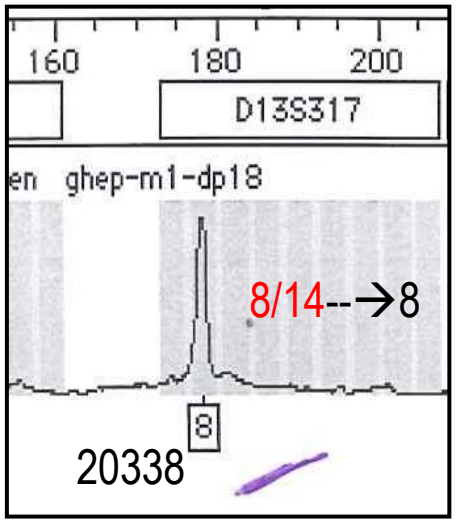




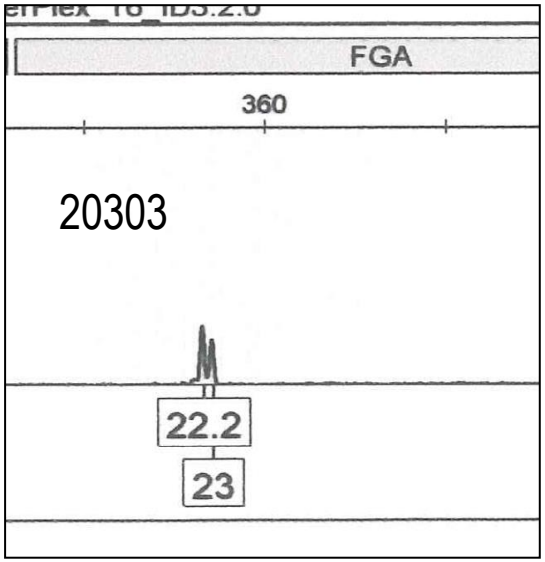
- Discordancias de menor relevancia, **transcripción**

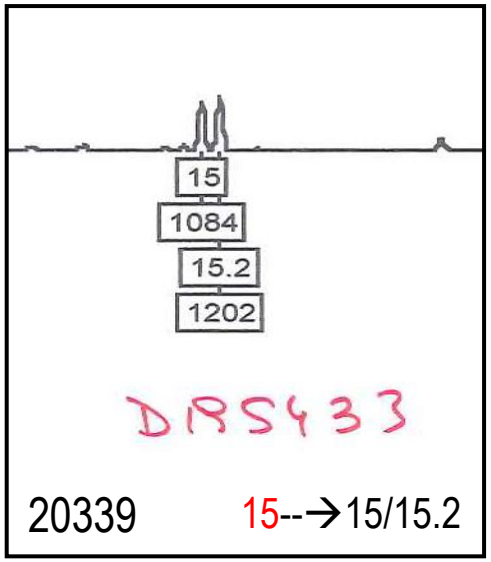
15/15,2----->15/15.2

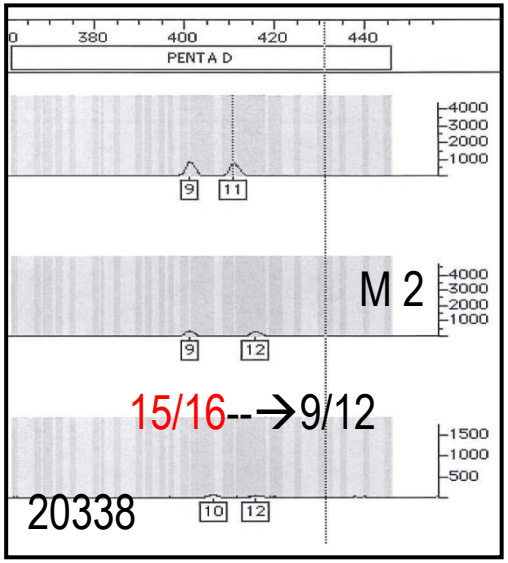


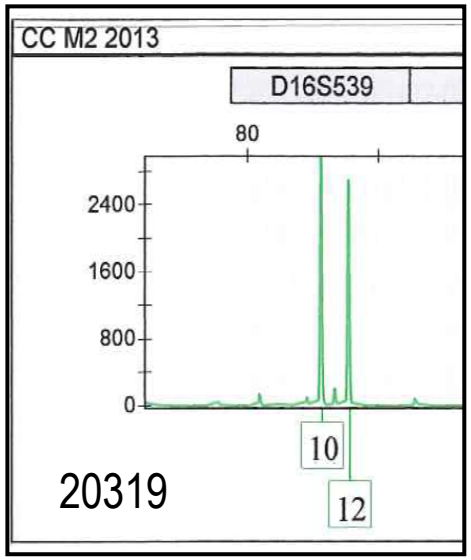


M 3

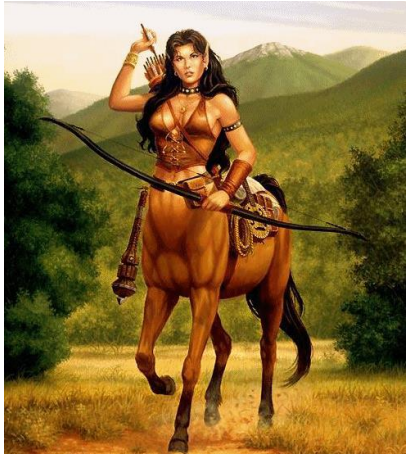








Ejercicio Avanzado: Módulo forense



Ejercicio Avanzado: Módulo forense

- Se trata de un ejercicio forense consistente en tres muestras dubitadas para identificación de fluidos y análisis genético:

  M6: 10 µl de sangre de mujer, muestra M1 del ejercicio del GHEP ISFG de 2008 sobre viruta de madera.

  M7: mezcla 5:1 (v/v) de salivas de un varón y de una mujer.

  M8: mezcla 4:1 (v/v) sangre de caballo y sangre de mujer (no se aporta muestra de referencia) sobre una bayeta.

- Se solicitaba indicar la naturaleza de los componentes y el número mínimo de contribuyentes detectados en las muestras.

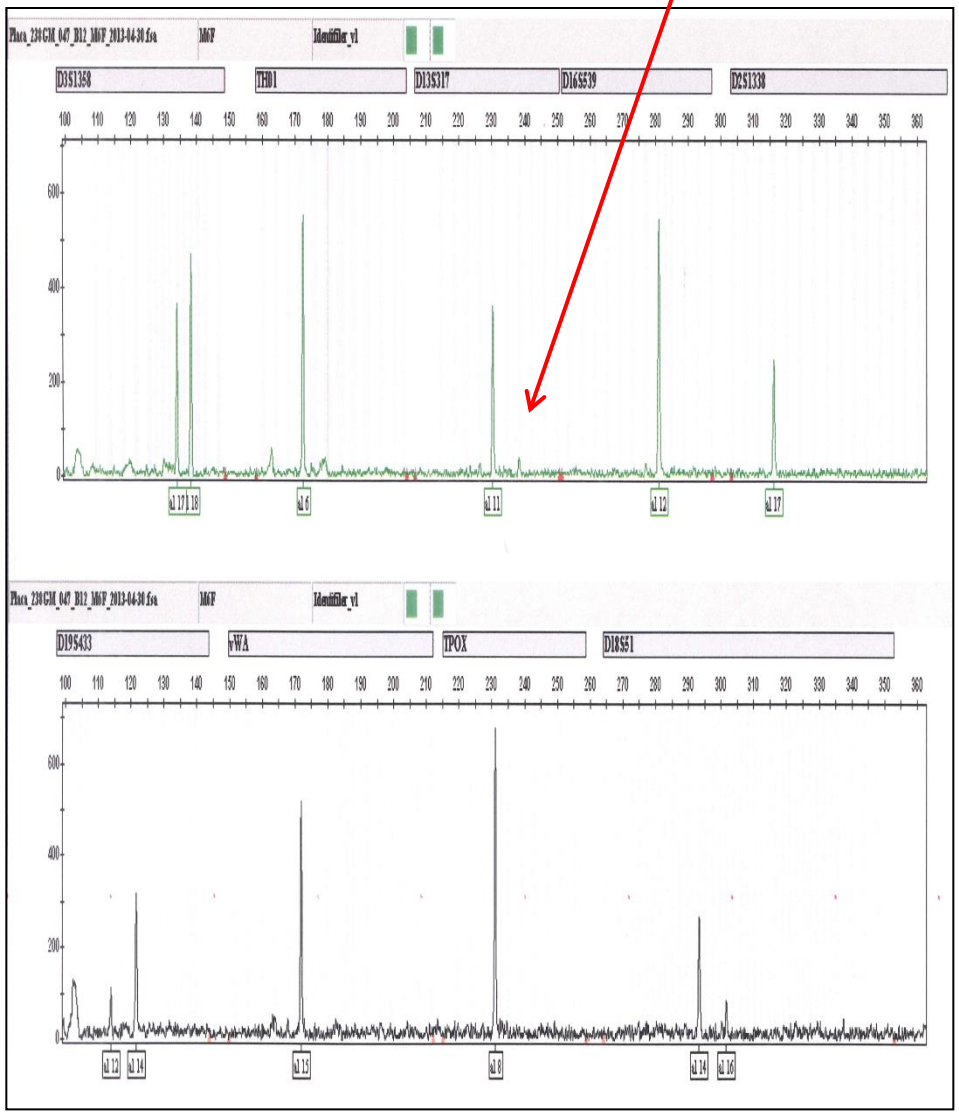
- M6: sangre de mujer, del ejercicio 2008, sobre viruta de madera

Precinto	Marcador	**Discordancia**	Consenso
20302	D13S317	**11**	11/13
23167	D19S433	**12**	12/14
20317	D3S1358	**11/13**	17/18
20308	D1S1656	**12/!6**	12/16
20312	TODOS	**CONTAMINACIÓN**	

Muestras Forense de origen único: M 6 2013

Bajo ADN

20302:D13S317: 11--→ 11/13



20302

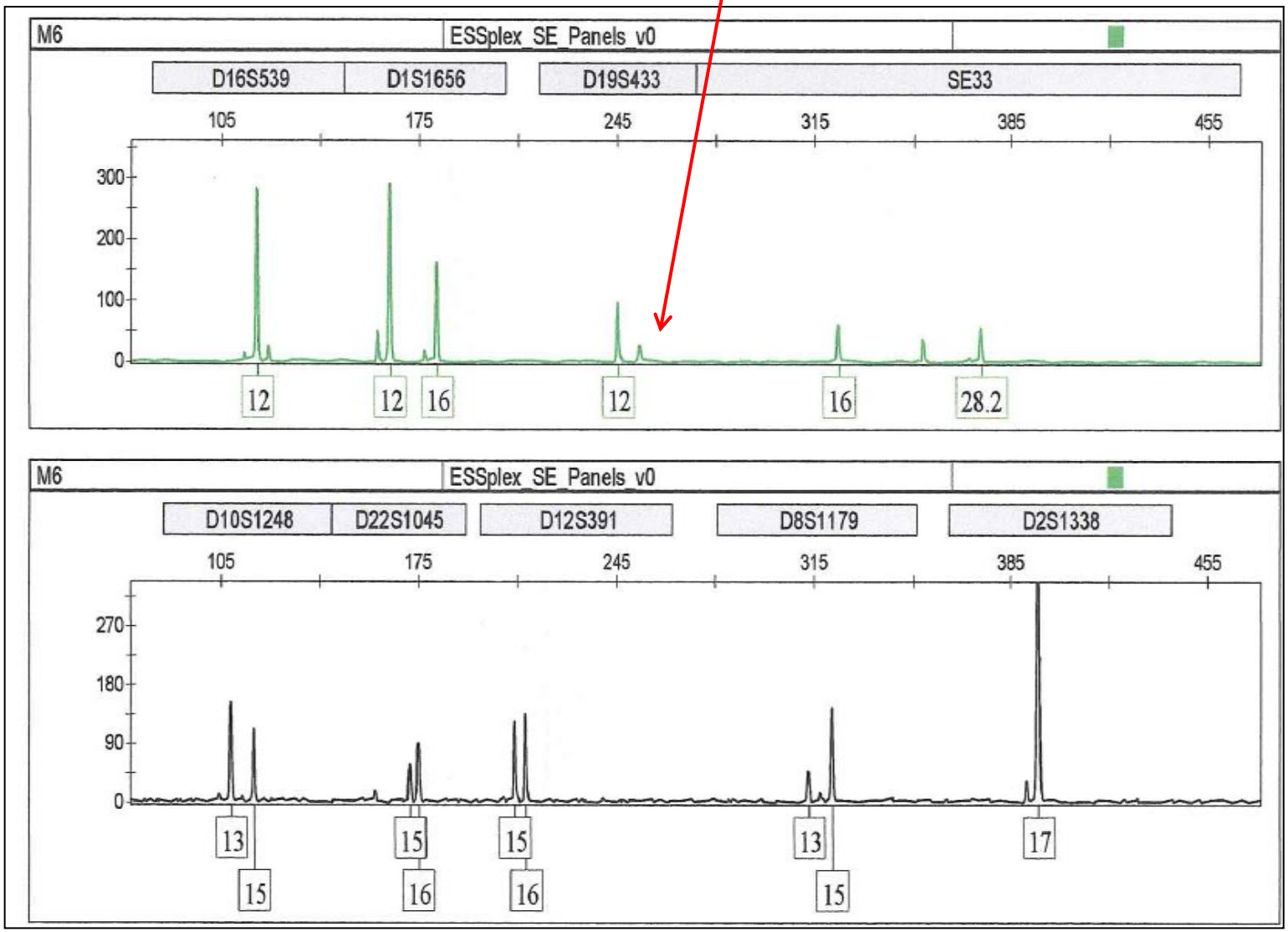
Este laboratorio realiza lisis diferencial y obtiene dos extractos, pero cuantifica por espectrofotometría. Baja cantidad de ADN.

Hay otros tres laboratorios que obtienen dos o tres extractos en esta muestra:

23399, 20300,20293

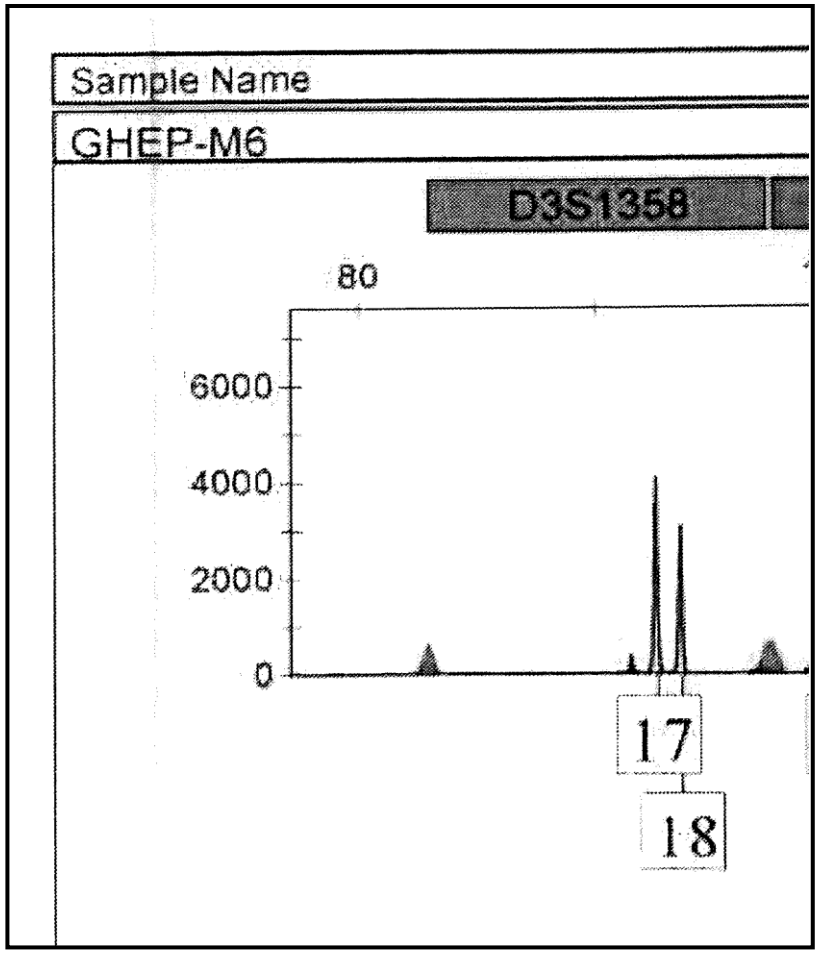
Bajo ADN

23167: D19S433: 12----->12/14

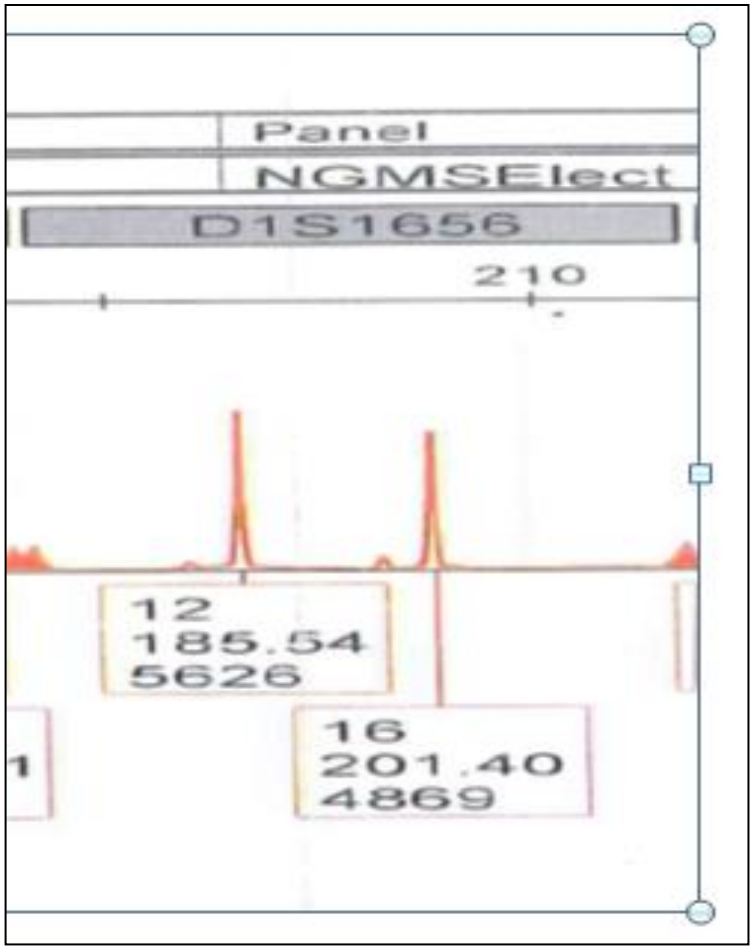


Transcripción

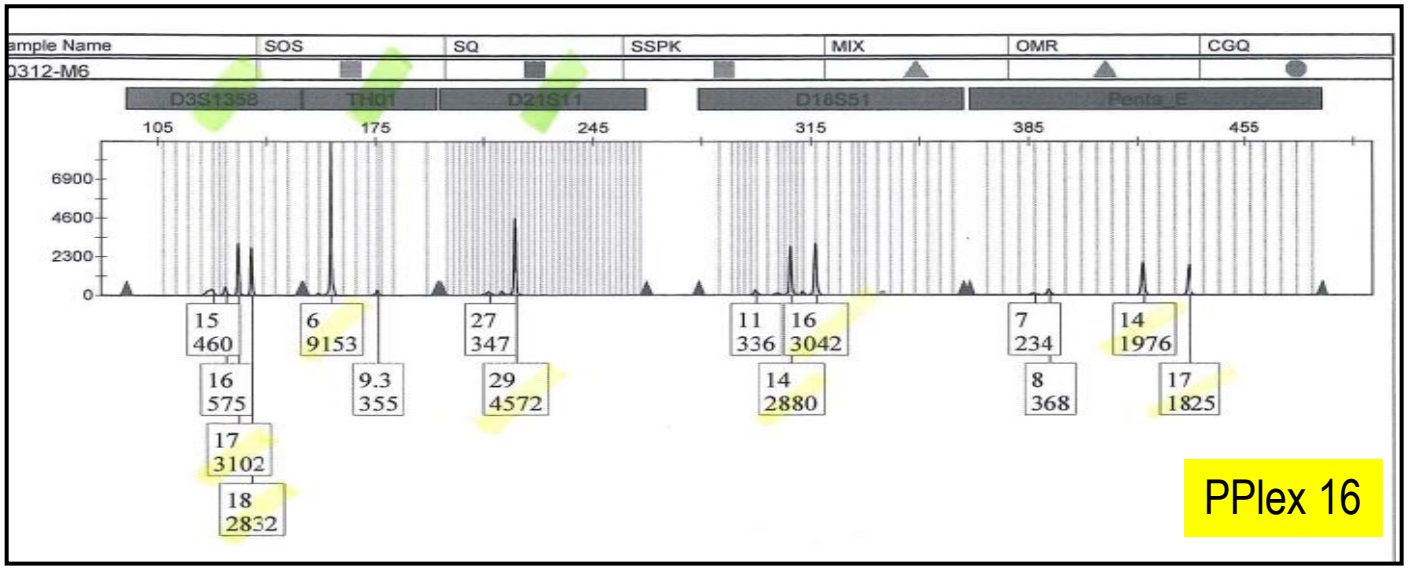
20317: D3S1358 **11/13** -->17/18

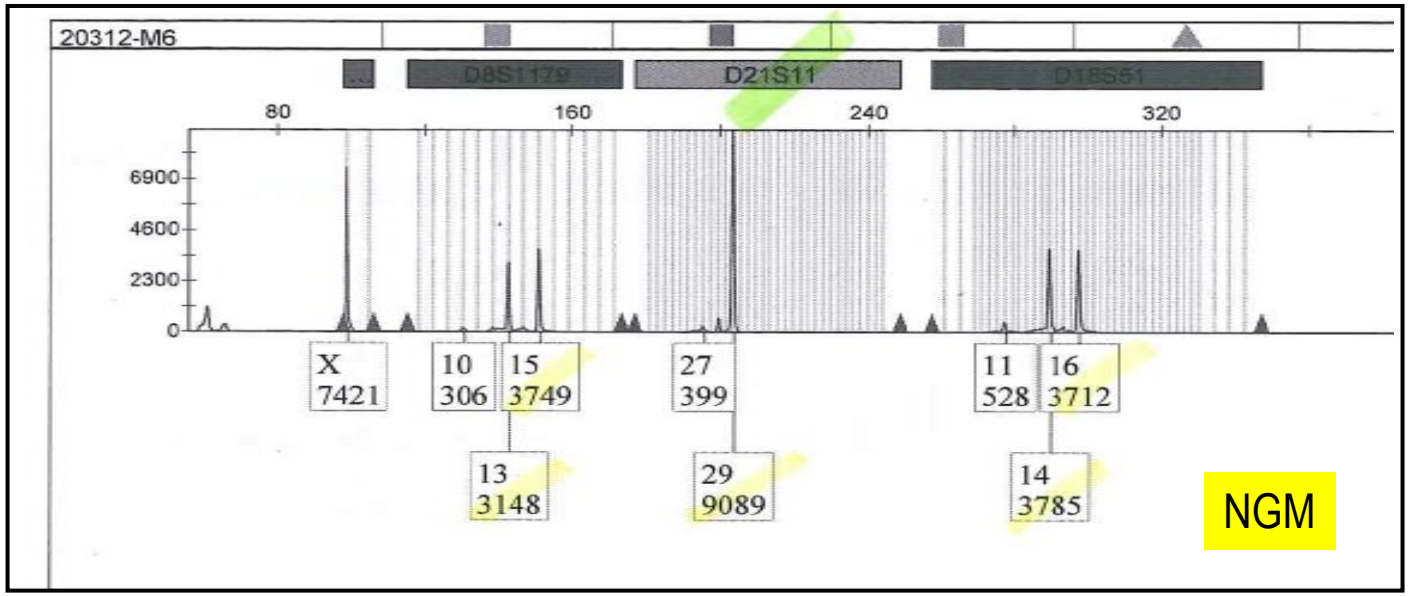


20308: D1S1656 **12/!6**--> 12/16



20312: Contaminación con ADN de muestra M8



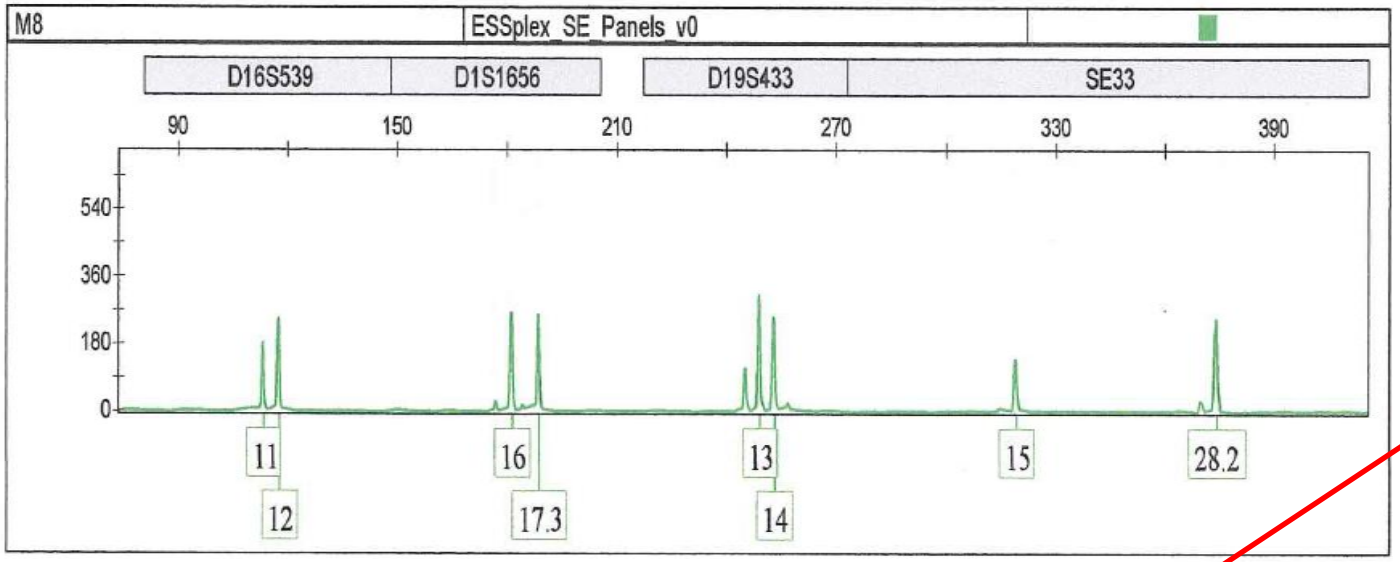


- M 8: sangre mezcla de mujer desconocida con caballo, sobre un trozo de balleta

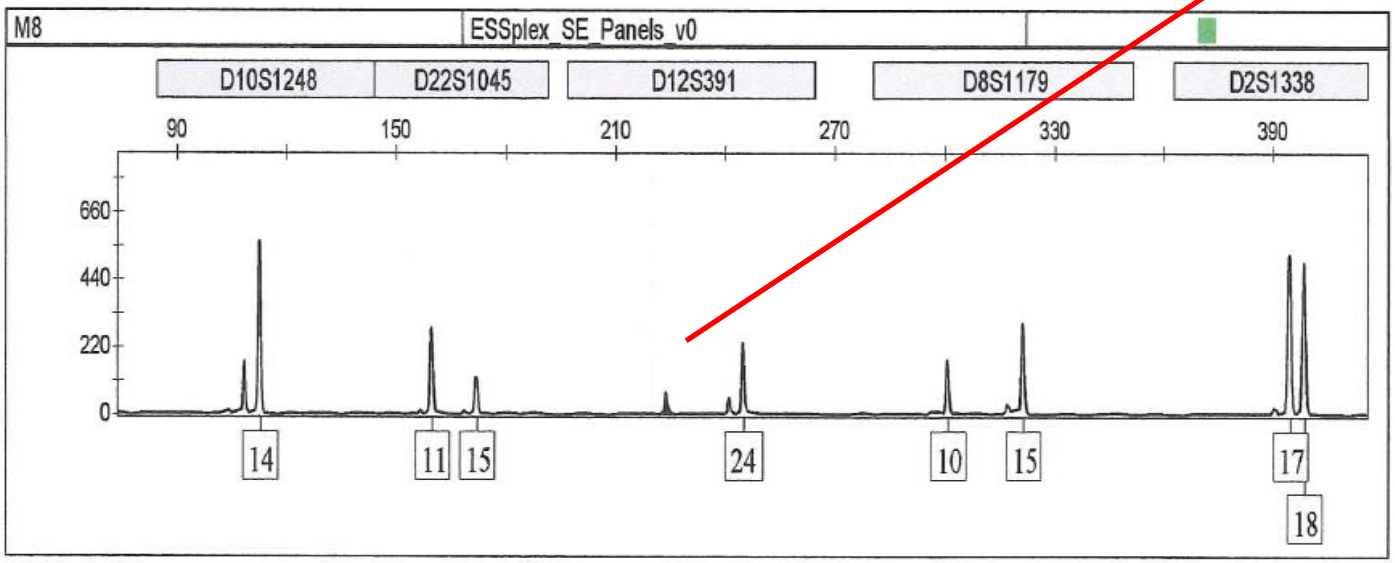
Precinto	Marcador	**Discordancia**	Consenso
20299	D12S391	**19/24**	18.3/24
20299	D1S1656	**16/18**	16/17.3
23167	D12S391	**24**	18.3/24
23399	Penta D	**8/12**	9/12

Muestras Forense de origen único: M 8 2013

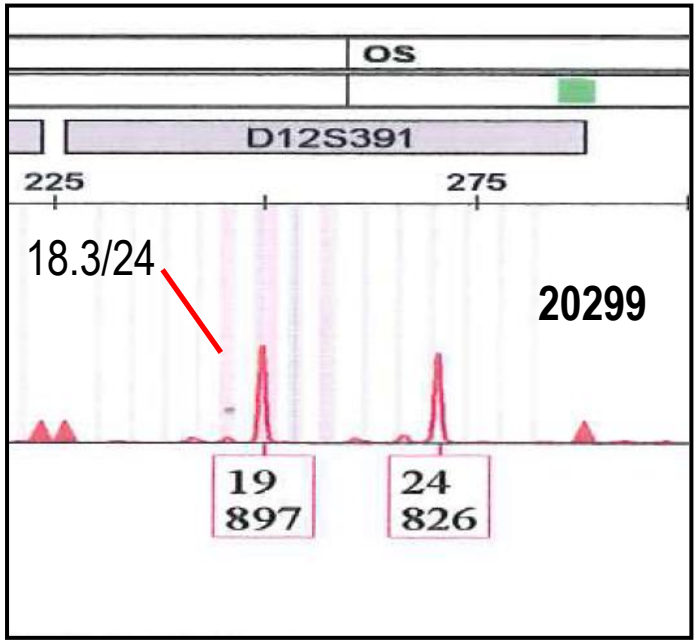
23167: bajo ADN

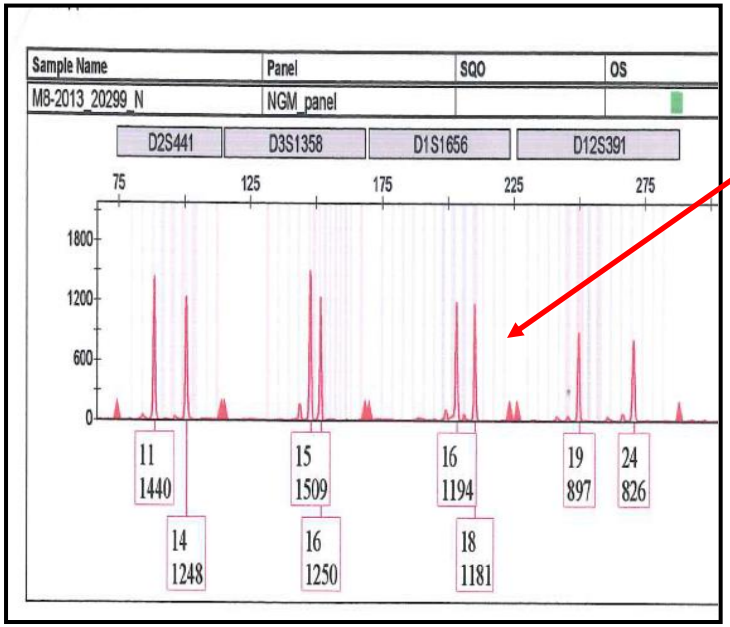


18.3 ?

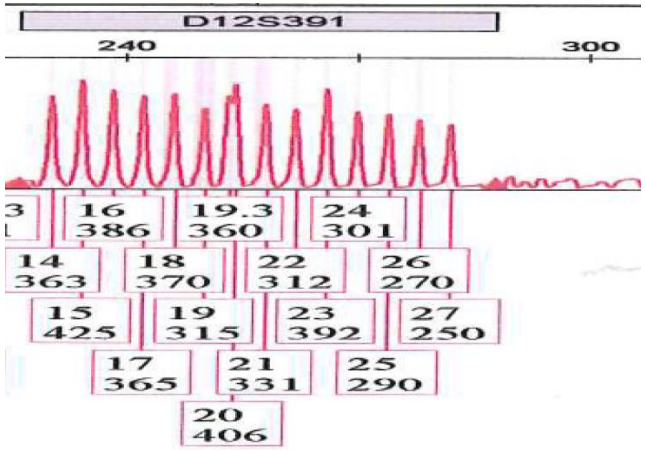


Asignación alélica



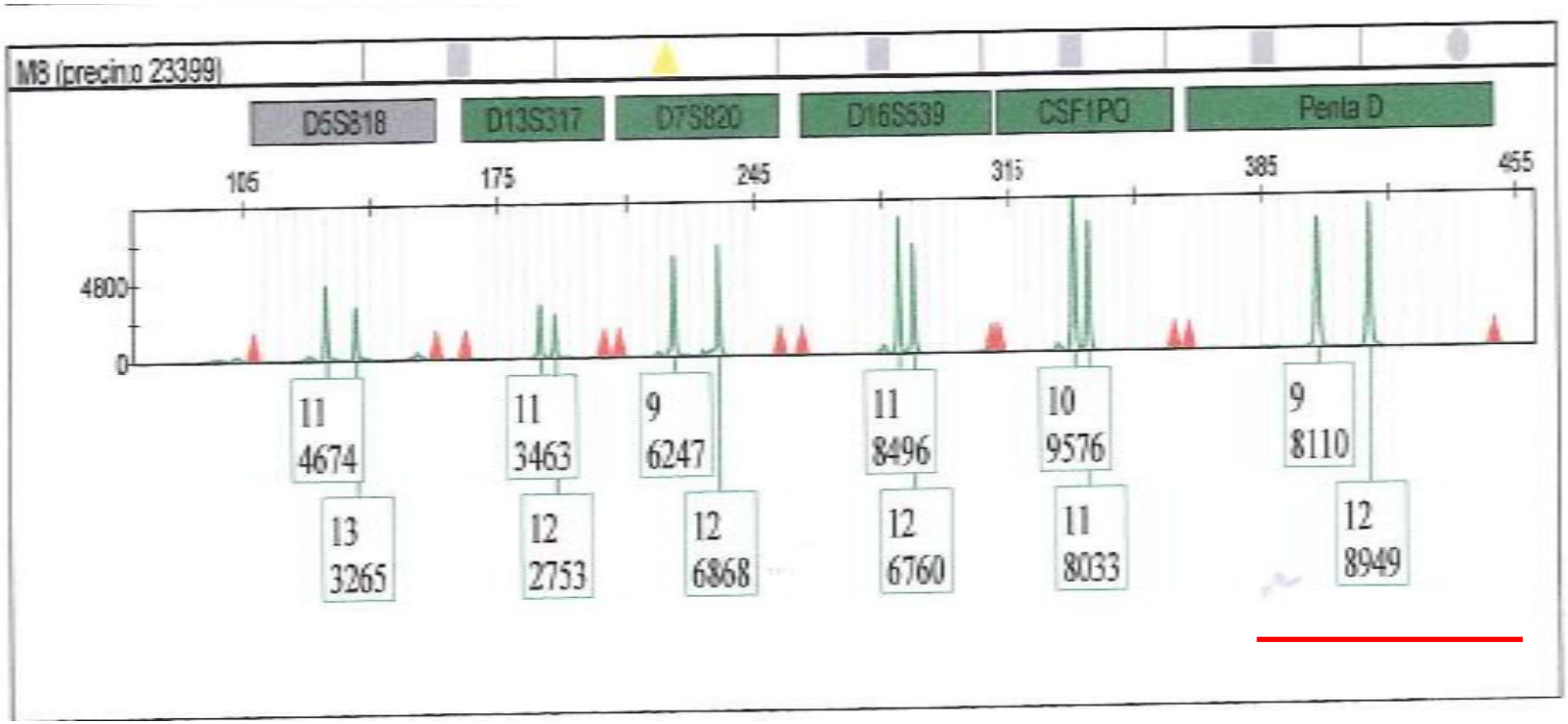


16/18 ---->16/17.3



Trascripción:

23399 Penta_D_M8 **8/12**-→9/12



Muestras Forense de origen único: M 8 2013

PRECINTO	Marcador	Discordancia	Consenso
2 3 3 7 8	D8S1179_M8	10/13/15	10/15
	D21S11_M8	27/29/30	27/29
	D7S820_M8	9/10/11/12	9/12
	CSF1PO_M8	10/11/12	10/11
	D3S1358_M8	14/15/16	15/16
	TH01_M8	6/8/9.3	6/9.3
	D2S1338_M8	17/18/19/23	17/18
	D19S433_M8	13/14/15	13/14
	VWA_M8	16/17/18	16/17
	TPOX_M8	8/10/11	10/11
	D18S51_M8	11/15/16/19	11/16
	FGA_M8	19/23/24	19/24

Análisis de las discordancias

No contabilizados los dos laboratorios que contaminan la muestra M6 y M8 respectivamente.

Las discordancias se acumulan en 20 laboratorios:

- 13 con una sola discrepancia
- 5 con dos
- 3 presentan tres discordancias

Ambos tipos de muestras Laboratorio: **20299**

PRECINTO	M 1	M 2	M 3	M 6	M 8	TOTAL
20294	1	0	0	0	0	1
20299	1	0	0	0	2	3
20302	0	0	0	1	0	1
20308	0	0	0	1	0	1
20317	0	0	0	1	0	1
20319	0	1	1	0	0	2
20321	0	2	0	0	0	2
20332	0	0	1	0	0	1
20338	1	1	0	0	0	2
20339	1	0	0	0	0	1
20343	0	1	0	0	0	1
20347	0	1	0	0	0	1
20348	1	1	1	0	0	3
20357	1	0	0	0	0	1
23167	0	0	0	1	1	2
23193	1	1	1	0	0	3
23196	1	0	0	0	0	1
23199	0	1	0	0	0	1
23381	0	1	0	0	0	1
23399	0	0	0	0	1	1
TOTAL	8	10	4	4	4	30

Análisis de las discordancias

Por marcador

Las discordancias se acumulan en 17 MARCADORES en las **muestras de referencia**:

- 11 con una sola discrepancia
- 4 con dos
- 1 F13A01 presenta tres discordancias

En las **muestras forenses** solo 5 marcadores tienen discordancia

Marcador	M1	M2	M3	M6	M8	TOTAL
D10S1248	0	1	0	0	0	1
D12S391	0	1	0	0	2	3
D13S317	1	0	0	1	0	2
D16S539	0	1	0	0	0	1
D18S51	0	1	0	0	0	1
D19S433	1	0	0	1	0	2
D1S1656	1	1	0	1	1	4
D21S11	2	0	0	0	0	2
D2S441	1	0	0	0	0	1
D3S1358	0	0	0	1	0	1
F13A01	1	1	1	0	0	3
FES_FPS	0	1	0	0	0	1
FGA	0	0	2	0	0	2
Penta D	0	2	0	0	1	3
Penta_E	1	0	0	0	0	1
SE33_ACTBP2	0	1	0	0	0	1
TPOX	0	0	1	0	0	1
TOTAL	**8**	**10**	**4**	**4**	**4**	**30**

Conclusiones

Se siguen cometiendo los mismos tipos de discordancias:

- Problemas en la concentración de ADN del extracto
    - **Sin cuantificación** **incluir??**
- De asignación alélica
- Contaminación, aunque no en las muestras de referencia
- No se deben a problemas en las plataformas de análisis
- Hay un alto número de laboratorios que no cumple las especificaciones de rellenado del formulario.
    - Doble dato para homozigotos
    - Comas para microvariantes

Ministerio de Justicia

INT CIENCIAS FORENSES

Agradecimientos

- A Koro Fernández
- A todos mis compañeros del Servicio de Biología
  - De Madrid
  - De Sevilla

Ministerio de Justicia

INT CIENCIAS FORENSES

Agradecimientos

- Los Miembros de la Directiva del GHEP:
  - Maria Jose Farfán
  - Ulises Toscanini
  - Cintia Alves
  - Lourdes Prieto
- **A todos los participantes**