

Renata Jacewicz, Katarzyna Bąbol, Jarosław Berent, Adam Prośniak, Stefan Szram

Praktyczna przydatność systemu IDENTIFILER w badaniach ojcostwa w populacji Polski centralnej

Practical usefulness of the IDENTIFILER system for paternity testing in the Central Poland population

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. zw. dr hab. med. Stefan Szram

W pracy analizowano przydatność multipleksowego zestawu IDENTIFILER do analizy ojcostwa w populacji centralnej Polski. Ocenie poddano 100 spraw z wykluczeniem oraz 100 spraw z potwierdzeniem ojcostwa, przy czym wyniki opracowano dla dwóch wariantów spraw: standardowych z udziałem matki dziecka tzw. „TRIO” jak i niepełnych bez udziału matki dziecka tzw. „DUO”.

Analizowano skuteczność wyłączenia oraz szansę ojcostwa dla poszczególnych loci jak i dla całego zestawu 15 loci STR.

The usefulness of the IDENTIFILER multiplex system for paternity testing in the Central Poland population was examined. One hundred excluding cases and one hundred including cases were analysed and the results were estimated for two different types of cases: trios (standard cases) and duos (motherless cases). Efficiency of exclusion and paternity index were analysed for each locus as well as for the entire set of the fifteen STR markers.

Słowa kluczowe: IDENTIFILER, STR multipleks, badania ojcostwa, centralna Polska
Key words: IDENTIFILER, multiplex STR, paternity testing, Central Poland

WSTĘP

IDENTIFILER jest jednym z dwóch multipleksowych systemów najczęściej wykorzystywanych w sądowej analizie pokrewieństwa [1, 12]. Umożli-

wia on jednoczesną analizę 15 autosomalnych loci STR: TH01, D13S317, D18S51, D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D19S433, VWA, TPOX, D3S1358, D16S539, D5S818, D2S1338 oraz lokus AMG. Łączna wartość siły wyłączenia ojcostwa w tym systemie, obliczona na podstawie częstości alleli w badanej populacji, przekracza wartość 99,9999 % [9].

Rozstrzygnięcie kwestii spornego ojcostwa w ekspertyzach niepełnych, tj. bez udziału matki dziecka, wymaga z reguły zastosowania znacznie szerszego zakresu badań w porównaniu do ekspertyzy klasycznej [11, 14].

Celem pracy była ocena zestawu IDENTIFILER w dochodzeniu ojcostwa w populacji centralnej Polski, przeprowadzona w oparciu o empiryczną analizę wartości dowodowej tego systemu w dwu typach ekspertyz: standardowych z udziałem matki dziecka jak i „niepełnych”, bez udziału matki dziecka.

MATERIAŁ I METODY

Badanie ojcostwa przeprowadzono w oparciu o próby krwi pobrane od osób uczestniczących w analizach ojcostwa w Pracowni Genetyki Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Izolację DNA wykonano stosując metodę solną wg Lahiri’ego [10] bądź metodę kolumienkową (A&A Biotechnology). Amplifikację DNA wykonano z wykorzystaniem systemu AmpFISTR Identifiler zgodnie z instrukcją producenta (Applied Biosystem). Detekcję produktów prowadzono na

sekwenatorze ABI Prism 377 w odniesieniu do standardu wielkości LIZ™ 500, stosując oprogramowanie Gene Scan wersja 3 NT.

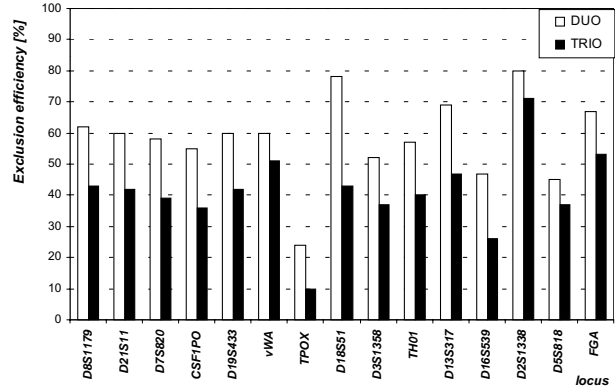
Dla poszczególnych układów, jak i dla całego systemu, analizowano praktyczną skuteczność wyłączenia oraz szansę ojcostwa [PI] wg Brennera [3] i wynikające z niej prawdopodobieństwo ojcostwa [W] zgodnie z formułą Essen-Möllera [5]. Analizie poddano 100 spraw z wykluczeniem oraz 100 spraw z potwierdzeniem ojcostwa ($PI > 100\ 000$), przy czym wyniki opracowano dla dwóch wariantów spraw – tzw. pełnych z udziałem domniemanego ojca, dziecka i matki dziecka, oznaczonych jako „TRIO”, jak i tzw. niepełnych, bez udziału matki dziecka, oznaczonych jako „DUO”.

WYNIKI I DYSKUSJA

Na rycinach 1 i 2 zaprezentowano skuteczność wyłączenia ojcostwa dla poszczególnych układów, wchodzących w skład systemu Identifiler, jak i dla całego systemu. Wykazano, że każdy pojedynczy układ ma większą siłę wyłączenia w przypadku spraw pełnych (TRIO) w porównaniu z niepełnymi (DUO). Najwyższą skuteczność wyłączenia zaobserwowaliśmy w układzie D2S1338 – 80 % (TRIO), 71 % (DUO), najniższy pod tym względem okazał się układ TPOX z siłą wyłączenia odpowiednio 24 % i 10 %. Wcześniej przeprowadzone obliczenia teoretycznej siły wyłączenia potwierdzają zaobserwowaną w praktyce relację między najwyższą i najniższą skutecznością wyłączenia w układach D2S1338 i TPOX [9]. Łączna średnia wartość siły wyłączenia dla „trójek” wynosi 99,99996 %, co oznacza, iż zaledwie jeden na 2,5 miliona niesłusznie pozwanych o ojcostwo mężczyzn nie zostanie wyłączony w analizie systemem Identifiler. Analogiczna wartość w tych samych sprawach bez udziału matki wynosi 99,98 % (pomyłka nastąpi średnio w jednym przypadku na 5 tysięcy badanych). W sprawach z udziałem matki dziecka wyłączenie ojcostwa obserwowaliśmy w analizie co najmniej 4 układów STR (najczęściej w 9 układach), co stanowiło wystarczające zabezpieczenie przed fałszywą interpretacją mutacji, jako przyczyny genetycznej niezgodności [2, 7]. W sprawach przeprowadzonych bez udziału matki dziecka odnotowaliśmy wyłączenia w zaledwie trzech, dwóch czy też tylko w jednym układzie. Z uwagi na fakt, iż pojedyncza, podwójna, a nawet potrójna niezgodność między pozwany o ojcostwo, a dzieckiem może zaistnieć w wyniku mutacji [4, 8], w sprawach tych konieczne było poszerzenie zakresu badań o dodatkowe loci, aż do uzyskania 4 niezależnych wyłączeń.

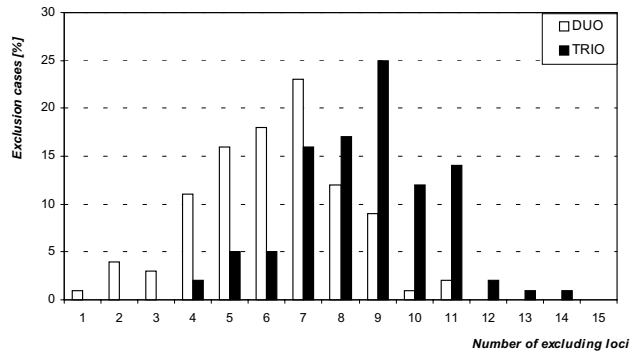
Ryc. 1. Porównanie skuteczności wyłączenia dla poszczególnych loci STR systemu Identifiler w sprawach pełnych (TRIO) i niepełnych (DUO).

Fig. 1. Comparison of exclusion efficiency for STR loci included in the Identifiler system in standard cases (TRIO) and motherless cases (DUO).



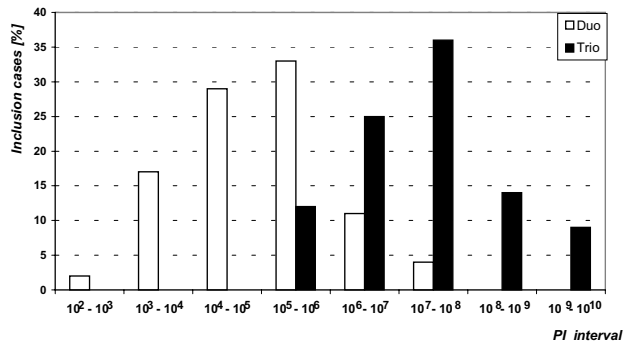
Ryc. 2. Porównanie liczby loci wykluczających w systemie Identifiler w sprawach pełnych (TRIO) i niepełnych (DUO).

Fig. 2. Comparison of the number of excluding loci included in the Identifiler system in standard cases (TRIO) and motherless cases (DUO).



Ryc. 3. Porównanie łącznych wartości szansy ojcostwa dla systemu Identifiler w sprawach pełnych (TRIO) i niepełnych (DUO).

Fig. 3. Comparison of the total paternity index' values for the Identifiler system in standard cases (TRIO) and motherless cases (DUO).



Na rycinie 3. przedstawiono ocenę łącznej wartości szansy ojcostwa uzyskanej w oparciu o badanie systemem Identifiler dla spraw pełnych (TRIO) oraz niepełnych (DUO). Najniższą wartość $PI = 1,5 \times 10^2$ ($W = 99,36\%$) uzyskaliśmy w sprawie bez udziału matki dziecka, a w ponad 50 % tego typu spraw łączna wartość PI nie przekraczała 100 000 ($W < 99,999\%$). W analizach z udziałem matki dziecka najniższa uzyskana wartość PI wyniosła $1,0 \times 10^5$ ($W = 99,999\%$), co zgodnie z krajowymi standardami umożliwiło wydanie opinii potwierdzającej ojcostwo [6]. W pozostałych sprawach typu „TRIO” uzyskiwano wyższe PI , aż do wartości $6,0 \times 10^9$, co odpowiadało prawdopodobieństwu ojcostwa ponad 99,9999999 % (średnia łączna $PI = 3,4 \times 10^8$, $W = 99,999999\%$). Podobną przewagę wartości dowodowej parametrów ojcostwa w analizie spraw z udziałem matki dziecka nad wartością dowodową parametrów w analizie spraw bez udziału matki dziecka udokumentował wcześniej Raimondi i wsp. [13].

PODSUMOWANIE

We wszystkich analizach, w których badaniu poddani zostali domniemany ojciec, dziecko i matka dziecka, IDENTIFILER, obejmujący zakres 15 loci STR, okazał się systemem wystarczającym do rozstrzygnięcia kwestii ojcostwa. Minimum 4 odnotowane wyłączenia stanowiły wystarczające zabezpieczenie przed możliwością wystąpienia mutacji jako przyczyny genetycznej niezgodności.

W pozostałych sprawach pełnych bez wyłączenia wartość PI przekroczyła 100 000 ($W > 99,999\%$), co stanowiło podstawę do zaopiniowania ich jako potwierdzających ojcostwo.

W ponad połowie analiz bez udziału matki dziecka zakres 15 loci okazał się niewystarczający, z uwagi na zbyt niską wartość prawdopodobieństwa ojcostwa, wynoszącą poniżej 99,999 %. W tego typu sprawach z wyłączeniem zaistniał problem niezgodności w jednym lub dwu układach, co, niosąc za sobą ryzyko mutacji, wymagało uzyskania uzupełniających wykluczeń w szerszym niż IDENTIFILER zakresie układów.

PIŚMIENNICTWO

1. Annual report summary for testing in 2003, American association of Blood Banks (AABB).

2. Brandt-Casadevall C., Gene M., Pique E., Borrego N., Gehrig C., Dimo-Simonin N., Mangin P.: Presence of two mutations between father/child in two cases of paternity testing. *Prog. Forensic Genet.*, 2003, 9, 647.

3. Brenner C. H.: Symbolic kinship program. *Genetics*, 1997, 145, 535-542.

4. Calafell F.: The probability distribution of the number of loci indicating exclusion in a core set of STR markers. *Int. J. Legal Med.*, 2000, 114, 61-65.

5. Essen-Möller E.: Die Beweiskraft der Ähnlichkeit im Vaterschaftsnachweis: theoretische Grundlagen. *Mitteilungen der Anthropologischen Gesellschaft in Wien*, 1938, 68, 2-53.

6. <http://www.forensic.z.pl>.

7. Geada H., Viriato L.: STR mutations in paternity investigations: a study of 1-year consecutive cases. *Prog. Forensic Genet.*, 2003, 9, 657-660.

8. Jacewicz R., Berent J., Prośniak A., Dobosz T., Kowalczyk E., Szram S.: Non-exclusion paternity case with three genetic incompatibilities. *Prog. Forensic Genet.*, 2004, 10, 511-513.

9. Jacewicz R., Berent J., Prośniak A., Kadłubek M., Szram S.: The evaluation of the IDENTIFILER system in paternity testing in Poland. *Prog. Forensic Genet.*, 2004, 10, 528-540.

10. Lahiri D. K., Nurnberger Jr. J. I.: A rapid non enzymatic method for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.*, 1991, 19, 5444.

11. Lee H. S., Lee J. W., Han G. R., Hwang J. J.: Motherless case in paternity testing. *Forensic Sci. Int.*, 2000, 114, 57-65.

12. Paternity testing workshop of the English Speaking Working Group of the ISFG, 2004, final report.

13. Raimondi E., Toscanini U., Haas E.: Analysis of paternity index of 164 paternity trios DNA typed by either 10 STR or 4 RFLP loci. *Prog. Forensic Genet.*, 2003, 9, 661-663.

14. Thomson J. A., Ayres K. L.: Analysis of disputed single-parent/child and sibling relationships using 16 STR loci. *Int. J. Legal Med.*, 2001, 115, 128-134.

Adres pierwszego autora:
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
ul. Sędziowska 18 a
91-304 Łódź
e-mail: r.jacewicz@post.pl