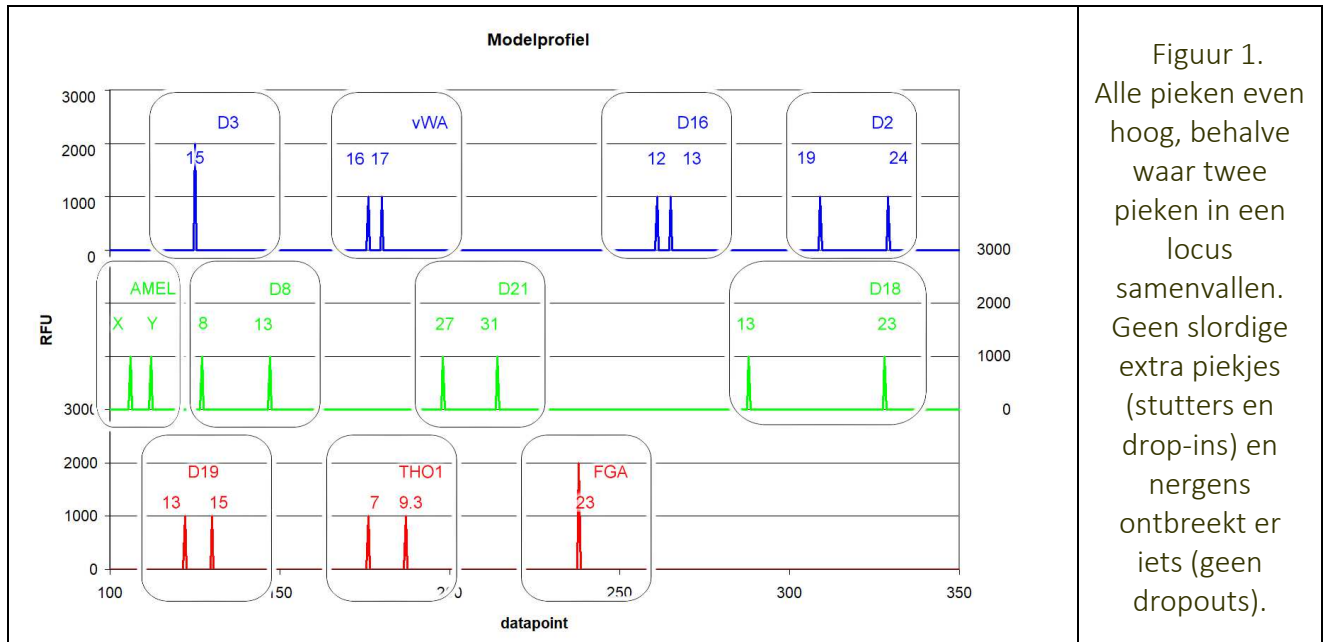


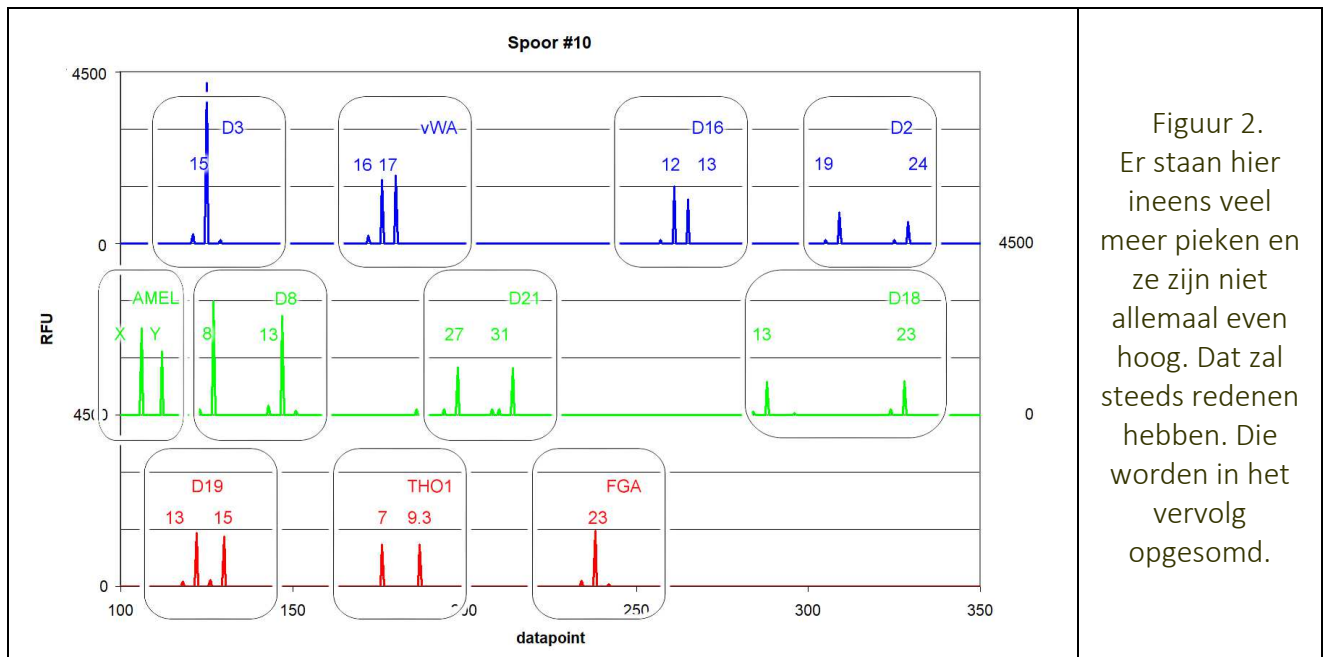
deemzetnl

Inleiding

Stel er ligt een profiel voor, waarop niets valt aan te merken, een enkelvoudig profiel. Hoe ziet dat er dan uit? Welnu bij voorbeeld zo:

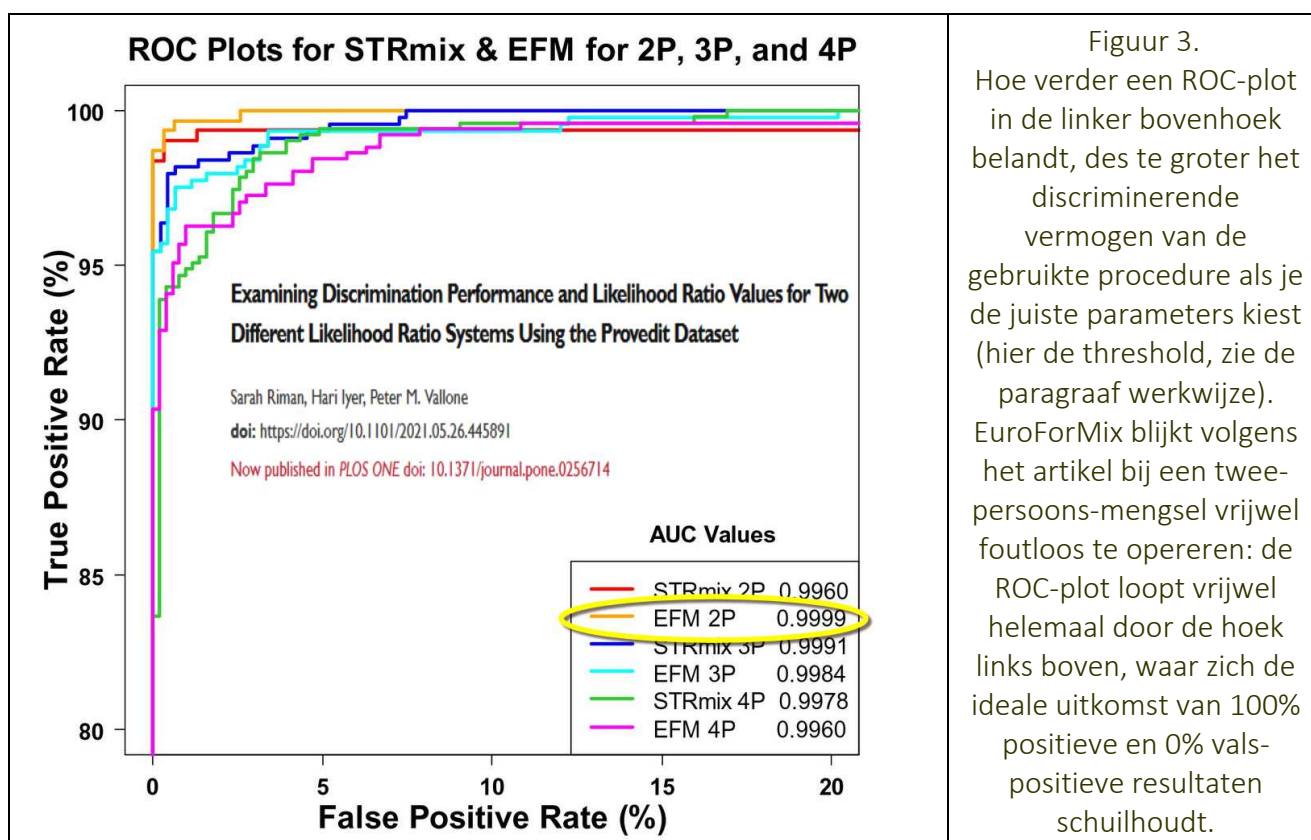


De werkelijkheid is altijd chaotischer. Is dit profiel gelijkwaardig aan het volgende? Volgens het NFI wel:



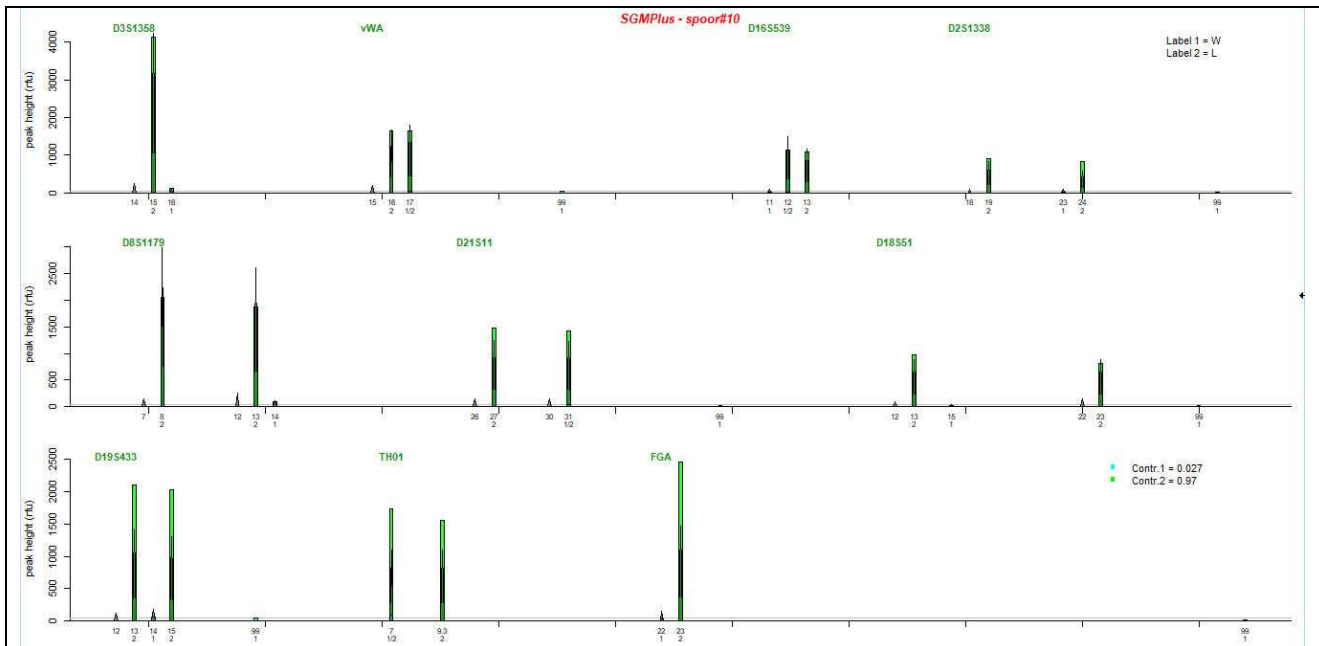
EuroForMix en DNASTatistX zijn softwarepakketten die de waarschijnlijkheid, berekenen dat uit het ideale profiel - met behulp van een aantal veronderstellingen - een profiel ontstaat dat precies lijkt op het profiel dat in het onderzoek is opgedoken. Beide tools gebruiken hetzelfde algoritme van

EuroForMix. EuroForMix bevindt zich in het publieke domein, DNASTatistX kan worden opgevraagd bij het NFI: <https://www.forensicinstitute.nl/research-and-innovation/international-projects/dnaxs>. In deze berekening moet dat profiel niet alleen kloppen met de STR-lengtes (weergegeven als datapoint) maar ook met de hoogtes van de corresponderende pieken (RFU's). Dat is het resultaat van een omslag in denken in de laatste decennia: van binaire analyse naar de continue analyse. Het nieuwe totaalbeeld ontstaat door toevoeging aan het modelprofiel van allerlei toevalligheden, die weer bepaalde (on-)waarschijnlijkheden vertegenwoordigen. Deze (on-)waarschijnlijkheden stapelen zich op waardoor de waarschijnlijkheid dat dit nieuwe gereconstrueerde profiel er nu juist precies zo uit ziet als het waargenomen profiel uiteraard zeer klein is. De verschillende software-pakketten zijn diverse malen vergeleken en getest op hun discriminerend vermogen. Hieronder een sterk staaltje betreffende EuroForMix. Voor DNA-mengsels met bijdragen van twee individuen volgt de ROC-plot een bijna haaks patroon.



Figuur 3.
Hoe verder een ROC-plot in de linker bovenhoek belandt, des te groter het discriminerende vermogen van de gebruikte procedure als je de juiste parameters kiest (hier de threshold, zie de paragraaf werkwijze). EuroForMix blijkt volgens het artikel bij een tweepersoons-mengsel vrijwel foutloos te opereren: de ROC-plot loopt vrijwel helemaal door de hoek links boven, waar zich de ideale uitkomst van 100% positieve en 0% vals-positieve resultaten schuilhoudt.

De berekening vindt op verzoek van de gebruiker van de software op twee manieren plaats. Eenmaal volgens de hypothese van de aanklager, de zogenaamde Hp, waarbij p voor *prosecution* staat. Hieronder is gekozen voor de stelling van het NFI (rapport 19 januari 2004), dat spoor #10 een enkelvoudig DNA-profiel van Louwes (L) voorstelt. En eenmaal volgens de hypothese van de verdediging, de zogenaamde Hd, met d voor *defence*. In dat kader is hier de hypothese gebruikt, dat spoor #10 bestaat uit DNA van Louwes en DNA van Wittenberg (W), een stelling die impliciet is ingenomen door Knoops in de vorige herzieningsaanvraag (herzieningsverzoek 26 juli 2006). In beide gevallen ontstaat een waarde voor de mate van waarschijnlijkheid waarmee het gemeten profiel kan worden nagebootst. Zo'n waarde heet een likelihood. De bedoeling is, dat we de twee likelihoods vervolgens met elkaar vergelijken: de likelihood ratio (LR).



Figuur 4. Voorbeeld van een match, zoals berekend door EuroForMix. In kleurcodes kunnen de bijdragen van de betrokken POI's (persons of interest) worden afgelezen. Hier is een uitkomst voor Hd weergegeven. Alle bijdragen van L zijn aanwezig. Van W zijn 12 matches aangegeven en 6 ontbrekende matches (gecodeerd als 99-1). De verhouding in de totale bijdrage van W en L is als 2.7 : 97.

Complicaties

Er zijn nogal wat omstandigheden die kunnen worden aangeroepen om het gevonden profiel met variabele piekhoogtes te kunnen verklaren, de volgende opsomming is wellicht nog steeds niet uitputtend:

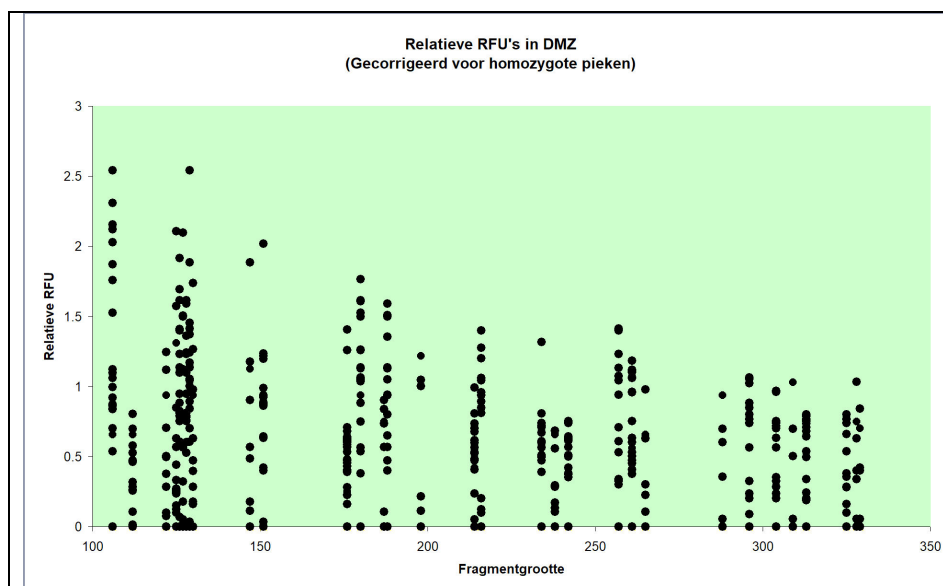
- 1) Het DNA moet eerst worden losgemaakt uit het monster, liefst met zo min mogelijk verontreinigingen.
 - a) Tijdens de extractie van het DNA gaat DNA verloren, omdat niet alle chromosomen die onderzocht worden gelijk zijn; sommige zijn groter dan andere en wellicht zijn ze dan gemakkelijker of juist moeilijker los te weken uit het monster. Zo is het erkend moeilijk DNA-sporen los te weken van katoen (wattenstaafjes). Dat lijkt geen groot probleem, want dit geldt voor beide hypothesen.
 - b) Er bestaan meerdere zuiveringsmethodes. Van de twee in de Deventer Moordzaak gebruikte methodes is er één gericht op het verwijderen van de verontreinigingen uit het verkregen extract (het gezuiverde DNA blijft dan over) en de andere werkt juist andersom en vist het DNA tussen de rest uit. De eerste levert meer DNA, de tweede levert minder DNA, maar wel in hogere concentratie en zuiverheid. In deze bijdrage wordt maar één spoor geanalyseerd; deze is geëxtraheerd met de eerste methode, waarvan bekend is dat deze slecht scoort bij bloedsporen. Omdat van spoor #10 het NFI heeft aangenomen, dat het alleen maar bestaat uit bloed, dus een ongelukkige keuze.¹
- 2) Vervolgens wordt het STR-DNA via PCR uit het oorspronkelijke DNA geïsoleerd en vermenigvuldigd.

¹ Hier is iets vreemds aan de hand: de eerste negen sporen werden volgens de eerstgenoemde extractiemethode gezuiverd. In een tweede reeks metingen werd daarvan het eerste spoor (dus spoor #10) ook met deze methode gezuiverd, maar alle andere 10 sporen daaropvolgend met de tweede (meer geavanceerde) methode. De ratio daarvan ontgaat de auteur. Was er sprake van, dat spoor #10 in de verkeerde rapportage is terechtgekomen, dus in eerste instantie werd achtergehouden? Is spoor #10 meerdere malen geanalyseerd en zijn niet alle resultaten beschikbaar gesteld voor de bewijsvoering? Waarom werd spoor #10 met andere parameters onderzocht dan de overige sporen? Het NFI heeft hier iets uit te leggen.

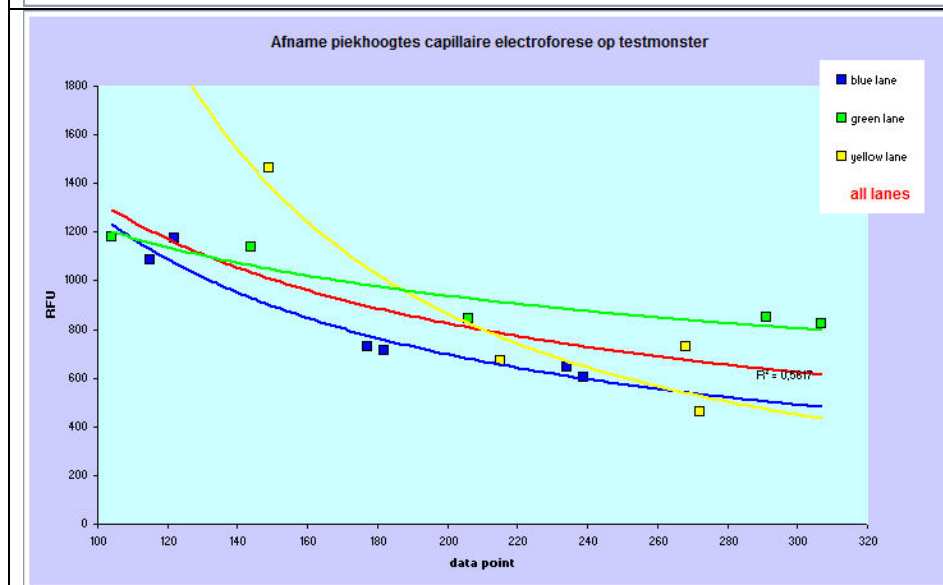
- a) Tijdens dit proces treden allerlei toevalligheden op, die niet helemaal waarde vrij zijn. Bij kleine hoeveelheden van een bepaalde DNA-bijdrage (in een mengsel) is de kans bovenmatig groot dat een bepaald spoor niet goed genoeg wordt geïsoleerd en daarmee vrijwel verdwijnt uit de latere waarnemingen (drop-out).
 - b) Ook treden er afwijkingen op wat betreft de lengtes van het geïsoleerde STR-DNA, zowel naar onder (veel vaker) als naar boven. Hierdoor verschijnt een deel van de meetresultaten op de verkeerde plaats (datapoint) in het uiteindelijke profiel. Men spreekt in dit verband van stutters. Van de mate van deze afwijkingen bestaat overigens wel een beeld en dat kan in de berekeningen worden geïntegreerd zo men wenst. In EuroForMix is gebruikgemaakt van een globale benadering. Elders heeft de auteur dezes een meer specifieke benadering gekozen, waardoor de keuze voor een gemengd profiel nog dwingender wordt (<https://deemzet.nl/6/2/5/links.htm>).
 - c) Verontreinigingen die meeliften vanaf de extractie (vooral in de als eerste beschreven methode) kunnen de processen, die in de PCR benut worden, hinderen. Zo is bekend dat resten van bloed de PCR negatief katalyseren (inhibitie). Sporen met verschillende herkomst kunnen zo niet goed worden vergeleken.
 - d) Wordt er teveel DNA toegelaten tot het PCR-proces, dan ontstaat er uitputting van de toegevoegde componenten (enzymen en DNA-monomeren). Het vervaardigen van kopieën van kleinere fragmenten zal daar minder onder leiden dan het kopiëren van de grotere. Er ontstaat dan een massaal effect van drop-outs in het rechter gedeelte van het gevormde elektroferogram. In de collectie sporen in de Deventer Moordzaak zijn de sporen #7 en #12 hiervan duidelijke voorbeelden. Het blijft een raadsel, waarom deze sporen niet alsnog opnieuw zijn geanalyseerd (te beginnen met het PCR-proces) om de gebrekkige uitkomst te corrigeren.
 - e) Tijdens de PCR worden 28 golfbewegingen in de temperatuur gecreëerd; tijdens de periodes met lage temperatuur vinden de kopieerslagen plaats. Als dat kopiëren in zo'n periode bij een bepaald fragment (te) laat een aanvang neemt (alweer gestuurd door toevalligheden) zal de kans op voltooiing van dit proces gaan afhangen van de lengte van het te kopiëren fragment. Wordt het kopieerproces niet voltooid, dan ontstaan er restproducten met een willekeurige omvang, waarbij tijdens de eigenlijke meting (3) achtergrondruis ontstaat; vooral rechts in de elektroferogrammen levert dat een gebrek aan resolutie op.
- 3) Tijdens de meting zelf van de samenstelling van het STR-DNA (capillaire elektroforese), dus bij het bepalen van het profiel, gaat ook van alles mis.
- a) Eerst moet het DNA-mengsel in de gel worden geloofd, om ervoor te zorgen dat er een scheiding ontstaat op basis van de beweeglijkheid van de verschillende onderdelen van het DNA-mengsel. Dat proces heet elektrokinetische injectie en maakt zelf ook gebruik van de beweeglijkheid van de DNA-fragmenten o.i.v. een elektrisch veld dat nota bene even sterk is als het veld, dat de eigenlijke meting verricht. De deeltjes met een hogere beweeglijkheid zijn dus bevoordeeld en dat zie je goed terug in ieder elektroferogram. De pieken erin lopen altijd af in de richting van kleine naar grote DNA-fragmenten (dus af naar rechts; de zogenaamde ski-slope).
 - b) Tijdens de meting zelf spoeden de deeltjes zich van de ingang naar de uitgang van een capillair gevuld met gel, waar de detector huist. Hoe langer dat duurt (grotere fragmenten), des te langer de deeltjes onderworpen zijn aan de warmtebeweging, die de groep van gelijke deeltjes als het ware uit elkaar speelt. Het apparaat, waarin dit alles gebeurt is vrij warm (rond de 50 °C). Hierdoor verschijnt een dergelijke groep meer gespreid aan de uitgang en wordt deze moeilijker te onderscheiden van de altijd aanwezige achtergrond aan deeltjes die onbedoeld zijn ontstaan, bijvoorbeeld, doordat de PCR stekken laat vallen (zie 2e).

- c) De lagere doorstromsnelheid betekent automatisch ook, dat er zich minder deeltjes tegelijkertijd door de detectiezone bewegen, zodat de detectie-eenheden (opgewekte fotonen) zich minder goed onderscheiden van het achtergrondsignaal. Daardoor verliest een piek zowel hoogte als breedte.
- 4) Ook de kwaliteit van het aangeboden DNA-spoor speelt hier een rol. Indien DNA-sporen langere tijd aan destructieve omstandigheden zijn blootgesteld, zal een deel ervan worden aangetast. Zolang dat niet binnen het gedeelte gebeurt dat voor de forensische bepalingen wordt gebruikt is dat geen probleem. Maar de kans dat de destructieve werking wel binnen de grenzen optreedt is afhankelijk van de grootte van het DNA-gebied, dat tijdens het PCR proces wordt geïsoleerd. Dus weer treedt een negatief effect op bij grotere DNA-fragmenten.

Het is mogelijk de effecten onder 2 en 3 en 4 met elkaar te vergelijken. Gebruikt men fris laboratorium materiaal (zoals referentiesporen uit wangslim) dan blijkt het verloop van de piekhoogten al aanzienlijk. Bij het analyseren van verouderd DNA wordt het effect gewoon verdubbeld. Het effect van het afnemen van de piekhoogtes is ondergebracht in een tweetal benamingen: de ski-slope en de degradation-slope. Om voor de hand liggende redenen wordt hier de voorkeur gegeven aan de eerste term.



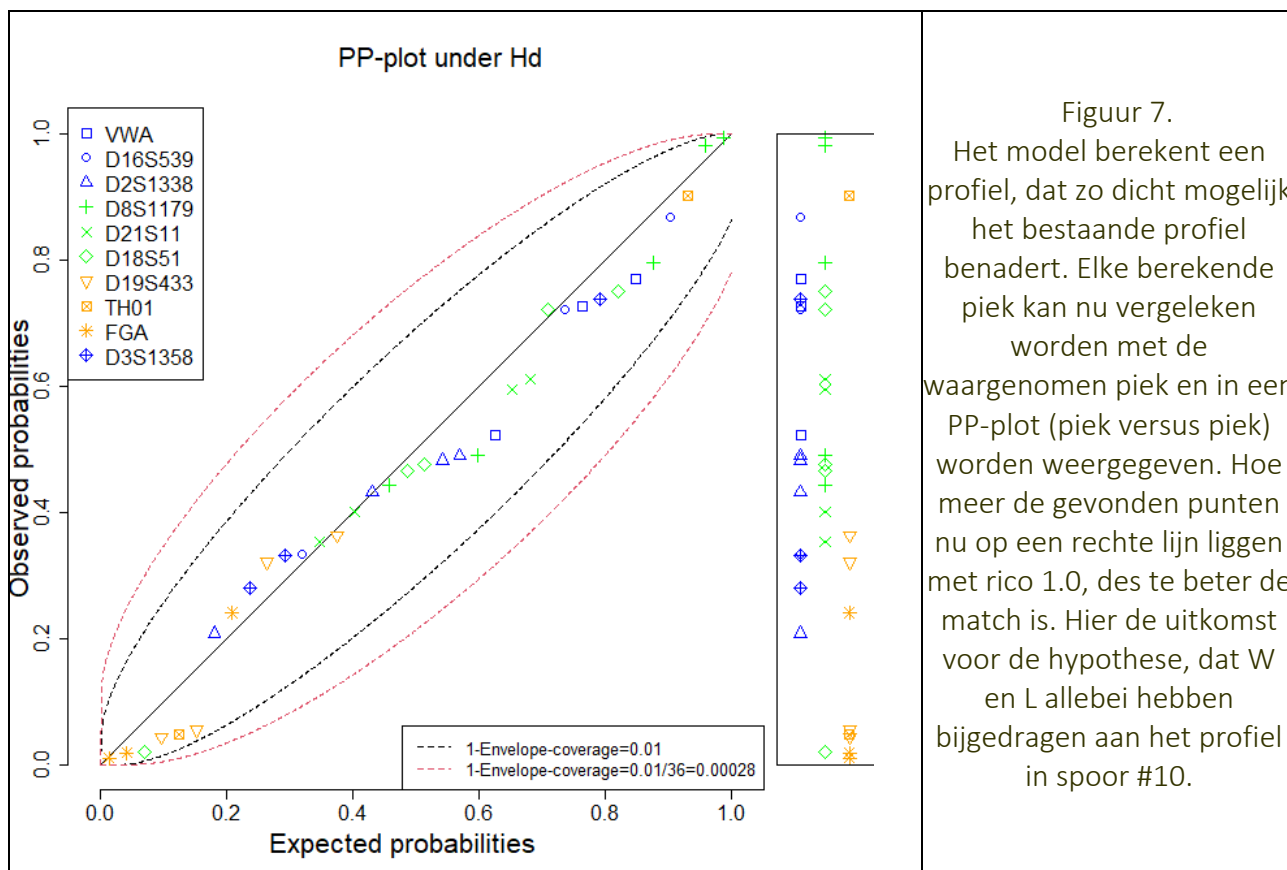
Figuur 5.
Zet men alle gevonden piekhoogtes in de profielen van de Deventer Moordzaak in een diagram (genormaliseerd naar de hoogste piek en gecorrigeerd voor 'dubbele' pieken) in afhankelijkheid van de fragmentgrootte, dan ontstaat automatisch een goed beeld van de ski-slope.



Figuur 6.
Het verloop van de piekhoogtes in een fris laboratoriummonster, dat nog niet aan degradatie kan zijn blootgesteld.

Werkwijze

De waarschijnlijkheid van een correcte uitkomst in het hier onderzochte profiel is daadwerkelijk steeds zeer klein, zo in de orde van grootte van 10^{-104} voor de Hd tot 10^{-106} voor de Hp, zie de tabel verderop voor de actuele cijfers. Waar het bij deze kleine waarden echter steeds om gaat is de onderlinge vergelijking. Voor de Deventer Moordzaak geldt ten aanzien van spoor #10 dat de Hd steeds duidelijk hoger is dan de Hp, overigens in afhankelijkheid van de gekozen parameters. En daar gaat het uiteindelijk om: wat is de betekenis van het bewijsstuk in het licht van de vraag naar schuldig of onschuldig.

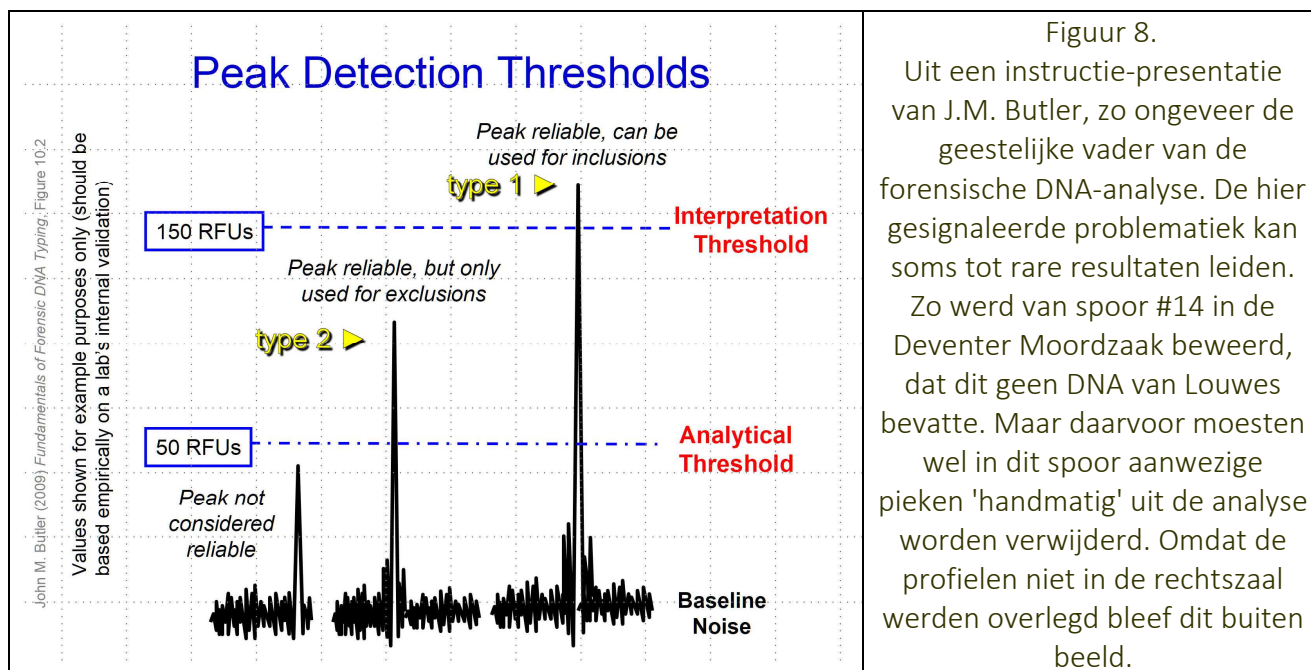


Het model laat enige variatie aan input toe. Bij het vergelijken van de uitkomsten, die steeds een duidelijke voorkeur voor de Hd laten zien, is het van wezenlijk belang, welke minimale piekhoogten als significant worden gezien. In de zogenaamde binaire benadering werd een piek dan weer wel en dan weer niet meegeteld op basis van overwegingen die niet per se rationeel behoeften te zijn. In de zogenaamde continue benadering wordt bij voorkeur geen keuze vooraf gemaakt. De software rules. Indien men de meetwaarden handmatig moet invoeren - zoals in de onderhavige studie - wordt dat weer lastig. Daarbij spelen de volgende afwegingen een rol:

1. Is een piek stevig genoeg als bewijsmateriaal tegen de verdachte?
2. Kun je een kleine piek weglaten, vooral als deze ontlastend is voor de verdachte?

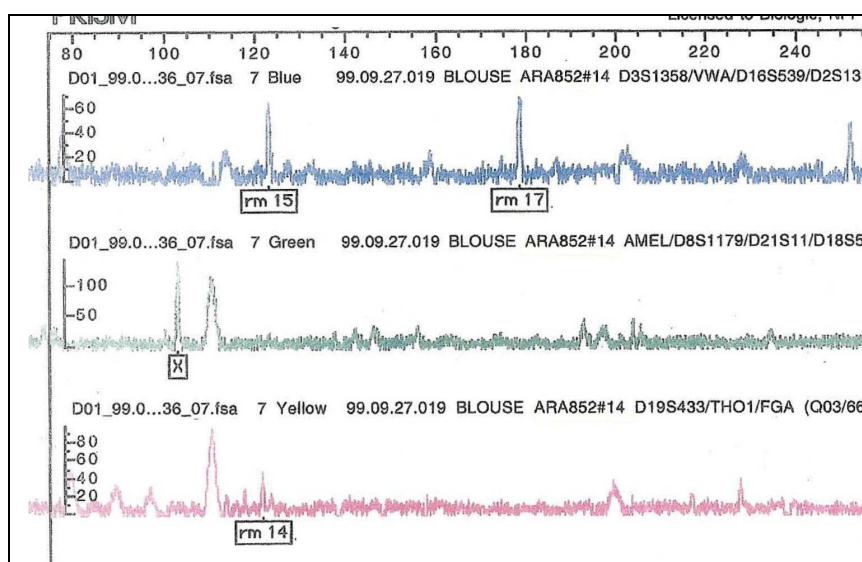
De laatste overweging is niet zo gebruikelijk, reden wellicht waarom dit aspect nergens in de procesvoering van de Deventer Moordzaak werd belicht. De track-record van het NFI op dit punt is beroerd, men leze het rapport Posthumus over de Schiedammer Parkmoord er maar eens op na (met name eind pagina 43 waar "geen profiel" als uitkomst wordt gegeven tegen beter weten in en ten nadele van de toenmalige, inmiddels vrijgesproken verdachte).

De volgende illustraties verduidelijken dit dilemma:



Figuur 8.

Uit een instructie-presentatie van J.M. Butler, zo ongeveer de geestelijke vader van de forensische DNA-analyse. De hier gesignaleerde problematiek kan soms tot rare resultaten leiden. Zo werd van spoor #14 in de Deventer Moordzaak beweerd, dat dit geen DNA van Louwes bevatte. Maar daarvoor moesten wel in dit spoor aanwezige pieken 'handmatig' uit de analyse worden verwijderd. Omdat de profielen niet in de rechtszaal werden overlegd bleef dit buiten beeld.

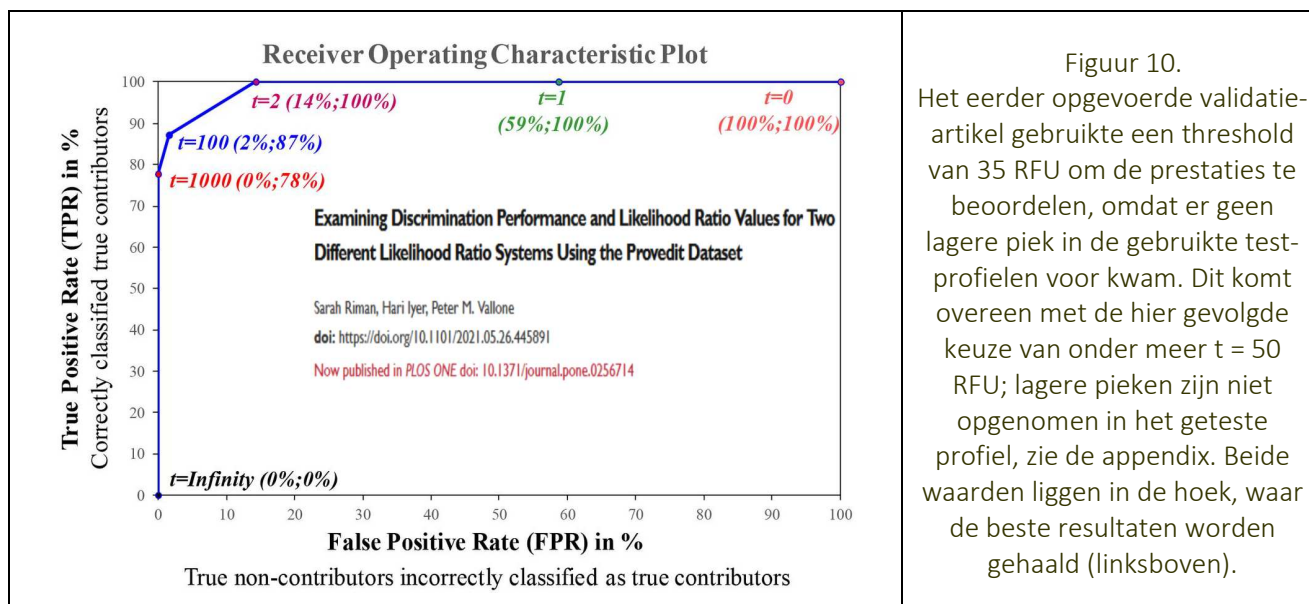


Figuur 9.

Het linker gedeelte van het profiel van spoor #14, dat geen enkel DNA-spoor bevatte volgens de rapportage van het NFI. Met deze vaststelling werd de gewelddadige overdracht van andere DNA-sporen verdedigd. Niet vermeld werd, dat daarvoor het door software getekende profiel eerst handmatig was ontdaan (rm = removed manually) van alle aanwijzingen van het tegendeel.

De analyse in EuroForMix en DNASTatistX vraagt dus om beslissingen vooraf. Je kunt met name instellen, welke pieken nog 'meetellen' door het instellen van een threshold. Een van de aanbevelingen is, om hier terughoudend in te zijn, immers moet de software het origineel zo nauwkeurig mogelijk kunnen nabootsen. De input is opgenomen in de appendix. Ook een ander principieel punt dringt zich hier op: DNA-sporen worden vrijwel steeds 'handmatig' verzameld (hier: uit de blouse geknipt). De grondigheid van dit handwerk beïnvloedt de uiteindelijke verhouding tussen piekgrootte en threshold. Zo werden uit de blouse dan weer grote stukken katoen geknipt en elders weer kleine, uiteindelijk lagen de extreme waarden uiteen in de verhouding 1 : 10. Dus zouden de thresholds dat ook moeten doen.

Voor dit onderzoek zijn drie waarden gekozen, 10, resp. 50 en 100 rfu. De eerste met het oog op het principe van de continuous analysis, waarbij de software het maar moet uitzoeken (0 geeft hier een foutmelding - dat lijkt logisch). De waarde van 50 is in overeenstemming met het principe, gedemonstreerd door Butler, overeenkomstig het beginsel van de onschuldpresumptie. En de waarde 100 omdat die vaak voor 'inclusie' wordt, of beter werd gebruikt in de praktijk van de handmatige binaire analyse.



Figuur 10.
Het eerder opgevoerde validatie-artikel gebruikte een threshold van 35 RFU om de prestaties te beoordelen, omdat er geen lagere piek in de gebruikte test-profielen voor kwam. Dit komt overeen met de hier gevolgde keuze van onder meer $t = 50$ RFU; lagere pieken zijn niet opgenomen in het geteste profiel, zie de appendix. Beide waarden liggen in de hoek, waar de beste resultaten worden gehaald (linksboven).

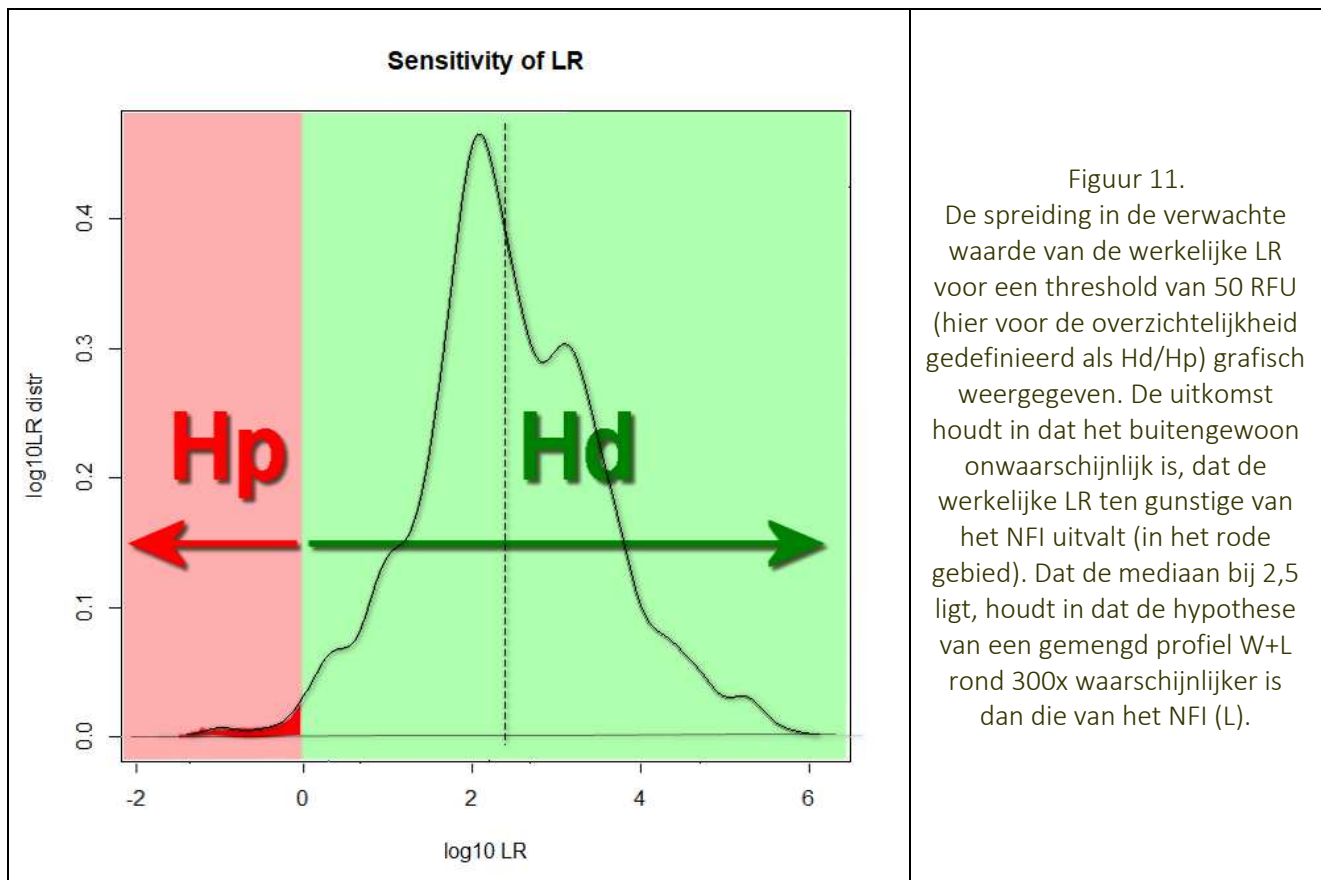
Resultaten

Zoals gezegd werden twee hypothesen vergeleken, de Hp voor een ongemengd profiel met alleen DNA van L en de Hd voor een profiel van L en W. Ook is de mogelijkheid meegenomen, dat het spoor gecontamineerd is met DNA van een tweede resp. derde, ook al is deze mogelijkheid later door het NFI bestreden.

Tabel 1. Resultaten.							
detection threshold	Hp	Hd	lik Hd	lik Hp	LR Hp/Hd	LR Hd/Hp	W : L
EuroForMix							
10	L	L + W	6.63 E -107	1.56E -109	0.002355	400 : 1	1.8%
10	L + X	L + W + X	6.63 E -107	7.12 E -109	0.01073	90 : 1	1.8%
50	L	L + W	6.71 E -104	2.18 E -106	0.003257	300 : 1	2.7%
50	L + X	L + W + X	6.71 E -104	1.23 E -105	0.01835	55 : 1	2.7%
100	L	L + W	5.19 E -98	1.77 E -98	0.3485	3 : 1	1.8%
100	L + X	L + W + X	5.19 E -98	1.89 E -98	0.3635	3 : 1	1.9%
DNASStatistX 1.3.5							
10	L	L + W	6.63 E -107	1.56E -109	0.002355	400 : 1	1.8%
10	L + X	L + W + X	6.63 E -107	8.75 E -109	0.01320	75 : 1	1.8%
50	L	L + W	6.71 E -104	2.18 E -106	0.003257	300 : 1	2.7%
50	L + X	L + W + X	6.71 E -104	1.35 E -105	0.02019	50 : 1	2.7%
100	L	L + W	5.34 E -98	1.77 E -98	0.3309	3 : 1	1.9%
100	L + X	L + W + X	5.34 E -98	1.87 E -98	0.3504	3 : 1	1.9%

Discussie

Hoe zeker is het dat de berekende LR ook de werkelijke LR is? We bekijken nader de hierboven gevonden uitkomst in EuroForMix voor de LR bij een threshold van 50 RFU. Groen betekent meer zekerheid dat de echte LR ten gunste van de verdediging uitvalt en in het rood zou het NFI gelijk krijgen.



Bij het beoordelen van een dergelijk resultaat moet men nog eens bedenken, dat de nulhypothese dient te zijn, dat de verdachte onschuldig is en er sterke aanwijzingen nodig zijn om het tegendeel te veronderstellen. Die zijn er niet, in tegendeel, de hypothese van het NFI is steeds de minst waarschijnlijke.

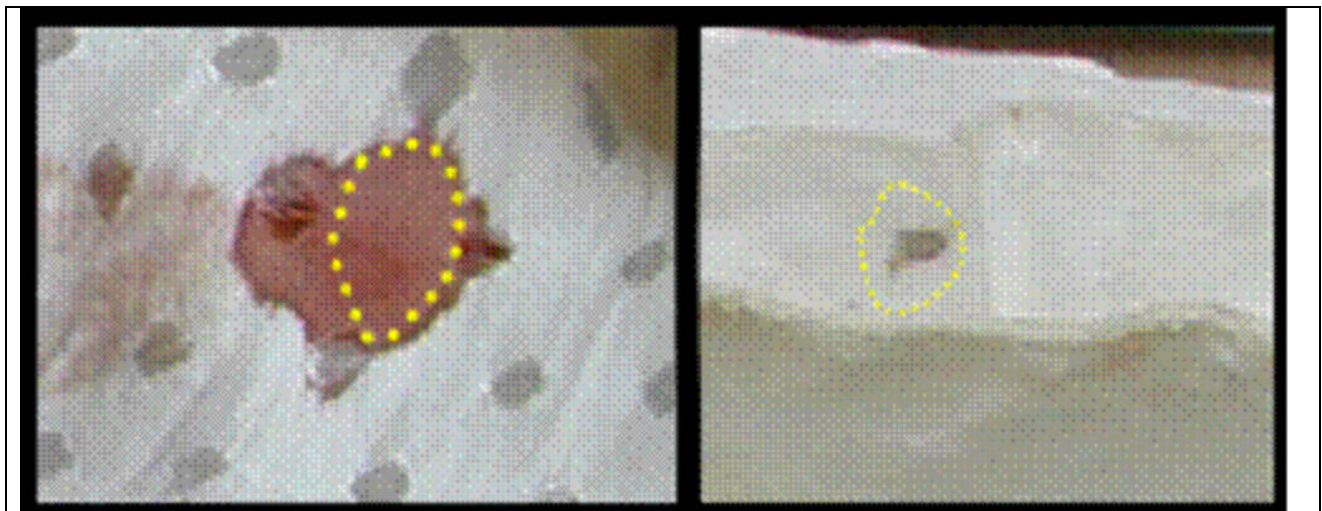
Zoals eerder besproken levert het model onder Hd ook de verhouding op tussen de hoeveelheden DNA van W en L, zie de laatste kolom.

De hoeveelheid van W is steeds uitermate gering, matcht dat met het waarneembare bloedvlekje?

Om dit bevestigend te kunnen beantwoorden beschouwen we vier omstandigheden. Dit zijn ze:

- 1) Het spoor toont een zeer sterke aanwezigheid van L (figuren 2 & 18), terwijl het uitgeknipte monster juist kleiner is dan vergelijkbare monsters van W met een dergelijke hoog DNA-gehalte. Dit geldt met name voor de sporen #3, #4 en #5, die vrijwel geheel gevuld zijn met bloed van W. Het zichtbare bloedspoor in spoor #10 is in vergelijking daarmee gewoon te klein voor een dergelijk sterk signaal. Het moet uit een andere bron stammen, een met het blote oog onzichtbare bron, zoals speeksel van L. De afmeting van het zichtbare bloedvlekje ligt in de orde van grootte van slechts 10% van het gehele spoor.

Zie ook: <https://deemzet.nl/documenten/pdf/DNAkwantificeringDMZ.pdf>



Figuur 12. De sporen #4 (W) en #10 (toegeschreven aan L) op dezelfde schaal. Spoor #10 met een kleinere uitsnijding en een nog veel kleinere bloedvlek daarin vertoont vrijwel even hoge pieken als spoor #4

- 2) Het bloedspoor in #10 is duidelijk lichter van kleur dan de hierboven bedoelde bloedsporen, zodat dat een reden te meer is te veronderstellen, dat het aandeel 'bloed' in spoor #10 nog geringer is dan die 10%.
- 3) De aanwezigheid van vele nieuwe bloedsporen op de blouse op 26 september 1999, nadat ze op 25 september 1999 op de plaats delict niet aanwijsbaar waren, doet veronderstellen dat spoor #10 op soortgelijke wijze is ontstaan als overdruk vanuit eerder tijdens het delict op de blouse achtergelaten bloedsporen, zie ook '[stippen tellen](#)'. Bij het overdrukken van bloedsporen van katoen op katoen zal er onevenredig veel DNA achterblijven in de oorspronkelijke vlekken aangezien leukocyten - de dragers van het DNA in het bloed - zeer selectief door cellulose en cellulose-derivaten worden gebonden. Dit blijkt onder meer uit de gerichte toepassing van dit soort producten om bloed van leukocyten te zuiveren voor medische toepassingen.
- 4) Hiermee overlappend: bij extractie met Chelex (waarmee spoor #10 werd geëxtraheerd) van bloedsporen vanaf cellulose blijft ongeveer de helft van het DNA achter in het monster. Andere extractiemethoden werken in deze situatie beter.

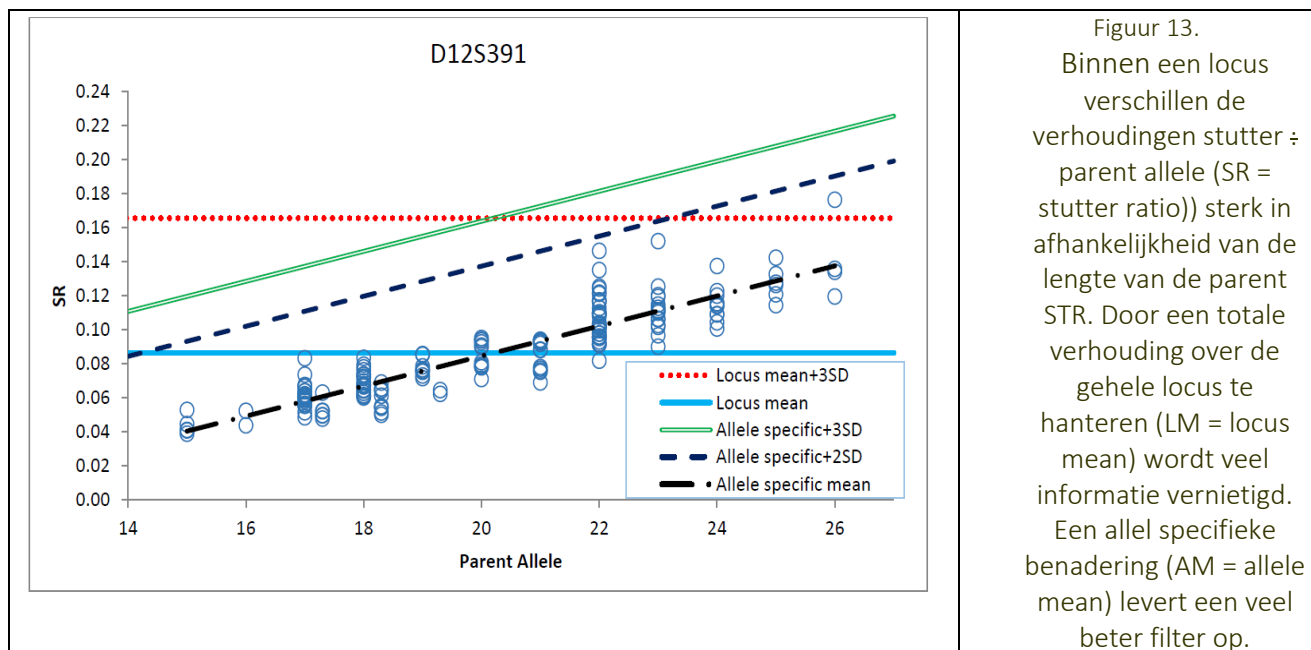
Gezien de geringe afmeting, de fletse kleur en het adsorptiegedrag van cellulose op leukocyten is het niet meer dan logisch te verwachten, dat het DNA-gehalte van monster #10 wat betreft het DNA van W in de orde van grootte van maar enkele procenten zal bedragen. Nogmaals moet worden benadrukt dat spoor #10 niet werd onderzocht op speeksel omdat in dat geval het materiaal verloren zou gaan'. Kennelijk had niemand bij het NFI in 2003 de helderheid van geest om vlak naast spoor #10 een monster te onderzoeken op speeksel en in het logische vervolg daarop op DNA.

De resultaten zijn intussen wel duidelijk. Het had nog duidelijker kunnen zijn, want de software houdt er geen rekening mee, dat het stuttergedrag als gevolg van de PCR niet bij elke piek in een profiel hetzelfde is. De manual van SGMPlus laat duidelijk zien dat het stuttergedrag per locus en binnen een locus per allel behoorlijk verschillend is (figuur 16). Korte allelen veroorzaken verhoudingsgewijs minder stutters, een situatie die zich in het profiel van spoor #10 herhaaldelijk voor doet, zie ook <https://deemzet.nl/6/2/5/links.htm>. Was dit gedrag in EuroForMix nader geïncorporeerd, dan waren de verschillen tussen de hypothesen wellicht nog groter geweest. Tevens missen we in het model hoe de wijze waarop de X en Y-amels aanwezig zijn wordt verdisconteerd. In spoor #10 is het X-amel behoorlijk dominant (136 %), terwijl het in het

referentieprofiel van L juist enigszins recessief is (92%), weer een aanwijzing voor de aanwezigheid van extra W in spoor #10. Ook dit is weer afgebeeld in de genoemde link.

Stutterfilters

Beide tools weten raad met stutters, die automatisch worden weggefilterd, zodat eventueel aanwezige andere DNA-sporen kunnen worden geëvalueerd. Ook is het mogelijk de stutters vooraf te filteren en dat kan voordelen bieden.



Er bestaan twee soorten correcties voor het optreden van stutters, ze worden op LM (locus mean) en AM (allel mean) gebaseerd. Figuur 13 maakt duidelijk, wat voor een verschil dat maakt. Bij het locus mean filter - de rode stippellijn - worden binnen een locus alle stutterverhoudingen over één kam geschoren. Dat kan beter, indien men uitgaat van de regressielijn, de brede zwarte stippellijn. Zoals duidelijk is in de figuren 13 & 16 nemen de stutterverhoudingen toe binnen een locus van links naar rechts.

In Kalafut et al (2018)² worden de data gegeven, die het mogelijk maken de stutters zo zuiver en compleet mogelijk weg te filteren. Daarbij doet zich de moeilijkheid voor, dat ook hier geen eenduidige oplossing beschreven staat voor het stuttervrij maken van een profiel.

De eerste stap is de aanwezige stutterpieken te vergelijken met een stuttergrens. In de genoemde referentie wordt een vaak toegepaste methode aangehaald: de stuttergrens wordt berekend uit de parent peak height, vermenigvuldigd met de bijbehorende SR-waarde (zie figuur 13), waaraan men ook nog eens tweemaal de standaard deviatie van de gemeten SR's optelt. Dan blijven er nog maar heel weinig pieken staan, vergelijk de ongefilterde en gefilterde tabellen 3 & 4. Het ligt voor de hand de pieken, die niet aan deze grenswaarde voldoen naar 0 bij te stellen. Maar wat te doen met de overige pieken? Dat vermelden de bronnen niet. Ik heb twee methodes overwogen:

1. De mogelijk gecombineerde pieken met de stuttergrens verlagen. De consequentie is, dat bij een later toe te passen algehele threshold van 100 RFU niets overblijft en alle afwegingen hun relevantie verliezen. In feite pas je dan twee thresholds cumulatief toe.

² Tim Kalafut et al, 2018. Implementation and validation of an improved allele specific stutter filtering method for electropherogram interpretation. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.03.016>

- De bedoelde pieken ongewijzigd gelaten. De algehele threshold wordt doorslaggevend. Sommige pieken zullen dan te hoog zijn, het effect is vermoedelijk gering wegens de algehele threshold.

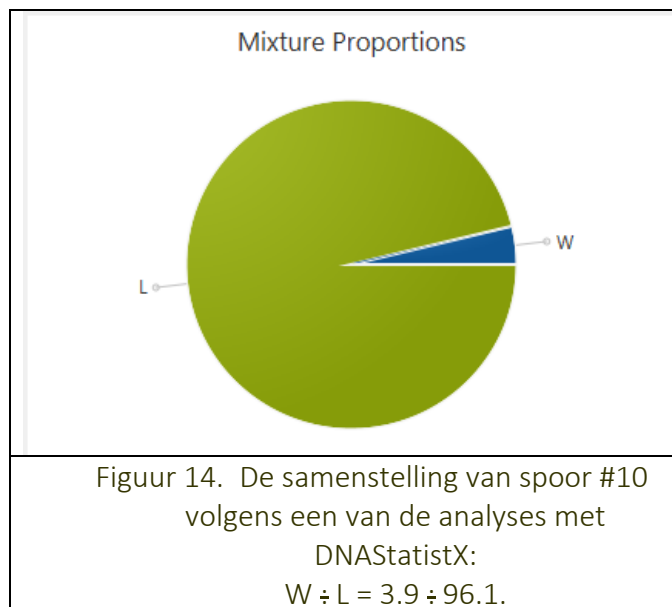
De laatste aanpak werd mij aangeraden van bevoegde zijde (medewerker NFI). Deze resultaten zijn verwerkt in tabel 5, die uiteindelijk leidden tot de enorme likelihood ratios in tabel 2.

Tabel 2. Vergelijking van stutter filters							
detection threshold	Hp	Hd	lik Hd	lik Hp	LR Hp/Hd	LR Hd/Hp	W : L
DNASStatistX met geïntegreerde filters							
10	L	L + W	6.63 E -107	1.56E -109	0.002355	400 : 1	1.8%
10	L + X	L + W + X	6.63 E -107	8.75 E -109	0.01320	75 : 1	1.8%
50	L	L + W	6.71 E -104	2.18 E -106	0.003257	300 : 1	2.7%
50	L + X	L + W + X	6.71 E -104	1.35 E -105	0.02019	50 : 1	2.7%
100	L	L + W	5.34 E - 98	1.77 E - 98	0.3309	3 : 1	1.9%
100	L + X	L + W + X	5.34 E - 98	1.87 E - 98	0.3504	3 : 1	1.9%
DNASStatistX met externe filters							
10	L	L + W	1.44 E -116	3.89 E -123	0.000000027	3.700.000 : 1	2.6%
10	L + X	L + W + X	3.04 E -107	8.36 E -108	0.275	3.6 : 1	1.0%
50	L	L + W	9.10 E -114	7.06 E -121	0.000000008	13.000.000 : 1	3.9%
50	L + X	L + W + X	4.09 E -105	2.02 E -106	0.0495	20 : 1	2.3%
100	L	L + W	5.09 E -107	2.95 E -110	0.000579	1700 : 1	3.5%
100	L + X	L + W + X	4.09 E - 99	1.82 E - 99	0.445	2,3 : 1	1.8%

Voor EuroForMix is een nieuwe tool in het vooruitzicht gesteld (MPSProto) die allelspecifieke filters gaat bevatten. De tool is er eigenlijk al, maar een begrijpelijke gebruikers-interface nog niet.

Conclusie

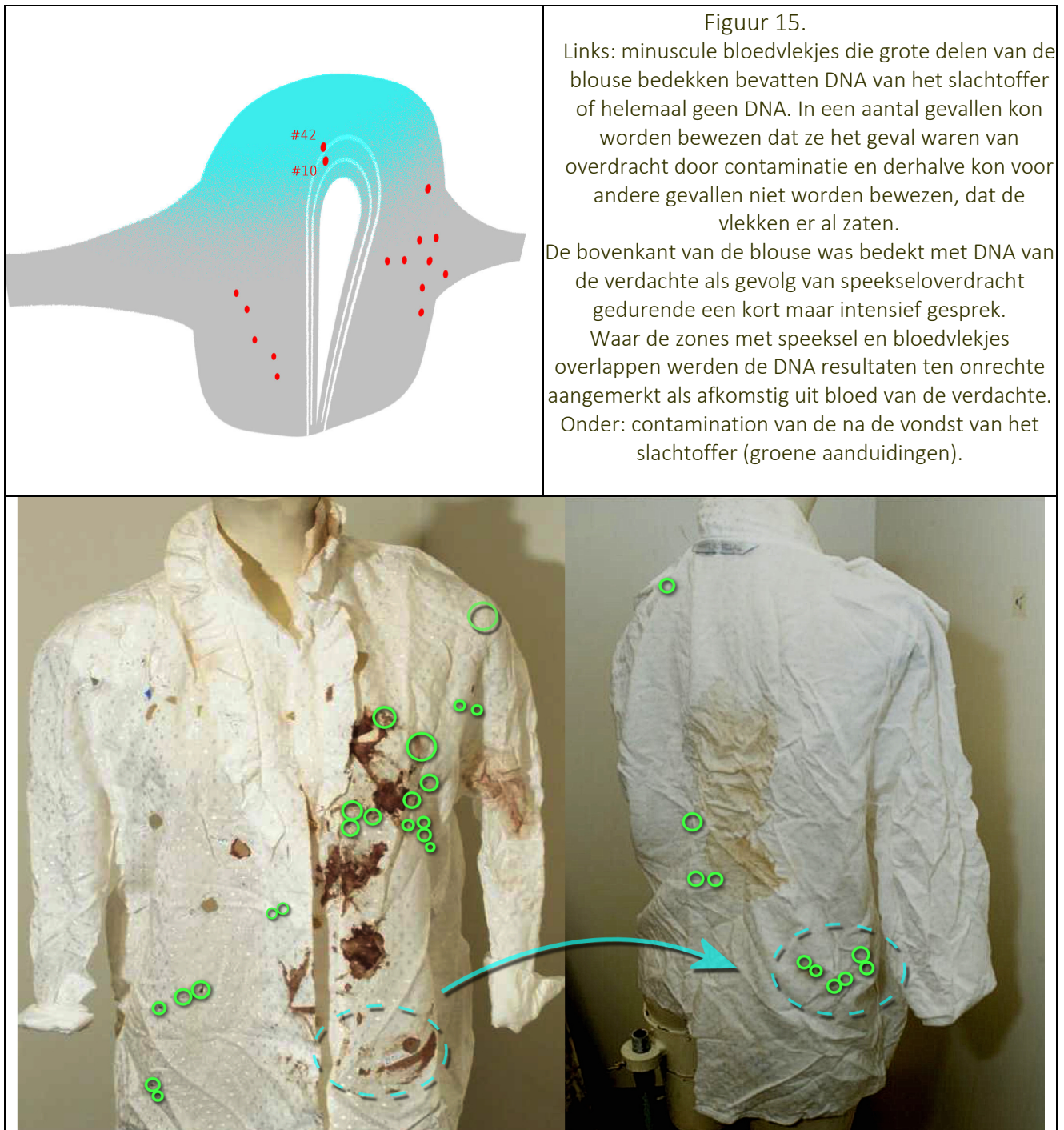
Beide programma's leveren een reconstructie op van spoor #10 als een mengprofiel van twee betrokkenen: Wittenberg en Louwes in de verhouding van 1.8 : 98 tot 2.6 : 97. Hiermee ligt het het meest voor de hand het waargenomen bloedspoor in het uitgeknipte monster van spoor #10 te beschouwen als afkomstig van Wittenberg. De bijdrage van Louwes moet dan toegeschreven worden aan speeksel. In DNASStatistX kunnen de uitkomsten worden gepresenteerd in een duidelijk diagram, zie figuur 14. De resultaten van DNASStatistX zijn temeer relevant, omdat dit programma door het NFI (en ook het FLDO) wordt aangeprezen.



Hoe nu verder

Zoals getoond in figuur 19 is het mogelijk de aanwezigheid van het DNA van het slachtoffer in spoor #10 te reconstrueren. Zoals gedemonstreerd in figuur 12 is het denkbaar dat de aanwezigheid van dit DNA is gekoppeld aan de aanwezigheid van een minuscuul bloed spoor in spoor #10. In 2006 onderzocht het NFI een aantal vergelijkbare bloedsporen met variërende resultaten: van één werd alleen DNA van Louwes (later door het FLDO betiteld als een mengprofiel dus gelijkend op spoor #10) gerapporteerd, van meerdere dat ze geen DNA bevatten of minder DNA dan benodigd voor een identificatie en van een ruime meerderheid dat ze DNA van het slachtoffer lieten zien.

Dit alles zou tot de volgende hypothese kunnen leiden:



Het zou dus nuttig zijn alle elektroferogrammen uit het NFI rapport 2006 te vergelijken met de reconstructie in figuur 19 om aldus de overeenstemming van deze hypothese met de DNA-uitslagen van de sporen #10 en #42 vast te stellen.

Appendix

De input voor Euromix bestaat uit de piekhoogten in spoor #10 en de referentieprofielen van de twee betrokken DNA-donoren (POI's, persons of interest), te weten Louwes en het slachtoffer Wittenberg. Opdat de lezer e.e.a. zelf kan verifiëren zijn de gegevens hier gereproduceerd (ze verschenen eerder al voor het grootste gedeelte in Ton Derksen, Leugens over Louwes; ISVW-uitgevers, Leusden 2011). Alles hoger dan rf_u 50 is opgenomen in het profiel (dat overigens niet wil zeggen, dat alles ook steeds werd meegerekend, zie de werkwijze).

Sample Name	Marker	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Height 1	Height 2	Height 3	Height 4	Height 5
spoor#10	D16S539	11	12	13			100	1502	1167		
spoor#10	D18S51	12	13	15	22	23	100	879	50	150	887
spoor#10	D19S433	12	13	14	15		125	1407	175	1309	
spoor#10	D21S11	26	27	30	31		150	1247	150	1229	
spoor#10	D2S1338	18	19	23	24		100	823	100	578	
spoor#10	D3S1358	14	15	16			250	4223	94		
spoor#10	D8S1179	7	8	12	13	14	150	2978	250	2596	115
spoor#10	FGA	22	23				150	1462			
spoor#10	TH01	7	9.3				1095	1092			
spoor#10	VWA	15	16	17			200	1675	1794		

Tabel 3. Bijna de helft van de hierboven weergegeven pieken zijn of bevatten stutterpieken. Pieken in stutterpositie, die ook in het profiel van W voorkomen zijn groen gemarkeerd.

Sample Name	Marker	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Height 1	Height 2	Height 3	Height 4	Height 5
spoor#10	D16S539	11	12	13			0	1502	1167		
spoor#10	D18S51	12	13	15	22	23	20	879	50	10	887
spoor#10	D19S433	12	13	14	15		2	1407	6	1309	
spoor#10	D21S11	26	27	30	31		46	1247	27	1229	
spoor#10	D2S1338	18	19	23	24		15	823	28	578	
spoor#10	D3S1358	14	15	16			0	4223	14		
spoor#10	D8S1179	7	8	12	13	14	0	2978	25	2596	59
spoor#10	FGA	22	23				0	1462			
spoor#10	TH01	7	9.3				1095	1092			
spoor#10	VWA	15	16	17			38	1675	1794		

Tabel 4. De pieken met stutterpieken zijn omlaag gebracht met waarden, zoals voorgesteld in Kalafut et al (2018)² door toepassing van optie 1, zoals beschreven in de paragraaf 'stutterfilters'.

Sample Name	Marker	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Height 1	Height 2	Height 3	Height 4	Height 5
spoor#10	D16S539	11	12	13			0	1502	1167		
spoor#10	D18S51	12	13	15	22	23	100	879	50	150	887
spoor#10	D19S433	12	13	14	15		125	1407	175	1309	
spoor#10	D21S11	26	27	30	31		150	1247	150	1229	
spoor#10	D2S1338	18	19	23	24		100	823	100	578	
spoor#10	D3S1358	14	15	16			0	4223	94		
spoor#10	D8S1179	7	8	12	13	14	0	2978	250	2596	115
spoor#10	FGA	22	23				0	1462			
spoor#10	TH01	7	9.3				1095	1092			
spoor#10	VWA	15	16	17			200	1675	1794		

Tabel 5. Als tabel 4, maar nu volgens optie 2. Na de filtering blijven meer pieken over met een waarde die de toepassing van de algehele drempelwaarde kunnen overleven.

Sample Name	Marker	Allele1	Allele2
W	D16S539	11	12
W	D18S51	15	17
W	D19S433	14	14.2
W	D21S11	31	31.2
W	D2S1338	20	23
W	D3S1358	16	16
W	D8S1179	14	14
W	FGA	22	24
W	TH01	7	7
W	VWA	17	19

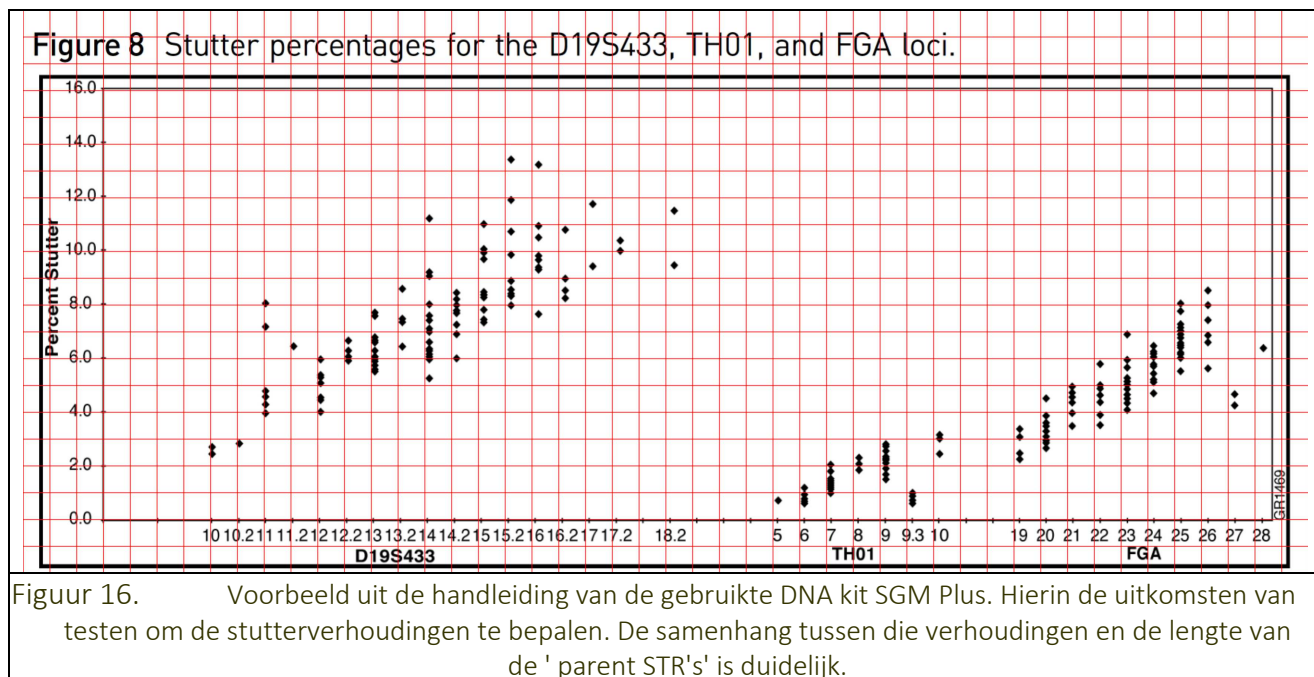
Tabel 6.

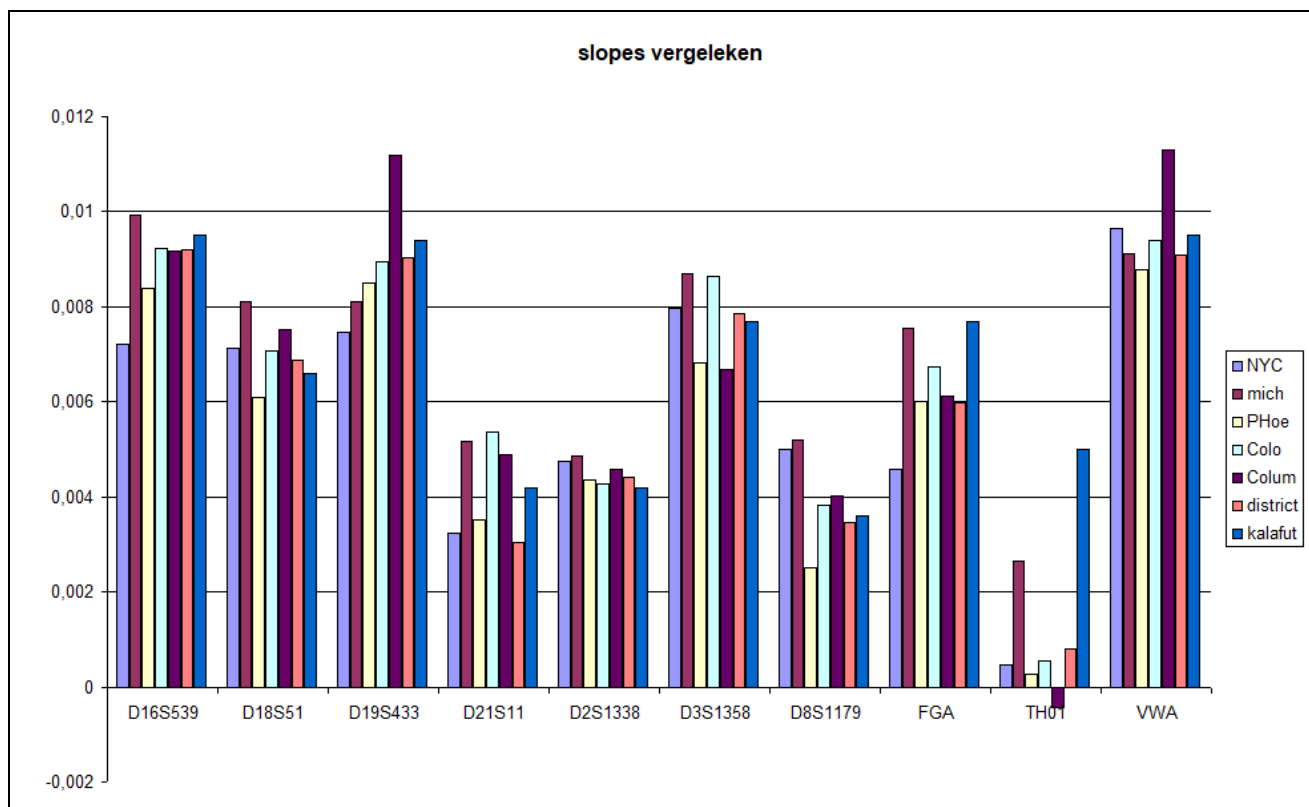
De referentieprofielen.

In het profiel van W zijn de pieken, die matchen met spoor #10 in groen gemarkeerd. De pieken die in 2004 door het NFI werden gemarkeerd als 'am' (maar pas zichtbaar gemaakt in 2006) zijn rood gemarkeerd.

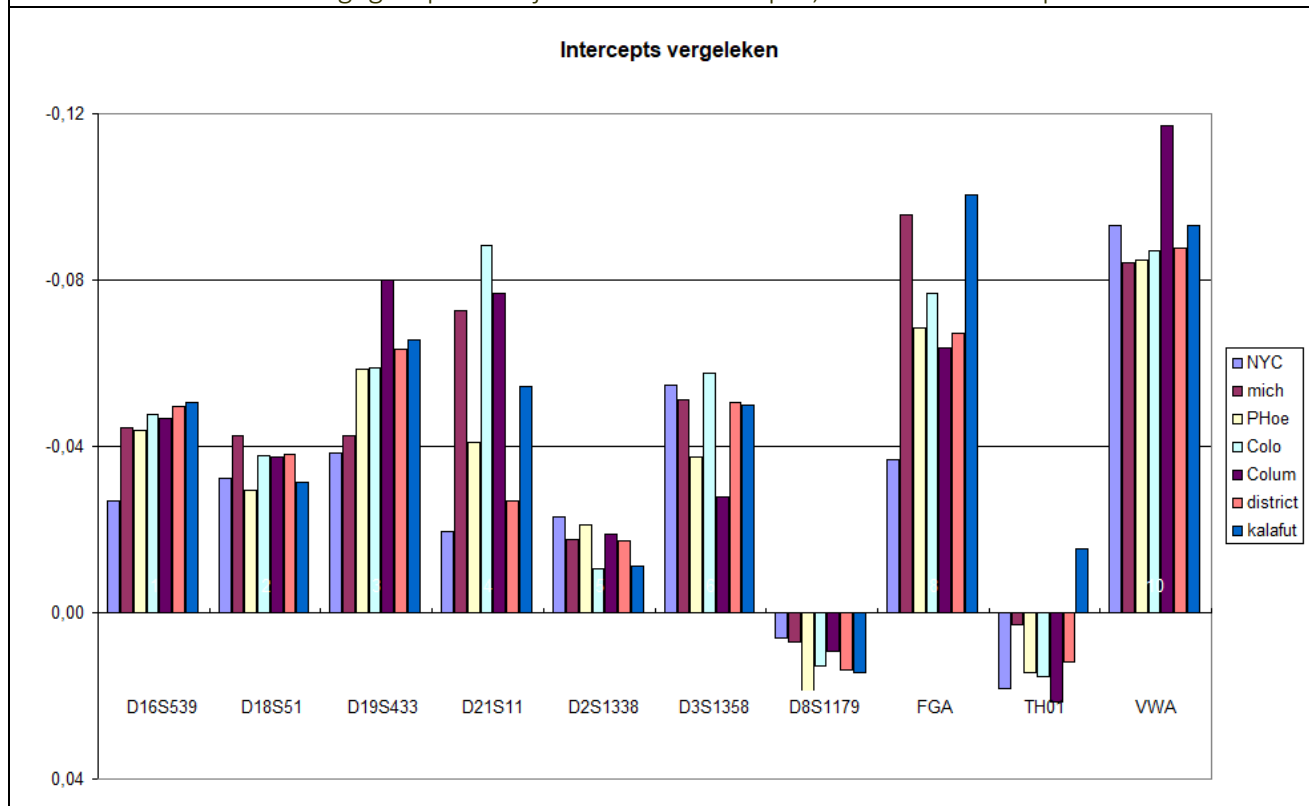
Sample Name	Marker	Allele1	Allele2
L	D16S539	11 12	12 13
L	D18S51	12 13	22 23
L	D19S433	12 13	14 15
L	D21S11	26 27	30 31
L	D2S1338	18 19	23 24
L	D3S1358	14 15	14 15
L	D8S1179	7 8	12 13
L	FGA	22 23	22 23
L	TH01	6 7	8.3 9.3
L	VWA	15 16	16 17

De pieken in het referentieprofiel van L matchen allemaal, uiteraard, want dit spoor is dominant aanwezig. De te verwachten back stutters zijn weergegeven in kleine nummering. Ze zijn geel gemarkeerd, als ze samenvallen met het referentieprofiel van W. De andere pieken die samenvallen met het profiel van W zijn blauw gemarkeerd.





Figuur 17. Validatiegegevens voor het filteren van mogelijke stutterpieken onderling vergeleken. New York, Michican, Phoenix Colorado, Columbia, Columbia District. De gegevens van Kalafut et al.² zijn als laatste toegevoegd. Op alle locaties liggen de resultaten gegroepeerd bijeen. Boven de slopes, onder de intercepts.



Zijn de gegevens van Kalafut et al. el waarmee de stutters werden gefilterd wel representatief? Om dat na te gaan, zijn ze vergeleken met de gegevens, zoals deze door een aantal forensische bureaus in de VS worden gehanteerd op basis van hun eigen validatiegegevens. Over het algemeen blijken alle gegevens dezelfde tendensen te volgen. De hier te presenteren gegevens betreffen de

gevonden parameters, die we ook in figuur 14 aantreffen (de regressielijn $y = ax + b$ wordt gedefinieerd door de slope a en het intercept b). Uit de lengte van de parent-STR x volgt de stuterverhouding. Die verhouding kan gebruikt worden om de stutterdrempel uit de piekhoogte van de parentpiek te berekenen.