



**Cruz Roja Ecuatoriana**

**SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE GENÉTICA  
FORENSE**

**LABORATORIO GENÉTICA MOLECULAR  
CRUZ ROJA ECUATORIANA**

***Ejercicio Control de Calidad  
Interlaboratorios 2010 -2011***

***Informe de Resultados de Análisis de  
Polimorfismos de ADN en Manchas  
de Sangre***

---

## 1. ESTUDIO PRÁCTICO

### 1.1 Muestras enviadas (manchas de sangre en tarjeta FTA):

M1: Muestra donante 1.

M2: Muestra donante 2.

M3: Muestra donante 3.

**1.2. Planteamiento:** Muestras para investigación de los perfiles genéticos, pertenecientes a tres donantes. Se trata de evaluar la capacidad de los laboratorios de analizar genéticamente unas muestras de referencia.

## 2. ESTUDIO TEÓRICO

**2.1. Caso a estudiar:** Relación Biológica de paternidad.

**2.2. Planteamiento:** Se solicita investigar la Relación Biológica Presunto Padre (PP) – Hijo (H) con presencia de la Madre biológica (M) de este, mediante el análisis de perfiles genéticos con marcadores autosómicos tipo STR.

## 3. ESTUDIO TEÓRICO OPCIONAL

### 3.1. Caso a estudiar.

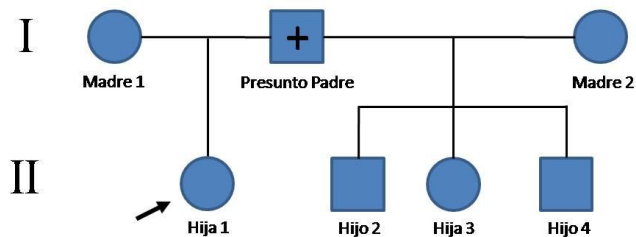


Figura 1. Genealogía Caso Teórico Opcional

**3.2. Planteamiento.** Investigar la Relación Biológica de una hija extramatrimonial (Hija 1), con el presunto padre fallecido y con la presencia de tres hijos reconocidos de este (Hijo 2, Hija 3 e Hijo 4 ) y la madre biológica de estos (Madre 2) y la de la Hija 1 (Madre 1).



## INFORME EJERCICIO CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS 2010 -2011



Página 3 de 14

### 1. LABORATORIOS PARTICIPANTES:

País	Total
Argentina	7
Bolivia	2
Brasil	10
Colombia	12
Costa Rica	3
Ecuador	3
El Salvador	1
España	1
México	7
Nicaragua	1
Perú	4
Republica Dominicana	1
Uruguay	1
Venezuela	3
Total general	56

En el ejercicio de control de calidad de la SLAGF 2010 – 2011, participaron en esta oportunidad un total de 56 Laboratorios de 14 países de la región, donde se destaca la participación de países con un buen número de laboratorios como son Colombia con 12, Brasil con 10, Argentina y México con 7.

### ESTUDIO PRÁCTICO

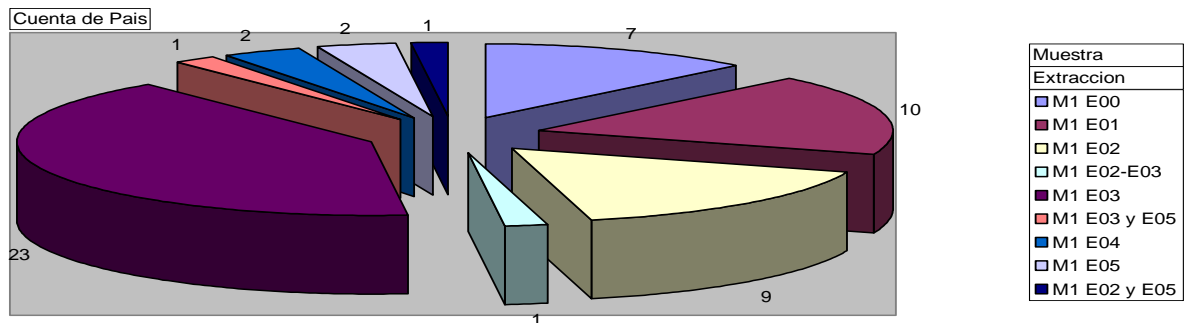
#### 2.1 Protocolos y marcadores utilizados

##### 2.1.1. Extracción, purificación y cuantificación de ADN

##### Métodos de Extracción:

A continuación se detallan los métodos de extracción utilizados para las muestras de FTA enviadas en el control:

**Metodos de extraccion**



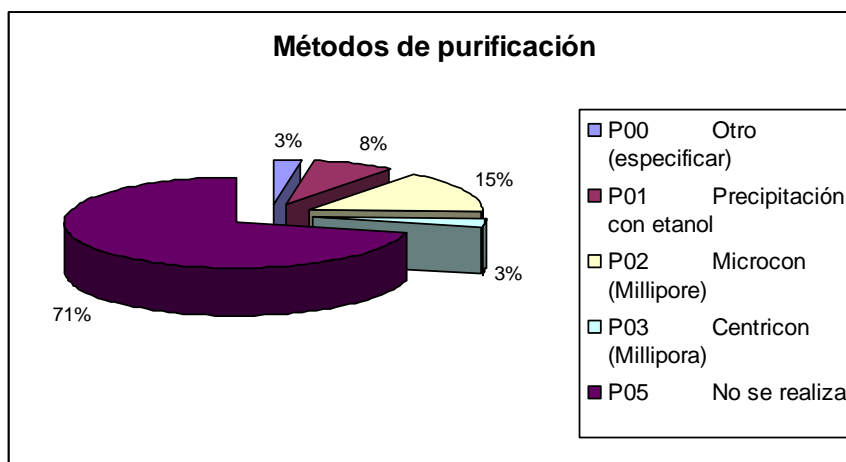
EXTRACCIÓN	
Código Método	
E01.	Digestión proteolítica/ Fenol Cloroformo
E02.	Chelex (Bio-Rad)
E03.	FTA Purification Reagent (Whatman)
E04.	QIAamp (QIAGEN)
E05.	DNA IQ (Promega)
E00.	Otros (especificar)

OTROS	
MagNa Pure	
Wizard (Promega)	
sin extracción	
PROPIO	
Columnas HIGHWAY ADN- Puri Prep-S kit	
MAXWELL 16	

El 41% de los Laboratorios realizó la extracción por el método de FTA, el 17.8% de los laboratorios utilizaron la extracción orgánica, el 16 % utiliza la extracción por Chelex y el 12.5% de los laboratorios utilizaron otras metodologías entre las que se encuentran extracción con Columnas, equipos automatizados como el Maxwell, métodos propios entre otros.

**Métodos de Purificación:**

La siguiente tabla detalla los métodos utilizados para la purificación de ADN, se destaca que el 71% de los laboratorios no utilizan método alguno y entre los 11 laboratorios que utilizan algún método, el de uso mas frecuente es Microcon (Millipore) en un 15%, seguido por la precipitación etanólica en un 8% entre otros.



PURIFICACIÓN/CONCENTRACIÓN	
Código	Método
P00	Otro (especificar)
P01	Precipitación con etanol
P02	Microcon (Millipore)
P03	Centricon (Millipora)
P05	No se realiza

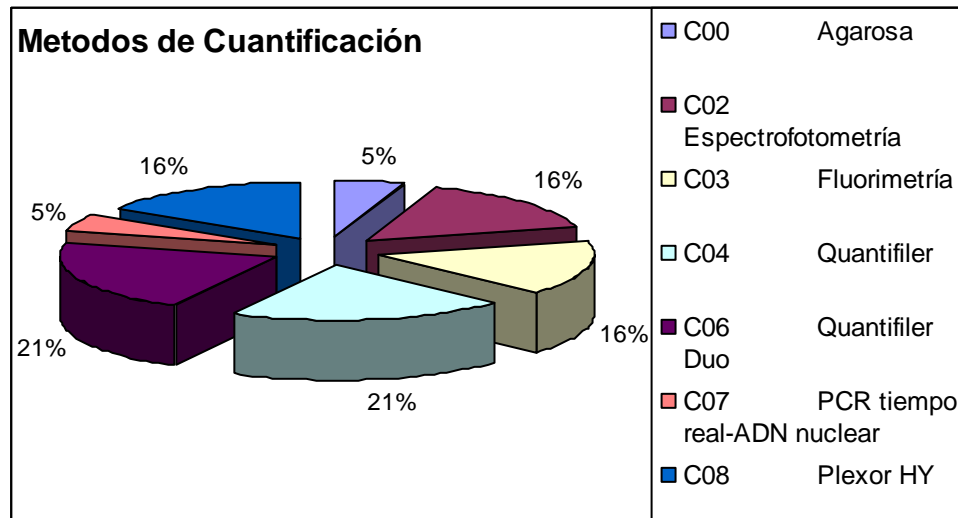
PROPORCION (%)
2.56
7.69
15.38
2.56
71.79

**Métodos de cuantificación de ADN:**

Tan solo un 33,92% de los laboratorios utiliza algún método de cuantificación de ADN, entre éstos, los métodos más populares están Quantifiler y Quantifiler Duo (21.05 % c/u), seguidos por Espectrometría, Fluorimetría y Plexor HY (15.79 % c/u), según se detalla en la siguiente tabla:

CUANTIFICACIÓN	
Código	Método
C00	Otros (especificar) Agarosa
C02	Espectrofotometría
C03	Fluorimetría
C04	Quantifiler
C06	Quantifiler Duo
C07	PCR tiempo real-ADN nuclear
C08	Plexor HY

PROPORCION (%)
5.26
15.79
15.79
21.05
21.05
5.26
15.79



### 1.1.2. Metodología PCR

#### 1.1.2.1. Metodología de Kits multiplex

Los Kits Multiplex STRs para marcadores autosómicos más utilizados entre los laboratorios participantes fueron Identifiler (Appl. Biosys. N= 37 labs.), PowerPlex 16 (Promega Co. N= 16 labs.) y PowerPlex 16 HS (Promega Co. N= 14 labs.). Para Los marcadores del Cromosoma Y, los Kits múltiplex más frecuentes fueron Y Filer (Appl. Biosys. N= 28 labs.)y PowerPlex Y (Promega Co. N= 13 labs.).

En cuanto a los métodos de detección, los equipos más utilizados son el ABI 3130/3130XL (Appl. Biosys n = 23 labs)), seguidos por el ABI310 (Appl. Biosys. N= 15 labs) La totalidad de los resultados se resumen en la siguientes tablas:



**INFORME EJERCICIO CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS  
2010 - 2011**



Nro	Multiplex	Numero de Laboratorios
1	Monoplex (Promega)	2
2	CTT (Promega)	2
3	FFV (Promega)	2
4	FFFL (Promega)	8
5	Silver STR III (Promega)	2
6	Identifiler (AB)	37
7	PowerPlex 16 (Promega)	16
8	PowerPlex 16 HS (Promega)	14
9	SE Filer (AB)	3
10	Y Filer (AB)	28
11	PowerPlex Y (Promega)	13
12	Identifiler Plus	3
13	In House	1
14	X-STR Decaplex.	3
15	NGM (AB)	3
16	PowerPlex 17 ESI (Promega)	2
17	PENTA D	1
18	PENTA E	1
19	ESSPLEX_SE	1
20	PowerPlex-CS7 System	1
21	X_ARGUS	1

Cuenta de Pais		
Fila	Deteccion	Total
deteccion	D01	2
	D02	1
	D03	1
	D04	3
	D05	3
	D06	15
	D06/D07	1
	D07	1
	D08	3
	D09	23
	D11	2
	(en blanco)	1
Total deteccion		56
Total general		56

DETECCIÓN	
Código	Método
D01	Tinción Nitrato de Plata
D02	ALF
D03	FMBIO II
D04	MEGABACE
D05	ABI 377
D06	ABI 310
D07	ABI 3100
D08	ABI 3100 AVANT
D09	ABI 3130/3130xl
D10	AB1 3730
D11	ABI 3500
D00	Otros (especificar)



**INFORME EJERCICIO CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS  
2010 -2011**



**.1.2.2. Metodología de marcadores STRs NO incluidos en los kits Múltiplex**

9 Laboratorios utilizan algún marcador autosómico diseñado in House, entre ellos se encuentran el marcador D1S5616, D12S391, D10S2325 y D19S253 entre otros. Respecto a los cromosomas sexuales, 3 Laboratorios tienen algún marcador diseñado in House para el Cromosoma Y y 7 Laboratorios tienen algún marcador diseñado in House del Cromosoma X o para el marcador de sexo Amelogenina.

**Numero de marcadores Autosómicos reportados**

En la siguiente Tabla y gráfico, se observa el número de marcadores autosómicos reportados por los participantes, la Mayoría de laboratorios (53%) reportaron 15 marcadores, un 18% reportaron 17, únicamente un laboratorio reportó 9 marcadores y el restante 27 % de laboratorios reportaron 18 o mas marcadores.

**Numero marcadores del**

Numero de marcadores Autosómicos	Total Laboratorios
9	1
15	30
17	10
18	3
19	1
20	1
21	2
22	5
27	3
<b>Total General</b>	<b>56</b>

**Cromosoma Y reportados**

En la siguiente Tabla y gráfico, se observa el número de marcadores del Cromosoma Y reportados por los participantes:

Numero de marcadores	Total Labs
10	1
11	10
15	3
16	26
17	1
<b>Total General</b>	<b>41</b>





## INFORME EJERCICIO CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS 2010 -2011



Página 9 de 14

### Numero marcadores del Cromosoma X reportados

En la siguiente Tabla, se observa el número de marcadores del Cromosoma X reportados por los participantes; solo 7 laboratorios enviaron resultados, la mayoría (57,14%, n=4) reportando 10 marcadores.

Numero de marcadores	Total Labs
10	4
12	1
4	1
8	1
Total General	7

### 1.1.3. Metodología ADN mitocondrial

País	Total
Argentina	1
Bolivia	1
Brasil	3
Colombia	1
Costa Rica	1
España	1
México	1
Venezuela	1
Total	10

10 Laboratorios presentaron resultados de secuenciación de ADN mitocondrial, los sistemas de Purificación utilizados incluyen Qiaquick PCR purification kit (Qiagen, n=2), Microcon 100 (Millipore, n=2), u otro entre ellos precipitación etanólica (n=5). La Quimica de Secuenciacion utilizada, fuè Bigdye v1.1 (n=3) y v3.1 (n=6)

Para la purificación de reacciones de extensión, los metodos utilizados incluyeron Columnas Centri-Sep (n=1), DyeEx (Qiagen, n=2), Precipitación etanol/acetato sódico (n=2), Digestión SAP+Precipitación (n=2), entre otros (n=2).

Los Equipos para lectura de secuencias más usados fueron los ABI, versión 310 (n=4) y 3130 (n=3), ente otros. El software mas utilizado es el SeqScape.



**INFORME EJERCICIO CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS  
2010 -2011**



Página 10 de 14

**1.2. Resultados Estudio Práctico.**

**1.2.1. Resultados STRs Autosómicos.**

En la tabla se presentan los resultados consensuados y errores observados en la tipificación de 27 marcadores autosómicos

Nro	Marcador	Numero de Lab que reportan	Numero de errores	M1	M2	M3
1	FES/FPS	10	0	10/11	10/11	11/12
2	TH01	56	4	9/9.3	9.3	9/9.3
3	F13A01	11	0	4/5	7	5/6
4	VWA	56	5	16/18	16	15/18
5	TPOX	56	0	8/12	9/12	8/12
6	CSF1PO	56	2	12	10/12	10/12
7	FGA	54	3	21/24	19/25	23/25
8	F13B	10	0	9	10	8/9
9	LPL	10	0	10/11	10/11	11
10	ACTBP2(SE33)	9	1	16/20.2	19/21	18/28.2
11	D1S1656	7	0	16/17.3	14/17	11/15
12	D12S391	7	0	18/19	20	17/25
13	D13S317	56	2	12/14	12/14	8/10
14	D16S539	56	2	10/11	11/13	11
15	D18S51	55	2	14/15	14/16	13/16
16	D19S433	44	5	13.2/14	14	13/15
17	D21S11	55	3	30/32.2	28/31.2	29/32
18	D2S1338	44	2	17/23	17/24	18/19
19	D3S1358	55	2	15/16	16	15/16
20	D5S818	54	1	12	11/13	9/11
21	D7S820	56	3	12/13	12	11/12
22	D8S1179	55	2	10/12	14/15	8/13
23	Penta D	32	0	10/13	12/14	10/12
24	Penta E	32	1	12/17	12/17	16/20
25	D10S1248	5	0	14/15	14	13/16
26	D22S1045	5	0	15/17	15/16	15/16
27	D2S441	4	0	10/11	10/14	10

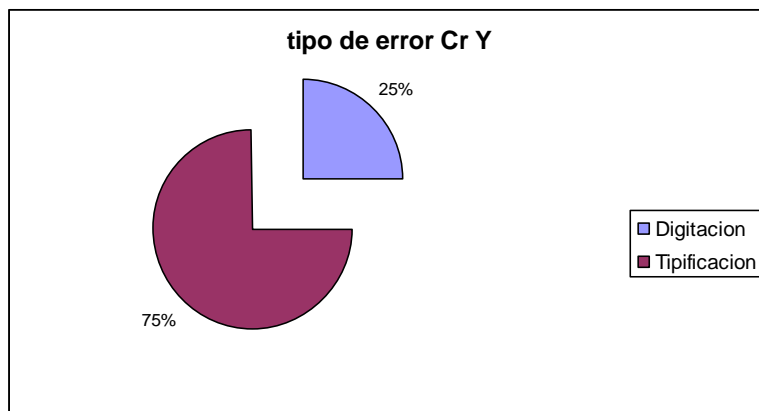
Se detectaron un total de 29 laboratorios que presentaron algún error en los reportes evaluados, el 76% de los laboratorios que presentan error son por mala tipificación del marcador genético, el 21% de los laboratorios presentaron error de digitación y un solo de ellos que presento los dos tipos de errores (3%)

### 1.2.2. Resultados STRs del Cromosoma Y.

En la tabla se presentan los resultados consensuados y errores observados en la tipificación de 16 marcadores del Cromosoma Y:

Nro	Marcador	Numero de Lab que reportan	Numero de errores	M1
1	DYS 19	41	0	14
2	DYS 385	41	1	11/15
3	DYS 389 I	41	0	13
4	DYS 389 II	41	0	29
5	DYS 390	41	0	24
6	DYS 391	41	0	11
7	DYS 392	40	0	13
8	DYS 393	40	0	13
9	DYS 437	41	2	15
10	DYS 438	41	0	12
11	DYS 439 (GATA A4)	40	0	12
12	DYS448	29	0	19
13	DYS456	28	0	16
14	DYS458	28	1	17
15	DYS635	29	0	24
16	GATA H4	30	1	12

### Tipos de errores



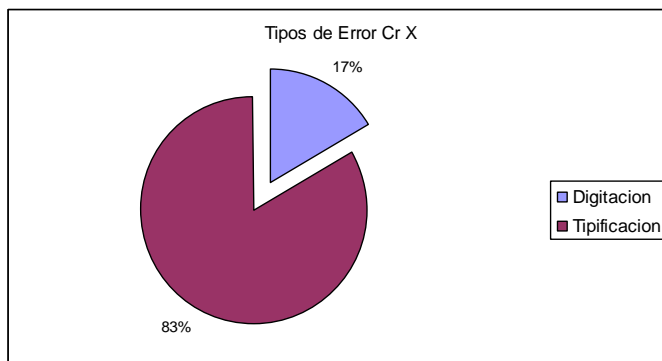
Se detectaron tan solo 4 errores en la tipificación del Cromosoma Y, 3 de ellos de tipificación y uno solo de digitación.

**1.2.3. Resultados STRs del Cromosoma X y Amelogenina**

En la tabla XX se presentan los resultados consensuados y errores observados en la tipificación de 19 marcadores del Cromosoma X y el marcador de sexo amelogenina:

Nro	Marcador	Numero de Lab que reportan	Numero de errores	M1	M2	M3
1	DXS6809	5	2	32	33/36	31/36
2	DXS7423	6	1	14	14/17	15
3	GATA172D05	6	0	11	10/12	6/11
4	DXS6789	5	0	20	16/21	16/21
5	DXS9902	6	0	12	13	11/12
6	DXS7132	6	2	13	15/16	15/16
7	GATA31E08	6	0	11	11/12	11/12
8	DXS7133	5	1	10	7/11	9
9	DXS9898	4	0	8.3	12/13	11/12
10	DXS8378	6	0	10	10/11	12
11	AMELOGENINA	49	37	X/Y	X	X

**Tipos de errores**



En la tipificación de marcadores del Cromosoma X se detectaron 5 errores, 4 de ellos de tipificación (83%) y uno de Digitación (17%).

**1.2.5. Resultados de ADN mitocondrial**

De los 10 laboratorios participantes, la secuencia consenso (Mayor del 70%) presenta para la M1, 10 variantes relacionadas a continuación, debajo de cada una de ellas, se muestra el número de laboratorios en consenso para el sitio.

ADN MITOCONDRIAL	HV2						HV1				
	CONSENSO	73 G	152 C	195 C	207 A	263 G	315.1 C	16126 C	16163 G	16186 T	16189 C
REPORTADO NRO LAB	6	9	9	9	8	7	9	9	8	8	9



**INFORME EJERCICIO CONTROL DE  
CALIDAD INTERLABORATORIOS  
2010 -2011**



**Página 13 de 14**

Los siguientes tabla y grafico muestran el número de variantes presentadas por los laboratorios participantes:

## **2. RESULTADOS ESTUDIO TEÓRICO**

A continuación se muestran los resultados Consensuados de los valores IP para cada uno del los marcadores analizados en el ejercicio teórico, respectivamente

Marcador	IP Consenso	Nro de errores
D3S1358	1,0767	5
VWA	3,6900	4
FGA	7,7700	8
D8S1179	4,7326	5
D21S11	6,6845	9
D18S51	5,7870	6
D5S818	1,0620	7
D13S317	3,6523	5
D7S820	4,2481	5
D16S539	2,1988	5
THO1	2,4319	10
TPOX	1,8632	5
PENTA D	3,2321	7
PENTA E	9,0580	5
CSF1PO	3,7327	6
D2S1338	9,5969	7
D19S433	3,4483	6



## INFORME EJERCICIO CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS 2010 -2011



Página 14 de 14

### 3. RESULTADOS ESTUDIO TEÓRICO OPCIONAL

A continuación se muestran los resultados Consensuados de los valores IP para cada uno de los marcadores analizados en el estudio teórico opcional, respectivamente

Marcador	IP Consenso	Nro de errores
CSF1PO	36,4964	5
D13S317	0,3043	16
D16S539	NO	
D18S51	3,1017	3
D21S11	174,3965	18
D3S1358	100,0000	5
D5S818	NO	
D7S820	185,1852	6
D8S1179	178,5714	9
FGA	166,6667	8
TH01	2,4728	5
TPOX	0,3694	17
vWA	8,5763	5

### RESPONSABLES

**ANIBAL A. GAVIRIA GAVIRIA**  
Cruz Roja Ecuatoriana – Quito

Juan José Builes Gómez

**JUAN JOSE BUILES GÓMEZ**  
Genes Ltda – Medellín

**REGINA M. BARRETTO CICARELLI**  
FCF – UNESP. ARAQ – São Paulo