



GRUPO DE HABLA ESPAÑOLA Y PORTUGUESA DE LA ISFG

GRUPO DE LÍNGUAS ESPANHOLA E PORTUGUESA DA ISFG

Instituto Nacional de Toxicología
y Ciencias ForensesSERVICIO DE GARANTÍA DE CALIDAD
DEPARTAMENTO DE MADRID

C/ José Echegaray nº 4 - 28232 Las Rozas de Madrid (Madrid)

Tf. +34 91 7688919 Fax +34 91 5648654

e-mail: intcf.eiadn@justicia.es

EJERCICIO DE INTERCOMPARACIÓN

“ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DE ADN EN MANCHAS DE SANGRE Y OTRAS MUESTRAS BIOLÓGICAS”

INSTRUCCIONES EJERCICIO EIADN-33 (2025)**1. ÍTEMS ENVIADOS E INSTRUCCIONES PARA SU MANEJO****EIADN-33(2025) /MÓDULO DE PARENTESCO NIVEL BÁSICO**

- ◆ M1, M2, M3

EIADN-33 (2025) /MÓDULO FORENSE NIVEL BÁSICO

- ◆ M4, M5

EIADN-33 (2025) /MÓDULO FORENSE

- ◆ M6, M7, M8
- ◆ M9 (para identificación no humana)

Ítems de referencia

El ítem M1 consiste en una mancha de sangre aplicada en media tarjeta Ahlstrom-Munksjö GenCollect (*Forensic DNA Grade* cumple requisitos ISO 18385).

El ítem M2 consiste en una mancha de sangre aplicada en media tarjeta Ahlstrom-Munksjö GenCollect (*Forensic DNA Grade* cumple requisitos ISO 18385).

El ítem M3 consiste en una mancha de sangre aplicada en media tarjeta Ahlstrom-Munksjö GenCollect (*Forensic DNA Grade* cumple requisitos ISO 18385).

Ítems dubitados

El ítem M4 consiste en una mancha dubitada aplicada en un soporte.

El ítem M5* consiste en cabello o vello sin raíz.

Los ítems M6, M7, M8 y M9 son manchas dubitadas aplicadas en diferentes soportes.

Manejo

Los ítems han sido preparados con fluidos biológicos o cabello/vellos de voluntarios presuntamente sanos. No obstante, deben ser tratados como material potencialmente infeccioso y deberán ser manejados con todas las precauciones de seguridad habituales para este tipo de ítems.

Estas precauciones incluyen:

- Usar guantes, mascarilla y bata durante todo el proceso.
- Trabajar preferiblemente en cabina de seguridad biológica.

Se han extremado las precauciones para garantizar la homogeneidad de los ítems, no obstante, los participantes deben realizar un muestreo, tomando una muestra representativa del ítem, tal y como lo harían en un caso real.

*Se han extremado las precauciones para evitar la contaminación durante la toma de muestras y durante la preparación de los ítems. *En el caso del cabello o vello antes de proceder a su extracción, el laboratorio deberá eliminar una potencial contaminación de la superficie tal y como se establece en los protocolos relacionados con la extracción de este tipo de ítem.*

Los donantes de las muestras entienden que se realizará un uso de las mismas anónimo y exclusivo para el Ejercicio de Intercomparación GHEP-ISFG y de manera adicional como material de referencia y/o control de calidad del laboratorio, siendo analizadas mediante técnicas de uso forense y siempre empleadas con fines de identificación humana, analizando regiones no codificantes o que no proporcionen información sensible del donante.

2. INSTRUCCIONES PARA LA CUMPLIMENTACIÓN Y ENVÍO DEL FORMULARIO ELECTRÓNICO

ATENCIÓN: Cuando esté disponible el formulario electrónico en la página del GHEP-ISFG: <https://ghep-isfg.org/es/proficiency/>, la coordinadora del ejercicio lo notificará por correo electrónico.

Es obligatorio enviar los resultados del ejercicio a través de ese formulario. Si algún laboratorio tiene problemas para acceder al formulario electrónico, rogamos se ponga **URGENTEMENTE** en contacto con nosotros (intcf.eiadm@justicia.es).

- Se puede acceder al formulario a través de la pestaña **Ejercicio de Intercomparación** y accediendo al **Formulario 2025**.
- Para acceder al formulario electrónico se deberán utilizar las claves (usuario y contraseña) de la persona que realizó la inscripción.
- Tras completar el formulario electrónico revise su contenido antes de enviarlo. **Si lo firma electrónicamente, envíelo a intcf.eiadm@justicia.es o adjúntelo a la web. Si lo va a firmar manualmente**, imprímalo íntegro (con todas las hojas, rellenas o no) y **envíelo por correo ordinario**.
- Dirección postal de envío: **Att: Koro Fernández. Servicio de Garantía de Calidad. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. C/José Echegaray, 4. 28232 Las Rozas. Madrid. España.**
- Además, **se solicita la remisión de los registros de análisis a través de la web:** electroferogramas (o copias de geles) y cálculos estadísticos efectuados (manuales y/o informáticos) para la evaluación de resultados.
- Fecha límite para envío de resultados: **15 de Mayo de 2025 a las 22:00 GMT**; **no se permitirá el acceso al formulario electrónico pasada esta fecha y hora.**

TABLAS 1 a 4

- En la **Tabla 1**, indique en cada campo un único método de extracción/ purificación/concentración y de cuantificación de ADN.
- En el caso de que para algún concepto indique 'Otros', especifique el método en la correspondiente columna 00 'Especificar'.
- En las **Tablas 3 y 4**, se entiende que se utilizan los mismos procedimientos para todos los ítems de referencia, así como para ambas fracciones del mismo ítem dubitado. Si desea hacer algún comentario adicional a lo detallado en las tablas anteriores, indíquelo en el apartado 1.5 (nivel básico) o en el apartado 1.6 (nivel avanzado).

TABLA 5

- Rellene este apartado en caso de que participe en el Módulo Forense.
- **Es obligatorio** cumplimentar este apartado para que se evalúe en el certificado la naturaleza de los fluidos de los ítems forenses, detallando la metodología utilizada para el análisis de la naturaleza de los mismos. **No obstante, la evaluación se realizará sobre los resultados que aparezcan en el punto 3.2.1 (nivel básico) o en el punto 3.1.1 (nivel avanzado).**

TABLAS 6

- **Recuerde, es obligatoria la participación con un mínimo de 12 STR autosómicos (al menos 7 STR incluidos en el estándar CODIS).**
- Antes de añadir un nuevo marcador, confirme que no está **ya** contemplado en la tabla correspondiente. Las celdas en blanco se utilizarán **únicamente** para reflejar marcadores que **no existan** en las tablas.
- **Indique los alelos separados con un guión - y sin espacios en blanco**; en caso de homocigotos, indique solo un alelo. Ejemplos: X-Y X 14-15.
- **Los alelos deben de informarse de menor a mayor. En caso de alelos microvariantes**, désígnelos indicando el número de repeticiones completas seguido de un punto y el número de bases de la repetición incompleta. Ejemplo: 9.1-11.
- En las columnas correspondientes a los ítems M1, M2 y M3 sólo es posible incluir un máximo de dos alelos. Los ítems M4, M6, M7 y M8 pueden ser mezcla y por lo tanto es posible incluir más de dos alelos. En todas las columnas, los alelos tienen que ser escritos de menor a mayor.
- **En el caso de los datos correspondientes al análisis de STR del cromosoma Y se aceptará tanto la nomenclatura propuesta por la ISFG como la nomenclatura propuesta por el NIST.**
- **En M4, M6, M7 o M8, es obligatorio rellenar la columna sombreada con todos los alelos totales detectados Ejemplo: (9-11-15-17) independientemente del método de extracción utilizado. La evaluación se realizará sobre los resultados que aparezcan en esta columna.**
- **En caso de realizar lisis diferencial, además, puede especificar los alelos obtenidos en cada fracción en la columna correspondiente (1ª fracción/ 2ª fracción.) Se entiende como 2ª fracción a la fracción espermática.**

TABLA 7

- **Recuerde que se exige la edición de, al menos, las regiones HV1 y HV2.**
- Refleje las posiciones inicial y final de las regiones editadas (Ej. 73-340/16024-16365). No obstante, serán evaluados en el certificado los haplotipos obtenidos de editar la región HV1 comprendida entre las posiciones 16024-16365, la región HV2 entre 73-340 y la región HV3 entre 438-574.
- Informe los haplotipos reflejando las diferencias con rCRS según nomenclatura médica (Ej.: A263G -315.1C A523DEL T16217C) o forense (Ej.: 263G 315.1C 523DEL 16217C), comenzando por el **nucleótido de número menor (empezando por HV2)** sin dejar espacio entre la posición y la base y separando las diferencias respecto de rCRS **con un espacio y sin comas**.
- **OJO: Ponga especial atención a la nomenclatura de las inserciones y deleciones.**
- Si para M4, M5, M6, M7 o M8 realiza lisis diferencial, refleje los haplotipos de cada fracción en su correspondiente fila; en caso de lisis total, refleje el haplotipo obtenido en la primera fila.
- Observaciones y conclusiones a los resultados de ADN mitocondrial: indicar cualquier otro resultado o dato no reflejado que desee hacer constar, haciendo referencia al ítem (por ejemplo, utilización de otro *primer*).

Estudios teóricos

- Siga las instrucciones específicas detalladas en los apartados correspondientes del formulario y utilice la información que se facilita para la resolución de los supuestos teóricos.
- Para una mejor gestión del formulario se proporciona un desplegable con el nombre de distintos software, aunque no todos son, necesariamente, de aplicación en la resolución de cada supuesto concreto.
- Para los cálculos estadísticos referentes a STR autosómicos, utilice siempre las frecuencias alélicas que se adjuntan **anualmente** en la tabla del Anexo.
- **OJO: En las Tablas 8 y 10 y en aquellos otros apartados en que se soliciten estimaciones de frecuencias, LR o equivalentes, realice las operaciones con todos los decimales, pero en el formulario, refleje los valores con 4 decimales separados del número entero con coma, aplicando redondeo y en notación científica (formato Excel). Ej. 4,56735 se reflejaría 4,5674E+00; 0,123456 se reflejaría 1,2346E-01.**

TODOS LOS COMENTARIOS Y OBSERVACIONES QUE SE REALICEN EN LOS APARTADOS DESTINADOS A ESTE FIN, SERÁN PUBLICADOS EN EL INFORME FINAL, POR LO QUE SE RECOMIENDA NO DAR NINGÚN DATO QUE PUEDA COMPROMETER EL ANONIMATO DEL LABORATORIO.

3. INSTRUCCIONES PARA EL ENVÍO DE LOS REGISTROS DE ANÁLISIS: ELECTROFEROGRAMAS (O GELES) Y CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

Es obligatorio el envío de los registros finales **debidamente identificados** de los perfiles genéticos de STR, de las secuencias de ADNmt y de los cálculos estadísticos de acuerdo con las siguientes instrucciones:

3.1 Sistemas automáticos. Marcadores STR (autosómicos, X e Y)

Se remitirán los electroferogramas de cada uno de los ítems para **todos los marcadores** para los que se emiten resultados. **Recuerde, es obligatoria la participación con un mínimo de 12 STR autosómicos (al menos 7 STR incluidos en el estándar CODIS)**. Cada electroferograma irá identificado con el **código del ítem** y el **número de precinto** (como identificación del laboratorio). En caso de identificar los electroferogramas con el nombre del laboratorio y no con el número de precinto, queda entendido que está renunciando a la confidencialidad. En los electroferogramas deben reflejarse además los siguientes datos:

- **Asignación alélica**
- **Altura** (en RFU) de picos
- **Tamaño en pares de bases (pb)**.

Para aquellos alelos no incluidos en los patrones alélicos (fuera de *ladder*) se reflejará el tamaño (en pb).

Se enviarán también los electroferogramas de las *ladder* utilizadas en el análisis.

En el caso de sistemas *ABI* se recomienda la impresión de los electroferogramas generados con *Genemapper* o *Genotyper*.

Los electroferogramas deben subirse a la web (archivo pdf)

3.2 Sistemas manuales. Marcadores STR (autosómicos, X e Y)

En el caso de sistemas de detección manual mediante tinción con nitrato de plata, es necesario enviar una copia de la imagen del gel bien identificada con el **código del ítem**, el **número de precinto** (como identificación del laboratorio), el **nombre de cada uno de los marcadores** y la **asignación alélica**.

3.3 Secuencias de ADN mitocondrial

Se remitirá preferentemente las secuencias *forward* y *reverse* alineadas con respecto a la secuencia de referencia y utilizando la anotación numérica de la rCRS (Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. *Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA*. Nat Genet. 1999 Oct;23(2):147). En su defecto se enviarán los electroferogramas generados para cada uno de los *primers* utilizados (*Forward* y *Reverse*) en cada uno de los ítems. Cada electroferograma irá identificado con el **código del ítem**, el **número de precinto** (como identificación del laboratorio) y el **primer utilizado**.

Los registros deberán ser en color y deben subirse a la web (archivo pdf)

3.4 Cálculos estadísticos de los ejercicios teóricos

Se remitirán los registros generados durante la utilización de programas informáticos o de las fórmulas empleadas en caso de realización del cálculo manualmente, para la realización de todos los cálculos estadísticos solicitados en los **estudios teóricos**. Cada registro deberá ir identificado con el **número de precinto** (como identificación del laboratorio) y el **estudio teórico** que corresponda.

Los registros deben de subirse a la web (archivo pdf)

Para cualquier duda o aclaración, no dejen de ponerse en contacto con nosotros: intcf.eiadm@justicia.es

- ◆ **RECUERDE que es necesario el envío del formulario cumplimentado debidamente firmado y de todos los registros de análisis: electroferogramas (o geles) y cálculos estadísticos en el formato indicado en las instrucciones, para recibir el certificado de participación en el ejercicio.**

PARA CUALQUIER DUDA SOBRE LA EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS CONSULTE LAS BASES DE PARTICIPACIÓN EN LA PÁGINA WEB <https://ghep-isfg.org/es/proficiency/participation/>