

VIII Jornadas de Genética Forense

Oporto, 4-6 de Junio de 2003

Organizado por:



Instituto de Patologia e Imunologia Molecular
da Universidade do Porto

Boletín informativo nº 7

GEP-ISFG

Diciembre 2003

INDICE

- 1. Resumen del Ejercicio de Polimorfismos de ADN del año 2003**
Josefina Gómez – Unidad Garantía Calidad, Instituto de Toxicología, Madrid

- 2. Resultados muestra forense**
Elena Rivas – Laboratorio Biología – ADN Comisaría General de Policía Científica, Madrid

- 3. Resultados paternidad práctica**
Antonio Amorim – IPATIMUP, Oporto

- 4. Resultados Cromosoma Y**
Leonor Gusmão y Antonio Amorim – IPATIMUP, Oporto

- 5. Resultados STRs autosómicos**
María Victoria Prieto – Sección de Biología, Instituto de Toxicología, Sevilla

- 6. Resultados paternidad teórica**
Manuel López y Pilar Sanz – Sección Biología, Instituto Toxicología, Sevilla

- 7. Resultados ADN mitocondrial**
Antonio Salas – Instituto de Medicina Legal, Santiago de Compostela

- 8. Grupos de Trabajo del GEP-ISFG**
Antonio Alonso – Vice-Presidente y Coordinador de los Grupos de Trabajo del GEP-ISFG

- 9. Informe de Tesorería**
Cristina Albarrán – Tesorera del GEP-ISFG

- 10. Acta de la Asamblea General**
Ion Uriarte – Secretario del GEP-ISFG

**EJERCICIO DE COLABORACIÓN PARA LA COMPARACIÓN DE RESULTADOS
DE ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE ADN EN MANCHAS DE SANGRE Y
OTROS INDICIOS BIOLÓGICOS**

Josefina Gómez

Coordinadora del Control de Calidad de Polimorfismos ADN del GEP-ISFG

Unidad de Garantía de Calidad

Instituto de Toxicología

Madrid

España

RESUMEN DEL EJERCICIO CORRESPONDIENTE AL AÑO 2003

Introducción

El Grupo Español y Portugués de la Sociedad de Genética Forense (GEP-ISFG), viene organizando desde 1992 un Ejercicio de Colaboración para análisis de polimorfismos de ADN en manchas de sangre y otras muestras biológicas. Se cumplen, por lo tanto, con el Ejercicio de este año (2003), diez años de esfuerzo por parte de todos, organizadores y laboratorios participantes.

El ejercicio, que en su inicio se planteó para laboratorios forenses, en el transcurso de los años ha tenido una afluencia prácticamente mayoritaria de laboratorios que realizan fundamentalmente la investigación biológica de la paternidad. Aunque este ha sido el esquema que se ha planteado en todos los ejercicios que se han llevado a cabo, no podíamos olvidar la demanda realizada por todos los laboratorios forenses de incluir muestras semejantes a las que se analizan rutinariamente en este tipo de laboratorios, complicando las determinaciones a realizar, tanto en las posibles mezclas o muestras biológicas en sí mismas como en el empleo de diferentes matrices.

Por ello este año se ha dividido el ejercicio en dos partes la Prueba de Paternidad que ha incluido un estudio práctico de paternidad y un cálculo estadístico sobre una

paternidad teórica, y una Prueba Forense, cuyas muestras se han remitido exclusivamente a aquellos laboratorios que trabajan en este campo.

Muestras remitidas

2003/Ejercicio de Paternidad

M-1: sangre de madre

M-2: sangre de padre

M-3: sangre de presunto hijo

M-4: sangre de presunto hijo

2003/ Ejercicio forense

M-5: muestra de sangre

M-6: 2 cabellos (sólo para mtDNA)

Planteamiento

2003/Paternidad

1. En un accidente de circulación con varias víctimas, se necesita identificar si entre los ocupantes se encontraba el hijo de M-1 y M-2. Descartados todos los demás ocupantes, se solicita investigar si los individuos de las muestras M-3 o M-4 pueden ser los hijos biológicos de M-1 y M-2
2. Ejercicio de paternidad teórica:

Caso propuesto

- Se trata de calcular una paternidad en el que el padre esta ausente
- Contamos con muestras de la madre biológica y de los presuntos abuelos paternos
- La base de datos a utilizar es la del IT de Madrid

| | Hijo | Madre | Presunto abuelo paterno | Presunta abuela paterna |
|------------------|-------|-------|-------------------------|-------------------------|
| HUMTH01 | 6/9 | 6/9.3 | 7/8 | 7/9 |
| HUMTPOX | 8/8 | 8/8 | 8/11 | 6/12 |
| HUMCSF1PO | 10/12 | 10/12 | 11/11 | 12/12 |
| D3S1358 | 15/18 | 17/18 | 15/16 | 17/18 |
| HUMVWA | 16/16 | 16/18 | 16/16 | 16/17 |
| HUMFGA | 21/24 | 24/24 | 20/21 | 21/24 |
| D5S818 | 11/14 | 11/11 | 11/11 | 12/14 |

| | | | | |
|----------------|-------|-------|-------|------|
| D13S317 | 8/11 | 8/12 | 8/8 | 8/11 |
| D7S820 | 11/13 | 12/13 | 10/11 | 8/8 |

2003/Forense

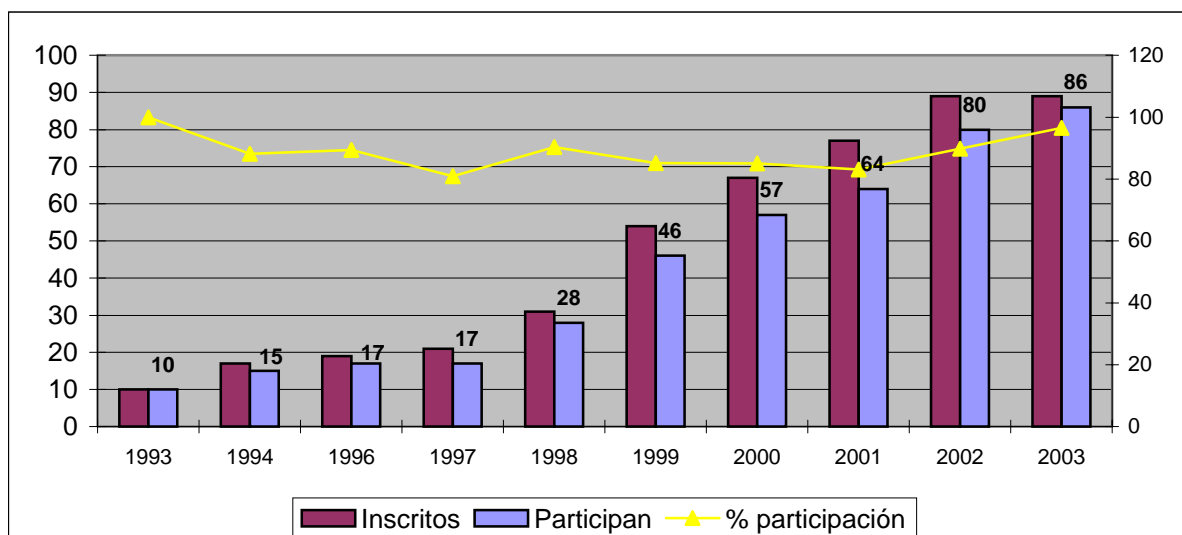
1. ¿Puede la mancha de sangre identificada como M-5 pertenecer a alguno de los restantes donantes (M-1 a M-4)?
2. ¿Pueden los cabellos remitidos pertenecer a alguno de los donantes de M-1 a M-4?

Antecedentes:

- El individuo de la muestra M-4 es un varón, hijo de los donantes de las muestras M-1 (madre) y M-2 (padre)
- El individuo donante de la muestra M-3 es un varón, nieto de los donantes M-2 y M-1 y sobrino por vía materna del donante de la muestra M-4
- La muestra M-5 es una mezcla 1:2 de muestra M-4 y de una mujer no relacionada genéticamente con ninguno de los anteriores donantes
- Los cabellos remitidos pertenecen al individuo donante de la muestra M-4

A todos los laboratorios participantes se les envía las muestras para el estudio de paternidad y tan solo a los que lo solicitaron previamente (53) se envían las muestras Forenses.

Participación

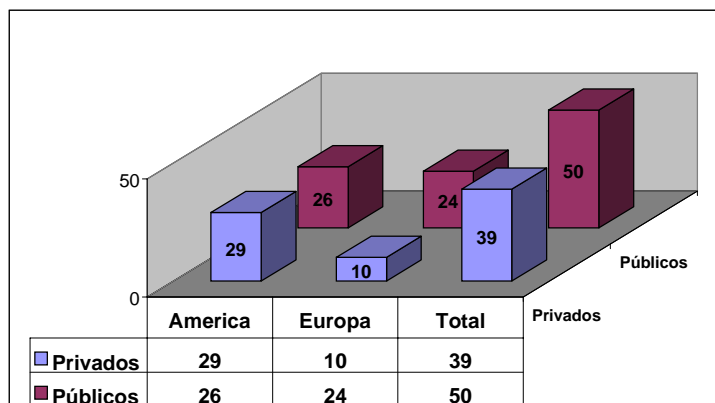


El ejercicio lleva ya 10 años, en los que se ha ido observando un crecimiento constante en la participación, desde los 10 laboratorios que enviaron resultados en el primer año hasta los 86 que lo han hecho el año 2003.

En los primeros años hubo un incremento de laboratorios fundamentalmente españoles y portugueses, mientras que en los últimos años ha sido mayor la aportación de países latino-americanos. En la actualidad hay inscritos 89 laboratorios: 34 europeos (26 España, 7 Portugal, 1 Francia) y 55 americanos (16 Colombia, 15 Argentina, 12 Brasil, 4 Venezuela, 2 Costa Rica y Uruguay, 1 Cuba, Ecuador, El Salvador y Perú).

39 laboratorios son privados mientras que 50 son públicos, laboratorios pertenecientes a Ministerios de Justicia o Interior, a Cuerpos de Seguridad del Estado y Universidades.

| | |
|----------------|-----------|
| EUROPA | 34 |
| España | 26 |
| Portugal | 7 |
| Francia | 1 |
| AMERICA | 55 |
| Colombia | 16 |
| Argentina | 15 |
| Brasil | 12 |
| Venezuela | 4 |
| Uruguay | 2 |
| Costa Rica | 2 |
| Cuba | 1 |
| Ecuador | 1 |
| El Salvador | 1 |
| Perú | 1 |
| TOTAL | 89 |



De los 86 laboratorios que este año han enviado resultados, 48 de ellos hacen estudios de paternidad y forenses, 36 hacen estudios sólo de paternidad, uno sólo de forense y un laboratorio no hace ninguno de estos dos tipos de estudios, teniendo una actividad dentro de la genética poblacional.

Estos datos han sido obtenidos a través de los datos facilitados por los propios laboratorios, reflejados en el formulario/encuesta realizada para la inscripción en el Ejercicio de este año (al que contestan 75 laboratorios). Respecto al número de estudios de paternidad realizadas al año hay 6 laboratorios que hacen más de 1000 estudios de paternidad (con un máximo de 4000), todos ellos de Latinoamérica.

La pregunta y la contestación acerca de definir el número de estudios de paternidad realizados es relativamente sencilla, sin embargo es mucho más difícil contestar al número de casos forenses que realiza un laboratorio. A dicha pregunta, contestan 40 laboratorios y 3 de ellos dicen estudiar más de 1000 casos/año. El 72 % de los laboratorios tienen entre 10 y 500 casos/año. Hay laboratorios con muy poca casuística. No obstante creemos que esta es una encuesta que se debe hacer más detalladamente en el seno del GEP-ISFG para tener datos actualizados de la actividad de los laboratorios. Para ello se necesitaría definir mas detalladamente el concepto de casos/año, especialmente en el campo forense, ya que en algunas respuestas se indican el número de muestras analizadas al año, mientras que en otras respuestas, se indican el número de casos, por lo que el resultado no es muy significativo.

De los 86 laboratorios, todos ellos participan con diferentes STRs, con un total de 113 sistemas. Tan sólo un laboratorio envía resultados para VNTRs. Polymarker y DQA1, sistemas que fueron ampliamente utilizados en los primeros años han ido paulatinamente dejando de usarse. 27 laboratorios participan en ADN Mitocondrial y 19 de ellos envían resultados para pelos.

50 laboratorios solicitan participar en la prueba forense y envían resultados.

Valores consensuados y resultados discrepantes

De los 113 sistemas, se obtiene consenso en 48 sistemas (42%), el resto son generalmente sistemas analizados por uno o dos laboratorios (65 sistemas). Los sistemas mas utilizados son los comprendidos en CODIS y ENFSI (incluidos en SGM Plus).

La media del número de sistemas utilizados por laboratorio es de 21 ± 8 , con un máximo de 45 sistemas y un mínimo de 7 sistemas usados.

Se ha obtenido consenso en los siguientes sistemas:

HUMCSF1PO, HUMF13A01, HUMF13B, HUMFES/FPS,. HUMFIBRA/FGA, HUMLPL, HUMTH01, HUMTPOX, HUMVWA, D12S1090, D12S391, D13S317, D16S539, D18S51, D18S535, D19S253, D19S433, D1S1656, D21S11, D2S1338, D3S1358, D3S1744, D5S818, D7S820, D8S1179, ACTBP2(SE33), Amelogenina, Penta D, Penta E, HUMPRTB y dentro de los STRs del cromosoma Y: DYS19, DYS385, DYS388, DYS389 I, DYS389 II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438, DYS439, GATA A10, GATA A7.1, GATA A7.2, GATA C4 y GATA H4.

No se ha obtenido consenso, a pesar de haber remitido resultados mas de tres laboratorios para D1S80, D18S849 y DYS434.

Se detectan en total 189 discrepancias, lo que supone un 2,5% de discrepancias (2,08% si no contamos la Muestra M-5). Las discrepancias para el cromosoma Y son un 2,9% (3% si no contamos la muestra M5), mientras que las discrepancias para STRs autosómicos son de un 2,3% (1,9% si no contamos la muestra M-5).

El número de laboratorios con discrepancias frente al valor consensuado en algún sistema es de 44 (49%), (12 en Cromosoma Y y 35 en el resto de sistemas). 28 laboratorios presentan valores discordantes en 1 solo sistema, mientras que 1 laboratorio presenta discordancias en 14 sistemas. Así el 11% de los laboratorios (5) tienen el 50% de las discordancias (93).

El 27% de las discrepancias son aleatorias, dando resultados erróneos para una sola muestra, mientras que el 47% de las mismas se da en 4 ó más muestras. Hay 14 laboratorios que sólo presentan una discrepancia mientras que 1 laboratorio tiene 21.

Aunque con menor número de sistemas las discrepancias reflejadas para STR-Y son muchas, dado que normalmente el error está en todas las muestras.

Todo esto nos lleva a deducir que la mayor parte de los errores se concentran en unos pocos laboratorios mientras que el resto son errores aleatorios que se presentan en un sistema y en una muestra.

Resultados ADN Mitocondrial

Participan 27 laboratorios; 19 de ellos, en pelos.

Nº de laboratorios con resultados iguales a los consensuados

M1: 25 (de 27, 93%)

M2: 20 (de 24, 83%)

M3: 24 (de 27, 89%)

M4: 25 (de 27, 93%)

M5: 11 (de 18, 41%)

M6: 14 (de 19, 74%)

En total hay 6 laboratorios que tienen resultados correctos en las 6 muestras. 21 laboratorios con resultados correctos en las 4 muestras de sangre y 14 laboratorios con resultados correctos en las 4 muestras de sangre y pelos.

Muestra Forense: Mezcla (M-5)

Realizan el análisis 50 laboratorios. De ellos 43 llegan a un resultado correcto

La muestra M-5 es una mezcla con contribución del donante de la muestra M-4 y de una mujer no relacionada genéticamente con ninguno de los anteriores donantes.

| n | M1 | M2 | M3 | M4 |
|----|--------|----|----|----|
| 43 | NO | NO | NO | SI |
| 5 | NO | NO | NO | NO |
| 1 | Dudoso | NO | NO | SI |
| 1 | SI | NO | SI | SI |

5 laboratorios informan que no puede pertenecer a ninguna de las muestras. 1 laboratorio excluye a todas las muestras excepto a M-2 y otro laboratorio tiene dudas en la exclusión de la muestra M-1.

3 de ellos no estudian Amelogenina ni STRs de cromosoma Y, presentando numerosos errores en la muestra 5, por lo que llegan a un resultado erróneo. Un laboratorio analiza Amelogenina, pero tiene un error y sólo ve contribución femenina. No analiza STRs y llega a conclusión errónea. Por último hay un laboratorio que no sospecha, o al menos no indica la presencia de mezcla a pesar de que no presenta errores en M-5. Analiza Amelogenina y STRs de cromosoma Y. Sospecha contaminación, dice que no procede de ninguno en forma aislada. Ninguno de ellos estudia ADN-Mitocondrial.

De los 50 laboratorios 43 indican la presencia de una mezcla, 2 contaminación. 22 indican contribución masculina y femenina

6 laboratorios indican más o menos claramente la proporción de la mezcla: 35 y 40% de M-4, 60 % de Mujer.

18 laboratorios realizan cálculos estadísticos.

Conclusiones paternidad práctica

La mayor parte de los laboratorios llegan a la conclusión correcta, es decir:

El padre donante de muestra 3 queda excluido. No se puede excluir al donante de la muestra 4.

El donante de M-3 se excluye por diversos sistemas. De 85 laboratorios que han contestado a la pregunta realizada sobre si los individuos de M-3 o M-4 pueden ser hijos biológicos de la pareja formada por M-1 y M-2, dan la contestación correcta 81 laboratorios (95%).

Hay sin embargo 4 laboratorios (5%) que llegan a conclusión errónea. Uno de ellos no excluye a la madre y sí al padre. Las dos incompatibilidades detectadas las interpreta como posibles mutaciones.

2 laboratorios excluyen a ambos donantes, indicando que hay algunas incompatibilidades, entre ellas por HUMPRTB. Por último, un laboratorio no excluye a ninguno de los dos, debido posiblemente a una equivocación de muestra, en el análisis o la transcripción, pues refleja iguales resultados para los dos presuntos hijos.

Varios laboratorios indican la relación por vía materna entre ambos presuntos hijos, atreviéndose a dar diferentes hipótesis, como que son hermanos, medio hermanos, tío/sobrino, etc, y uno de ellos dice que son gemelos.

Conclusión muestra forense: mezcla

La mayor parte de los laboratorios detectan la presencia de la mezcla, avalados por los resultados obtenidos con los diferentes sistemas estudiados, especialmente amelogenina.

El porcentaje de discrepancias en la mezcla llega hasta un 5%, mas del doble del número obtenido para las restantes muestras de sangre.

Esto refleja que los laboratorios, aun siendo laboratorios forenses, tienen problemas a la hora de solucionar este tipo de muestras, a pesar de que esta era una muestra relativamente fácil.

De los 53 laboratorios que solicitan participar en el ejercicio forense, contestan 50 laboratorios, que concluyen sobre el origen de la muestra M5. 43 Laboratorios llegan a la conclusión correcta, es decir la muestra M-5 es una mezcla de una mujer con el donante de la muestra M-4.

Tienen dificultades en el diagnóstico 7 laboratorios (14%). 5 de ellos excluyen a los cuatro donantes. Uno de ellos interpreta que es posible que sea la muestra M-4 la que contribuye a la mezcla, pero también puede serlo la M-1 (Madre).

Un laboratorio dice que puede ser cualquiera de los donantes de M-1, M-3 o M-4.

Estas conclusiones erróneas se producen por errores en diferentes sistemas, generalmente en M-5 (pérdidas de alelos, detección únicamente del perfil mayoritario, etc.), aplicación de un bajo número de sistemas o utilización de análisis no adecuados (uso de ADN-Mitocondrial y STRs de cromosoma Y únicamente) y a veces los errores se producen simplemente por fallo en la interpretación de los resultados.

43 laboratorios indican la presencia de mezcla y 6 de ellos se atreven a aventurar la hipótesis sobre la proporción de la mezcla: 35, 40% de M-4; 60% de mujer y 3 veces mas de X que de Y son las opiniones, basadas en el la contribución para X e Y en Amelogenina.

Uno de los puntos que creemos que sería interesante discutir a la hora de analizar una mezcla es tener claro el criterio de análisis. Es decir, conocer la importancia que puede tener la cuantificación, saber qué sistemas se han de aplicar para obtener la mayor información posible, y desde luego, tener pericia en la interpretación de los resultados obtenidos.

Conclusión pelos

A la pregunta de si los pelos pueden pertenecer a alguno de los donantes de las anteriores muestras, contestan 19 laboratorios. 16 de ellos concluyen de forma correcta que no se puede excluir que pertenezcan a los donantes de M-1, M-3 y M-4. 3 laboratorios (16%) llegan a una conclusión errónea debido a errores en la secuencia obtenida.

Un laboratorio con diversas discrepancias en ADN-mitocondrial, tanto en sangre, como en la mezcla y pelos, sin embargo llega a una conclusión correcta, que sin embargo esta basada en resultados discrepantes.

Paternidad teórica

Se trataba de calcular una paternidad en el que el padre estaba ausente, contando con la madre biológica y de los presuntos abuelos paternos. Se daba como base de datos de referencia la del INT de Madrid, con el fin de unificar los resultados.

Se obtiene un resultado consenso entre el 84,5 para HUMCSF1PO y el 96,4 para D3S1358.

Hay 25 laboratorios con al menos 1 valor discrepante en alguno de los sistemas y 50 valores discrepantes en total. 17 laboratorios tienen una sola discrepancia, pero hay dos laboratorios con 9, 1 con 4 y 1 con 3 discrepancias. Esto significa que de nuevo unos pocos laboratorios concentran el mayor número de errores. El IP global consensuado lo dan 59 laboratorios (72%) Todos ellos dan una paternidad altamente probable, aunque consideran necesario la realización de más marcadores.

Los resultados, aunque siguen mejorando aún presentan gran número de errores. Hay que tener en cuenta que el valor obtenido debería ser igual para todos los laboratorios, dado que se da la base de datos y se dice el número de decimales a utilizar, por lo que no deberían producirse errores de redondeo, que se siguen presentando y que este año no se han tenido en cuenta a la hora de emitir el certificado.

Agradecimientos

A los ponentes de este año, que han ayudado a analizar los datos recibidos:

- Antonio Amorim, por el estudio de la paternidad práctica
- Antonio Salas, por el análisis de ADN Mitocondrial
- Elena Rivas, por el estudio de la mezcla

- Leonor Gusmao, por la presentación de resultados de STRs del cromosoma Y
- Pilar Sanz y Manuel López, por su contribución al planteamiento y estudio de la paternidad teórica
- Victoria Prieto, por el estudio de las discrepancias en sistemas autosómicos

RESULTADOS CONSENSUADOS

| Marcador | n | M-1 | M-2 | M-3 | M-4 | M-5 |
|-----------------|----------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| HUMFES/FPS | 16 | 11/11 | 10/11 | 11/11 | 10/11 | 10/11 |
| HUMFES/FPS | 13 | 11/11 | 10/11 | 11/11 | 10/11 | |
| HUMTH01 | 45 | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | 6/7/9.3 |
| HUMTH01 | 29 | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | |
| HUMF13A01 | 13 | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| HUMF13A01 | 11 | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| HUMVWA | 43 | 18/19 | 17/20 | 16/20 | 18/20 | 16/18/19/20 |
| HUMVWA | 33 | 18/19 | 17/20 | 16/20 | 18/20 | |
| HUMTPOX | 45 | 8/11 | 8/11 | 10/11 | 8/11 | 8/11 |
| HUMTPOX | 30 | 8/11 | 8/11 | 10/11 | 8/11 | |
| HUMCSF1PO | 44 | 12/12 | 11/12 | 10/12 | 11/12 | 11/12 |
| HUMCSF1PO | 28 | 12/12 | 11/12 | 10/12 | 11/12 | |
| HUMFIBRA/FGA | 40 | 21/22 | 21/21 | 21/24 | 21/22 | 21/22/24 |
| HUMFIBRA/FGA | 24 | 21/22 | 21/21 | 21/24 | 21/22 | |
| HUMF13B | 12 | 10/10 | 9/10 | 8/10 | 10/10 | 9/10 |
| HUMF13B | 11 | 10/10 | 9/10 | 8/10 | 10/10 | |
| HUMLPL | 12 | 11/11 | 10/11 | 10/11 | 11/11 | |
| HUMLPL | 11 | 11/11 | 10/11 | 10/11 | 11/11 | 11/11 |
| HUMPRTB | 6 | 12/13 | 12/12 | 13/13 | 13/13 | |
| HUMPRTB | 4 | 12/13 | 12/12 | 13/13 | 13/13 | 12/13 |
| D12S391 | 6 | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | 20/23 |
| D12S391 | 6 | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | |
| D21S11 | 39 | 28/29 | 28/29 | 28/30 | 28/28 | 28/30 |
| D21S11 | 24 | 28/29 | 28/29 | 28/30 | 28/28 | |
| D3S1358 | 38 | 17/17 | 16/18 | 15/17 | 16/17 | 14/16/17 |

| | | | | | | |
|--------------|----|---------|---------|---------|---------|---------------|
| D3S1358 | 23 | 17/17 | 16/18 | 15/17 | 16/17 | |
| D1S1656 | 7 | 13/15.3 | 12/18.3 | 11/13 | 12/15.3 | |
| D5S818 | 40 | 11/12 | 11/11 | 8/12 | 11/12 | 11/12 |
| D5S818 | 25 | 11/12 | 11/11 | 8/12 | 11/12 | |
| D13S317 | 42 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | 9/11/12/13 |
| D13S317 | 32 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | |
| D7S820 | 44 | 8/8 | 10/11 | 7/10 | 8/10 | 8/10/13 |
| D7S820 | 32 | 8/8 | 10/11 | 7/10 | 8/10 | |
| D18S51 | 39 | 12/13 | 13/17 | 13/13 | 13/13 | 12/13 |
| D18S51 | 21 | 12/13 | 13/17 | 13/13 | 13/13 | |
| ACTBP2(SE33) | 3 | 16/29.2 | 15/31.2 | 15/28.2 | 15/29.2 | 15/21/29.2/32 |
| D18S849 | 3 | 14/16 | 14/16 | 14/18 | 14/16 | |
| D19S253 | 3 | 10/14 | 12/14 | 11/12 | 14/14 | 11/12/14 |
| D8S1179 | 36 | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | 12/13/15 |
| D8S1179 | 23 | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | |
| D16S539 | 45 | 11/12 | 11/11 | 12/12 | 11/11 | 11/12 |
| D16S539 | 30 | 11/12 | 11/11 | 12/12 | 11/11 | |
| D18S535 | 3 | 13/14 | 13/13 | 13/13 | 13/13 | |
| DYS19 | 28 | | 14 | 15 | 14 | 14 |
| DYS19 | 10 | | 14 | 15 | 14 | |
| DYS385 | 22 | | 11/14 | 11/15 | 11/14 | 11/14 |
| DYS385 | 5 | | 11/14 | 11/15 | 11/14 | |
| DYS389 I | 20 | | 13 | 13 | 13 | 13 |
| DYS389 I | 7 | | 13 | 13 | 13 | |
| DYS389 II | 25 | | 27 | 29 | 27 | 27 |
| DYS389 II | 5 | | 27 | 29 | 27 | |
| DYS390 | 33 | | 24 | 25 | 24 | 24 |

| | | | | | | |
|-------------|----|-------|-------|-------|-------|---------|
| DYS390 | 10 | | 24 | 25 | 24 | |
| DYS391 | 29 | | 10 | 10 | 10 | 10 |
| DYS391 | 6 | | 10 | 10 | 10 | |
| DYS392 | 23 | | 13 | 13 | 13 | 13 |
| DYS392 | 7 | | 13 | 13 | 13 | |
| DYS393 | 28 | | 14 | 13 | 14 | 14 |
| DYS393 | 8 | | 14 | 13 | 14 | |
| DYS434 | 3 | | 11 | 11 | 11 | |
| AMELOGENINA | 38 | X/X | X/Y | X/Y | X/Y | X/Y |
| AMELOGENINA | 27 | X/X | X/Y | X/Y | X/Y | |
| DYS388 | 3 | | 12 | 12 | 12 | 12 |
| D12S1090 | 3 | 12/26 | 19/23 | 12/19 | 12/23 | |
| D3S1744 | 3 | 15/17 | 17/19 | 17/19 | 15/19 | |
| Penta D | 19 | 9/9 | 12/12 | 9/14 | 9/12 | 9/12/13 |
| Penta D | 7 | 9/9 | 12/12 | 9/14 | 9/12 | |
| Penta E | 21 | 12/14 | 7/17 | 11/12 | 7/14 | 7/12/14 |
| Penta E | 8 | 12/14 | 7/17 | 11/12 | 7/14 | |
| DYS437 | 9 | | 15 | 14 | 15 | 15 |
| DYS437 | 6 | | 15 | 14 | 15 | |
| DYS438 | 17 | | 11 | 12 | 11 | 11 |
| DYS438 | 5 | | 11 | 12 | 11 | |
| DYS439 | 16 | | 12 | 11 | 12 | 12 |
| DYS439 | 6 | | 12 | 11 | 12 | |
| GATA A7.1 | 9 | | 11 | 11 | 11 | 11 |
| GATA A7.1 | 3 | | 11 | 11 | 11 | |
| GATA A7.2 | 9 | | 12 | 12 | 12 | 12 |
| GATA A7.2 | 5 | | 12 | 12 | 12 | |
| GATA A10 | 9 | | 14 | 15 | 14 | 14 |

| | | | | | | |
|----------|----|-------|-------|-------|-------|-------------|
| GATA A10 | 5 | | 14 | 15 | 14 | |
| GATA C4 | 8 | | 23 | 23 | 23 | 23 |
| GATA C4 | 5 | | 23 | 23 | 23 | |
| GATA H4 | 9 | | 28 | 28 | 28 | 28 |
| GATA H4 | 5 | | 28 | 28 | 28 | |
| D19S433 | 22 | 13/14 | 14/14 | 14/14 | 14/14 | 14/15 |
| D19S433 | 9 | 13/14 | 14/14 | 14/14 | 14/14 | |
| D2S1338 | 21 | 21/24 | 17/22 | 17/17 | 22/24 | 17/18/22/24 |
| D2S1338 | 8 | 21/24 | 17/22 | 17/17 | 22/24 | |

ADN Mitocondrial

| | HV I | | HV II | | HV I | | HV II | | |
|------------|-------|---|-------|---|------------|-------|-------|-------|---|
| M-1 | 16189 | C | 73 | G | M-2 | 16189 | C | 152 | C |
| | 16256 | T | 185 | A | | 16265 | C | 263 | G |
| | 16270 | T | 204 | C | | | | 309.1 | C |
| | 16362 | C | 263 | G | | | | 315.1 | C |
| | | | 309.1 | C | | | | | |
| | | | 315.1 | C | | | | | |
| M-3 | 16189 | C | 73 | G | M-4 | 16189 | C | 73 | G |
| | 16256 | T | 185 | A | | 16256 | T | 185 | A |
| | 16270 | T | 204 | C | | 16270 | T | 204 | C |
| | 16362 | C | 263 | G | | 16362 | C | 263 | G |
| | | | 309.1 | C | | | | 309.1 | C |
| | | | 315.1 | C | | | | 315.1 | C |
| M-5 | * | | * | | M-6 | 16189 | C | 73 | G |
| | | | | | | 16256 | T | 185 | A |
| | | | | | | 16270 | T | 204 | C |
| | | | | | | 16362 | C | 263 | G |

* Se discutirá en la sesión de ADN Mitocondrial

309.1 C

315.1 C

Número de determinaciones y discrepancias

| | n | Nº | Nº | % | Lab |
|--------------|-------|------|------|------|-----------|
| | Part. | Det. | Disc | Disc | con disc. |
| HUMF13A01 | 37 | 165 | 35 | 21,2 | 12 |
| HUMTH01 | 81 | 373 | 10 | 2,7 | 7 |
| HUMVWA | 81 | 372 | 6 | 1,6 | 5 |
| HUMCSF1PO | 77 | 353 | 7 | 2,0 | 5 |
| D13S317 | 80 | 367 | 6 | 1,6 | 5 |
| D8S1179 | 64 | 297 | 7 | 2,4 | 5 |
| DYS 389 I | 33 | 124 | 15 | 12,1 | 4 |
| DYS 393 | 39 | 150 | 14 | 9,3 | 4 |
| HUMFES/FPS | 34 | 153 | 4 | 2,6 | 3 |
| HUMF13B | 26 | 120 | 3 | 2,5 | 3 |
| D3S1358 | 64 | 297 | 4 | 1,3 | 3 |
| D5S818 | 69 | 316 | 3 | 0,9 | 3 |
| D7S820 | 79 | 363 | 12 | 3,3 | 3 |
| D16S539 | 77 | 354 | 2 | 0,6 | 3 |
| DYS 19 | 43 | 165 | 6 | 3,6 | 3 |
| HUMFIBRA/FGA | 66 | 305 | 7 | 2,3 | 2 |
| HUMPRTB | 13 | 58 | 7 | 12,1 | 2 |
| D21S11 | 65 | 301 | 2 | 0,7 | 2 |
| DYS 389 II | 38 | 148 | 4 | 2,7 | 2 |
| AMELOGENINA | 71 | 326 | 2 | 0,6 | 2 |
| Penta D | 28 | 134 | 2 | 1,5 | 2 |
| Penta E | 31 | 146 | 3 | 2,1 | 2 |
| D1S1656 | 8 | 32 | 4 | 12,5 | 1 |
| HUMTPOX | 76 | 350 | 1 | 0,3 | 1 |
| HUMLPL | 25 | 111 | 1 | 0,9 | 1 |
| D12S391 | 13 | 59 | 5 | 8,5 | 1 |

| | | | | | |
|--------------|----|-----|---|-----|---|
| D18S51 | 60 | 282 | 1 | 0,4 | 1 |
| ACTBP2(SE33) | 5 | 23 | 2 | 8,7 | 1 |
| DYS 385 | 28 | 111 | 3 | 2,7 | 1 |
| DYS 391 | 36 | 140 | 1 | 0,7 | 1 |
| D12S1090 | 4 | 17 | 1 | 5,9 | 1 |
| GATA A7.1 | 13 | 48 | 3 | 6,3 | 1 |
| D2S1338 | 31 | 145 | 1 | 0,7 | 1 |
| D19S253 | 4 | 19 | 0 | 0,0 | 0 |
| D18S535 | 5 | 22 | 0 | 0,0 | 0 |
| DYS 390 | 44 | 168 | 0 | 0,0 | 0 |
| DYS 392 | 30 | 113 | 0 | 0,0 | 0 |
| DYS 388 | 3 | 12 | 0 | 0,0 | 0 |
| D3S1744 | 4 | 17 | 0 | 0,0 | 0 |
| DYS 437 | 15 | 54 | 0 | 0,0 | 0 |
| DYS 438 | 22 | 83 | 0 | 0,0 | 0 |
| DYS 439 | 22 | 82 | 0 | 0,0 | 0 |
| GATA A7.2 | 14 | 51 | 0 | 0,0 | 0 |
| GATA A10 | 14 | 51 | 0 | 0,0 | 0 |
| GATA C4 | 13 | 47 | 0 | 0,0 | 0 |
| GATA H4 | 14 | 51 | 0 | 0,0 | 0 |
| D19S433 | 31 | 146 | 0 | 0,0 | 0 |
| D18S849 | 3 | 13 | 0 | 0,0 | 0 |

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LA MUESTRA FORENSE M-5 EN EL EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003

Elena Rivas

Comisaría General de Policía Científica

Servicio de Analítica

Madrid

España

Antecedentes

Josefina Gómez nos planteaba este año discutir si una mancha de sangre (M-5) podría pertenecer a alguno de los donantes que formaban parte del apartado de paternidad del ejercicio (M-1, M-2, M-3 o M-4). Dicha mancha se había realizado mezclando sangre del donante M-4 (varón) con sangre de una mujer desconocida en distintas proporciones.

Laboratorios participantes

M-5 fue analizada por 50 laboratorios de los 83 participantes. Cuarenta y nueve de ellos estudiaron STRs autosómicos (más amelogenina), de los cuales 33 analizaron además Y-STRs y 18 ADN mitocondrial. Sólo un laboratorio realizó únicamente análisis de genomas haploides (crY + mtDNA).

Metodología

Extracción de ADN

Los métodos de extracción más utilizados para estudiar esta muestra fueron la digestión proteolítica seguida de F/C/I-Centricon o Microcon (18 labs) y el método FTA (9 labs). Otros métodos utilizados fueron DNAIQ (4 labs), QIAmp (1 lab), Chelex/Microcon (1 lab). Dos laboratorios no especificaron su protocolo de extracción.

Cuantificación

Se han utilizado diversos métodos de cuantificación como Quantiblot, minigel de agarosa, espectrofotometría, fluorimetría, Genequant o Dynaquant; pero lo más relevante de este apartado es que 13 laboratorios no cuantifican el ADN extraído de sus muestras forenses.

Sistemas analizados

Se han utilizado multitud de sistemas autosómicos para el análisis de esta muestra, siendo los más frecuentes los incluidos en el kit Power-Plex 16. Los Y-STRs más usados son los que forman parte del haplotipo mínimo seguido de los GEPY. Finalmente algunos laboratorios también realizaron STRs ligados a cromosoma X y 18 laboratorios realizaron estudios de ADN mitocondrial.

Resultados de la analítica

Haciendo un análisis general, de los 50 laboratorios que analizaron M-5, 47 detectaron que se trataba de una mezcla y 3 no. Expondremos los resultados dividiendo la analítica realizada en dos claros grupos:

1.- STRs (autosómicos + crY + crX)

De los 50 laboratorios participantes 28 dieron resultado consenso y 22 no consenso (ver Fig. 1). Las principales discrepancias pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- a) pérdida del alelo más grande.
- b) desplazamiento de un alelo (un repeat más o uno menos).
- c) Asignación de alelos a picos que posiblemente son "stutters" (ej: D21S11 = 28/29/30 en lugar de 28/30).
- d) utilización de otras nomenclaturas (ej: Kayser et al. en DYS389-I/II).
- e) posibles errores de transcripción (laboratorios que luego concluyen bien).

- f) detección únicamente del perfil mayoritario de la mezcla en algunos sistemas.

2.- ADNmt

De los 18 laboratorios que realizaron el análisis, 8 informaron la secuencia consenso (16051G/A; 16189C; 16256T/C; 16270T; 16362C; 73G; 146T/C; 150T/C; 185G/A; 204T/C; 263G; 309.1C; 315.1C). Los 10 laboratorios restantes informaron secuencias distintas a la consenso, bien por posibles errores de transcripción o de lectura, bien porque no detectaron la mezcla o bien por posibles contaminaciones. El análisis de ADNmt en esta muestra fue amplia y brillantemente discutido por Toño Salas, por lo que remitimos a los lectores al capítulo específico de ADNmt de este ejercicio.

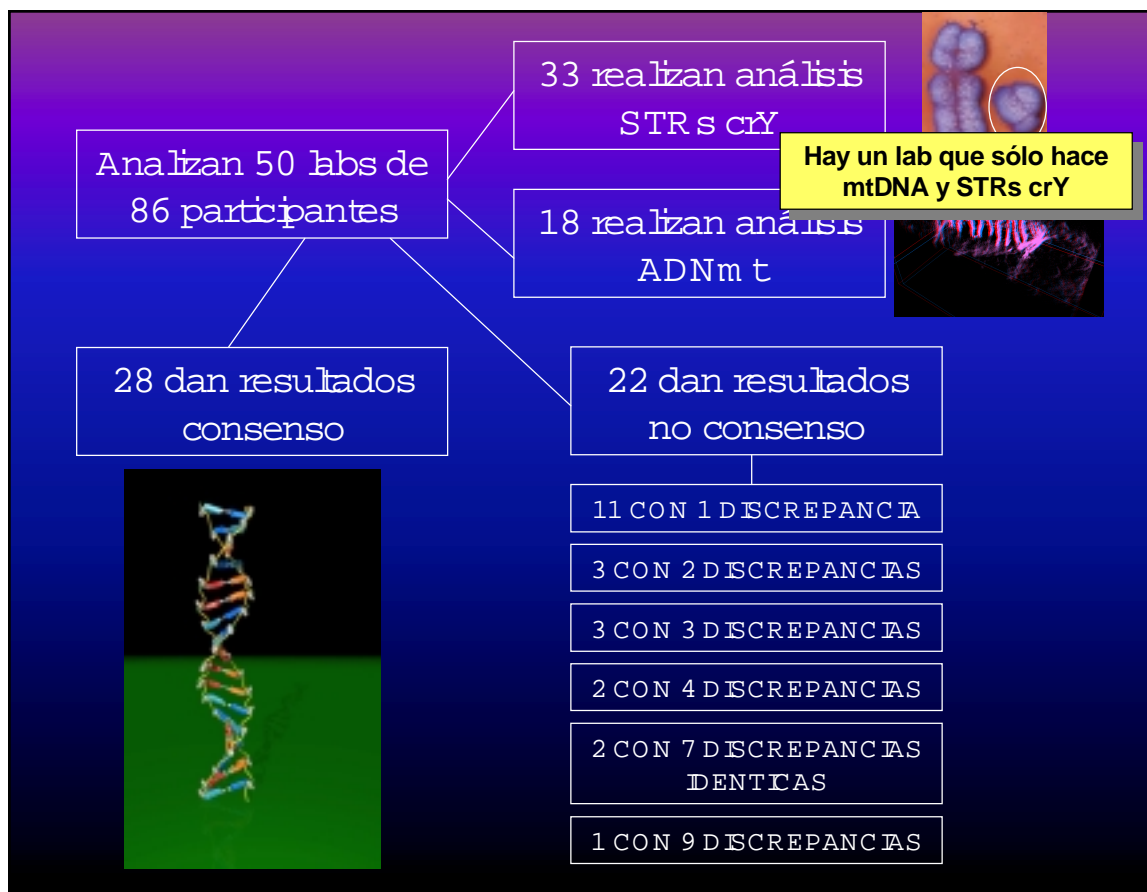


Figura 1.- Resultados del análisis de M-5. Nº de laboratorios que realizan el estudio de los diferentes marcadores y nº de discrepancias

Conclusiones

¿Por quién estaba formada la mezcla?

En el apartado de conclusiones 42 laboratorios contestaron que la mezcla estaba formada por M-4 y otro individuo desconocido, por tanto es este el resultado consenso. Este elevado número no se corresponde con el número de laboratorios que dan consenso en la analítica pero se explica porque los errores cometidos no afectan a la conclusión final.

Los ocho laboratorios restantes dieron conclusiones diferentes:

- a) 2 labs: “contaminación en la que no participan M-1, M-2, M-3, M-4”.
- b) 3 labs: “M-5 no corresponde a ninguna de las otras muestras”.
- c) Un lab no da conclusiones.
- d) Un lab: “M-4 + M-1 dudoso”.
- e) Un lab: “mezcla de M-1 o M-4 más otro/s genoma/s” (este laboratorio sólo realiza análisis de ADNmt y crY, por lo que su conclusión es acertada aunque no sea la consenso).

En este apartado me gustaría comentar que los laboratorios participantes utilizaron gran variedad de formas para expresar sus conclusiones. En cuanto al número de componentes de la mezcla podemos clasificar los comentarios de la siguiente forma:

- a) “al menos dos individuos” (19 labs).
- b) “dos o más individuos”, “más de un individuo” (4 labs).
- c) “dos individuos” (18 labs).
- d) No especificar número (4 labs).
- e) Sin comentarios (1 lab).
- f) “contaminación” (1 lab).

Creo que las expresiones más acertadas son las dos primeras (a y b). A los laboratorios que contestaron “dos individuos” simplemente decirles que es algo peligroso asegurar que una mezcla está formada por dos individuos simplemente por

no detectar más de cuatro alelos en ningún marcador autosómico. En la rutina forense nos podemos encontrar algunas veces con casos de mezclas que proceden de reyeratas entre familiares; cuando esto es así o el hecho ha ocurrido en una población endogámica como puede ser la gitana, se nos puede dar el caso de encontrarnos una mezcla formada por tres personas en la que no hemos detectado más de cuatro alelos en ningún marcador (ver Fig. 2).



Figura 2.- Ejemplo de mezcla en la que no se detectan más de cuatro alelos y sin embargo están implicados tres individuos

También merece la pena comentar que 24 laboratorios aseguraban que la mezcla estaba formada por un hombre (M-4) y una mujer, basándose en los resultados del análisis de los Y-STRs y/o de la amelogenina. Respecto a esta cuestión hay que tener cierto cuidado a la hora de realizar estas afirmaciones en los casos forenses reales. Por un lado porque existe la posibilidad de que aparezca un único haplotipo Y si en la mezcla intervienen dos individuos varones relacionados vía paterna y por otro porque una mezcla de dos mujeres y un varón también nos dará un resultado de picos desequilibrados en el marcador amelogenina (ver Fig.3).

"mezcla de dos individuos de distinto sexo"

a) Basándose en análisis de STRs del cromosoma Y: Si la mezcla la forman individuos varones relacionados vía paterna detectaremos un único haplotipo

a) Basándose en análisis de amelogenina: Si la mezcla la forman dos varones y una mujer detectaremos el pico correspondiente al cromosoma X más alto que el correspondiente al cromosoma Y

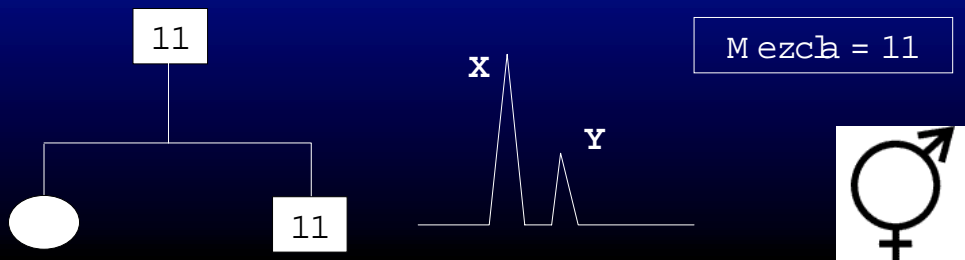


Figura 3.- Posibles errores que se pueden producir al afirmar que una mezcla está formada por 2 individuos de distinto sexo basándose en el análisis de STRs del cromosoma Y o en el análisis del sistema amelogenina

Por último, algunos laboratorios afirman que M-5 es una "mezcla de sangres", es decir, aseguran que los perfiles genéticos obtenidos provienen de muestras de sangre, descartando que la mezcla se haya producido por sangre-saliva, sangre-esperma, etc. Este matiz puede tener mucha importancia en el acto del Juicio Oral, pues puede ser de interés para la Sala conocer los componentes de la mezcla. Incluso realizando pruebas preliminares de certeza (detección de hemoglobina para asegurar sangre, ausencia de amilasa para descartar saliva, ausencia de espermatozoides o P30 para descartar semen) es difícil concluir el origen de la mezcla. En el caso de no haber realizado pruebas preliminares es mejor utilizar en las conclusiones de una pericia frases como "mezcla de perfiles genéticos", "mezcla de material biológico", etc.

Valoración estadística de M-5

De todos los laboratorios que realizan la analítica de M-5 sólo 23 valoran la prueba. Las hipótesis de trabajo propuestas y el LR calculado por la mayoría de los grupos resultó ser:

H1: M-5 procede de M-4 y otra persona desconocida

H2: M-5 procede de dos personas al azar.

LR = prob. de encontrar la mezcla M-5 suponiendo H1 / prob. de encontrar la mezcla M-5 suponiendo H2 = $P(M-5/H1) / P(M-5/H2)$.

Las principales discrepancias fueron debidas a:

- a) Definición de sólo una de las dos hipótesis.
- b) Definir H2 como: "la mezcla de células proviene de un individuo que posee el mismo genotipo que M-4 pero que es diferente a él y de otro desconocido".
- c) Hallar una probabilidad "a posteriori" para la cual se ha tenido que usar una probabilidad "a priori" pero que no ha sido definida.
- d) Definiciones ambiguas del LR (LR = M-4 + desconocido / dos desconocidos; LR = H1 / H2; LR = P(H1) / P(H2)).

Pero quizás lo más sorprendente de todo fue la manera de interpretar los resultados estadísticos, que al fin y al cabo es lo que se transmite al juez. Muy pocos laboratorios explican verbalmente el LR de forma correcta:

"Es X veces más probable **obtener** la mezcla de perfiles genéticos evidenciada en M-5 **SI** procede de M-4 y otro individuo desconocido que **SI** procede de dos personas no relacionadas elegidas al azar de la población".

Un número elevado de laboratorios, tras realizar la analítica y los cálculos estadísticos correctamente, traducen las conclusiones como:

“Es X veces más probable la H1 que la H2”

Es decir, explican el resultado como si se hubiera calculado $P(H1) / P(H2)$, cuando lo que se ha hallado es la probabilidad de encontrar la evidencia supuesta la hipótesis H1 dividido entre la probabilidad de encontrar la evidencia supuesta H2, o sea $P(E/H1) / P(E/H2)$, que es la definición correcta de LR.

En resumen, creo que el ejercicio forense propuesto por Josefina es de lo más acertado porque nos ha permitido realizar ciertas reflexiones que pueden ser de gran interés a la hora de emitir un informe pericial. En general los resultados analíticos son buenos y las conclusiones no tanto. Hay laboratorios que podrían aportar más datos en sus conclusiones teniendo en cuenta los resultados analíticos obtenidos y, por el contrario, hay laboratorios que afirman con rotundidad cuestiones que sólo son probables.

Por otro lado, el ejercicio ha demostrado que la mayoría de los grupos saben calcular el LR de una mezcla pero no existe consenso en la valoración y exposición del mismo.

EXERCÍCIO DE PATERNIDADE PRÁTICA GEP-ISFG 2003

António Amorim

IPATIMUP

Porto

Portugal

INTRODUÇÃO

Para o exercício de paternidade prática foram remetidas quatro amostras, identificadas como:

M-1: sangue de madre

M-2: sangue de padre

M-3: sangue de presunto hijo

M-4: sangue de presunto hijo

O problema proposto foi definido da seguinte forma:

En un accidente de circulación con varias víctimas, se necesita identificar si entre los ocupantes se encontraba el hijo de M-1 y M-2. Descartados todos los demás ocupantes, se solicita investigar si los individuos de las muestras M-3 o M-4 pueden ser los hijos biológicos de M-1 y M-2

Os participantes foram informados, após a remessa dos resultados, do seguinte:

El individuo de la muestra M-4 es un varón, hijo de los donantes de las muestras M-1 (madre) y M-2 (padre). El individuo donante de la muestra M-3 es un varón, nieto de los donantes M-2 y M-1 y sobrino por vía materna del donante de la muestra M-4.

ANÁLISE GERAL

| | | |
|---|-------------|----|
| Número de laboratórios inscritos | | 89 |
| Número de laboratórios que emitem resultados | 86 (97%) | |
| com sistemas autossômicos | 85 (96%) | |
| Sistemas | | |
| PCR | 86 | |
| SLPs | 1 | |
| N.º total de sistemas autossômicos (PCR) utilizados | 82 | |
| n.º sistemas autossômicos consensuados | 30 (36.6%) | |
| n.º médio de labs por sistema consensuado | 41.5 ± 29.5 | |

Esclarece-se que só foram considerados sistemas autossômicos e as amostras M1-M4. O Lab 18271 não foi considerado, por ter apenas realizado marcadores do cr. Y, bem como não se considerou o locus D1S80, para o qual reportaram resultados 3 labs, mas inconsistentes.

Média de marcadores autossômicos/lab = 15.2

máx: 31

min: 5

Média de marcadores autossômicos consensuados/lab = 14.6

máx: 26

min: 5

N.º total de genotipagens realizadas = 5193 (19 omissões)

A distribuição do n.º de marcadores consensuados utilizados por laboratório apresenta-se na Fig. 1 e a do número laboratórios usando cada marcador na Fig. 2

METODOLOGIA

Primers

Na tabela seguinte apresenta-se a distribuição dos primers utilizados. Note-se que um laboratório apresenta primers específicos do cromossoma Y para sistemas autossómicos.

| Primer | N.º utilizações |
|-------------------------------------|------------------------|
| P1 Amplitype PM+DQA1 (AB) | 1 |
| P2 Amply FLP D1S80 (AB) | 4 |
| P3 CTT (Promega) | 15 |
| P4 FFV (Promega) | 16 |
| P5 Silver STR III (Promega) | 14 |
| P6 Monoplex (Promega) | 17 |
| P7 Profiler (AB) | 2 |
| P8 Profiler Plus (AB) | 16 |
| P9 Cofiler (AB) | 13 |
| P10 SGM | 0 |
| P11 SGM Plus | 5 |
| P12 Green (AB) | 0 |
| P13 Blue (AB) | 0 |
| P14 CTTv Promega | 1 |
| P15 STR Primer set ABI | 2 |
| P16 Lifescodes | 4 |
| P17 FFFL Promega | 7 |
| P18 Power Plex 1.1(Promega) | 0 |
| P19 Power Plex 1.2 (Promega) | 0 |
| P20 Power Plex 2.1 (Promega) | 0 |
| P21 Power Plex 16 (Promega) | 29 |
| P22 SGM PLUS | 2 |
| P23 Y5-Plex (Reliagene) | 0 |
| P24 Y6-Plex (Reliagene) | 1 |
| P25 AmpFISTR ildentifiler | 24 |
| P26 Propios | 13 |
| P0 Outros (especificar) | 14 |
| ? | 6 |

Métodos de detecção

Na tabela seguinte apresenta-se a distribuição das metodologias de detecção utilizadas. Note-se que nove laboratórios não reportam o método usado.

| Detección | N.º utilizações |
|------------------------------------|------------------------|
| D1 Tinción Nitrato de plata | 21 |
| D2 Marcaje radiactivo | 1 |
| D3 DotBlot reverso | 1 |
| D4 Sondas ASO | 0 |
| D5 Hibridación | 0 |
| D6 ABI 310 | 45 |
| D7 ABI 373 | 0 |
| D8 ABI 377 | 8 |
| D9 ALF | 10 |
| D10 ABI 3100 | 10 |
| D11 FMBIO II | 4 |
| D0 Otros(especificar) | 0 |
| ? | 9 |

Ladders

Na tabela seguinte apresenta-se a distribuição da utilização dos *ladders*. Note-se que dois laboratórios apresentam *ladders* específicos do cromossoma Y para sistemas autossómicos e oito laboratórios não os reportam.

| Ladder | N.º utilizações |
|------------------------------------|------------------------|
| L1 Ninguno | 3 |
| L2 Amply FLP D1S80 (AB) | 3 |
| L3 CTT (Promega) | 14 |
| L4 FFV (Promega) | 16 |
| L5 Silver STR (Promega) | 14 |
| L6 Monoplex (Promega) | 15 |
| L7 Profiler (AB) | 2 |
| L8 Profiler Plus (AB) | 16 |
| L9 Cofiler (AB) | 12 |
| L10 SGM | 0 |
| L11 SGM Plus | 5 |
| L12 Green (AB) | 0 |
| L13 Blue (AB) | 0 |
| L14 CTTv Promega | 1 |
| L15 STR Primer set ABI | 0 |
| L16 Lifescodes | 4 |
| L17 FFFL Promega | 5 |
| L18 Power Plex 1.1(Promega) | 0 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| L19 Power Plex 1.2 (Promega) | 0 |
| L20 Power Plex 2.1 (Promega) | 0 |
| L21 Power Plex 16 (Promega) | 28 |
| L22 SGM PLUS | 2 |
| L23 Y5-Plex (Reliagene) | 0 |
| L24 Y6-Plex (Reliagene) | 2 |
| L25 AmpFISTR Identifiler | 24 |
| L26 Propios | 18 |
| L0 Outros (especificar) | 9 |
| ? | 8 |

RESULTADOS

Apresenta-se na Fig. 3 a distribuição da proporção (em %) de sistemas realizados sem erros nem omissões por cada laboratório. Esclarece-se que se observaram as seguintes situações: um laboratório (16519) reporta uma genotipagem 0/0, outro (16540) apresenta para as quatro tipagens de D12S391 com um *shift* consistente de +1 repetição, acontecendo o mesmo com o locus HPRTB no laboratório 16565.

No quadro da Fig. 4 apresenta-se a incidência dos erros por laboratório. A média é de 2.1 (\pm 4.13) erros por laboratório, mas registaram-se 56 sem qualquer erro (66%).

Quanto à distribuição dos erros por marcador, os resultados encontram-se resumidos no gráfico da Fig. 5.

Fez-se também o cálculo, por sistema, da proporção (%) de laboratórios com erros/omissões, de que resultou o gráfico da Fig. 6.

No gráfico da Fig. 7 distingue-se a incidência de erros (a vermelho) da de omissões (a azul), por laboratório.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

POR MARCADOR

Apenas se trataram os casos em que a frequência de erros observada foi $\geq 5\%$ e que foram utilizados por um número de laboratórios ≥ 10 . Para cada caso apresenta-se a estatística global do sistema no exercício, discrimina-se a informação relevante

quanto aos laboratórios que apresentaram resultados discordantes e comenta-se o tipo e a origem dos erros, quando tal é possível.

FES

| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | | |
|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|--|
| 34 | | 134 | | 8.8 | | |
| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> | |
| 16500 | 0 | 1 | C | D6 | C | |
| 16581 | 2 | 0 | P | D9 | P | |
| 16597 | 0 | 1 | C | D1 | C | |

TH01

| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | | |
|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|--|
| 81 | | 324 | | 4.9 | | |
| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> | |
| 16517 | 1 | 0 | C | D9 | C | |
| 16521 | 1 | 0 | C | D9 | O, C | |
| 16546 | 3 | 0 | C | D1 | C | |
| 16593 | 1 | 0 | C | D6 | C | |

Em 3 dos erros observados, verificou-se uma situação típica para este sistema, classificando erradamente o alelo 9.3 (como 10).

F13A01

| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | | |
|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|--|
| 37 | | 144 | | 32.4 | | |
| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> | |
| 16500 | 2 | 1 | C | D6 | C | |
| 16517 | 1 | 0 | C | D9 | O, C | |
| 16521 | 1 | 0 | C | D9 | O, C | |
| 16530 | 3 | 0 | O | D1 | O | |
| 16535 | 3 | 0 | C | D1 | C | |
| 16544 | 3 | 0 | C | D6 | C | |

| | | | | | |
|-------|---|---|---|-----|---|
| 16547 | 3 | 0 | C | D1 | C |
| 16564 | 0 | 1 | C | D9 | C |
| 16579 | 3 | 0 | O | D10 | C |
| 16582 | 4 | 0 | C | ? | ? |
| 16586 | 4 | 0 | C | D1 | C |
| 16597 | 1 | 2 | C | D1 | C |

Neste marcador verificou-se que os alelos longos foram muitas vezes não detectados, originando falsas homozigotias.

CSF1P0

| | | |
|----------------------|--------------------------|-------------------------------|
| <u>Nº total labs</u> | <u>Nº total tipagens</u> | <u>% lab c/erros/omissões</u> |
| 77 | 307 | 6.5 |

| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Deteccção</u> | <u>Ladder</u> |
|------------|--------------|-----------------|---------------|------------------|---------------|
| 16500 | 3 | 0 | C | D6 | C |
| 16519 | 1 | 0 | C | D6 | C |
| 16528 | 1 | 0 | C | D8 | C |
| 16567 | 1 | 0 | C | D10 | C |
| 18136 | 1 | 1 | C | D8 | C |

F13B

| | | |
|----------------------|--------------------------|-------------------------------|
| <u>Nº total labs</u> | <u>Nº total tipagens</u> | <u>% lab c/erros/omissões</u> |
| 27 | 106 | 7.4 |

| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Deteccção</u> | <u>Ladder</u> |
|------------|--------------|-----------------|---------------|------------------|---------------|
| 16500 | 0 | 1 | C | D6 | C |
| 16597 | 1 | 1 | C | D1 | C |

HPRTB

| | | |
|----------------------|--------------------------|-------------------------------|
| <u>Nº total labs</u> | <u>Nº total tipagens</u> | <u>% lab c/erros/omissões</u> |
| 13 | 51 | 23.1 |

| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Deteccção</u> | <u>Ladder</u> |
|------------|--------------|-----------------|---------------|------------------|---------------|
| 16538 | 2 | 0 | P | D2 | P |

| | | | | | |
|-------|---|---|---|----|---|
| 16539 | 0 | 1 | O | D1 | O |
| 16565 | 4 | 0 | O | D6 | O |

O laboratório 16565 reporta resultados com um *shift* consistente, de +1 repetição.

D12S391

| | | | | | |
|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | |
| 13 | | 52 | | 7.7 | |
| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> |
| 16540 | 4 | 0 | P | D9 | N |

O laboratório 16565 reporta resultados com um *shift* consistente, de +1 repetição.

D5S818

| | | | | | |
|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | |
| 69 | | 275 | | 5.8 | |
| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> |
| 16500 | 0 | 1 | C | D6 | C |
| 16517 | 1 | 0 | C | D9 | O,C |
| 16521 | 1 | 0 | C | D6 | O,C |
| 18136 | 1 | 0 | C | D8 | C |

Os laboratórios 16517 e 16521 têm o mesmo erro: 8/11 por 8/12.

PENTA D

| | | | | | |
|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | |
| 29 | | 113 | | 6.9 | |
| <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> |
| 16500 | 0 | 3 | C | D6 | C |
| 16541 | 1 | 0 | C | D8 | C |

PENTA E

| | | | | | |
|----------------------|--|--------------------------|--|-------------------------------|--|
| <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | |
|----------------------|--|--------------------------|--|-------------------------------|--|

| | | | | | | |
|----|------------|--------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|
| 31 | | | 124 | | | 6.5 |
| | <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> |
| | 16512 | 1 | 0 | C | D11 | C |
| | 16527 | 2 | 0 | C | D6 | C |

D2S1338

| | | | | | | |
|--|----------------------|--------------|--------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| | <u>Nº total labs</u> | | <u>Nº total tipagens</u> | | <u>% lab c/erros/omissões</u> | |
| | 31 | | 123 | | 6.5 | |
| | <u>Lab</u> | <u>erros</u> | <u>omissões</u> | <u>Primer</u> | <u>Detecção</u> | <u>Ladder</u> |
| | 16519 | 0 | 1 | C | D6 | C |
| | 16533 | 1 | 0 | C | D6 | C |

METODOLOGIA UTILIZADA

TIPO DE PRIMER

A distribuição de erros e omissões por tipo de *primer* utilizado apresenta-se na tabela seguinte.

| <i>primer</i> | erros | omissões | total |
|---------------|-------|----------|-------|
| Próprio | 19 | 0 | 19 |
| Comercial | 66 | 18 | 84 |
| Outro | 10 | 1 | 11 |
| ? | 6 | 0 | 6 |
| total | 101 | 19 | 120 |

Comparando as distribuições observada e esperada de erros e omissões, atendendo à frequência de utilização cada tipo de *primer* (tabela seguinte), verifica-se ($\chi^2=22.8$, 3 g.l., $P<0.0001$) que a utilização de *primers* comerciais reduz significativamente o número de erros observados, enquanto que a tendência inversa se regista para os próprios (e em menor grau para os dois outros tipos).

| <i>Primer</i> | Total de erros e omissões | | Nº de utilizações |
|---------------|---------------------------|-----------|-------------------|
| | observados | esperados | |
| Próprio | 19 | 7.573 | 19 |
| Comercial | 84 | 100.777 | 84 |
| Outro | 11 | 8.155 | 11 |
| ? | 6 | 3.495 | 6 |
| total | 120 | 120.000 | 120 |

TIPO DE DETECÇÃO

A distribuição de erros e omissões por tipo de detecção utilizada apresenta-se na tabela seguinte.

| detecção | erros | omissões | total |
|----------|-------|----------|-------|
| D1 | 31 | 5 | 36 |
| D2 | 5 | 0 | 5 |
| D6 | 18 | 9 | 27 |
| D8 | 12 | 4 | 16 |
| D9 | 20 | 1 | 21 |
| D10 | 4 | 0 | 4 |
| D11 | 1 | 0 | 1 |
| ? | 10 | 0 | 10 |
| Total | 101 | 19 | 120 |

Comparando as distribuições observada e esperada de erros e omissões, atendendo à frequência de utilização cada tipo de detecção (tabela seguinte), verifica-se que ($\chi^2=52.8$, 7 g.l., $P<0.0001$) com a utilização de sistemas manuais aumenta significativamente o número de erros observados, enquanto que a tendência inversa se regista para os automáticos (com excepção dos sistemas ALF, em que os erros/omissões observados são também em número superior ao esperado).

| detecção | Total de erros e omissões | | Nº de utilizações |
|----------|---------------------------|-----------|-------------------|
| | observados | esperados | |
| D1 | 36 | 23.33 | 21 |
| D2 | 5 | 1.11 | 1 |
| D6 | 27 | 50.00 | 45 |
| D8 | 16 | 8.89 | 8 |
| D9 | 21 | 11.11 | 10 |
| D10 | 4 | 11.11 | 10 |
| D11 | 1 | 4.44 | 4 |
| ? | 10 | 10.00 | 9 |
| total | 120 | 119.99 | 108 |

TIPO DE LADDER

A distribuição de erros e omissões por tipo de escala alélica (*primer*) utilizada apresenta-se na tabela seguinte.

| <i>ladder</i> | erros | omissões | total |
|---------------|-------|----------|-------|
| Próprio | 12 | 0 | 12 |
| Comercial | 64 | 18 | 82 |
| Outro | 12 | 1 | 13 |
| Nenhum | 8 | 0 | 8 |
| ? | 10 | 0 | 10 |
| total | 106 | 19 | 125 |

Comparando as distribuições observada e esperada de erros e omissões, atendendo à frequência de utilização cada tipo de *ladder* (tabela seguinte), verifica-se ($\chi^2=38.8$, 4 g.l., $P<0.0001$) que a utilização de *ladders* comerciais reduz significativamente o número de erros observados, enquanto que a tendência inversa se regista para os classificados como “outros” e não-especificados.

| <i>ladder</i> | Total de erros e omissões | | Nº de utilizações |
|---------------|---------------------------|-----------|-------------------|
| | observados | esperados | |
| Próprio | 12 | 11.194 | 18 |
| Comercial | 82 | 101.368 | 163 |
| Outro | 13 | 5.597 | 9 |
| Nenhum | 8 | 1.866 | 3 |
| ? | 10 | 4.975 | 8 |
| total | 125 | 125.000 | 201 |

ANÁLISE DAS CONCLUSÕES EMITIDAS

O resultado consensuado foi o seguinte

| <u>Código</u> | <u>M-3</u> | <u>M-4</u> |
|---------------|------------|------------|
| | NO | SI |

Divergiram deste resultado quatro laboratórios:

| <u>Código</u> | <u>M-3</u> | <u>M-4</u> |
|---------------|------------------|----------------|
| 16534 | Padre:NO Madre:? | SI |
| 16582 | NO | NO informativo |
| 16586 | NO | NO informativo |
| 18136 | SI | SI |

O laboratório 16534 realizou 15 sistemas autossómicos sem erros, mas interpretou a questão formulada como sendo de paternidade ou de maternidade (tendo assim encontrado várias incompatibilidades M2/M3, mas só duas M1/M3).

O segundo (16582) realizou 12 sistemas autossómicos, com 8 erros (16,7%) em dois sistemas. Detectou apenas uma incompatibilidade M1-M2/M3, que considerou relevável se dispusesse do «índice de mutacion», quando na realidade poderia ser atribuível a um alelo nulo.

O terceiro (16586) realizou o mesmo número de sistemas, cometeu os mesmos erros e concluiu de forma textualmente idêntica ao anterior.

O último (18136) genotipou 13 sistemas autossômicos, com 14 erros/omissões em doze deles. Interpretou a questão formulada como sendo de paternidade ou de maternidade, e comentou que M3 seria irmão gêmeo de M4. Detectou apenas uma incompatibilidade M1-M2/M3, que considerou relevável se dispusesse do «índice de mutacion», quando na realidade poderia ser atribuível a um alelo nulo.

COMENTÁRIOS E OBSERVAÇÕES REMETIDOS

Para além das fórmulas utilizadas nos cálculos, foi também solicitado aos participantes que fizessem comentários e observações.

Nove laboratórios não indicaram a(s) fórmula(s) utilizada(s) e 22 não apresentam cálculos. Dezanove interpretaram a questão formulada como sendo de paternidade ou maternidade, um como sendo de paternidade, para quatro foi impossível esclarecer qual foi a forma de entender a questão e finalmente um, embora interpretando a questão como sendo de paternidade ou maternidade, analisa as “exclusões” combinadas. Um participante apresenta apenas o resultado relativamente a M3, mas em contradição com a resposta final. Quatro apresentam cálculos de paternidade.

Um laboratório faz uma tradução verbal errada do índice de paternidade e 13 cometem erros na nomenclatura do índice.

Dois pares de laboratórios (16517/16521 e 16582/16586) apresentam conclusões textualmente idênticas.

CONCLUSÕES FINAIS

Podemos resumir a análise dos resultados do exercício de paternidade prática nas seguintes conclusões gerais:

- alta utilização de sistemas PCR
- baixa taxa de sistemas autossómicos
- muito baixa de sistemas autossómicos consensuados
- grande número de erros atribuíveis a descuidos humanos (p.ex. transcrição)
- alta dispersão do nº de erros por lab
- grande heterogeneidade da qualidade dos labs
- alta dispersão do nº de erros por sistema
- grande heterogeneidade da fiabilidade dos marcadores
- aumento significativo dos erros com o uso de *primers* não-comerciais
- aumento significativo dos erros com o não-uso de *ladders* comerciais
- aumento significativo dos erros com o uso de sistemas de detecção não-automáticos
- dentre os automáticos, aumento dos erros com a utilização de ABI 377 e ALF
- problema colocado complexo e ambíguo
- baixa taxa de conclusões globais erradas
- baixa qualidade do enquadramento formal do problema colocado.

Foi ainda detectado o *intercâmbio de resultados entre laboratórios*: os laboratórios 16517 e 16521 apresentam identidade total de resultados em 13 sistemas e conclusões textualmente idênticas na paternidade prática; os laboratórios 16582 e 16586 reportaram identidade total em 12 sistemas e conclusões textualmente idênticas na paternidade prática.

AGRADECIMENTOS

Sem a ajuda dos colegas Cíntia Alves, Leonor Gusmão e Luísa Pereira teria sido impossível realizar este trabalho. Agradeço de forma geral ao GEP/ISFG e em particular a Josefina Gomez e Oscar Garcia, pela seu empenho na realização do Exercício 2003.

Fig. 1. Distribuição do n.º de marcadores consensuados utilizados por laboratório

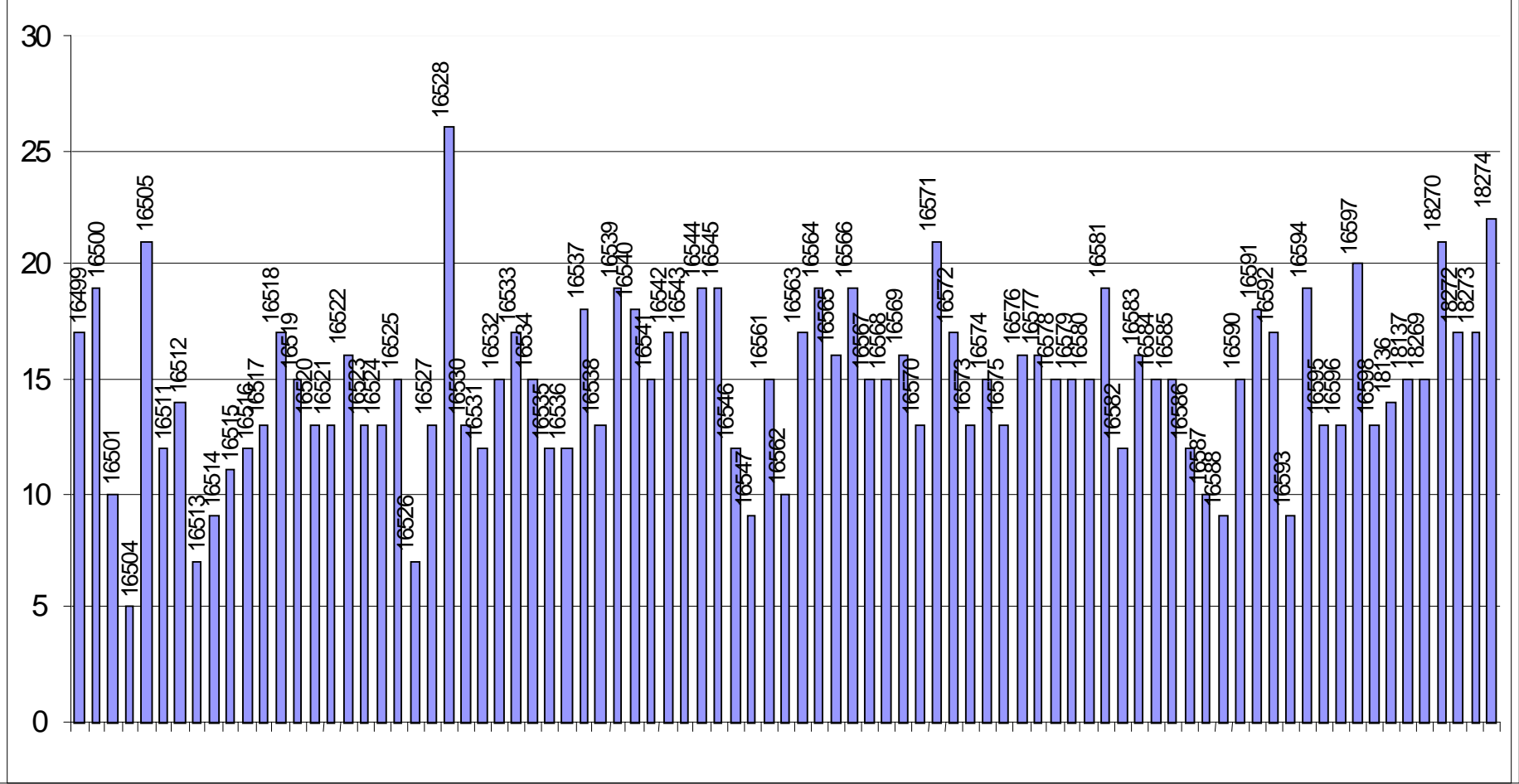


Fig. 2. Distribuição do n.º de utilizações de cada marcador

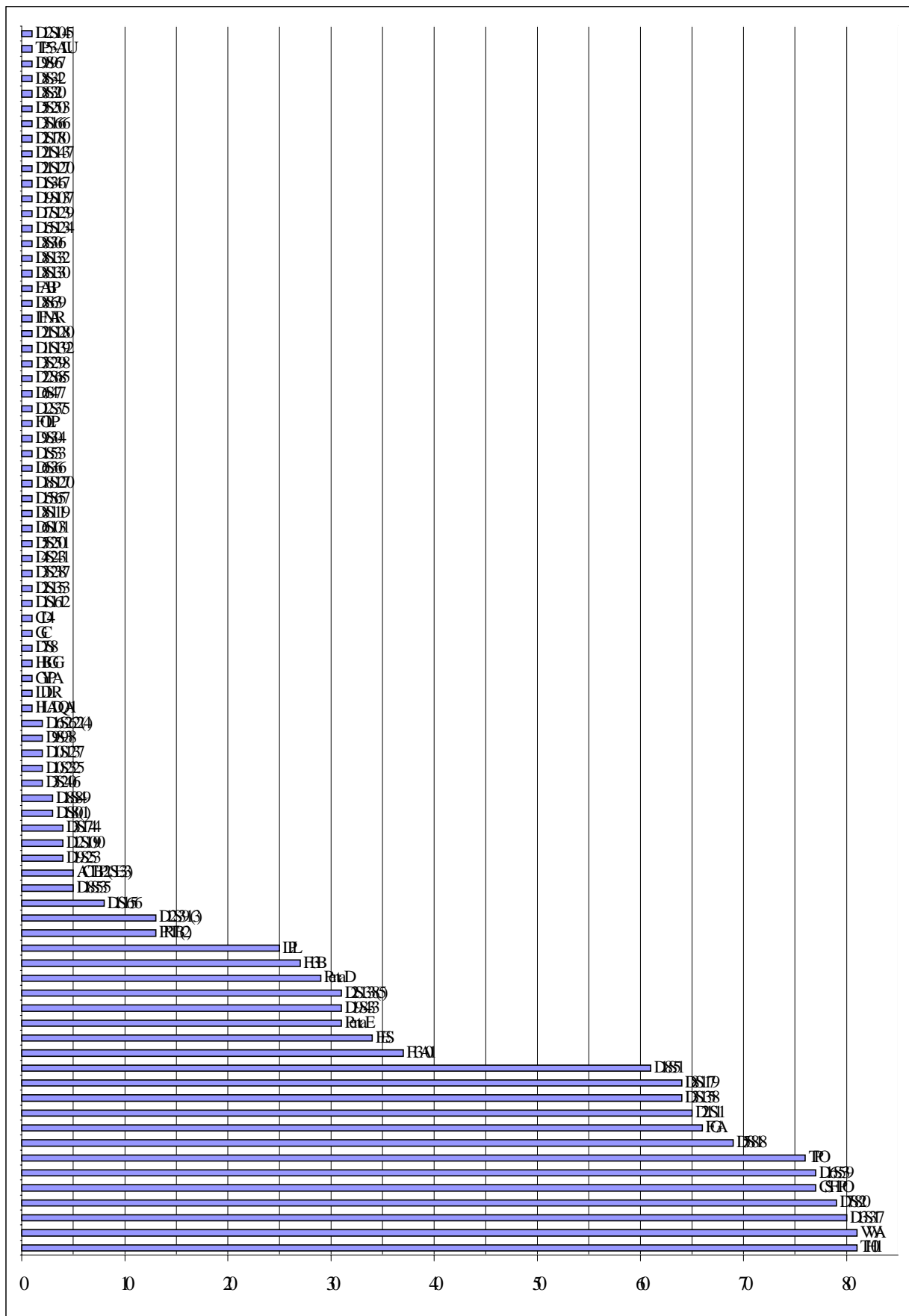


Fig. 3. Distribuição da proporção (em %) de sistemas realizados sem erros nem omissões, por laboratório

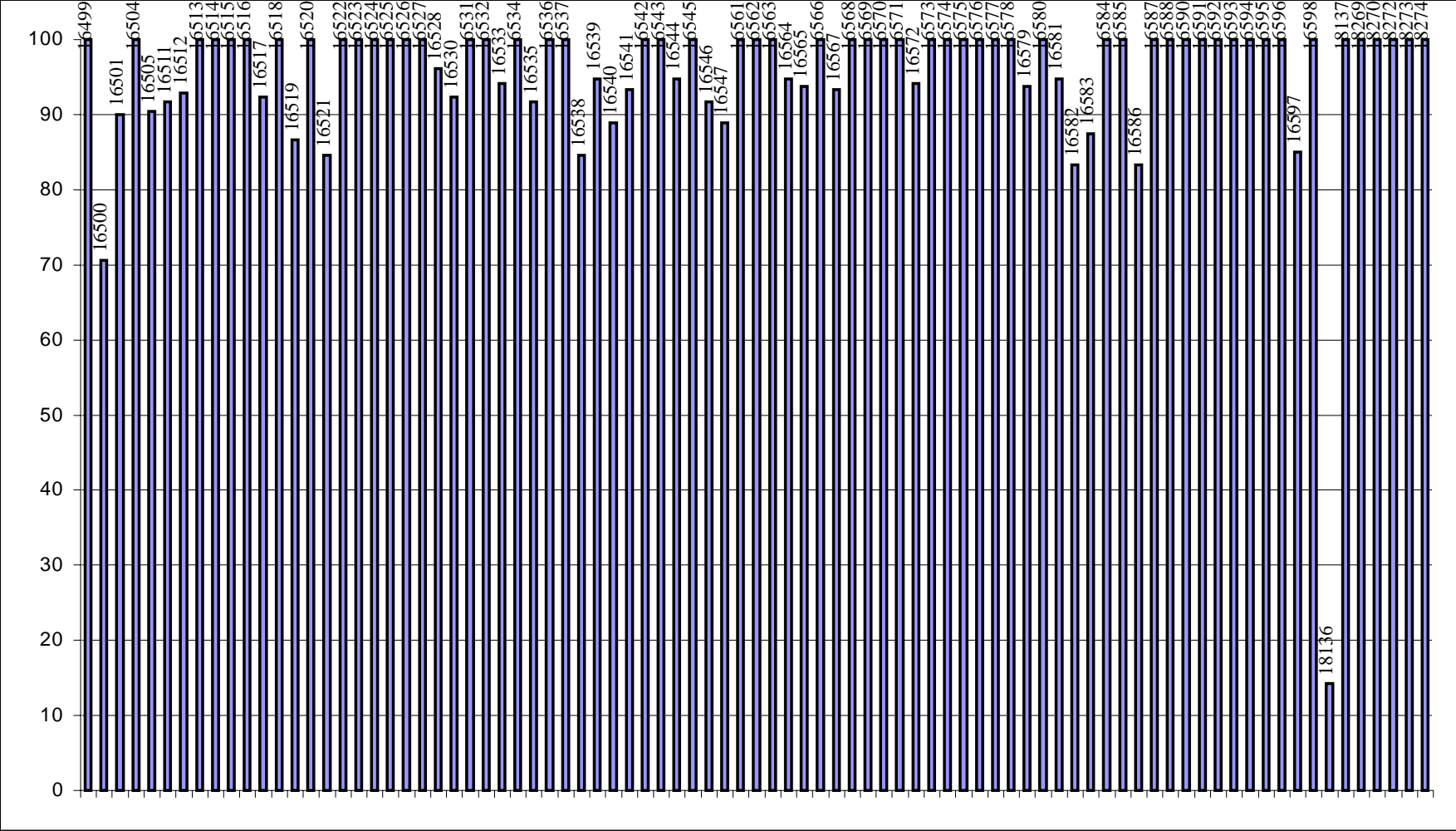


Fig. 4. Incidência (%) dos erros por laboratório

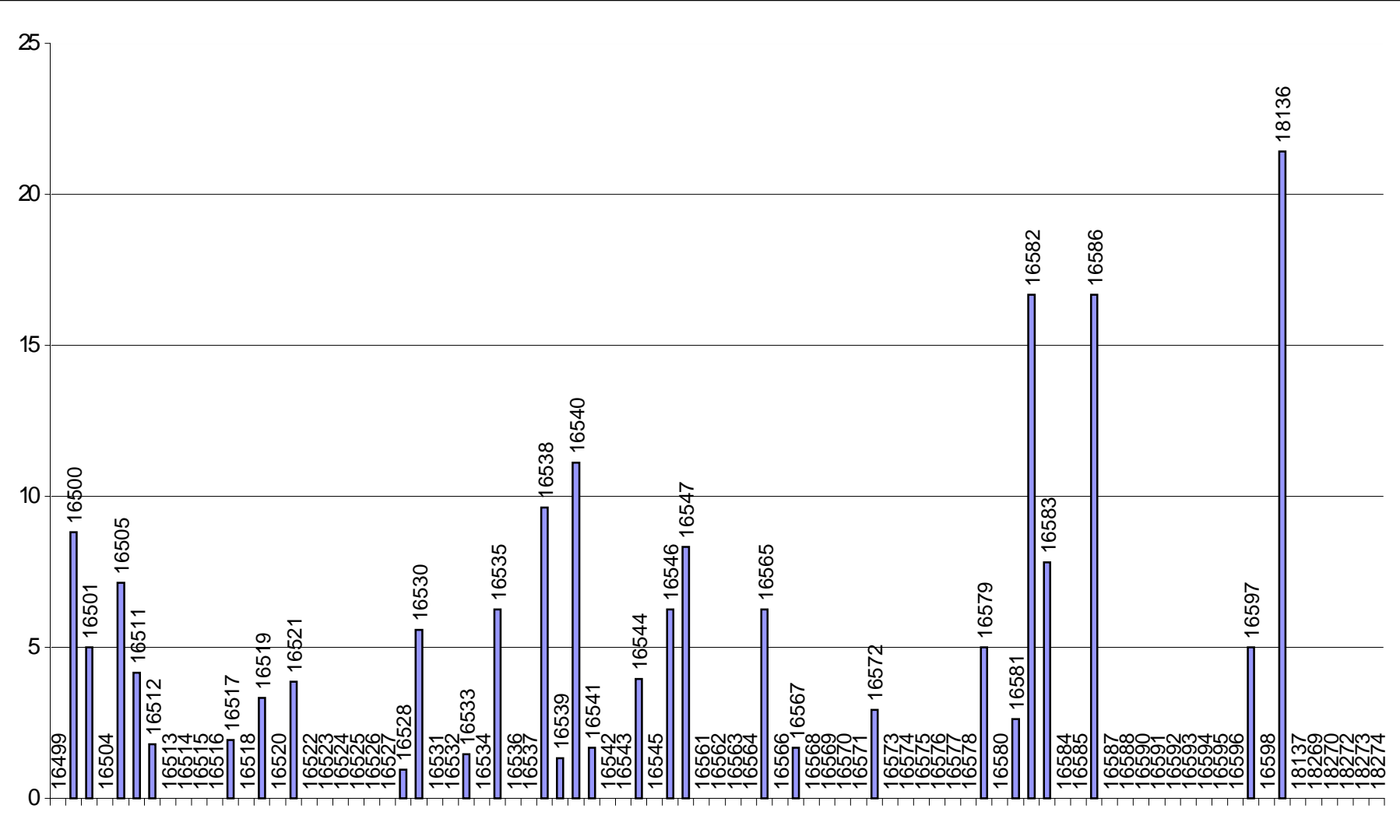


Fig. 5. Distribuição dos erros por marcador

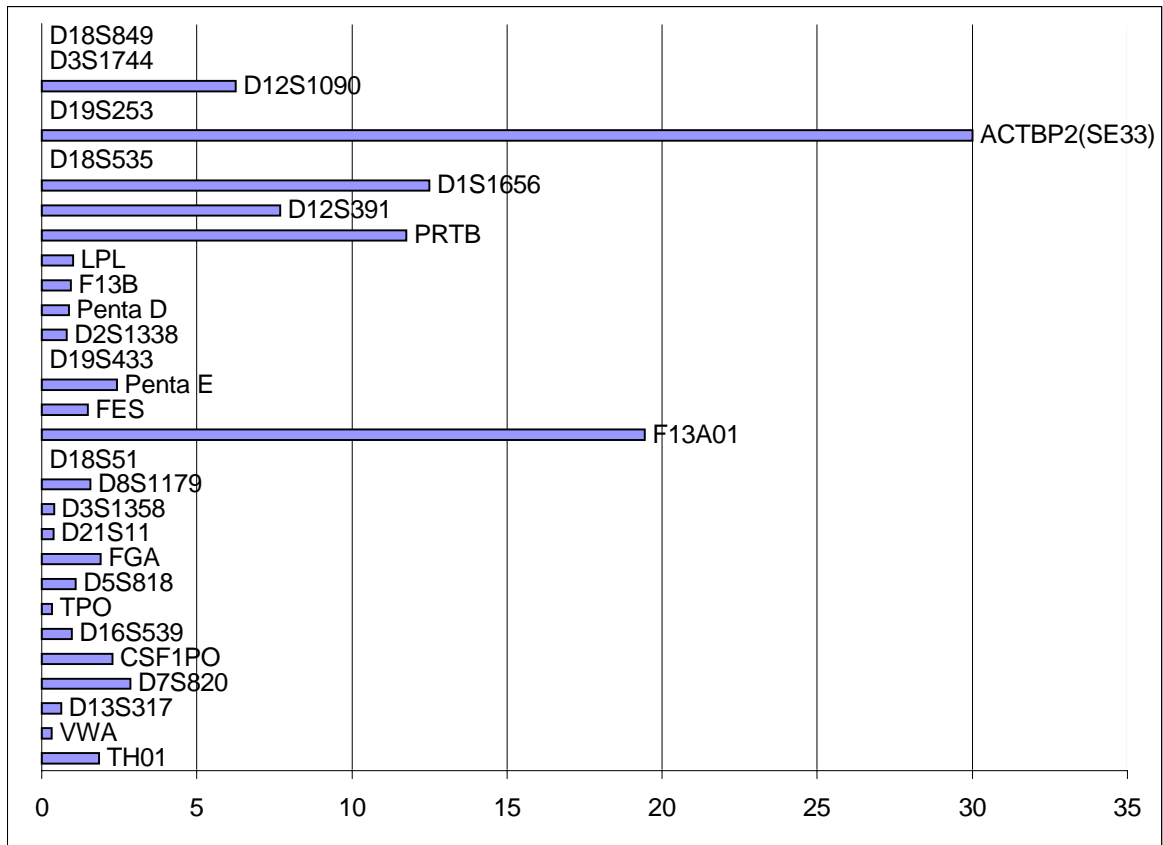


Fig. 6. Proporção (%) de laboratórios com erros/omissões, por sistema.

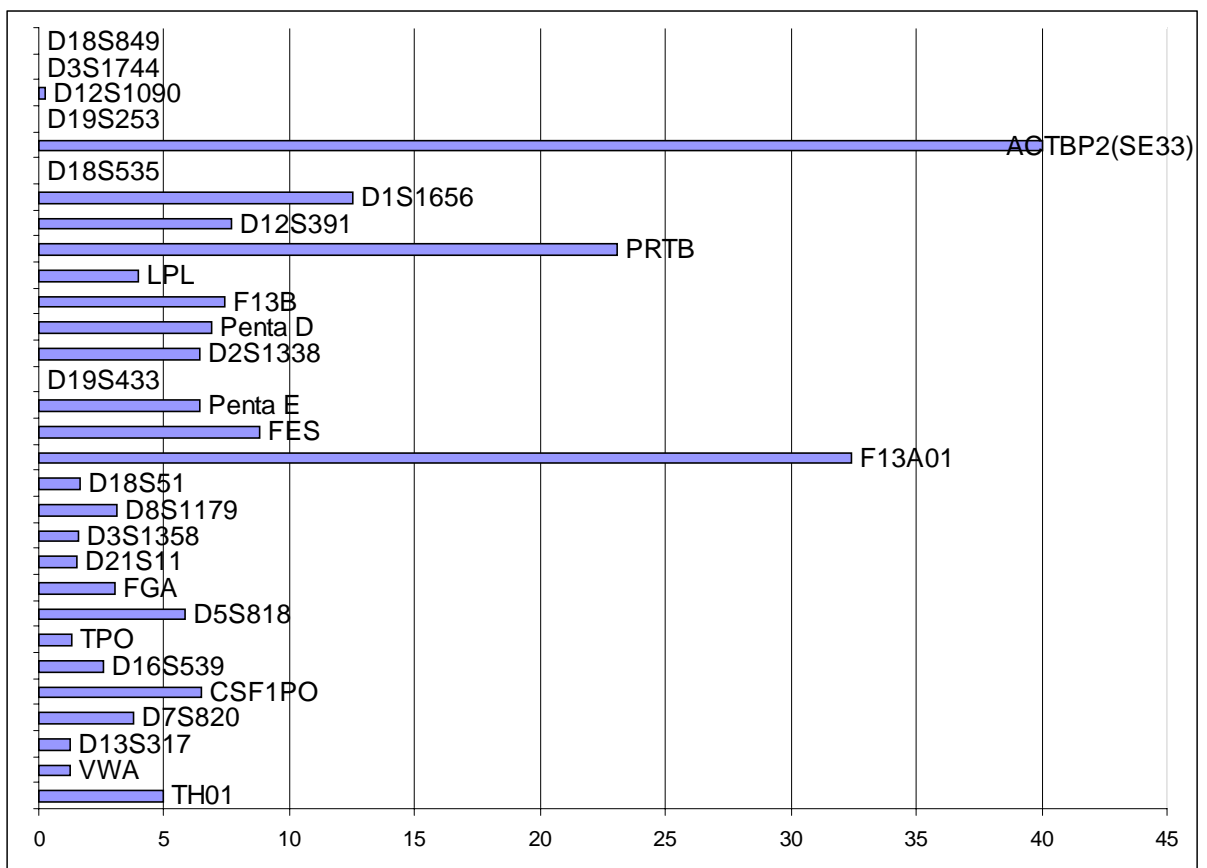
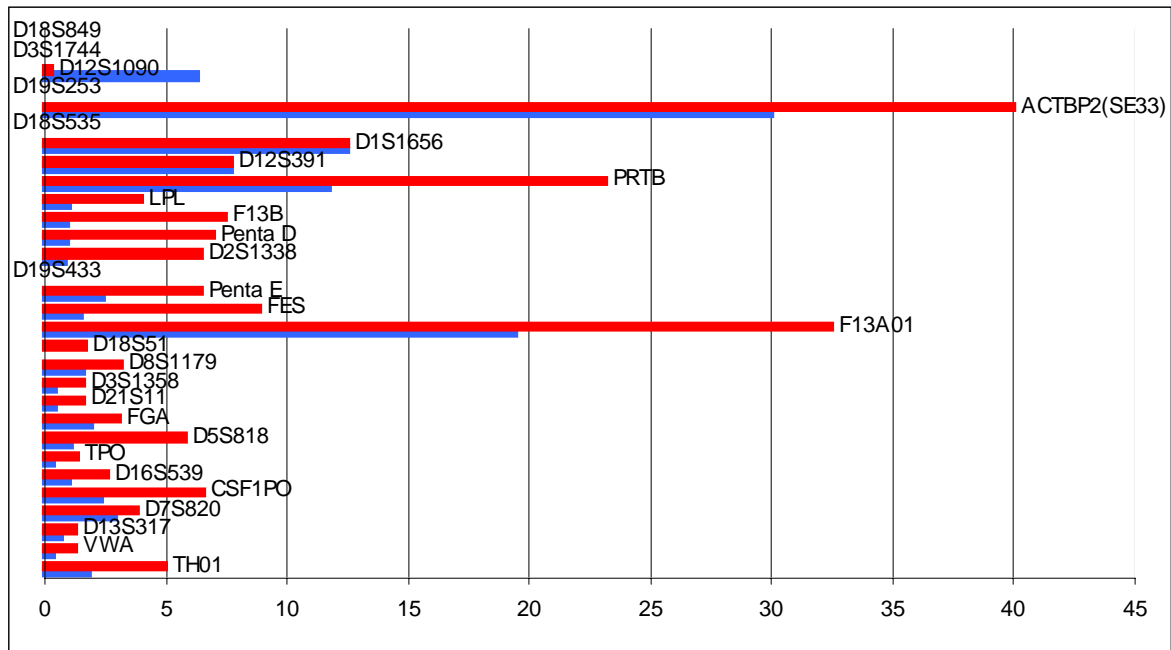


Fig. 7. Distribuição da incidência (%) de erros (a vermelho) e omissões (a azul), por laboratório.



EXERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
CROMOSOMA Y

Leonor Gusmão y António Amorim

IPATIMUP

Porto

Portugal

A participação dos laboratórios pode ser resumida da seguinte forma:

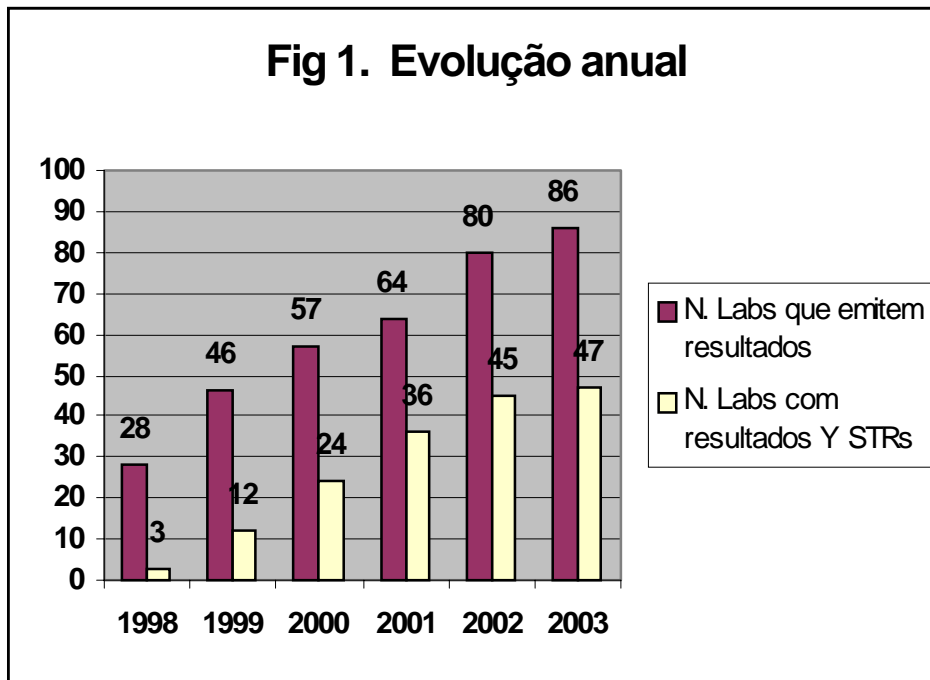
| | |
|---|----------|
| ▪ N ^o laboratórios inscritos | 89 |
| ▪ N ^o labs que emitem resultados | 86 (97%) |
| ▪ N ^o labs que emitem resultados mtDNA | 27 (31%) |
| ▪ N ^o labs que emitem resultados STR Y | 47 (55%) |
| ▪ Destes, com haplótipo mínimo | 21 (45%) |

Apesar de não ter havido um aumento da percentagem de laboratórios a emitir resultados para STRs do cromossoma Y, verifica-se que o número médio de marcadores por laboratório aumentou de 7.8, o ano passado, para 9.2, este ano. Sendo assim, o número total de tipagens (\sum n^o de marcadores para cada laboratório) subiu 24% (de 351 para 436).

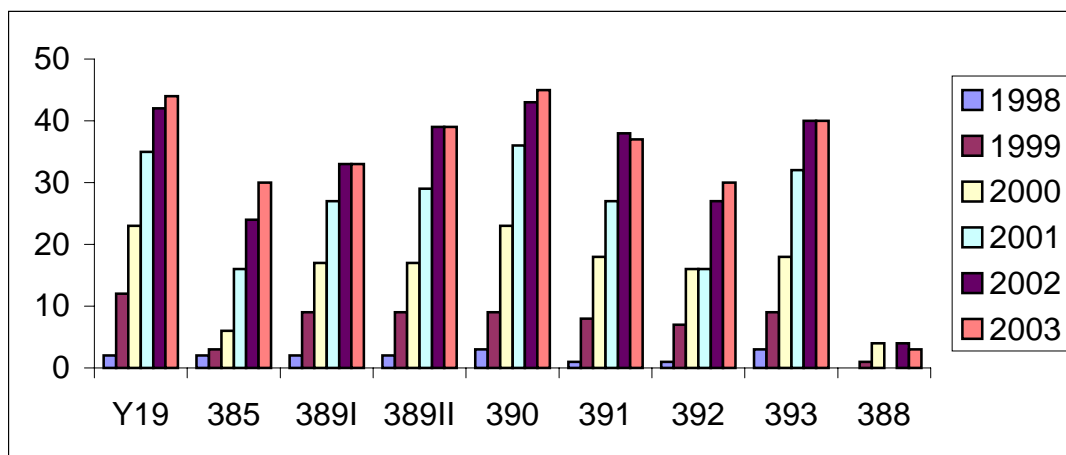
Considerando a evolução anual das participações de resultados de Y-STRs (Fig.1), verifica-se que a proporção de resultados destes marcadores relativamente ao total dos laboratórios que emitem resultados aumentou até 2001, mantendo-se nestes dois últimos anos.

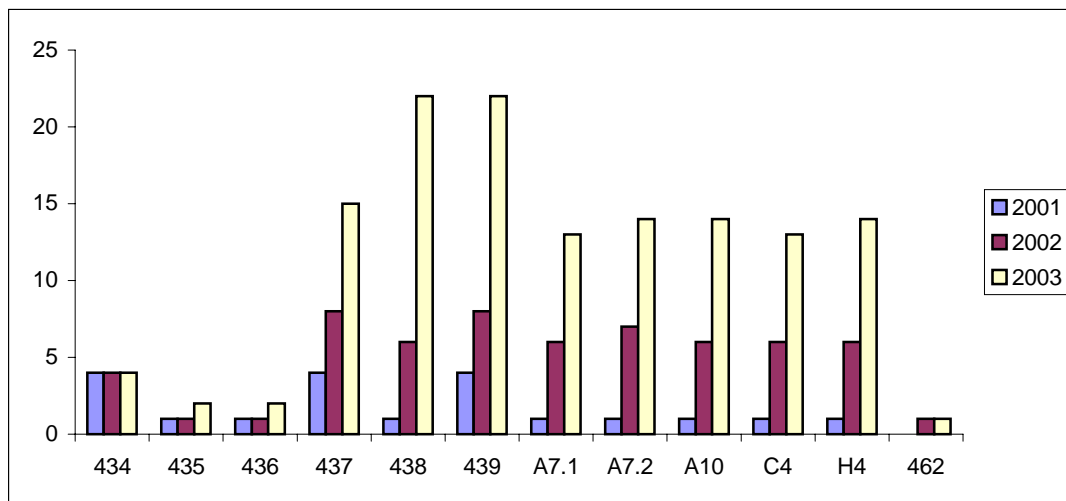
No que respeita à evolução anual da utilização dos loci, (Fig.2), observa-se que em relação aos marcadores incluídos no haplótipo mínimo o único que manteve o crescimento foi o DYS385, com um ligeiro aumento para o DYS19 e DYS390.

No que se refere aos restantes marcadores, a utilização dos 8 marcadores incluídos no exercício colaborativo levado a cabo pelo GEP duplicou (há 11



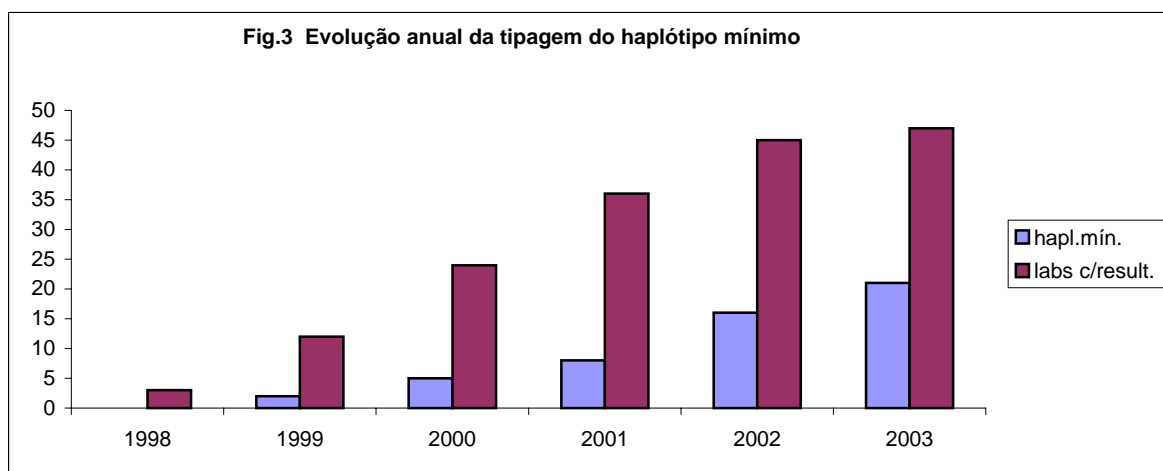
laboratórios que apresentam resultados para estes 8 marcadores), sendo o DYS438 e DYS439 os marcadores mais utilizados (também incluídos no Y-5Plex da Reliagene).

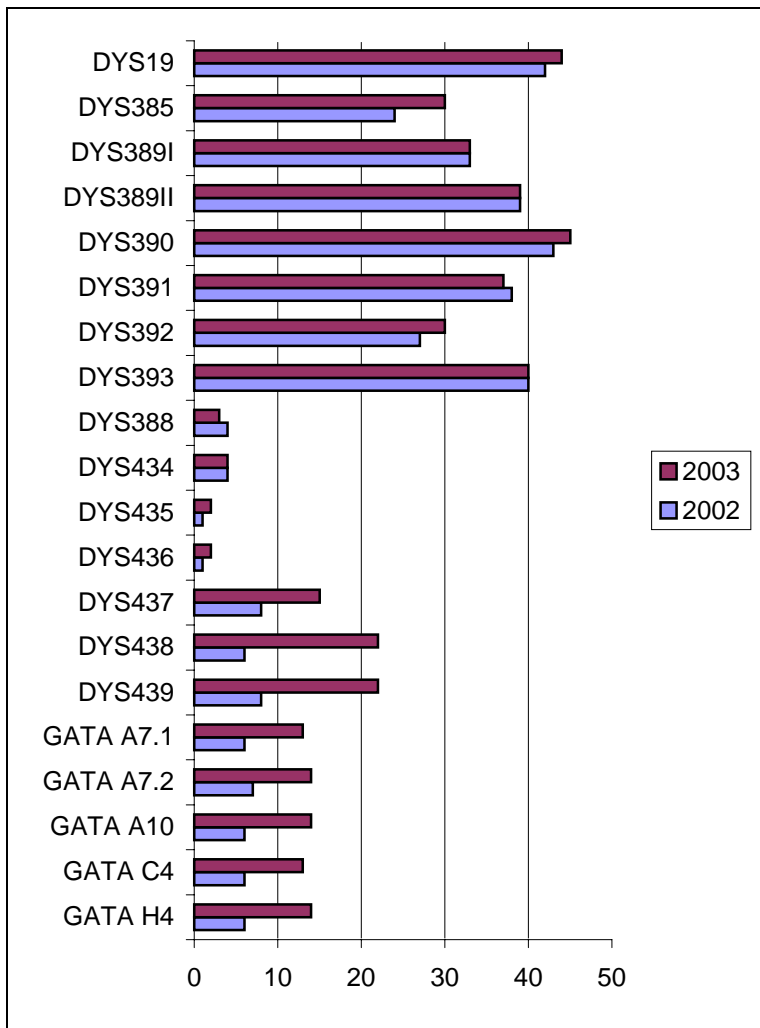




O número de contribuições com o haplótipo mínimo aumentou, tendo passado de 33% para 45%.

Isso mesmo se conclui da análise da Fig.4, onde se mostra, no corrente exercício, a utilização de STRs por laboratório.





Passando à análise da evolução anual dos erros de tipagens (Tabela 1), verifica-se que, para os marcadores mais utilizados (e para os quais existe maior informação, tendo sido introduzidos no exercício à mais tempo) a percentagem de erros foi diminuindo desde o início da sua utilização até ao ano passado tendo-se, no entanto, observado um aumento da percentagem de erros, este ano.

Tendo em conta que, este ano, foi especificada a nomenclatura a utilizar e que, há laboratórios que continuam a não utilizar a nomenclatura mais recente para o DYS389, a taxa de erros verificada este ano foi igual à obtida em 2001 (7,3%) mais do dobro da obtida no exercício anterior.

TABELA 1. Evolução anual dos erros de tipagem

| | Y19 | 385 | 389I | 389II | 390 | 391 | 392 | 393 | 388 | Total | |
|-------------|-------------|------|------|-------|-------------|-----|-----|-----|-----|-------|---------------------|
| 1998 | nº tipagens | 2 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 3 | - | 6 | |
| | nº erros | - | - | - | 0 | - | - | 0 | - | 0 | |
| 1999 | nº tipagens | 12** | 3 | 9 | 9 | 9** | 8 | 7 | 9 | 1 | 66 |
| | nº erros | 3 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | 1 | - | 9 (13.6%) |
| 2000 | nº tipagens | 23 | 6 | 17 | 17 | 23 | 18 | 16 | 18 | 4 | 142 |
| | nº erros | 0 | 1 | 0 | 5 | 1 | 1 | 1 | 4 | 0 | 13 (9.2%) |
| 2001 | nº tipagens | 35 | 16 | 27 | 29 | 36 | 27 | 16 | 32 | - | 218 |
| | nº erros | 1 | 1 | 1 | 5 | 1 | 1 | 3 | 3 | - | 16 (7.3%) |
| 2002 | nº tipagens | 42 | 24 | 33 | 39 | 43 | 38 | 27 | 40 | 4 | 290 |
| | nº erros | 0 | 1 | 1 | 3 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 10 (3.2%) |
| 2003 | nº tipagens | 44 | 30 | 33 | 39 | 45 | 37 | 30 | 40 | 3 | 301 |
| | nº erros | 2 | 1 | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 13 (4.3%) |
| | | | | +5 | 1(IR) +4 | | | | | | 12(4%) 22 (7.3%) |

**DYS19 e DYS390, mudança de nomenclatura

IR - intercâmbio de resultados

Considerando unicamente os «novos» STRs, apesar do aumento significativo da utilização destes marcadores, a taxa de erro foi inferior a 1% (a mais baixa até agora obtida).

TABELA 2. «Novos» STRs: evolução anual dos erros de tipagem

| | 434 | 435 | 436 | 437 | 438 | 439 | A7.1 | A7.2 | A10 | C4 | H4 | 462 | Total |
|-------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|----|----|-----|-----------|
| 2001 n° tipagens | 4 | 1 | 1 | 4 | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | - | 12 |
| n° erros | 0 | - | - | 1 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | 2 (16.7%) |
| 2002 n° tipagens | 4 | 1 | 1 | 8 | 6 | 8 | 6 | 7 | 6 | 6 | 6 | 1 | 61 |
| n° erros | - | - | - | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 1 (1.6%) |
| 2003 n° tipagens | 4 | 2 | 2 | 15 | 22 | 22 | 13 | 14 | 14 | 13 | 14 | 1 | 135 |
| n° erros | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 1 (0.7%) |

Passando agora à análise dos erros observados no corrente exercício, constata-se que a frequência global de erros é elevada (igual à do ano passado; 3,2%: 14 em 436 tipagens). Dos 14 erros observados, 11 estão mais associados à utilização de sistemas de detecção por coloração de prata e ALF. De facto, a taxa de erro nos utilizadores de sistemas ABI é de 0,6% (2 em 310) enquanto que nos utilizadores de sistemas ALF ou de coloração com prata, ultrapassa os 10%. Mesmo tendo em conta que 3 dos erros observados para tipagens recorrendo ao sistema ALF se observaram num só laboratório, (excluindo estes 3 erros) a frequência taxa de erro é ainda assim elevada (5.4%), especialmente quando comparada com outros sistemas de detecção automática.

| Detecção | Nº de Labs | Nº de tipagens | Nº de erros | % de erros |
|---------------|------------|----------------|-------------|------------|
| ABI310 | 18 | 199 | 2 | 1% |
| ABI377 | 5 | 52 | 0 | - |
| Prata | 10 | 52 | 6 | 11.5% |
| ABI3100 | 3 | 43 | 0 | - |
| ALF | 5 | 37 | 5 | 13.5% |
| ABI310/ABI377 | 1 | 16 | 0 | - |

| | | | | |
|-------------|---|---|---|---|
| FMBIO/Prata | 1 | 8 | 0 | - |
| FMBIO II | 1 | 6 | 1 | - |
| Radioactiva | 1 | 3 | 0 | - |

TABELA 3. Erros de tipagem

Nos casos assinalados a verde trata-se de situações em que se verificam inconsistências internas nos resultados do mesmo laboratório; nos restantes os erros são sistemáticos: todas as tipagens nesse sistema são reportadas com o mesmo número de repetições a mais ou a menos relativamente ao consensual.

| Marcador | Lab. | | Primers | Detecção | Ladder |
|-----------------|-------|--------------------------|-------------------------------|----------|--------------------|
| DYS19 | 16540 | 14→15 15→16 | Próprios | ALF | Nenhum |
| | 16566 | 14→15 (M5) | Y-6Plex | ABI310 | Y-6Plex |
| DYS385 | 16518 | 11/14→9/12 11/15→9/13 | Kayser et al., 1997 | ABI310 | Próprios |
| DYS389I | 16540 | ?10→11 | Próprios | ALF | Nenhum |
| DYS389II | 16540 | 24→25 | Próprios | ALF | Nenhum |
| | 16583 | 24→26 26→27 | Kayser et al., 1997 | Prata | Gusmão e Carracedo |
| | 16592 | 27→26 29→28 | Gusmão et al. | Prata | Próprios |
| | 18271 | 27→29 29→30 | Próprios (oligos de síntesis) | Prata | Próprios |
| DYS391 | 16530 | 10→9(M2) | Roewer | Prata | CC2002 |
| DYS393 | 16504 | 14→13 | Y-6Plex | FMBIO II | Y-6Plex |

| | | | | | |
|-------------|-------|-------|---------------------|-------|----------|
| | 16530 | 14→13 | Roewer | Prata | CC2002 |
| | 16564 | 15→14 | Próprios | ALF | Próprios |
| | 16569 | 14→13 | Kayser et al., 1997 | ALF | Próprios |
| A7.1 | 16522 | 11→10 | ?GENOSYS | Prata | Próprios |

Estes resultados sugerem as seguintes conclusões:

1. Em relação aos erros de nomenclatura observados para DYS389 I e II, há 5 laboratórios que continuam a utilizar a nomenclatura antiga (a qual já não é utilizada em publicações ou nas bases de dados disponíveis online desde 1999). Estes laboratórios deverão ajustar as suas bases de dados e resultados pela adição de 3 unidades de repetição à nomenclatura utilizada para estes dois marcadores.
2. Os laboratórios que apresentam erros não sistemáticos (4+?2 laboratórios) e que por isso não poderão ser atribuídos aos métodos de detecção ou à inadequação dos ladders alélicos, deverão rectificar os critérios de qualidade dos métodos de extracção e amplificação. Nomeadamente, verificar:
 - A especificidade do produto de amplificação (possibilidade de utilização de amostras contaminadas, temperaturas de "annealing" baixas ou um excesso do número de ciclos de PCR).
 - Necessidade de confirmação dos resultados através de duas amplificações ou confirmações da leitura independentes.

No caso do laboratório que utiliza um kit comercial e em que a detecção é feita num ABI310, este erro poderá ser atribuído um deficiente alinhamento do "size standard".

3. Dos 8 laboratórios que apresentam erros sistemáticos, 4 utilizam “ladders” próprios e atribuem um “repeat” menos ao valor real. Nestes casos, a causa de erro poderá ser atribuída à reamplificação dos “ladders” que faz com que diminua a intensidade do alelo de maior tamanho e aumente a intensidade do fragmento com menos um “repeat” que o menor alelo, devido ao “slipage”.

Este problema poderá ser solucionado com a utilização de amostras de referência (nomeadamente as do CQ-GEP de exercícios anteriores, as quais estão disponíveis através do contacto com os responsáveis do Grupo de trabalho em Crom. Y).

4. Outros dos 3 erros sistemáticos observam-se em laboratórios que não utilizam “ladders” (e nestes 3 casos atribuem um “repeat” mais ao valor real).

Estes laboratórios deverão utilizar “ladders” ou amostras de referência de forma a rectificar os seus erros.

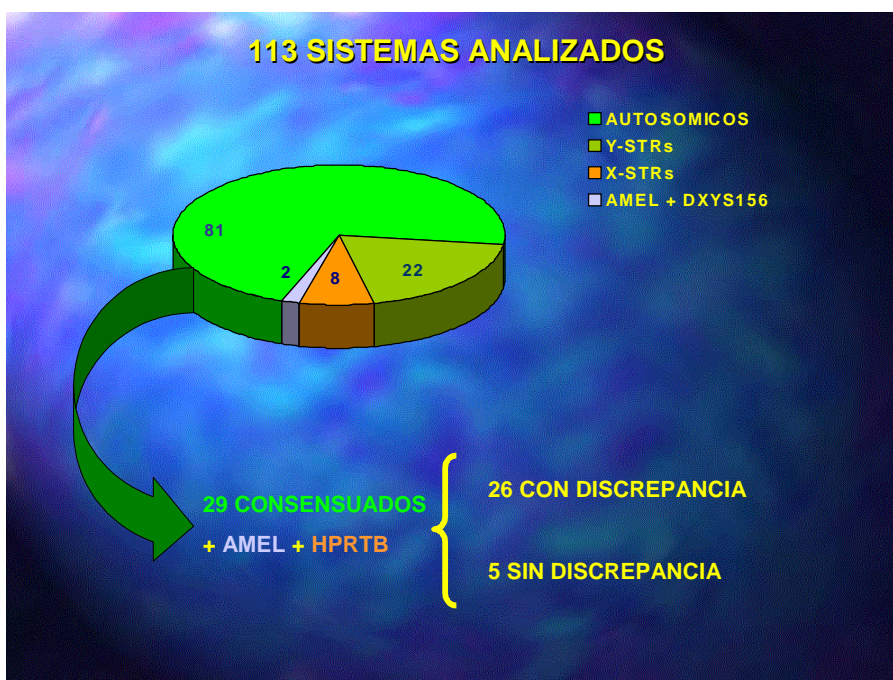
EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
RESULTADOS DISCREPANTES EN STRS AUTOSOMICOS

María Victoria Prieto
Sección de Biología
Instituto de Toxicología
Sevilla
España

Resultados discrepantes en STRs autosómicos

Como se ha visto otros años, se recibieron resultados de muchos sistemas (un total de 113), correspondiendo 81 a sistemas autosómicos y tan sólo 29 de éstos pudieron consensuarse. En este apartado se revisaron los errores o discrepancias en estos 29 sistemas a los que se sumaron la Amelogenina, aunque no es un STR pero por su amplia utilización y el HPRTB (cromosoma X) también por su extendido uso.

De estos 31 sistemas revisados, se encontraron 26 sistemas con discrepancias y sólo 5 sistemas sin ellas.



Entre los 86 laboratorios que emitieron resultados para estos 31 sistemas, se sumaron un total de 6036 determinaciones para las 5 muestras del control, presentándose un total de 142 discrepancias, lo que supone una tasa de error global del 2.3%.

Es una tasa muy alta, por eso es importante hacer una reflexión sobre los factores que la desvían de un rango de valores más aceptable.

Analizando separadamente el número de discrepancias por muestra, por laboratorio y por sistema se observan importantes sesgos en la distribución de los datos discrepantes:

- Distribución por muestra: Un 30% de los resultados discrepantes se concentran en la muestra M-5, que resultó ser la más conflictiva por incorrectas interpretaciones del perfil de la mezcla. También la M-3 se desvía del resto de las muestras debido a un laboratorio que presenta un cambio de muestra en la M-3, acumulando errores sobre ésta.

DISTRIBUCION POR MUESTRA DEL NUMERO DE DISCREPANCIAS FRENTE AL NUMERO DE DETERMINACIONES

| MUESTRA | DISCR./DETER. | % DISCR. | CODIS | % DISCREP. |
|---------|---------------|----------|--------|------------|
| M-1 | 24/1313 | 1.8 | 6/939 | 0.6 |
| M-2 | 18/1312 | 1.0 | 10/939 | 1.1 |
| M-3 | 39/1313 | 3.0 | 21/940 | 2.2 |
| M-4 | 18/1305 | 1.4 | 6/937 | 0.6 |
| M-5 | 43/797 | 5.4 | 27/525 | 4.7 |

- Distribución por laboratorio: De los 86 laboratorios, hay 51 que no presentan ninguna discrepancia, quedando las 142 discrepancias repartidas entre 35 laboratorios y su distribución dista mucho de ser aleatoria. Un solo laboratorio acumula 19 discrepancias en los 14 sistemas que analiza, aunque todos estos errores puedan resumirse en dos, ya que se deben a un cambio de muestra (el perfil de la M-4 aparece también en la M-3) y a una mala interpretación de la mezcla de la M-5. Los casos más llamativos y que pueden calificarse de graves son los de dos laboratorios que acumulan cada uno 15 discrepancias y que presentan resultados idénticos entre ellos. Lo mismo ocurre para otros dos laboratorios con 6 discrepancias cada uno, también con idénticos resultados. Expresándolo en números, tenemos que 7 laboratorios acumulan 77 discrepancias, y para los amantes de los porcentajes el 8% de los laboratorios acumulan un 55% de los errores.

DISTRIBUCION DE DATOS DISCREPANTES POR LABORATORIO

| Nº LABS | DISCREP. | % SOBRE TOTAL DISCREPANCIAS | |
|-----------|------------|-----------------------------|--|
| 1 | 19 | 13.4 | |
| 2 | 15 | 21.1 | 5 LABS (6%) CONCENTRAN 65 DISCREPANCIAS (46%) |
| 1 | 9 | 6.3 | |
| 1 | 7 | 4.9 | |
| 2 | 6 | 8.5 | 7 LABS (8%) CONCENTRAN 77 DISCREPANCIAS (55%) |
| 4 | 5 | 14.1 | |
| 2 | 4 | 5.6 | |
| 4 | 3 | 8.5 | |
| 7 | 2 | 9.9 | |
| 11 | 1 | 7.7 | |
| 51 | 0 | 0 | |
| 86 | 142 | 100 % | |

- Distribución por sistemas: También aquí observamos un claro sesgo de los resultados ya que en un solo sistema, el F13A01, se concentran cerca del 25% de las discrepancias.

**DISTRIBUCION DE DATOS DISCREPANTES
POR SISTEMAS**

| Nº LABS | DISCREPANCIAS | Nº DISCREP. / Nº SIST. ANALIZADOS |
|-----------|---------------|--|
| 1 | 19 | 14 / 14 |
| 2 | 15 | 7 / 12 , 7 / 12 |
| 1 | 9 | 2 / 19 |
| 1 | 7 | 4 / 12 |
| 2 | 6 | 3 / 20 , 2 / 18 |
| 4 | 5 | 2 / 14 , 2 / 20 , 1 / 17 , 2 / 16 |
| 2 | 4 | 1 / 12 , 1 / 9 |
| 4 | 3 | 2 / 22 , 3 / 13 , 3 / 13 , 1 / 16 |
| 7 | 2 | 1 / 12 , 1 / 12 , 2 / 15 , 1 / 17 , 1 / 20 , 2 / 16 , 2 / 21 |
| 11 | 1 | |
| 51 | 0 | |
| 86 | 142 | |

Vistos los elementos de sesgo más importantes podemos ver como afectan a la tasa de error global:

- Se ha estimado una tasa de error global del 2.3 %
- Si prescindimos de un solo sistema, el F13A01, nos quedamos con una tasa de error del 1.8%.
- Si prescindimos de 3 laboratorios, la tasa de error sería del 1.6%
- De forma combinada, si prescindimos de 1 sistema y 3 laboratorios, la tasa de error se reduce al 1.2%.

SESGO EN EL NUMERO DE DATOS DISCREPANTES

POR SISTEMAS

| | | | | | |
|-----------|--------|-----|--------|--------|--------|
| HUMF13A01 | 5/5 | 5/6 | 5/15 | | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 6/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 6/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/15 | 5/6 | 5/15 | 6/15 | |
| | 5/5 | 5/6 | 5/5 | 6/6 | 6/6 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/15 | 5/6 | 5/15 | 6/15 | 6/15 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/6 |
| | 4/5 | 5/6 | 4/5 | 4/6 | 4/6 |
| | | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16.2 | 5/6 | 5/16.2 | 6/16.2 | 6/16.2 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 4/5 | 4/6 | 4/5 | 4/6 | 4/6 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 4/5 | 4/6 | 4/5 | 4/6 | 4/6 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/5 | 5/6 | | | |

SESGO EN EL NUMERO DE DATOS DISCREPANTES

POR LABORATORIOS

LAB A

| | | | | | |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| HUMTH01 | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 |
| HUMVWA | 18/19 | 17/20 | 18/20 | 18/20 | 16/19 |
| HUMTPOX | 8/11 | 8/11 | 8/11 | 8/11 | 8/11 |
| HUMCSF1PO | | 11/12 | 11/12 | 11/12 | 11/12 |
| HUMFIBRA/FGA | 21/22 | 21/21 | 21/22 | | 22/24 |
| D21S11 | 28/29 | 28/29 | 28/28 | 28/28 | 28/30 |
| D3S1358 | 17/17 | 16/18 | 16/17 | 16/17 | 14/17 |
| D5S818 | 11/12 | 11/11 | 11/12 | 11/12 | 11/12 |
| D13S317 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | 9/12 |
| D7S820 | 8/8 | 10/11 | 8/10 | 8/10 | 10/13 |
| D18S51 | 12/13 | | 13/13 | | 12/12 |
| D8S1179 | 11/12 | 14/15 | 12/15 | 12/15 | 13/13 |
| D16S539 | 11/12 | 11/11 | 11/11 | 11/11 | 11/12 |
| AMELOGENINA | X/X | X/Y | X/Y | X/Y | X/X |

SESGO EN EL NUMERO DE DATOS DISCREPANTES

LAB B

| | | | | | |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| HUMFES/FPS | 11/11 | 10/11 | 11/11 | 10/11 | 11/11 |
| HUMTH01 | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | 7/9.3 |
| HUMF13A01 | 4/5 | 4/6 | 4/5 | 4/6 | 4/6 |
| HUMVWA | 18/19 | 17/20 | 16/20 | 18/20 | 19/19 |
| HUMTPOX | 8/11 | 8/11 | 10/11 | 8/11 | 8/11 |
| HUMCSF1PO | 12/12 | 11/12 | 10/12 | 11/12 | 11/12 |
| HUMF13B | 10/10 | 9/10 | 8/10 | 10/10 | 9/9 |
| HUMLPL | 11/11 | 10/11 | 10/11 | 11/11 | 11/11 |
| HUMPRTB | 12/13 | 12/12 | 13/13 | 13/13 | 12/13 |
| D13S317 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | 9/12 |
| D7S820 | 8/9 | 9/9 | 7/9 | 8/9 | 9/9 |
| D16S539 | 11/12 | 11/11 | 12/12 | 11/11 | 11/12 |

LAB C

| | | | | | |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| HUMFES/FPS | 11/11 | 10/11 | 11/11 | 10/11 | 11/11 |
| HUMTH01 | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | 7/9.3 |
| HUMF13A01 | 4/5 | 4/6 | 4/5 | 4/6 | 4/6 |
| HUMVWA | 18/19 | 17/20 | 16/20 | 18/20 | 19/19 |
| HUMTPOX | 8/11 | 8/11 | 10/11 | 8/11 | 8/11 |
| HUMCSF1PO | 12/12 | 11/12 | 10/12 | 11/12 | 11/12 |
| HUMF13B | 10/10 | 9/10 | 8/10 | 10/10 | 9/9 |
| HUMLPL | 11/11 | 10/11 | 10/11 | 11/11 | 11/11 |
| HUMPRTB | 12/13 | 12/12 | 13/13 | 13/13 | 12/13 |
| D13S317 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | 9/12 |
| D7S820 | 8/9 | 9/9 | 7/9 | 8/9 | 9/9 |
| D16S539 | 11/12 | 11/11 | 12/12 | 11/11 | 11/12 |

SESGO EN EL NUMERO DE DATOS DISCREPANTES

TASA DE ERROR ESTIMADA: 2.3 %

SI SE EXCLUYE HUMF13A01 (25 % DISCREP.)

TASA DE ERROR: 1.8 %

SI SE EXCLUYEN LABS A, B y C (35 % DISCREP.)

TASA DE ERROR: 1.6 %

EXCLUYENDO 1 SISTEMA Y 3 LABORATORIOS:

TASA DE ERROR: 1.2 %

En cuanto a la tipificación de los errores para este control, los más importantes en cuantía han sido la incorrecta interpretación del perfil de la mezcla (M-5) y los desfases de una repetición. Se observa también una acumulación de discrepancias en los sistemas de detección manuales frente a la detección automatizada (aproximadamente un 25% del total de las determinaciones se hizo con tinción de plata acumulando 63 discrepancias de las 142 totales).

TIPIFICACION DE LAS DISCREPANCIAS

1. INTERPRETACION INCORRECTA DEL PERFIL EN LA MEZCLA

43 DISCREPANCIAS (30%)

TIPIFICACIÓN DE LAS DISCREPANCIAS

2. DESFASE DE UNA REPETICIÓN: 27% DISCREP.

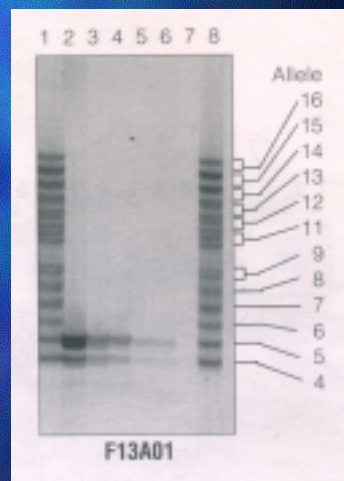
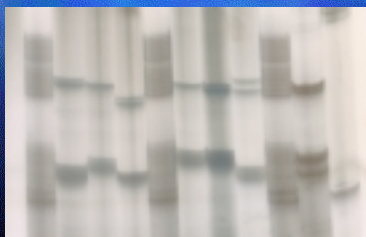
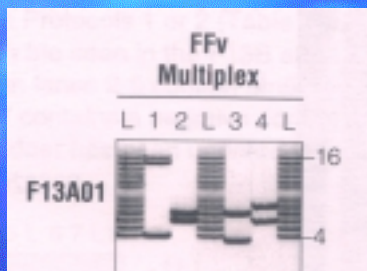
| | | | | | |
|----------------|-------|-------|-------|-------|----------|
| D12S391 | | | | | |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | |
| | 21/24 | 19/24 | 24/24 | 21/24 | 21/24 |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | 20/23 |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | 20/23 |
| | 20/23 | 18/23 | 23/23 | 20/23 | 20/23 |
| D8S1179 | | | | | |
| | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | |
| | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | 12/13/15 |
| | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | 12/13/15 |
| | 12/13 | 15/16 | 13/13 | 12/15 | 12/13/15 |
| | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | 12/13/15 |
| | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | 12/13/15 |
| | 11/12 | 14/15 | 12/12 | 12/15 | 12/13/15 |

TIIFICACIÓN DE LAS DISCREPANCIAS 2. DESFASE DE UNA REPETICIÓN

| | | | | | |
|--------|------|-----|------|------|------|
| F13A01 | 5/16 | 5/6 | 6/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 6/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | |
| | 5/15 | 5/6 | 5/15 | 6/15 | |
| | 5/5 | 5/6 | 5/5 | 6/6 | 6/6 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/15 | 5/6 | 5/15 | 6/15 | 6/15 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/16 |
| | 5/16 | 5/6 | 5/16 | 6/16 | 6/6 |

TIIFICACIÓN DE LAS DISCREPANCIAS

LADDER F13A01



TIIFICACION DE LAS DISCREPANCIAS

5. ERRORES EN LA MUESTRA: 8% DISCREPANCIAS

| | | | | | |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| HUMTH01 | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 |
| HUMVWA | 18/19 | 17/20 | 18/20 | 18/20 | 16/19 |
| HUMTPOX | 8/11 | 8/11 | 8/11 | 8/11 | 8/11 |
| HUMCSF1PO | | 11/12 | 11/12 | 11/12 | 11/12 |
| HUMFIBRA/FGA | 21/22 | 21/21 | 21/22 | | 22/24 |
| D21S11 | 28/29 | 28/29 | 28/28 | 28/28 | 28/30 |
| D3S1358 | 17/17 | 16/18 | 16/17 | 16/17 | 14/17 |
| D5S818 | 11/12 | 11/11 | 11/12 | 11/12 | 11/12 |
| D13S317 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | 9/12 |
| D7S820 | 8/8 | 10/11 | 8/10 | 8/10 | 10/13 |
| D18S51 | 12/13 | | 13/13 | | 12/12 |
| D8S1179 | 11/12 | 14/15 | 12/15 | 12/15 | 13/13 |
| D16S539 | 11/12 | 11/11 | 11/11 | 11/11 | 11/12 |
| AMELOGENINA | X/X | X/Y | X/Y | X/Y | X/X |

| | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|
| D13S317 | 11/13 | 11/13 | 11/13 | 11/11 |
| | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 |

TIIFICACION DE LAS DISCREPANCIAS

6. NO DISCRIMINACION DE REPETICIONES INCOMPLETAS: 6% DISCREPANCIAS

| | | | | |
|--------|---------|---------|---------|---------|
| ACTBP2 | 16/29.2 | 15/31 | 15/28 | 15/29.2 |
| | 16/29.2 | 15/31.2 | 15/28.2 | 15/29.2 |

| | | | | | |
|------|-----|-------|-------|-------|-----------|
| THO1 | 6/6 | 9/10 | 6/10 | 6/10 | 7/8/10/10 |
| | 6/6 | 9/9.3 | 6/9.3 | 6/9.3 | 6/7/9.3 |

TIIFICACION DE LAS DISCREPANCIAS
7. SIN EXPLICACIÓN: 7% DISCREPANCIAS

| | | | | | | |
|--------|---|-----|-------|------|------|---------|
| D7S820 | B | 8/9 | 9/9 | 7/9 | 8/9 | 9/9 |
| | C | 8/9 | 9/9 | 7/9 | 8/9 | 9/9 |
| | | 8/8 | 10/11 | 7/10 | 8/10 | 8/10/13 |

| | | | | | |
|-----|-------|-------|-------|-------|----------|
| FGA | 21/21 | 20/21 | 20/23 | 21/21 | 21/23 |
| | 21/22 | 21/21 | 21/24 | 21/22 | 21/22/24 |

TIIFICACION DE LAS DISCREPANCIAS
8. ERRORES DE TRANSCRIPCIÓN

| | | | | | |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| CSF1PO | 12/12 | 12/13 | 10/12 | 11/12 | |
| | 12/12 | 11/12 | 10/12 | 11/12 | |
| D3S317 | 11/13 | 11/11 | 11/13 | 11/13 | 11/12/13/19 |

DISTRIBUCIÓN POR SISTEMAS DE DETECCIÓN

| SISTEMAS DE DETECCION | DISCREPANCIAS | |
|-----------------------|---------------|-------|
| TNP | 63 | 44% |
| RADIOACTIVO | 5 | 3.5% |
| ABI 310 | 27 | 19% |
| ABI 3100 | 6 | 4.2% |
| ABI 377 | 21 | 14.8% |
| ALF | 18 | 12.7% |
| FMBIOII | 2 | 1.4% |

CONCLUSIONES RELEVANTES

- DE UN TOTAL DE 81 SISTEMAS AUTOSÓMICOS, SÓLO 29 CONSENSUADOS (+ AMEL, + HPRTB)
- LA TASA DE ERROR GLOBAL ES DE 2.3 %
- SE APROXIMARÍA AL 1 % SI NOS LIMITAMOS A LOS SISTEMAS DEL CODIS
- SERÍA DEL 1.2 % SI PRESCINDIMOS DE 1 SISTEMA Y 3 LABORATORIOS
- EL 30 % DE LAS DISCREPANCIAS SE CONCENTRAN EN LA MEZCLA (M-5)

Para finalizar, recogemos las conclusiones más relevantes de este análisis:

- De un total de 81 sistemas autosómicos analizados, sólo 29 alcanzaron el consenso.
- La tasa de error global es del 2.3%.
- Sería del 1.2% prescindiendo de 1 sistema y 3 laboratorios.
- Se aproximaría al 1% si nos limitamos a los sistemas del CODIS y prescindimos de la mezcla M-5.

EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
RESULTADOS PATERNIDAD TEORICA

Manuel López

Pilar Sanz

Sección de Biología

Instituto de Toxicología

Sevilla

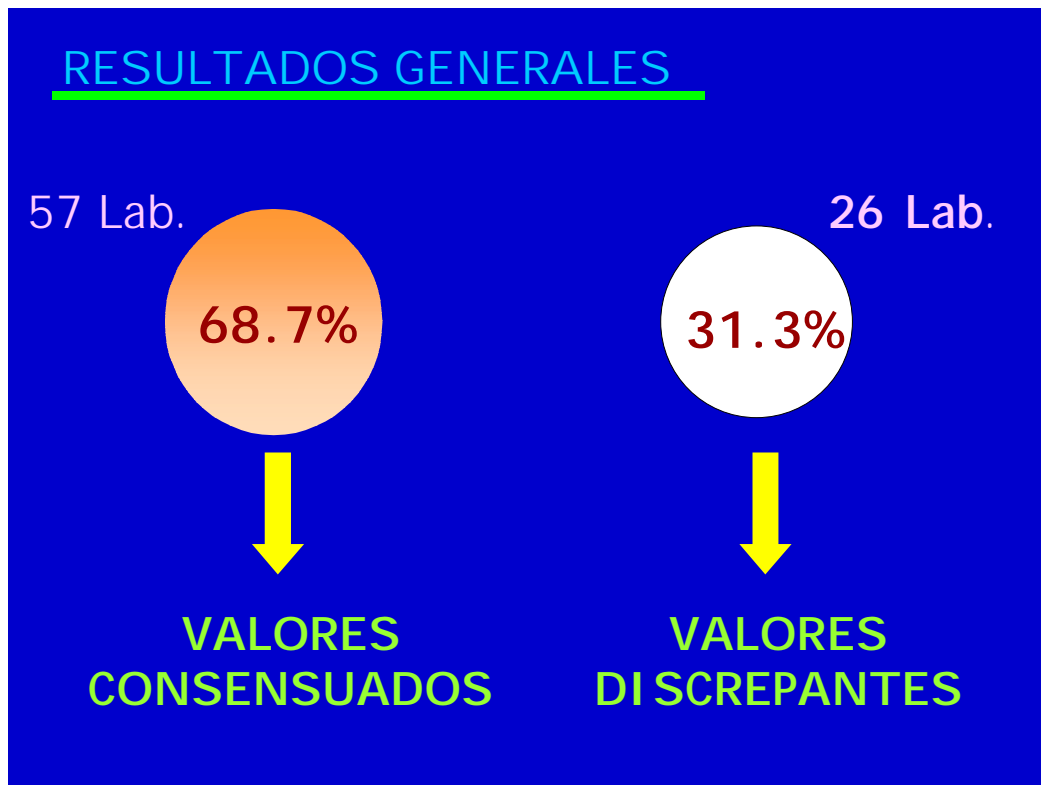
España

Aunque el planteamiento teórico propuesto para este ejercicio pretendía asentar los cálculos estadísticos en la resolución de casos de filiación relativamente sencillos, los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que aún queda camino por recorrer para alcanzar unos resultados satisfactorios. Se planteó un caso teórico frecuente en cualquier laboratorio de genética forense y/o especializado en el diagnóstico de paternidad: madre, hijo y en ausencia del presunto padre se aportaban los datos de los abuelos paternos. El caso se podía resolver directamente como una abuelidad o bien reconstruyendo al posible presunto padre a partir de los abuelos y resolviéndolo como paternidad.

DATOS PATERNIDAD TEÓRICA

| | HIJO | MADRE | PRESUNTO ABUELO PATERNO | PRESUNTA ABUELA MATERNA |
|------------------|-------------|--------------|--|--|
| HUMTHO1 | 6/9 | 6/9.3 | 7/8 | 7/9 |
| HUMTPOX | 8/8 | 8/8 | 8/11 | 6/12 |
| HUMCSF1PO | 10/12 | 10/12 | 11/11 | 12/12 |
| D3S1358 | 15/18 | 17/18 | 15/16 | 17/18 |
| HUMVWA | 16/16 | 16/18 | 16/16 | 16/17 |
| HUMFGA | 21/24 | 24/24 | 20/21 | 21/24 |
| D5S818 | 11/14 | 11/11 | 11/11 | 12/14 |
| D13S818 | 8/11 | 8/12 | 8/8 | 8/11 |
| D7S820 | 11/13 | 12/13 | 10/11 | 8/8 |

De los 83 laboratorios que presentaron resultados para el cálculo teórico, sólo 57 dieron valores consensuados (68.7%) mientras que los 26 laboratorios restantes dieron valores discrepantes (31.3%). Estas discrepancias aparecieron por distintos tipos de errores tanto en los valores correspondientes a los Índices de Paternidad Parciales (IP parciales) como al valor del Índice de Paternidad global (IP global).



Con respecto a las discrepancias en el valor del IP global, 22 laboratorios dieron resultados no consensuados que se repartieron de la siguiente forma: 15 laboratorios presentaron discrepancias como consecuencia de las de los valores de los IP parciales; 1 laboratorio unió al valor discrepante del IP parcial un error de transcripción; 4 laboratorios confundieron W (Probabilidad de Paternidad) con el IP global y por último, 2 laboratorios hicieron un cálculo incorrecto de la W.

En 26 laboratorios se observaron valores no consensuados para los IP parciales. Dentro de este apartado, las discrepancias se debieron a diferencias en el valor del IP parcial para un único marcador o incluso, como ocurriera en

dos laboratorios, en todos los marcadores. A pesar de que se especificó un apartado de “Fórmulas” (a rellenar dentro de la documentación del Control de Calidad), no se pudo comprobar donde estaba la causa de dichas discrepancias con respecto a los IP parciales presentados por estos laboratorios, debido a que no se precisó con detalle el cálculo de las mismas.

No obstante destacó que el marcador para el que el hijo y la madre eran iguales (CS1PO), acumuló el mayor número de errores.

Análisis de discrepancias. IP global

➔ **22 Lab. discrepantes**

Discrepancias IP parciales

Idem + Error transcripción

Confusión W por IP

W: 12 Lab no la calculan
4 Lab IP Global bien

Error en cálculo W

| Código | IP GLOBAL | W |
|--------|------------|-----------|
| 16505 | 260,07 | 0,9962 |
| 16511 | 1063898,00 | |
| 16516 | 282,44 | |
| 16517 | 98,57 | |
| 16520 | 35,46 | 0,9726 |
| 16521 | 98,57 | |
| 16523 | 197,98 | 100% |
| 16527 | 98,19 | 0,9899 |
| 16530 | 99,99 | |
| 16531 | 260,04 | 99,62% |
| 16538 | 294,29 | 0,9966 |
| 16540 | 69,00 | |
| 16546 | 186,75 | 0,9946 |
| 16563 | 137,67 | 0,9928 |
| 16564 | 93,97 | |
| 16575 | 82,64 | 0,998 |
| 16577 | 102,96 | 0,9904 |
| 16581 | 4374,12 | |
| 16585 | 35,46 | w 36,4647 |
| 16587 | 1684,61 | 0,9994 |
| 16592 | 130,00 | 0,9925 |
| 18136 | 2467,32 | |
| moda | 141,8523 | 99,3 |

| RESUMEN DE DISCREPANCIAS EN IP PARCIALES | | | | | | | | | | |
|--|------|-----|------|--------|-----|----|----|-----|----|--------------------------|
| LAB | THO1 | VWA | TPOX | CSF1PO | FGA | D3 | D5 | D13 | D7 | FÓRMULAS |
| 16504 | | | ? | | | | | | | fórmulas generales |
| 16505 | | | | X | | | | | | explicación correcta |
| 16511 | | | | | X | | | | | fórmulas generales |
| 16516 | | t | X | | | | | | | "definición" |
| 16517 | | | | X | | | | | | referencia bibliográfica |
| 16520 | | | | | | | X | | | explicación correcta |
| 16521 | | | | X | | | | | | referencia bibliográfica |
| 16523 | X | X | | | | X | | | | fórmula general |
| 16527 | | | | | | | X | | | GEP |
| 16528 | | | | | C? | | | | | bibliogr. expl. correcta |
| 16530 | X | X | X | X | X | X | X | X | X | NO ACLARA |
| 16531 | | | | X | | | | | | referencia bibliográfica |
| 16538 | | | | | | | | X | | referencia bibliográfica |
| 16540 | | | X | X | | | | | X | |
| 16546 | | | | X | | | | | | ? |
| 16563 | | | | X | | | | | | referencia bibliográfica |
| 16564 | | X | t | | | | | | | ? |
| 16575 | ? | | | | X | | | | | |
| 16577 | | | | | | | X | | | fórmulas generales |
| 16580 | | | X | | | | | | | explicación correcta |
| 16581 | | | | X | | | | | X | NO ACLARA |
| 16585 | | | X | X | | | | | | GEP |
| 16587 | | | | | X | | | X | | fórmulas generales |
| 16592 | | | | X | | | | | | referencia bibliográfica |
| 16598 | | | | C? | | | | | | fórmulas generales |
| 18136 | X | X | X | X | X | X | X | X | X | |

¿Cómo se resuelve?

ABUELIDAD

THO1

X= alelos presentes en los abuelos que comparten con el nieto/ 4

Y= Frecuencia del alelo compartido

$$IP = \frac{1/4}{\text{Fre } 9} = 1.2873$$

Abo 7-8
Aba 7-9
Nieto 6-9

PATERNIDAD

| Genotipos Padre | Frecuencia | IP | IP x Frecuencia |
|-----------------|------------|------------|-----------------|
| 7-7 | 1/4 | 0 | 0 |
| 7-9 | 1/4 | 0.5/Frec 9 | 0.125/Frec 9 |
| 7-8 | 1/4 | 0 | 0 |
| 8-9 | 1/4 | 0.5/Frec 9 | 0.125/Frec 9 |

Sumatorio de IP x Frec = 1.2873

¿Cómo se resuelve? I I

ABUELIDAD

$$IP = \frac{2/4}{\text{Fre } 10 + \text{Fre } 12} = 0.8248$$

CSF1PO

Abo 11-11
Aba 12-12
Nieto 10-12

PATERNIDAD

| Genotipos Padre | Frecuencia | IP | IP x Frecuencia |
|-----------------|------------|-------------------|-----------------|
| 11-12 | 1 | 0.5/Fre 10+Fre 12 | 0.8248 |

¿Cómo se resuelve? I I I

ABUELIDAD

$$IP = \frac{3/4}{\text{Fre } 16} = 3.3274$$

vWA

Abo 16-16
Aba 16-17
Nieto 16-16

PATERNIDAD

| Genotipos Padre | Frecuencia | IP | IP x Frecuencia |
|-----------------|------------|------------|-----------------|
| 16-16 | 1/2 | 1/Fre 16 | 0.5/Fre 16 |
| 16-17 | 1/2 | 0.5/Fre 16 | 0.25/Frec 16 |

Sumatorio de IP x Frec = 3.3274

Por último, la gran mayoría de los laboratorios concluyeron en primer lugar que no era posible excluir al presunto padre biológico como padre biológico del hijo en cuestión, y en segundo lugar, indicaron que en un caso real habría que aumentar el número de marcadores a analizar.

EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
RESULTADOS ADN MITOCONDRIAL

Antonio Salas
Instituto de Medicina Legal
Universidad de Santiago
España

Muestras enviadas

- M-1 sangre de la madre
- M-2 sangre del padre
- M-3 sangre del presunto hijo
- M-4 sangre de presunto hijo
- M-5 muestra de sangre (mezcla)
- M-6 cabellos (solo para ADNmt)

Participación de los laboratorios

La participación en esta última edición del ejercicio de ADNmt (27 laboratorios de un total de 85; ~32%) aumenta ligeramente con respecto al ejercicio anterior (24/80; ~30%). El porcentaje de los laboratorios que hacen las muestras de sangre disminuye ligeramente y aumenta el número de los mismos que emite resultados para el pelo, lo cual no es de extrañar si consideramos que en la pasada edición hubo problemas generalizados con el análisis de los mismos. Tan solo algunos laboratorios emiten resultados para la muestra M-5.

En conclusión, el número de laboratorios que analiza ADNmt no aumenta significativamente, lo cual contrasta con el incremento que ha experimentado por ejemplo el número de grupos que tipa microsatélites del cromosoma Y (~53%), marcadores que se han introducido con posterioridad en los ejercicios del GEP-ISFG.

Esto nos lleva a pensar que el análisis de ADNmt no es sencillo para la mayor parte de los laboratorios, máxime si tenemos en cuenta que una buena parte de ellos ya cuenta con secuenciadores automáticos. Esta conclusión se deduce también cuando observamos que el número de laboratorios que tipan ADNmt en muestras con cierto grado de complejidad (como M-5) disminuye; es decir, dentro de los laboratorios que hacen ADNmt, un porcentaje aún más reducido emite resultados para muestras complejas.

Resultados

Casi todos los laboratorios analizan ambas regiones hipervariables HVS-I y HVS-II.

Dentro de los laboratorios que emiten resultados, la mayor parte analiza las muestras de sangre (M-1 / M-2 / M-3 / M-4; 89%). Sin embargo este porcentaje disminuye cuando observamos el número de laboratorios que analiza las muestras de sangre y la muestra M-5 ó M-6 (67%), ó mas significativamente cuando vemos el número de laboratorios que emite resultados para las 6 muestras (48%).

En cuanto a los resultados consensuados, se deduce de las estadísticas que la muestra M-5 ha sido la causante de una buena parte de los problemas. Afortunadamente, el pelo ha sido analizado con éxito por un número significativo de laboratorios (72%; sobre todo si tenemos en cuenta los resultados del control anterior).

De las paradojas que surgen en este tipo de controles destacamos lo siguiente: dentro de las muestras de sangre (M-1 / M-2 / M-3 / M-4), existe más laboratorios que reportan resultados para aquellas muestras que pertenecen al mismo linaje mitocondrial (M-1 / M-3 / M-4), que para la que pertenece a un linaje distinto (M-2).

- Sabemos a priori que M-1 / M-3 / M-4 (marcadores autosómicos; cromosoma Y) pertenecen al mismo linaje (por lo tanto deducimos que deben de tener la misma secuencia).
- Los laboratorios repiten los mismos errores en las tres muestras del mismo linaje M-1 / M-3 / M-4.

Deducimos que los laboratorios tienden a reparar errores después de llegar a la secuencia consenso que surge cuando se comparan secuencias que potencialmente proceden del mismo linaje. Si bien no se critica esta práctica 'comparativa', otros mecanismos implicados en la generación de errores deberían ser también practicados con mayor asiduidad (ver más adelante). Una buena práctica es analizar el ADNmt, cromosoma Y, y autosomas independientemente dentro de cada laboratorio, desconociendo el *a priori* de parentesco que nos proporciona cada uno de estos marcadores sobre la posibilidad de compartir linajes por descendencia. Por supuesto, la comparación *a posteriori* nos ayudará a esclarecer algunos de los problemas que surgen durante el tipado de por ejemplo el ADNmt. Otros mecanismos tales como la compatibilidad filogenética de los resultados de secuenciación han demostrado ser de gran utilidad para reparar errores. En las diapositivas se muestran algunos ejemplos.

Un número reducido de laboratorios analizan las muestras M-5 (18/27) y M-6 (19/27) y el porcentaje de los que reportan el resultado consenso en estas muestras es inferior al de las muestras de sangre (especialmente la muestra M-5).

Metodología

En cuanto a la metodología empleada para el análisis del ADNmt no se ha podido establecer ninguna correlación entre el uso de determinados métodos o aparatos de tipado con el número y tipo de errores cometidos. Apenas se ha detectado evolución en cuanto a los métodos utilizados por los miembros del grupo, si bien el número de secuenciadores multicapilares va en aumento en los laboratorios del GEP-ISFG.

Si es de destacar un hecho importante. Hay laboratorios que secuencian fragmentos de un tamaño determinado (p.e. 48–408) pero que luego editan la secuencia de un fragmento más corto (p.e. 90–340). En este ejercicio se ha dado la situación de laboratorios que pierden variantes tales como 073 en HVS-II y 16362 en HVS-I. Es importante editar el mayor fragmento posible, a poder ser, toda la región control.

Resultados fuera de consenso

Merece la pena comentar algún aspecto destacable de los resultados de la muestra M-5. Se trata de una mezcla entre la muestra M-4 (recordemos que M-1 y M-3 pertenecen a su mismo linaje mitocondrial) y un individuo no emparentados con M-1 / M-2 / M-3 / M-4. El componente minoritario es 16189C 16256T 16270T 16362C / 073G 185A 204C 263G 309.1C 315.1C, mientras que el mayoritario es 16051G 16189C 16270T / 073G 146C 150T 263G 309.1C 315.1C. Por lo tanto el resultado consenso debería de ser 16051G/A 16189C 16256C/T 16270T 16362T/C / 73G 146C/T 150T/C 185G/A 204T/C 263G 309.1C 315.1C (independientemente de que algún laboratorio pudiera detectar el perfil minoritario dentro de la mezcla y por lo tanto definir las heteroplasmías ‘artificiales’ en términos de G>A, etc; nótese que se utiliza el término heteroplasmía por motivos prácticos). Casi todos los laboratorios detectan todas estas heteroplasmía, aunque existe mucha heterogeneidad en las nomenclaturas y en la descripción de las mismas. Como conclusión a los análisis de dicha muestra se puede decir que:

- a) Un porcentaje minoritario de laboratorios atribuyen la mezcla presente en la mancha de sangre M-5 a la contribución de una sangre portadora de un ADNmt igual al de M-1, M-3, M-4 más otra-s sangres perteneciente-s a otro-s linaje-s
- b) Solo tres laboratorios describen las mutaciones que pueden participar en la mezcla del haplotipo mayoritario/minoritario. Solamente uno de ellos propone los dos haplotipos (es decir, no las mutaciones aisladas, sino la combinación de las mismas en los haplotipos correspondientes) que

contribuyen a la mezcla. De este último resultado se concluye que existe la posibilidad de detectar los componentes de la mezcla en todos sus términos. No obstante esto depende en gran medida de las condiciones de la muestra y sobre todo de los haplotipos que la conforman.

Un laboratorio ha manifestado que el ADNmt no lo considera como recurso habitual para detectar y definir una mezcla. Evidentemente, el ADNmt no es el método ideal cuando existe la posibilidad de tipar otros marcadores (la misma filosofía se utiliza para casos de no-mezclas). Sin embargo, se podrían plantear algunos escenarios en donde el ADNmt fuese el único recurso para solucionar un caso. Resaltar el hecho de que de todas formas, el ADNmt no siempre garantiza el éxito en la identificación de los haplotipos responsables de la mezcla.

Independientemente de la idoneidad del tipado del ADNmt en casos de mezclas, no cabe duda de que en este control ha sido de gran utilidad para conocer algunas deficiencias en el tipado de muestras complejas.

Tipos de errores detectados en el control

Del estudio del espectro mutacional se puede deducir con bastante acierto determinadas causas de errores:

- a) Un porcentaje significativo se le podría atribuir a electroferogramas deficientes (31%). Esto afectaría por ejemplo a inicio y finales de secuencia, tal y como se pone de manifiesto en errores de tipado en la posición 16362 en HVS-I y 073 de la HVS-II
- b) Errores de edición: siguen siendo muy comunes (44%). Son fácilmente evitables si se toman las medidas oportunas en los laboratorios.
- c) Contaminación (25%). La contaminación ha afectado fundamentalmente al análisis del pelo (6 de los 11 casos detectados). Existe un caso que es especialmente preocupante: los primers de amplificación/secuenciación de la region HVS-I están contaminados, de forma que el laboratorio emite el mismo resultado en HVS-I para todas las muestras y diferente

para la HVS-II. Este hecho se evidencia cuando uno examina los resultados en su conjunto y cuando se aplican ciertos criterios filogenéticos de incompatibilidad. Obviamente en este laboratorio los controles de amplificación y secuenciación no se han utilizado. Este tipo de contaminación puede pasar desapercibido en muchas ocasiones y puede resultar especialmente dañino para la pericia mitocondrial.

Se han detectado también problemas en cuanto a diferencias de nomenclaturas. Debemos tener en cuenta que este tipo de problemas entran dentro de la categoría de errores (en la mayor parte de los casos) y no dentro de los problemas de consenso de nomenclatura (como puede suceder en heteroplasmías de longitud o casos aislados). Sus consecuencias pueden ser tan perjudiciales como cualquier otro error.

Una valoración final e importante: el 58% de los errores se concentra en sólo 3 laboratorios que no son de nueva incorporación en los controles de ADNmt de la GEP-ISFG. Estos laboratorios deberían hacer un esfuerzo especial en su rutina y en futuros controles del grupo.

Recomendaciones de cara a futuros ejercicios

- En general, pero sobre todo en el análisis del ADNmt debemos tener especial cuidado con la contaminación.
- Los errores de edición son abundantes (esto afecta también a otros marcadores). Estos errores son los más fáciles de solucionar si se toman ciertas precauciones en la rutina de cada laboratorio.
- Existen males menores pero también importantes como son la nomenclatura en trectos homopoliméricos y las heteroplasmías en general.

Agradecimientos

Gracias por la colaboración a Ángel Carracedo, María Victoria Lareu, Vanesa Álvarez, Beatriz Sobrino, Lourdes Prieto, Marta Montesino y Elena Rivas.

También al grupo organizador del congreso en Oporto (Antonio Amorim, Leonor Gusmão, Cintia Alves, y Luisa Pereira) y a la dirección del GEP-ISFG (Oscar García, Antonio Alonso, Ion Uriarte y Cristina Albarán). Y como no, a Josefina Gómez.

**Sesión de Presentaciones de los Grupos de Trabajo del GEP-ISFG
durante las VIII Jornadas de Genética Forense.**

Oporto 4-6 Junio 2003

***(Resumen de la Sesión realizado por Antonio Alonso coordinador de los
GT del GEP-ISFG)***

En esta sesión de trabajo se realizó un repaso de la actividad de los distintos grupos de trabajo, con un detenimiento especial en los documentos, actividades e iniciativas realizadas durante el periodo entre congresos (2002-2003).

GT de ADN mitocondrial (Coordinadores: Juan Antonio Luque y Manuel Crespillo)

Al no asistir ninguno de los coordinadores de este grupo de trabajo a la sesión y no existir ninguna iniciativa nueva o prevista se continúa con el siguiente grupo de trabajo.

Propuesta: Necesidad de redefinir los objetivos del grupo ante la baja participación observada en los últimos años.

GT de ADN Nuclear (Coordinadores: Oscar García e Ion Uriarte)

Oscar García como máximo responsable de este grupo pidió de nuevo la colaboración de todos para el envío de nuevos datos y en especial de todos aquellos que hayan sido aceptados para publicación.

Propuesta1: A este respecto Ángel Carracedo lanzó la propuesta de poner a disposición de la base de datos los datos de los estudios poblacionales que sean publicados en el *Forensic Science Internacional (FSI)*.

Propuesta 2: Por otro lado se volvió a discutir uno de los objetivos originarios del grupo: La necesidad de realizar una valoración de los datos de marcadores

de ADN nuclear autosómicos globales y parciales de la base de datos que podría ser publicada en el FSI.

GT de Acreditación (Coordinadora: Josefina Gómez)

Josefina Gómez expone que la finalidad fundamental de este grupo de trabajo, que era confeccionar la guía de acreditación del GEP-ISFG, ha sido ya cumplida con el documento desarrollado (ver página web del GEP-ISFG: *Documento de Acreditación.pdf*) y pone su cargo a disposición (por esta razón y por sus nuevas responsabilidades profesionales).

Propuesta: Se abre un plazo de consulta para valorar la continuidad de este GT. En especial se valoraran las propuestas que incluyan un coordinador que se haga responsable de llevarlas a cabo.

GT sobre recomendaciones para la recogida y envío de muestras con fines de identificación genética (Coordinadora Lourdes Fernández de Simón)

Victoria Prieto informa en la sesión sobre la actividad del grupo durante el periodo 2002-2003, que se ha centrado en la elaboración y remisión de una encuesta a los laboratorios para valorar la situación de los distintos laboratorios con respecto al tema de la custodia y post-custodia de las muestras originales y submuestras generadas.

Se valora que la respuesta es baja (sólo 20 laboratorios han respondido) y se identifican diversos problemas de índole práctico y logístico de almacenamiento para los laboratorios como consecuencia del vacío legal existente en la materia. Se realizan las siguientes propuestas:

Propuesta 1: Aumentar el plazo para recibir más contestaciones de los laboratorios.

Propuesta 2: Con esa información y en especial con la ofrecida por los laboratorios que tienen procedimientos normalizados de custodia y post-custodia debería de establecerse una propuesta que debería ser elevada a distintas instituciones (Ministerio de Justicia, CGPJ, etc.).

GT de Estadística en Genética Forense (Coordinador: Ángel Carracedo)

Se valora muy positivamente la actividad formativa del grupo y en especial las dos ediciones del curso de formación en **Valoración Bioestadística en Genética Forense** (Caracas Nov. 2002 (UNIBIOLAC/ RIGEMAMEF) y Santiago Abr. 2003 (RGB/RIGEMAMEF)) coordinados por Ángel Carracedo y con la participación como profesores de Oscar García, Juan Antonio Luque y Cristina Albarrán.

Se valora también muy positivamente la distribución de documentos de ejemplos y el documento sobre tasa de mutaciones de la AABD distribuidos por e-mail por Oscar García a todos los socios.

Propuesta 1: Continuar con nuevas ediciones del curso de formación y editar una monografía con los contenidos del Curso.

Propuesta 2: Continuar con los ejemplos en la Red. Incluir en la pagina Web los nuevos documentos de ejemplos (Paternidad 2 y Paternidad 3) que fueron distribuidos por Oscar García vía e-mail.

GT del Cromosoma Y (Coordinadores: Antonio Amorim y Leonor Gusmao)

Los coordinadores informan de la intensa actividad del grupo sobre los estudios de validación de los nuevos Y-STRs y los resultados obtenidos que han sido plasmados en diversos científicos:

Gusmao L, Sánchez-Diz P, Benítez-Páez A, García O, García-Poveda E, Geada H, Martin P, Martínez-Jarreta B, Pinheiro F, Raimondi E, Silva de la

Fuente SM, Vide MC, Whittle MR, Zarrabeitia MT, Carracedo A, Amorim A (2002). Results of the GEP-ISFG (The Spanish and Portuguese ISFG Working Group) collaborative study on the Y Chromosome STRs: GATA A7.1, GATA A7.2, GATA A10, GATA C4, GATA H4, DYS437, DYS438 and DYS439. III International Forensic Y-User Workshop. Y chromosome haplotype database(s): state of the art and future developments. November 7-9, 2002 Porto, Portugal. Abstract O12.

Sánchez-Diz P, Gusmão L, Beleza S, Benítez-Páez A, Castro A, García O, Prieto L, Geada H, Martín P, Martínez-Jarreta B, Pinheiro MF, Raimondi E, Silva de la Fuente SM, Vide MC, Whittle MR, Zarrabeitia MT, Carracedo A, Amorim A. Results of the GEP-ISFG collaborative study on two Y-STRs tetraplexes: GEPY I (DYS461, GATA C4, DYS437 and DYS438) and GEPY II (DYS460, GATA A10, GATA H4, DYS439). *Forensic Sci Int* 135: 158-162.

Gusmão L, Sánchez-DizP, Alves C, Quintáns B, García-Poveda E, Geada H, Raimondi E, Silva de la Fuente SM, Vide MC, Whittle MR, Zarrabeitia MT, Carvalho M, Negreiros V, Prieto L, Riancho JA, Campos-Sánchez R, Vieira-Silva C, Toscanini U, Amorim A, Carracedo A. Results of the GEP-ISFG collaborative study on the Y chromosome STRs GATA A10, GATA C4, GATA H4, DYS437, DYS438, DYS439, DYS460 and DYS461: Population data. *Forensic Sci Int* 135: 150-157 (2003).

Propuesta 1: Estudio de colaboración entre los laboratorios del GEP-ISFG para la recopilación de tasas de mutación de los sistemas STRs del cromosoma Y, para lo cual se propone enviar un formulario a todos los laboratorios del GEP-ISFG.

En el caso de que los laboratorios necesiten confirmar los resultados de incompatibilidad mediante secuenciación se proponen los siguientes laboratorios: IPATIMUP (António Amorim / aamorim@ipatimup.pt e Leonor Gusmão [/lgusmao@ipatimup.pt](mailto:lgusmao@ipatimup.pt)), Instituto de Medicina Legal de Santiago de Compostela (Paula Sánchez-Diz / paulaiml@usc.es) e Instituto de Toxicologia

de Madrid (Antonio Alonso / a.alonso@mju.es e Pablo Martín / p.martin@mju.es).

¡El Cuestionario ya ha sido enviado!

La fecha límite para envío de resultados es el 15 de Mayo de 2004.

GT de Bioética en Genética Forense (Coordinador periodo 2002-2003: Emilio Yunis)

Se valora muy positivamente todos los documentos que nos ha hecho llegar el coordinador a través del Presidente del GEP-ISFG y entre los que se incluyen documentos de interés general, sobre bases de datos de ADN, sobre aspectos legislativos en Colombia y finalmente sobre otros aspectos de la biología molecular más alejados del ámbito de la genética forense como la clonación o las células madre entre otros.

Se informa, sin embargo que el coordinador del grupo no ha respondido a la reiteradas solicitudes del coordinador de los grupos de trabajo para informar sobre la actividad del grupo. **Posteriormente se comprueba que Emilio Yunis no pudo recibir los mensajes emitidos por este coordinador debido a un problema informático y se confirma su disponibilidad para seguir colaborando con el grupo.**

Propuesta 1: Se propone que Joaquín Gamero retome la coordinación del grupo.

Propuesta 2: Tanto Ángel Carracedo como Antonio Alonso proponen un mayor acercamiento de los temas tratados por este grupo a la realidad que viven los laboratorios de genética forense, haciendo especial mención de temas de tanto interés como el “Consentimiento informado de los menores”, “la ética de las pruebas de paternidad que se pueden contratar por Internet”, así como “la problemática ético-legal de las bases de datos y el consentimiento informado”,

entre otros. No obstante, dado la amplitud de las cuestiones planteadas, a propuesta de Ángel Carracedo, se determinó analizar, en un primer momento:

“La ética de las pruebas de paternidad que se pueden contratar por Internet por uno de los progenitores sin conocimiento de una de las partes”.

GT de Formación en Genética Forense (Coordinador: Mercedes Aler)

Se informa de que el coordinador del grupo no ha respondido a la solicitud del coordinador de los grupos de trabajo para informar sobre la actividad del grupo.

Propuesta 1: Se reitera la necesidad de que este grupo realice un esfuerzo por revisar la oferta formativa actual de la especialidad de la genética forense en los países del entorno del GEP-ISFG como primer paso para establecer iniciativas de futuro. Dicha información podría ponerse a disposición de todos en la página web del GEP-ISFG.

Propuesta 2: Es necesario que el coordinador y los integrantes del grupo tomen una decisión con respecto a las iniciativas a realizar e informen de sus planes de futuro cuanto antes al GEP-ISFG.

GT de Paternidad (Coordinador: Helena Geadá)

Se informa de que el coordinador del grupo no ha respondido a la solicitud del coordinador de los grupos de trabajo para informar sobre la actividad del grupo.

Propuesta 1: Se propone la posibilidad de que el coordinador elabore una encuesta para distribuirla entre los laboratorios del GEP-ISFG con el fin de recabar información sobre los requerimientos y criterios de interpretación de la prueba de paternidad en los distintos laboratorios.

Se cierra la sesión haciendo un nuevo llamamiento a la participación de todos como única fórmula para progresar en este tipo de iniciativas y agradeciendo muy especialmente el trabajo realizado por los coordinadores que este año han

logrado unos magníficos resultados (de interés para todos nosotros) y animando a los que no nos han respondido a realizar una labor más activa durante el periodo 2003-2004.

Informe de Tesorería

Cristina Albarrán

Tesorera del GEP-ISFG

Estado de las cuentas del GEP-ISFG

PERIODO: 1-Setiembre-2002 a 31-Abril-2003

Saldo de inicio a 1-01-2002 = 3.256,9 €

| MES | GASTOS | | INGRESOS | Balance |
|---------------|------------------|-------------------------|------------------------|-----------------|
| | GESTION BANCARIA | OTROS | CUOTAS SOCIO Y CONTROL | |
| Septiembre-02 | 18,6 | 100 ⁽¹⁾ | 879,49 | 760,89 |
| Octubre-02 | 8,62 | -- | 490 | 481,38 |
| Noviembre-02 | 2,55 | -- | 1.064,21 | 1.061,66 |
| Diciembre-02 | 68,85 | 304,27 ⁽²⁾ | 3.023,86 | 2.650,74 |
| Enero-03 | 2,73 | 1.188,19 ⁽³⁾ | 663,99 | - 526,93 |
| Febrero-03 | 12,61 | 1.250,48 ⁽⁴⁾ | 1.037,22 | - 225,87 |
| Marzo-03 | 9,76 | 1.437,24 ⁽⁵⁾ | 851,99 | - 595,01 |
| Abril-03 | 1,92 | -- | 590,3 | 588,38 |
| TOTAL | - 125,64 | -4.280,18 | 8.601,06 | 4.195,24 |

Saldo en C/C a 31-04-2003 = 14.735,70 €

DESGLOSE DE OTROS GASTOS

1. Pago a la enfermera que realiza la extracción sanguínea de las muestras del control
2. GASTOS DE CAJA:

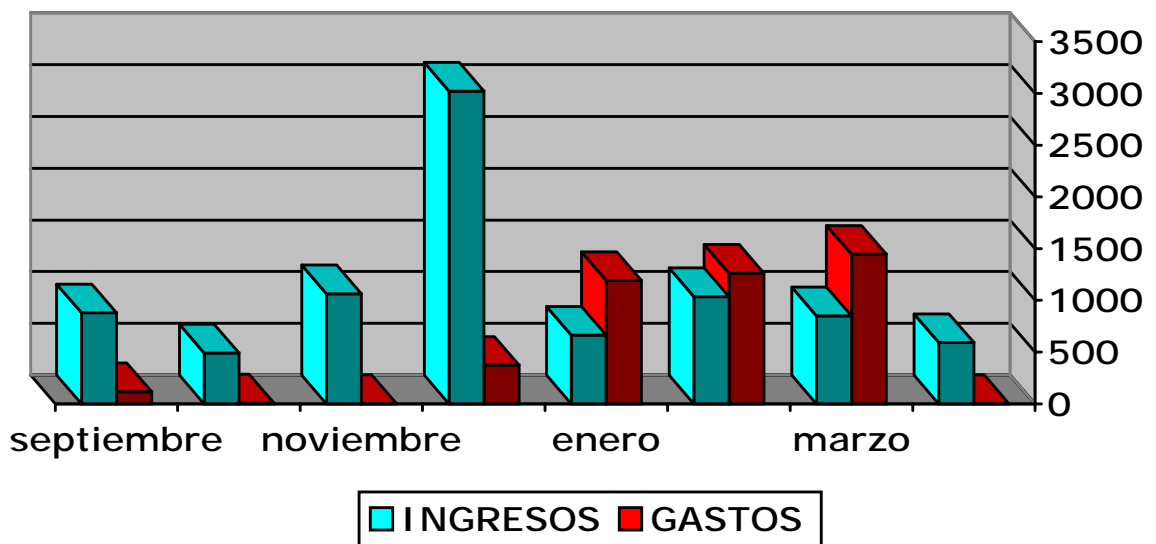
- Correos: 71,19 €
 - Papelería: 16,75 €
 - gastos informáticos (anti-virus ...): 64,79 €
 - Devolución de un cobro erróneo: 100 €
 - En CAJA: 51,54 €
3. Envío de las muestras del control por DHL International España S.A.
 4. Papel para la recogida de muestras del control: Bloodstain Storage System PK/500
 5. Compra de un ordenador para la coordinadora del control

TOTAL = SALDO C.C. (14.735,70 €) + CAJA (51,54 €)

TOTAL = 14.787,24 €

Evolución por meses gastos/ingresos

PERIODO: 1-Septiembre-2002 a 31-Abril-2003



ACTA ASAMBLEA GENERAL

Ion Uriarte

Secretario del GEP-ISFG

Número de socios presentes al inicio de la misma: 63

Laboratorios participantes

- Centro de Biología Celular de la Universidad de Aveiro. Portugal
- Policía Científica de Madrid. España
- Instituto Nacional de Toxicología de Madrid. España
- Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla. España
- Centro Integral de Genética Aplicada de Córdoba. Argentina
- Servicio de Huellas Digitales Genéticas de Buenos Aires. Argentina
- IPATIMUP de Oporto. Portugal
- Laboratorio de Inmunogenética y Diagnóstico Molecular (LIDMO). Argentina
- Facultad de Medicina Lisboa. Portugal
- PRICAI de Buenos Aires. Argentina
- Instituto Nacional de Medicina Legal de Lisboa. Portugal
- Instituto Nacional de Medicina Legal de Coimbra. Portugal
- Instituto Nacional de Medicina Legal de Oporto. Portugal
- Laboratorio de Policía Científica de Lisboa. Portugal
- Medicina Legal y Forense. Universidad de Cádiz. España
- Genómica SAU de Madrid. España
- Laboratorio de Genética Forense del Instituto de Medicina Legal de El Salvador
- Instituto Nacional de Toxicología de Barcelona. España
- Instituto de Medicina Legal de Santiago de Compostela. España
- Policía Científica de la Ertzaintza. España
- Laboratorio de Genética Molecular e Inmunogenética. Cruz Roja Ecuatoriana de Quito. Ecuador
- Laboratorio Genomik de Maracay. Venezuela
- Genomic Engenharia Molecular Ltda de Sao Paulo. Brasil

- Laboratorio de Diagnóstico por DNA de Río de Janeiro. Brasil
- Genomic Engenharia Molecular Ltda. De Sao Paulo. Brasil
- Centro de Análisis Genéticos C.A.G.T. de Zaragoza. España
- Laboratorio de Inmunogenética de Oporto. Portugal
- Laboratorio de Genética del Instituto Anatómico Forense de Las Pasmás. España
- Banco Nacional de Datos Genéticos de Buenos Aires. Argentina
- Laboratorio de Genética de la Universidad de Cartagena. Colombia
- Laboratorio de Genética Humana de Funchal. Portugal

En Oporto el día seis de junio del dos mil tres y durante la asamblea general de los asociados del grupo, con la presencia de sesenta y tres miembros al inicio de la misma.

Abre la sesión el **Presidente del GEP** agradeciendo a la organización de las VIII Jornadas de Genética Forense, en especial a los Organizadores de las mismas, el Dr. Antonio Amorim, la Dra. Leonor Gusmao, la Dra. Cintia Alves y la Dra. Luisa Pereira del IPATIMUP de Oporto, Portugal, por la dedicación y los esfuerzos realizados en las mismas.

Asimismo realiza un agradecimiento a las casas comerciales que han colaborado en la financiación de esta reunión, principalmente Applied Biosystems y Promega.

Excusa la asistencia del Secretario del GEP-ISFG, D. Ion Uriarte Portillo, al que le ha sido imposible la asistencia a esta reunión.

Comienza exponiendo la necesidad de modificación de los Estatutos del Grupo, (por ejemplo, el cambio de denominación de GEP-ISFH a GEP-ISFG, etc.), pero dado que según los estatutos vigentes se requiere la conformidad de 3/5 partes de los miembros, lo cual es físicamente muy difícil de lograr, se propone enviar desde el Comité Ejecutivo una encuesta abierta a sugerencias con las proposiciones con modificación de Estatutos y tras ser respondida, se remitiría

una propuesta definitiva a votar por los miembros por algún sistema a valorar (on line, voto delegado...)

Pasa a informar sobre la nueva página web creada, que todavía tienen opciones sin activar, estando previsto un mantenimiento anual por la empresa. Solicita a los miembros revisar sus datos para verificar si estos son correctos.

Pasa la palabra al **Vicepresidente del GEP-ISFG y Coordinador de los Grupos de Trabajo**, quien procede a repasar los temas pendientes de cada Grupo de Trabajo:

- Grupo de Acreditación en Genética Forense:
- Grupo de Base de Datos de ADN nuclear
- Grupo de Bases de Datos de ADN mitocondrial
- Grupo de Cromosoma Y
- Grupo sobre Recomendaciones para la recogida y envío de muestras con fines de identificación genética
- Grupo de Formación en Genética Forense
- Grupo de Estadística
- Grupo de Paternidad
- Grupo de Bioética

Esta intervención se desglosa más detalladamente en este boletín, dentro del apartado de los grupos de trabajo.

A continuación, y ante la ausencia del **Secretario del GEP-ISFG**, toma la palabra el Presidente del GEP-ISFG para presentar la información que le ha sido presentada por el Secretario y en la que se detalla que desde el año pasado a fecha de 30 de Mayo se han incorporado al grupo 36 nuevos socios conformando un total de 314 socios y 113 laboratorios, distribuidos en 35 laboratorios en España, 8 en Portugal, 1 en Francia, 1 en Cuba, 1 en México y 67 en Sudamérica.

Seguidamente, toma la palabra la **Tesorerera del GEP-ISFG** informando de la situación económica del grupo, informe que puede observarse con más detenimiento en el informe de tesorería que aparece en este boletín.

Se acuerda mantener para el año 2.004 el precio de la cuota de socio, así como el precio del Control de Calidad de ADN, es decir 17 Euros y 100 Euros, respectivamente.

Retoma la palabra el Presidente para pasar al siguiente punto del orden del día, la **presentación de propuestas para la celebración de las IX Jornadas del GEP-ISFG**.

Se establece un plazo de presentación de candidaturas hasta noviembre de 2.003, aunque se barajan que el destino puede ser Sudamérica, dado el interés de una posible organización por parte de D. Martín Whittle, del laboratorio Genomic Engenharia Molecular Ltda de Sao Paulo que propone Manaus (Brasil) y de Dña. Dora Sánchez del Laboratorio de Genética Molecular e Inmunogenética de la Cruz Roja Ecuatoriana, que propone Ecuador.

El Presidente pasa al siguiente punto del orden del día que es la **renovación del Comité Ejecutivo**, exponiendo que para la próxima reunión debe procederse a elegir un nuevo Presidente, Secretario y Tesorero del GEP-ISFG dado que ha finalizado el plazo estatutario de este Comité Ejecutivo y animando a que todos los socios consideren la posibilidad de presentarse para dichos cargos.

Tras lo cual, el Presidente da por finalizada la asamblea.