

Marcadores Autosómicos



Ejercicio 2011
XVI Jornadas
Viena



Nivel Básico

M1 Sangre D1 ♀

M2 Saliva D2 ♂

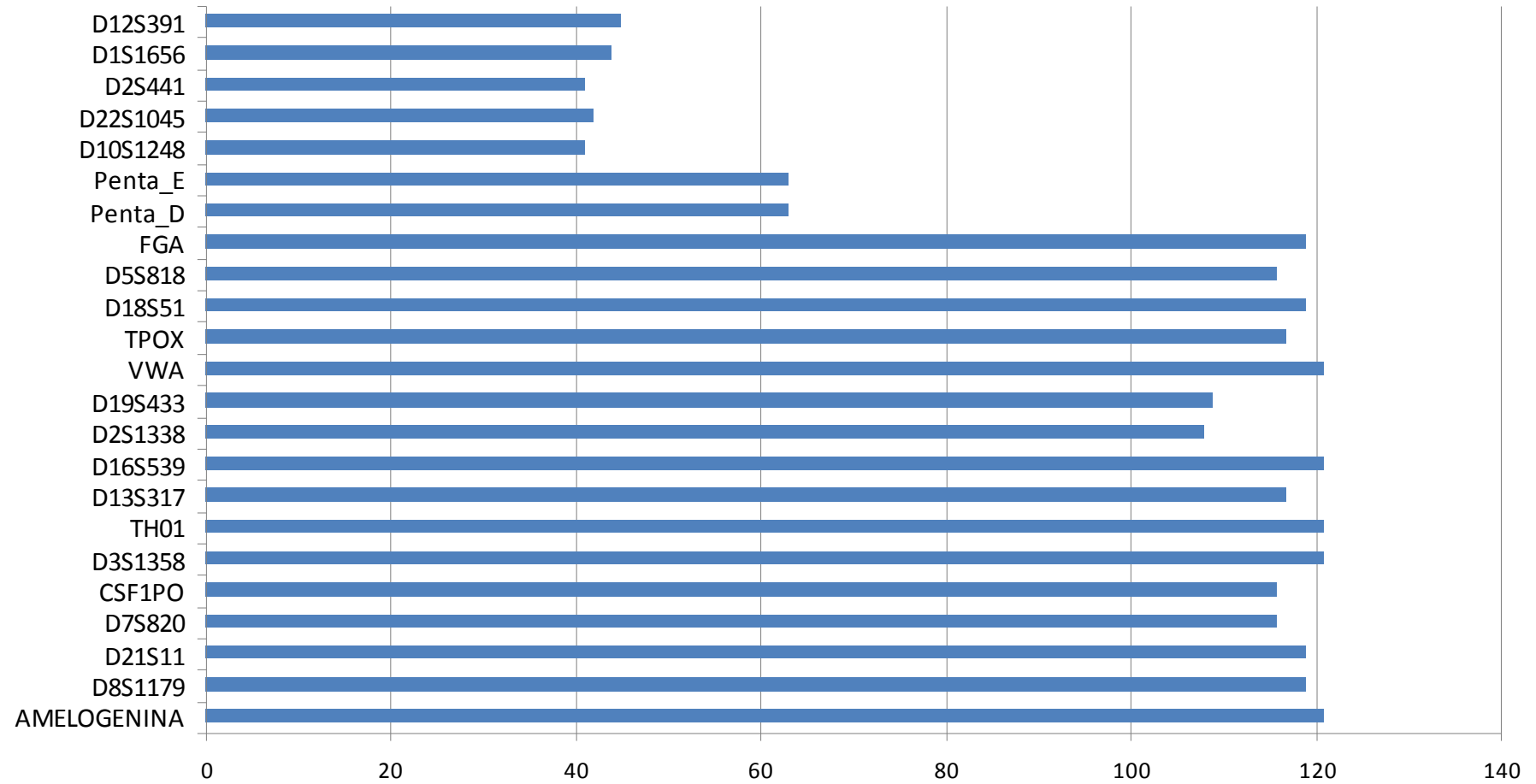
M3 Sangre D3 ♂

M4 Sangre D4 ♀

Módulo Forense:

M5 Sangre D1 ♀ + Sangre D3 ♂

nº laboratorios



Errores de nomenclatura o formato

Amelogenina X Y  Amelogenina X / Y

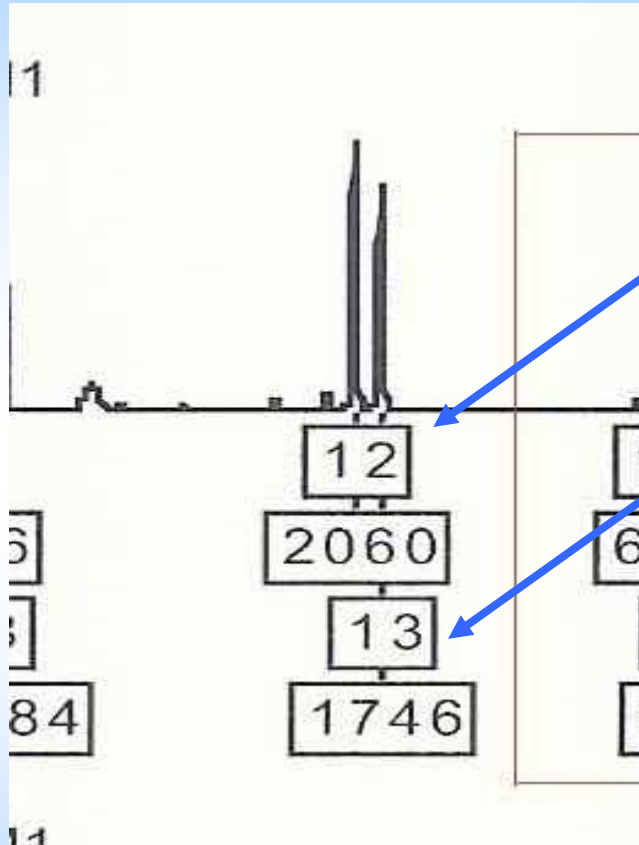
30 - 32.2  30 / 32.2

7 / 7  7

No discordancias

Errores de transcripción

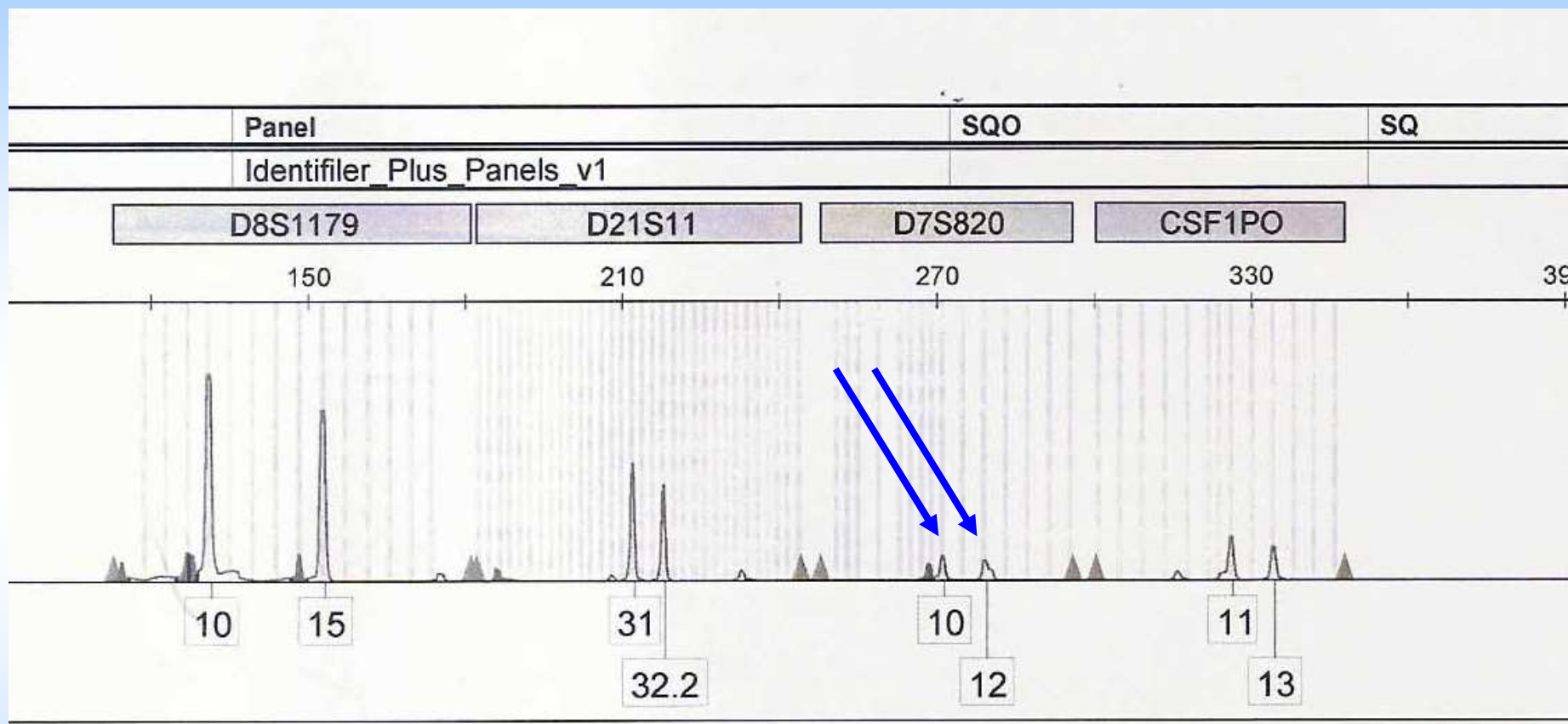
Errores de transcripción



Transcribe sólo 13

Errores de transcripción

23285 muestra M2



Reporta : 10 / 11

Correcciones manuales

23246 : Muestras M2 y M3



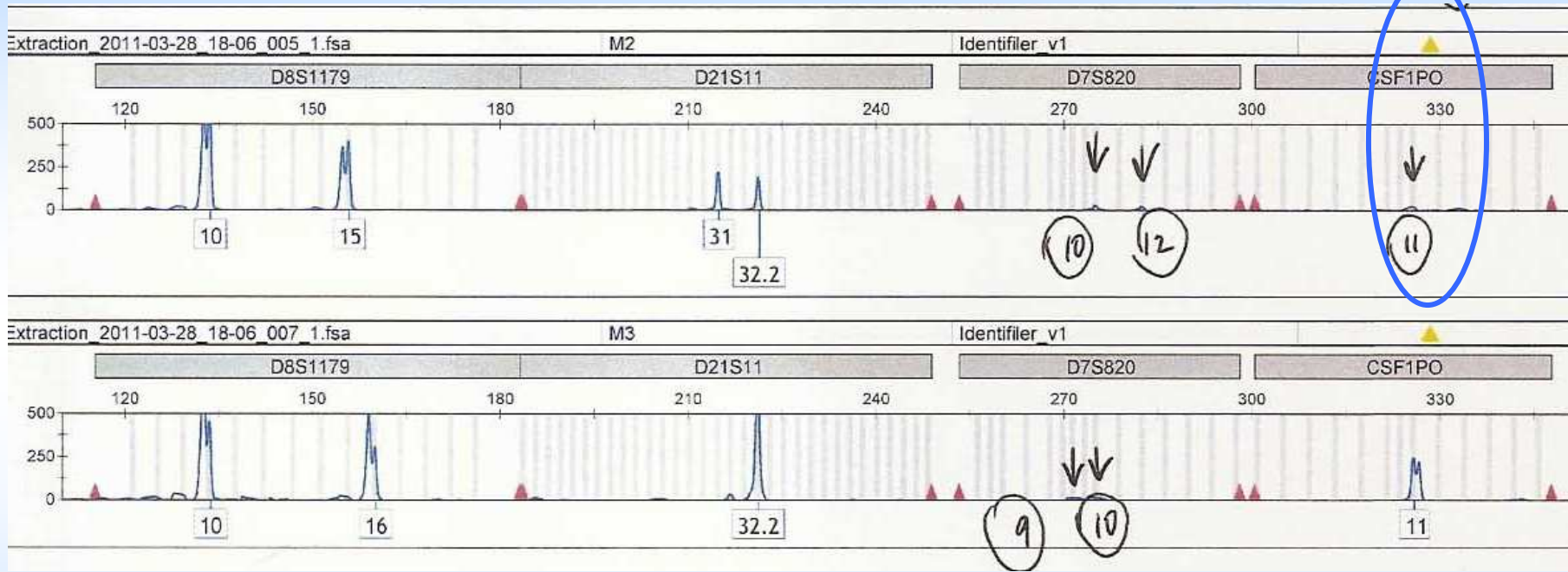
Asignación Genemapper correcta y modificación a mano incorrecta

Problemas de amplificación: calidad / cantidad de ADN

Desbalance entre marcadores

23246 : Muestra M2

11 / 13

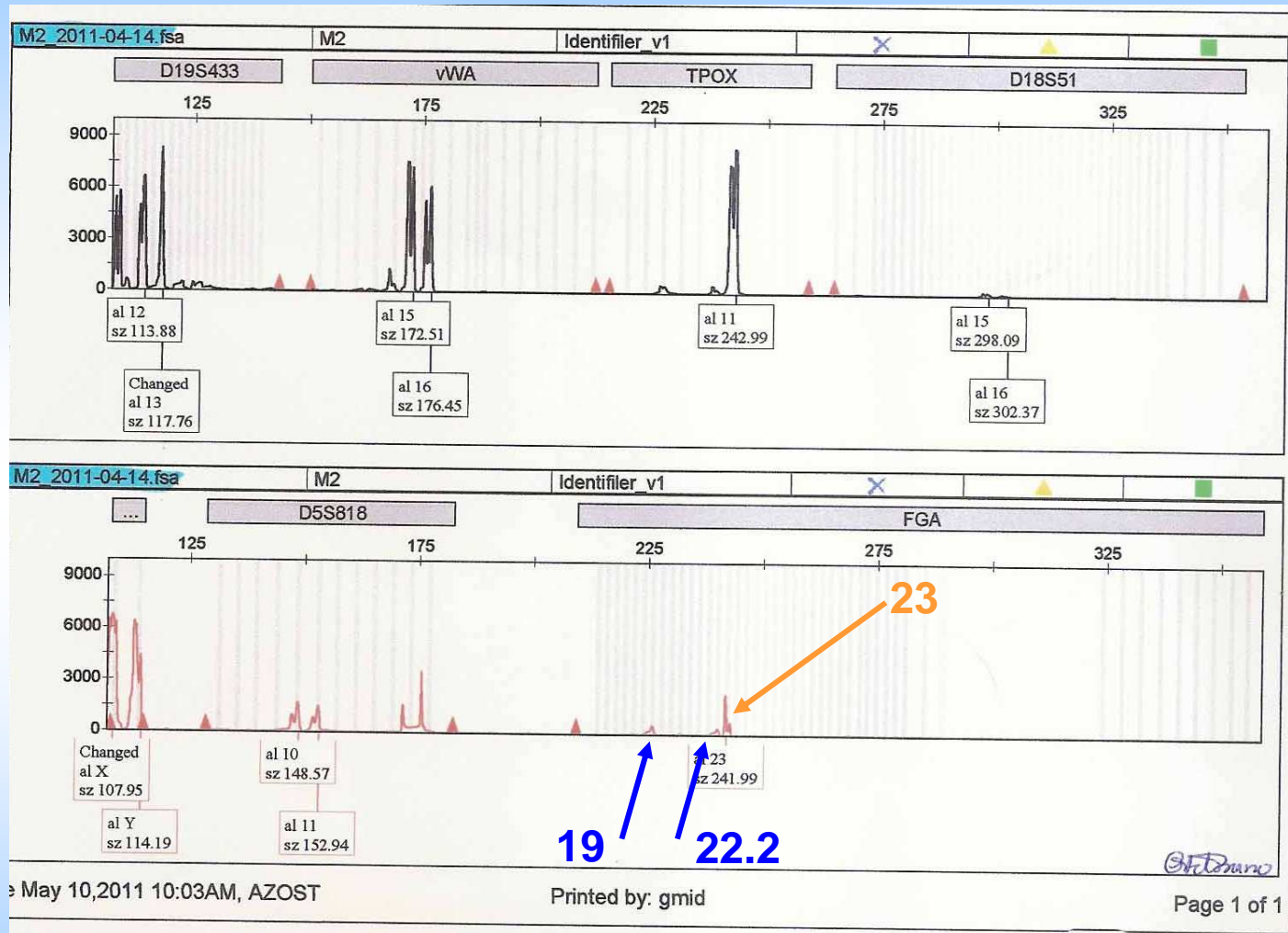


El laboratorio no hace cuantificación



Pull-up

23338 muestra M2

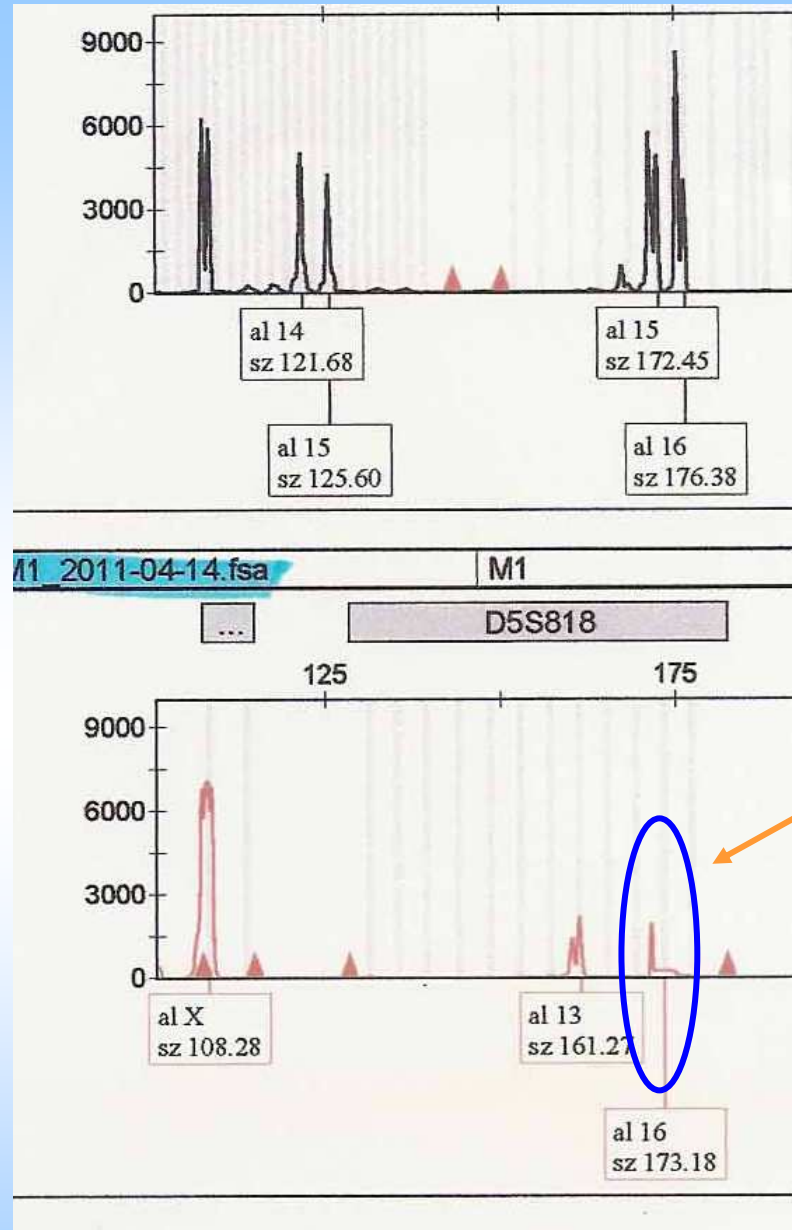


Cuantificación por espectrofotometría



23338 muestra M1

Pull-up



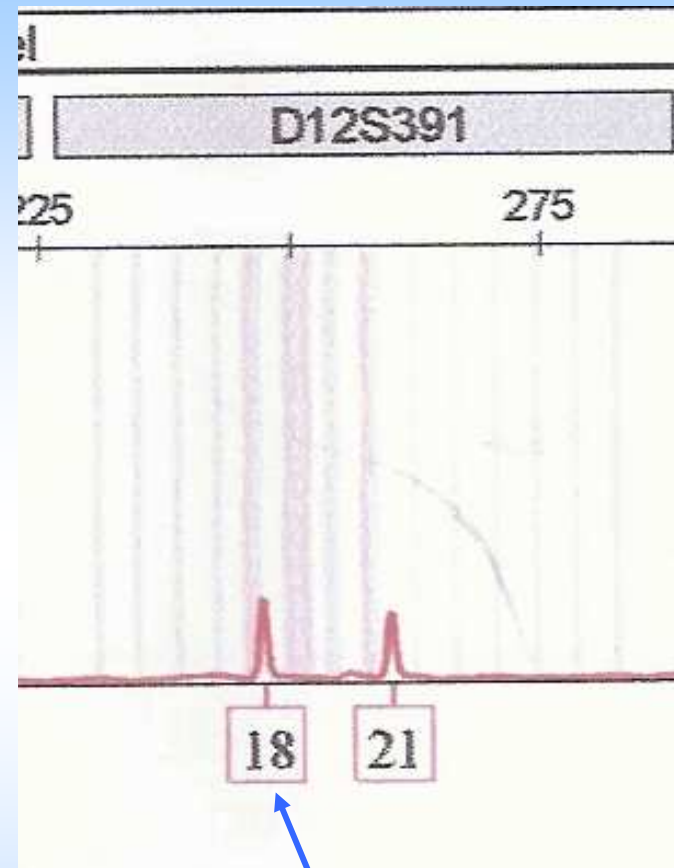
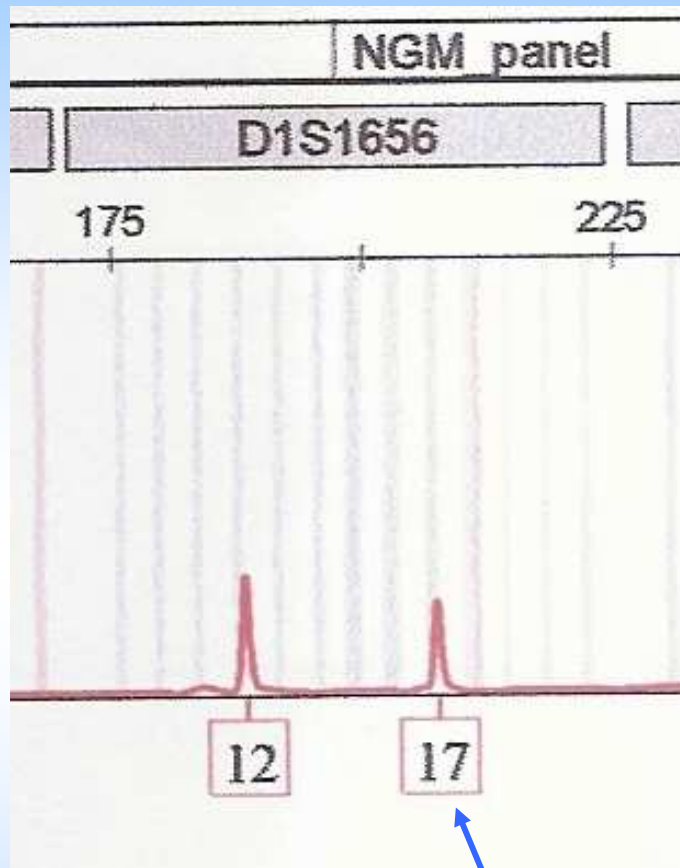
Cuantificación por espectrofotometría



Problemas de asignación alélica

Lab. 23290 M3

Presencia de alelos .3

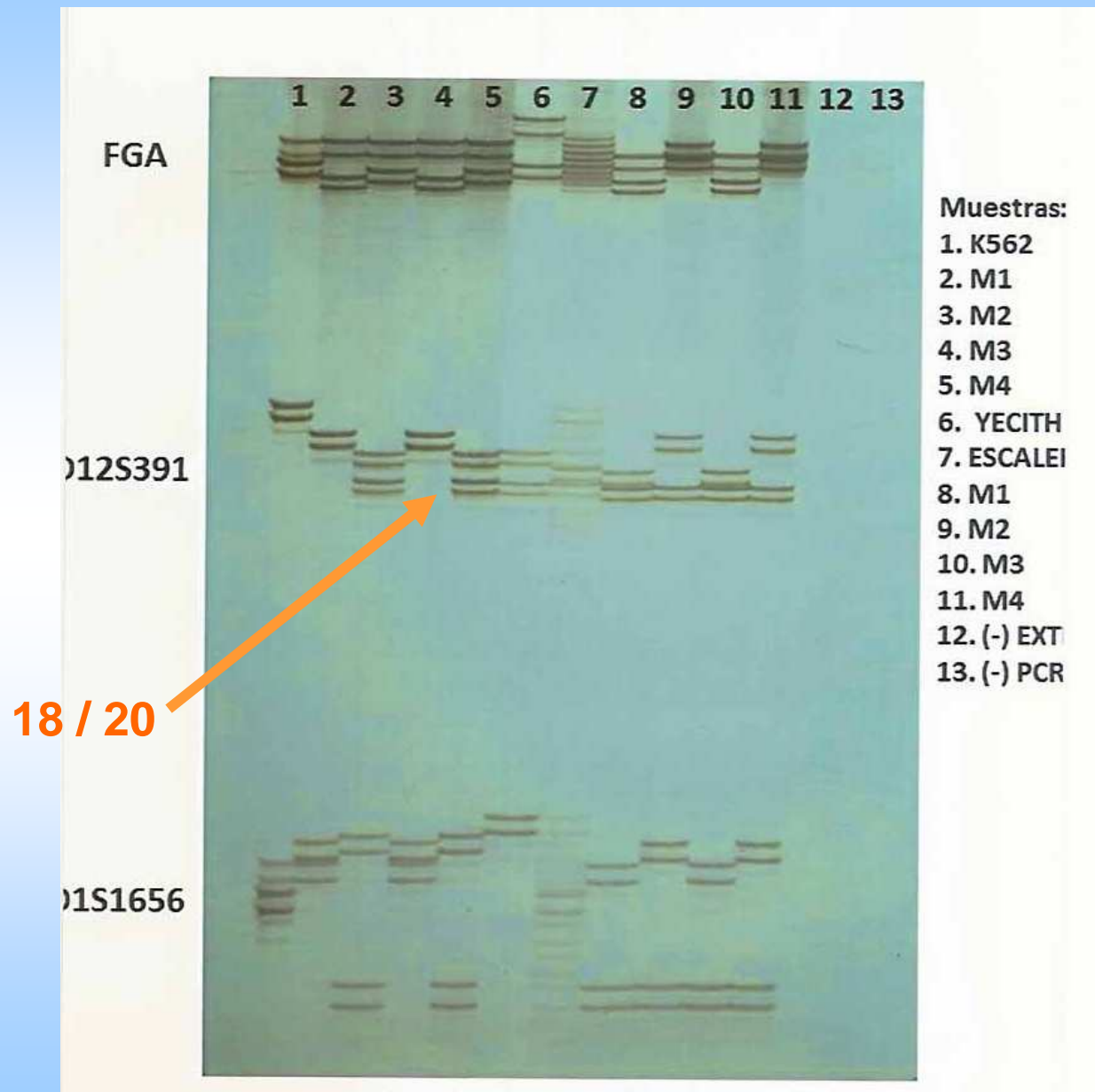


16.3

17.3

análisis : alelo + RFU + tamaño en bp

Lab 23296

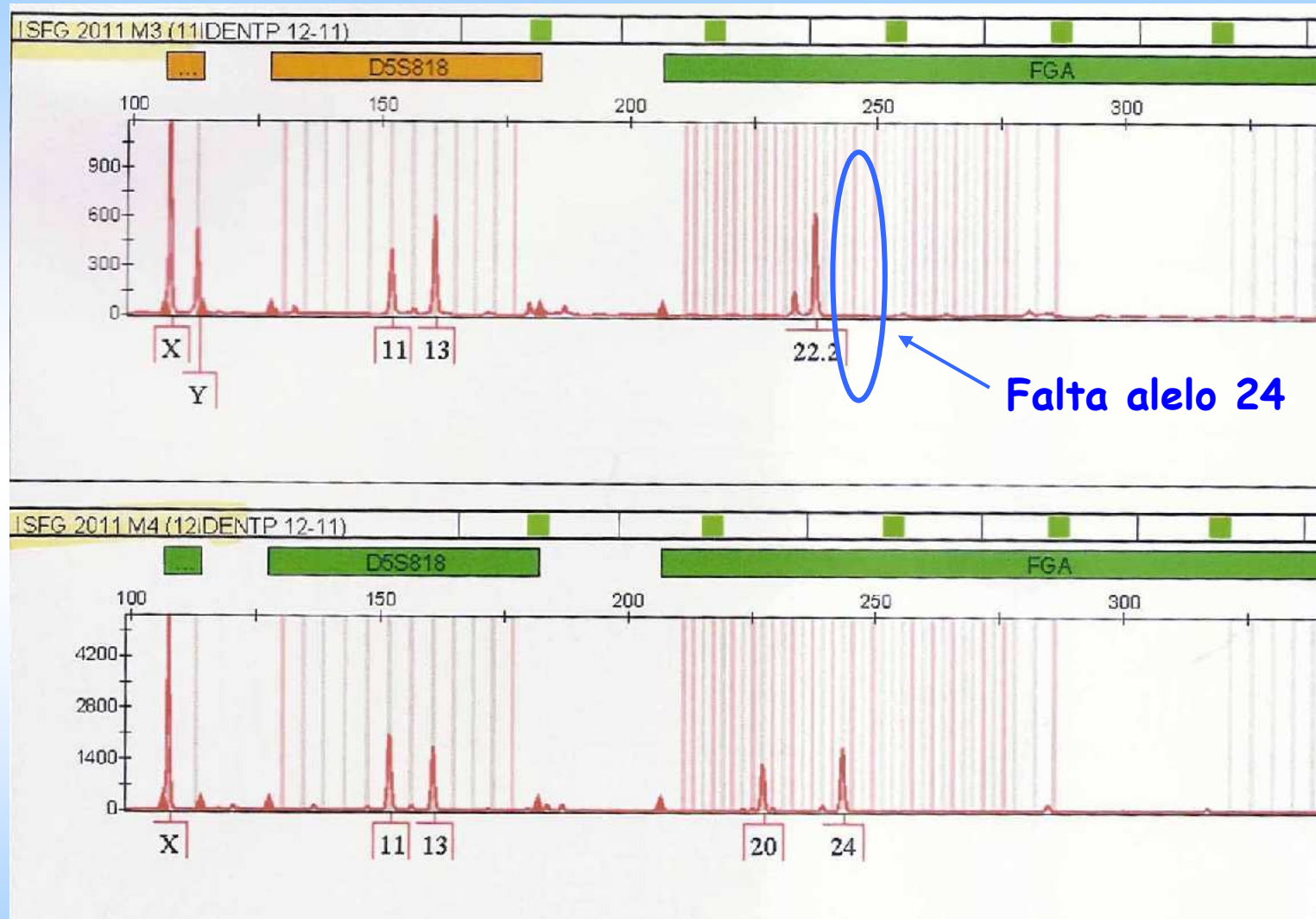


Consenso
18 / 19.3



Errores de causa desconocida

Lab 23218 : Muestra M3



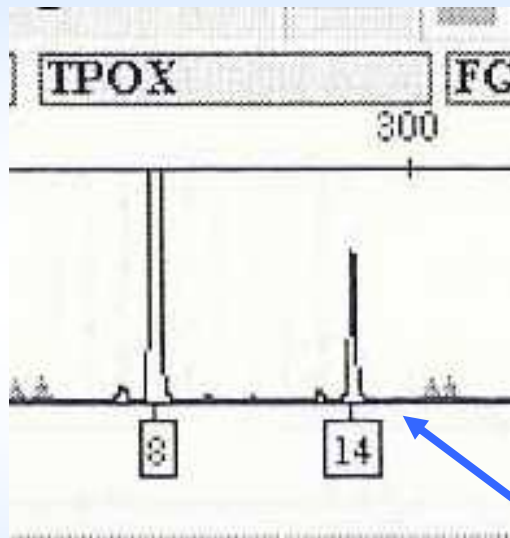
Causa ??

Lab 23276 TPOX muestra M4

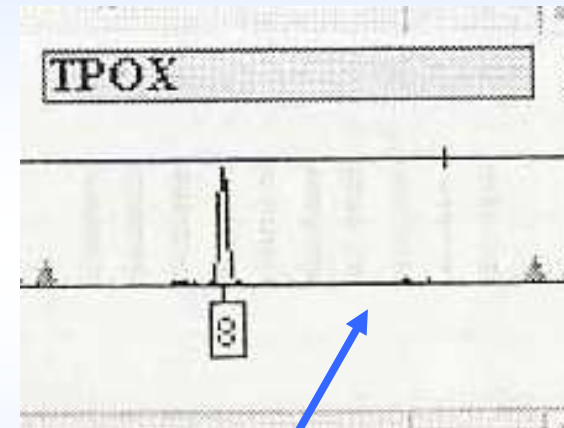
Consenso : 8

Reporta : 8 / 14

PowerPlex16



Identifiler



Causa ??

Labs que no envían los electroferogramas

Lab 23333

D2S1338 muestra M2 **18 / 19** **17 / 19**

Penta D muestra M3 **9 / 13** **12 / 13**

Causas ??

Errores en Nivel Básico M1 - M4

Por laboratorio:

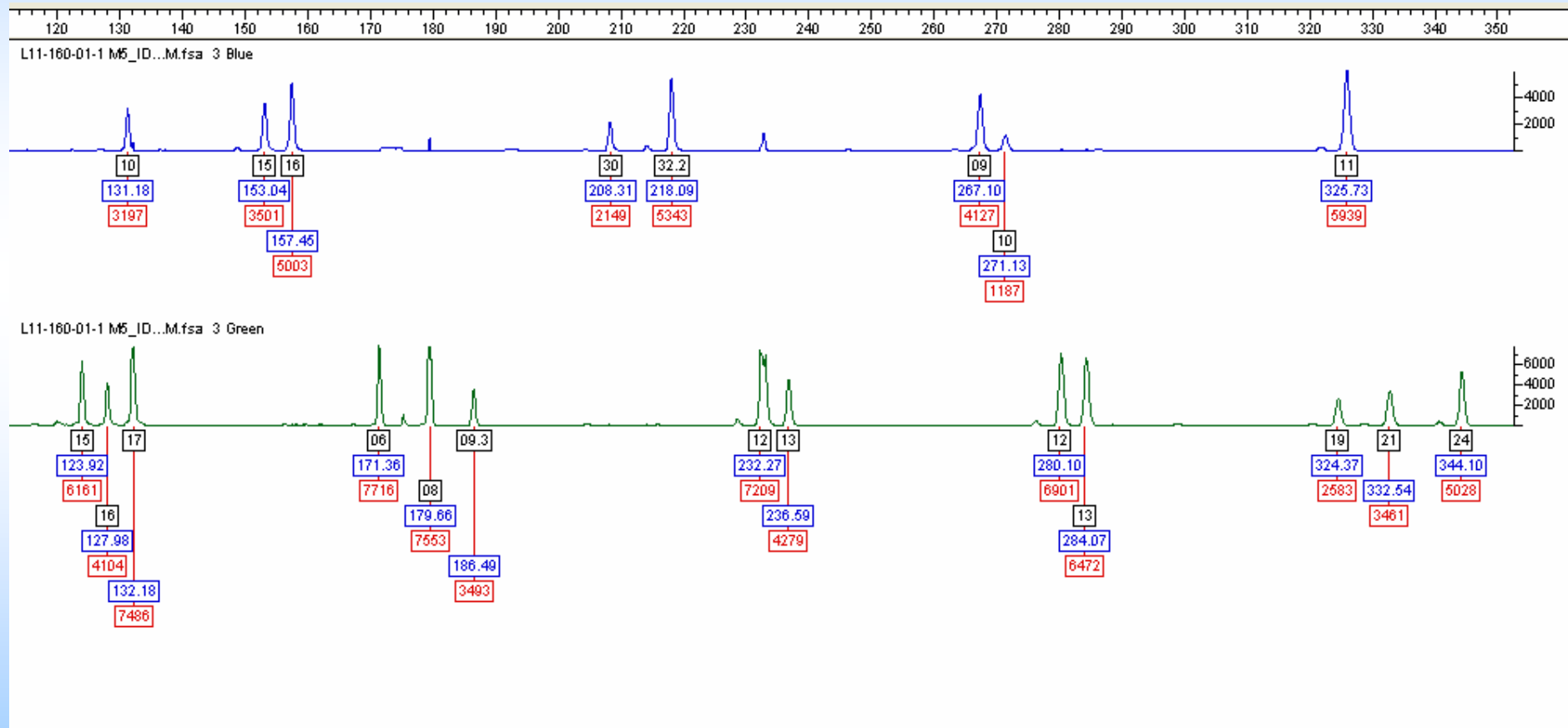
- Laboratorios con discordancias: **18 / 126 (14,88 %)**

Por determinaciones:

- Total determinaciones : **11618**
- Total errores: **58** es decir **0,50 %**
- Un **25,86 %** de los errores son de transcripción
- Más del 50 % de los errores se concentra en 4 laboratorios
- Un único laboratorio acumula **10 discordancias**

Muestra M5 : mezcla

M5 Sangre D1 ♀ + Sangre D3 ♂



Errores en Nivel Básico - Forense M5

Por laboratorio:

- Laboratorios con discordancias: **7 / 73 (9,59 %)**

Por determinaciones:

- Total determinaciones : **1434**
- Total errores: **25** es decir **1,75 %**
- Mayoría de las discordancias: pull-ups , stutters , transcripción

Lab 23276

Muestra M5

		Consenso
D8S1179	10/14/15/16	10/15/16
D21S11	29/30/31.2/32.2	30/32.2
D7S820	8/9/10	9/10
CSF1PO	10/11	11
D3S1358	14/15/16/17	15/16/17
D13S317	11/12/13	12/13
D16S539	11/12/13	12/13
D2S1338	19/20/21/23/24	19/21/24
VWA	14/15/16	15/16
TPOX	8/9/11/13/14	8/9/11
D18S51	11/12/15/16/17	12/15/17
D5S818	11/12/13	11/13
FGA	18/19/22.2/23/24	19/22.2/24
Penta_E	9/12/13	9/13
F13B	6/8/9/10	6/9
LPL	11/12/13	11/13

Total de 16 discordancias

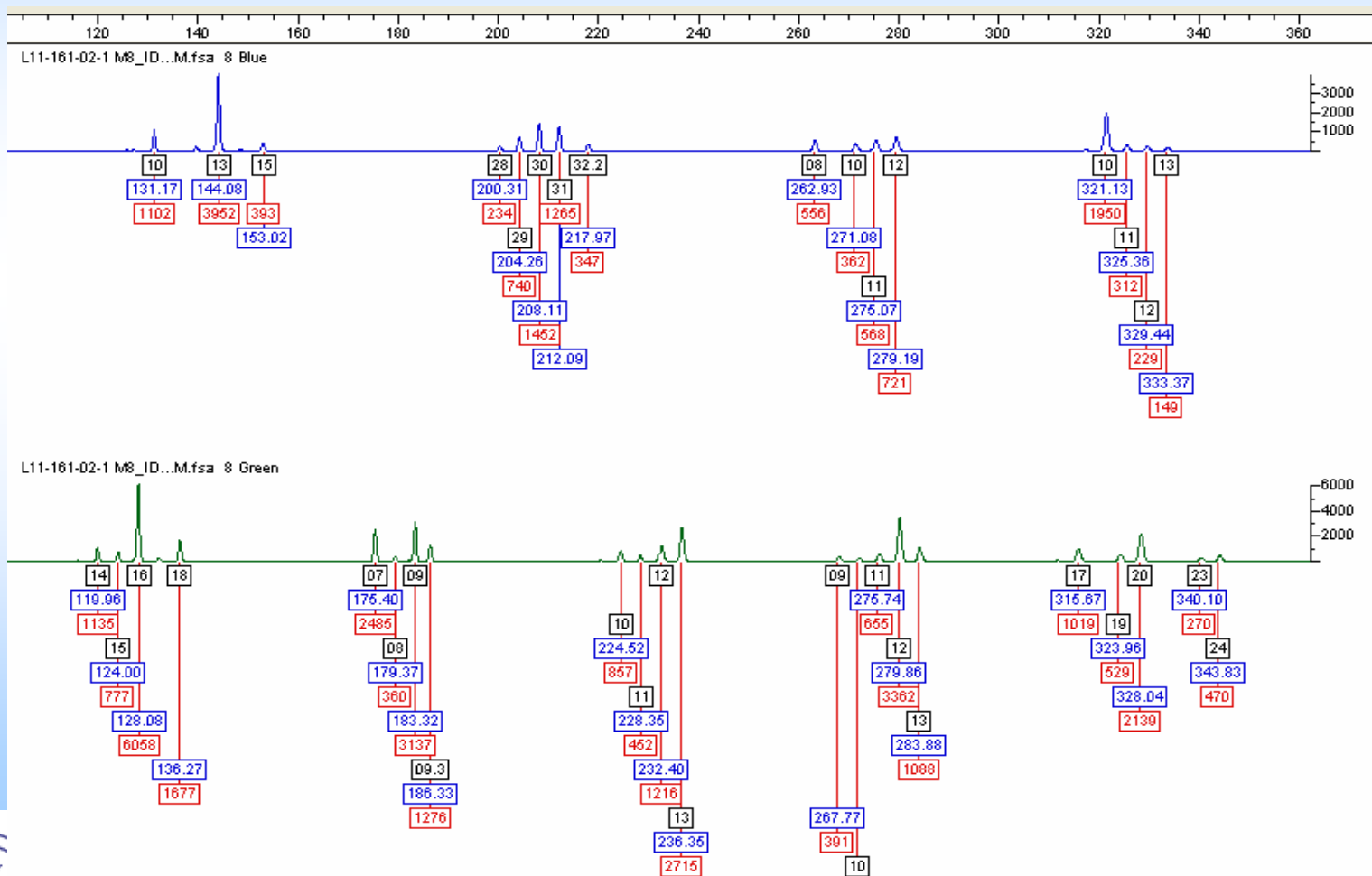
Contaminación ? , mezcla ?



Muestra M8 (Nivel Avanzado)

Sangre D2 + Sangre D4 + Semen D6

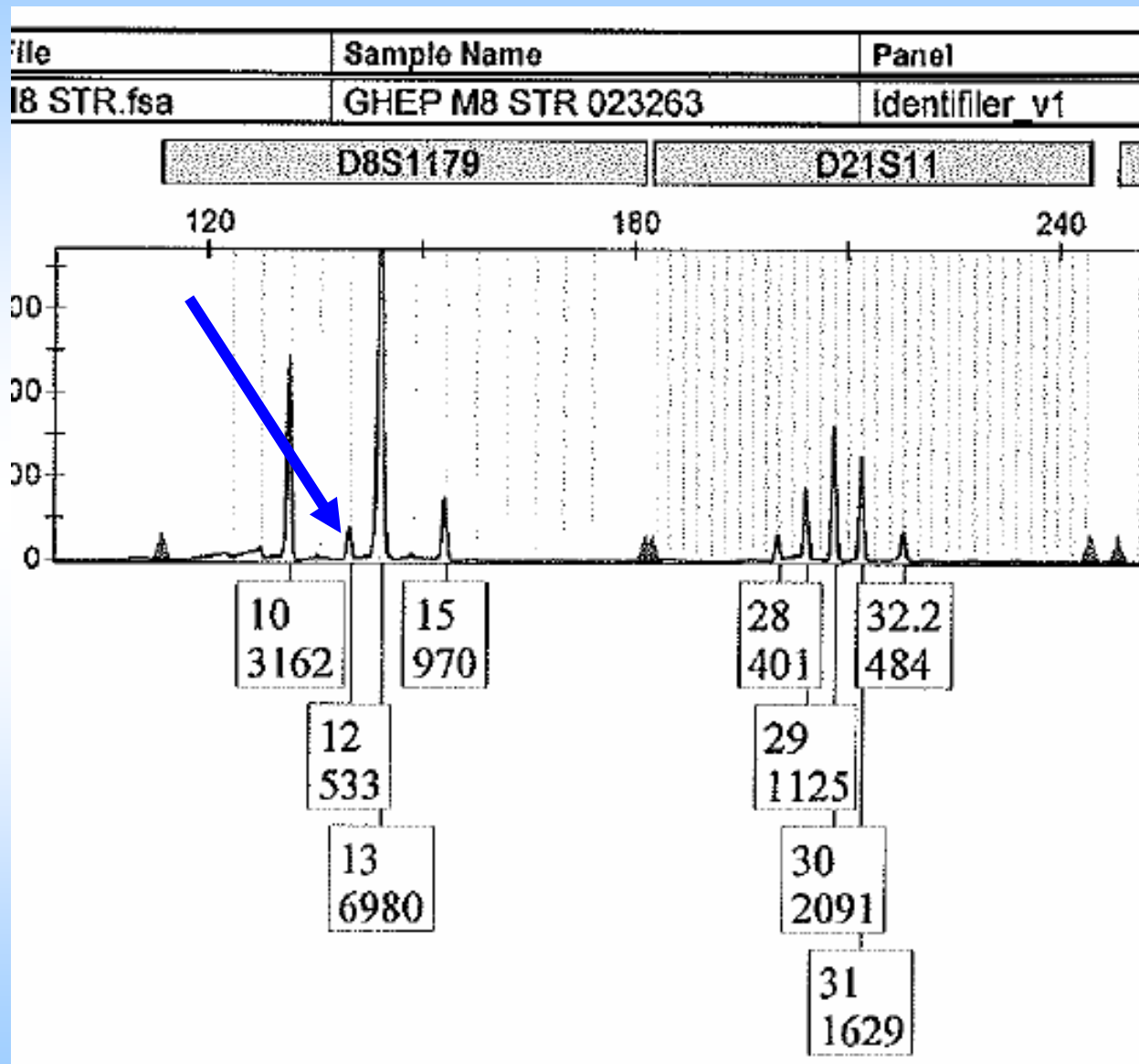
2,5 mL + 1 mL + 4,5 mL dil 1:1



Lab 23263

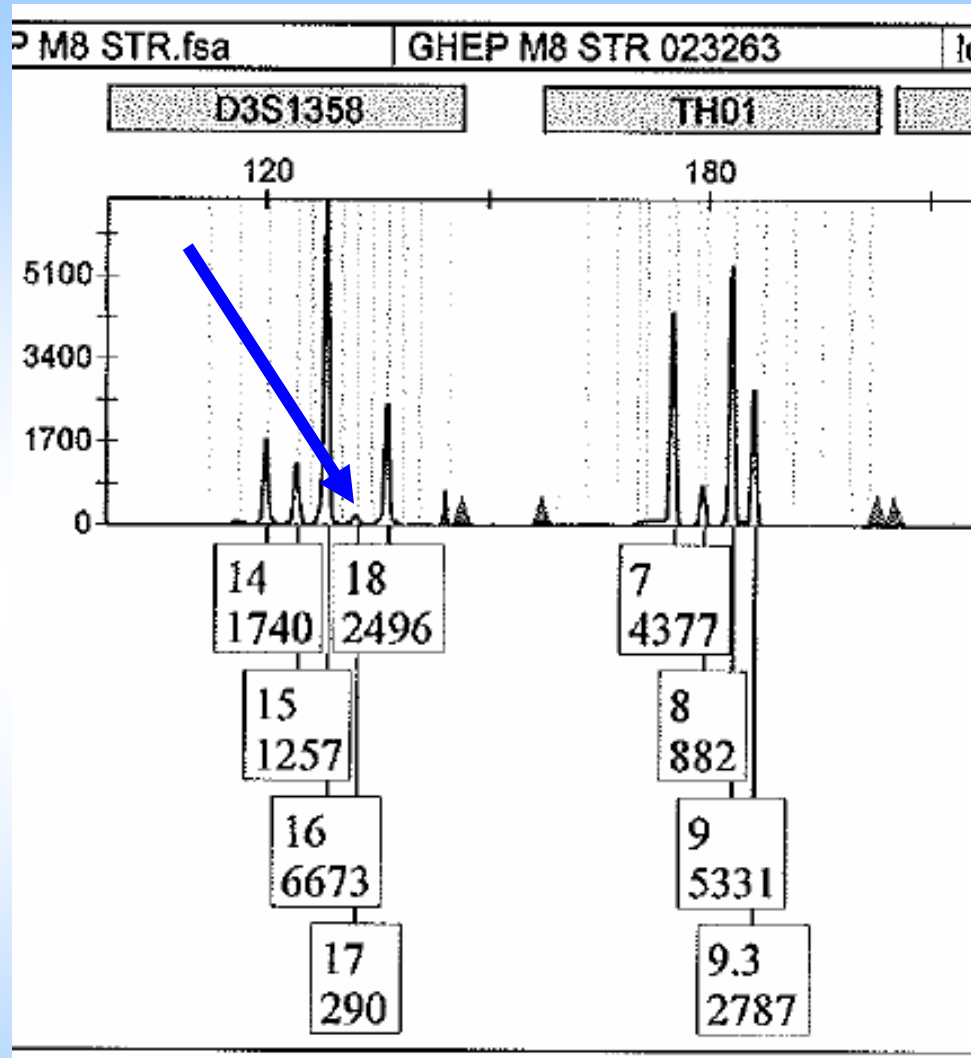
Muestra M8

Stutters



Stutters

M8



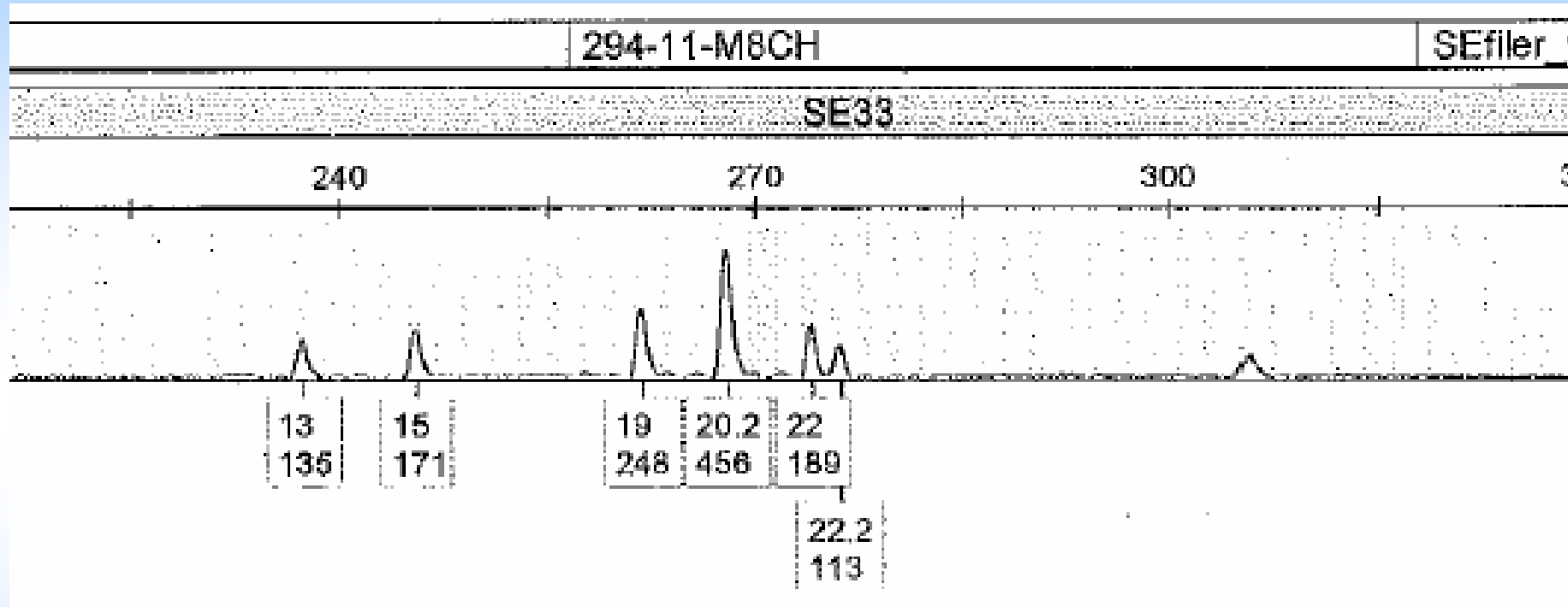
Consenso de 7 laboratorios



¿ Cuántos contribuyentes tiene la
mezcla M8 ?

Marcador	n	M8
AMELOGENINA	46	X/Y
D8S1179	39	10/13/15
D21S11	39	28/29/30/31/32.2
D7S820	39	8/10/11/12
CSF1PO	37	10/11/12/13
D3S1358	32	14/15/16/18
TH01	38	7/8/9/9.3
D13S317	40	10/11/12/13
D16S539	39	9/10/11/12/13
D2S1338	36	17/19/20/23/24
D19S433	41	12/13/14/15.2
vWA	43	14/15/16/17
TPOX	33	8/10/11
D18S51	35	11/12/14/15/16
D5S818	38	10/11/12/13
FGA	37	19/19.2/20/22.2/23/24
Penta_D	21	9/11/12/13/14
Penta_E	23	7/10/11/12/13
D10S1248	23	12/14/15/16
D22S1045	18	11/14/15/16/17
D2S441	19	10/11/11.3/14
D1S1656	18	11/12/13/16/17
D12S391	18	16/17.3/18/18.3/19.3/20
SE33_ACTBP2	9	13/15/19/20.2/22/22.2/29.2

SE33

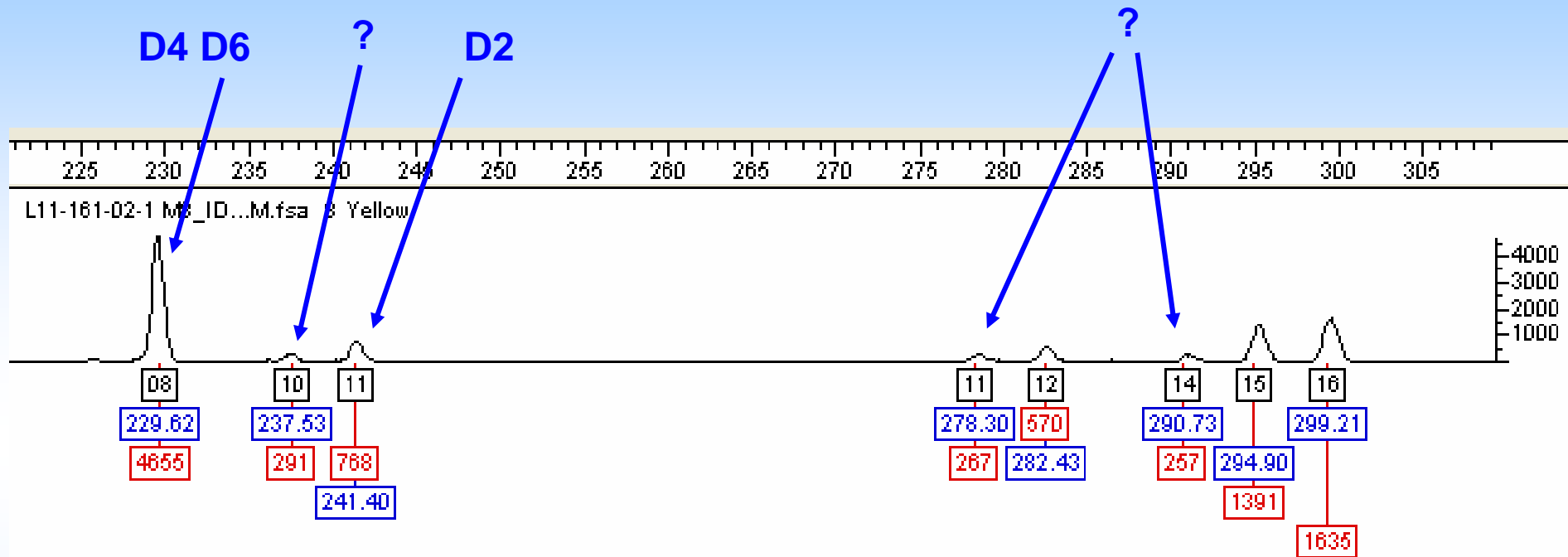


7 alelos

Mínimo 4 contribuyentes

TPOX

D18S51

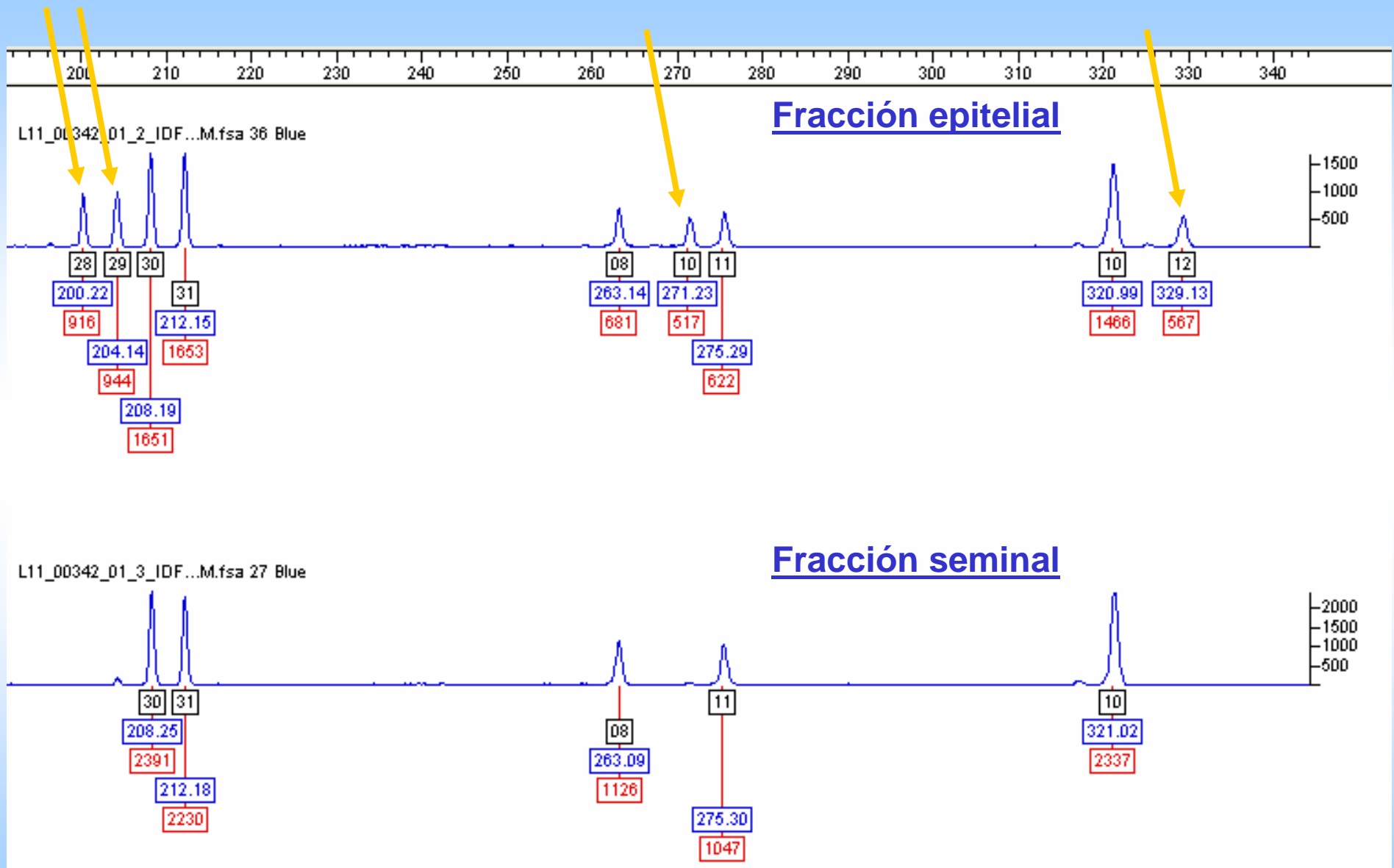


Los organizadores del Ejercicio enviaron a algunos laboratorios una muestra de semen del donante D6

Lisis Diferencial

<u>Marcador</u>	<u>Lisis Directa</u>	<u>Fracción seminal</u>	<u>Fracción Epitelial</u>
AMELOGENINA	XY	XY	XY
D8S1179	13	13	13
D21S11	28/29/30/31	30/31	28/29/30/31
D7S820	8/10/11	8/11	8/10/11
CSF1PO	10/12	10	10/12
D3S1358	15/16	16	15/16
TH01	7/8/9	7/9	7/8/9
D13S317	12/13	13	12/13
D16S539	10/11/12	12	10/11/12
D2S1338	17/20/23	20	17/20/23
D19S433	12/13/15.2	13/15.2	12/13/15.2
vWA	14/16/17	14/16	14/16/17
TPOX	8/10	8	8/10
D18S51	11/14/15/16	15/16	11/14/15/16
D5S818	11/12	11/12	11/12
FGA	19/19.2/23	19/19.2	19/19.2/23

Lab. 23224 Semen D6



4º contribuyente en M8

~~Mala idea de
Josefina para
hacernos sufrir~~

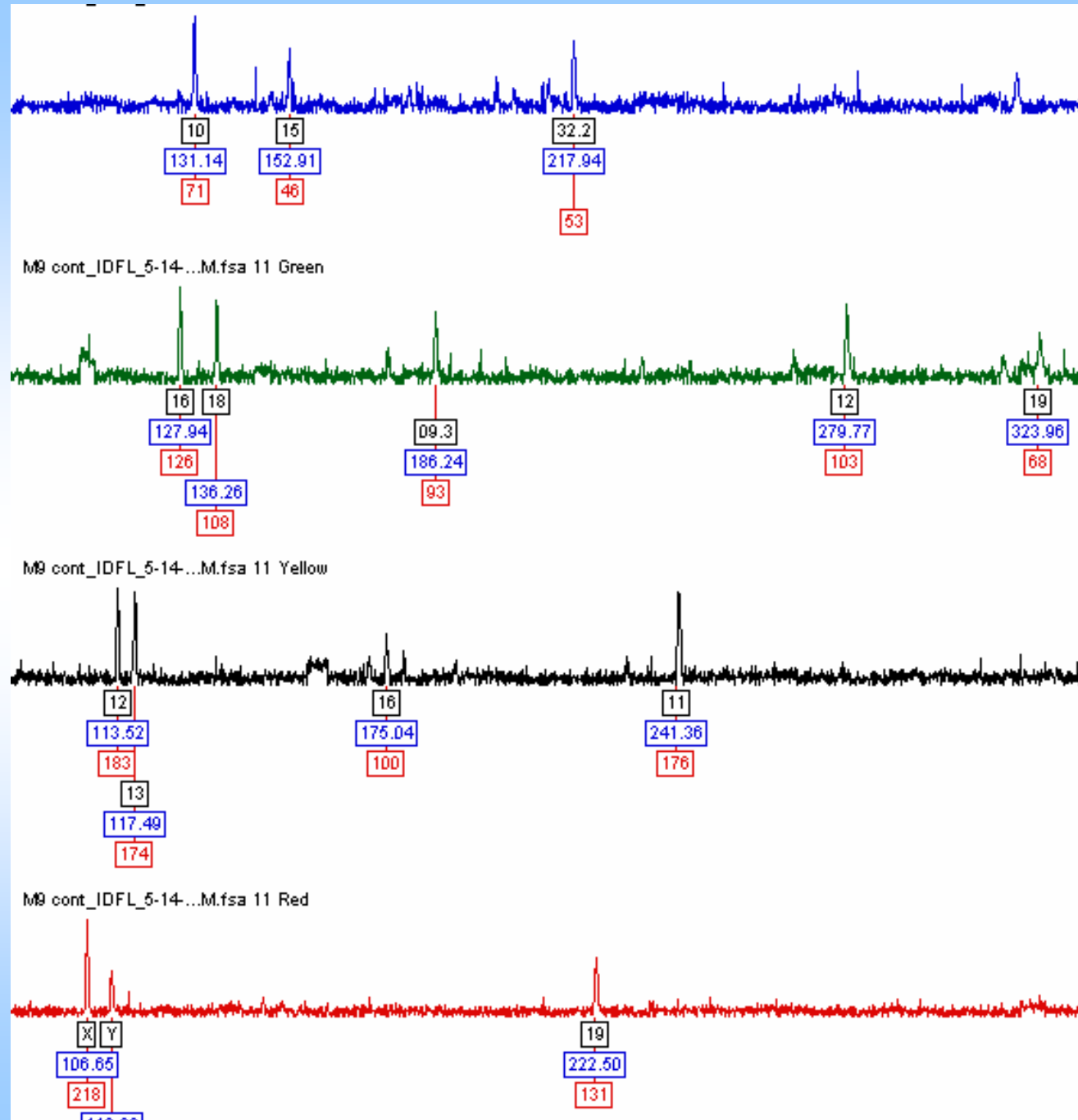
A veces los Ejercicios
producen resultados
inesperados:

Los controles escapan
al control

Muestra M9

Cabello de D3 contaminado superficialmente con saliva de D2

Lab. 23224



Conclusiones y Reflexiones

Análisis de perfiles por duplicado : dos personas independientes.

Correcciones a mano : hacerlas en casos claros de errores de asignación automática.

Muestra de ADN de calidad : sistema de extracción que elimine inhibidores

Método de cuantificación de ADN humano : Standard 9.3 del DNA Advisory Board

Rango de concentración de ADN : que permita una amplificación balanceada desde los marcadores pequeños hasta los grandes

Prevenir / rastrear las contaminaciones

Conclusiones y Reflexiones

Uso de equipos de electroforesis capilar : ir eliminando del lab. los geles de plata.

Problemas de pull-up : verificar la calibración espectral.

Problemas de asignación alélica : en ocasiones resuelve una doble carrera, una doble carga o una doble amplificación, especialmente en las mezclas.

En los sistemas multicapilar : recomendable un ladder para cada capilar.

Reducir al mínimo los errores de transcripción : transferencia automatizada de datos.

Gracias a:

Josefina Gómez

y al resto del equipo del

Servicio de Garantía de Calidad

INTCF - Dpto. de Madrid

