

Allgemeine Empfehlungen der Spurenkommission zur Bewertung von DNA-Mischspuren

P.M. Schneider^{1*}, R. Fimmers⁴, W. Keil^{2*}, G. Molsberger^{6*}, D. Patzelt^{7*}, W. Pflug^{8*}, T. Rothämel^{9*}, H. Schmitter^{3*}, H. Schneider^{10*}, B. Brinkmann^{5*#}

* als Mitglieder der Spurenkommission, der gemeinsamen Kommission rechtsmedizinischer und kriminaltechnischer Institute

¹ Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Köln, Melatengürtel 60-62, D-50823 Köln

² Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität, Frauenlobstr. 7a, D-80337 München

³ Bundeskriminalamt, Thaeerstr 11, D-65193 Wiesbaden

⁴ Institut für Medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie, Universität Bonn, Sigmund-Freud-Str. 25, D-53105 Bonn

⁵ Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Münster, Röntgenstr. 23, D-48149 Münster

⁶ Landeskriminalamt Nordrhein-Westfalen, Völklingerstr. 49, D-40221 Düsseldorf

⁷ Institut für Rechtsmedizin der Bayr. Julius-Maximilians-Universität, Versbacher Str. 3, D-97078 Würzburg

⁸ Landeskriminalamt Baden-Württemberg, Taubenheimstr. 85, D-70372 Stuttgart

⁹ Institut für Rechtsmedizin der Medizinischen Hochschule, Carl-Neuberg-Str. 1, D-30625 Hannover

¹⁰ Hessisches Landeskriminalamt, Hölderlinstrasse 5, D-65187 Wiesbaden

Korrespondenzautor

Prof. Dr. med. Dr. h.c. Bernd Brinkmann
Vorsitzender des Spurenkommission
Institut für Rechtsmedizin
Universitätsklinikum Münster
Röntgenstr. 23
D-48149 Münster

Fax.: +49-251-83-55158

eMail: brinkma@uni-muenster.de

Zusammenfassung

Die in der forensischen DNA-Analytik auftretenden Mischspuren, also beim Nachweis von Zellmaterial von mehr als einer einzelnen Person, weisen eine zunehmende Bedeutung auf, wohingegen die biostatistische Bewertung bislang durch keine Empfehlungen von Expertenkommissionen geregelt war. Daher hat die Spurenkommission, eine gemeinsame Kommission rechtsmedizinischer und kriminaltechnischer Institute, auf der Basis von veröffentlichten biostatistischen Verfahren eigene Empfehlungen für den deutschsprachigen Raum entwickelt, um die Bewertung im Strafverfahren zu vereinheitlichen.

Schlüsselworte: STR-Typisierung; Biostatistische Analyse; Likelihood Quotient; Ausschluss-Chance; Mischspur

Abstract

In the course of forensic DNA analysis mixed stains, i.e. cell material from more than a single donor, have become increasingly important. The German Stain Commission, a joint commission of Institutes for Forensic Science and Legal Medicine, has therefore developed guidelines aiming to harmonize the evaluation of mixed stains in German criminal cases.

Keywords: STR typing; Biostatistical analysis; Likelihood ratio; Probability of exclusion; Mixtures

0. Präambel

Schon immer werden in der forensischen Spurenanalytik [1,2] Mischspuren beobachtet. Sie haben in den letzten Jahren aufgrund der verbesserten Analysetechniken und des gesteigerten Untersuchungsaufkommens eine zunehmende Bedeutung als Beweismittel im Strafverfahren [3,4] erlangt. Während die Bewertung von Einzelpersonenspuren [5] i.d.R. unproblematisch ist, erfordert die Auswertung und biostatistische Bewertung von DNA-Mischspuren [6-8] besondere Aufmerksamkeit. Die vorliegenden Empfehlungen sollen den Rahmen für eine angemessene Vorgehensweise in typischen Standardfällen bilden, können jedoch nicht auf alle Sonderfälle eingehen.

1. Allgemeine Definition

Eine Spur, die mehr als zwei Allele in einem DNA-System aufweist, kann i.d.R. als Mischspur bezeichnet werden, sofern keine genetischen Besonderheiten (z.B. Trisomie, somatischer Mosaizismus, Duplikation) vorliegen. Wenn mehr als zwei Allele in mindestens zwei DNA-Systemen auftreten, ist von einer Mischspur auszugehen.

Bei Mischspuren muss – sofern möglich – die Zahl der unterschiedlichen Spurengerber geklärt werden:

- im Allgemeinen lässt der Nachweis von max. vier Allelen pro System auf mindestens zwei unterschiedliche Spurengerber schließen.
- im Allgemeinen lässt der Nachweis von max. sechs Allelen pro System auf mindestens drei unterschiedliche Spurengerber schließen.
- im Allgemeinen ist die Festlegung auf die genaue Anzahl der Spurengerber bei mehr als sechs Allelen pro System nicht sinnvoll und nicht möglich.

1.1 Klassifizierung von Mischspuren

Typ A: kein eindeutiger Hauptverursacher, keine Ergebnisse im stochastischen Bereich^a.

Typ B: deutlich unterscheidbarer Haupt- und Nebenverursacher; durchgängiges Mindest-Verhältnis der Peakhöhen von ca. 4:1 (Haupt- zu Nebenkomponente) für alle heterozygoten Systeme; keine stochastischen Phänomene.

Typ C: Mischspuren ohne deutliche(n) Hauptverursacher und mit Ergebnissen im stochastischen Bereich^a.

2. Bewertungskriterien

2.1 Peakauswertung

Die Morphologie eines Peaks muss typisch sein und dieser Peak muss eindeutig im gegebenen STR-System einem Allel entsprechen.

Reproduzierbare Peaks mit $RFU^b > 50$ können im Allgemeinen als echte Peaks

^a Durch Amplifikation von Proben mit geringer DNA-Quantität und/oder Qualität entstandene DNA-Profile, bei denen Verdacht auf *allelic drop out* und/oder *locus drop out* besteht.

^b RFU-Relative Fluorescence Unit

angesehen werden, sofern die Grundlinie rauscharm ist und die vom Hersteller empfohlene Anzahl an Zyklen eingehalten wurde.

Schwach ausgeprägte Peaks (i.d.R. kleiner als 100 RFU) und/oder deutlich unterschiedliche Peakintensitäten müssen durch eine spezielle Kennzeichnung der entsprechenden Allele in der Befundtabelle angezeigt werden.

Tabellen im Gutachten müssen mit einer Legende versehen werden.

2.2 *Stutter*-Problematik

Es gibt $n-1$ und $n+1$ *stutter peaks*; ihre Höhe kann abhängig vom DNA-System und von den Amplifikationsbedingungen sein; *stutter peaks* können im Einzelfall bis zu 15% des Hauptpeaks betragen.

Bei der Beurteilung des Vorliegens eines *stutter peaks* sind darüber hinaus zu beachten:

- die relativen *stutter*-Intensitäten innerhalb eines DNA-Systems, zwischen verschiedenen DNA-Systemen in einer Multiplex-Amplifikation,
- die Möglichkeit der Überlagerung eines Spuren-Allelpeaks mit einem *stutter peak*.

In begründeten Fällen muss ein *stutter*-verdächtiger Peak als echtes Allel mit entsprechender Kennzeichnung in die Mischspuren-Berechnung einbezogen werden.

3. Einschluss- / Ausschluss-Kriterien

3.1 Einschluss

Wenn in Mischspuren alle DNA-Merkmale der fraglichen Person **durchgängig** nachweisbar sind, dann kommt diese Person als Spurenmitverursacher in Betracht.

3.2 Ausschluss

Wenn in Mischspuren DNA-Merkmale der fraglichen Person **nicht** nachweisbar sind, kommt diese Person als Spurenmitverursacher nicht in Betracht.

3.3 Grauzone zwischen 3.1 und 3.2

Bei Typ C-Mischspuren ist aufgrund der Komplexität der Mischung hinsichtlich der Mengenverhältnisse mit den folgenden Phänomenen zu rechnen, die eine eindeutige Festlegung in Bezug auf Ein- oder Ausschluss über alle betrachteten DNA-Systeme erschweren können:

- *locus drop-outs* und *allelic drop-outs* (z.B. verursacht durch Empfindlichkeit des Amplifikationssystems und stochastische Effekte).
- *allelic drop-outs* sind im Allgemeinen bei sehr langen Allelen wahrscheinlicher als bei kurzen Allelen, dabei insbesondere bei DNA-Systemen mit größeren Amplikonlängen.

3.4 Weitere Kriterien

Die Entscheidung zwischen Einschluss und Ausschluss muss im Einzelfall unter Einbeziehung und Abwägung der unter **3.3** aufgeführten Problempunkte erfolgen und verbal präzisiert und differenziert dargestellt werden; ggf. muss ausgedrückt werden, dass eine eindeutige Entscheidung zwischen Einschluss und Ausschluss nicht möglich ist.

4. Biostatistische Berechnungsweisen für Mischspuren

4.1 Grundlagen

Grundlage der Berechnungen ist die Kenntnis der Allelhäufigkeit in der gegenständlichen Population.

4.2 Ausschluss-Chance [P(E)] / Einschluss-Chance [P(I)]

P(I) gibt die gemeinsame Wahrscheinlichkeit (relative Häufigkeit in der Population) für alle Genotypkombinationen an, die im Sinne von **3.1** nicht von der Beteiligung an der Spur ausgeschlossen werden können (engl. *probability of inclusion*). P(I) entspricht der *match probability* im Fall von Einzelpersonenspuren.

Die Berechnung von P(I) ist prinzipiell unabhängig von der Anzahl der möglichen Spurenverursacher und den Genotypen sowie der Populationszugehörigkeit der verfahrensbeteiligten Personen. Dieser Wert entspricht der Häufigkeit, dass eine beliebig ausgewählte Person als Spurenleger in Betracht kommt (= RMNE^c).

$P(E) = 1 - P(I)$ gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine beliebige Person als

^c engl.: RMNE – *random man not excluded*

Spurenleger ausgeschlossen werden kann (engl. *probability of exclusion*).

4.3 Likelihood-Quotient – LQ

Die Berechnung des LQ beruht auf der Annahme von zwei *sich gegenseitig ausschließenden* Hypothesen; sie zwingt daher zur Beschreibung eines *eindeutigen Szenarios* für den Spurenfall:

Beide Hypothesen beschreiben dabei eindeutige, alternative Szenarien für das Zustandekommen der Spur. Für jede dieser Hypothesen muss klar festgelegt werden, wer unter dieser Hypothese an der Spur beteiligt ist und wie viele unbekannte Spurenbeteiligte angenommen werden. Berechnet wird dann die Likelihood (Wahrscheinlichkeit) für das Zustandekommen der Spur unter Annahme der jeweiligen Hypothese $L(\text{Spur}|\text{H})$.

Der Likelihood-Quotient

$$LQ = \frac{L(\text{Spur} | H_1)}{L(\text{Spur} | H_2)}$$

erlaubt die Angabe des Beweiswertes einer Spur *in Bezug auf eine konkrete verfahrensbeteiligte Person*, z.B. einen beschuldigten Spurenleger.

Bei einer 2-Personen Mischspur M, in der sich alle beobachteten Allele durch die Genotypen G_o des Opfers O und die Genotypen G_b des Beschuldigten B erklären lassen, können die Hypothesen wie folgt formuliert werden:

Hypothese H_A (Sichtweise der Anklage): Die Spur M stammt vom Opfer O und vom Beschuldigten B.

Hypothese H_V (Sichtweise der Verteidigung): Die Spur M stammt vom Opfer O und von einer unbekanntes und mit dem Beschuldigten unverwandten Person.

$$LQ = \frac{L(M | H_A)}{L(M | H_V)} = \frac{L(M | G_o, G_b)}{L(M | G_o)}$$

Der resultierende LQ gibt an, um wie viel wahrscheinlicher das beobachtete DNA-Profil der Spur M bei Annahme der Hypothese H_A in Verhältnis zur Hypothese H_V ist.

4.4 Vorgehensweise

4.4.1 Berechnung einer Mischspur als Einzelpersonen-Spur (Hauptkomponente

eindeutig erkennbar)

Die Ableitung des Hauptspurenlegers ist nur bei Mischspuren vom Typ B bei einem durchgängigen Mindest-Verhältnis der Peakhöhen von Hauptkomponente zu Nebenkomponekte von ca. 4:1 für alle heterozygoten DNA-Systeme zulässig (vgl. 1.); der Hauptspurenleger kann dann wie bei einer Einzelpersonenspur angesehen und berechnet werden.

4.4.2 Berechnung als Likelihood Quotient

Wenn die Voraussetzungen für die Festlegung eindeutiger Hypothesen gegeben sind:

- die Anzahl der beteiligten Personen ist eindeutig bestimmbar,
- eindeutige DNA-Profile über alle DNA-Systeme (Mischspuren des Typs A sowie des Typs B, wenn die Merkmale der betrachteten Person, z.B. des Beschuldigten, sich im geringeren Anteil der Mischspur nachweisen lassen; [vgl. 1.]),

so ist die Berechnung eines LQ sinnvoll.

4.4.3 Berechnung als Ausschluss- / Einschluss-Chance

Wenn keine konkreten DNA-Profile ableitbar sind oder die Zahl der beteiligten Personen nicht bestimmbar ist, dann ist die Berechnung der Ausschluss-Chance $P(E)$ bzw. die Einschluss-Chance $P(I)$ für beliebige Personen angemessen.

Die Berechnung von $P(E)$ und $P(I)$ ist grundsätzlich immer auch bei Spuren vom Typ A und B (vgl. 1.1) anwendbar.

5. Ergänzende Empfehlungen

Zusätzliche Berechnungen, die zu fehlerhaften Interpretationen der Befunde führen könnten, sind zu vermeiden (z.B. die Angabe der Genotyp-Frequenz eines nicht ausschließbaren tatverdächtigen Spurenlegers, wenn die Mischspur selbst unter den vorgenannten Bedingungen keine Berechnung zulässt).

Zur Berechnung komplexer Mischspuren existieren valide Computer-Programme.

Anhang:

A. Beispiel für die Berechnung von P(I) und P(E)

Die Einschluss-Chance P(I) beruht auf der Summe der Genotypen aller möglichen in Betracht kommenden Spurenleger. Für einen Spurenfall, bei dem in einem DNA-System die Allele a, b, c nachgewiesen werden, ergibt sich bei Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes die Summe der möglichen Genotypen wie folgt:

$$P(I) = a^2 + b^2 + c^2 + 2ab + 2bc + 2ac$$

Dieser Term lässt sich mit Hilfe der binomischen Formel vereinfachen in:

$$a^2 + b^2 + c^2 + 2ab + 2bc + 2ac = (a+b+c)^2$$

Bei einer angenommenen Allelfrequenz von 0,1 für a, b, c ergibt sich somit:

$$P(I) = 0,3^2 = 0,09$$

Dies entspricht der Erwartung, dass 9% einer Gruppe beliebiger Personen als Spurenleger in Betracht kommt (= RMNE), d.h. eine von 11 beliebig ausgewählten Personen.

Die Ausschluss-Chance entspricht der Differenz

$$P(E) = 1 - P(I) = 1 - 0,09 = 0,91$$

Dies entspricht der Erwartung, dass 91% einer Gruppe beliebiger Personen als Spurenleger ausgeschlossen werden kann.

Für mehrere DNA-Systeme 1...n lässt sich bei Vorliegen eines Kopplungsgleichgewichtes zwischen diesen Systemen P(E) in allgemeiner Form aus dem Produkt der einzelnen Einschluss-Chancen $P(I)_{1...n}$ ermitteln:

$$P(E)_{1...n} = 1 - [P(I)_1 \cdot P(I)_2 \cdot \dots \cdot P(I)_n]$$

B. Beispiel für die Berechnung des Likelihood Quotienten LQ

B.1 Einfaches Szenario

Betrachten wir einen Fall mit einer Täter/Opfer-Mischspur M mit drei Allelen a, b, c. Das Opfer O besitzt den Genotyp AB, und der Beschuldigte B den Genotyp BC. Die Hypothesen sind wie folgt zu formulieren:

Hypothese H_A : Die Spur M stammt vom Opfer O und vom Beschuldigten B.

Hypothese H_V : Die Spur M stammt vom Opfer O und von einer unbekanntem und mit dem Beschuldigten nicht-verwandten Person.

Betrachten wir zunächst den Zähler des Likelihood-Quotienten. Aus Sicht der Anklage lässt sich die Spur allein aus den Genotypen des Opfers und des

Beschuldigten erklären, es gibt keine nicht-zuzuordnenden Allele. Also wird der Ausdruck

$$L(M | H_A) = L(M | G_b, G_o) = 1$$

Aus Sicht der Verteidigung jedoch kann nur der Genotyp des Opfers nicht angezweifelt werden. Der Genotyp des Beschuldigten spielt hier keine Rolle, denn die Anwesenheit des Allels c muss durch einen unbekanntem Spurenleger erklärt werden. Da das Allel c sowohl homozygot als auch heterozygot mit a oder b auftreten kann, ergibt der Nenner aus der Summe dieser möglichen Genotypen als

$$L(M | H_V) = (M | G_o) = 2ac + 2bc + c^2$$

und somit der gesamte Ausdruck als

$$LQ = \frac{1}{2ac + 2bc + c^2}$$

Bei einer angenommenen Allelfrequenz von 0,1 für a, b, c ergibt sich:

$$LQ = \frac{1}{0,02 + 0,02 + 0,01} = \frac{1}{0,05} = 20$$

Das Ergebnis dieser Betrachtung kann durch die folgende Aussage zusammengefasst werden: Das DNA-Profil der Spur lässt sich 20-mal besser dadurch erklären, dass es von O und B stammt, als dass es von O und einer unbekanntem (und mit B nicht-verwandten^d) Person stammt.

B.2 Komplexes Szenario

Betrachten wir einen Fall mit einer Sekret-Mischspur M mit vier Allelen a, b, c, d von der Kleidung des Opfers. Die Allele des Opfers O sind e, f und somit nicht in der Spur vertreten. Es gibt einen Beschuldigten B1 mit dem Genotyp AB, allerdings keine 2. Person, denen die Allele c, d zugeordnet werden könnten. Die Hypothesen sind daher wie folgt zu formulieren:

Hypothese H_A: Die Spur M stammt vom Beschuldigten B1 und einer unbekanntem Person.

Hypothese H_V: Die Spur M stammt von zwei unbekanntem Personen.

Aus Sicht der Anklage lässt sich die Spur aus dem Genotyp von B1 und einer unbekanntem Person erklären, die den Genotyp CD besitzt:

^d Die Annahme einer Verwandtschaft des unbekanntem Spurenlegers mit B lässt sich ebenfalls berechnen. Dabei muss jedoch der Grad der Verwandtschaft berücksichtigt werden.

$$L(M | H_A) = (M | G_{b1}) = 2cd$$

Aus Sicht der Verteidigung gibt es keinen bekannten Genotyp, vielmehr muss die Summe aller möglichen heterozygoten 2-Personen Genotyp-Kombinationen aus a, b, c, d zu Grunde gelegt werden:

Person 1	Person 2	Komb. Frequenz
ab	cd	$2ab \times 2cd$ $= 4abcd$
ac	bd	$4abcd$
ad	bc	$4abcd$
bc	ad	$4abcd$
bd	ac	$4abcd$
cd	ab	$4abcd$
$L(M H_V) =$		$24abcd$

und nach Kürzen somit der gesamte Ausdruck als

$$LQ = \frac{2cd}{24abcd} = \frac{1}{12ab}$$

Bei einer angenommenen Allelfrequenz von 0,1 für a, b, c, d ergibt sich:

$$LQ = \frac{1}{0,12} = 8,3$$

Damit lässt sich das DNA-Profil der Spur 8-mal besser dadurch erklären, dass es von B1 und einer unbekanntem Person stammt, als dass es von zwei unbekanntem Personen stammt.

Wenn das gleiche Szenario mit zwei Beschuldigten B1 und B2 mit den Genotypen AB und CD betrachtet wird, ändert sich der LQ dadurch, dass es jetzt keine unbekanntem Personen mehr im Szenario H_A gibt.

Hypothese H_A : Die Spur M stammt von den Beschuldigten B1 und B2.

Hypothese H_V : Die Spur M stammt von zwei unbekanntem Personen.

Damit nimmt der LQ im Zähler den Wert 1 an. Der Quotient kann dann nicht mehr gekürzt werden, so dass der LQ sich wie folgt ergibt:

$$\frac{1}{1}$$

$$LQ = \frac{\text{—————}}{24abcd} = \frac{\text{—————}}{0,0024} = 416,7$$

Damit lässt sich das DNA-Profil der Spur 416-mal besser dadurch erklären, dass es von B1 und B2 stammt, als dass es von zwei unbekannt Personen stammt.

Hinweis: Für dieses Beispiel sind noch weitere Szenarien zu betrachten, die hier nicht dargestellt sind, aber im Einzelfall von erheblicher Bedeutung sein können, wie z.B. a) H_A : Spur stammt von B1 und B2; H_V : Spur stammt von B1 und Unbekannt, bzw. b) H_A : Spur stammt von B1 und B2; H_V : Spur stammt von B2 und Unbekannt. Je nach Häufigkeit der jeweiligen Genotypen von B1 und B2 können hieraus sehr unterschiedliche LQ's resultieren.

Danksagung

Für die konstruktive Mitarbeit an den hier vorgestellten Empfehlungen zur Bewertung von DNA-Mischspuren sei K. Anslinger (München), P. Berschick (Düsseldorf), M. Eckert (Wiesbaden), C. Hohoff (Münster), S. Jung (Würzburg) und J. Schnee-Griese (Stuttgart) herzlich gedankt.

Literatur

- [1] Wiegand P, Rolf B (2003) Analyse biologischer Spuren, Teil 1, Rechtsmedizin 13: 103-113
- [2] Hohoff C, Brinkmann B (2003) Trends in der forensischen Molekulargenetik. Rechtsmedizin 13: 183 – 189
- [3] Pflug W, Nguyen TMH, Merkel J (1997) Zuordnung von Schußwaffen mittels DNA-Analyse, Kriminalistik 12: 799-802
- [4] Schöneberg A, Gerl L, Oesterreich W, Bastisch I, Gerhard M, Kärigel HJ, Fesefeldt A, Pflug W (2003) DNA-Analyse von Hautabriebspuren, Kriminalistik 8-9: 497-499
- [5] National Research Council (1996) The evaluation of forensic DNA evidence. National Academy Press, Washington DC
- [6] Evett IW, Weir BS (1998) Interpreting DNA evidence: Statistical genetics for forensic science. Sinauer, Sunderland, MA
- [7] Buckleton J, Triggs CM, Walsh SJ (2005) Forensic DNA Evidence Interpretation, CRC Press, London
- [8] Gill P, Brenner CH, Buckleton JS, Carracedo A, Krawczak M, Mayr WR, Morling N, Prinz M, Schneider PM, Weir BS (2006) DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): recommendations on the interpretation of mixtures, Forensic Sci Int (doi:10.1016/j.forsciint.2006.04.009)