Arch Med Sąd Kryminol 2015; 65 (2): 69–76 DOI: 10.5114/amsik.2015.53223

archiwum medycyny sądowej i kryminologii

Praca oryginalna
Original paper

Beata Markiewicz-Knyziak, Maciej Jędrzejczyk, Katarzyna Bąbol-Pokora, Rafał Wojtkiewicz, Renata Jacewicz

Analiza ojcostwa oparta na układzie NGM SElect w Pracowni Genetyki Medycznej i Sądowej Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Paternity analysis based on NGM SElect system in the Medical and Forensic Genetics Laboratory, Department of Forensic Medicine, Medical University of Lodz

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska
Department of Forensic Medicine, Medical University of Lodz, Lodz, Poland

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności multipleksowego zestawu NGM SElect do analizy ojcostwa w populacji centralnej Polski oraz jego porównanie z systemem IDENTIFILER. Materiał do badań stanowiły wymazy z jamy ustnej pobrane od osób, które zgłosiły się do Pracowni Genetyki Medycznej i Sądowej w Łodzi. Oceniano sprawy z wykluczeniem oraz potwierdzeniem ojcostwa z lat 2010–2014. Izolację DNA wykonano za pomocą zestawu Swab (A&A Biotechnology) zgodnie z protokołem producenta. Amplifikację DNA przeprowadzono z użyciem zestawu multipleksowego AmpFℓSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit (Life Technologies). Produkty PCR poddano rozdziałowi metodą elektroforezy kapilarnej w sekwenatorze *3500 HID* Genetic Analyzer. W analizowanych sprawach z potwierdzeniem ojcostwa w systemie NGM SElect maksymalna wartość PI = $3{,}9 \times 10^{12}$, co odpowiada prawdopodobieństwu ojcostwa 99,9999999999%, a w systemie IDENTIFILER wynosiła $6{,}0 \times 10^{10}$ (W = 99,99999999%). Zestawem NGM SElect nie udało się rozstrzygnąć tylko 1 z 450 spraw, co stanowi 0,2% wszystkich przebadanych przypadków. Najsilniejszy dowodowo w dochodzeniu ojcostwa w stosunku do pozostałych układów wchodzących w skład zestawu NGM SElect okazał się układ SE33 (ACTBP2).

Słowa kluczowe: AmpFℓSTR® NGMSElect™, analiza ojcostwa, zestaw multipleksowy.

Abstract

The aim of the study was to evaluate the usefulness of the NGM SElect multiplex kit for paternity testing in the population of central Poland, and compare it with the IDENTIFILER system. The study material consisted of buccal swabs taken from individuals who reported to the Medical and Forensic Genetics Laboratory in Lodz. Samples from 450 trio cases of disputed paternity carried out in 2010–2014 were investigated. Genomic DNA was extracted from buccal swabs collected from 1,350 individuals using the Swab kit (A&A Biotechnology) according to the manufacturer's protocol. DNA amplification was performed using the AmpFℓSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit (Life Technologies). PCR products were separated by capillary electrophoresis using HID 3500 Genetic Analyzer. In the analyzed cases with paternity confirmation in the NGM SElect system, the maximum value of PI was 3.9×10^{12}, which corresponds to the probability of paternity W = 99.9999999999%. It was thus significantly higher than analogical parameters obtained in the IDENTIFILER system (PI = 6.0×10^{10}, W = 99.99999999%). The NGM SElect kit was unable to resolve just one case out of 450, which represents only 0.2% of all analyzed disputed paternity cases. The study showed the SE33 (ACTBP2) locus to have the highest evidence value in paternity analysis out of all investigated autosomal STRs.

Key words: AmpFℓSTR® NGMSElect™, paternity analysis, multiplex kit.

Copyright © 2015 by PTMSiK

Wprowadzenie

Analiza polimorfizmu DNA stanowi obecnie kluczowy dowód w sprawach o ustalenie ojcostwa. Zgodnie z obowiązującymi w Polsce zaleceniami badania genetyczne są jedynym obiektywnym dowodem wykluczającym ojcostwo ze 100-procentową pewnością lub potwierdzającym ojcostwo z prawdopodobieństwem graniczącym z pewnością wynoszącym co najmniej 99,9999% [1].

Corocznie Pracownia Genetyki Medycznej i Sądowej Zakładu Medycyny Sądowej w Łodzi bada kilkaset spraw o ustalenie spornego ojcostwa zlecanych przez Wydziały Rodzinne Sądów Rejonowych oraz Prokuratury Rejonowe, jak również wykonywane na zlecenia prywatne za zgodą opiekunów prawnych dziecka [2].

Kluczową kwestię stanowi wykorzystanie odpowiednio wystandaryzowanych narzędzi badawczych zapewniających efektywną i wysoce informatywną analizę genetyczną [3, 4]. W Pracowni Genetyki Medycznej i Sądowej Zakładu Medycyny Sądowej w Łodzi stosowany wcześniej do analizy ojcostwa zestaw IDENTIFILER w sporym odsetku spraw był niewystarczający do wydania jednoznacznej opinii [5–8]. W związku z tym konieczne było rozszerzenie badań o kolejne zestawy markerów genetycznych. Od 2010 r. rutynowo wykorzystuje się multipleksowy zestaw AmpFℓSTR® NGM SElect™ [9–11]. Od systemu IDENTIFILER odróżnia go sześć odmiennych *loci* STR, w tym wysoce polimorficzne *locus* SE33, które nie występuje w systemie NGM [12].

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności multipleksowego zestawu NGM SElect do analizy ojcostwa w populacji centralnej Polski oraz jego porównanie z systemem IDENTIFILER. Ocena ta została przeprowadzona na podstawie zebranej puli profili DNA 1000 niespokrewnionych osób z populacji centralnej Polski, jak również w oparciu o analizę spraw spornego ojcostwa przeprowadzonych w latach 2010–2014 w Pracowni Genetyki Medycznej i Sądowej ZMS UM w Łodzi.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły wymazy komórek nabłonka z błony śluzowej jamy ustnej pobrane od osób, które zgłosiły się do Zakładu Medycyny Sądowej w Łodzi w celu ustalenia spornego ojcostwa w la-

Introduction

DNA polymorphism analysis is currently regarded as key evidence in paternity suits. In accordance with Polish guidelines, genetic tests are the only objective evidence for ruling out paternity with 100% certainty or confirming paternity with a probability verging on certainty, amounting to at least 99.9999% [1].

Each year, the Medical and Forensic Genetics Laboratory at the Department of Forensic Medicine in Lodz examines several hundred disputed paternity cases commissioned by Family Departments of District Courts and District Prosecutor's Offices, and individual customers with the consent of the child's legal guardians [2].

A crucial aspect of testing is the application of properly standardized tools which ensure effective and highly informative genetic analysis [3, 4]. The Medical and Forensic Genetics Laboratory at the Department of Forensic Medicine in Lodz used to perform paternity tests using the IDENTIFILER kit. However, the system proved to be insufficient for unambiguous determination of paternity in a significant proportion of cases [5–8]. Consequently, it became necessary to expand the scope of testing by adding further sets of genetic markers. Since 2010, analyses have been routinely performed with the multiplex kit AmpFℓSTR® NGM SElect™ [9–11]. The kit differs from the IDENTIFILER system in six STR *loci* including the highly polymorphic *locus* SE33 which is absent from the NGM system [12].

The aim of the study was to evaluate the usefulness of the NGM SElect multiplex kit for paternity analysis in the population of central Poland, and compare it with the IDENTIFILER system. The evaluation was performed using a pool of DNA profiles belonging to 1,000 unrelated members of the population of central Poland, and based on an analysis of disputed paternity cases examined at the Forensic Genetics Laboratory, Department of Forensic Medicine, Medical University of Lodz, in 2010–2014.

Material and methods

The study material consisted of swabs of epithelial cells from the oral mucosa which were collected from individuals who reported to the Department of Forensic Medicine in Lodz to resolve disputed paternity in the period 2010-2014[1]. DNA isolation

tach 2010–2014[1]. Izolacja DNA wykonana była za pomocą zestawu Swab (A&A Biotechnology) i przebiegała zgodnie z protokołem producenta [13]. DNA amplifikowano w termocyklerze T3000 (Biometra), z użyciem multipleksowego zestawu AmpFℓSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit (Life Technologies) zgodnie z zaleceniami producenta [14]. Produkty PCR poddano rozdziałowi metodą elektroforezy kapilarnej w sekwenatorze *3500 HID* Genetic Analyzer (Applied Biosystems/Life Technologies) w odniesieniu do standardu wielkości GeneScan™ LIZTM 600 Size Standard (Applied Biosystems), stosując oprogramowanie GeneMapper ID-X v. 1.2.

Analizowano teoretyczne i praktyczne parametry przydatności zestawu NGM SElect do badań z zakresu ustalenia spornego ojcostwa. Analizie poddano siłę wykluczenia (PE), szansę ojcostwa (PI) i prawdopodobieństwo ojcostwa (P) uzyskane w praktyce badawczej w 100 sprawach z wykluczeniem oraz 350 sprawach z potwierdzeniem ojcostwa przeprowadzonych z udziałem domniemanego ojca, dziecka i matki dziecka. Obliczone parametry zestawiono z teoretycznymi parametrami przydatności do badań uzyskanymi przy użyciu programu Power GDT Stats v 1.2 [15] na podstawie analizy 1000 niespokrewnionych osób. Pod uwagę brano poszczególne układy oraz cały zestaw multipleksowy. Uzyskane parametry przydatności dla systemu NGM SElect porównano z analogicznymi parametrami uzyskanymi wcześniej dla systemu IDENTIFILER [5, 16].

Wyniki i dyskusja

Porównanie teoretycznej i praktycznej siły wyłączenia dla poszczególnych układów systemu NGM SElect uzyskanych odpowiednio na podstawie analizy 1000 niespokrewnionych osób oraz 100 spraw z wykluczeniem ojcostwa zestawiono na rycinie 1. Najwyższą wartość siły wykluczenia ojcostwa zarówno w praktyce (81,00%), jak i w teorii (87,60%) obserwowano w układzie SE33, natomiast najniższe wartości tych parametrów wykazano dla locus D22S1045 (PEP = 51,00% i PET = 49,40%). Uzyskane średnie wartości PE zarówno w teorii, jak i w praktyce są zbliżone (64,37% i 65,75%). Łączna teoretyczna wartość siły wykluczenia ojcostwa dla całego systemu NGM SElect wynosi 99,999997%, co oznacza, że zaledwie 1 na 33,3 mln niesłusznie pozwanych o ojcostwo mężczyzn nie zostanie wyłączonych w analizie systemem

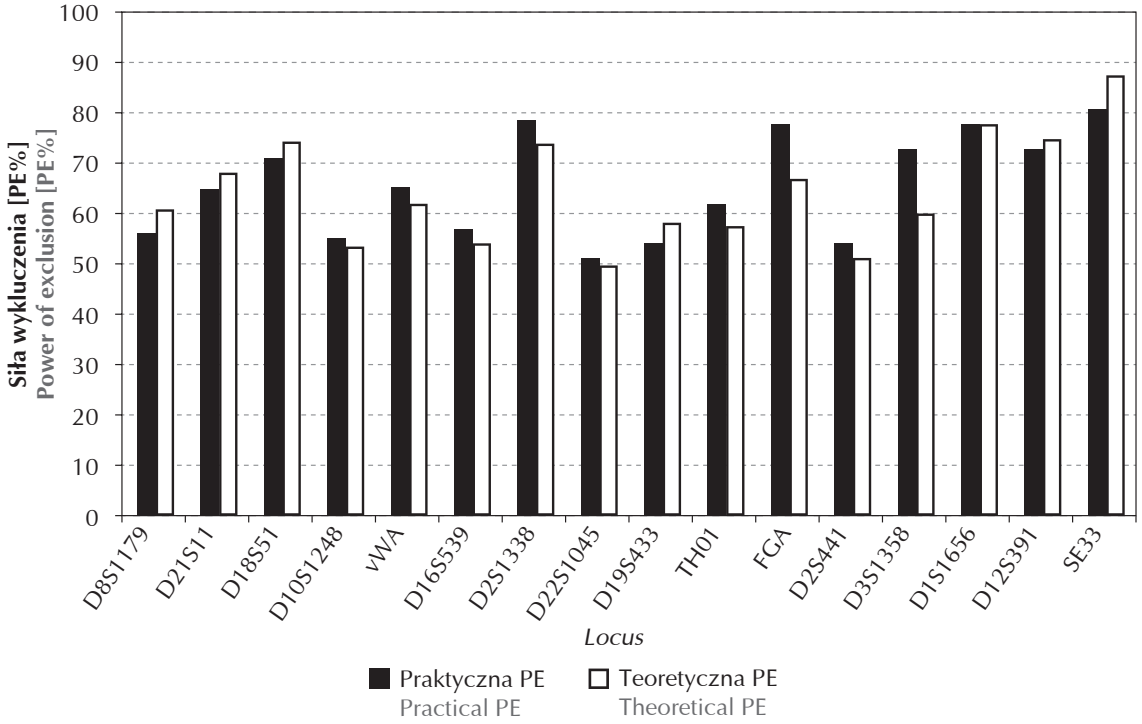
was performed using the Swab kit from A&A Biotechnology in accordance with the manufacturer's protocol [13]. DNA was amplified in the T3000 thermocycler (Biometra) with the AmpFℓSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit (Life Technologies) in compliance with the manufacturer's instructions [14]. PCR products were separated by capillary electrophoresis in the *3500 HID* Genetic Analyzer (Applied Biosystems/Life Technologies) in relation to the GeneScan™ LIZTM 600 Size Standard (Applied Biosystems) using the GeneMapper ID-X software v. 1.2.

The study assessed theoretical and practical parameters of the suitability of the NGM SElect kit for disputed paternity testing. The analysis included the power of exclusion (PE), paternity index (PI) and probability of paternity (P) obtained in paternity testing practice in a total of 100 cases of paternity exclusion and 350 cases of paternity confirmation involving the alleged father, child and the child's mother. The calculated parameters were compared against the theoretical parameters of test suitability determined with the Power GDT Stats programme v. 1.2 [15] on the basis of an analysis of 1,000 unrelated individuals. Both individual systems and the entire multiplex kit were considered. The suitability parameters determined for NGM SElect were then compared with analogical parameters obtained previously for the IDENTIFILER system [5, 16].

Results and discussion

A comparison of theoretical and practical power of exclusion for individual NGM SElect systems obtained on the basis of an analysis of 1,000 unrelated individuals and 100 paternity exclusion cases is shown in Fig. 1. The highest paternity exclusion power both in practice (81.00%) and in theory (87.60%) was observed in the SE33 system, and the lowest values of these parameters were determined for the D22S1045 locus (PEP = 51.00% and PET = 49.40%). The mean PE values determined both in theory and practice are similar (64.37% and 65.75%). The total theoretical value of paternity exclusion power for the whole NGM SElect system is 99.999997%, which means that only 1 per 33.3 million of men falsely accused of paternity will not be excluded in a NGM SElect-based analysis. The corresponding value for

[1]Do badań wykorzystano materiał pobrany w ramach zgody Komisji Bioetycznej w Łodzi nr RNN/37/15/KE z 17 marca 2015 r.
The study was performed with material collected in accordance with the Consent of the Bioethics Committee in Lodz no. RNN/37/15/KE, dated 17 March 2015.



Ryc. 1. Porównanie teoretycznej i praktycznej siły wyłączenia (PE) dla poszczególnych *loci* STR systemu NGM SElect
Fig. 1. Comparison of theoretical and practical power of paternity exclusion (PE) for STR *loci* in the NGM SElect system

NGM SElect. Analogicznie dla zestawu IDENTIFILER wartość ta wynosi 99,99996%, co oznacza, że brak wyłączenia nastąpi średnio w 1 przypadku na 2,5 mln niesłusznie pozwanych.

Ocenę praktycznych i teoretycznych wartości szansy ojcostwa (PI) dla poszczególnych układów wchodzących w skład zestawu NGM SElect przedstawiono na rycinie 2. Najsilniejszy dowodowo w dochodzeniu ojcostwa w zakresie wartości PI uzyskanych zarówno w teorii, jak i praktyce okazał się układ SE33, w następnej kolejności D1S1656, a najsłabsze dowodowo D2S441 i D22S1045. Pozostaje to w zgodzie z wcześniejszymi obliczeniami innego parametru przydatności zestawionymi na rycinie 1.

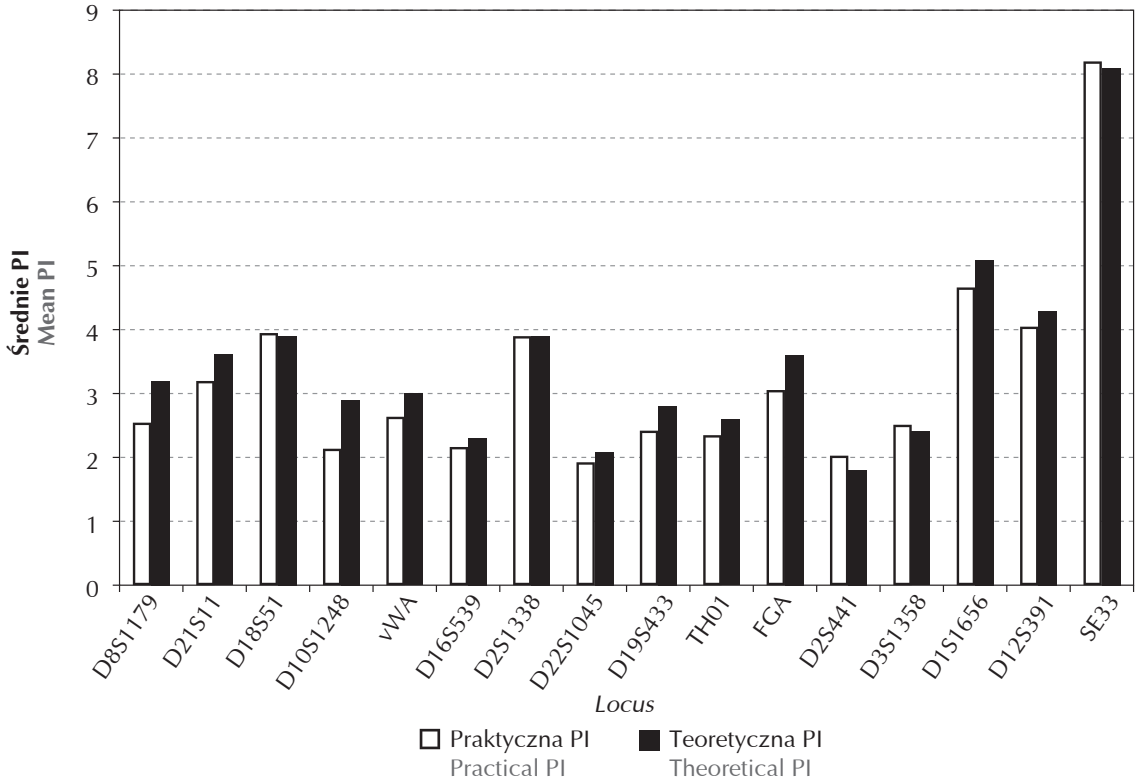
Na rycinie 3. przedstawiono porównanie liczby *loci* wykluczających w zestawie NGM SElect oraz IDENTIFILER. Biorąc pod uwagę 100 przeanalizowanych spraw z wykluczeniem ojcostwa w systemie NGM SElect, uzyskano wyłączenie ojcostwa w zakresie od 5 do 15 *loci*, a najczęściej w 10 układach. W systemie IDENTIFILER uzyskano natomiast wyłączenie ojcostwa w zakresie od 4 do 14 *loci*, a najczęściej w 9 układach.

Porównanie uzyskanych wartości szansy ojcostwa w oparciu o badania zestawem NGM SElect oraz IDENTIFILER przedstawiono na rycinie 4. W analithe IDENTIFILER kit is 99.99996%, indicating that a lack of exclusion will take place on average in one case per 2.5 million of wrongly sued men.

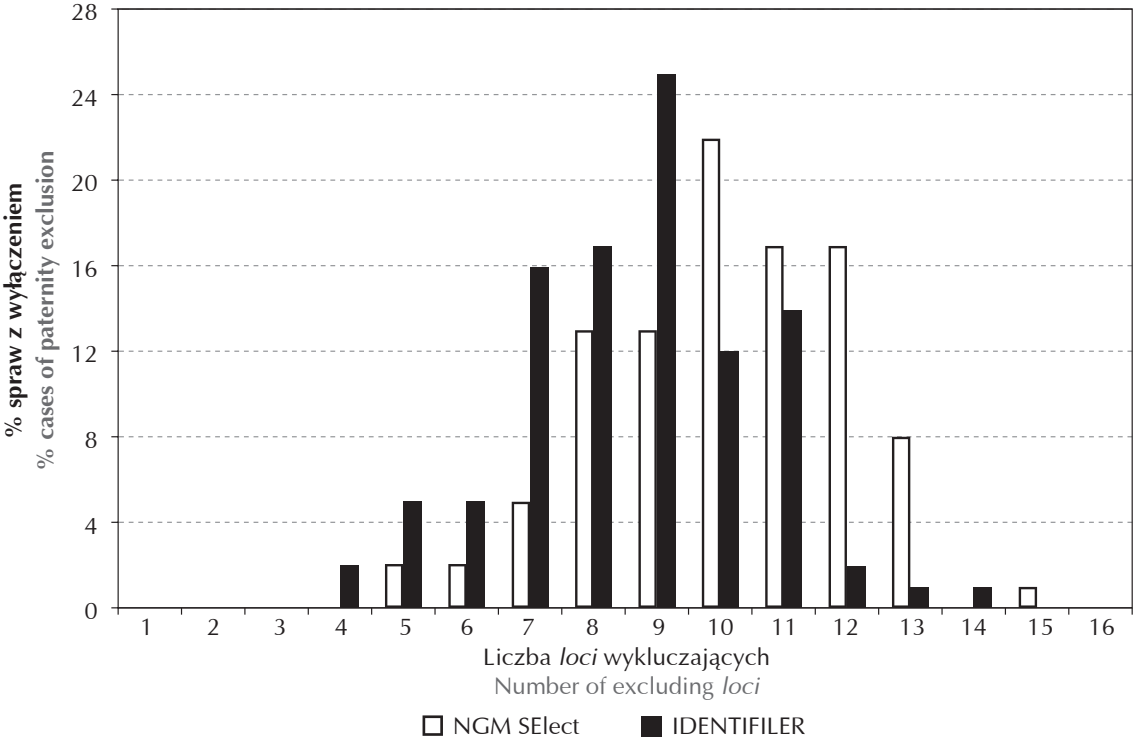
An evaluation of practical and theoretical paternity index (PI) values determined for individual systems included in the NGM SElect kit is shown in Fig. 2. With respect to the PI values obtained both in theory and in practice, the highest evidence value in paternity analysis was demonstrated for the SE33 system followed by D1S1656. The lowest evidence values were associated with the D2S441 and D22S1045 systems. The findings are consistent with earlier calculations of a different suitability parameter shown in Fig. 1.

Figure 3 presents a comparison of the number of excluding *loci* in the NGM SElect and IDENTIFILER kits. Considering 100 paternity exclusion cases analyzed in the NGM SElect system, the exclusion of paternity was determined in the range from 5 to 15 *loci*, and most commonly in 10 systems. In contrast, in the IDENTIFILER system, paternity exclusion was obtained in the range from 4 to 14 *loci*, and most commonly in 9 systems.

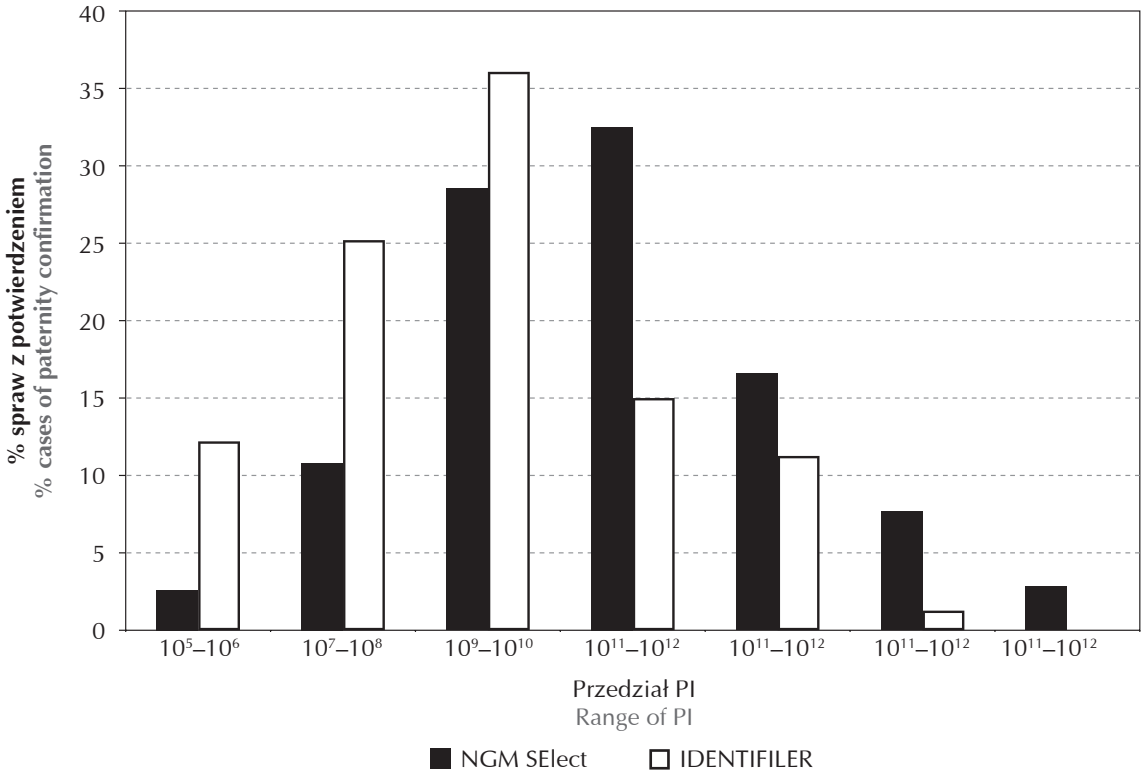
A comparison of paternity index values obtained on the basis of tests carried out with the NGM SElect



Ryc. 2. Porównanie teoretycznych i praktycznych wartości szansy ojcostwa (PI) dla poszczególnych układów NGM SElect
Fig. 2. Comparison of theoretical and practical paternity index (PI) values for individual NGM SElect systems



Ryc. 3. Porównanie liczby *loci* STR wykluczających w systemach NGM SElect i IDENTIFILER
Fig. 3. Comparison of the number of excluding STR *loci* in the NGM SElect and IDENTIFILER systems



Ryc. 4. Porównanie uzyskanych wartości szansy ojcostwa dla systemów NGM SElect i IDENTIFILER
Fig. 4. Comparison of paternity index values obtained for the NGM SElect and IDENTIFILER systems

zowanych sprawach z potwierdzeniem ojcostwa minimalna wartość PI dla zestawu NGM SElect wynosiła 9,6 × 10^5, natomiast dla zestawu IDENTIFILER 1,0 × 10^5. Maksymalna wartość PI uzyskana w systemie NGM SElect dla analizowanych spraw z potwierdzeniem wynosiła 3,9 × 10^{12}, co odpowiada prawdopodobieństwu ojcostwa 99,9999999999%, a w systemie IDENTIFILER wynosiła 6,0 × 10^{10}, co odpowiada prawdopodobieństwu ojcostwa 99,99999999%.

Zestawem NGM SElect nie udało się rozstrzygnąć tylko 1 z 350 spraw, co stanowi 0,3% wszystkich spraw z potwierdzeniem ojcostwa, natomiast w przypadku zestawu IDENTIFILER aż w 12% analizowanych spraw ojcostwa wartości prawdopodobieństwa były zbyt niskie, aby uzyskać próg prawdopodobieństwa 99,9999% umożliwiającego wydanie opinii potwierdzającej ojcostwo.

Locus SE33 uznawany jest za najbardziej polimorficzny spośród wszystkich dotychczas stosowanych markerów STR. Według dostępnych danych współczynnik mutacyjności tego *locus* mieści się w przedziale 0,64–0,78% [17, 18]. W praktyce badawczej autorów wskaźnik ten był relatywnie niski

and IDENTIFILER kits is shown in Fig. 4. In the analyzed cases of paternity confirmation the minimum PI value for the NGM SElect kit was 9.6 × 10^5, and for the IDENTIFILER kit – 1.0 × 10^5. The maximum value of PI recorded in the NGM SElect system for the analyzed paternity confirmation cases was 3.9 × 10^{12}, which corresponds to 99.9999999999% probability of paternity. In the IDENTIFILER system, the value totalled 6.0 × 10^{10}, which corresponds to the probability of paternity equal to 99.99999999%.

The NGM SElect kit proved inadequate for resolving just one out of 350 cases, i.e. 0.3% of all paternity confirmation cases. In contrast, in as much as 12% of all paternity cases analyzed using the IDENTIFILER system the probability values were too low to achieve the probability level of 99.9999% necessary for issuing an opinion confirming paternity.

The SE33 locus is considered to be the most polymorphic of all STR markers used to date. According to available data, the mutation index of this *locus* ranged between 0.64% and 0.78% [17, 18]. Considering our study practice, the index was relatively low, and reached the level of 0.60%. The value

i uzyskał wartość 0,60%, która wymaga weryfikacji w toku dalszych analiz na podstawie większej puli mejoz rodzicielskich.

Wnioski

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że system NGM SElect wykazał wysoką przydatność do badań ojcostwa w populacji Polski centralnej, dając rozstrzygnięcie w 100% analizowanych spraw z wyłączeniem oraz we wszystkich poza jedną sprawach z potwierdzeniem ojcostwa (99,7%). Ponadto układ SE33 charakteryzuje się najwyższą skutecznością wyłączenia ojcostwa w stosunku do pozostałych układów wchodzących w skład NGM SElect, co pozostaje w zgodzie z wyliczeniami teoretycznych parametrów.

Z kolei porównanie systemu NGM SElect z systemem IDENTIFILER wykazało ponad 10-krotną przewagę tego pierwszego w zakresie łącznej siły wykluczenia, znamiennie wyższą skuteczność wyłączania oraz znamiennie wyższe wartości uzyskiwanej szansy i prawdopodobieństwa ojcostwa.

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

requires verification in further analyses based on a larger pool of parental meioses.

Conclusions

Based on results obtained in the study, it can be concluded that the NGM SElect system exhibited high suitability for paternity testing in the population of central Poland, enabling an unambiguous resolution of 100% of analyzed cases of paternity exclusion and all but one case of paternity confirmation (99.7%). Furthermore, SE33 has the highest paternity exclusion effectiveness of all NGM SElect systems, which is consistent with theoretically calculated parameters.

Also, a comparison of the NGM SElect and IDENTIFILER systems showed the former to be over 10 times superior with regard to total paternity exclusion power, demonstrate significantly higher effectiveness of exclusion and significantly higher recorded values of paternity index and paternity probability.

The authors declare no conflict of interest.

Piśmiennictwo
References

1. Zasady atestacji laboratoriów genetycznych przy Polskim Towarzystwie Medycyny Sądowej i Kryminologii na lata 2014–2015. http://www.ptmsik.pl/komisja-genetyki-sadowej/zasady-atestacji-na-lata-2014-2015.html
2. Lech A, Linkowska K, Grzybowski T. Zgoda na badania genetyczne w celu ustalenia ojcostwa. Arch Med Sąd Kryminol 2010; 60: 177-182.
3. Gill P. New multiplexes for Europe – Amendments and clarification of strategic development. Forensic Sci Int 2006; 163: 155-157.
4. Guo F, Shen H, Tian H, Jin P, Jiang X. Development of a 24-locus multiplex system to incorporate the core loci in the Combined DNA Index System (CODIS) and the European Standard Set (ESS). Forensic Sci Int Genetics 2014; 8: 44-54.
5. Jacewicz R, Bąbol K, Berent J, Prośniak A, Szram S. Praktyczna przydatność systemu IDENTIFILER w badaniach ojcostwa w populacji Polski centralnej. Arch Med Sąd Kryminol 2005; 55: 151-153.
6. Jacewicz R, Berent J, Prośniak A, Kadlubek M, Szram S. The evaluation of the IDENTIFILER system in paternity testing In Poland. International Congress Series 2004; 1261: 538-540.
7. Droździok K, Kabiesz J, Chowaniec Cz. Trudności opiniodawcze w ustalaniu ojcostwa spowodowane brakiem informacji o pokrewieństwie biologicznego i domniemanego ojca. Arch Med Sąd Kryminol 2011; 61: 65-69.
8. Babol-Pokora K, Jacewicz R, Pepinski W, Szram S. IDENTIFILER™ system as an inadequate tool for judging motherless paternity cases. International Congress Series 2006; 1288: 462-464.
9. Li B, Ge J, Wu F, Ye L, Budowle B, Chen Y. Population genetic analyses of the STR loci of the AmpFℓSTR® NGM SElect™ kit for Han population in Fujian Province, China. Int J Legal Med 2013; 127: 345-346.
10. Pajnič IZ, Podovšovnik Axelsson E, Balažic J. Slovenian population data for five new European Standard Set short tandem repeat loci and SE33 locus. Croat Med J 2014; 55: 14-18.
11. Barbaro A, Cormaci P, La Marca A. Genetic data for the locus SE33 in a Southern Italy population with AmpFlSTR NGM SElect™ PCR amplification kit. Forensic Sci Int Genetics Supplement Series 2011; 3: e101-e102.
12. Short Tandem Repeat DNA Internet DataBase. http://www.cstl.nist.gov/strbase/multiplx.htm.

13. Swab, Protokół, A&A Biotechnology.
14. AmpFℓSTR® NGM SElect™ PCR Amplification Kit, User's Guide, Applied Biosystems. 03/2012;
15. Tereba A. Tools for analysis of population statistics, Profiles in DNA. Promega Corporation 1999; 2 (3). http://www.promega.com/geneticidtools/powerstats.
16. Jacewicz R, Berent J, Prośniak A, Galecki P, Florkowski A, Szram S. Population genetics of the IDENTIFILER system in Poland. International Congress Series 2004; 1261: 229-232.
17. Short Tandem Repeat DNA Internet DataBase. http://www.cstl.nist.gov/strbase/mutation.htm.
18. Berent J. Dane populacyjne dla układów STR: CSF1PO, D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D17S539, D18S51, D19S433, D21S11, FGA, penta D, penta E, SE33, TH01, TPOX i vWA dla potrzeb obliczeń biostatystycznych w ramach atestacji laboratoriów genetycznych na lata 2008-2009. Arch Med Sąd Kryminol 2007; 57: 364-367.

Adres do korespondencji
Beata Markiewicz-Knyziak
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Sędziowska 18 A
91-304 Łódź, Polska
e-mail: beatamarkiewicz@onet.pl

Address for correspondence
Beata Markiewicz-Knyziak
Department of Forensic Medicine
Medical University of Lodz
Sędziowska 18 A
91-304 Lodz, Poland
e-mail: beatamarkiewicz@onet.pl