

IX Jornadas de Genética Forense
Manaos, 2-4 de Junio de 2004

Organizado por:

GENOMIC

Genomic Engenharia Molecular Ltda. – Rua Itapeva 500, cj 5 AB – Sao Paulo (Brasil)

Boletín informativo nº 8

GEP-ISFG

Diciembre 2004

INDICE

- 1. Resumen del Ejercicio de Polimorfismos de ADN del año 2004**
Julia García-Hirschfeld – Unidad Garantía Calidad, Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses, Madrid (España)

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

- 3. Resultados paternidad teórica**
Antonio Amorim – IPATIMUP, Oporto (Portugal)

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

- 5. Resultados STRs autosómicos**
María José Farfán – Sección de Biología, Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses, Sevilla (España)

- 6. Resultados paternidad práctica**
Martín Whittle – Genomic Engenharia Molecular Ltda., Sao Paulo (Brasil)

- 7. Resultados ADN mitocondrial**
Manuel Crespillo – Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses, Barcelona (España)

- 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

Julia García-Hirschfeld

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

Unidad de Garantía de Calidad

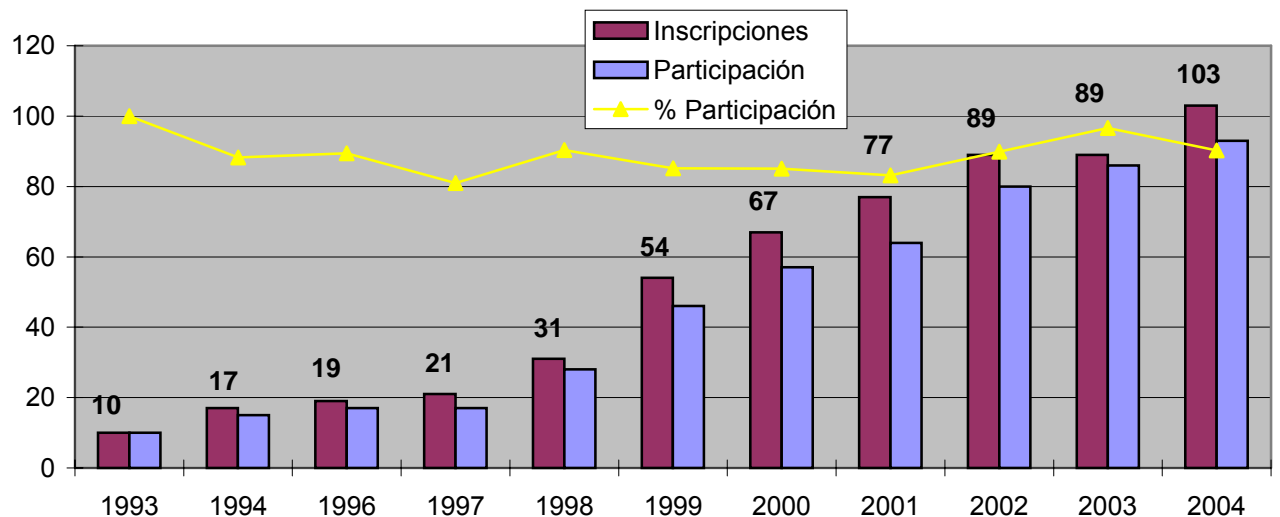
Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses

Madrid

España

RESUMEN DEL EJERCICIO CORRESPONDIENTE AL AÑO 2003

En el presente ejercicio se han enviado muestras a 103 laboratorios, de los que han remitido resultados 93 laboratorios (90%).



Tipo de laboratorios

48 de los laboratorios participantes son privados y 52 públicos (hay tres que no declaran a qué grupo pertenecen), estando bastante equilibrado el número de integrantes de ambos tipos en Latinoamérica, mientras que en los países europeos predominan los laboratorios de carácter público.

Los laboratorios inscritos pertenecen a los siguientes países

Europa	36
España	27
Portugal	8
Francia	1
América	67
Argentina	17
Colombia	18
Brasil	15
Uruguay	3
Venezuela	5
Cuba	1
Costa Rica	2
Ecuador	1
Perú	1
México	1
Paraguay	1
Salvador	1
Rep. Dominicana	1
TOTAL	103

Muestras remitidas

En el Ejercicio 2004 se remitieron 6 muestras:

- 3 muestras de sangre, para un estudio práctico de paternidad;
- incluyéndose también, al igual que en años anteriores, un caso de paternidad teórica,
- para los laboratorios que participaban en el ejercicio forense se remitieron 2 sangres indubitadas, una muestra forense (M-6) y unos pelos (M-7).

Las remitidas muestras fueron:

M-1: sangre de presunto hijo

M-2: sangre de presunto hijo

M-3: sangre de madre

OPTATIVO

M-4: sangre de víctima

M-5: sangre de presunto agresor

M-6: muestra forense

M-7: 4 fragmentos de pelos

Las muestras M-1 a M-5 consistían todas en una cantidad de 100 μ l de sangre, en papel WHATMAN Bloodstain card, (interesa subrayar que no se trata de papel FTA).

La muestra M-6 consistía en 100 μ l de saliva de la donante de la muestra M-4 y 50 μ l de una dilución de semen 1:20 del donante de la muestra M-5.

Planteamiento propuesto

2004 / Ejercicio de Paternidad

1. Dos individuos, a los que se les extrae la muestra M-1 y M-2 respectivamente, solicitan la nacionalidad en el país de su supuesta madre, M-3. La concesión de la nacionalidad depende de la confirmación de la maternidad. No se dispone del padre de ninguno de los individuos.
2. Paternidad teórica: Se trata de calcular una paternidad en la que P es el posible padre de H y M la posible madre de H.

Dados los resultados de la tabla que se adjunta, calcular:

- a) La probabilidad de la paternidad de P respecto de H asumiendo que M es la madre de H.
- b) La probabilidad de la paternidad de P respecto de H asumiendo que M no es la madre de H.

2004 / Ejercicio Forense (OPTATIVO)

Un individuo al que se extrae la muestra M-4 ha denunciado ser víctima de una agresión sexual oral. En el transcurso de la investigación se ha recogido de la ropa de la víctima: una mancha (M-6) así como una muestra de cabello (M-7).

1. ¿Es compatible la mancha M-6 con el individuo al que pertenece la muestra M-5 y con la víctima M-4?
2. ¿Es la muestra de cabello remitida (M-7) compatible con alguno de los donantes de las muestras M-4 o M-5?

Antecedentes

2004 / Ejercicio de Paternidad

- El individuo de la muestra M-1 es un varón hijo de la donante de la muestra M-3.
- El individuo de la muestra M-2 es un varón hijo de la donante de la muestra M-3.
- Los individuos donantes de las muestras M-1 y M-2 son hijos del mismo padre (no consta su muestra).

2004 / Ejercicio Forense

- La muestra M-6 es una mezcla de saliva de la mujer donante de la muestra M-4 y una dilución de semen del varón donante de la muestra M-5. Estos individuos **no** están relacionados genéticamente entre sí ni con los donantes del ejercicio de paternidad.

- Los cabellos remitidos pertenecen al individuo donante de la muestra M-5.

A todos los laboratorios inscritos se les envía la muestra para el estudio de paternidad y sólo a los que lo solicitaron previamente (55) se les envía además la muestra forense.

Participación y estudios realizados

- Número de laboratorios inscritos 103
- Número de laboratorios que emiten resultados 93 (90%)
- Número de laboratorios que dan resultados de ADN mitocondrial 34 (33%)
- Número de laboratorios que dan resultados para STR Y 54 (52%)
- Número de laboratorios que reciben muestra forense (M-6) 55 (53%)
- Número de laboratorios que dan resultados para M-6 45 (82%)
- Número de laboratorios que analizan la muestra de cabello 28 (27%)
- Número de laboratorios que participan en el ejercicio teórico 91 (88%)
- Número de sistemas totales analizados 107
- Número de sistemas consensuados 40 (37%)

Resultados de STRs autosómicos

Se adjuntan las tablas con los resultados consensuados para cada uno de los ejercicios propuestos.

1.1. Ejercicio de Paternidad

MARCADOR	n	M-1	M-2	M-3
HUMFES/FPS	32	10,12	12	10,12
HUMTH01	88	6	6	6,9
HUMF13A01	32	6,7	6,7	6,7
HUMVWA	88	14,15	14,15	14,16
HUMTPOX	84	8,9	8,9	9,11
HUMCSF1PO	83	11,12	11,12	12,13

MARCADOR	n	M-1	M-2	M-3
HUMFIBRA/FGA	72	22	22,25	22,25
HUMF13B	26	8,9	9,10	8,10
HUMLPL	24	10	10	10
HUMPRTB	11	14	12	12,14
AMELOGENINA	76	XY	XY	X
D12S391	9	20,22	*	18,3,20
D13S317	84	8	8,12	8,12
D16S539	85	11,12	11,12	11,12
D18S51	68	16,17	16,17	15,16
D19S253	4	13	7,8	7,13
D19S433	41	13,14	14	13,14
D21S11	71	29,31.2	30,31.2	29,31.2
D2S1338	41	16,20	16,25	20,25
D3S1358	67	15,18	15	15
D3S1744	4	16	19	16,19
D5S818	70	10,12	12,13	12,13
D7S820	84	9,10	9,10	9
D8S1179	71	13	11,13	11,13
Penta D	35	12	12	9,12
Penta E	36	12,15	14,15	12,14
DYS 19	49	14	14	
DYS 385	37	11,16	11,16	
DYS 389 I	44	14	14	
DYS 389 II	43	31	31	
DYS 390	50	24	24	
DYS 391	48	11	11	
DYS 392	40	13	13	
DYS 393	46	13	13	
DYS 437	31	14	14	
DYS 438	35	12	12	

MARCADOR	n	M-1	M-2	M-3
DYS 439	36	11	11	
GATA A7.1	13	10	10	
GATA A7.2	13	12	12	
GATA A10	12	15	15	
GATA C4	12	23	23	
GATA H4	12	27	27	

(*) D12S391 para la muestra M-2 no hay consenso claro, 4 labs por **duplicado** informan diferente resultado.

1.2. Ejercicio Forense

MARCADOR	N	M-4	M-5	M-6*
HUMFES/FPS	14	10,11	11,12	10,11,12
HUMTH01	47	6,9.3	9.3	6,9.3
HUMF13A01	12	3.2,6	3.2,7	3.2,6,7
HUMVWA	45	18,20	17	17,18,20
HUMTPOX	45	8	9,11	8,9,11
HUMCSF1PO	44	10,11	9,11	9,10,11
HUMFIBRA/FGA	43	20,22	20,25	20,22,25
HUMF13B	12	9	9,10	9,10
HUMLPL	9	11	10,11	10,11
AMELOGENINA	43	X	XY	XY
D12S391	4	18,20	18,28	*
D13S317	45	11,12	11,13	11,12,13
D16S539	46	11,13	12,13	11,12,13
D18S51	42	13,14	12,15	12,13,14,15
D19S433	27	13,14	12,15	12,13,14,15
D21S11	41	28,30.2	28,30.2	28,30.2
D2S1338	26	19,20	17,19	17,19,20
D3S1358	41	17	15,16	15,16,17

MARCADOR	N	M-4	M-5	M-6*
D5S818	41	11	11	11
D7S820	46	11,12	10	10,11,12
D8S1179	43	14,15	13	13,14,15
Penta D	24	12,13	9,10	9,10,12,13
Penta E	26	17,19	5,18	5,17,18,19
DYS 19	35		14	14
DYS 385	31		12,14	12,14
DYS 389 I	34		14	14
DYS 389 II	33		30	30
DYS 390	35		24	24
DYS 391	33		11	11
DYS 392	30		13	13
DYS 393	33		13	13
DYS 437	25		14	14
DYS 438	29		12	12
DYS 439	28		12	12
GATA A7.1	7		10	10
GATA A7.2	7		12	12
GATA A10	6		15	15
GATA C4	6		24	24
GATA H4	6		27	27

(*) M-6*: dado que es una mezcla y se han empleado diferentes metodologías y estrategias de extracción, estos resultados pueden ser revisados y modificados.

2. Resultados ADN Mitocondrial

	HV I		HV II		Observ.		HV I		HV II		Observ.
M-1	16.298	C	195	C		M-2	16.298	C	195	C	

	263	G	
	309.1	C	
	309.2	C	
	315.1	C	
N=30	26		

	263	G	
	309.1	C	
	309.2	C	
	315.1	C	
N=30	28		

	HV I		HV II		Observ.
M-3	16.298	C	195	C	
			263	G	
			309.1	C	
			309.2	C	
			315.1	C	
N=30			28		

	HV I		HV II		Observ.
M-4			263	G	
			315.1	C	
N=30			27		

	HV I		HV II		Observ.
M-5	16.266	T	263	G	
			309.1	C	
			315.1	C	
N=29			26		

	HV I		HV II		Observ.
M-6			263	G	
			315.1	C	
N=14					

	HV I		HV II		Observ.
M-7	16.266	T	263	G	
			309.1	C	
			315.1	C	
N=22			20		

Preparación muestra forense

Se realizaron:

- Estudios preliminares en las mismas tarjetas Whatman en las que se envían las muestras, con distintas cantidades de saliva y distintas diluciones de la muestra de semen en solución salina
- Eluidos de estas tarjetas
- Preparaciones microscópicas
- Se realizaron ensayos de lisis diferencial
- Se realizaron estudios de cuantificación de ADN
- 100 ml de saliva del individuo donante de la muestra M-4 se aplicaron en tarjetas Bloodstain card (Whatman) y se dejó secar al aire 24 horas
- Una vez secas las manchas, se añadieron 50 ml de una solución 1:20 de semen en solución salina, del donante de la muestra M-5 y se dejó secar al aire 24 horas

Sistemas analizados

Los diferentes laboratorios participantes emiten resultados de 106 sistemas diferentes, de los cuales 64 sistemas (61%) no se analizan ya que fueron reportados por un número menor de 6 laboratorios.

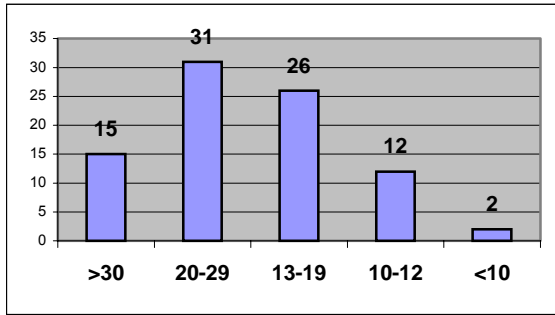
Los sistemas consensuados fueron:

- STRs autosómicos: 24 sistemas
- STRs de cromosoma Y: 16 sistemas

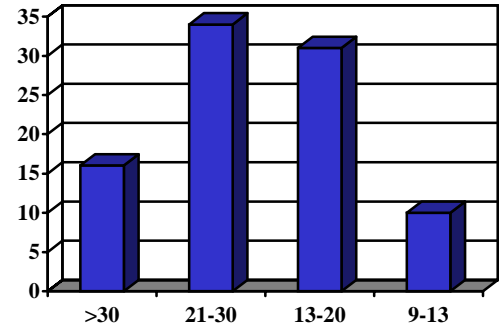
De los sistemas analizados, solamente hubo dos (D12S391 y D1S1656) donde no se alcanzó un consenso.

De los sistemas que no se analizan se ha observado un incremento en D12S1090, D18S535, DYS388 y DYS434.

El número de STRs analizados por cada laboratorio fue:

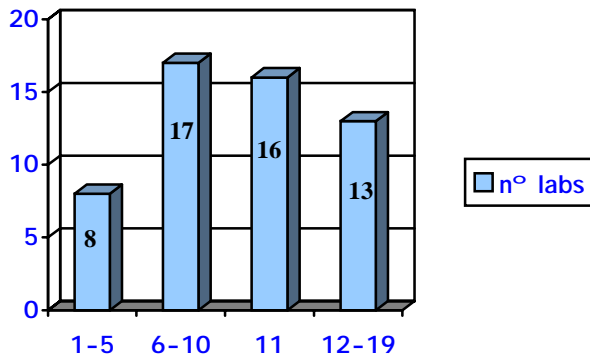


Año 2003

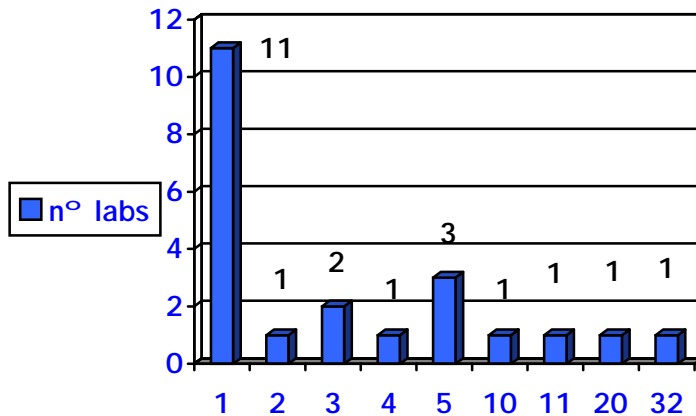


Año 2004

En cuanto al número de marcadores de cromosoma Y analizados:



Respecto al número de STRs no consensuado por laboratorio, nos encontramos con un total de 2 laboratorios que presentan algún STR no consensuado, destacando un laboratorio que presenta 32 STRs no consensuados:



Metodología de extracción

Los métodos de extracción usados han sido los siguientes:

- **Sangre**
 - Chelex 28
 - FTA Purification reagent 18
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo 14
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo / Microcón 8
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo / Centricón 5
 - Kit QuiAmp 5
 - Otros 4
 - Lisis diferencial / Fenol Cloroformo / Microcón 1

- **Mancha**
 - Chelex 17
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo / Microcón 10
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo 7
 - Lisis diferencial / Fenol Cloroformo / Microcón 6
 - Lisis diferencial / Fenol Cloroformo / Centricón 4
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo / Centricón 4
 - Otros 3
 - Kit QuiAmp 2
 - Chelex / Centricón 2
 - FTA Purification reagent 2
 - Chelex / Microcón 1
 - DNA IQ (Promega) 1

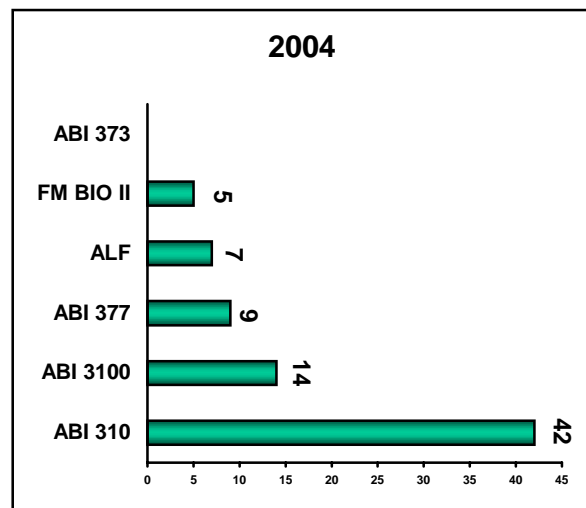
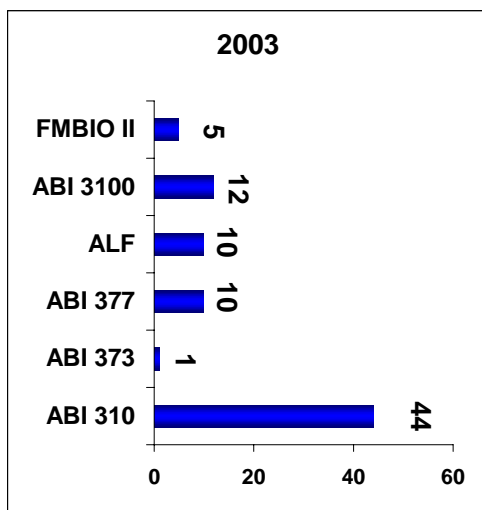
- **Pelos**
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo / Microcón 12
 - Chelex 6
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo / Centricón 5
 - Digestión Proteolítica / Fenol Cloroformo 4
 - Lisis diferencial / Fenol Cloroformo / Microcón 1

- Chelex / Centricón 1
- Chelex / Microcón 1
- DNA IQ (Promega) 1

Metodología de detección

La mayoría de los laboratorios (77, que representan un 83% de los laboratorios) utilizan sistemas automatizados de detección. Ello aumenta la tendencia observada ya en años anteriores:

- Año 2002: 56 laboratorios (70%)
- Año 2003: 65 laboratorios (76%)
- Año 2004: 77 laboratorios (83%)



El resto de laboratorios usa los siguientes métodos de detección:

- 17 laboratorios utilizan nitrato de plata
- 1 laboratorio utiliza detección por marcaje radioactivo
- 1 laboratorio no especifica el tipo de detección

Paternalidad práctica

¿Los individuos de las muestras M-1 o M-2 pueden ser los hijos biológicos del donante de la muestra M-3?

La respuesta es **SI** y contestan 90 laboratorios, todos ellos de una forma correcta

¿Los individuos de las muestras M-1 y M-2 pueden compartir línea paterna?

La respuesta es **SI** y contestan 78 laboratorios, 77 de los cuales lo hacen de una forma correcta. 54 laboratorios utilizan STRs de cromosoma Y (el laboratorio que contesta de una forma incorrecta no realiza análisis de STRs de cromosoma Y)

En cuanto a los sistemas utilizados:

	Autosómicos	Y-STR	Totales
• Consensuados	24	16	40
• Sin consensuar	60	6	66

Lo que hace un total de 106 sistemas utilizados con 5597 determinaciones realizadas, observándose un total de 80 discrepancias, lo que representa un 1'43% (si eliminamos un laboratorio, observamos 57 discrepancias o lo que es lo mismo un 1'04%).

Si consideramos solamente los sistemas consensuados, tenemos 40 sistemas con 5182 determinaciones y 80 discrepancias, lo que representa un 1'54% (si eliminamos un laboratorio, observamos 57 discrepancias o lo que es lo mismo un 1'13%).

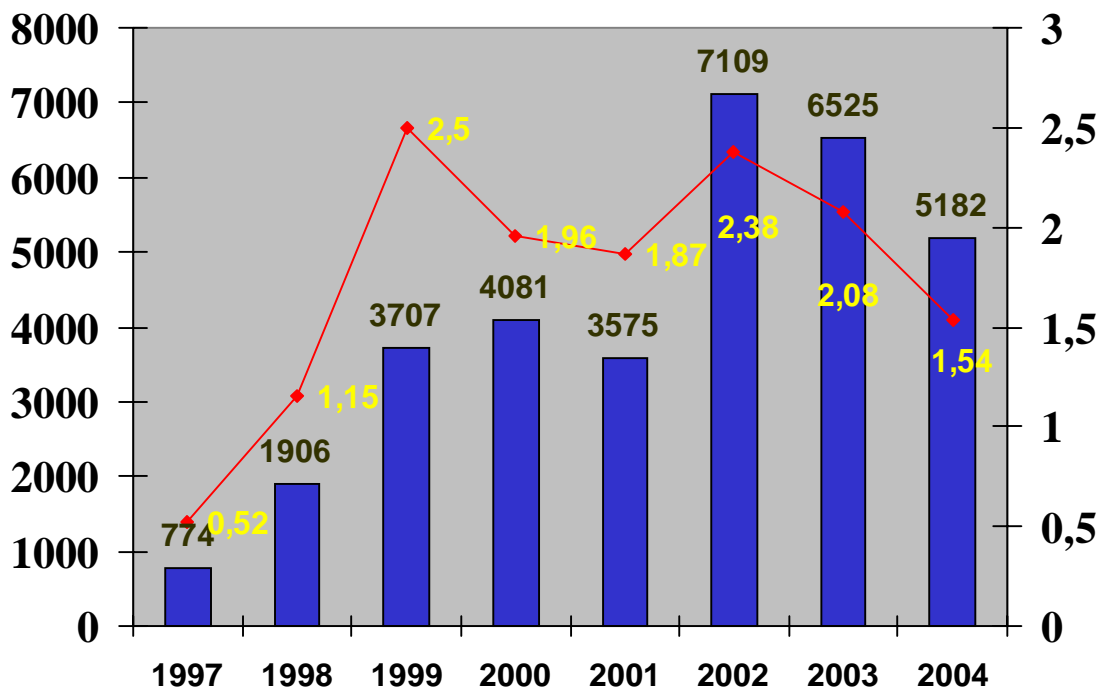
En cuanto a los errores observados en los diversos marcadores genéticos analizados y consensuados:

- En los 24 STRs autosómicos, solamente en 4 de ellos no se ha observado error en ninguno de los laboratorios. Estos sistemas han sido D21S11, F13B, LPL y Penta D. Por tanto, en los restantes 20 sistemas (que representan un 83% de los sistemas analizados) se han detectado errores.

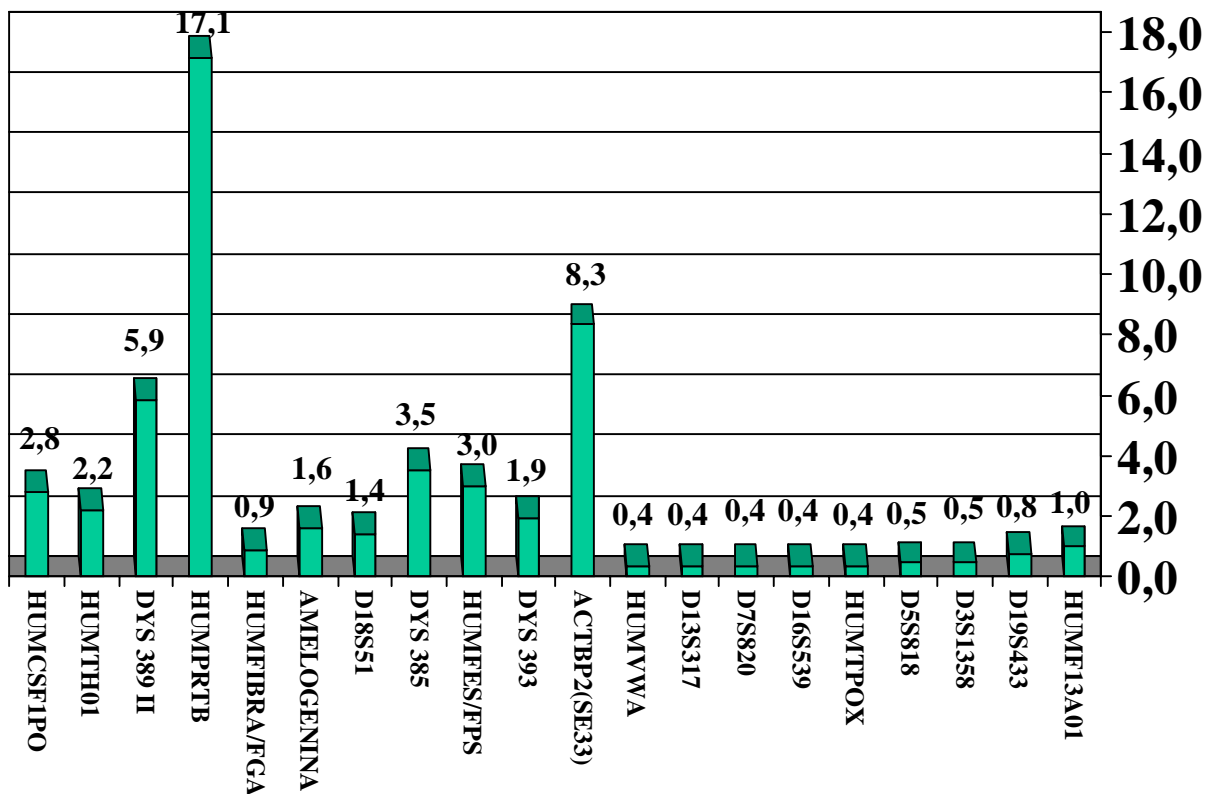
- Por el contrario, en los 16 STRs de cromosoma Y consensuados, la mayoría de ellos han sido analizados sin error. Solamente en 4 de ellos (DYS385, DYS389 II, DYS392 y DYS393) se han detectado algún tipo de error.

Por tanto, las discrepancias observadas en el control de este año han sido:

	2003	2004
Totales	2'08 %	1'54 %
STRs autosómicos	3 %	1'41 %
STRs cromosoma Y	1'90 %	1'44 %



Porcentajes de error por sistema genético



Conclusiones

1. Ha descendido el número de discrepancias respecto a años anteriores
2. La mayor parte de las discrepancias son puntuales (en una muestra y en un sistema)
3. Muchas de estas discrepancias son de laboratorios de reciente incorporación al control
4. Un laboratorio acumula un gran porcentaje de errores debido a una confusión de muestras
5. Los sistemas autosómicos con mayor número de errores han sido TH01, CSF1PO, SE33 y HPRTB
6. En STRs de cromosoma Y se han detectado pocos errores, mejorando los resultados frente a otros años

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 sola muestra

Muestra forense

La muestra M-6 es tipada por 44 laboratorios, 7 de los cuales dan resultado por separado para las fracciones resultantes de una lisis diferencial.

Los resultados obtenidos en los marcadores consensuados fueron los siguientes:

	Determinaciones	Discrepancias	%
TOTAL	3113	228	7.32
STR Y	751	23	3.06

Podemos observar la gran cantidad de errores observados al analizar la mezcla. Los errores observados en STRs de cromosoma Y son menores en porcentaje, dado la naturaleza de la muestra. Los errores detectados han sido:

- Pérdida de alelos de la víctima
- Errores de tipaje, de la muestra o de asignación alélica
- Pérdida de alelos del sospechoso
- Errores de transcripción

Hay 23 laboratorios que presentan algún tipo de error, 16 de ellos (70%) cometen el error exclusivamente en la muestra M-6, mientras que los 7 laboratorios restantes cometen errores en las muestras M-4 y/o M-5.

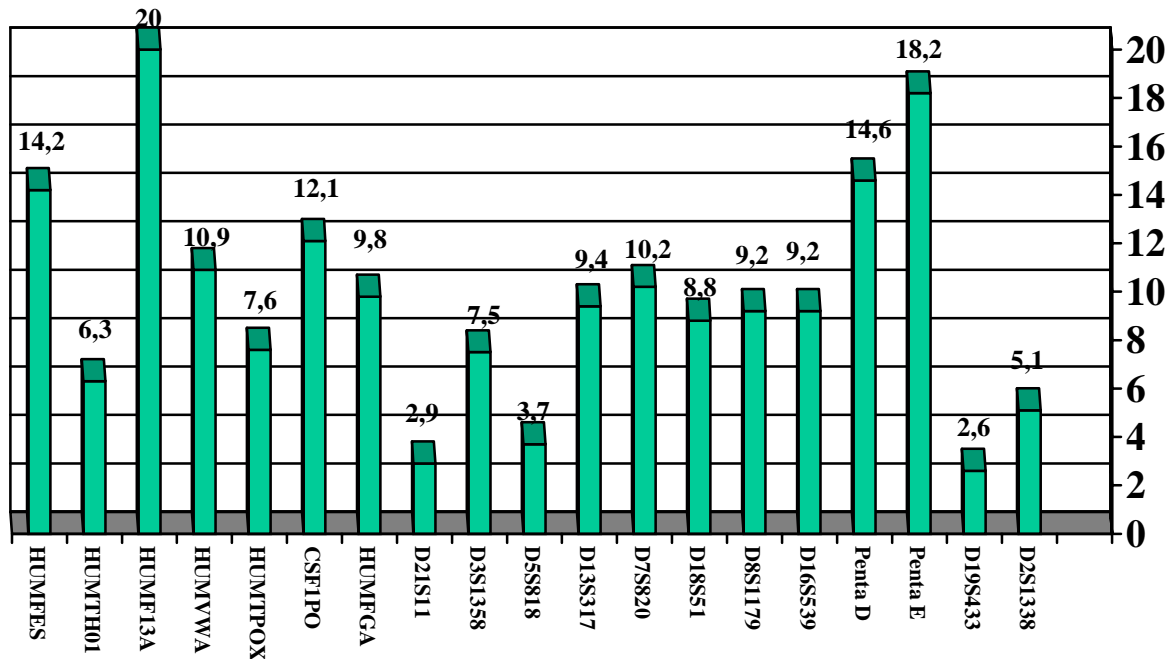
Los resultados consensuados fueron:

Marcador	M 4
HUMFES/FPS	10,11
HUMTH01	6,9,3
HUMF13A01	3,2,6
HUMVWA	18,20
HUMTPOX	8
HUMCSF1PO	10,11
HUMFIBRA/FGA	20,22
HUMF13B	9
HUMLPL	11
AMELOGENINA	X
D13S317	11,12
D16S539	11,13
D18S51	13,14
D19S433	13,14
D21S11	28,30,2
D2S1338	19,20
D3S1358	17
D5S818	11
D7S820	11,12
D8S1179	14,15
Penta D	12,13
Penta E	17,19

Marcador	M 6*
HUMFES/FPS	10,11,12
HUMTH01	6,9,3
HUMF13A01	3,2,6,7
HUMVWA	17,18,20
HUMTPOX	8,9,11
HUMCSF1PO	9,10,11
HUMFIBRA/FGA	20,22,25
HUMF13B	9,10
HUMLPL	10,11
AMELOGENINA	XY
D13S317	11,12,13
D16S539	11,12,13
D18S51	12,13,14,15
D19S433	12,13,14,15
D21S11	28,30,2
D2S1338	17,19,20
D3S1358	15,16,17
D5S818	11
D7S820	10,11,12
D8S1179	13,14,15
Penta D	9,10,12,13
Penta E	5,17,18,19

Marcador	M 5
HUMFES/FPS	11,12
HUMTH01	9,3
HUMF13A01	3,2,7
HUMVWA	17
HUMTPOX	9,11
HUMCSF1PO	9,11
HUMFIBRA/FGA	20,25
HUMF13B	9,10
HUMLPL	10,11
AMELOGENINA	XY
D13S317	11,13
D16S539	12,13
D18S51	12,15
D19S433	12,15
D21S11	28,30,2
D2S1338	17,19
D3S1358	15,16
D5S818	11
D7S820	10
D8S1179	13
Penta D	9,10
Penta E	5,18

Los errores observados por sistema fueron los siguientes:



Con respecto a la pregunta planteada:

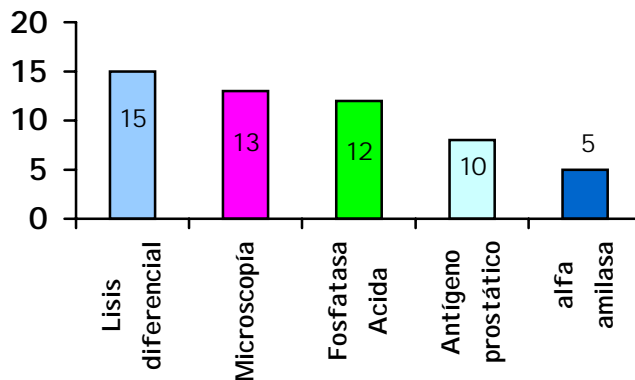
¿Es compatible la muestra M-6 con el individuo al que pertenece la muestra M-5 y con la víctima M-4?

A esta cuestión responden 45 laboratorios (de los 47 laboratorios que realizan análisis de la muestra M-6), obteniéndose los siguientes resultados:

- 33 laboratorios responden correctamente (73 %)
- 12 laboratorios responden incorrectamente
 - 7 laboratorios excluyen a la muestra M-4
 - 4 laboratorios excluyen a la muestra M-5
 - 1 laboratorio excluye a la muestra M-4 y a la muestra M-5
- 4 laboratorios no dan resultados

Estudios preliminares en muestra forense

Los estudios preliminares efectuados por los laboratorios fueron:



y como consecuencia de ellos:

- 5 laboratorios detectan la presencia de saliva
- 1 laboratorio detecta la presencia de orina
- 11 laboratorios detectan la presencia de semen (aunque 4 de ellos afirman no detectar espermatozoides)

En general, y a la vista de los resultados anteriores, podemos observar:

- 22 laboratorios (49 %) realizan algún tipo de análisis preliminar
- De los 33 laboratorios que contestan correctamente, 18 de ellos (55 %) realizan estudios preliminares o lisis diferencial
- De los 12 laboratorios que contestan incorrectamente, 6 de ellos (50 %) no realiza ninguna prueba preliminar
- De los 12 laboratorios que contestan incorrectamente, 3 de ellos (25 %) realizan lisis diferencial

Muestra M-7 (cabello)

¿Es la muestra de cabello remitida compatible con alguno de los individuos donantes de las muestras M-4 o M-5?

A esta pregunta contestan 25 laboratorios (a pesar de que son 28 los laboratorios que realizan un análisis de ADN mitocondrial de esta muestra), obteniéndose los resultados siguientes:

- 21 laboratorios responden correctamente (la muestra M-7 es compatible con la muestra M-5)
- 4 laboratorios responden incorrectamente

ADN mitocondrial

En relación con los análisis efectuados por parte de los laboratorios participantes con ADN mitocondrial, se adjunta la metodología empleada:

Primer	Edición	Pred	Desn	Anill	Ext	Post-Ext
15898-16555 17-586	15978-16401 30-440	1-11 m 94-95 °	10-60'' 94-95 °	10-60'' 50-94°	10-330'' (56)72 °	0,5-10 m (15)72°
	Nº ciclos	30-40				

Respecto a los análisis con ADN mitocondrial, podemos decir:

- 26 laboratorios (87%) tienen resultados correctos en las 5 muestras de sangre (M-1 a M-5)
- 20 laboratorios (80%) con resultados en las 5 muestras de sangre, analizan la mezcla
- 22 laboratorios tienen resultados correctos en la muestra de cabellos

Paternidad teórica

Se trata de calcular una paternidad en la que P es el posible padre de H y M la posible madre de H.

Supuesto A: P es el posible padre de H y M la posible madre de H.

Supuesto B: P es el posible padre de H y M no es la madre de H.

En este ejercicio participaron 92 laboratorios.

Los resultados que se ofrecían del tipaje eran:

	P	M	H
HUMTH01	6/9	6/9	6/9
HUMTPOX	8	8/11	8
HUMCSF1PO	10/12	10/11	10/12
D3S1358	12/15	17/18	12/18
HUMVWA	16	16/18	16
HUMFGA	21/24	24	21/24
D5S818	11/14	11	11
D13S317	8	8	8
D7S820	11/13	7/9	10/13

Este tema será discutido con detenimiento más adelante, en la exposición que sobre el mismo tema efectuará Antonio Amorim.

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LA MUESTRA FORENSE EN EL
EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2004**

Lourdes Prieto, Marta Montesino, Elena Rivas

Comisaría General de Policía Científica

Servicio de Analítica

Madrid

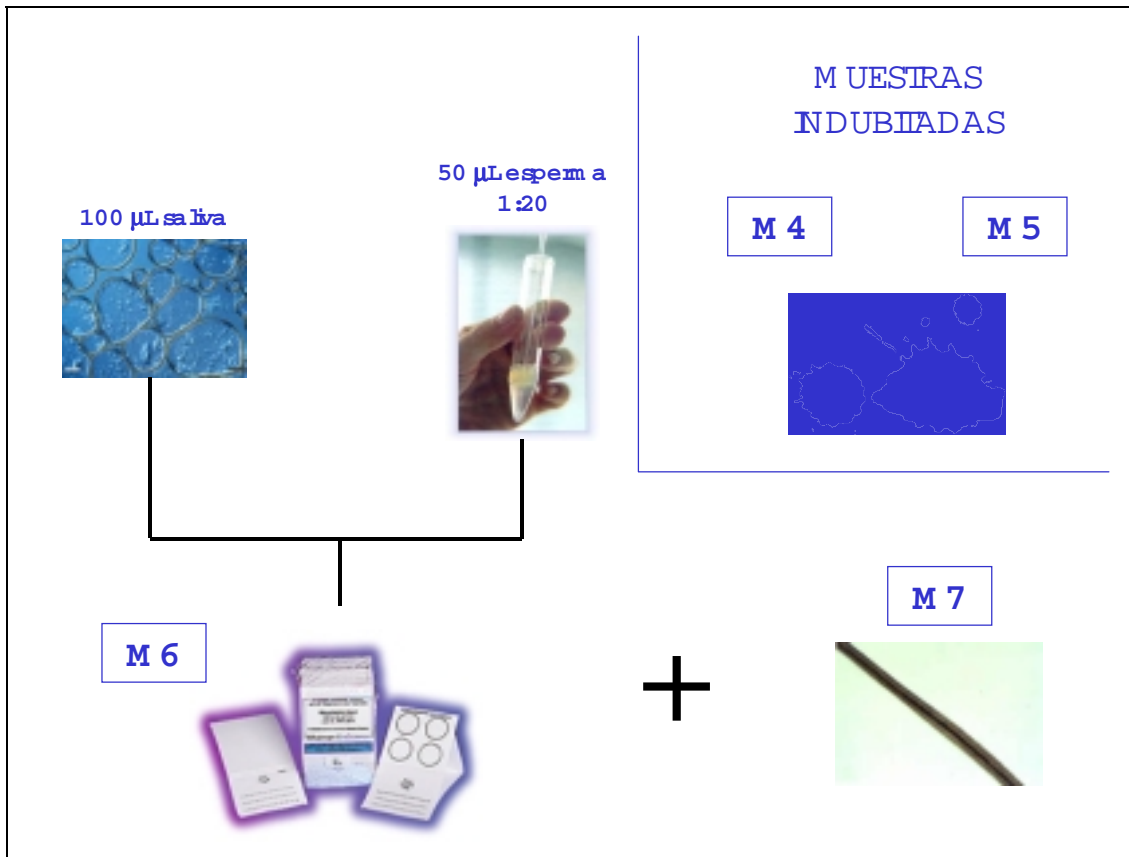
España

Introducción

Este año hemos estado muy entretenidos con el ejercicio forense que Julia García nos ha propuesto. Los resultados han sido muy interesantes y, un año más, hemos aprendido cosas nuevas. Además de la finalidad última consistente en emitir un certificado, nos gustaría destacar la utilidad de estos ejercicios a lo largo de los años. Nos permiten saber si realizamos correctamente numerosos y diversos análisis, conocer nuestro nivel respecto al resto de laboratorios, aprender cada año cosas nuevas e incluso nos han hecho enfrentarnos a problemas que posteriormente nos han surgido en los casos reales.

Respecto al ejercicio forense de este año, recordaros que consistía en el análisis de las siguientes muestras:

- una mancha formada por 100 μ L de saliva mezclada con 50 μ L de una dilución 1:20 de esperma en solución salina (M-6),
- dos fragmentos de pelo (M-7),
- y dos muestras de referencia, para realizar el cotejo con las anteriores, consistentes en dos manchas de sangre pertenecientes a una víctima (M-4) y un sospechoso (M-5).



Pruebas preliminares

Participantes y tipos de análisis

Llama mucho la atención que muchos de los laboratorios que analizaron la muestra M-6 con o sin resultado (47 en total) no realizan pruebas preliminares. Sólo 19 realizan algún análisis anterior al estudio de ADN propiamente dicho. Sólo tres laboratorios visualizaron M-6 bajo luz forense a distintas longitudes de onda. Los tests realizados para detección de semen fueron:

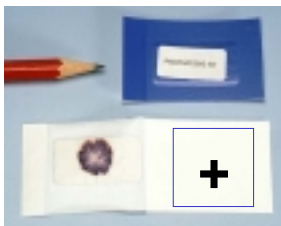
- 10 laboratorios analizaron fosfatasa ácida
- 9 laboratorios analizaron antígeno específico de próstata (PSA o P30)
- 13 laboratorios usaron microscopía óptica con diferentes tinciones (azul de metileno, hematoxilina-eosina, Papanicolau, Christmas tree).

Para detección de saliva hay cinco laboratorios que realizan test de amilasa. Por último, un laboratorio informa que realiza fosfatasa “alcalina” posiblemente debido a un error de transcripción y otro informa que realiza pruebas de sangre, saliva, semen y orina, sin especificar qué tipo de técnicas utiliza.

M 6 : FOSFATASA ÁCIDA

P. Alcalina	P. Ácida	M.O.	PSA	Amilasa	Visualización $\neq \lambda$	Sangre, semen, saliva y orina
1	10	13	9	5	3	1

Phosphatesmo: 2



Alfa-naftil: 2

+ débil: 1 + :1

Sin especificar: 6

+: 2 - : 2 + débil: 2

M 6 : VISUALIZACIÓN ESPERMATOZOIDES

P. Alcalina	P. Ácida	M.O.	PSA	Amilasa	Visualización $\neq \lambda$	Sangre, semen, saliva y orina
1	10	13	9	5	3	1

Azul de metileno: 1

2 – 3 cabezas

Papanicolau: 1

Dificultad

Sin especificar: 6

No espermat: 5

Escasas cabezas: 1

Christmas tree: 4

Escasa cantidad: 2

Positivo: 1

Sin comentarios: 1

H-E: 1

Positivo



M 6 : ANTÍGENO ESPECÍFICO DE PRÓSTATA

P. Alcalina	P. Ácida	M.O.	PSA	Amilasa	Visualización ≠ λ	Sangre, semen, saliva y orina
1	10	13	9	5	3	1

PSA semiquant
Seratec: 4

+: 3

- : 1



Sin especificar: 5

+: 3

+ débil: 1

No da resultado: 1

M 6 : AMILASA

P. Alcalina	P. Ácida	M.O.	PSA	Amilasa	Visualización ≠ λ	Sangre, semen, saliva y orina
1	10	13	9	5	3	1

Phadebas: 2

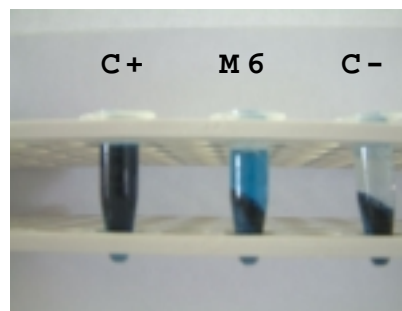
+

Test Yodo-almidón: 1

+

Sin especificar: 2

+

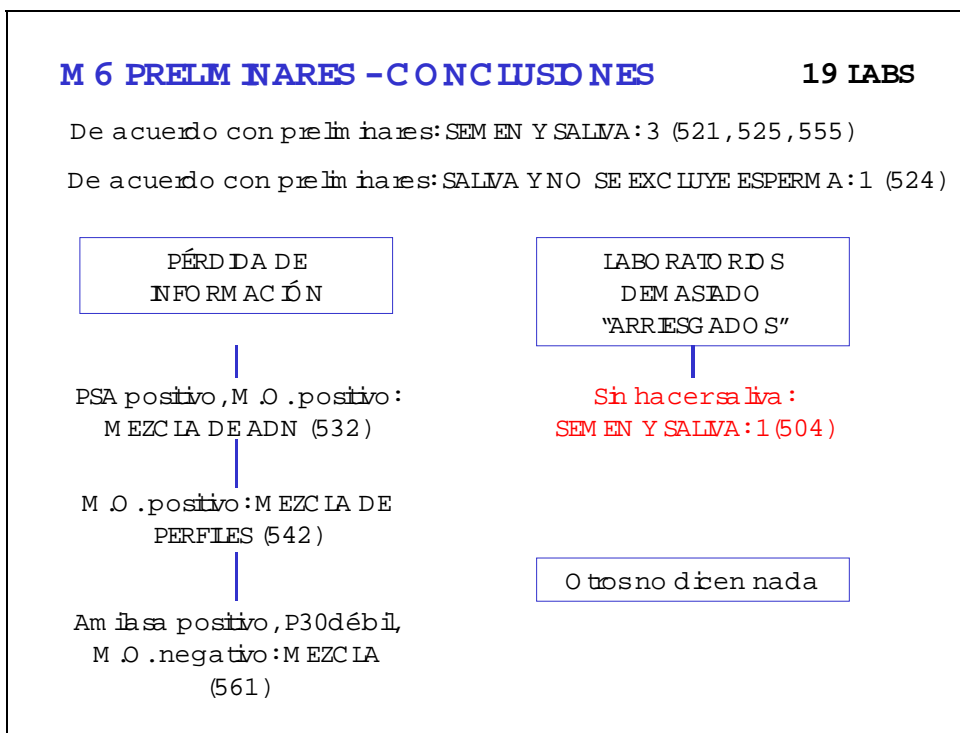


Resultados

En este apartado cabe destacar que muchos laboratorios han tenido dificultades en todas las pruebas, excepto en la detección de amilasa. La

visualización de espermatozoides quizá sea la prueba más significativa ya que algunos laboratorios no lograban ver espermatozoides, otros detectaron escasas cabezas y sólo dos informaron un positivo contundente.

En las conclusiones de los laboratorios respecto a estos estudios, sólo tres laboratorios concluyen que se trata de una mezcla de saliva y esperma. Algunos grupos pierden información, pues obtienen resultados positivos en alguno de los tests realizados y no emiten conclusiones respecto al tipo/s de fluido/s que dieron lugar a la mancha M-6. En los casos reales es muy importante identificar el tipo de fluido (una mancha de saliva en la escena del delito no implica lo mismo que una mancha de esperma).



M 6 :PRELIM NARES

18 IABS

De acuerdo con preliminar es: SEM EN Y SALIVA: 3 (521, 525, 555)

De acuerdo con preliminar es: SALIVA Y NO SE EXCLUYE ESPERMA: 1 (524)

Sin hacer saliva: SEM EN Y SALIVA: 1 (504)

O rna positivo: M E Z C I A F L U I D O S B I O L Ó G I C O S: 1 (502)

PSA positivo y Wood: RESTO S C E L U L A R E S Y S E M E N: 1 (516)

PSA positivo, M O . positivo: M E Z C I A D E A D N: 1 (532)

PSA positivo, M O negativo: M E Z C I A D E A D N: 1 (538)

AcP negativa, M O . positivo: M E Z C I A D E P E R F I L E S: 1 (542)

Phosphate m o positivo: P E R F I L M E Z C I A: 1 (549)

Seratec negativo: M E Z C I A D E G E N O T I P O S: 1 (554)

Am ilasa positivo, P30 débil, M O negativo: M E Z C I A: 1 (561)

PSA, Christm astee sin resultados: M E Z C I A D E P E R F I L E S: 1 (564)

SIN RESPUESTA: 3 (501, 522, 534)

La mayoría de laboratorios que no realizan pruebas preliminares concluyen con frases como "mezcla de perfiles", "mezcla de fluidos", "mezcla de ADN", etc.

M 6 : SIN PRELIM NARES

28 IABS

"mezcla de fluidos biológicos"

"mezcla de materiales biológicos"

"mezcla de perfiles"

"mezcla de dos componentes"

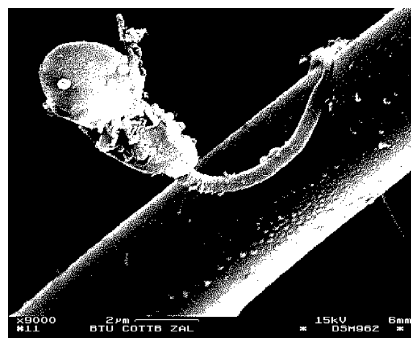
"mezcla de ADN"

"mezcla de céls. masculinas y femeninas"

"perfil mezcla"

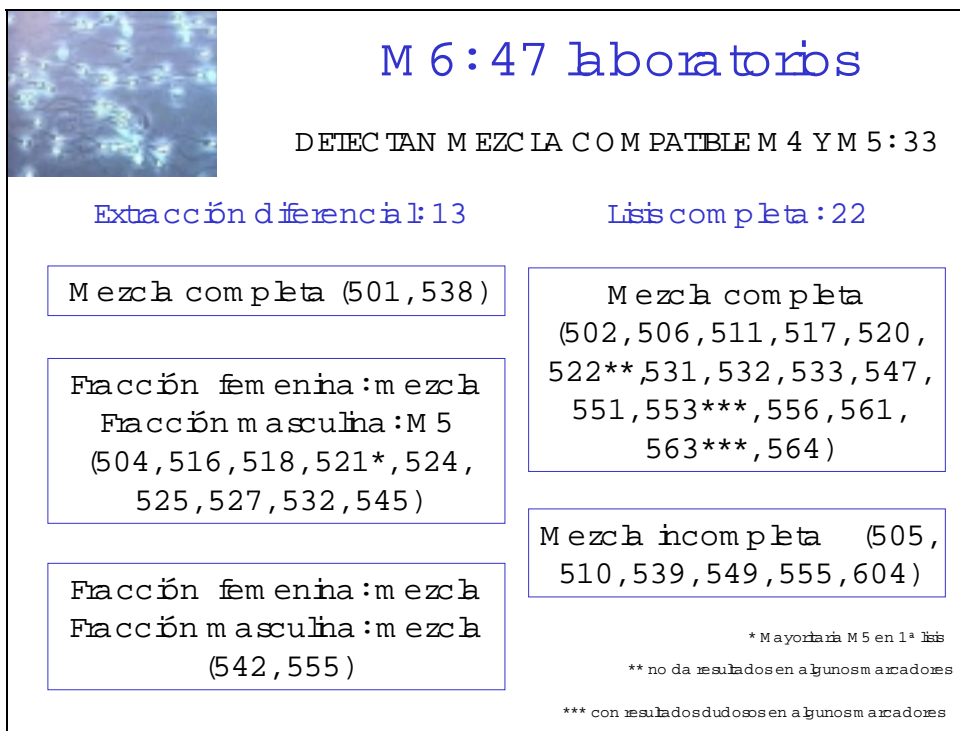
"mezcla de muestras"

"mezcla de al menos dos individuos"



STRs autosómicos

Hay 47 laboratorios que realizan STRs autosómicos en M-6, pero sólo 33 detectan una mezcla compatible con M-4 y M-5. Algunos realizan la extracción de ADN mediante una lisis completa y otros realizan extracción diferencial con el fin de separar el componente masculino del femenino y así poder interpretar mejor los resultados.



Pero lo que nos gustaría destacar de este apartado es la diversidad de resultados en cuanto a los alelos detectados en cada marcador y su intensidad.

Está claro que el análisis de mezclas se simplifica cuando disponemos de muestras de referencia como es el caso que nos ocupa, sin embargo, ¿cómo valoramos las mezclas cuando no tenemos muestras indubitadas? ¿tenemos suficientes criterios establecidos para descartar o informar un pico del electroferograma como alelo?

¿porqué esta variedad de resultados?

¿hay diferencias entre distintas zonas de la mancha?

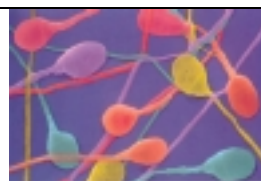
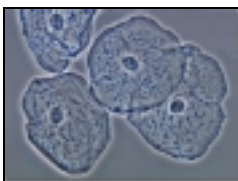
¿diferente eficacia en la extracción?

¿diferente umbral de detección?

¿se tienen en cuenta los picos stutter?

C SF1PO	D2S1338	D3S1358	D5S818	D7S820	D8S1179	D13S317	
9,2%	11,1%	10,7%	6,8%	8,2%	8,2%	8,0%	
D16S539	D18S51	D19S433	D21S11	FGA	TH01	TPOX	vWA
10,4%	17,0%	13,3%	9,4%	14,7%	5,1%	4,8%	12,6%

Por otro lado, quisiéramos apuntar que es muy preocupante que algunos laboratorios no detecten alguno de los dos componentes de la mezcla, sobre todo si se trata del perfil masculino, pues éste era el predominante. Finalmente, tres laboratorios presentan resultados que pueden ser debidos a contaminación (otros perfiles distintos a M-4 y M-5) y dos laboratorios informan que no obtuvieron resultados óptimos.



M 6:47 laboratorios

SÓLO DETECTAN M 5: 7

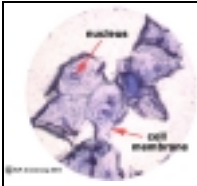
Lisis completa: 503, 507, 513, 530

Lisis diferencial: 515, 550, 558 (no se corresponde la conclusión con los resultados obtenidos)

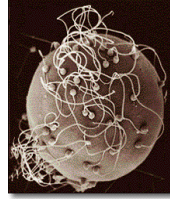
SÓLO DETECTAN M 4: 2

526 sólo hace mtDNA y CY

529 sólo hace mtDNA en M 6



M 6:47 laboratorios



POSIBLES CONTAMINACIONES: 3

Lisis diferencial: 514 (M6 no presenta abs compatibles con M4 y M5)

Lisis completa: 537 y 554 (M4 + desconocido)

SIN RESULTADO SÓPTIMOS: 2

Extracción FIA y FenolC broformo: 534

No fue posible amplificar M6 pero en la tabla pone "M5 NO ": 567

Con los resultados obtenidos, 22 laboratorios realizan una valoración estadística teniendo en cuenta diferentes hipótesis. Como el año pasado, algunos laboratorios todavía presentan deficiencias en el análisis estadístico: presentar probabilidades "a posteriori" o definir de forma ambigua o incorrecta el LR.

Valoración estadística

Hacen: 22

No hacen: 25

H1: M6 procede de M4 y M5

H2: M6 procede de M4 y otra persona desconocida

H1: M6 procede de M4 y M5

H2: M6 procede de dos personas desconocidas

H1: M6 procede de M5

H2: M6 procede de otra persona desconocida

H1: M6 procede de M4 y otra persona desconocida

H2: M6 procede de dos personas desconocidas

H1: M6 procede de M5 y otra persona desconocida

H2: M6 procede de dos personas desconocidas

Variancia estadística : Principales discrepancias

-ha habido una probabilidad "a posteriori" para b cuando se ha tenido que usar una probabilidad "a priori" que no ha sido definida.

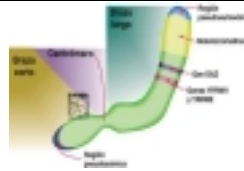
-definición de LR:

$$\text{LR} = \frac{M4 + \text{desconocido}}{2 \text{ desconocidos}} \quad \text{LR} = \frac{H1}{H2} \quad \text{LR} = \frac{P(H1)}{P(H2)}$$

STRs de cromosoma Y

Sólo una breve pincelada en este apartado pues Leo discutió el tema ampliamente. Afortunadamente, cada vez son más numerosos los laboratorios que realizan análisis de Y-STRs y creemos que el trabajo que ha realizado el grupo de Leo se nota mucho pues hay menos errores que en otros tipos de análisis, pero todavía queda un poco de camino por recorrer en muestras forenses. Hay laboratorios que informan perfectamente los haplotipos en las muestras M-4 y M-5, pero que tienen algunos problemas con M-6; y 6 laboratorios no realizan el análisis de M-6, habiéndolo realizado en las otras muestras.

M 6:47 laboratoris



REALIZAN STRs C Y: 29

NO REALIZAN C Y: 18

COINCIDENTE CON M 5: 26

6 de ellos realizan C Y en otras muestras (510, 522, 533, 538, 554, 567)

526: M 5 pero tiene dos diferencias C Y en M 4.

537: sólo contesta 3 marcadores (contesta completa M 5)

558: "no se obtuvieron resultados para ninguno de los marcadores de C Y analizados"

ADN mitocondrial

Este año ha sido muy interesante el análisis de ADN mitocondrial en la muestra forense M-6, pues el resultado consenso (13 laboratorios) fue la detección del haplotipo coincidente sólo con M-4 (saliva) y la ausencia del haplotipo de M-5 (semen). Seis laboratorios informaron la detección de una mezcla, bien completa o incompleta.

Realizan mtDNA en M 6: 20 laboratoris

M 4: 263G 315.1C M 5: 16266 T 263G 309.1C 315.1C

MEZCLA COMPLETA M 4 + M 5

16266 C / T 263G 309.1C 315.1C

3

MEZCLA INCOMPLETA M 4 + M 5

16266 C / T 263G 315.1C

263G 309.1C 315.1C

16266 C + T 263G 309C 315C

3

COINCIDENTE CON M 4

263G 315.1C

13



Algunos laboratorios trataron de explicar este resultado: “posible mutación en zona de anillamiento de primer en semen”, “individuo heteroplásmico”, “mutación somática”, “macrodeleciones en mtDNA del semen”, “escasez de mitocondrias presentes en el espermia”, “diferentes contenidos relativos de ADN nuclear y mitocondrial”.

PO SIBLES EXPLICACIONES QUE DAN LOS LABORATORIOS

- Descartada mutación en zona de anillamiento del primer: 506 y 555

- "Heteroplasmia", "mutaciones somáticas"

- Macrodeleciones descritas en patobgías

- "diferentes contenidos relativos de ADN nuclear y mt",
"escasez de mitocondrias presentes en el espermia"



Manolo Crespillo presentó la discusión de los resultados de ADNmt en todas las muestras del ejercicio y llegó a la conclusión de que la explicación más probable al hecho de que sólo se detectara el componente femenino en la muestra M-6 sería el escaso número de copias de ADNmt presente en el semen en relación con la saliva.

Este hecho quedó plenamente demostrado con el análisis de SNPs mitocondriales de región codificante mediante SnapShot que realizó uno de los laboratorios. La sensibilidad de esta técnica es mayor que la sensibilidad de la secuenciación y por ello se pudieron detectar los dos componentes (saliva y semen) en M-6.

ANÁLISIS ADICIONALES: SNPs (506)

SNP	M 4	M 5	M 6
7028	C	C	C
14766	C	C	C
4529	A	A	A
4580	G	G	G
10400	C	C	C
4216	T	T	T
10873	T	T	T
3010	A	G	A>G
3915	G	G	G
3992	C	C	C
4336	T	T	T
4769	G	G	G
4793	A	A	A
6776	T	T	T

Conclusiones

Simplemente quisiéramos destacar los resultados obtenidos en el análisis de ADNmt. Aunque en la práctica forense no es habitual analizar mezclas mediante esta técnica, no está descartado que alguna vez sea necesario estudiar mezclas con ADNmt (en nuestro laboratorio ya hemos tenido algún caso). Quisiéramos poner de manifiesto el especial cuidado que se ha de tener en estos tipos de análisis debido a los diferentes contenidos de ADNmt que distintos tejidos pueden tener. Pensemos que podríamos equivocarnos informando de una exclusión cuando por no detectar uno de los componentes de la mezcla.

EXERCÍCIO DE PATERNIDADE TEÓRICA GEP-ISFG 2004

António Amorim

IPATIMUP

Porto

Portugal

Introdução

O exercício teórico proposto foi o seguinte:

Se trata de calcular una paternidad en la que **P** es el posible padre de **H** y **M** la posible madre de **H**.

Dados los resultados de la tabla que se adjunta, calcule:

- a) La probabilidad de la paternidad de **P** respecto de **H** asumiendo que **M es** la madre de **H**.
- b) La probabilidad de la paternidad de **P** respecto de **H** asumiendo que **M no es** la madre de **H**.

Além da tabela com resultados fenotípicos, foi também remetida uma contendo as frequências alélicas dos marcadores utilizados (*Bases de datos del IT de Madrid*).

O número de laboratórios inscritos foi de 103. Emitiram resultados quanto à questão a) 88 (85%) e 91 (88%) quanto à b). No primeiro caso, 2 laboratórios não forneceram valor de IP, que foi reconstruído a partir do de **W**, ocorrendo o mesmo para três na segunda categoria.

Possíveis erros na análise dos resultados resultarão de incorrecta transformação de decimais (simbolizadas indiscriminadamente por: «´», «,» ou «.») ou por problemas de códigos de página na importação de ficheiros.

Os valores de referência para os IPs globais são: A=1550471,57200 e B=461715,07010.

Análise dos resultados por marcador

Na Tabela 1 apresentam-se para cada sistema os resultados genéticos e os algoritmos de cálculo correspondentes. V_p , f_p , h e m significam, respectivamente, as frequências dos fenótipos do verdadeiro pai, do falso pai, do filho e da mãe; f_8 , f_9 ..., e g as do(s) alelo(s) transmitidos ao filho na população de referência. As frações ($\frac{1}{2}$; $\frac{1}{4}$) representam as probabilidades de segregação mendeliana. X significa a probabilidade da observação assumindo a paternidade de P e Y assumindo a sua não-paternidade, sendo μ a taxa de mutação. Nas condições propostas e assumindo que as mutações “one-step” são muito mais comuns, a mutação é atribuída à gametogênese materna, pelo que não influencia os cálculos.

Na maioria dos sistemas apenas alguns (poucos e quase sempre os mesmos) laboratórios apresentam resultados discrepantes (e, na maioria desses casos, grosseiramente discrepantes, muitas vezes por várias ordens de grandeza). Contudo, no STR D3S1358, muitos laboratórios não entram em linha de conta com a frequência mínima. A frequência de erros é também mais elevada no caso de D7S820, em que a incompatibilidade mendeliana é atribuível à gametogênese materna, quer no caso do trio (pergunta A), quer no cálculo sem a mãe (B).

Análise geral dos resultados

Na Figura 1 apresenta-se o gráfico de dispersão, em escala logarítmica dos IPs apresentados pelos laboratórios. Para além dos valores claramente discrepantes, nota-se que, quer para a questão A como para a B é possível distinguir um grupo de laboratórios que diverge do valor de referência de uma forma idêntica e sistemática. Na maioria dos casos (mas, estranhamente não em todos) essas discrepâncias devem-se fundamentalmente aos resultados nos sistemas D3S1358 e D7S820.

Quanto à questão A, verifica-se que 22 laboratórios apresentam valores de IP global 10 vezes superiores ao de referência e 5 laboratórios 10 vezes inferior (total: 30,84%), enquanto que para a questão B os valores correspondentes são, respectivamente, 7 e 4, num total de 12,36%.

Estes resultados são obviamente preocupantes e, sem ser exaustivo, podem apresentar-se os seguintes factores explicativos:

- questionação da maternidade (*em A, apesar de ser declarada no formulário como assumida*)
- omissão do tratamento estatístico de D7S820 (*apesar de ser considerada como mutação materna*)
- omissão da mãe em D7S820 (*em A, apesar de ser assumida*)
- modificação da probabilidade de paternidade por uma mutação considerada materna
- deficiente tratamento no caso de alelos raros
- problemas de utilização / aplicação de software / fórmulas

Isto mesmo é referido (correctamente) pelo laboratório **17525** que comenta:

“Puesto que se da a la madre como cierta, dicha mutación no afecta al cálculo con las fórmulas usadas. El programa FAMILIAS requiere la introducción de la tasa de mutación materna de este marcador para realizar el cálculo, arrojando un resultado distinto al reflejado”.

Pelo contrário, o laboratório **17599** evidencia dificuldades na utilização de “frequências mínimas”:

“El alelo 12 del sistema D3S1358 se presenta con una frecuencia muy baja. Algunos laboratorios consideran el uso de frecuencias alélicas mínimas sobretodo con el fin de compensar deficiencias en el muestreo de sus bases de datos. Este no es el caso, pues la base de datos INT informa un tamaño de muestra importante y para casos de filiación la estimación de alelos poco

comunes nos resulta confiable. No obstante nuestro laboratorio utilizaría frecuencias mínimas para considerar alelos raros que no estén contemplados en la base de datos de referencia y para investigaciones criminales con el fin de ofrecer resultados más conservadores”.

Verificam-se também problemas de enquadramento em normativas, como nos comenta o laboratório **17608**:

“Siguiendo la normativa del GEP-ISFG...en caso de exclusiones aisladas (para un único marcador) por la Primera regla de Landsteiner...se calcula la probabilidad de paternidad sin tener en cuenta el marcador que ha producido la exclusión [...] El calculo expresado en la tabla 12 A fue realizado siguiendo el criterio de otros autores que recomienda realizar el calculo en cualquier situación, incluso con varias exclusiones”.

Alguns comentários de vários laboratórios são mais difíceis de interpretar, parecendo revelar incompreensão do papel do perito no sistema judicial, como nos seguintes:

- **17576:** *“La segunda pregunta de la paternidad es confusa. En mi opinión debería dar las tres opciones: sí, no, no se sabe. Ya que de otra forma hay que dejarla sin contestar”.*
- **17577:** *“Con evidencias de mutación, la información del locus se descarta (no tiene sentido el uso de frecuencias poblacionales)”.*
- **17579:** *“Ese menor sí es hijo de la pareja. Y si no estuviera la mama con el hijo y el p.p podría realizarse la paternidad”.*

A análise das fórmulas usadas é impossível por haver vários laboratórios que as não reportam, ou serem insuficientemente informativas, mas, de qualquer modo, pode observar-se que não se verifica correlação entre os erros apresentados e a utilização de fórmulas / software, dado que as mesmas fórmulas/software conduzem a resultados diferentes em laboratórios distintos.

Conclusões finais

1. Será necessário preparar um formulário de preenchimento mais rígido (online?) por forma a evitar os problemas de transcrição e/ou importação de ficheiros, que dificultam a análise e interpretação dos resultados e a sua classificação como correctos ou discrepantes.
2. Os erros humanos são muito frequentes, verificando-se que a utilização de metodologias estatísticas correctas não é suficiente como garantia de qualidade dos resultados.
3. No entanto, pode dizer-se que os resultados globais demonstram existir, no seio do grupo, deficiente formação em genética formal, probabilidades e estatística. De facto, embora um número relativamente reduzido de laboratórios contribua desproporcionadamente para a quantidade e qualidade dos erros observados, o número de laboratórios que apresentam valores globais de IP divergindo do valor de referência por uma ordem de grandeza superior a 10 é intoleravelmente elevado e requer medidas correctivas de urgência.

Agradecimentos

Este trabalho deve muito à ajuda das colegas do IPATIMUP Cíntia Alves, Leonor Gusmão e Luísa Pereira.

Figura 1. Gráfico de dispersão dos valores de IPs globais apresentados pelos laboratórios. A escala é logarítmica decimal e os valores de referência são: A=1550471,57200 e B=461715,07010

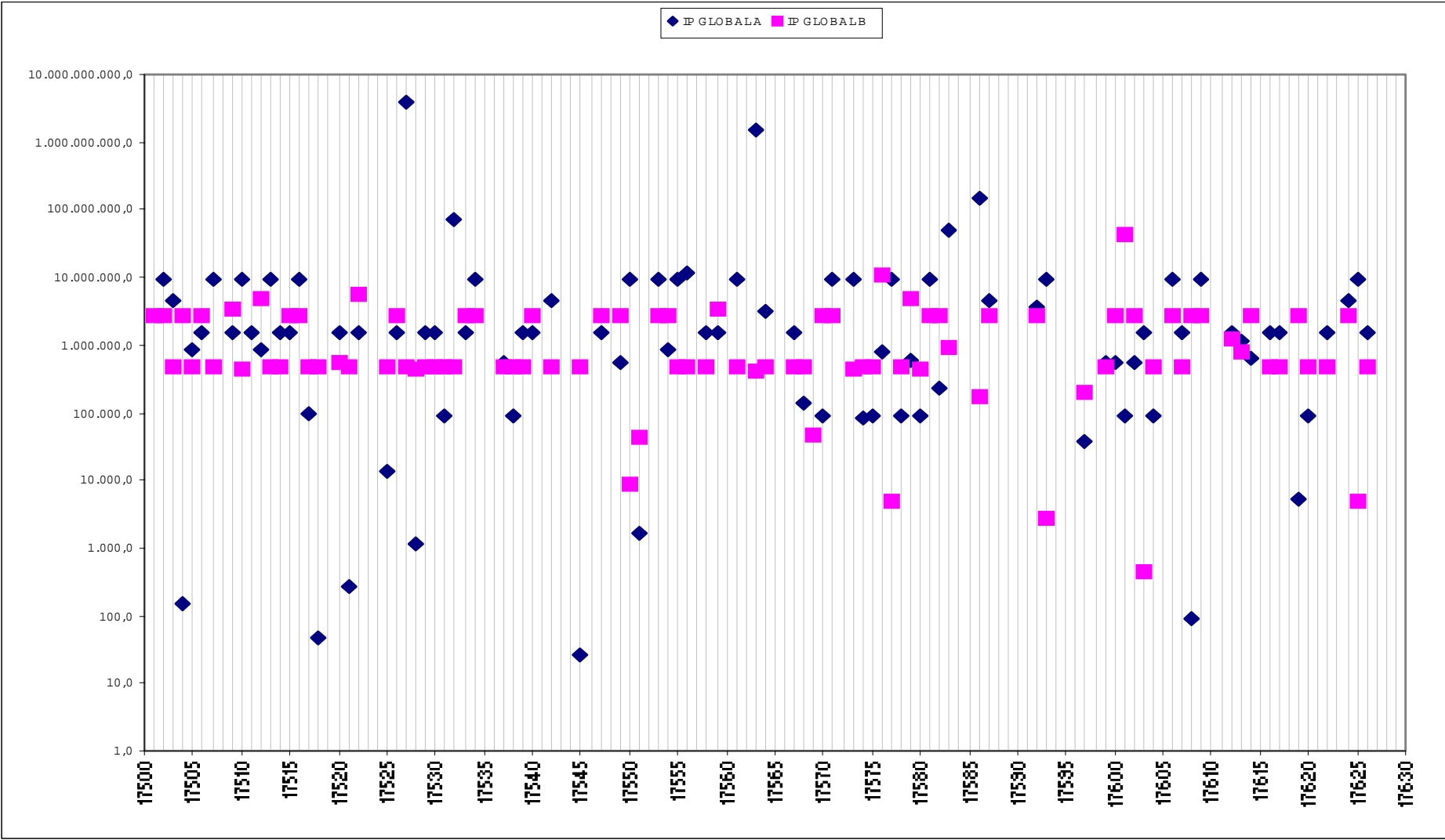


Tabela 1. Algoritmos de cálculo dos índices de paternidade por sistema genético

Sistema	P	M	H	X(a)	Y(a)	IP(a)	X(b)	Y(b)	IP(b)
D13S317	8	8	8	$f_8^2 * f_8^2$	$f_8^2 * f_8^2 * f_8$	1/ f_8	$f_8^2 * f_8$	$f_8^2 * f_8^2$	1/ f_8
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	6,91085	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	6,91085
TH01	6-9	6-9	6-9	$2f_6f_9 * 2f_6f_9^{*1/2}$	$2f_6f_9 * 2f_6f_9^{*(1/2f_6+1/2f_9)}$	1/(f_6+f_9)	$2f_6f_9^{(1/2*f_6+1/2f_9)}$	$2f_6f_9 * 2f_6f_9$	(f_6+f_9)/ $4f_6f_9$
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	2,35849	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	2,37524
VWA	16	16-18	6-9	$f_{16}^2 * 2f_{16}f_{18}^{*1/2}$	$f_{16}^2 * 2f_{16}f_{18}^{*1/2} * f_{16}$	1/ f_{16}	$f_{16}^2 * f_{16}$	$f_{16}^2 * f_{16}^2$	1/ f_{16}
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	4,43656	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	4,43656
TPOX	8	8-11	8	$f_8^2 * 2f_8f_{11}^{*1/2}$	$f_8^2 * 2f_8f_{11}^{*1/2} * f_8$	1/ f_8	$f_8^2 * f_8$	$f_8^2 * f_8^2$	1/ f_8
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	1,98295	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	1,98295
FGA	21-24	24	21-24	$2f_{21}f_{24} * f_{24}^{*2*1/2}$	$2f_{21}f_{24} * f_{24}^{*2} * f_{21}$	1/2 f_{21}	$2f_{21}f_{24}^{(1/2f_{21}+1/2f_{24})}$	$2f_{21}f_{24} * 2f_{21}f_{24}$	($f_{21}+f_{24}$)/ $4f_{21}f_{24}$
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	3,02115	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	3,24910
CSF1PO	10-12	10-11	10-12	$2f_{10}f_{12} * 2f_{10}f_{11}^{*1/4}$	$2f_{10}f_{12} * 2f_{10}f_{11}^{*1/2} * f_{12}$	1/2 f_{12}	$2f_{10}f_{12}^{(1/2f_{10}+1/2f_{12})}$	$2f_{10}f_{12} * 2f_{10}f_{12}$	($f_{10}+f_{12}$)/ $4f_{10}f_{12}$
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	1,51240	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	1,66331
D5S818	11-14	11	11	$2f_{11}f_{14} * f_{11}^{*2*1/2}$	$2f_{11}f_{14} * f_{11}^{*2} * f_{11}$	1/2 f_{11}	$2f_{11}f_{14}^{*1/2} * f_{11}$	$2f_{11}f_{14} * f_{11}^2$	1/2 f_{11}
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	1,48236	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	1,48236
D3S1358 <i>V/nota</i>	12-15	17-18	12-18	$2f_{12}f_{15} * 2f_{17}f_{18}^{*1/4}$	$2f_{12}f_{15} * 2f_{17}f_{18}^{*1/2} * f_{12}$	1/2 f_{12}	$2f_{12}f_{15}^{*1/2} * f_{18}$	$2f_{12}f_{15} * 2f_{12}f_{18}$	1/2 f_{12}
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	92,59259	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	46,29630
D7S820	11-13	7-9	10-13	$2f_{11}f_{13} * 2f_7f_9^{*1/4} \mu$	$2f_{11}f_{13} * 2f_7f_9^{*1/2} * \mu * f_{13}$	1/2 f_{13}	$2f_{11}f_{13}^{*1/2} * f_{10}$	$2f_{11}f_{13} * 2f_{10}f_{13}$	1/4 f_{13}
				<i>vp m</i>	<i>fp m g</i>	17,24138	<i>vp g</i>	<i>fp h</i>	8,62069

NB: No sistema D3S1358, para o cálculo, foi usado o valor de frequência mínima apresentado na tabela da bases de dados INT, em vez do de f_{12} .

EXERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
CROMOSOMA Y

Leonor Gusmão y António Amorim

IPATIMUP

Porto

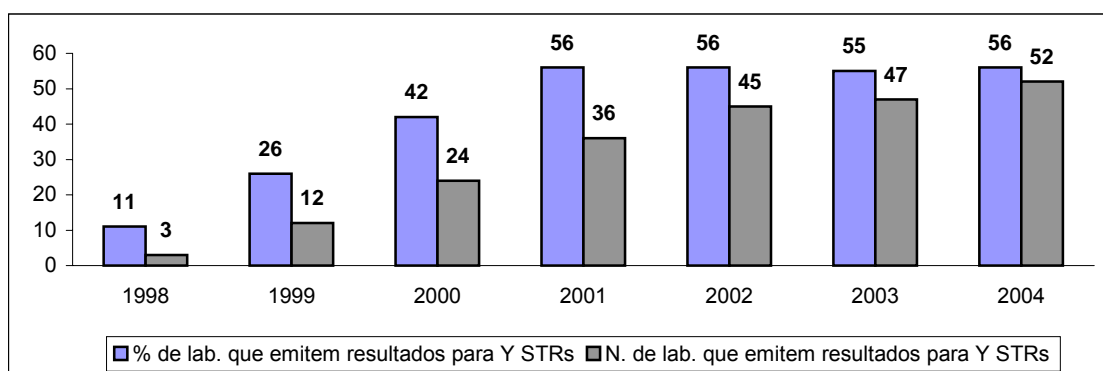
Portugal

A participação dos laboratórios pode ser resumida da seguinte forma:

▪ N° laboratórios inscritos	103
▪ N° labs que emitem resultados	93 (90%)
▪ N° labs que emitem resultados mtDNA	34 (33%)
▪ N° labs que emitem resultados STR Y	52 (56%)
▪ Destes, com haplótipo mínimo	38 (70%)

Em relação ao ano passado, além de um ligeiro aumento da percentagem de laboratórios a emitir resultados para STRs do cromossoma Y (de 55% para 56%) houve também, este ano, um aumento do número médio de marcadores por laboratório de 9.2, o ano passado, para 10.6, este ano. Sendo assim, o número total de tipagens (\sum n° de marcadores para cada laboratório) também subiu de 436 para 551.

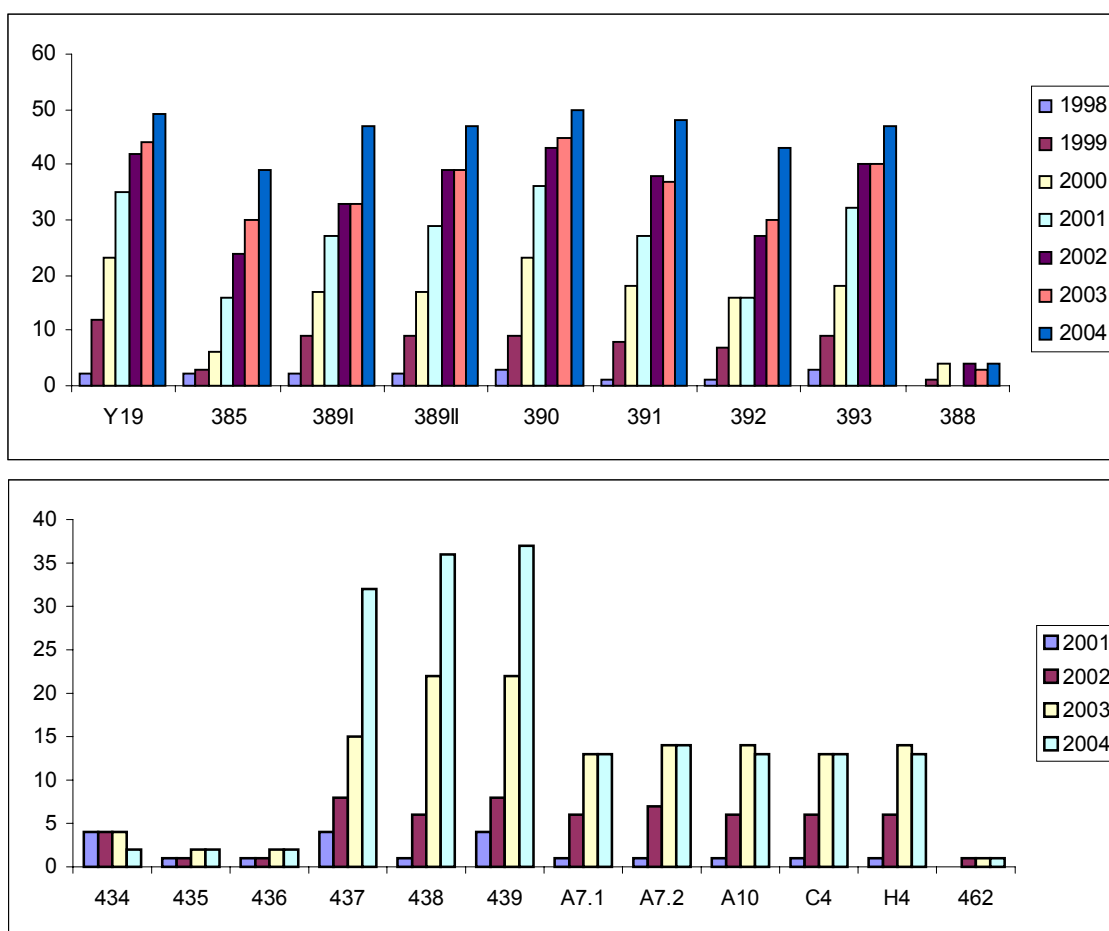
Fig.1 Evolução anual



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, tendo-se mantido entre 2001-2003, voltando a subir ligeiramente este ano.

No que respeita à evolução anual da utilização dos loci, (Fig.2), observa-se que em relação aos marcadores incluídos no haplótipo mínimo, ao contrário do que aconteceu em 2003 em que o único marcador que manteve o crescimento foi o DYS385, este ano houve um aumento da utilização de todos os loci incluídos no haplótipo mínimo.

Fig.2 Evolução anual da utilização dos loci

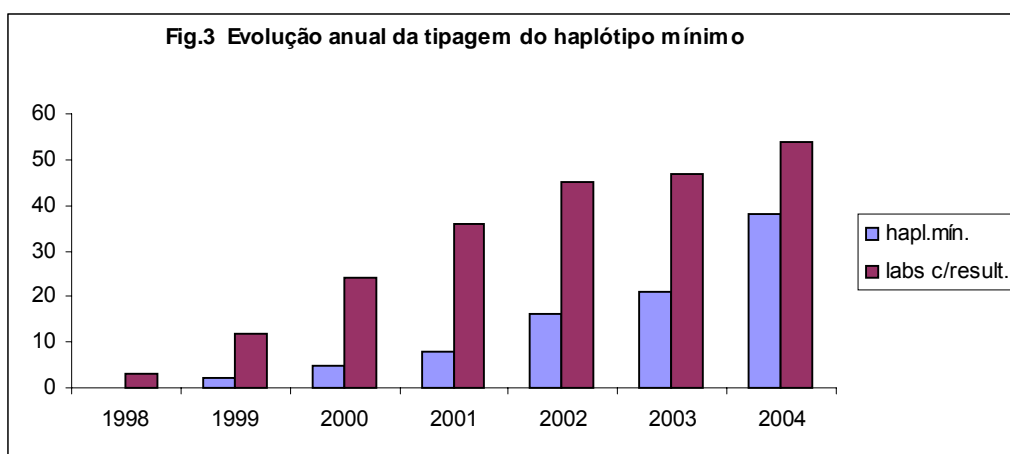


Quanto aos STRs DYS388, DYS434, DYS435, DYS436 e DYS462, a utilização destes marcadores por laboratórios do GEP tem-se mantido sempre abaixo de

5. Este ano não foi possível encontrar um resultado consensual para nenhum deles, dado que não houve um mínimo de 4 laboratórios a obter o mesmo resultado.

Quanto aos restantes marcadores, a utilização dos 8 marcadores incluídos no exercício colaborativo levado a cabo pelo GEP manteve aproximadamente constante (há 12 laboratórios que apresentam resultados para estes 8 marcadores, apenas mais 1 que o ano passado). Verificou-se no entanto uma duplicação no número de laboratórios que tipam os STRs DYS437, DYS438 e DYS439 como consequência do elevado número de laboratórios (19 dos 54 laboratórios) que utilizam o kit Powerplex Y da empresa Promega, o qual começou a ser comercializado o ano passado e que inclui, para além dos marcadores do HM, estes 3 STRs.

No total de laboratórios que apresentam resultados para Y-STRs, o número de contribuições com o haplótipo mínimo voltou a aumentar este ano, tendo passado de 45% para 70% (Fig. 3).



Análise de erros

Na tabela 1 apresentam-se os erros de tipagem para os marcadores mais utilizados, para os quais existe maior informação, tendo sido introduzidos no exercício à mais tempo. Da análise desta tabela verifica-se que em 2003 houve um elevado número de erros que se concentraram no DYS389 pelo facto de ter sido especificada a nomenclatura a utilizar. Apesar deste ano ter sido

especificada a nomenclatura a utilizar para este marcador, há ainda 2 laboratórios que continuam a utilizar a nomenclatura antiga. Globalmente, este ano a taxa de erros atingiu o valor mais baixo até agora observado.

TABELA 1. Evolução anual dos erros de tipagem

	Y19	385	389I	389II	390	391	392	393	388	Total	
1998	nº tipagens	2	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	6**	8**	0	1	0	4	0	22 (7.3%)
2004	nº tipagens	49	39	47	47	50	48	43	47	4	369
	nº erros	0	2	2	3	0	0	3	1	-	11 (3.0%)
				-3							8 (2,2%)

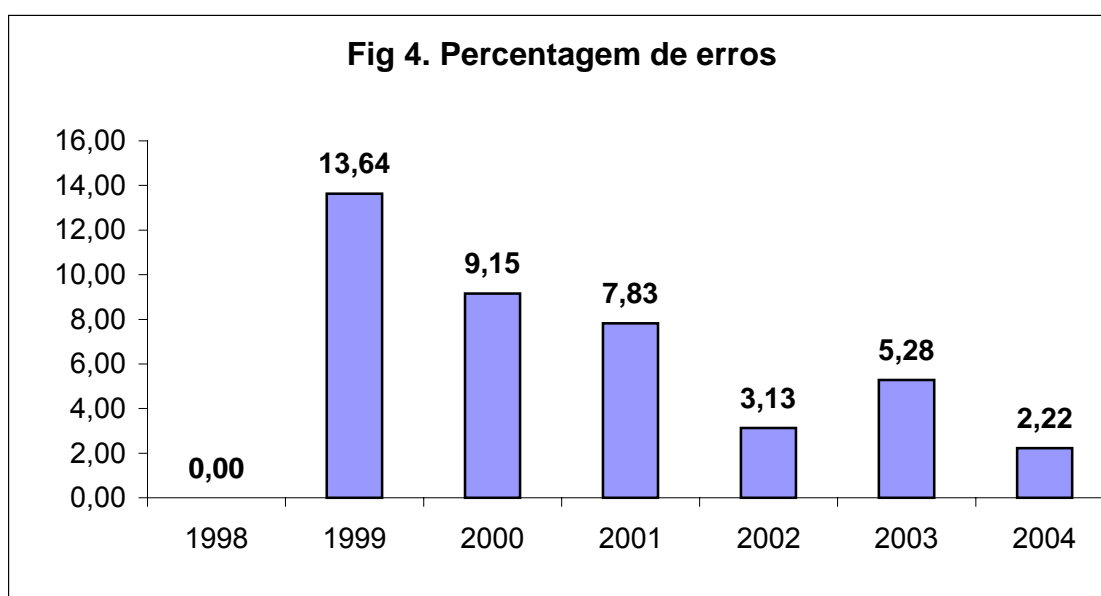
**DYS19 e DYS390, mudança / estabelecimento de nomenclatura

Considerando unicamente os STRs incluídos nos GEPYs, apesar do aumento de tipagens para estes marcadores observou-se apenas 1 erro (tal como nos 2 anos anteriores) tendo diminuído, por isso, a taxa de erro para o valor mais baixo até agora obtido.

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	nº tipagens	4	1	1	4	1	4	1	1	1	1	1	-	12
	nº erros	0	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2 (16.7%)
2002	nº tipagens	4	1	1	8	6	8	6	7	6	6	6	1	61
	nº erros	-	-	-	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.6%)
2003	nº tipagens	4	2	2	15	22	22	13	14	14	13	14	1	135
	nº erros	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	1 (0.74%)
2004	nº tipagens	2	2	2	32	36	37	13	14	13	13	13	1	171
	nº erros	-	-	-	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.58%)

Passando agora à análise dos erros observados no corrente exercício, constata-se que a frequência global de erros baixou para 2,2%, o valor mais baixo até agora obtido (Fig. 4).



Apesar da diminuição da taxa de erro por total de tipagens, verifica-se que 13,5% (7 em 52) dos laboratórios que emitem resultados para o Y apresentam erros em pelo menos uma tipagem. No entanto, se considerarmos apenas os

laboratórios que realizaram o exercício forense (um total de 29) apenas um apresenta erros, podendo-se concluir que os erros se concentram nos laboratórios que apenas tiparam amostras de sangue (os restantes 23).

Tabela 3. Total de amostras tipadas

	DYS19	DYS385	DYS389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 437	DYS 438	DYS 439	GATA A7.1	GATA A7.2	A10	C4	H4	TOTAL	Total labs	Labs c/ erros
Sangue	133	110	128	128	121	129	118	128	89	101	102	35	37	34	34	34	1461	52	6
Forense	27	25	28	28	22	25	25	26	19	22	22	6	7	6	6	6	300	29	1*
Total	160	135	159	156	143	154	143	154	108	123	124	41	44	40	40	40	1761		

* só apresenta resultados para Y-STRs e mtDNA

Os 12 erros observam-se em laboratórios que utilizam diferentes sistemas de detecção, ao contrário do ano passado em que os erros se concentravam em laboratórios utilizadores de sistemas ALF ou de coloração com prata. No entanto, de um modo geral, a taxa de erro nos utilizadores de sistemas ABI continua a ser mais baixa. Em 34 laboratórios que utilizam ABIs há 2 que apresentam erros (5,8%) enquanto que em 17 laboratórios utilizando outros sistemas de detecção há 5 laboratórios que apresentam erros (29,4%).

Deteccção	Nº de Labs		Nº de tipagens		Nº de erros (%)	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004
ABI310	18	20	199	231	2	5*
ABI377	5	8	52	93	0	0
Prata	10	10	52	88	6	2**
ABI3100	3	6	43	65	0	0
ALF	5	4	37	30	5	3***
ALF/ABI3100	-	1	-	16	-	-
ABI310/ABI377	1	-	16	-	0	-
FMBIO/Prata	1	-	8	-	0	-
FMBIO II	1	2	6	12	1	1
Radioactiva	1	1	3	5	0	1

* Um erro de nomenclatura e os restantes 4 erros correspondem a um laboratório

** Um erro de nomenclatura

*** Os 3 erros correspondem a um só laboratório

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.

Lab.	Marcador		Primers	Detecção	Ladder
17526	DYS385	11,16→10,15	De Knijff et al., 1997	ALF	-
	DYS392	13→14	De Knijff et al., 1997	ALF	-
	DYS439	12→11	Ayub et al., 2000	ALF	Controles Próprios
17533	DYS389II	31→30	Próprios	Radioactivo	Próprios
17554	DYS385	11,16→12,17 12,14→13,15	PowerPlex Y	ABI310	PowerPlex Y
	DYS389II	31→32 30→31	PowerPlex Y	ABI310	PowerPlex Y
	DYS392	13→14	PowerPlex Y	ABI310	PowerPlex Y
	DYS393	13→14	PowerPlex Y	ABI310	PowerPlex Y
17571	DYS389II	31→29	Y-6Plex	FMBIO II	Y-6Plex
17575	DYS392	13→14	Próprios	Prata	Próprios
17593	DYS389I	14→11	Kayser et al., 1997	ABI310	Próprios
17612	DYS389I	14→11	Kayser et al., 1997	Prata	Nenhum

Conclusões

1. Os 3 erros detectados num dos laboratórios parecem estar relacionados com problemas que não dizem respeito apenas à utilização de marcadores de cromossoma Y

(a) Nas amostras M-1 e M-4 verifica-se um erro na fenotipagem da amelogenina que, numa primeira análise, levaria a suspeitar de uma troca entre estas duas amostras.

- (b) No entanto, uma análise dos resultados obtidos na amostra M-4 leva-nos a concluir que esta não poderá corresponder à amostra M-1, dado que esta foi tipada como se tratando da amostra M-5 ou M-6, tratando-se por isso de uma troca ou contaminação com uma destas duas amostras.
- (c) Para além disso existem erros nas tipagem de 3 dos 15 Y-STRs consensuados (Tabla 4).

Tabela 4. Resultados laboratório 17526

	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6
AMEL	XY	XY	X	XY	XY	XY
	X	XY	X	XY	XY	XY
DYS19	14	14			14	14
		14		14	14	14
DYS385	11,16	11,16			12,14	12,14
		10,15		12,14	12,14	12,14
DYS389II	31	31			30	30
		31		30	30	30
DYS392	13	13			13	13
		13		13	13	14
DYS439	11	11			12	12
		11		12	11	12
GATA C4	23	23			24	24
		23		24	24	24

2. Em relação aos erros de nomenclatura observados para DYS389 I, há 2 laboratórios que continuam a utilizar a nomenclatura antiga (a qual já não é utilizada em publicações ou nas bases de dados desde 2000). Estes laboratórios deverão ajustar as suas bases de dados e resultados pela adição de 3 repeats à nomenclatura utilizada para estes dois marcadores.
3. Os restantes laboratórios apresentam erros sistemáticos:

- (a) Um deles apresenta erros em 4 dos 11 marcadores tipados com o kit PowerPlex Y, os quais só podem ser explicados por um deficiente alinhamento do size standard
- (b) outros dois erros verificam-se em laboratórios que dizem utilizar ladders próprios. Estes laboratórios deveriam rectificar os seus ladders, por exemplo 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)

EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
RESULTADOS DISCREPANTES EN STRS AUTOSOMICOS

María José Farfán
Sección de Biología
Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses
Sevilla
España

En este ejercicio se han analizado un total de 113 marcadores de ADN nuclear que incluyen 104 STRs, 8 VNTRs y un marcador de sexo (amelogenina). De entre todos ellos sólo se obtuvieron resultados consensuados para 39 STRs y la amelogenina (ver Tabla 1).

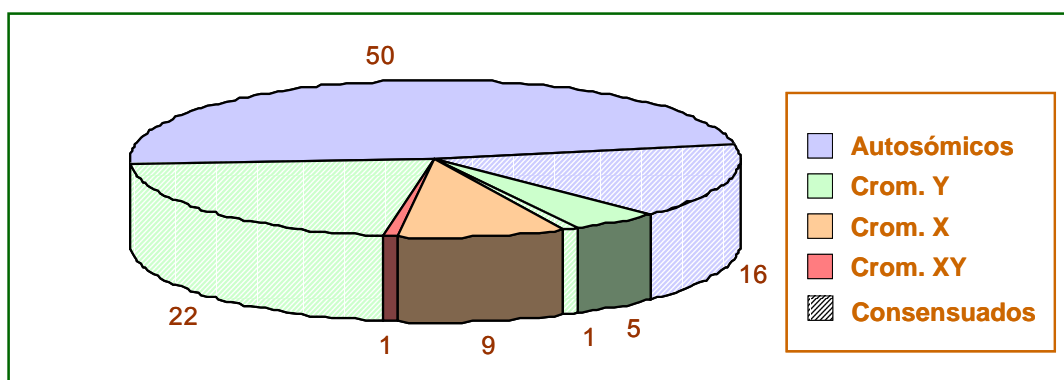
Tabla 1. Marcadores de ADN nuclear analizados y consensuados

Marcadores ADN nuclear	Analizados	Consensuados
STRs	104	39
Autosómicos	72	22
Crom. Y	21	16
Crom. X	10	1
Crom. XY	1	0
VNTRs	8	0
PCR (D1S80)	1	0
RFLP (SLPs)	7	0
De sexo (Amelogenina)	1	1
Total	113	40

El mayor porcentaje de sistemas consensuados respecto del total analizados se ha observado en los STRs del cromosoma Y (76%, 16/21) mientras que para los STRs autosómicos sólo se han obtenido resultados consensuados para un 30% de los sistemas analizados (22/72) (ver Fig. 1). Hay que tener en cuenta que uno de los requisitos para considerar un sistema como consensuado es que haya sido analizado al menos por 6 laboratorios y en este ejercicio hay 31 STRs autosómicos que han sido analizados únicamente por un

laboratorio y 18 STRs analizados por 2 a 5 laboratorios, por lo que de los 72 marcadores sólo habría posibilidad de obtener consenso en 23 de ellos. Este hecho se viene repitiendo en los sucesivos ejercicios, por lo que se podría considerar la posibilidad de no aceptar en adelante resultados para aquellos marcadores para los que se viene observando repetidamente que son analizados únicamente por uno o dos laboratorios.

Figura 1. STRs analizados y consensuados



Para los 40 sistemas consensuados, a cuyo estudio nos ceñiremos en adelante, se han realizado un total de 8207 determinaciones para las que se ha observado una tasa de discrepancia global del 3,4%. No obstante, si no consideramos la muestra M-6, ya que al tratarse de una mezcla presenta una problemática particular, la tasa de discrepancia se reduce al 1,5% en el total de los marcadores o al 1,1% si excluimos también del análisis los STRs del cromosoma Y (ver Tabla 2).

Tabla 2. Marcadores consensuados

Marcadores	Nº determinaciones	Nº discrepancias	Tasa discrep.	Sin M6
STR autos. (22)	6016	218	3,6 %	0,8 %
X-STR (1)	35	6	17,1 %	17,1 %
Y-STRs (16)	1777	43	2,4 %	2,8 %
Amelogenina (1)	379	15	4,0 %	3,8 %
TOTAL (40)	8207	282	3,4 %	1,5 %
Sin Y-STRs	6430	239	3,7 %	1,1 %

Como ya se ha adelantado, la muestra para la que se observó una mayor tasa de discrepancias fue M-6 (18%) debido principalmente a las dificultades inherentes al análisis de STRs autosómicos en una mezcla. En la muestra M-4 se observó una tasa global de discrepancias del 2,6%, pero buena parte de estas discrepancias se debieron a la emisión de resultados para 15 STRs del cromosoma Y por parte de un laboratorio, tratándose de una muestra procedente de una mujer. Si se excluyen estas determinaciones en M-5, la tasa decrece al 0,8%, equivalente a la detectada en el resto de las muestras distintas de M-6 (ver Tabla 3).

Tabla 3. Número de determinaciones y % de discrepancias para los marcadores consensuados

	M1	M2	M3	M4	M5	M6
STRs autos.	1302 0,8	1300 0,8	1302 0,8	735 0,5	735 1,1	642 27,1
X-STR	12 8,3	12 25,0	11 18,2	n.c.	n.c.	n.c.
Y-STRs	526 1,9	539 2,0	0	15 100	408 1,5	304 0,3
Amelogenina	81 3,7	81 3,7	81 3,7	48 4,2	48 4,2	40 5,0
TOTAL	1921 1,3	1932 1,4	1394 1,1	798 2,6 (0,8)	1191 1,3	986 18,0

n.c.: no consensuado

De los 90 laboratorios que emitieron resultados, 38 (42%) presentaron discrepancias en los resultados, si bien el porcentaje se reduce a un 27% si se excluye la muestra M-6 (ver Tabla 4).

Tabla 4. Datos por laboratorios

	Nº labora- torios	Analizan			Sin M6
		M1+M2+M3	M4+M5	M6	
Sin discrepancias	52	52	25	21	66
Con discrepancias	38	38	24	23	24
TOTAL	90	90	49	44	90

Puesto que los resultados para la muestra M-6 se han analizado con más profundidad en el apartado dedicado al ejercicio forense y que los STRs del cromosoma Y también se han analizado de forma independiente, **en adelante nos referiremos al conjunto de datos obtenidos para ADN nuclear excluyendo la muestra M-6 y los Y-STRs**, lo cual supone un total de 5748 determinaciones entre las que se han observado 63 discrepancias (ver Tabla 5).

Tabla 5. Sin considerar muestra M-6 ni Y-STRs

Marcadores	Nº determinaciones	Nº discrepancias	Tasa discrepancias
STR autos. (22)	5374	44	0,8 %
STR X (1)	35	6	17,1 %
Amelogenina (1)	339	13	3,8 %
TOTAL (24)	5748	63	1,1 %

De los 90 laboratorios, hay 21 que emiten resultados discrepantes. Cabe destacar que aproximadamente la mitad de las discrepancias se concentran en 5 laboratorios (ver Tabla 6), fenómeno que se viene observando de forma repetida en las ediciones anteriores del ejercicio.

Tabla 6. Número de discrepancias por laboratorios sin considerar muestra M-6 ni Y-STRs

Nº discrepancias	Nº labs	Nº total discrepancias	
0	69	0	
1	6	6	
2	3	6	16 labs
3	7	21	33 disc. (52%)
4	1	4	
5	2	10	
7	1	7	5 labs
9	1	9	30 disc. (48%)
TOTAL	90	63	

De las 63 discrepancias observadas, 13 de ellas se dan en la amelogenina y se deben en su gran mayoría al uso de una nomenclatura diferente a la estándar (alelos X e Y) (ver Fig. 2).

Figura 2. Discrepancias observadas en la amelogenina

Amelogenina

Nº determinaciones	Nº discrepancias	Tasa discrepancias
339	13	3,8 %

AMELOGENINA	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5
17522	212,218	212,218	212,212	212,212	212,218
17526	106,106	106,112	106,106	106,112	106,112
17613	1,2	1,2	2		

Sin considerar discrepancias por nomenclatura

Nº determinaciones	Nº discrepancias	Tasa discrepancias
339	2	0,6 %

En el único STR del cromosoma X que ha resultado consensuado (HPRTB), se han detectado 6 discrepancias, concentradas en 3 laboratorios (ver Fig. 3).

Figura 3. Discrepancias observadas en HPRTB

X-STR: HUMPRTB

Nº determinaciones	Nº discrepancias	Tasa discrepancias
35	6	17,1 %

HUMPRTB	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5
17510	14	12	12,14	12	12
17533	14	12		12	12
17537	15	13	13,15	13	13
17540	14	12	12,14		
17569	14	11	11,14		
17570	14	12	12,14		
17575	14	12	12,14		
17579	14	12	12,14		
17581	14	12	12,14		
17592	14	12	12,14		
17608	14	14	12,14		
17620	14	12	12,14		
	12	12	11	3	3

Las 44 discrepancias restantes se han observado en STRs autosómicos, que presentaron una tasa de discrepancia global del 0,8%, tasa que se mantiene idéntica si se consideran sólo los marcadores incluidos en el CODIS (ver Fig. 4). El sistema para el que se detectó una mayor tasa de discrepancia fue ACTBP2 y tan sólo en 6 de los 22 STRs autosómicos consensuados no se registró ningún resultado discrepante. Salvo para CSF1PO (2,6%) y TH01 (1,7%), la tasa de discrepancia máxima registrada para los sistemas del CODIS fue del 1%.

Figura 4. Discrepancias observadas en los STRs autosómicos

STRs autosómicos

Nº determinaciones	Nº discrepancias	Tasa discrepancias
5374	44	0,8 %

Marcador	Nº det.	Nº disc.	%	Marcador	Nº det.	Nº disc.	%
ACTBP2 (SE33)	21	2	9,5	D3S1358	286	1	0,3
HUMF13A01	129	5	3,9	D21S11	302	1	0,3
→ HUMCSF1PO	341	9	2,6	HUMTPOX	339	1	0,3
→ HUMFES/FPS	127	3	2,4	D13S317	350	1	0,3
→ HUMTH01	363	6	1,7	D7S820	350	1	0,3
→ D18S51	291	3	1,0	HUMF13B	102	0	0
→ D5S818	294	3	1,0	HUMLPL	90	0	0
→ HUMFIBRA/FGA	304	3	1,0	D8S1179	299	0	0
→ D16S539	352	2	0,6	Penta D	152	0	0
→ HUMVWA	360	2	0,6	Penta E	160	0	0
D19S433	180	1	0,6	D2S1338	182	0	0

Nº determinaciones CODIS	Nº discrepancias	Tasa discrepancias
4231	33	0,8 %

De las 44 discrepancias observadas, 12 consisten en la asignación de un alelo que se diferencia en una única unidad de repetición respecto del resultado consensuado, en 8 se observa ganancia y en 5 pérdida alélica, en 5 de los casos no se detectó un alelo intermedio, en 3 ocasiones el alelo asignado difería en más de una unidad de repetición del genotipo consensuado y en las 11 restantes la causa de la discrepancia es de origen indeterminado (ver Tabla 7).

Tabla 7. Número de discrepancias según naturaleza

Tipo	Nº discrepancias	%
+/- 1 repet.	12	27,3
+/- >1 repet.	3	6,8
Ganancia alelo	8 (2 <i>stutter</i>)	18,2
Pérdida alelo	5	11,4
No detección alelo intermedio	5	11,4
Indeterminada	11	25
TOTAL	44	100 %

En cuanto al método de detección se observa que los equipos automatizados más ampliamente usados son los de *Applied Biosystems*, destacando entre ellos el ABI310 (ver Fig. 5). Hay 15 laboratorios que utilizan dos métodos de detección diferentes y 2 laboratorios que no informan del método utilizado. Cabe destacar que $\frac{3}{4}$ de los laboratorios que utilizan la tinción con plata como único sistema de detección presentan alguna discrepancia.

Figura 5. Sistemas de detección utilizados

Sistema de detección	Nº labs	Sistema de detección	Nº labs
 ABI 310	42	 ABI 377	9
 Tinción Ag	23	 ALF	6
 ABI 3100	14	 FMBIO II	4
		Otros	5

EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
RESULTADOS PATERNIDAD PRACTICA

Martín Whittle

Genomic Engenharia Molecular Ltda..

Sao Paulo

Brasil

Introdução

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

M 1: sangre de presunto hijo 1

M 2: sangre de presunto hijo 2

M 3: sangre de madre

O problema proposto foi definido da seguinte forma:

Dos individuos, a los que se les extrae la muestra M 1 y M 2 respectivamente, solicitan la nacionalidad en el país de su supuesta madre, M 3. La concesión de la nacionalidad depende de la confirmación de la maternidad. No se dispone del padre de ninguno de los individuos.

As duas seguintes perguntas foram feitas:

¿Los individuos de las muestras M-1 o M-2 pueden ser los hijos biológicos de M-3?

¿Los individuos de las muestras M-1 y M-2 pueden compartir línea paterna?

Os participantes receberam estas informações após o término do exercício:

- El individuo de la muestra M-1 es un varón hijo de la donante de la muestra M-3.
- El individuo de la muestra M 2 es un varón hijo de la donante de la muestra M 3.
- Los individuos donantes de las muestras M 1 y M 2 son hijos del mismo padre (del que no se remite muestra).

Análise geral

- Número de laboratórios inscritos 103
- Número de laboratórios que emitiram resultados 91
- Número que emitiram resultados usando STRs autossômicos 90
dos quais 89 utilizaram STR e PCR, e um utilizou VNTR e SLP

Média marcadores autossômicos usados por laboratório: 14.2 (máx 30, min 9).

Figura 1 ilustra o número de marcadores utilizados pelos laboratórios; um laboratório (**17526**) usou somente informações do cromossomo Y e de mtDNA para responder as perguntas do exercício.

Um laboratório (**17573**) usou 29 locos STR autossômicos dos quais quatro estão situados no cromossomo 21, e três estão situados no cromossomo 3. Um outro laboratório (**17624**) usou 30 marcadores STR autossômicos dos quais quatro se encontram no cromossomo 8, e três se encontram no cromossomo 18. Portanto seria pertinente saber se estudos de ligação genética foram realizados para comprovar a independência entre os conjuntos de locos situados no mesmo cromossomo.

Análise das conclusões emitidas

O resultado consensuado referente à primeira pergunta foi:

Código	Hijos biológicos de M-3	
	Muestra	SÍ o NO
	M 1	Sí
	M 2	Sí

Apesar de alguns erros de genotipagem, houve consenso entre os (90) laboratórios participantes de que os indivíduos das amostras de M-1 e M-2 são filhos biológicos da amostra da mãe M-3. Um laboratório (**17524**) reportou os genótipos dos examinandos porém não respondeu esta pergunta.

Análise das conclusões e observações oferecidas

Dos 90 laboratórios que responderam a pergunta sobre a relação dos indivíduos das amostras de M-1 e M-2 e o indivíduo da amostra M-3, somente 80 deles qualificaram suas respostas com observações e conclusões adicionais. Contudo, quase um terço destes 80 laboratórios afirmou que os indivíduos das amostras de M-1 e M-2 são filhos da mãe M-3 sem realizar cálculos estatísticos levando às probabilidades de maternidade, como ilustrado na Figura 2. Dos laboratórios que reportaram probabilidades de maternidade, alguns se destacaram reportando probabilidades de maternidade acima da média; laboratório **17521** obteve probabilidades altas usando apenas sete locos VNTR autossômicos. Vários laboratórios continuam usando a classificação de Hummel para descrever a evidência probabilística.

Dezenove laboratórios observaram a equivalência entre os haplótipos do mtDNA nas amostras M-1, M-2 e M-3 para fortalecer suas conclusões sobre o vínculo genético entre as três respectivas doadoras das amostras.

O resultado consensuado referente à segunda pergunta foi:

Código	Línea Paterna	
	SI	NO
	X	

Em relação à segunda pergunta referente às conclusões sobre a linha paterna das amostras M-1 e M-2, 13 dos 91 laboratórios participantes não responderam. Contudo, dos 78 laboratórios que responderam, 14 deles não acrescentaram qualquer justificativa para explicar suas respostas.

Análise das conclusões e observações oferecidas

As respostas dadas pelos laboratórios participantes foram baseadas nas seguintes categorias de análise:

- 47 laboratórios estudaram haplótipos de locos STR no cromossomo Y
- 9 laboratórios realizaram cálculos de irmandade
- 6 laboratórios fizeram outros tipos de inferências
- 14 laboratórios não explicaram suas respostas à pergunta

Poucos laboratórios (como **17573**, **17586** e **17597**), especialmente aqueles que não têm acesso aos marcadores no cromossomo Y, comentaram a observação de que o alelo paterno nas amostras M-1 e M-2 juntas compunha no máximo dois alelos, sugerindo fortemente que elas compartilham o mesmo pai biológico; isso é demonstrado na Figura 3.

Os laboratórios **17502**, **17533** e **17616** apresentaram uma probabilidade específica sobre o compartilhamento da linha paterna entre as amostras M-1 e M-2 porém não demonstraram como os respectivos cálculos foram realizados.

Em suma, apesar de alguns erros de genotipagem (discutidos em outra seção), os laboratórios participantes chegaram no mesmo consenso em relação ao exercício de paternidade prática. Todavia vários laboratórios deixaram de justificar suas respostas às perguntas colocadas.

Agradecimentos

Agradeço de forma geral ao GEP-ISFG e especificamente a Julia García-Hirschfeld, Oscar García e Josefina Gómez pelo seu empenho na realização do Exercício 2004.

Enfatizo que o patrocínio da *Applied Biosystems do Brasil* e da *Promega Corporation* foi imprescindível para que as IX Jornadas do GEP-ISFG pudessem ocorrer em Manaus.

Fig 1

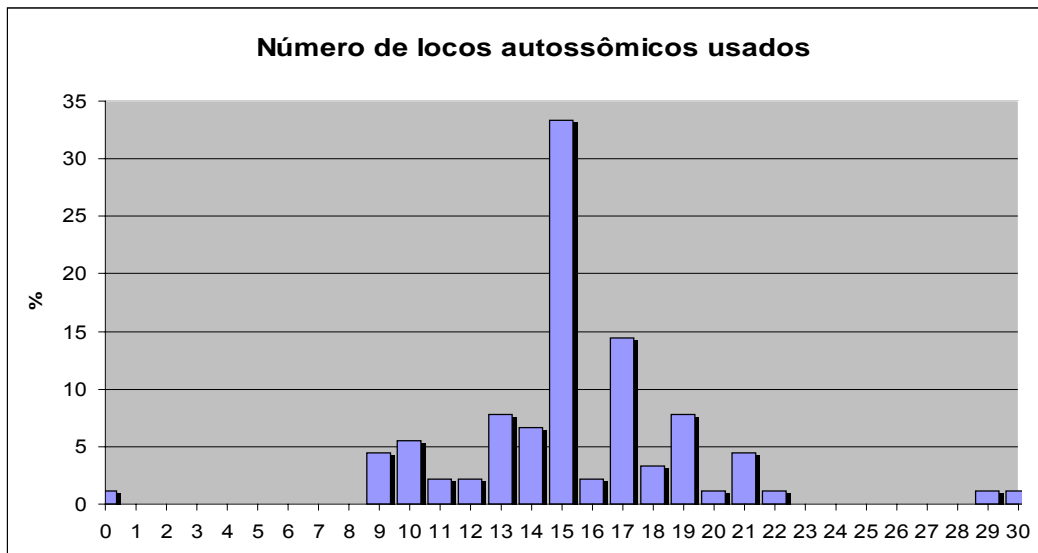


Fig 2

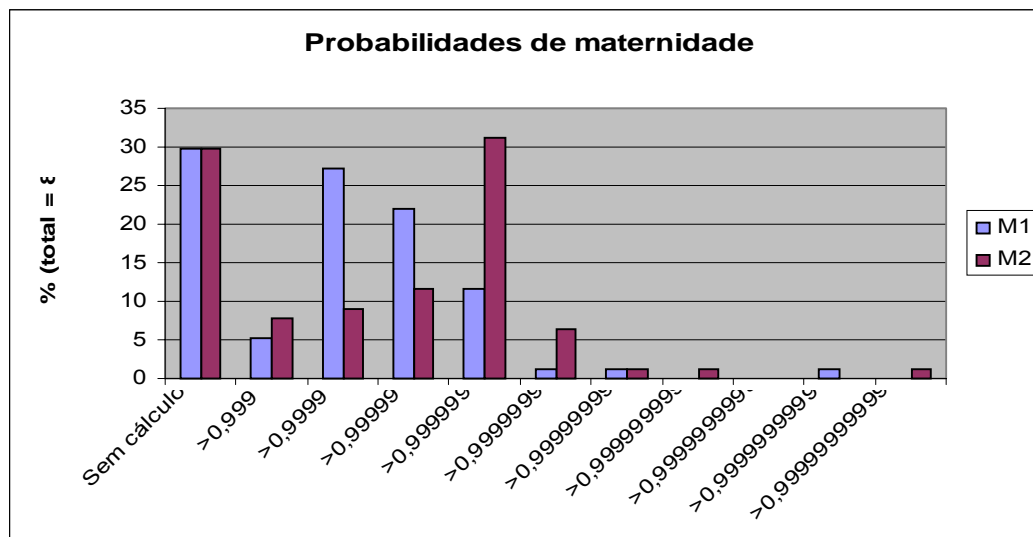


Fig 3

TABLA 1

Marcador	n	M 1	M 2	M 3	Prov. pai
HUMFES/FPS	32	10,12	12	10,12	$\pm 10 \pm 12$
HUMTH01	88	6	6	6,9	6
HUMF13A01	32	6,7	6,7	6,7	$\pm 6 \pm 7$
HUMVWA	88	14,15	14,15	14,16	15
HUMTPOX	84	8,9	8,9	9,11	8
HUMCSF1PO	83	11,12	11,12	12,13	11
HUMFIBRA/FGA	72	22	22,25	22,25	22
HUMF13B	26	8,9	9,10	8,10	9
HUMLPL	24	10	10	10	10
HUMPRTB	11	14	12	12,14	12,14
D13S317	85	8	8,12	8,12	8
D16S539	85	11,12	11,12	11,12	$\pm 11 \pm 12$
D18S51	68	16,17	16,17	15,16	17
ACTBP2(SE33)	7	16,26.2	28.2,29.2	26.2,29.2	16,28.2
D19S433	41	13,14	14	13,14	14
D21S11	71	29,31.2	30,31.2	29,31.2	29 ou 31.2,30
D2S1338	41	16,20	16,25	20,25	16
D3S1358	67	15,18	15	15	15,18
D5S818	70	10,12	12,13	12,13	10,12 ou 13
D7S820	84	9,10	9,10	9	10
D8S1179	71	13	11,13	11,13	13
Penta D	35	12	12	9,12	12
Penta E	36	12,15	14,15	12,14	15

EJERCICIO COLABORATIVO GEP-ISFG 2003
RESULTADOS ADN MITOCONDRIAL

Manuel Crespillo

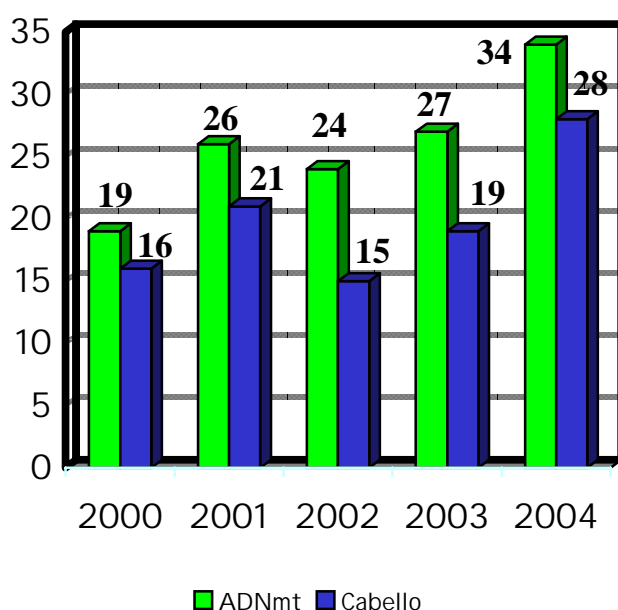
Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses

Barcelona

España

Participación

Continuando con la tendencia de los últimos años se produjo en el presente ejercicio un incremento tanto del número de laboratorio que realizaron análisis de ADN mitocondrial (34) como del número de laboratorios que realizaron el análisis de la muestra nº 7 (4 fragmentos de cabello). Dicha evolución queda reflejada en el siguiente gráfico:

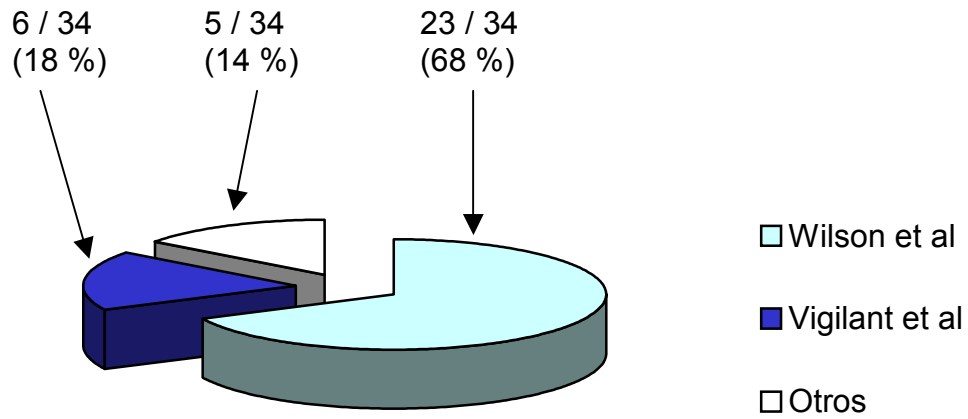


Metodología

Existe por parte de los laboratorios participantes una lógica variedad en los distintos aspectos metodológicos empleados (termocicladores, primers, polimerasas, equipos de electroforesis, químicas de secuenciación...) el

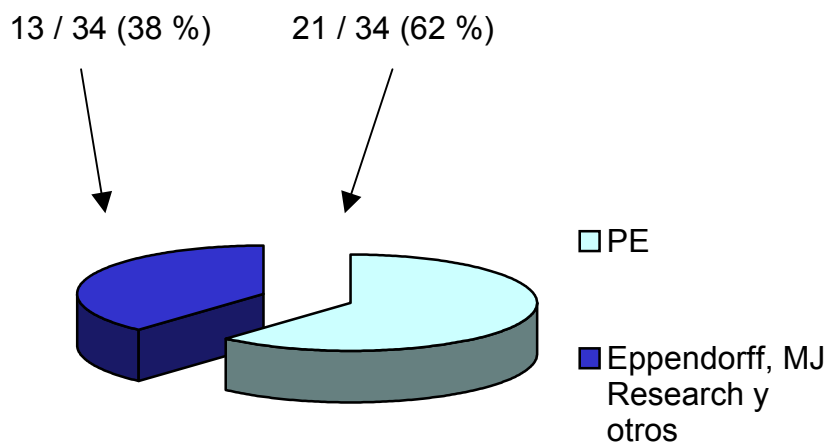
desglose de cada uno de estos aspectos queda reflejado en los siguientes gráficos:

Primers



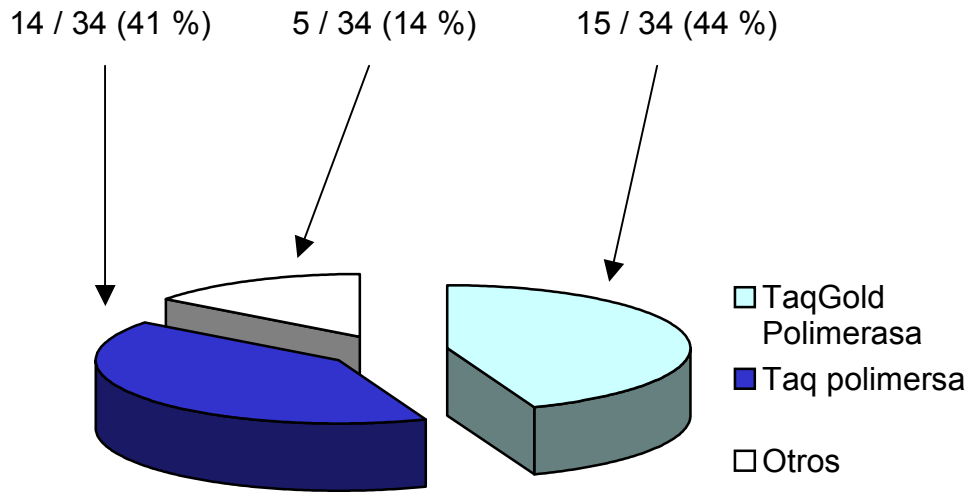
Uso mayoritario de los primers descritos por Wilson et al (Int J Legal Med 108: 68-74 (1995)): L15997-H16395 y L048-H408

Termocicladores



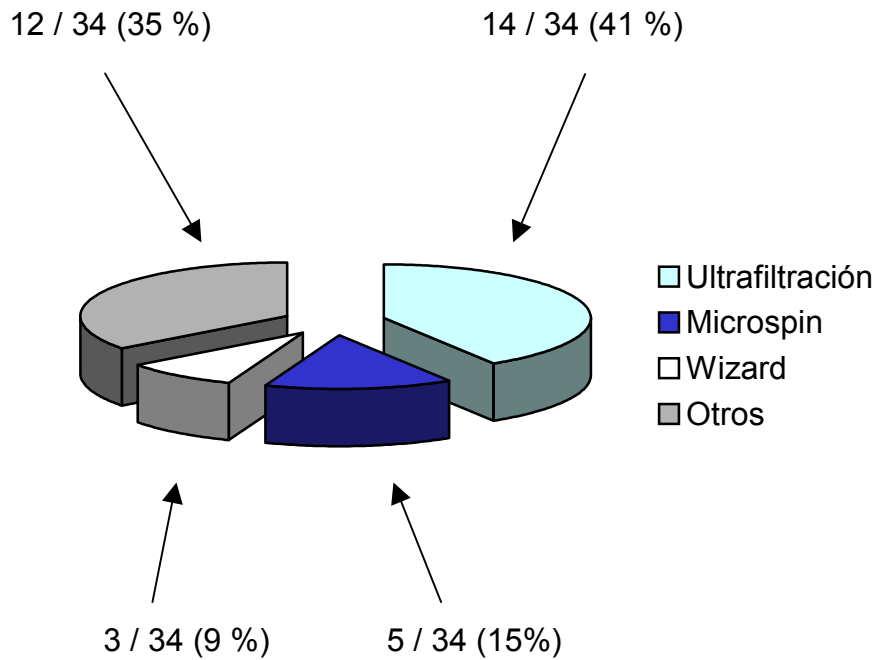
Empleo mayoritario de termocicladores PE (2400/480/9600)

Polimerasa



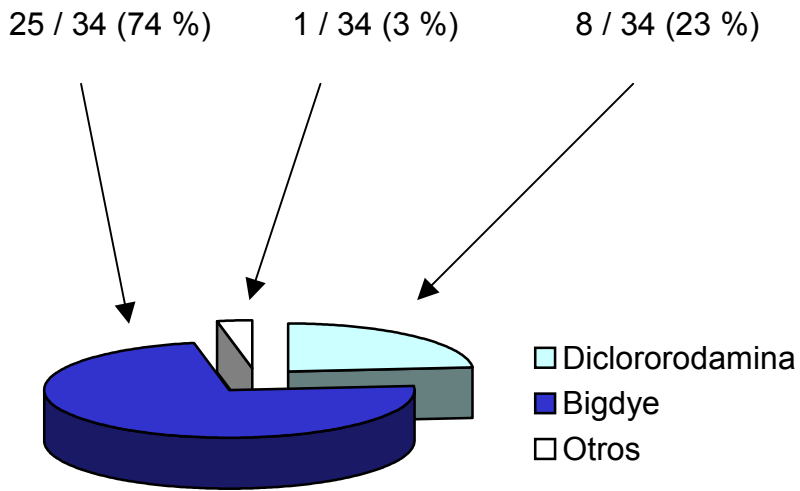
Mayor distribución de polimerasas. Empleo de otras polimerasas: Invitrogen, Ecotaq, Biotools, Fermentas...

Purificación



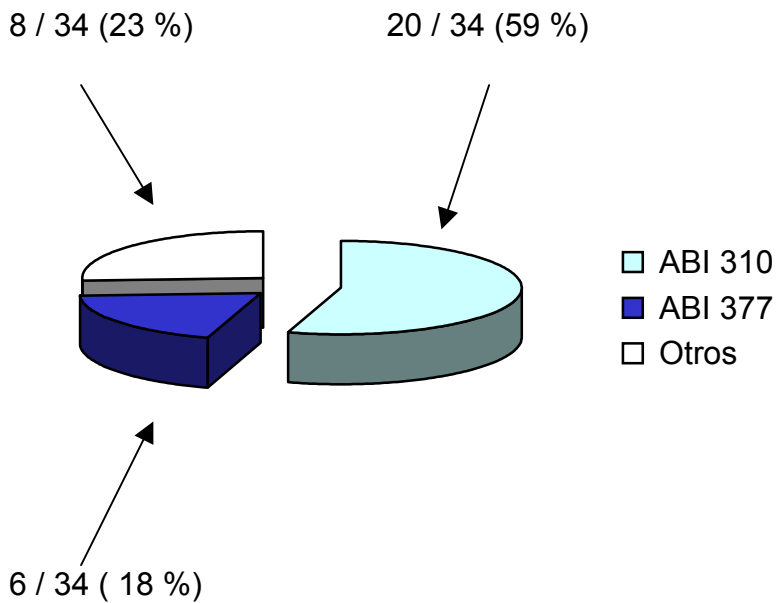
El 41 % de los laboratorios utilizan sistemas de ultrafiltración (Centricón-100 / Microcón-100). Uso de otros sistemas: Microspin, Wizard, Exo-Sap, Qiaquick...

Química de secuenciación



Ningún laboratorio emplea la secuenciación con primers marcados. La mayor parte de los laboratorios utiliza BigDye.

Secuenciación



Ningún laboratorio emplea sistemas manuales de secuenciación. Uso preferencial del secuenciador ABI 310.

Si pudiéramos definir el perfil metodológico del laboratorio que se ajustaría a las preferencias mayoritarias de los laboratorios participantes, podríamos decir que este laboratorio utilizaría:

1. **Primers** para las reacciones de amplificación y de secuenciación los descritos por *Wilson et al*, es decir L15997-H 16395 (HV1) y L 048-H 408 (HV2).
2. **Termociclador** de AB (2400/480/9600).
3. **Polimerasa**: AmplitaqGold (AB).
4. **Purificación** de productos amplificados: Centricón-100 o Microcón-100.
5. **Química de secuenciación**: Terminadores BigDye (AB).
6. **Electroforesis**: Capilar en ABI 310 (AB).
7. **Parámetros de amplificación**:

Predesnaturalización 10-11 min 95° C

10 s	95° C	}	36 ciclos
30 s	60° C		
30 s	72° C		
Extension final de 10 min a 72° C			

8. **Edición**: 16024 -16365 (HV1) y 73-340 (HV2).

Para concluir este apartado mencionar el hecho de que, al igual que en los años inmediatamente precedentes la lectura de secuenciación se realiza por parte de todos los laboratorios participantes de forma automatizada y por otra parte la circunstancia de que ningún laboratorio empleó una química de secuenciación basada en primers marcados.

Resultados

Muestras M-1, M-2 y M-3

A continuación se muestra los resultados consensuados obtenidos para las tres primeras muestras, así como una tabla donde se expone la participación en el

análisis de dichas muestras y los índices de resultados consensuados y no consensuados que se obtuvieron:

Muestra 1 16298 C, 195 C, 263 G, 309.1C, 309.2C, 315.1C

Muestra 2 16298 C, 195 C, 263 G, 309.1C, 309.2C, 315.1C

Muestra 3 16298 C, 195 C, 263 G, 309.1C, 309.2C, 315.1C

Muestra	Nº lab	Labs. con consenso (HVI / HVII)	Labs. con resultados parciales (HVI)	Lab. sin result. consenso
M-1	30	27 (90 %)	2 (7 %)	1 (3 %)
M-2	30	27 (90 %)	1 (3 %)	2 (7 %)
M-3	30	28 (94 %)	1 (3 %)	1 (3 %)

Es interesante señalar la circunstancia de que existe una clara diferencia en la **nomenclatura** empleada por parte de los laboratorios, concretamente en la nomenclatura empleada para definir las discrepancias con respecto a CRF en la región HV2, la doble inserción de Cs es descrita como 309.1C, 309.2C (55% de lab) mientras que otro importante grupo de laboratorios la describen únicamente como 309.2C (45 %).

Pensamos que las recomendaciones de la ISFG en este sentido son bastante claras. Aprovecho a continuación para recordarlo. Si aparece una inserción se designará con un “.1” tras la base numerada menor entre las que ocurre dicha inserción (por ejemplo, si se inserta una adenina entre las bases 245 y 246, se designará como 245.1A).

Cuando aparecen inserciones en un tracto homopolimérico, no es posible conocer el lugar exacto de la/s inserción/es, se recomienda por tanto asumir que la/s inserción/es ha/n ocurrido en el extremo mayor de ese tracto. Así si aparecen insertadas dos citosinas en el tracto homopolimérico de la región HV2 (entre 302 y 310) deben ser descritas como 309.1C, 309.2C. (Carracedo et al. Forensic Sci Int (2000) 110: 79-85 o en Tully et al. Forensic Sci Int (2001) 124: 83-91).

Observamos por otra parte un índice alto de coincidencia de resultados, en lo referente a las tres muestras. Uno de los dos laboratorios que discrepa presenta para todas las muestras la inserción de una tercera C en la posición 309.

Muestras M-4, M-5, M-6 y M-7

Se presentan a continuación los resultados consensuados para dichas muestras, así como los porcentajes de participación y coincidencia en lo referente a los resultados:

Muestra 4 263 G, 315.1 C

Muestra 5 16266 T, 263 G, 309.1 C, 315.1 C

Muestra 6 263 G, 315.1 C

Muestra 7 16266 T, 263 G, 309.1 C, 315.1 C

Muestra	Nº lab	Labs. con consenso (HVI / HVII)	Labs. con resultados parciales (HVI o HVII)	Lab. sin result. consenso
M-4	30	27 (90 %)	1 (3 %)	2 (7 %)
M-5	31	26 (84 %)	1 (3 %)	4 (13 %)
M-6	19	13 (68 %)	0	6 (32 %)
M-7	28	20 (72 %)	4 (14 %)	4 (14 %)

En estas otras cuatro muestras aparecen un número ligeramente superior de laboratorios con resultados no consensuados. Sin poder precisar la causa exacta de error (trascrición, asignación errónea de discrepancias debido a electroferogramas deficientes, etc.) puesto que no se poseen datos brutos ni electroferogramas generados por los distintos laboratorios, si que se puede adivinar que la mayor parte de ellos se concentran en el tracto homopolimerico (poliCs) de la región HV2.

En esta posición se observa desde la omisión de la inserción de C en 309 y 315 para las muestras M-5 y M-7, hasta la asignación de una discrepancia en

la posición 262G (muy posiblemente debido a un desplazamiento de una base en la asignación -lo consensuado es 263G-).

Mención aparte merece la **muestra M-6** y en ella nos extenderemos un poco más. Como bien sabemos dicha muestra estaba compuesta por una mezcla de saliva (100 ul) de la víctima (muestra M-4) y 50 ul de semen (diluido 1:20) del sospechoso (muestra M-5). El análisis de marcadores autonómicos de dicha muestra dio como resultado consensuado una mezcla en la que el componente mayoritario era el perfil masculino (sospechoso). Por su parte el resultado de análisis de ADN mitocondrial que 13 de los 19 laboratorios que analizaron dicha muestra procedía exclusivamente de la víctima, es decir, 263G, 315.1C.

Este resultado, aparentemente contradictorio con los resultados para marcadores autonómicos, hizo que algunos laboratorios plantearan diversas posibilidades. Hubo por su parte 6 laboratorios que si que detectaron una mezcla de secuencias (16266 C/T, 263G heteroplasma de longitud).

Por parte de algunos laboratorios participantes se llevaron a cabo diversas pruebas y posibles explicaciones de tan “sorprendente resultado”. Entre estas aportaciones se planteaba la posibilidad de una deleción en el ADNmt de los espermatozoides y que afectara a la región analizada, también algún laboratorio exponía la posibilidad de que habida cuenta que las muestras M-4 y M-55 sólo discrepan en la base 16266 y una inserción de C en 309, pues que en la base 16266 no apareciera en las mitocondrias de los espermatozoides la transición C por T y que hubiera una ausencia de inserciones en el tracto poliCs de HV2. Por último también se apuntó la posibilidad de la existencia de diferentes contenidos “relativos” de material genético nuclear y mitocondrial de los componentes de la mezcla (espermatozoides y células).

Al parecer, y aunque existe ciertas diferencias en la bibliografía, parece que como explicación más plausible se encuentra el hecho de que el contenido de moléculas de ADNmt presentes en las distintas células de los diversos tejidos es considerablemente mayor que las moléculas presentes en los espermatozoides. Algunos autores hablan de la existencia de entre 75 y 100

moléculas de ADNmt por espermatozoide mientras que el número de moléculas por célula somática (dependiendo fundamentalmente de la actividad metabólica del tejido) puede oscilar entre 5000 y 20000 (Robin et al., J Cell Physiol 136: 507-513 (1990) y Veltri et al., J Cell Physiol 143: 160-164 (1990)).

En el caso que nos ocupa este “desbalanceo” a favor del número de moléculas de ADNmt presente en las células de la saliva podría explicar la detección (por parte de 13 laboratorios) de únicamente la secuencia femenina. Desbalanceo lo suficientemente acusado como para enmascarar completamente la secuencia procedente de los espermatozoides.

Para poder arrojar un poco más de luz a esta cuestión se planteó la idea de realizar un ejercicio colaborativo en el que se valorara el comportamiento del análisis de ADNmt frente a mezclas con diluciones seriadas de distintos fluidos biológicos (semen, saliva, sangre), y cuyos resultados esperamos que sean para todos de un gran provecho.

Por su parte y en referencia a 6 laboratorios que si fueron capaces de detectar la mezcla hemos de indicar que no tenemos datos en referencia a la estrategia empleada que pueda explicar dichos resultados.

El análisis de la **muestra M-7 (pelo)** dio un resultado consensuado para 20 laboratorios, 4 laboratorios dieron un resultado de una de las regiones y otros 4 emitieron un resultado no consensuado. En referencia a estos últimos indicar que en uno de ellos se emitió un resultado producto de una posible contaminación de la muestra, mientras que los restantes laboratorios repitieron los errores descritos para muestras anteriores.

Para finalizar nos gustaría concluir que los resultados del análisis de ADNmt realizados sobre las muestras de sangre (muestras M-1 a M-5) son bastante buenos, e intuimos que los resultados no consensuados son básicamente producto de errores achacables a la transcripción.

En referencia a la muestra nº 6 y como quedó anteriormente citado, parece explicable el resultado consensuado considerando la diferente dotación de moléculas de ADNmt entre espermatozoides y las células de la saliva.

Indicar también que la sorprendente variedad empleada por los laboratorios en aspectos de nomenclatura está centrada en la descripción de las inserciones en el tracto políC_s de HV2. En este sentido creemos que las recomendaciones de la ISFG son claras y debemos hacer un esfuerzo para unificar la nomenclatura.

**Sesión de Presentaciones de los Grupos de Trabajo del GEP-ISFG
durante las IX Jornadas de Genética Forense
*Manaus Junio 2004***

(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 (2003-2004).

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

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

Manuel Crespillo propone que el grupo de trabajo de ADN mitocondrial se dedique mas a cuestiones metodológicas y de validación y se propone de forma mas concreta la elaboración de un "paper" con los interesantes resultados obtenidos en la mezcla de semen y saliva analizada en el control de este año.

Se propone también la incorporación de las siguientes personas a este grupo de trabajo: Lourdes Prieto, Marta Montesino y Antonio Salas.

El coordinador de los grupos de trabajo realiza en este apartado una actualización del proyecto **EMPOP de Base de Datos Europea de ADN mitocondrial**.

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

Propuesta: Se volvió (ya discutido en reuniones previas) 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.

El coordinador de los grupos de trabajo realiza en este apartado una actualización del proyecto de **Base de Datos de STRs de ENFSI-DNA WG** (<http://www.str-base.org/index2.php>)

GT de Acreditación (Coordinadora: Josefina Gómez)

Se recuerda la propuesta realizada en Oporto.

(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).

El coordinador de los grupos de trabajo introduce un comentario sobre las características del ejercicio GEDNAP realizado por los laboratorios de ENFSI y en especial en lo referente a la necesidad del envío de los electroferogramas como sistema para valorar de forma mas objetiva las causas de error o discrepancia.

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

Quedan pendientes las propuestas efectuadas en la reunión anterior sobre el documento de custodia de muestras.

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 la tercera edición del curso de formación en **Valoración Bioestadística en Genética Forense** en Colombia en el 2004.

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

Quedan pendientes las propuestas realizadas en la reunión anterior:

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)

Se presentan los primeros resultados del estudio de colaboración entre los laboratorios del GEP-ISFG para la recopilación de tasas de mutación de los sistemas STRs del cromosoma Y.

Se propone mantener abierto el plazo de envío de resultados hasta la reunión de usuarios de la YHRD en Berlín.

Se reitera que 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 y Leonor Gusmão / lgusmao@ipatimup.pt), Instituto de Medicina Legal de Santiago de Compostela (Paula Sánchez-Diz / paulaiml@usc.es) e Instituto de Toxicología de Madrid (Antonio Alonso / a.alonso@mju.es y Pablo Martín / p.martin@mju.es).

GT de Bioética en Genética Forense (Coordinador Joaquín Gamero)

Quedan pendientes las propuestas realizadas en la última reunión:

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 (Coordinadora: Mercedes Aler)

Quedan pendientes las propuestas realizadas en la última reunión:

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 (Coordinadora: Helena Geada)

Quedan pendientes las propuestas realizadas en la última reunión:

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.

GT en ADN no humano (PROPUESTA DE NUEVO GRUPO DE TRABAJO)

Antonio Amorim propone la creación de un grupo de trabajo en ADN no humano. Propuesta que es muy bien valorada por todos los asistentes.

Se cierra la sesión haciendo un nuevo llamamiento como todos los años 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 2004-2005.

El coordinador de los grupos de trabajo se deja su cargo al terminar su mandato como Vicepresidente del GEP-ISFG.

Informe de Tesorería

Cristina Albarrán

Tesorera del GEP-ISFG

Estado de las cuentas del GEP-ISFG

PERIODO: 1-Mayo-2003 a 31-Abril-2004

Saldo de inicio a 01-05-2003 = 14.735,70 €

Saldo en CAJA a 1-05-2003 = 51,54 €

MES	GASTOS		INGRESOS	Balance
	GESTION BANCARIA	OTROS	CUOTAS SOCIO Y CONTROL	
Mayo-03	8,8	278,40 ⁽¹⁾	200	- 87,2
Junio-03	11,29	3.332,76 ⁽²⁾	1.514,55	- 1.829,5
Julio-03	13,52	--	917,98	904,46
Agosto-03	2,28	--	236	233,72
Setiembre-03	9,07	179,03 ⁽³⁾	336,99	148,89
Octubre-03	2,43	--	234	231,57
Noviembre-03	61,4	1.607,42 ⁽⁴⁾	2.732	1.063,18
Diciembre-03	14,87	125 ⁽⁵⁾	1.842	1.702,13
Enero-04	12,10	1.525,75 ⁽⁶⁾	319	- 1.218,85
Febrero-04	11,65	64,39 ⁽⁶⁾	144,99	68,95
Marzo-04	17,95	18,70 ⁽⁶⁾ 100 ⁽⁵⁾	882	745,35
Abril-04	16,52	--	351	334,48
TOTAL	- 181,88	- 7.231,45	9.710,51	2.297,18

Saldo en C/C a 31-04-2004 = 17.032,88 €

DESGLOSE DE OTROS GASTOS

1. Mantenimiento del espacio web y nombre del dominio
2. Gastos de las VIII Jornadas del GEP-ISFG (Oporto)
 - Billete de avión Madrid-Oporto-Madrid de la coordinadora del control Josefina Gómez: 578,38 €
 - Billete de avión Barcelona-Oporto-Barcelona del invitado Francesc Calafell: 605,38 €
 - Alquiler sala de conferencias (3 días), estancia de hotel del invitado (3 días) y estancia de hotel de la coordinadora del control (2 días): 2.149 €
3. IVA Intracomunitario
4. Papel para la recogida de muestras del control: Bloodstain Storage System PK/500
5. Gastos de caja



- Correos: 37,98 €
- Papelería: 66,49 €
- Gastos informáticos (Pendrive 128 M): 60 €
- Enfermera extracción control: 72
- En CAJA: 40,07 €

6. Envío de las muestras del control por DHL International España S.A.

TOTAL = SALDO C.C. (17.032,88 €) + CAJA (40,07 €)

TOTAL A 31/04/2004 = 17.072,95 €

ACTA ASAMBLEA GENERAL

Ion Uriarte

Secretario del GEP-ISFG

Número de socios presentes al inicio de la misma: 31

Laboratorios participantes

- Policía Científica de Madrid. España
- Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses de Madrid. España
- Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla. España
- Servicio de Huellas Digitales Genéticas de Buenos Aires. Argentina
- IPATIMUP de Oporto. Portugal
- Instituto Nacional de Medicina Legal de Coimbra. Portugal
- Genómica SAU de Madrid. España
- Instituto de Medicina Legal de Santiago de Compostela. España
- Policía Científica de la Ertzaintza. España
- Genomic Engenharia Molecular Ltda. de Sao Paulo. Brasil
- Laboratorio de Diagnóstico por DNA de Río de Janeiro. Brasil
- Centro de Análisis Genéticos C.A.G.T. de Zaragoza. España
- DNA Biocenter de Manaus. Brasil
- Instituto de Pericias Científicas de Curitiba. Brasil
- Laboratorio Investigacion de Paternidade, UNESP de Araraquara - Sao Paulo. Brasil
- Unidad de Polimorfismos Genéticos, IDEA de Caracas. Venezuela
- BIOMOL de Bogotá. Colombia
- Laboratorio de Pesquisa em Biologia Molecular Aplicada de Sao Paulo. Brasil

En Manaus (Brasil) el día cuatro de junio del dos mil cuatro y durante la Asamblea General de los asociados del grupo, con la presencia de treinta y un miembros al inicio de la misma.

Abre la sesión el **Presidente del GEP** con agradecimiento a la organización de las IX Jornadas de Genética Forense, así como a las casas comerciales Promega y Applied Biosystems por su participación en las mismas.

Posteriormente procede a enumerar los temas a tratar a resultas de los resultados del control de calidad realizado en el presente año:

- Problemática surgida ante la petición por parte de un laboratorio de que sus resultados no aparezcan en la web
- Acreditación del Ejercicio y necesidad de crear un formato informatizado
- Solicitud por parte de la Coordinadora del control y del Secretario del GEP para que sean avisados todos los cambios de correo, teléfono...
- Posibilidad de acortar los marcadores a usar en el control
- Posibilidad de enviar los electroferogramas para valorar los errores y creación de un comité de valoración de los mismos
- Actitud a adoptar en el GEP ante laboratorios que cometan errores reiterativos sin adoptar medidas correctoras
- Elaboración de un resumen de los colaboradores del control
- Creación de un nuevo grupo de trabajo de Genética Forense en no humanos

En primer lugar se procede a tratar la posibilidad de acotar los marcadores a utilizar en el control. Tras exponerse diversas opiniones, se decide mediante votación a mano alzada dejar como está el número de marcadores pero reportando sólo los resultados de los consensuados, así como la obligatoriedad de mandar los electroferogramas. El resultado de la votación es de 23 votos a favor, 0 en contra y 8 abstenciones.

Se pasa a tratar el tema del envío de muestras y la acreditación del Ejercicio de Calidad, planteándose autorizar a la Coordinadora las gestiones oportunas para la informatización de los resultados. Se pasa a votar a mano alzada, obteniéndose 26 votos a favor, 0 votos en contra y 5 abstenciones.

Posteriormente, Antonio Amorim propone la creación de un grupo de trabajo de Genética Forense no humana, formado, en principio, por Antonio Amorim y Luisa Pereira, cuyos objetivos serían el explorar las aplicaciones de la Genética Forense en otros animales, para el tratamiento de casos como el fraude en productos animales, la importación de productos animales, etc. Se somete a votación arrojando el siguiente resultado: 29 votos a favor, 0 en contra y 2 abstenciones.

A continuación se trata el tema referente al grupo de trabajo de ADN mitochondrial, proponiéndose que pase a ser un grupo de asesoramiento técnico, al que proponen unir a Marta Montesino, Lourdes Prieto y Antonio Salas. Se procede a votar a mano alzada, resultando 29 votos a favor, 0 en contra y 2 abstenciones.

Seguidamente toma la palabra el **Secretario del GEP** para informar sobre la gestión de socios, detallándose que desde el 31 de Mayo del 2003 se han incorporado 27 nuevos socios para conformar un total de 334 miembros y 128 laboratorios, distribuidos en 37 laboratorios en España, 9 en Portugal, 1 en Francia, 1 en Cuba, 1 en México y 79 en Sudamérica.

A continuación toma la palabra la **Tesorerera del GEP** para informar sobre la gestión económica, detallando que a fecha 1 de Mayo de 2003, el saldo era de 14735,70 euros en cuenta corriente y 51,54 euros en caja. Durante el presente año los gastos suman 181,88 euros en gestión bancaria y en el capítulo de otros 7231,45 euros; mientras que los ingresos por cuotas de socios y pago del Control ascienden a 9710,51 euros, arrojando un balance positivo de 2297,18 euros. De esta forma, el saldo en cuenta corriente a fecha 31 de Mayo de 2004 es de 17032,88 euros y en caja 40,07 euros, siendo el saldo total de la sociedad de 17072,95 euros.

Retoma la palabra el **Presidente del GEP** para tratar el tema de la celebración de las próximas Jornadas del GEP. Antonio Amorim propone celebrar éstas los días 12 y 13 de Setiembre en las Azores (Portugal), precediendo al Congreso Internacional de la ISFG que se celebraría del 13 al 17 de Setiembre. Se

somete a votación dándose 26 votos a favor, 3 votos en contra y 2 abstenciones.

Como último punto en el orden del día está la elección de cargos del Comité Ejecutivo, para el cual la única candidatura presentada se confirma:

Presidente: Antonio Amorim

Vicepresidente: Oscar García

Tesorero: Iñaki Yurrebaso

Secretaria: Leonor Gusmao

Se procede a votar a mano alzada resultando 29 votos a favor, 0 en contra y 2 abstenciones.

No habiendo más temas a tratar, el nuevo Presidente da por finalizada la Asamblea, levantándose para constancia de la misma el presente documento.