



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE  
MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**TESINA PARA OBTENER EL GRADO  
DE  
Químico Farmacéutico Biólogo.**

**Aplicación de Indicadores de Control de Calidad  
durante el Proceso de Análisis de ADN en un  
Laboratorio de Genética Forense**

**GONZÁLEZ ZACARÍAS CARLOS**

**Asesor: Mtro. ALFONSO M. LUNA VAZQUEZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Índice

Pág.

1	Introducción.....	1
2	Marco Teórico.....	3
2.1	Qué es el ADN.....	3
2.2	Estructura bioquímica del ADN.....	5
2.3	El ADN y sus Aplicaciones Forenses.....	6
2.4	Análisis del ADN en el laboratorio de Genética Forense.....	9
2.4.1	Fluidos biológicos.....	9
2.4.1.1	Sangre.....	9
2.4.1.2	Saliva.....	10
2.4.1.3	Semen.....	10
2.4.2	Elementos biológicos su cuidado y conservación.....	11
2.4.2.1	Tejido.....	11
2.4.2.2	Hueso y diente.....	12
2.4.2.3	Pelo.....	13
2.4.2.4	Restos en uñas.....	15
2.5	Causas de degradación del ADN.....	15
2.6	La técnica de la PCR.....	17
2.7	Polimorfismo de estudio en el laboratorio de genética forense.....	19
2.7.1	ADN Nuclear.....	19
2.7.2	ADN mitocondrial (ADNmt).....	20
2.7.3	Cromosoma Y.....	21
2.8	Aplicación de indicadores de control de calidad durante el proceso de análisis de ADN.....	25
	Diagrama de flujo del proceso de análisis de ADN.....	29
2.8.1	Indicador 1. Formato de Recepción de Indicios (Seguimiento de la Cadena de Custodia). Fase I.....	30
2.8.2	Indicador 2. Pruebas presuntivas y confirmativas. Fase II.....	31
2.8.3	Indicador 3. Extracción. Fase III.....	32
2.8.4	Indicador 4. Cuantificación (PCR tiempo real). Fase IV.....	32
2.8.5	Indicador 5. Amplificación (PCR). Fase V.....	33
2.8.6	Interpretación de Resultados. Fase VI.....	34
2.8.7	Dictamen pericial. Fase VII.....	35
2.8.8	Base de Datos. Fase VIII.....	36
	Planteamiento del Problema.....	39
	Objetivo.....	40
	Metodología.....	40
	Importancia del Estudio.....	41
	Conclusiones.....	42
	Anexos I.....	43
	Anexos II.....	44
	Anexos III.....	45
	Anexos IV.....	46
	Anexos V.....	47

Anexos VI..... 48  
Referencias..... 49

## **1. Introducción**

La tecnología del ADN (ácido desoxirribonucleico) es en la actualidad una herramienta de la Genética Forense, imprescindible en la investigación de la paternidad así como en el análisis de indicios biológicos de interés criminal. Sin embargo, la obtención de resultados a través de las técnicas que nos ofrecen este tipo de análisis dependen de la calidad e integridad del indicio, lo que en muchas ocasiones es inherente al propio indicio, pero a veces depende de los procesos del levantamiento, conservación y envío al laboratorio, prácticas que de alguna manera no son muy bien realizadas.

Es por ello que, el laboratorio debe aplicar un sistema documentado del control de calidad de los indicios, desde la recepción de los indicios en el laboratorio hasta la elaboración del informe final o dictamen, para asegurar su integridad física y poder demostrar de forma documentada la cadena de custodia, la cual es una garantía más para la admisibilidad de la prueba del ADN ante los Tribunales de Justicia. De igual manera el laboratorio debe aplicar procedimientos documentados y autorizados que minimicen la pérdida, la contaminación, y/o el cambio de indicios.

Así también es necesario que se fomente en los peritos la generación de registros en bitácoras, conocimiento, manejo y aplicación de los procedimientos que involucran un control de calidad, ya que estos brindan el soporte documental para regular y normalizar todas y cada una de las actividades desarrolladas desde la recepción de los indicios hasta la emisión del dictamen, además de estar cumpliendo con la buenas practicas de laboratorio.

Actualmente los análisis de ADN se están transformando en una de las pruebas más importantes en la investigación criminal y en los casos de paternidad discutida, por lo que la aplicación de indicadores de control de calidad resulta imprescindible para todos los laboratorios de las Instituciones de Procuración de Justicia.

Es por eso que los laboratorios de Genética Forense deben asegurar el control de calidad en el cumplimiento de los procedimientos involucrados, ya que los clientes

reclaman profesionalidad y responsabilidad durante el proceso de análisis de ADN. Por lo que los peritos deberán llevar registros de las actividades realizadas con el fin de dar trazabilidad a las muestras y cumplir con los requerimientos que exigen las normas.

Por lo tanto se deberán establecer las actividades para asegurar un control de calidad, para comprobar que el método aplicado sigue siendo aceptable, es decir comprobar que los procedimientos estén actualizados, que las técnicas aplicadas en el laboratorio estén estandarizadas, que el registro de bitácoras este vigente y analizar los resultados para la elaboración del dictamen. Dichas actividades estarán sujetas a evaluación y llevadas a cabo mediante la generación de indicadores, los cuales podrán detectar las fallas durante el proceso de análisis de ADN, desde la recepción de la muestra hasta la emisión del dictamen, y permitirán analizar cuales son las fuentes de error y aplicar las medidas necesarias para eliminar, controlar y mejorar las actividades realizadas durante el proceso de análisis del ADN.

## **1. Marco Teórico**

Actualmente las ciencias forenses comprende una amplia diversidad de disciplinas científicas que trabajan de manera especializada e interdisciplinaria para el cumplimiento de un objetivo en común: asistir al proceso de justicia mediante la evaluación de la evidencia en cualquiera de sus formas , circunscribiendo la aplicación de los conocimientos científicos y tecnológicos dentro de un marco ético<sup>1</sup>.

Debido a la amplia gama de delitos y de evidencias que pueden estar involucrados en una investigación criminal, en principio las ciencias forenses no tiene límites de aplicación salvo los delimitados por el propio avance del conocimiento científico y tecnológico de la humanidad. Sin embargo cualquier procedimiento y técnica analítica, antes de ser aplicado a un proceso judicial, debe ser aceptada o reconocida para el campo científico forense<sup>1</sup>.

La diferencia fundamental entre las aplicaciones científicas no forense y la ciencia forense consisten en que esta última es una especialidad en el aspecto legal y es parte inherente en el ejercicio profesional. La ciencia forense involucra la generación de resultados científica y jurídicamente válidos. Parte del quehacer de científicos forense es apoyar a los operadores de la administración de la justicia en la correcta y debida interpretación de los resultados obtenidos durante la evaluación del indicio y delimitar claramente los alcances de las conclusiones derivadas de los resultados obtenidos<sup>1</sup>.

### **2.1 Qué es el ADN**

La unidad vital básica es la célula, produciendo los materiales y la energía necesarios para mantener la vida. Un ser humano está compuesto de aproximadamente 100 billones de células, las cuales se originaron a partir de una única célula: el cigoto, originado por la fertilización de un óvulo por un espermatozoide<sup>2</sup>.

En una célula humana, el ADN se localiza principalmente en el núcleo, aunque también existe una pequeña cantidad de ADN en las mitocondrias, que son los orgánulos celulares

encargados de la producción de energía. El ADN nuclear mide aproximadamente 90 cm de longitud en su totalidad, pero se encuentra dividido y muy compactado en los cromosomas, que son unas estructuras muy densas formadas por ADN y proteínas<sup>2</sup>. El material genético de cada individuo<sup>3</sup>, consiste en 22 pares de cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales, X e Y, cuya combinación determina el sexo femenino (XX) o masculino (XY). En conjunto, cada célula somática contiene 46 cromosomas<sup>4</sup>.

En 1953 James Watson y Francis Crick describieron la estructura en doble hélice de la molécula del ADN<sup>5,6</sup>. Al contrario de lo que muchas personas puedan pensar, el gran hallazgo, el verdadero descubrimiento de Watson y Crick no fue el ADN en sí, que ya había sido descubierto tiempo atrás como molécula. Su aportación consistió en describir la estructura molecular exacta del ADN, en forma de doble hélice. Esta conformación peculiar era la única capaz de responder las principales preguntas que hasta el momento quedaban por responder<sup>7</sup>:

1. Almacenar toda la información necesaria para que se desarrolle una persona (o cualquier ser vivo).
2. Utilizar un espacio tan pequeño que cada célula pueda permitirse el lujo de poseer su propia información completa.
3. Replicarse, multiplicarse y copiarse con absoluta perfección cada vez que se crea una nueva célula.
4. Combinarse en los casos necesarios para que los hijos no sean idénticos al padre o a la madre, sino una mezcla o combinación de los mismos, y además de modo que los diferentes hermanos, hijos de una misma pareja tengan la capacidad de ser diferentes (excepto lo gemelos univitelinos).
5. Adaptarse poco a poco, por medio de cambios puntuales (mutaciones), para que los nuevos seres vivos dispongan de una mayor facilidad para sobrevivir en un medio ambiente que también evoluciona.



## 2.2 Estructura bioquímica del ADN

El ADN constituye el material genético de los organismos vivos. Es el componente químico primario de los cromosomas y el material que forma los genes. El ADN es la molécula que controla todos los procesos celulares como la alimentación, la reproducción y la transmisión de caracteres de padres a hijos<sup>8</sup>.

Las dos cadenas polinucleotídicas dextrahelicoidales, enrolladas sobre un mismo eje, constituyen una doble hélice. Cada una de ellas presenta una orientación de sus puentes fosfodiéster 3'-5' internucleotídicos opuesta una de la otra, determinándose así el antiparalelismo de las cadenas de ADN esta característica esta relacionada con el fenómeno de complementariedad de las bases<sup>7</sup>. Es decir se unen largas cadenas de bases nitrogenadas; purinas (Adenina y Guanina) y pirimidinas (Citosina y Timina) mediante moléculas de fosfatos y azúcar, y puentes de hidrogeno, para formar el ADN<sup>8,9</sup>. La conformación de una base de purina o pirimidina más un grupo fosfato y una molécula de azúcar forman lo que se denomina nucleótido, y el orden en que se unen unos a otros, denominado secuencia, tiene una gran importancia, ya que de esta depende el tipo de aminoácidos y proteínas que se van a sintetizar, es decir el tipo y características de los tejidos y de las diversas estructuras que conforman a una persona<sup>7</sup>.

Las dos cadenas de la doble hélice no son idénticas, ni en composición ni en secuencia de nucleótidos, pero sí mutuamente complementarias. El par A-T está unido por dos puentes de hidrógeno, en tanto que el par G-C esta unido por tres puentes de hidrogeno<sup>10</sup>.

Las bases nitrogenadas son hidrofóbicas, ubicándose en el interior de la doble hélice, en tanto que los azúcares y fosfatos, por estar cargados eléctricamente, están expuestos al contacto con el agua. De esta manera, la estructura del ADN no sólo está mantenida por las uniones puente de hidrógeno, sino también por las interacciones hidrofóbicas generadas cooperativamente al apilarse las bases<sup>10</sup>.

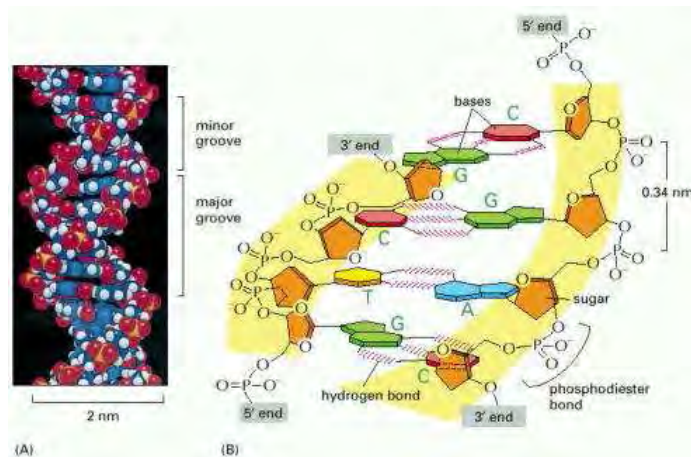


Figura No. 1 Estructura del ADN

### 2.3 El ADN y su aplicación forense

La genética con fines forenses empezó con el análisis morfológico, bioquímico o inmunológico, correspondientes éstos últimos a productos de genes ubicados en una fracción del genoma menor del 10%, quedando un 90% de ADN, no codificador, fue un aspecto para determinar variabilidad humana descubierto a partir de los años 80. Así se reconoció que estaba repleto de polimorfismos de secuencia que fueron puestos en evidencia con el uso de las enzimas de restricción y los fragmentos de longitud variable que éstas generaban (polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción, RFLP)<sup>11</sup>. En 1985 el Dr. Alec Jeffreys describió por primera vez la técnica de la "huella genética", que es de utilidad para individualizar y en consecuencia para identificar individuos. La tecnología que utilizaba el análisis de los RFLP fue el método inicial empleado en los análisis forenses de ADN y adoptado en varios países<sup>2</sup>.

El genoma humano nuclear extragenómico está constituido por secuencias únicas y repetidas. Un subgrupo de secuencias repetidas que representan aproximadamente el 60% de ellas, son las secuencias repetidas en tandem, que constituyen un ADN altamente polimórfico y que abrieron nuevas posibilidades, inimaginables para la búsqueda e identificación de marcadores con elevado poder de discriminación<sup>12</sup>.

El ADN repetitivo en tandem está constituido por secuencias que no incluyen genes funcionales y que se disponen en arreglos de repeticiones, una al lado de la otra y cada una de ellas contiene una secuencia central básica. Se subdivide de acuerdo al tamaño promedio del arreglo en: ADN satélite, ADN minisatélite y ADN microsatélite. El ADN satélite no contaban con el polimorfismo existente en los STR's además no era confiable su aplicación ya que no cumplía con las exigencias de admisibilidad. Los tipos de ADN, el minisatélite y el microsatélite son los que mayor importancia tienen para resolver problemas en identificación humana y pruebas de paternidad<sup>12</sup>.

El análisis del ADN ha permitido un desarrollo sin precedentes de la Genética Forense, ya que para cada individuo permite obtener su perfil genético individual debido a una de las propiedades más notables del genoma humano: su exclusividad. El perfil genético hace posible la identificación de la persona, por lo tanto puede admitirse que el perfil genético individualiza igual o mejor que sus huellas dactilares, motivo por el cual este perfil genético recibe también el nombre de huella genética<sup>13</sup>.

Las aplicaciones del análisis del ADN de cara a la identificación genética son muy numerosas (diagnósticos de parentesco, identificación de sospechosos de delitos, etc.)<sup>14,15</sup>. Esto ha motivado a que se desarrollen nuevas tecnologías dirigidas a la detección simultánea de numerosas regiones del ADN a partir de un único análisis. Sin embargo, la identificación genética no está exenta de limitaciones metodológicas, o impuestas por la naturaleza o grado de preservación del material, e incluso limitaciones legales<sup>13</sup>.

Las secuencias del genoma, cuyo análisis proporciona el perfil genético de los individuos, corresponden a regiones altamente variables, caracterizadas por ser ADN no codificante, es decir, sin información directa o indirecta para la elaboración de elementos de importancia para la vida celular. En consecuencia, el análisis de este ADN hipervariable y no codificante de acuerdo al diseño de los marcadores no proporciona información sobre características sensibles de las personas como en posibles enfermedades, cualidades físicas o psíquicas, etc. Estas regiones hipervariables del genoma, de interés para la identificación genética, son principalmente del tipo ADN microsatélite y ADN minisatélite. La

probabilidad de encontrar dos personas no emparentadas con la misma huella genética es nula; se ha estimado estadísticamente en alrededor de 1 entre 100 millones de billones<sup>13</sup>.

El ADN de un individuo es el mismo independientemente de si es estudiado con la raíz de un elemento piloso, en las células blancas de la sangre, en la saliva, en el semen o en cualquier otro tejido o fluido biológico. Estos principios de exclusividad individual y de igualdad en la estructura del ADN en todos los tejidos de un mismo individuo proporcionan la base para la identificación biológica, permitiendo contrastar cualquier indicio biológico encontrado en el lugar de los hechos con el ADN de una muestra del sospechoso<sup>8,13</sup>.

Hay que tener en cuenta que aproximadamente el 13% de la población tiene tendencia a depositar fácilmente su ADN en las superficies que tocan, bien por presentar una elevada descamación o por desprender un mayor número de células nucleadas<sup>16,17,18</sup>. Por tanto, la identificación biológica de individuos sospechosos de delitos se realiza comparando la huella genética de cada sospechoso con la huella genética obtenida tras el análisis del indicio biológico que constituya el material de prueba<sup>13</sup>.

Los análisis preliminares de los indicios comprenden la realización de un conjunto de técnicas que lleven al diagnóstico de la naturaleza del producto biológico producido en la comisión del delito, ya sea sangre, saliva o semen. Cada laboratorio aplica el método correspondiente sobre los indicios, ya sean fluidos o sólidos, realizando técnicas preliminares de entre la que mencionamos: observación directa, colorimétricas, químicas, bioquímicas, inmunocromatográficas y microscópicas<sup>16</sup>.

En el laboratorio de Genética Forense el correcto conocimiento de las técnicas preliminares y la acertada combinación en su aplicación constituyen la base de una buena pericia, ya que éstas orientarán la extracción del ADN para su análisis genético. Gran parte de la etapa de análisis “preliminares” depende de la experiencia del perito, selección de muestras, observación microscópica e interpretación de técnicas bioquímicas, cualitativas o semicuantitativas y adolecen de una cierta carga de subjetividad<sup>16</sup>.

## **2.4 Análisis del ADN en el laboratorio de Genética Forense**

Para el análisis de ADN, los principales indicios biológicos de utilidad forense son los fluidos biológicos, que son mas frecuentes en los hechos criminales, además de todo el material orgánico de origen humano.

### **2.4.1 Fluidos biológicos**

#### **2.4.1.1 Sangre**

Compuesta por plasma y paquete celular, el cual consta de: glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas (trombocitos)<sup>19,20</sup>. Numerosos factores como medio ambiente, temperatura, humedad, tipo de soporte, etc., influyen sobre su conservación afectando la coloración, aspectos físicos y químicos indicando putrefacción. Por lo que es recomendable para favorecer su conservación y análisis de la sangre líquida se refrigere a 4 ° C ó se conserve en papel FTA. La sangre contenida en soportes se debe dejar secar al ambiente y en un lugar protegido y posteriormente guardar en bolsas de papel o cartón<sup>21</sup>.

En rastros hemáticos el luminol de entre otros es el reactivo más utilizado en la búsqueda de manchas de sangre no visible tanto en la escena del crimen como en el laboratorio<sup>22,23,24</sup>. En controles positivos, las manchas de sangre producen luminiscencia. Como reactivo el luminol no altera la química y no interfiere en el análisis del ADN en sangre o en manchas. El luminol es altamente sensible y es capaz de detectar sangre muy diluida. Las reacciones químicas con el grupo hemo de la sangre producen energía en forma de luz<sup>20</sup>.

### **2.4.1.2 Saliva**

La saliva es una secreción ligeramente alcalina, compuesta por agua, moco, proteínas, sales y enzimas. Acompañando a la saliva, se encuentran las células descamadas del epitelio bucal que serán el sustrato para la extracción de ADN<sup>25</sup>.

Siendo un elemento biológico, sufre modificaciones físicas por diversos factores como (medio ambiente, temperatura, humedad, tipo de soporte, etc.) Por lo que para la conservación de este tipo de fluido biológico se recomienda dejar secar a temperatura ambiente, en un lugar protegido, y posteriormente guardar en bolsas de papel o cartón<sup>21</sup>.

La identificación de restos de saliva es muy importante, ya que puede conducirnos a la identificación del agresor si se ha obtenido un perfil de ADN<sup>26,27</sup>.

Su detección en el laboratorio se basa en la utilización del sustrato propio de la enzima, el almidón, marcado con una molécula coloreada formando un complejo insoluble. La acción hidrolizante del enzima liberará la molécula coloreada, que se vuelve soluble, apareciendo un producto coloreado que puede apreciarse a simple vista y cuantificarse en un espectrofotómetro. Para la confirmación de presencia de la saliva, deberán observarse células del epitelio bucal en los extractos de las muestras, a través de un frotis con observación al microscopio<sup>28</sup>.

### **2.4.1.3 Semen**

Es una mezcla viscosa de células espermáticas y suero (aminoácidos, azúcares, sales, iones y otros componentes orgánicos e inorgánicos) en cuya elaboración participan principalmente la vesícula seminal, la glándula prostática, la glándula de Cowper y los testículos<sup>29</sup>. En la investigación de delitos sexuales la búsqueda de células espermáticas del semen es de gran importancia debido a que se puede utilizar como elemento de identificación humana y para descartar sospechosos<sup>30</sup>. Por lo tanto su cuidado y su correcta

conservación es de vital importancia, el semen líquido y el obtenido de un frotis se debe refrigerar a 4° C<sup>21</sup>.

En el paquete celular además de los espermatozoides, podemos encontrar otros elementos formes tales como leucocitos y células epiteliales del tracto urinario aunque en número mucho menor. Otros rasgos característicos del semen son su pH básico (8.3) y su capacidad de fluorescer en la región visible del espectro cuando es irradiado con luz U.V.<sup>25</sup>.

La presencia característica de altas concentraciones de fosfatasa ácida (AcP) y de una proteína específica [Antígeno específico de próstata (PSA)] o proteína P30 serán rasgos que se utilicen en el diagnóstico previo en la investigación de restos de semen. Las altas concentraciones de dicha proteína en el plasma seminal se presentan como un rasgo característico y propio del semen<sup>25</sup>.

La identificación de (AcP) es de gran ayuda en casos de violaciones, en ellos, la presencia de semen debe confirmarse en forma adicional por otro método como; 1) la identificación microscópica de espermatozoide, 2) antígeno específico de vesículas seminales y 3) la cuantificación de antígeno prostático específico<sup>29</sup>.

La cuantificación de (AcP) es un indicador de la presencia de semen en flujo vaginal, incluso puede ser un indicador del tiempo aproximado de coito<sup>29,31,32</sup>.

## **2.4.2 Elementos biológicos su cuidado y conservación**

### **2.4.2.1 Tejido**

Inmediatamente después de la muerte se ponen en marcha los procesos autolíticos y de putrefacción cadavérica que dan lugar a la completa destrucción de los tejidos blandos. Los mecanismos de autólisis son diferentes en cada tejido y variables en función de condiciones tanto intra como extracelulares, como la cantidad de agua, la temperatura, etc. En los fenómenos de autólisis están implicadas gran número de enzimas, las que producen el mayor daño al ADN son las nucleasas endógenas<sup>33</sup>. Bajo determinadas circunstancias

como una desecación rápida, bajas temperaturas o alta concentración de sales, las nucleasas pueden destruirse o inactivarse frenando los procesos de degradación<sup>21</sup>.

Las muestras de tejido que para su estudio pueden estar fijadas en parafina son: piel, músculo, hígado, pulmón, corteza cerebral, nódulos linfáticos, testículos y tiroides, prefiriendo el tejido menos dañado o degradado. Es importante conocer el tipo de solución fijadora en la que se encuentra el tejido, ya que algunas de ellas producen la degradación del ADN y por lo tanto interferir en la extracción del ADN<sup>34</sup>.

Antes de proceder a la extracción del ADN, el tejido debe cortarse tan finamente como sea posible y mantenerlo en temperatura de congelación (-4°C). Antes de proceder a la extracción del ADN, el tejido se debe homogeneizarse de manera manual o eléctrica<sup>34</sup>.

#### **2.4.2.2 Hueso y Diente**

Las muestras que mejor resisten los fenómenos de destrucción cadavérica y por tanto las que mantienen su estructura celular más intacta son por un lado los restos óseos y por otro las piezas dentales, fundamentalmente debido a su estructura histológica que proporciona un aislamiento a sus componentes celulares mayor que el que se produce en los tejidos blandos<sup>33</sup>.

En el caso del tejido óseo, éste se compone fundamentalmente de una matriz orgánica calcificada, impregnada de sales minerales, con una alta concentración de fibras de colágeno que representa aproximadamente un 95% del peso de la matriz orgánica del hueso<sup>33</sup>.

La identificación de desaparecidos y restos cadavéricos por medio de técnicas de análisis de polimorfismos de ADN se ha convertido en una actividad frecuente dentro de la rutina pericial de los laboratorios de Genética Forense. En muchos de estos casos la extracción de ADN debe realizarse a partir de dientes y de piezas óseas<sup>35</sup>, y esta tarea no resulta siempre sencilla y directa, en particular cuando se ha de trabajar sobre hueso, ya que



además de influir los diferentes factores físicos, también influye el tipo y características químicas del suelo<sup>36</sup>.

La protección del medio externo que la matriz ósea brinda al ADN hace del hueso el último recurso para obtener información genética cuando el resto de tejidos es inútil para este fin, aunque si las condiciones son adversas, ni siquiera el ADN atrincherado en el hueso es inmune a la degradación<sup>21</sup>. Es recomendable para su conservación la deshidratación del hueso con lo cual se disminuiría el daño hidrolítico<sup>37,38,39</sup>.

Para observar las características morfológicas de los dientes se realiza una observación microscópica, o a través de estudios químicos o inmunológicos se llega a diferenciar de falsos positivos, en la observación microscópica se debe tomar en cuenta: la morfología, los premolares y molares, y tamaño. Para el estudio del ADN se utilizará la pulpa de los dientes, donde se encuentran células con un ADN de alta calidad; si la degradación del cadáver fuera importante se tomará el mayor número posible de dientes<sup>40</sup>.

### 2.4.2.3 Pelo

El pelo es de utilidad para la genética forense por su fácil obtención y porque es una matriz segura a la hora de su manipulación<sup>41</sup>.

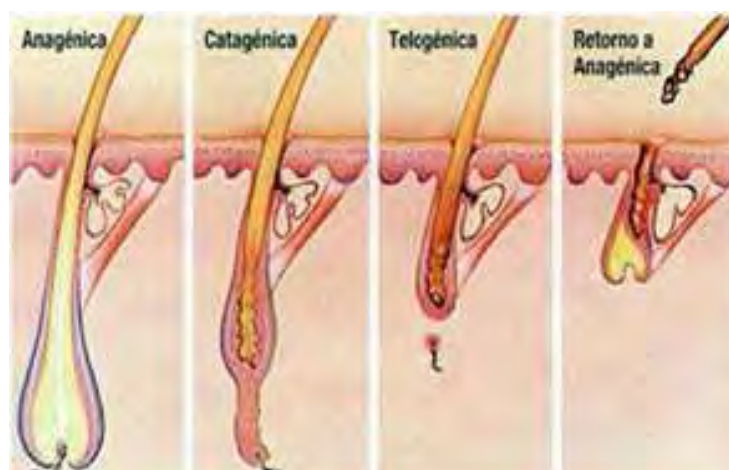


Figura No. 2 Fases del Pelo

La importancia del pelo como evidencia forense radica en su resistencia a la degradación, mantiene sus características a lo largo del tiempo incluso, es factible someterlo a análisis<sup>42</sup>.

Además de esta importante característica, la recolección de pelo es simple, no invasiva y replicable en caso de una eventual confirmación. La muestra no puede ser alterada físicamente<sup>42</sup>.

Es importante que antes de proceder a extraer el ADN es necesario realizar un análisis morfológico con lupa y microscopio de los elementos pilosos de los que se vaya a extraer ADN<sup>43</sup>.

Los análisis de una muestra que a primera vista parezcan pelos se inician con un estudio macroscópico de la misma, en el análisis se debe observar: el diámetro, la apariencia, el color y la longitud del pelo<sup>42,43,44,45</sup>.

El siguiente paso corresponde a un estudio microscópico individual y en el se debe observar.<sup>44,46,47</sup>:

1. La Cutícula en el humano, es suave y poco saliente, con escamas imbricas, en animales, son gruesas y poco imbricas.
2. La Corteza la mayor importancia forense proviene del hecho de que se halla implantada con gránulos pigmentados que originan el color del pelo.
3. La Médula es el canal que corre a través del pelo y pueden clasificarse en: (Ausente, Continua, Simple, Compuesta, Globular, Fragmentada). El pelo humano puede no exhibir médula o tenerla fragmentada, raramente muestra una medulación continua, algunas pueden tener apariencia cilíndrica.

La determinación del sexo del sospechoso se puede realizar en pelo gracias a que en la zona proximal o bulbo, el pelo presenta células nucleadas totalmente activas que contienen ADN. Aun así, no todos los pelos con bulbo pueden ser usados para el análisis de ADN. Las mejores muestras para el análisis de ADN nuclear son las que están en fase anagénica

(etapa de crecimiento) y luego en la catagénica (etapa de regresión). Los pelos en fase Telogénica (fase de caída) pueden ser utilizados para realizar el análisis de ADN mitocondrial<sup>42,48</sup>.

#### **2.4.2.4 Restos en uñas**

Las uñas son de interés forense, como muestra biológica indubitada y para la identificación cadavérica cuando no es posible una identificación por métodos no genéticos, y como lugar de búsqueda de restos biológicos en un hecho delictivo<sup>25</sup>.

Los casos de agresión sexual son especialmente dados a la búsqueda de restos biológicos en uñas, ya que es frecuente el forcejeo entre víctima y agresor. Una excoriación leve en la piel, puede dejar restos epidérmicos en las uñas suficientes para obtener un perfil de ADN<sup>25</sup>.

### **2.5 Causas de degradación del ADN**

En el laboratorio de Genética Forense, a menudo se trata con diferentes tipos de muestras biológicas que están lejos de ser una muestra ideal, tanto en lo que se refiere a su cantidad como a su calidad. Y que representan una serie de limitaciones que tiene que ver principalmente con las diferentes posibilidades de degradación del ADN de la muestra como son: inherentes a la propia muestra por efecto de la antigüedad o de las condiciones ambientales, lo cual es inevitable. Pero también pueden ser provocadas por un defecto en el empaquetamiento y conservación de las muestras durante el periodo de mantenimiento y envío al laboratorio, lo cual puede ser evitable mediante el uso de procedimientos y capacitación del personal. Las muestras más sensibles a este tipo de contaminación son las que contienen indicios húmedos, o los hisopos humedecidos que son utilizados para levantar manchas secas en el lugar de los hechos y en el cuerpo de la víctima. Para evitar la contaminación es necesario dejar secar las muestras a temperatura ambiente, en un lugar protegido y una vez secas introducirlas en bolsas de papel o cajas de cartón y su correcta identificación para su envío al laboratorio. También son susceptibles los indicios líquidos (sangre, orina, saliva, semen), los órganos y restos de tejidos blandos. Este tipo de muestras

deben mantenerse y enviarse refrigeradas o en su caso fijadas para su envío al laboratorio, para evitar la putrefacción de las muestras<sup>49</sup>.

Los causantes de modificaciones físicas y químicas en el ADN son los agentes oxidantes, las radiaciones (en especial las ultravioletas), la temperatura, la humedad, el pH, y las enzimas; tanto las procedentes de las propias células, como las procedentes de microorganismos<sup>33</sup>.

La utilización de tratamientos físicos y/o químicos puede dificultar algunos de los procesos del análisis de ADN, fundamentalmente los procesos de extracción y amplificación de ADN<sup>49</sup>.

Cuando el producto químico forma parte del soporte o sustrato donde cae la mancha como tintes, colorantes, pinturas, esmaltes y aceites o bien, cuando las muestras son sometidas a la acción de productos químicos (detergentes) en estos casos suele ser inevitable. Pero cuando las muestras han sido tratadas en productos conservantes como formol u otros productos (utilización de reveladores de huellas dactilares) que pueden afectar el aspecto químico, degradando el ADN. El formol produce la degradación del ADN, aunque sea poco tiempo (menos de 24 horas) en contacto con el solvente. Por ello siempre que sea posible debe evitarse preservación con formol o con soluciones que lo contengan. Si por algún motivo las muestras necesitan de fijación, se recomienda fijar con etanol. Se debe tener cuidado con los sistemas de luz U.V., que provocan la degradación de ADN<sup>49</sup>.

En todos estos casos donde se encuentre afectada la calidad y cantidad de muestra biológica que contenga ADN, una opción factible para llevar a cabo el análisis de ADN y obtener la huella genética es utilizando la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), descubierta en 1985 por Kary Mullis<sup>2,50</sup>, la cual consiste básicamente en la amplificación y posterior estudio de determinados fragmentos de ADN de gran polimorfismo<sup>51</sup>.

## 2.6 La técnica de la PCR

La técnica de la PCR es de gran utilidad para la genética forense ya que ha permitido estudiar cantidades en nanogramos, suficiente en condiciones ideales para obtener resultados de amplificación de un locus<sup>7</sup>. Además esta técnica es rápida, de fácil interpretación, muy sensible y altamente específica<sup>52</sup>.

La PCR se fundamenta en las propiedades del ADN y el criterio esencial es que, la muestra contenga la cantidad diseñada de ADN intacta que abarque la región que va a ser amplificada y que las impurezas sean suficientemente diluidas como para no inhibir la polimerización<sup>53</sup>.

Los componentes básicos para efectuar la PCR son el ADN que se quiere para amplificar un fragmento o locus, los primers o cebadores fragmentos diseñados que sirven para delimitar el copiado a llevarse a cabo, los nucleótidos, la enzima (taq polimerasa) y un buffer adecuado. Por otra parte, como componentes físicos un aparato que automatiza la reacción, el termociclador, el cual repite una serie de ciclos de temperaturas diseñadas las veces que requiera<sup>7</sup>. Hay tres ciclos fundamentales en la reacción de la PCR y la cantidad de ADN está limitado al número de veces que se repiten estos tres ciclos<sup>7,54,55</sup>:

1. Desnaturalización. Mediante la elevación de la temperatura a 94- 95 ° C las dos cadenas de la doble hélice de ADN molde se separan, quedando en forma de cadena simple.
2. Hibridación. Al disminuir la temperatura a 50-60°C, las cadenas vuelven a unirse exactamente en el orden que estaban (principio de la complementariedad de las bases) Los primers o cebadores se unen cada uno al ADN patrón o de cadena sencilla. Estos primers son oligonucleótidos (pequeñas secuencias de ADN) sintéticos diseñados y que hibridan en las cadenas flanqueantes del segmento a amplificar. La utilización de los primers significa que se debe tener información de la secuencia de ADN a amplificar.

3. Extensión. Finalmente, una vez situados los cebadores en su posición, aumentando la temperatura a unos 70-72 ° C se consigue que la enzima polimerasa comience a actuar, sintetizando una nueva cadena de ADN tomándola como molde la que ya existía. La síntesis se realiza a base de añadir a la nueva cadena los nucleótidos adecuados, de tal modo que aquellas se prolongan en una dirección 5' 3', de manera que a partir de una cadena se copia artificialmente otra, y eso acontece en las dos cadenas del ADN.

Cada grupo de tres pasos (desnaturalización del producto de doble cadena, hibridación de los primers y la extensión de la polimerasa), se denomina "ciclo". Cada paso del ciclo se lleva a cabo a temperaturas diferentes<sup>7,54,55</sup>.

Una vez terminado el primer ciclo, al final del cual nos encontramos con cuatro cadenas de ADN: las dos originales mas las dos nuevas, y que contienen solo los fragmentos de ADN de interés para la investigación, y que son exactamente complementarias a sus moldes es decir son cadenas de ADN que nos interesa analizar<sup>7</sup>.

Inmediatamente comienza un segundo ciclo, con las mismas tres fases, de tal modo que al final de la extensión tendremos ocho cadenas, ya que se copian las cuatro que había al final del primer ciclo. El proceso es exponencial y por ejemplo después de 20 ciclos se generan varios millones copias de ADN en cuestión. El proceso es automático y es realizado por un termociclador<sup>2,56</sup>.

La sensibilidad de la PCR es un aspecto muy importante a tener en cuenta de esta técnica, ya que es posible que el ADN no deseado (aunque se encuentre en una cantidad muy pequeña) se amplifique y obtengamos amplificaciones inespecíficas, por lo que una de sus mayores ventajas, se convierte a la vez en el principal inconveniente. Uno de los pasos dentro del proceso de análisis de ADN es cuantificar el material genético de tal manera que si hay más o menos de la cantidad de ADN requerida para amplificar no obtendremos producto de PCR. Para evitar la aparición de resultados falsos negativos, producidos generalmente por errores al pipetear y/o presencia de inhibidores, se recomienda emplear inhibidores y controles internos que compitan con la muestra<sup>54</sup>.

La técnica de la PCR tiene aplicación para el análisis de marcadores STRs, se basa en la determinación del tamaño en pares de bases de los fragmentos de ADN generados en la PCR, tamaño que vendrá definido por el número de repeticiones presentes en cada alelo. La separación de los fragmentos se lleva a cabo mediante electroforesis en gel o electroforesis capilar, y para la estimación del tamaño se usa un estándar interno en cada muestra. Además, se requieren patrones alélicos de cada marcador que sirvan de referencia para la asignación de los alelos presentes en la muestra problema<sup>2</sup>.

Para el análisis conjunto de varios marcadores genéticos mediante PCR ha sido necesario el establecimiento de reacciones de PCR *múltiple* que permiten amplificar simultáneamente varias regiones de ADN distintas mediante la adición a la mezcla de reacción de más de un par de primers. Hoy en día se pueden analizar de forma conjunta 15 marcadores STRs (e incluso más) a partir de 1 ng de ADN. Obteniéndose un perfil genético suficiente para la identificación e individualización. De esta forma, tras una reacción de PCR se puede obtener un resultado de individualización a partir de un indicio que contenga 1 ng de ADN<sup>2</sup>.

## **2.7 Polimorfismo de estudio en el laboratorio de genética forense.**

En el campo de la identificación humana y en específico en genética forense en donde su aplicación en diversos casos (identificación de personas, pruebas de paternidad, hechos históricos etc.), es necesario apoyarse en fundamentos científicos y conocimientos generales específicos que sean de utilidad para comprender en cada momento el cómo y el porqué de la elección de los polimorfismos a estudiar, por lo que dependerá directamente de las características de cada muestra así como del caso solicitado<sup>57</sup>.

### **2.7.1 ADN nuclear**

El ADN nuclear esta conformado por 3 mil millones de pares de bases distribuidos de manera irregular en los 23 pares de cromosomas. El ADN de cada persona proviene de partes iguales, 50 % del alelo paterno y 50 % del alelo materno, de acuerdo a las leyes

mendelianas. De tal modo que a través de la fecundación el ovulo materno comienza a dividirse de forma rápida e interrumpida, de tal forma que donde había una célula surgen dos, de dos surgen cuatro, de cuatro ocho, y así sucesivamente hasta completar los billones de células especializadas de las que están compuestos los seres humanos<sup>7</sup>.

El ADN nuclear es lineal y se localiza en el núcleo celular y representa el 99 % del contenido del ADN celular total. Se encuentra asociado de forma muy específica a ciertas proteínas formando unas estructuras filamentosas denominadas cromosomas<sup>58,59</sup>.

Las características más importantes del ADN nuclear para la identificación humana son<sup>7</sup>:

1. Es único para cada persona, excepto en el caso de los gemelos univitelinos.
2. Este tipo de análisis permite realizar estudios de paternidad y de maternidad, pero también, con los métodos científicos y estadísticos adecuados, se pueden establecer relaciones entre hermanos, primos, abuelos, nietos y otros grados de parentesco.
3. Sirve para determinar el sexo de la persona de la que proviene una muestra, porque se puede establecer la presencia del par XX o XY en el par 23.
4. Posee un enorme potencial de estudio, por la cantidad de ADN no codificante.

### **2.7.2 ADN mitocondrial (ADNmt)**

El ADNmt esta formado por 16.569 pares de bases (pb) distribuidos de forma circular y es de herencia exclusivamente materna, es decir, se hereda en forma inalterada de madres a hijos, todos los miembros de una familia que compartan la línea materna tendrán el mismo perfil de ADNmt, ya que únicamente el ovulo aporta sus mitocondrias al cigoto. Este tipo de ADN más que perfiles individuales permite identificar linajes maternos<sup>2,58</sup>.



Las características más importantes del ADNmt en la investigación forense son<sup>7,48</sup>:

1. El elevado número de copias por célula facilita que algunas de ellas persistan en condiciones adversas sin verse afectadas por la degradación.
2. Su pequeño tamaño (16.569 pb) favorece a su conservación en el tiempo a pesar de que las condiciones no sean las más apropiadas. Estas dos características garantizan la estabilidad post-mórtem del ADNmt y una mayor resistencia que el nuclear.
3. La transmisión por vía materna favorece y complementa la realización de estudios de identificación y de relación familiar, aun en circunstancias adversas, como por ejemplo cuando faltan los miembros de alguna generación o cuando no se dispone del padre.
4. Coadyuva con lo STR's para establecer la identidad
5. Se recurre al análisis del ADNmt cuando existe una gran degradación de las muestras enviadas al laboratorio ya sea por una inadecuada conservación o por la antigüedad que tienen. Y cuando la cantidad de muestras de que se dispone es mínima.
6. Cuando existe un sospechoso en un hecho delictivo pero no se dispone de una muestra indubitada del mismo, se puede recurrir al estudio del ADNmt de un familiar relacionado matrilinealmente para excluirlo.

### **2.7.3 Cromosoma Y**

El cromosoma **Y** en el par 23 determina el sexo masculino, y solo lo tienen los varones<sup>53</sup>. Por lo tanto su herencia es exclusivamente paterna, es decir, se transmite de padres a hijos varones sin que exista la posibilidad de recombinación. Por tanto la información genética contenida en el mismo se hereda como un haplotipo o sea los genotipos para cada uno de los marcadores del cromosoma **Y** se transmiten en bloque y no de forma independiente. De esta forma, salvo posibles mutaciones, todos los individuos varones emparentados por vía paterna comparten el mismo haplotipo para el cromosoma **Y**<sup>2</sup>.

Las características más importantes del Cromosoma Y en la investigación forense son<sup>4,7,48</sup>:

1. En casos de paternidad en los que no existe presunto padre: otros parientes como los hijos de tíos paternos pueden ser analizados mediante marcadores del cromosoma Y.
2. En caso de agresiones sexuales en las que el semen del sospechoso varón se encuentra mezclado con células de una víctima mujer: los marcadores del cromosoma Y permiten una detección más sensible de la presencia de ADN de un individuo masculino aún cuando este se encuentre inmerso en una gran cantidad de ADN femenino o cuando el agresor sea azoospermico o vasectomizado. Además, el uso de polimorfismos de ADN del cromosoma Y nos permite incluir o excluir a un sospechoso.
3. Cuando en una catástrofe aparecen gran número de cadáveres pueden ser clasificados según su polimorfismo Y para poder discriminar que cadáveres se tienen que cotejar con cada familia antes realizar los estudios de ADN nuclear autosómico.

Tanto el ADNmt como los marcadores del cromosoma Y tienen mucho menos poder de discriminación que el ADN nuclear autosómico utilizado habitualmente. Por lo tanto ninguno de estos tipos de ADN identifica individuos sino líneas familiares maternas y paternas<sup>48</sup>. Pero presentan ventajas importantes ya que coadyuva en caso de las muestras de referencia.

Como norma general siempre que sea posible se realizará el análisis de polimorfismo de ADN nuclear, ya que son los análisis que nos proporcionan mayor información en cuanto a la identidad de una muestra o indicio<sup>4,48</sup>.

Los análisis de ADN presentan características que los hacen de mayor utilidad para el área de genética forense, estas características se derivan principalmente de la naturaleza de la muestra<sup>3</sup>.

Transmisión de la herencia genética. El ADN, en cuanto portador de información genética y de acuerdo a las leyes Mendelianas, es transmisible de padres a hijos. De modo que en toda persona la mitad del ADN nuclear procede del alelo paterno y la otra del alelo materno, el ADN mitocondrial es exclusivamente de herencia materna y el ADN del cromosoma Y es heredado únicamente por los hijos varones<sup>3</sup>.

Alto nivel de precisión. Debido al elevado polimorfismo de ciertos sectores de ADN, es posible lograr perfiles en los que la probabilidad de repetición se reduzca a cifras no representativas. Con excepción de los gemelos monocigóticos, todo ser humano tiene una estructura diferente de ADN<sup>3</sup>.

Universalidad de la muestra. El ADN se encuentra presente en todas las células nucleadas y, por ende, en todos los tejidos, lo que permite su aislamiento desde prácticamente cualquier resto biológico<sup>3</sup>.

Universalidad del soporte. A diferencia de lo que ocurre con las huellas dactilares, que necesitan un tipo de soporte relativamente especial para estamparse y mantenerse, las muestras biológicas pueden ser recuperadas de una gran diversidad de medios<sup>3</sup>.

Gran estabilidad de la muestra. El ADN tiene una gran estabilidad en el medio ambiente y sin que se requieran condiciones excepcionales, siendo posible su aislamiento e identificación en células con meses, años y aun siglos de antigüedad<sup>3</sup>.

Multiplicación de la muestra. Con la técnica replicante del ADN a través de la PCR, y cuando la muestra obtenida sea pequeña, es posible poder realizar cuantos exámenes sean necesarios<sup>3</sup>.

Conocer la posibilidad y exactitud de los exámenes de ADN constituye un requisito fundamental, pues precisamente sólo ello permitirá sostener decisiones relevantes desde la perspectiva jurídica<sup>3</sup>.

La certeza de los exámenes se sustenta sobre la base “que todos los tejidos y fluidos corporales del mismo individuo poseen el mismo ADN y en consecuencia muestra el mismo perfil genético” y que nadie más posee esa identidad genética<sup>3</sup>.

Con mucha frecuencia las personas implicadas en una acción criminal intentan hacer desaparecer cualquier indicio que puede ser utilizado como prueba de su participación en el mismo. Afortunadamente, el análisis de ADN mediante PCR proporciona a la Genética Forense la posibilidad de estudiar indicios mínimos aceptables que de otra forma sería imposible analizar<sup>60,61</sup>. Incluso se ha logrado extraer y analizar ADN de manchas de sangre que se han intentado eliminar mediante lavado. Sin embargo, en este tipo de elementos biológicos se plantea la importante dificultad del tamaño de la mancha. Por esta razón se hace imprescindible disponer de métodos de búsqueda cada vez más sensibles, capaces de detectar indicios no visibles. Además es necesario que estos métodos no tengan un efecto adverso pero si aceptables para el posterior análisis del ADN<sup>24</sup>.

Debido a que en los laboratorios de genética forense se trabaja con muestras biológicas diferentes, las cuales no siempre llegan en las condiciones apropiadas para realizar el análisis de ADN sino también, porque el tipo de muestras o indicios con los que se trabaja son únicos. Y en ocasiones, la cantidad con que se cuenta de los mismos, es muy pequeña que solo permite realizar los análisis una vez; de ahí que aspectos como el control de la documentación, la disponibilidad de instalaciones y condiciones ambientales, la capacitación del personal, la aplicación de métodos de análisis documentados y la aplicación de controles de calidad adquieren gran relevancia para verificar la validez y confiabilidad de los resultados obtenidos durante el proceso de análisis del ADN<sup>1</sup>.

## **2.8 Aplicación de indicadores de control de calidad durante el proceso de análisis de ADN**

Todo Sistema de Gestión de Calidad diseñado y aplicado a un proceso se puede medir “Sherlock Holmes”, por lo que se requiere de mecanismos que garantice su perfeccionamiento. Uno de los aspectos fundamentales en el proceso de implantación de un Sistema de Calidad es el control del cumplimiento de todas las disposiciones que se han definido de manera que se revise y evalúe periódicamente si estas se cumplen y además si son adecuadas para asegurar el nivel de calidad propuesto<sup>62,63</sup>.

La aplicación de Sistemas de Gestión de Calidad, en el campo de las Ciencias Forenses es de gran importancia por los beneficios que se obtienen con ellos, como la optimización de gastos, la disminución de tiempo mal empelado y recursos de entre otros<sup>1</sup>.

Actualmente existen recomendaciones y lineamientos de control de calidad por parte del Grupo Español y Portugués de la Sociedad Internacional de Genética Forense (GEP-ISFG), del FBI (Buro Federal de Investigación), del Scientific Working Group del FBI (SWG), el European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) y del ASCLD/LAB, para laboratorios que realizan análisis de ADN, sin embargo la elaboración de dichas recomendaciones debe ir aunado con la promoción, el fomento de la aplicación y evaluación de dichas recomendaciones<sup>16,64</sup>.

Un documento aceptado a nivel internacional, que puede ser utilizado como base para la implementación de un Sistema de Gestión de Calidad, a nivel de laboratorios en Ciencias Forenses, es la Norma ISO/IEC 17025: 2000 (NMX-EC-17025-IMNC-2006) “Requisitos Generales para la Competencia de los laboratorios de Ensayo y Calibración”, así también las normas de seguridad y limpieza que los laboratorios de ciencias forenses deben adoptar para garantizar la integridad de la evidencia, veracidad de los resultados obtenidos y seguridad del personal del laboratorio<sup>1</sup>.

En el laboratorio de Genética Forense el proceso de análisis de ADN es crítico y fundamental para la obtención de resultados confiables, por lo que cada fase del proceso de análisis de ADN debe realizarse de acuerdo a procedimientos establecidos por el laboratorio y en base a la relevancia e importancia que cada fase requiere. El proceso de análisis de ADN puede dividirse en dos etapas:

Etapa I: Fase I. Recepción de Muestras  
Fase II. Pruebas Presuntivas y Confirmativas  
Fase III. Extracción  
Fase IV. Cuantificación

Etapa II: Fase V. Amplificación  
Fase VI: Interpretación de Resultados  
Fase VII: Dictamen Pericial  
Fase VIII: Base de Datos

Las fases de la Etapa I son fundamentales, ya que marcarán la pauta y que de acuerdo a sus resultados, se continuará con las siguientes fases del proceso. En la fase I se evaluarán las características físicas y organolépticas para determinar si los indicios son viables para pasar a la fase II. Una vez aceptados los indicios por el laboratorio, se llevarán a cabo pruebas presuntivas y confirmativas para establecer, de acuerdo a la naturaleza del indicio biológico, si corresponden o no a sangre, semen, saliva, elemento piloso, etc. Y así establecer si los indicios son de naturaleza humana. Si cumple con la fase II los indicios pasarán a la fase III en la cual se extraerá el ADN del indicio, de tal forma que al cubrir los requisitos en esta fase se continuará con la siguiente (fase IV) en la cual se cuantificará el ADN para conocer la cantidad aproximada que se tiene, y si la cantidad de ADN es suficiente se dará paso a la siguiente fase.

Etapa II. Una vez ingresado a esta etapa, la cual no es menos importante, y rebasado los parámetros o indicadores de la etapa I, los resultados de alguna manera ya son confiables. Esta etapa comienza con la amplificación (fase V) de los fragmentos de ADN

de interés forense. Una vez que se ha finalizado el proceso de análisis molecular del indicio se continuara con el análisis de resultados (fase VI) en donde se tendrán que caracterizar y clasificar los fragmentos de ADN para obtener un perfil genético, el cual se tendrá que confrontar con otro perfil genético obtenido de una muestra de referencia. La comparación nos permitirá establecer la identidad. Una vez establecida la identidad a través de los análisis de los perfiles genéticos, se elaborara un dictamen pericial (fase VII) y se finalizara con el almacenamiento de los perfiles genéticos en una base de datos (fase VIII), con esta fase se dará por terminado el proceso de análisis del ADN.

Es importante señalar que cuando el indicio al momento de ser evaluado o analizado, en cualquiera de las fases del proceso, no cumple con los criterios (indicadores) establecidos por el laboratorio, no será posible continuar con el proceso de análisis en búsqueda de ADN, por lo que se dará por finalizado el proceso. De igual manera deben existir registros que respalden las actividades realizadas durante el proceso de análisis de ADN, con el fin de tener evidencia documentada para respaldar los resultados obtenidos, así como para cumplir con los requisitos de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006.

Por lo anterior, el laboratorio de Genética Forense debe diseñar un sistema de control de calidad para evaluar en forma individual las fases del proceso de análisis de ADN. Este sistema de control de calidad puede realizarse con la implantación de indicadores de control de calidad (ICC).

Dichos ICC deben generar datos pertinentes y significativos relacionados al tratamiento que se le aplico al indicio. Además, para el diseño de estos indicadores es recomendable centrarse en aspectos que sean medibles y que tengan que ver con la evaluación de la calidad en el trabajo de laboratorio como por ejemplo procedimientos, formatos, registro de bitácoras y reactivos, etc. Sin olvidar que estos documentos deben estar siempre accesibles al personal autorizado<sup>65</sup>.

Los indicadores de control de calidad, deben ser una herramienta de seguimiento y control que permitan vigilar y evaluar el desarrollo del proceso en el análisis del ADN y de esta manera tomar decisiones a corto, mediano y largo plazo para una mejora continúa<sup>66</sup>.

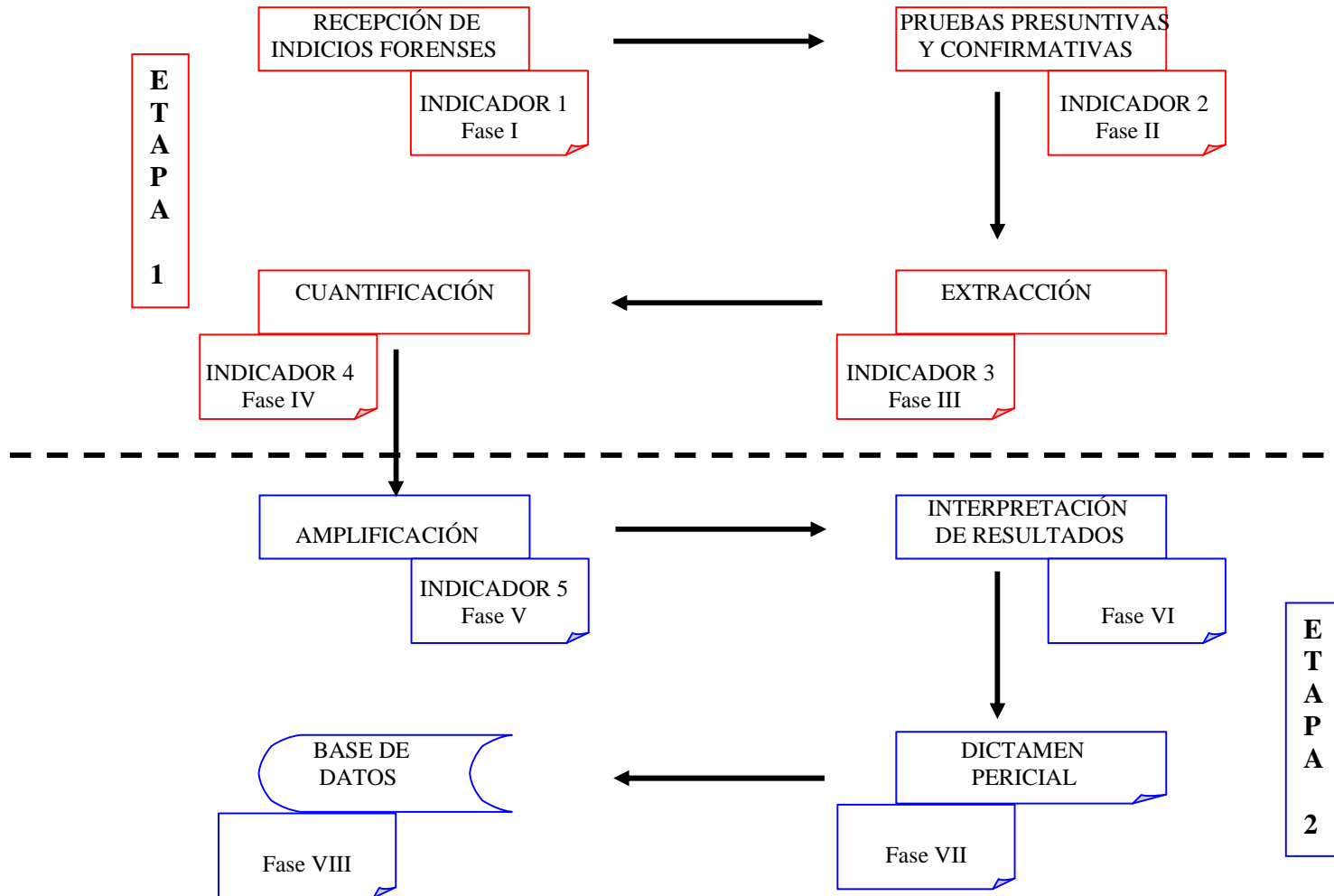
Los indicadores de medición para el proceso de análisis del ADN, proporcionarán información relevante de cada fase, por lo que es importante señalar que ningún indicador constituye por si solo una medida de sostenibilidad, es decir, tiene que ser integrado en conjunto con los otros indicadores a lo largo del proceso de análisis<sup>66</sup>. Los indicadores se deben aplicar y analizar en cada fase del proceso de análisis del ADN, ya que la evaluación no se debe realizar al final del proceso<sup>65</sup>.

De acuerdo a lo anterior es recomendable e importante aplicar indicadores en los procesos de control de calidad en la Etapa I y así contribuir a generar información de base de acuerdo de las características de los indicios. Los indicadores de control de calidad señalan técnicamente si los indicios son viables para pasar de una fase a otra hasta concluir con la fase final (fase VIII) del proceso de análisis del ADN.

La puesta en marcha y la aplicación de indicadores de control de calidad en el proceso de análisis de ADN, deberá estar respaldada por procedimientos que son instrucciones detalladas que por escrito especifican la manera correcta de como debe efectuarse o medir determinada prueba o procedimiento a través de un registro o formato<sup>67</sup>. **(Ver Anexo I)**. Además de estar cumpliendo con las buenas practicas de laboratorio.



## APLICACIÓN DE INDICADORES DE CONTROL DE CALIDAD DURANTE EL PROCESO DE ANÁLISIS DEL ADN



### **2.8.1 Indicador 1. Formato de Recepción de Indicios (Seguimiento de la Cadena de Custodia). Fase I**

Los indicios que llegan al laboratorio de genética forense son susceptibles de una serie de modificaciones por las condiciones ambientales a la cuales se vieron sometidas desde el hecho hasta su hallazgo. Lo que implica un reto en el análisis del indicio para el perito. Debiendo tomar en cuenta el tipo de soporte en que se encuentran. El lugar de procedencia. El tipo de muestra biológica. Las condiciones en las que fueron levantadas, embaladas y conservadas para su traslado al laboratorio etc., todo lo cual afecta directamente la calidad del ADN y como consecuencia los análisis forenses. Debido a ello es necesario aplicar un ICC en esta etapa, el cual evalúa los indicios y las condiciones en las que fue hallado y en las que han llegado al laboratorio de genética forense<sup>48</sup>.

La aplicación de este indicador en esta fase tiene como objetivo principal evaluar físicamente a los indicios y determinar si son recibidos para su estudio por el laboratorio de genética forense. Este indicador recopilará información concerniente a los datos de solicitud, datos de la muestra y además evaluará las características del embalaje y la rotulación, así también se dará una descripción general del indicio (características físicas y organolépticas). **Ver anexo II**

Al final de la evaluación y con los resultados obtenidos a través del ICC el perito tendrá una herramienta para concluir si el indicio cumple con los requisitos mínimos para que este sea viable, es decir el indicio deberá estar embalado de acuerdo a su naturaleza, debe tener sello de seguridad para asegurar su integridad, debe estar rotulado, el indicio de preferencia debe estar seco o en su defecto debe estar en un medio adecuado de conservación. Si el indicio cumple mínimo con estos requisitos podrá ser recibido. Una vez aceptado el indicio se dejará constancia técnica de la aceptación del mismo y se continuara con la siguiente fase del proceso de análisis (fase II). Cuando el indicio no sea viable, en el ICC se deberán asentar los motivos o justificaciones por las que no puede ser recibido, dejando constancia técnica de la no aceptación del indicio.

## **2.8.2 Indicador 2. Pruebas presuntivas y confirmativas. Fase II**

Una vez que han sido recepcionados o recibidos los indicios y con el fin de individualizarlos existen pasos previos que nos permiten discriminar el tipo de indicio biológico ante el que nos encontramos. Ello se logra a través de las pruebas preliminares, las cuales son sencillas de realizar, son de bajo costo y muy rápidas, sin embargo no por ello son menos importantes ya que nos ayudan a determinar la naturaleza del indicio<sup>48</sup>.

Las pruebas presuntivas son técnicas que nos revelan la posible naturaleza del indicio, este tipo de prueba son únicamente orientativas. Es decir, sirven sólo para descartar, pero no para concluir. Algunas de las técnicas utilizadas son: reacciones químicas colorimétricas con desarrollo de color, así como un estudio morfológico etc. Una vez que se ha determinado el tipo de indicio que hemos de analizar, interesa saber si se trata de una muestra humana<sup>48</sup>.

En esta misma fase se aplican las pruebas de confirmación, las cuales son técnicas que como indican, confirman la naturaleza del indicio biológico. Es decir confirman si se trata por ejemplo de semen, sangre, saliva, pelo, etc. de origen humano. Algunas de las técnicas utilizadas son: reacciones antígeno-anticuerpo, reacciones químicas colorimétricas, estudio de características microscópicas, etc. En el caso de que los indicios sean de origen humano se procederá a analizarlos mediante técnicas de ADN<sup>48</sup>.

Los resultados obtenidos a través de las técnicas aplicadas y registrados en el ICC, confirmarán si el indicio que ha sido recibido por el laboratorio de Genética Forense es de origen humano. Para esto el perito debe realizar como mínimo dos técnicas para pruebas presuntivas y dos para pruebas confirmativas, esto con el fin de asegurar la naturaleza del indicio.

Si los resultados obtenidos indican que el indicio es de naturaleza humana, entonces esté será viable para dar continuidad al proceso (Fase III). En el caso de que los resultados indiquen que el indicio no es de naturaleza humana el proceso se detendrá en esta fase,

dejando constancia técnica documentada de la aceptación o no aceptación del indicio. **Ver anexo III**

### **2.8.3 Indicador 3. Extracción. Fase III**

El proceso de extracción consiste en aislar al ADN de los fluidos biológicos así como también de los diferentes tejidos biológicos de interés<sup>48</sup>. Se trata de un paso fundamental en el análisis genético de los indicios forenses, ya que de no obtenerse el ADN en cantidad y calidad suficientes no se podrá continuar con el proceso de análisis de ADN<sup>7</sup>.

La aplicación del ICC en esta fase evalúa si el indicio contiene material genético necesario para el proceso, además orientara al perito a determinar si se obtuvo ADN del indicio, dejando constancia técnica documentada del tratamiento que se dio al indicio en esta fase. Una vez concluida la fase de extracción se continuará con la fase de cuantificación (fase IV), la cual confirmara la presencia y cantidad de ADN extraído. **Ver anexo IV**

### **2.8.4 Indicador 4. Cuantificación (PCR tiempo real). Fase IV**

La PCR tiempo real permite, a través de la amplificación de un fragmento de ADN y su detección por fluorescencia, cuantificar el producto de la reacción y detectar posibles mutaciones en la secuencia<sup>48,52</sup>. La cuantificación del extracto de ADN humano es crítica durante el proceso de análisis del ADN, ya que determina si hay ADN así como también orienta al perito a conocer la cantidad de ADN existente en el indicio. La cuantificación del ADN ayudara a reducir el tiempo mal gastado y a minimizar el gasto en reactivos y consumibles.

Una vez cuantificada y determinada la cantidad de ADN el perito, de acuerdo a su experiencia, establecerá el tratamiento que se le realizará a la muestra de ADN (concentración o dilución). Sin embargo de no obtener la cantidad de ADN necesaria

(2ng/5mL) y de acuerdo al criterio del perito, se deberá realizar nuevamente la extracción del ADN.

La PCR tiempo real es una técnica que certifica que hay ADN humano, por lo que el perito tendrá la capacidad para determinar si la cantidad de ADN obtenida es la suficiente para continuar con la siguiente fase del proceso (fase V). La aplicación de este ICC dejará constancia documentada, concerniente al tratamiento que se le realizó a la muestra de ADN en esta fase. **Ver anexo V.**

#### **2.8.5 Indicador 5. Amplificación (PCR). Fase V**

La PCR es una técnica de amplificación in Vitro que nos permite sintetizar millones de copias idénticas de una secuencia única de ADN. Esta técnica se basa en la facilidad que tiene la molécula de ADN para desnaturalizarse y renaturalizarse. La síntesis de ADN se inicia utilizando secuencias específicas de 20 a 30 nucleótidos, complementarios al fragmento que se desea amplificar en combinación de una ADN polimerasa termoestable que incorpora los nucleótidos. La reacción se lleva a cabo en un termociclador que realiza la desnaturalización, acoplamiento y la síntesis de la cadena de ADN logrando un aumento exponencial de los fragmentos de ADN de interés<sup>52</sup>.

Los resultados obtenidos de la amplificación (electroferograma) y con la evaluación del ICC, el perito confirmará si hubo productos de la PCR, siendo así se continuara con el proceso. Así mismo, si no hay productos de la PCR se detendrá el proceso de análisis del ADN. En el caso de no obtener amplificación, el perito debe tener la capacidad y la experiencia para determinar las posibles causas por la que no se obtuvo amplificación, como por ejemplo inhibidores de la PCR, impurezas, etc. De igual manera el perito debe ser un experto en las técnicas y equipos utilizados durante todo el proceso de análisis de ADN.

Habiendo confirmado la presencia de material genético, a través de la PCR tiempo real, una vez superada la fase de amplificación, y con la aplicación y evaluación de ICC hasta

esta fase, y bajo la supervisión del perito, se asegurará la obtención de resultados (perfil genético).

Con este indicador además se generara evidencia documentada que respalde el tratamiento que se le dio al indicio hasta esta fase del proceso, ya que es la fase final del análisis molecular del ADN. **Ver anexo V**

### **2.8.6 Interpretación de Resultados. Fase VI**

En esta fase de análisis de resultados se caracterizaran y clasificaran los fragmentos de ADN para obtener un perfil genético<sup>48</sup>, ya que los análisis del ADN están basados en la comparación de perfiles genéticos<sup>68</sup>, entendiendo como perfil genético el conjunto de características hereditarias o patrón genético para un amplio numero de marcadores genéticos de uso forense, que posee un individuo y que es detectable en cualquier muestra biológica que proceda de él<sup>69</sup>.

En esta fase del proceso se pueden encontrar dos situaciones<sup>48</sup>:

1. Qué se disponga de muestras de referencia (indubitadas) para la comparación de perfiles genéticos con los indicios (muestras desconocidas, o dubitadas).
2. Qué no se disponga de muestras de referencia. En este caso se pueden introducir los perfiles genéticos obtenidos a una base de datos, y realizar una comparación automatizada en la misma, esto facilitara la identificación cuando no existen otros medios, en el caso de no obtener resultados concluyentes de este perfil genético, este quedará como registro en la base de datos para confrontas futuras.
3. Qué se hayan obtenido perfiles genéticos parciales

El resultado de la comparación de perfiles puede ser la exclusión (no coincidencia o incompatibilidad de los perfiles genéticos) o la posibilidad de inclusión (coincidencia o compatibilidad de los perfiles genéticos) estos resultados no tienen valor si no se realiza a través de una base estadística- matemática que los fundamente. Pero también existe la

posibilidad de la no- exclusión debido a la incorrecta aplicación de las técnicas de análisis de ADN así como a las características propias del indicio (contaminadas, degradadas, antiguas, etc) por lo que se obtienen perfiles genéticos parciales<sup>1,7,69</sup>.

Para el análisis de resultados se deben utilizar escaleras alélicas, las cuales son patrones de referencia conformadas por la suma de todos los alelos posibles. La interpretación de los resultados se realiza por comparación de los indicios con una escalera alélica, de tal modo que no puedan existir problemas de interpretación al momento de asignar un valor<sup>7</sup>.

### **2.8.7 Dictamen pericial. Fase VII**

Es el juicio con fundamento técnico-científico que emite un especialista de una rama de la ciencia o el saber (perito) dirigida a una autoridad y responde a un planteamiento determinado, relacionado con personas, cosas o hechos, en donde el perito practicará todas las operaciones y experimentos que sirvan de fundamento para la elaboración de su dictamen y lo emitirán por escrito.

Por lo tanto el dictamen pericial es una declaración del proceso de análisis del ADN, el cual debe ser claro, detallado, breve y relevante. Dicho dictamen debe fundamentarse con los documentos (ICC) generados durante todo el proceso de análisis del ADN. Los Informes y dictámenes entregados por el laboratorio de Genética Forense, deben ofrecer máxima confiabilidad, pues en ellos la autoridad fundamenta la impartición de justicia.

Requisitos mínimos que debe contener el Dictamen Pericial<sup>70,71</sup>:

- a) Número de Averiguación Previa
- b) Tipo de caso
- c) Análisis solicitado
- d) Planteamiento del problema
- e) Descripción del indicio

- f) Descripción de la metodología empleada (proceso)
- g) Marcadores genéticos utilizados
- h) Interpretación
- i) Resultados y conclusiones
- j) Registros generados durante el proceso de análisis de ADN (ICC)
- k) Disposición de la evidencia
- l) Fijación fotográfica
- m) Nombre, firma y puesto de la persona que acepta la responsabilidad del contenido del informe

### **2.8.8 Base de Datos. Fase VIII**

El uso del análisis de ADN en apoyo a la investigación del crimen, ha sido el avance más significativo en las ciencias forenses “la herramienta de lucha contra el crimen del siglo XXI”. El ADN del material biológico obtenido del lugar de los hechos y de probables responsables y la búsqueda de éstos entre una colección de perfiles genéticos en las bases de datos, se ha convertido rápidamente en una actividad de rutina en la práctica forense en muchas jurisdicciones criminales de todo el mundo<sup>52</sup>.

Muchos de los delitos que quedan sin resolver porque en un momento determinado no hay un sospechoso, pueden ser resueltos con posterioridad, incluso años después de que se hayan cometido, gracias al desarrollo de las bases de datos. Las mismas pretenden colaborar en la resolución de casos criminales permitiendo la comparación automatizada de perfiles de ADN provenientes de diversas fuentes: indicios no identificados del lugar de los hechos, muestras de referencias de probables responsables o convictos y muestras de referencia de las víctimas<sup>52</sup>.

Los beneficios de esta tecnología consisten en el potencial de realizar identificaciones rápidas y robustas de probables responsables a través de comparaciones automatizadas en bases de datos criminales centralizadas, la capacidad de excluir de manera confiable personas inocentes de las investigaciones, el incremento de la verosimilitud para generar evidencia fiable y persuasiva para presentar a la autoridad competente, la reducción en el



costo de muchas investigaciones, la probabilidad disuasoria de la base de datos de ADN sobre delincuentes potenciales y un posible incremento de la confianza pública en el proceso judicial<sup>52</sup>.

Dentro de los aspectos a considerar en la creación de una base de datos de ADN se encuentran<sup>52</sup>:

- a) Tipo de personas consideradas para la inclusión: Probables responsables, sentenciados, víctimas y familiares.
- b) Tipo de delitos: Robos, homicidios, ataques contra la libertad sexual.
- c) Tiempo de permanencia de los datos en la base: Mientras viva el donante, mientras permanezca en la cárcel, mientras prescriba el delito o hasta que la persona cumpla una edad determinada.
- d) Gestión de la base de datos: Es imprescindible que el acceso al equipo informático sea totalmente restringido, sólo personas autorizadas con claves específicas y en momentos limitados deberían consultar y actualizar las bases, que además debe contar con un historial de movimientos en la misma.
- e) Almacenamiento de indicios y muestras de referencia: Destruirlas o guardarlas terminado el proceso legal.
- f) Datos técnicos y operativos: La calidad y la perfección dependen de múltiples circunstancias que se resumen en disponer de los medios y el personal adecuados.

En México se requiere que se legisle la creación y mantenimiento de las bases de datos de ADN, ya que gran parte del potencial de esta herramienta de identificación se está desaprovechando. Se requiere una gran inversión de recursos para la generación de la base de datos, pero es obligada si se desea combatir a la delincuencia, ya que muchos de los delitos sin resolver podrán esclarecerse con prontitud por la comparación automatizada de un perfil genético con múltiples hechos probablemente constitutivos de delito, facilitando las investigaciones ministeriales<sup>52</sup>.

A lo largo del proceso del análisis del ADN deberán quedar registros de forma documentada e independiente de cada una de las fases del proceso, con la aplicación de indicadores de control de calidad se asentará la información concerniente al tratamiento que se le dio a los indicios, y así generar evidencia documentada que permita evaluar, dar trazabilidad y confiabilidad a los resultados obtenidos durante todo el proceso de análisis del ADN, con esto demostrar que existe clara constancia de que se trata de una investigación de naturaleza estrictamente científica, además de dar seguimiento a la cadena de custodia<sup>72</sup>.

## **Planteamiento del Problema**

En la actualidad, el Control de Calidad en los Laboratorios de Genética Forense en países como España, E.U., Colombia, entre otros, se están fortaleciendo. Grupos como el FBI, ASCLD, SLAGF, GITAD, están tomando conciencia sobre la importancia de una correcta aplicación de controles de calidad durante el proceso del análisis del ADN, desde la recepción de indicios biológicos, la extracción y cuantificación de ADN, amplificación y análisis del producto amplificado y emisión del dictamen.

En México no existen normas específicas que regulen la implementación de controles de calidad aunado a esto, esta la necesidad de homologar los procesos dentro de los laboratorios de Genética Forense. En consecuencia, no existen indicadores que evalúen y verifiquen las actividades durante el análisis del ADN, estos indicadores proporcionarían información útil respecto a la ejecución de protocolos y procedimientos establecidos por el laboratorio, además de ser una guía del control de calidad, ya que el control de calidad no debe ser una tarea que se ejecute al final del análisis, sino que debe integrarse durante todo el proceso. La aplicación de los indicadores de calidad servirá para prevenir y evitar errores, realizar mejoras, disminuir costos y apoyar la toma de decisiones.

En el presente trabajo se describirán las características para conformar y seleccionar los indicadores dentro del proceso y poder aglutinar el control de calidad, así como su aplicación durante el proceso de análisis del ADN para generar documentación que permita evaluar y verificar la transparencia, trazabilidad y confiabilidad de los resultados obtenidos durante el proceso de análisis del ADN.

## **Objetivo**

Establecer los indicadores dentro del proceso analítico en el análisis del ADN de uso forense, para generar el control de calidad en el laboratorio.

## **Metodología:**

1. Revisión bibliográfica sobre el control de calidad en los laboratorios de Genética Forense en:
  - a. Base de datos: Medline y Medigraphic
  - b. Libros de Genética Forense, de Criminalística
  - c. Revistas: Forensic Sci, Int, Croatian Medical Journal, Journal Forensic Sci, Cuad Med Forense, Rev Mex Patol Clin, Acimed, Rev Ins Nal Enf Resp Mex, Nat Rev Genet.
  - d. Web: criminalistica.net, imbiomed.com.mx, cej.justicia.es, slagf, gep-isfg, gitad.

### Palabras clave de búsqueda:

- Genética forense
  - Control de calidad
  - Indicadores de control de calidad
  - Proceso de análisis del ADN
  - Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)
  - Pruebas de orientación o confirmación en Genética Forense
2. Recopilar y seleccionar la información referente al control de calidad en laboratorios de genética forense
  3. Visitas al laboratorio de Genética Forense para identificar como se lleva a cabo el proceso de análisis del ADN desde la recepción de las muestras hasta la emisión del dictamen
  4. Conjuntar la información seleccionada y lo observado en las visitas al laboratorio para determinar que fases del proceso deben ser evaluadas y proponer los indicadores de control de calidad pertinentes
  5. Elaborar el anteproyecto para que sea revisado y aprobado
  6. Realizar las correcciones necesarias
  7. Elaborar el reporte final
  8. Realizar las correcciones necesarias
  9. Entregar el reporte final

## **Importancia del Estudio**

Con la aplicación de los indicadores de control de calidad se generará constancia técnica del tratamiento que se dio al indicio durante su análisis, con esto el laboratorio de genética forense podrá demostrar la confiabilidad de sus resultados, además de cumplir con los requisitos que exige la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 “Requisitos Generales para la Competencia de los laboratorios de Ensayo y Calibración”. Estos indicadores serán de utilidad para tomar medidas preventivas y realizar mejoras continuas al proceso de análisis.

## **Conclusión**

La aplicación de indicadores de control de calidad durante el proceso de análisis del ADN tiene como finalidad la evaluación de cada una de las fases de forma individual. Estos registros (ICC) serán evidencia documentada que respalden el tratamiento que se dio al indicio desde su recepción. Así como también serán de apoyo para tomar decisiones en cada una de las fases, es decir mediante la aplicación de dichos indicadores se determinara si el indicio es viable para pasar de una fase a otra.

Además, con la implantación de los indicadores de control de calidad se establecerá, vigilara, registrara y controlara la calidad del proceso de análisis del ADN. Así mismo se demostrara el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio, para obtener una Acreditación bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 “Requisitos Generales para la Competencia de los laboratorios de Ensayo y Calibración” y demostrar que el laboratorio de Genética Forense es técnicamente competente y capaz de generar resultados científicamente validos y confiables. Por lo que al cumplir con lo requisitos que exige la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 se reconocerá la competencia técnica del personal y así mismo se aumentará la credibilidad, la ética e imparcialidad del laboratorio de genética forense.

# **ANEXO I**



LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00 / 000

<b>ELABORACIÓN DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Describir, definir y documentar la forma de elaboración y organización de los Procedimientos Normalizados de Operación del laboratorio de genética forense, para que todos los procedimientos sigan el mismo diseño y uniformidad, con el fin de orientar al perito en la elaboración de sus propios procedimientos.

### 2. Fundamento

Los Procedimientos Normalizados de Operación son documentos que contienen las instrucciones necesarias para llevar a cabo de manera reproducible una operación. Dichos documentos tienen como fin el proporcionar los elementos que lleven a establecer un sistema que reduzca el riesgo de error inherente al manejo de la información de todos los procesos que se involucran en las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La implantación de Procedimientos Normalizados de Operación en el laboratorio de Genética Forense es sinónimo de implantación de Sistemas de Calidad y sinónimo de una mejora continua.

### 3. Alcance

Aplica a todos las áreas del Laboratorio de Genética Forense

### 4. Periodicidad

Cada vez que se emita un nuevo Procedimiento de Operación, modifique o actualice el mismo.

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00 / 000

## 5. Responsabilidad

- 5.1. Es responsabilidad de cada área desarrollar sus propios Procedimientos Normalizados de Operación, así como su modificación y actualización.
- 5.2. Es responsabilidad de las Jefaturas y Supervisores de cada área efectuar los cambios en sus Procedimientos Normalizados de Operación, cuando sea requerido para mejora de los mismos cumpliendo con las normas, buenas prácticas y políticas generales del Laboratorio.
- 5.3. Es responsabilidad del área de Documentación mantener la información actualizada, debidamente identificada y almacenada para su fácil acceso y consulta.
- 5.4. Es responsabilidad de las Jefaturas y Supervisores de cada área capacitar al personal involucrado en el uso de todos los Procedimientos Normalizados que se elaboren y se relacionen con su área, dicha capacitación debe quedar registrada.
- 5.5. Es responsabilidad del Director del Laboratorio mantener resguardados todos los documentos originales, así como aprobar todos los Procedimientos Normalizados de Operación que se generen dentro del laboratorio.

## 6. Desarrollo

- 6.1. El perito debe tomar el siguiente formato de Procedimiento de Operación, para la redacción de los mismos.
- 6.2. Los espacios de los recuadros superiores del formato, deben ser llenados de la siguiente manera:
  - 6.2.1. **Logo:** Se colocará en la parte superior del formato.
  - 6.2.2. **Clave:** Es la combinación de letra y números que sirve para identificar un procedimiento. Las tres primeras letras corresponden a las siglas **P** de Procedimiento y **GF** de Genética Forense. Las dos segundas letras corresponden al departamento o área que aplica y/o genera el procedimiento **AN** (de Área de ADN Nuclear), ó **AM** (de Área de ADN Mitocondrial). Seguidas de tres números correspondientes al número consecutivo que se le asigna al procedimiento y los dos últimos números corresponden a la versión de dicho procedimiento (XXX-XX-000/00). La clave se colocará en la parte superior derecha de la hoja.
  - 6.2.3. **Paginación:** La página se colocará en la parte superior derecha de la hoja, debajo de la clave. Deberá escribirse el número de página y el total de páginas (0/00).

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00 / 000

**6.2.4. Documento:** En la misma fila donde se indica la clave en medio de la hoja superior se indica la palabra PNO que hace referencia a un Procedimiento Normalizado de Operación.

**6.2.5. Título:** Este espacio es para indicar el nombre del procedimiento, y es suministrado por la persona que genera el PNO, siendo en letra Times New Roman 12 Negrita

**6.2.6. Fecha de emisión:** Es la fecha en que se registra la generación del nuevo PNO, modificación o actualización.

**6.2.7. Fecha de vigencia:** Fecha en la que el nuevo PNO, modificado o actualizado entra en vigor. Esta fecha debe ser con un máximo de 10 días naturales a partir de su emisión.

**6.2.8. Elaborado por:** Indicar el área, nombre (indicando el cargo de quien elabora el procedimiento) y finalmente la firma y fecha.

**6.2.9. Revisado por:** Indicar el área, nombre (indicando el cargo de quien revisa el procedimiento) y finalmente la firma y fecha.

**6.2.10. Aprobado por:** Indicar el área, nombre (indicando el cargo de quien aprueba el procedimiento) y finalmente la firma y fecha. Todos los Procedimientos Normalizados de Operación emitidos deben ser Aprobados por el Director del Laboratorio.

**6.2.11. Apartados del Procedimiento:**

**6.2.11.1. Objetivo:** Establecer de forma clara y breve el porqué o para qué del procedimiento, el propósito que se pretende alcanzar con la aplicación del mismo. El objetivo debe ser congruente con el título.

**6.2.11.2. Fundamento:** Describe el motivo por el cual se genera el procedimiento. La descripción debe ser breve y concisa.

**6.2.11.3. Alcance:** Delimita el campo de aplicación del procedimiento (Área, Departamento, Documento, Equipo, Personal, Actividad, etc.)

**6.2.11.4. Periodicidad:** Indica la frecuencia con que debe emplearse el procedimiento.

**6.2.11.5. Responsabilidades:** Mencionar las responsabilidades de los cargos que en general estén involucrados en la implementación y cumplimiento del procedimiento para lograr el objetivo.

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00 / 000

**6.2.11.6. Desarrollo:** Describir cada una de las actividades de manera clara y concisa (los verbos se escriben en infinitivo). Los puntos críticos o actividades importantes se pueden resaltar con negritas. Llevar a cabo la descripción del procedimiento paso a paso, tomando en cuenta:

**6.2.11.6.1.** Escribir el procedimiento con letra Times New Roman 12.

**6.2.11.6.2.** Numerar, en forma secuencial cada paso, en números arábigos y para poner un apartado utilizar números decimales.

**6.2.11.6.3.** Escribir los títulos principales en negritas.

**6.2.11.6.4.** Identificar y puntualizar riesgos potenciales que puedan provocar daños a personas o instalaciones.

**6.2.11.6.5.** Evitar el uso de terminología inespecífica como “Suficientemente frío”, “tiempo prolongado”, etc.

**6.2.11.6.6.** Señalar en el PNO que hacer si el resultado se encuentra fuera de los límites establecidos por el laboratorio, con acciones bien definidas y describir claramente las opciones.

**6.2.11.7. Historia:** Registro de los antecedentes históricos del PNO con una breve descripción del motivo del cambio.

**6.2.11.8. Referencias:** Mencionar la fuente bibliográfica consultada para desarrollar el PNO (libros, revistas, normas, folletos, etc.)

**6.2.11.9. Revisión:** Deberá aparecer:

**6.2.11.9.1. Revisión No:** Se escribirá el número de revisión que se haya realizado (00).

**6.2.11.9.2. Fecha de revisión:** Debe ser dos meses antes de la fecha de vencimiento. Se expresa con mes y año (XXX 00).

**6.2.11.9.3. Fecha de vencimiento:** La fecha de vencimiento será de 2 años a partir de la fecha de emisión (XXX 00).

**6.2.11.9.3.1.** Las fechas se expresan de la siguiente manera: El día con dos dígitos, el mes con sus tres primeras letras en mayúsculas y el año con los dos últimos dígitos (ej. 01 ENE 09). Este concepto aplica para la fecha de emisión, vigencia y revisión.

**6.2.11.9.4.** Las personas involucradas para firmar deberán hacerlo en tinta negra.

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00 / 000

**6.2.11.10. Distribución:** El documento original debe ser único y resguardado. Se entregaran copias autorizadas a las áreas que lo requieran, sustituyendo las versiones anteriores del mismo, cuando sea necesario.

### 6.3. Características del Formato

**6.3.1.** El Procedimiento Normalizado de Operación debe cumplir con las siguientes características:

**6.3.1.1.** Tamaño de Papel: Oficio

**6.3.1.2.** Color de papel: Blanco

**6.3.1.3.** Procesador de texto: Word

**6.3.1.4.** Formato general: Formato para Procedimiento de Operación

**6.3.1.5.** Letra: Times New Roman 12

**6.3.1.6.** Titulo: Times New Roman 12 Mayúsculas Negritas

**6.3.1.7.** formato del procedimiento: Se utilizan mayúsculas y minúsculas. Se pueden emplear letras en negritas para resaltar algún subtema resaltar palabras. Los puntos básicos del Procedimiento Normalizado de Operación deben ir en negritas, en mayúsculas y minúsculas.

**6.3.1.8.** El lenguaje empleado en la elaboración de los Procedimientos Normalizados de Operación debe ser imperativo, breve y conciso.

## 7. Historia

Versión 00	Procedimiento de Operación Nuevo
------------	----------------------------------

## 8. Referencias

- 8.1.** Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
- 8.2.** Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00 / 000

## 9. Revisión

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave
		Pag. 00 / 000

<b>ELABORACIÓN DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

1. **Objetivo**
2. **Fundamento**
3. **Alcance**
4. **Periodicidad**
5. **Responsabilidad**
6. **Desarrollo**
7. **Historia**

Versión 00	Procedimiento de Operación Nuevo
------------	----------------------------------

8. **Referencias**
9. **Revisión**

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

<b>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE FORMATOS</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Establecer un procedimiento para la elaboración de Formatos del Laboratorio de Genética Forense.

Unificar criterios para la elaboración de Formatos del Laboratorio de Genética Forense.

### 2. Fundamento

Los Formatos tienen la finalidad de facilitar el registro de las actividades que se establecen en los procedimientos, las instrucciones de trabajo u otras que se realicen dentro del sistema de gestión de la calidad, con objeto de dejar evidencia documentada de las actividades realizadas en el Laboratorio de Genética Forense.

### 3. Alcance

Aplica a todos las áreas del Laboratorio de Genética Forense.

### 4. Periodicidad

Cada vez que se realice un nuevo Formato, modifique o actualice.

### 5. Responsabilidad

Es responsabilidad de cada área desarrollar sus propios formatos, así como su modificación y actualización.

Es responsabilidad de las Jefaturas y Supervisores de cada área efectuar los cambios en sus formatos, cuando sea requerido para mejora de los mismos cumpliendo con las políticas generales del Laboratorio.



LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

Es responsabilidad del área de Documentación mantener la información actualizada, debidamente identificada y almacenada para su fácil acceso y consulta.

Es responsabilidad de las Jefaturas y Supervisores de cada área capacitar al personal involucrado en el uso de todos los formatos que se elaboren y se relacionen con su área registrando dicha capacitación.

## 6. Desarrollo

El perito debe tomar el siguiente formato de Procedimiento Normalizado de Operación, para elaborar los Formatos.

Los espacios de los recuadros superiores del formato, deben ser llenados de la siguiente manera:

**Logo:** Se colocará en la parte superior de la hoja.

**Clave:** Es la combinación de letra y números que sirve para identificar un procedimiento. Las tres primeras letras corresponden a las siglas **F** de Formato y **GF** de Genética Forense. Las dos segundas letras corresponden al departamento o área que aplica y/o genera el procedimiento **AN** de Área de ADN Nuclear o **AM** Área de ADN Mitocondrial. Seguidas de tres números correspondientes al número consecutivo que se le asigna al procedimiento y los dos últimos números corresponden a la versión de dicho procedimiento (XXXX-XX-000/00). La clave se colocará en la parte superior derecha de la hoja.

**Paginación:** La página se colocará en la parte superior derecha de la hoja, debajo de la clave. Deberá escribirse el número de página y el total de páginas (0/00).

**Título:** En la misma fila donde se indica la clave y el logo, en medio de la hoja se indica el título. En este espacio se indica el nombre del Formato. El título se escribirá en letra Times New Roman 12 Negrita.

**Fecha de emisión:** Es la fecha en que se registra la generación del nuevo Formato, modificación o actualización.

**Encabezado:** Desglosar jerárquicamente las direcciones, subdirecciones departamento, etc.

**Pie de página:** Se escribirá el nombre y firma del perito, y cuando corresponda se escribirá el puesto y no de credencial de la persona que entrega y de quien recibe. Esta información debe aparecer en todas las hojas que se desglosen.

**Contenido del Formato:**

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

Los subtítulos deben estar numerados en forma secuencial en números arábigos y con letra Times New Roman 12, en mayúsculas y con negritas.

El contenido del Formato se escribirá en Times New Roman 10, en mayúsculas y minúsculas, se deben incluir espacios en blanco para los datos requeridos como son: fecha, hora, claves, nombre, firma, no. folio, asunto, lugar, lecturas, cálculos, etc. Estos espacios en blanco pueden estar limitados por una línea recta o por tablas.

### **Características del Formato:**

El Formato debe cumplir con las siguientes características:

Tamaño de Papel: Oficio

Color de papel: Blanco

Procesador de texto: Word

Letra: Times New Roman 10 ó 12

Título: Times New Roman 12 Mayúsculas y Negritas

Formato: Se utilizan mayúsculas y minúsculas. Se pueden emplear letras en negritas para resaltar algún subtema. Los puntos básicos del Formato deben ir en negritas, en mayúsculas y minúsculas.

## **7. Historia**

Versión 00	Formato Nuevo
------------	---------------

## **8. Referencias**

Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>

Procedimiento Normalizado de Operación para la Elaboración de Procedimientos para el Laboratorio de Genética Forense. 2009

Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

## **9. Revisión**

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
01	XXX 00	XXX 00

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

# **ANEXO II**

<b>LOGO</b>	<b>INDICADOR 1</b> FORMATO DE RECEPCION DE INDICIOS (Seguimiento de la Cadena de Custodia)	Clave del formato
		Fecha de emisión
		No de pagina

**LABORATORIO DE GENÉTICA FORENSE**

**1. DATOS DE RECEPCIÓN**

Fecha: \_\_\_\_\_ No. de control interno del caso: \_\_\_\_\_

**2. DATOS DE SOLICITUD**

Institución: \_\_\_\_\_  
 Lugar de procedencia: \_\_\_\_\_  
 Número de investigación: \_\_\_\_\_  
 Asunto solicitado: \_\_\_\_\_  
 Breve resumen del caso: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**3. DATOS DEL INDICIO**

Fecha de colecta: \_\_\_\_\_  
 Lugar de procedencia: \_\_\_\_\_  
 Tipo y número de indicios: \_\_\_\_\_

**4. EVALUACIÓN DEL EMBALAJE**

Característica a evaluar	Conforme	No conforme	N/A
Sello del embalaje			
Embalaje			
Rotulación			
No y Tipo de contenedores			
Fijación fotográfica			

<b>LOGO</b>	<b>INDICADOR 1</b> FORMATO DE RECEPCION DE INDICIOS (Seguimiento de la Cadena de Custodia)	Clave del formato
		Fecha de emisión
		No de pagina

### 5. ASPECTO GENERAL DEL INDICIO

Característica a evaluar	Descripción				
Clave asignada al indicio durante el embalaje					
Clave del indicio. (Asignada por el laboratorio)					
Color					
Olor					
Aspecto físico					
Descripción del soporte					
Seca / Húmeda					
Proceso de conservación					
Fijación fotográfica					

### 6. OBSERVACIONES:

---



---



---

### 7. CONCLUSIÓN:

---

ENTREGA	RECIBE
NOMBRE:	NOMBRE:
FIRMA:	FIRMA:
PUESTO:	PUESTO:
No. CREDENCIAL:	No. CREDENCIAL:

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00/000

PROCEDIMIENTO PARA EL LLENADO DEL INDICADOR 1 “FORMATO DE RECEPCIÓN DE INDICIOS”			Fecha de emisión
			Fecha de vigencia
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Describir, definir y documentar un procedimiento para el llenado del formato de recepción de indicios en el laboratorio de Genética Forense.

### 2. Fundamento

Cuando un indicio llega al laboratorio, el perito debe de llenar el formato de recepción de los indicios, en la cual se describirán los aspectos: físicos, biológicos, morfológicos y organolépticos de los indicios, así como la evaluación del embalaje, sello y rotulación para evaluar si los indicios son viables para su recepción en el laboratorio y su posterior estudio genético.

El formato de recepción de indicios es el seguimiento de la cadena de custodia, el cual permite garantizar la autenticidad de los indicios, dicho formato será constancia técnica de las condiciones en que los indicios fueron recibidos por el laboratorio de Genética Forense.

### 3. Alcance

Aplica al área de recepción del Laboratorio de Genética Forense.

### 4. Periodicidad

Cada vez que reciban indicios biológicos en el Laboratorio de Genética Forense.

### 5. Responsabilidades

**5.1.** Es responsabilidad de los peritos el conocimiento y correcta aplicación de este procedimiento.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/000

**5.2.** Es responsabilidad del jefe de control de calidad verificar el cumplimiento de este procedimiento.

**5.3.** Es responsabilidad del Director de Laboratorio la verificación del cumplimiento de este procedimiento.

## **6. Desarrollo**

### **6.1. Llenado del formato**

#### **6.1.1. Datos de recepción**

**6.1.1.1. Fecha.** Esta fecha corresponde al día en que la solicitud y los indicios llegan al laboratorio. Se deberá escribir en el siguiente orden: día, mes, año. Las fechas se expresan de la siguiente manera: el día con dos dígitos, el mes con sus tres primeras letras en mayúsculas y el año con los dos últimos dígitos. Ej. 01 ENE 09.

**6.1.1.2. No. de control interno del caso.** Este número de control será único e identificará a cada caso de investigación que reciba el laboratorio. Este número puede ser un número de folio, o una combinación del número de investigación (Averiguación previa, número de expediente, número de partida, etc.) más un número consecutivo asignado por el laboratorio.

#### **6.1.2. Datos de la solicitud**

**6.1.2.1. Institución.** Anotar el nombre de la institución que esta solicitando el análisis de los indicios biológicos.

**6.1.2.2. Lugar de procedencia.** Anotar la dirección de la institución que envía la solicitud y los indicios.

**6.1.2.3. Número de investigación** Anotar el número de averiguación previa, número de partida, numero de expediente, número de caso etc., según corresponda.

**6.1.2.4. Asunto solicitado.** Especificar el tipo de análisis que se requiere. Ej. Identificación de personas, prueba de paternidad, etc.

**6.1.2.5. Breve resumen del caso.** Escribir en forma breve y concisa una sinopsis del caso.

#### **6.1.3. Datos del indicio**

**6.1.3.1. Fecha de colecta.** Anotar la fecha en que fueron colectados los indicios, en base a los datos de la solicitud recibida.



LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/000

**6.1.3.2. Lugar de procedencia.** Anotar el lugar donde fueron colectados los indicios, en base a los datos de la solicitud recibida.

### **6.1.3.3. Tipo y número de indicios**

**6.1.3.3.1. Tipo.** Anotar si se trata de manchas coloridas, blanquecinas u otro aspecto, si son fibras, fluidos, algún tejido o resto óseo. No se debe suponer nada, es decir no se deberá anotar que se trata de sangre, saliva, semen o elementos pilosos, hasta que se realicen las pruebas (presuntiva y confirmativa) necesarias. Además se verificará si lo descrito en la solicitud coincide con el aspecto físico de los indicios que se reciben.

**6.1.3.3.2. Número.** Anotar la cantidad total de indicios que llegan al laboratorio. Esta cantidad debe coincidir con lo descrito en la solicitud y físicamente con los indicios recibidos.

## **6.1.4. Evaluación del embalaje**

### **6.1.4.1. Característica a evaluar**

**6.1.4.1.1. Sello de embalaje.** Revisar que el sello del embalaje no haya sido alterado. Esta especificación no aplicara cuando el embalaje no presente sello.

**6.1.4.1.2. Embalaje.** Verificar que todos y cada uno de los indicios se encuentren embalados individualmente, de acuerdo a sus características biológicas (sangre, saliva, semen, tejido, elemento piloso). Esta especificación no aplica cuando la muestra se encuentre en un soporte con dimensiones excedentes para ser embalado, ej. una mesa, una silla, un tablón, etc.

**6.1.4.1.3. Rotulación.** Verificar que la etiqueta de rotulación no presente tachaduras o enmendaduras y verificar que cada indicio individual contenga mínimo los siguientes datos:

**6.1.4.1.3.1.** Fecha y hora en que se realizo el levantamiento de indicios

**6.1.4.1.3.2.** Lugar de los hechos

**6.1.4.1.3.3.** Número de investigación.

**6.1.4.1.3.4.** Tipo y número de indicio

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/000

**6.1.4.1.3.5.** Nombre y firma del perito que realizo la colecta y el embalaje

**6.1.4.1.3.6.** Observaciones

**Nota:** Todos y cada uno de los indicios deben estar rotulados sin excepción.

**6.1.4.1.4. No. y tipo de contenedores.** Anotar cuantos contenedores fueron utilizados para embalar los indicios y si se tratan de bolsas de plástico o papel, cajas de cartón, tubos de ensaye, recipientes herméticos, hielera, etc.

**6.1.4.1.5. Fijación fotográfica del embalaje.** Tomar fotografías del sello, embalaje y rotulado de cada una de las muestras recibidas. Las fotografías deben ser de lo “general a lo particular”. En caso de detectarse alteraciones en el sello, rotulación o embalaje comunicarlal al jefe inmediato y dejar constancia escrita y fotográfica.

**6.1.4.2. Conforme.** Una vez que el perito evalúe el indicio y determine que **cumple** con las características del embalaje requeridas por el laboratorio, se colocara una **X** en el recuadro correspondiente, por lo tanto los indicios son aceptados para su estudio genético.

**6.1.4.3. No Conforme.** Una vez que el perito evalúe el indicio y determine que **no cumple** con las características del embalaje requeridas por el laboratorio, se colocara una **X** en el recuadro correspondiente, por lo tanto los indicios no se aceptan.

**6.1.4.4. No Aplica (N/A).** Cuando las características a evaluar no apliquen se colocara una **X** en el recuadro correspondiente.

## **6.1.5. Aspecto general del indicio**

### **6.1.5.1. Característica a evaluar**

**6.1.5.1.1. Clave asignada al indicio durante el embalaje.** Anotar la clave del indicio cuando fue embalado.

**6.1.5.1.2. Clave del indicio. (Asignada por el laboratorio).** Anotar la clave que el laboratorio asigna al indicio al ser recepcionada. Con esta clave el laboratorio dará seguimiento al análisis del indicio. Esta clave debe ser única.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/000

**6.1.5.1.3. Color.** Describir el color característico que presenta el indicio, ej. rojo, negrusco, pardo, blanquecino, translucido, etc.

**6.1.5.1.4. Olor.** Describir el olor característico que presentan el indicio. Ej. sin olor, putrefacto, etc.

**6.1.5.1.5. Aspecto físico.** Describir las características físicas del indicio, ej. sí se encuentra enmohecido o, en el caso de tejido, sí se encuentra parcial o totalmente licuado, si es mancha anotar sí esta es homogénea o esta embarrada en el soporte. Etc.

**6.1.5.1.6. Descripción del soporte.** Describir las características físicas del soporte donde se encuentra el indicio.

**6.1.5.1.7. Húmeda / Seca.** Cuando el indicio se encuentre en soportes como papel FTA, tela, cartón, hisopo, etc., verificar si se encuentra seco o húmedo y anotarlo en el cuadro correspondiente.

**6.1.5.1.8. Método de conservación.** Describir el método de conservación que utilizaron para conservar el indicio. Ej. refrigeración, métodos químicos (etanol, formol, etc.). Cuando se trate de refrigeración se deberá verificar la temperatura a la que llegaron los indicios, esto se debe realizar con un termómetro calibrado.

**6.1.5.1.9. Fijación fotográfica de los indicios.** Tomar fotografías de todos y cada uno de los indicios recibidos, utilizando una reglilla como referencia. Las fotografías deben ser de lo “general a lo particular”.

## 6.1.6. Observaciones

**6.1.6.1.** De acuerdo a los datos obtenidos se describirán las irregularidades encontradas durante el llenado del formato de recepción de indicios, es decir se registrará si algún dato no fue recabado por falta de información o si alguna de las características evaluadas no cumple con lo requisitos establecidos por el laboratorio que puedan afectar al posterior estudio genético.

**6.1.6.2.** El perito deberá ser capaz, en base a su experiencia, de determinar si los indicios son viables para continuar con la fase II (pruebas presuntivas y confirmativas) del proceso de análisis de ADN.

**6.1.6.3.** Las observaciones descritas en este apartado serán responsabilidad del perito que recepciona lo indicios.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/000

### 6.1.7. Conclusiones.

**6.1.7.1. CONFORME.** Al escribir la palabra **CONFORME** se dará por entendido que los indicios son viables para continuar con la fase II (pruebas presuntivas y confirmativas) del proceso de análisis de ADN.

**6.1.7.2. NO CONFORME.** Al escribir la palabra **NO CONFORME** se dará por entendido que los indicios no son viables para continuar con la fase II (pruebas presuntivas y confirmativas) del proceso de análisis de ADN.

### 6.1.8. Pie de página.

**6.1.8.1. Entrega.** Se debe registrar el Nombre completo, firma, puesto, y no. de credencial de la persona que entrega los indicios y solicitud al Laboratorio de Genética Forense.

**6.1.8.2. Recibe.** Se debe registrar el Nombre completo, firma, puesto, y no. de credencial del perito que recibe los indicios y solicitud en el Laboratorio de Genética Forense.

## 7. Historia

Versión 00	Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado del Formato de Recepción de Indicios. Nuevo
------------	--

## 8. Referencias

- 8.1.** Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
- 8.2.** Procedimiento Normalizado de Operación para la Elaboración de Procedimientos para el Laboratorio de Genética Forense. 2009
- 8.3.** Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

## 9. Revisión

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

# **ANEXO III**

<b>LOGO</b>	<b>INDICADOR 2</b> PRUEBAS PRESUNTIVA Y CONFIRMATIVA	Clave del formato
		Fecha de emisión
		No de pagina

### 1. DATOS GENERALES

Tipo de indicio: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

No de control interno del caso: \_\_\_\_\_

### 2. PRUEBA PRESUNTIVA

Nombre de la técnica: \_\_\_\_\_

Clave del indicio		Resultado	Clave del indicio	Resultado
Testigos	Positivo			
	Blanco			

Observaciones: \_\_\_\_\_

### 3. PRUEBA CONFIRMATIVA

Nombre de la técnica: \_\_\_\_\_

Clave del indicio		Resultado	Clave del indicio	Resultado
Testigo	Positivo			
	Blanco			

Observaciones: \_\_\_\_\_

### 4. CONCLUSIÓN: \_\_\_\_\_

Nombre y Firma

Perito

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

<b>PROCEDIMIENTO PARA EL LLENADO DEL INDICADOR 2 “PRUEBAS PRESUNTIVA Y CONFIRMATIVA”</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Establecer un procedimiento para el llenado del indicador 2, Pruebas Presuntiva y Confirmativa, en el laboratorio de Genética Forense.

### 2. Fundamento

Antes de realizar un estudio de ADN con el fin de individualizar las muestras existen pasos previos en el análisis del ADN que nos permiten identificar el tipo de resto biológico y si es de naturaleza humana. Estos análisis se realizan con dos tipos de pruebas: la presuntiva y la confirmativa.

Las pruebas presuntivas son técnicas que nos revelan la posible naturaleza de la mancha, es decir, sirven solo para descartar pero no para concluir.

Las pruebas confirmativas son técnicas que como indican, confirman la naturaleza del indicio biológico.

### 3. Alcance

Aplica al área de pruebas presuntivas y confirmativas del Laboratorio de Genética Forense.

### 4. Periodicidad

Cada vez que recepcionen indicios biológicos en el Laboratorio de Genética Forense.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

## 5. Responsabilidades

- 5.1** Es responsabilidad de los peritos el conocimiento y correcta aplicación de este procedimiento.
- 5.2** Es responsabilidad del jefe de control de calidad verificar el cumplimiento de este procedimiento.
- 5.3** Es responsabilidad del Director de Laboratorio la verificación del cumplimiento de este procedimiento.

## 6 Desarrollo

### 6.1 Llenado del formato

#### 6.1.1 Datos generales

**6.1.1.1 Tipo de indicio.** En este apartado se debe especificar la característica física del indicio, es decir, si se trata de una mancha roja, blanquecina, amarillenta, etc., o si se trata de una fibra, resto óseo o algún tejido.

**6.1.1.2 Fecha.** Esta fecha corresponde al día en el que se realizan las pruebas. Se deberá escribir en el siguiente orden: día, mes, año. Las fechas se expresan de la siguiente manera: el día con dos dígitos, el mes con sus tres primeras letras en mayúsculas y el año con los dos últimos dígitos. Ej. 01 ENE 09.

**6.1.1.3 No. de control interno del caso.** Este número de control será único e identificará a cada caso de investigación que reciba el laboratorio. Este número puede ser un número de folio, o una combinación del número de investigación (Averiguación previa, número de expediente, número de partida, etc.) más un número consecutivo asignado por el laboratorio.

#### 6.1.2 Prueba presuntiva

**6.1.2.1 Nombre de la técnica.** Se debe escribir el nombre de la técnica utilizada. El perito tendrá la destreza para determinar cual de las técnicas establecidas por el laboratorio se llevará a cabo para realizar la prueba presuntiva, de acuerdo a las características del indicio. Los resultados serán evaluados de acuerdo a cada técnica aplicada.



LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.2.2 Clave del indicio.** Anotar la clave que el laboratorio asigna al indicio al ser recepcionado. Con esta clave el laboratorio dará seguimiento al análisis del indicio. Esta clave debe ser única.

#### 6.1.2.2.1 Testigos

**6.1.2.2.1.1 Positivo.** Se utilizará un estándar o referencia conocida. El resultado se debe anotar en el recuadro correspondiente, el cual deberá ser positivo cuando se trate de reacciones colorimétricas, además se anotara el color de la reacción obtenido. Cuando se trate de una técnica de observación, ej. estudio macroscópico del pelo, se deberá anotar la especificación a cumplir.

**6.1.2.2.1.2 Blanco.** Este control se utilizará cuando aplique de acuerdo al indicio y a la técnica utilizada. En el caso de reacciones colorimétricas el resultado deberá ser negativo. Cuando no aplique este punto para la técnica (ej. estudio macroscópico del pelo) el cuadro correspondiente al resultado del blanco debe cancelarse.

**6.1.2.3 Resultados.** Los resultados obtenidos de los indicios se deben anotar en el cuadro correspondiente. Estos resultados serán comparados con los testigos positivo y blanco, y en base a esto se determinara su resultado.

**6.1.2.4 Observaciones.** Se especificará de acuerdo a la técnica cuándo el resultado es positivo y cuándo es negativo. Es decir anotar la coloración que se debe observar, o si se debe observa aglutinación, y/o el tiempo de reacción, la presencia de bulbo, o características físicas del indicio, etc.

**NOTA:** Cuando los resultados no sean lo esperado, verificar que no se hayan intercambiado las muestras, que los reactivos utilizados no estén caducos, que la aplicación y desarrollo de la técnica utilizada sea la adecuada.

### 6.1.3 Prueba Confirmativa

**6.1.3.1 Nombre de la técnica.** Se debe escribir el nombre de la técnica utilizada. El perito tendrá la destreza para determinar cual de las técnicas establecidas por el laboratorio se llevará a cabo para realizar la prueba confirmativa, de acuerdo a las características del indicio. Los resultados serán evaluados de acuerdo a cada técnica aplicada.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.3.2 Clave del indicio.** Anotar la clave que el laboratorio asigna al indicio al ser recepcionado. Con esta clave el laboratorio dará seguimiento al análisis del indicio. Esta clave debe ser única.

#### 6.1.3.2.1 Testigos

**6.1.3.2.1.1 Positivo.** Se utilizará un estándar o referencia conocida. El resultado se debe anotar en el recuadro correspondiente, el cual deberá ser positivo cuando se trate de reacciones colorimétricas, además se anotará el color de la reacción obtenido. Cuando se trate de una técnica de observación, ej. estudio microscópico del pelo u observación de células se deberá anotar la especificación a cumplir.

**6.1.3.2.1.2 Blanco.** Este control se utilizará cuando aplique de acuerdo al indicio y a la técnica utilizada. En el caso de reacciones colorimétricas el resultado deberá ser negativo. Cuando no aplique este punto para la técnica (ej. estudio microscópico del pelo u observación de células) el cuadro correspondiente al resultado del blanco debe cancelarse.

**6.1.3.2.2 Resultados.** Los resultados obtenidos de los indicios se deben anotar en el cuadro correspondiente. Estos resultados serán comparados con los testigos positivo y blanco, y en base a esto se determinará su resultado.

**6.1.3.3 Observaciones.** Se especificará de acuerdo a la técnica cuándo el resultado es positivo y cuándo es negativo. Es decir anotar la coloración que se debe observar, o si se debe observar aglutinación, y/o el tiempo de reacción, la presencia de bulbo, o características físicas del indicio, etc.

**NOTA:** Cuando los resultados no sean lo esperado, verificar que no se hayan intercambiado las muestras, que los reactivos utilizados no estén caducos, que la aplicación y desarrollo de la técnica utilizada sea la adecuada.

#### 6.1.4 Conclusiones

**6.1.4.1** Se escribirá la palabra **CONFORME**, cuando de acuerdo a la evaluación realizada por el perito, el indicio sea viable para su estudio.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.4.2** Se escribirá la palabra **NO CONFORME**, cuando de acuerdo a la evaluación realizada por el perito, el indicio no sea viable para su estudio.

### **6.1.5 Pie de página.**

**6.1.5.1** El perito que realizó las pruebas debe asentar su nombre completo y firma al final del formato

## **7 Historia**

Versión 00	Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado del formulario de Pruebas de Orientación y Confirmación
------------	--

## **8 Referencias**

- 8.1** Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
- 8.2** Procedimiento Normalizado de Operación para la Elaboración de Procedimientos para el Laboratorio de Genética Forense. 2009
- 8.3** Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

## **9 Revisión**

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

# **ANEXO IV**

<b>LOGO</b>	<b>INDICADOR 3 EXTRACCIÓN</b>	Clave del formato
		Fecha de emisión
		No de pagina

## 1. DATOS GENERALES

Tipo de indicio: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

No de control interno del caso: \_\_\_\_\_

## 2. TÉCNICA DE EXTRACCIÓN

Característica a Evaluar		Descripción				
Técnica de extracción						
Clave del indicio						
Apariencia física del ADN						
Kits comerciales utilizados						
Reactivos utilizados						
Cualificación	Tamaño de la escalera alélica					
	Resultado obtenido					
Cuantificación 260nm	Absorbancia					
	Cantidad de ADN obtenido ( 1Abs= 50µg ADN /mL)					

## 3. OBERVACIONES:

---

## 4. CONCLUSIÓN:

---

Nombre y Firma

Perito

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

<b>PROCEDIMIENTO PARA EL LLENADO DEL INDICADOR 3 “EXTRACCIÓN”</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Establecer el procedimiento para el llenado del Indicador 3, fase de Extracción.

### 2. Fundamento

La Extracción de ADN consiste en separar la molécula de ADN del resto de componentes celulares. Se trata de un paso fundamental en el análisis genético de muestras forenses, pues el éxito del estudio puede verse afectado en gran medida si no se realiza un buen aislamiento de la molécula de ADN. Existen gran cantidad de sustancias que pueden interferir en este proceso, bien de los propios reactivos utilizados durante la extracción o bien de los soportes en los que se encuentran situados las manchas biológicas. La duración y rendimiento de esta fase depende en gran medida del tipo de resto biológico que se está analizando.

### 3. Alcance

Aplica al área de Extracción del Laboratorio de Genética Forense.

### 4. Periodicidad

Cada vez que se requiera extraer ADN de un indicio biológico en el Laboratorio de Genética Forense.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

## 5. Responsabilidades

- 5.1** Es responsabilidad de los peritos el conocimiento y correcta aplicación de este procedimiento.
- 5.2** Es responsabilidad del jefe de control de calidad verificar el cumplimiento de este procedimiento.
- 5.3** Es responsabilidad del Director de Laboratorio la verificación del cumplimiento de este procedimiento.

## 6 Desarrollo

### 6.1 Llenado del formato

#### 6.1.1 Datos generales

**6.1.1.1 Tipo de indicio.** En este apartado se debe especificar si se trata de sangre, semen, saliva, hueso, elemento piloso, etc.

**6.1.1.2 Fecha.** Esta fecha corresponde al día en el que se realizan las pruebas. Se deberá escribir en el siguiente orden: día, mes, año. Las fechas se expresan de la siguiente manera: el día con dos dígitos, el mes con sus tres primeras letras en mayúsculas y el año con los dos últimos dígitos. Ej. 01 ENE 09.

**6.1.1.3 No. de control interno del caso.** Este número de control será único e identificará a cada caso de investigación que reciba el laboratorio. Este número puede ser un número de folio, o una combinación del número de investigación (Averiguación previa, número de expediente, número de partida, etc.) más un número consecutivo asignado por el laboratorio.

#### 6.1.2 Técnica de Extracción

##### 6.1.2.1 Característica a Evaluar

**6.1.2.1.1 Técnica utilizada.** Se debe escribir el nombre de la técnica que se utilizará para realizar la extracción del ADN de los indicios biológicos.

**6.1.2.1.2 Clave del indicio.** Anotar la clave que el laboratorio asigna al indicio al ser recepcionado. Con esta clave el laboratorio dará seguimiento al análisis del indicio. Esta clave debe ser única.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.2.1.3 Apariencia física.** Se deben describir las características físicas del ADN extraído, como son: el color que presenta, la consistencia, presencia de botón blanco, etc.

**6.1.2.1.4 Kits comerciales utilizados.** Se anotará la marca comercial de los kits utilizados durante la técnica, la fecha de caducidad y el número de lote.

**6.1.2.1.5 Reactivos utilizados.** Se anotará el tipo de reactivo utilizado, ej. soluciones, buffer's, reactivos, etc.

#### **6.1.2.1.6 Cualificación**

**6.1.2.1.6.1 Tamaño de la escalera alélica.** Anotar el tamaño de la escalera alélica utilizada como referencia.

**6.1.2.1.6.2 Resultado obtenido.** Anotar, en base a la comparación con la escalera alélica utilizada, el resultado obtenido del indicio.

**NOTA:** Se deberá anexar imagen, fotografía o negativo de los resultados obtenidos

#### **6.1.2.1.7 Cuantificación por espectrofotometría UV**

**6.1.2.1.7.1 Absorbancia.** Anotar la absorbancia registrada en el equipo.

**6.1.2.1.7.2 Cantidad de ADN obtenida.** Anotar la cantidad de ADN calculada.

**NOTA:** Anexar registros, cálculos, etc. de los resultados obtenidos.

### **6.1.3 Observaciones**

**6.1.3.1** El perito deberá realizar las observaciones y/o fundamentar las causas por las que el estudio continúa o concluye en esta fase.

**6.1.3.2** Las observaciones descritas en este apartado serán responsabilidad del perito que realizó la técnica de extracción del ADN.

### **6.1.4 Conclusiones**

**6.1.4.1** Al escribir la palabra **CONFORME** se dará por entendido que se logró la extracción del ADN del indicio, por lo tanto es viables para continuar con la fase de Cuantificación.



LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.4.2** Al escribir la palabra **NO CONFORME** se dará por entendido que **NO** se logró la extracción del ADN del indicio, por lo tanto no es viables para continuar con la fase de Cuantificación.

### **6.1.5 Pie de página.**

**6.1.5.1** El perito que realizó la técnica debe asentar su nombre completo y firma al final del formato.

## **7 Historia**

Versión 00	Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado del formulario Extracción
------------	--

## **8 Referencias**

- 8.1** Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
- 8.2** Procedimiento Normalizado de Operación para la Elaboración de Procedimientos para el Laboratorio de Genética Forense. 2009
- 8.3** Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

## **9 Revisión**

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

# **ANEXO V**

<b>LOGO</b>	<b>INDICADOR 4 CUANTIFICACIÓN</b>	Clave del formato
		Fecha de emisión
		No de pagina

### 1. DATOS GENERALES

No de control interno del caso: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

### 2. CUANTIFICACIÓN: PCR Tiempo Real

Característica a evaluar		Descripción							
Kit utilizado									
Estándares utilizados (Por duplicado)	No	1	2	3	4	5	6	7	8
	[conc]								
	No	9	10	11	12	13	14	15	16
	[conc]								
Controles utilizados		Control positivo				Blanco			
Clave del indicio									
Cantidad de ADN detectada en ng/mL									
Clave del indicio									
Cantidad de ADN detectada en ng/mL									
Clave del indicio									
Cantidad de ADN detectada en ng/mL									
Clave del indicio									
Cantidad de ADN detectada en ng/mL									
Equipo utilizado									

3. OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

4. CONCLUSIÓN: \_\_\_\_\_

Nombre y Firma

Perito

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

<b>PROCEDIMIENTO PARA EL LLENADO DEL INDICADOR 4 “CUANTIFICACIÓN”</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Establecer un procedimiento para el llenado del Indicador 4, fase de Cuantificación.

### 2. Fundamento

Una vez aislado el ADN, se debe conocer la cantidad de ADN presente en la muestra, actualmente la cuantificación se realiza por medio de la técnica de PCR tiempo real, esta técnica nos permite conocer la cantidad de ADN exclusivamente humano.

La PCR tiempo real es un método que permite la cuantificación de ácidos nucleicos con gran exactitud y fiabilidad. Está basada en la monitorización de la PCR usando técnicas de fluorescencia. Esto permite la visualización en directo del perfil completo de amplificación de la muestra dentro de un amplio rango de magnitud.

### 3. Alcance

Aplica al área de Cuantificación del Laboratorio de Genética Forense.

### 4. Periodicidad

Cada que se obtenga extracto de ADN y cada vez que se necesite conocer la cantidad de ADN humano.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

## 5. Responsabilidades

**5.1** Es responsabilidad de los peritos el conocimiento y correcta aplicación de este procedimiento.

**5.2** Es responsabilidad del jefe de control de calidad verificar el cumplimiento de este procedimiento.

**5.3** Es responsabilidad del Director de Laboratorio la verificación del cumplimiento de este procedimiento.

## 6 Desarrollo

### 6.1 Llenado del formato

#### 6.1.1 Datos generales

**6.1.1.1 No. de control interno del caso.** Este número de control será único e identificará a cada caso de investigación que reciba el laboratorio. Este número puede ser un número de folio, o una combinación del número de investigación (Averiguación previa, número de expediente, número de partida, etc.) más un número consecutivo asignado por el laboratorio.

**6.1.1.2 Fecha.** Esta fecha corresponde al día en el que se realizan las pruebas. Se deberá escribir en el siguiente orden: día, mes, año. Las fechas se expresan de la siguiente manera: el día con dos dígitos, el mes con sus tres primeras letras en mayúsculas y el año con los dos últimos dígitos. Ej. 01 ENE 09.

#### 6.1.2 Cuantificación PCR Tiempo Real.

##### 6.1.2.1 Característica a evaluar

**6.1.2.1.1 Kit utilizado.** Se deberá anotar el nombre, fecha de caducidad y número de lote del kit comercial con el que se esta tratando la muestra para su cuantificación.

**6.1.2.1.2 Estándares utilizados.** Se deberá anotar las concentraciones de lo estándares utilizados para la cuantificación del ADN.

**6.1.2.1.3 Controles utilizados.** Marcar los controles (positivo y blanco) que se utilizaron para la cuantificación.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.2.1.4 Clave del indicio.** Anotar la clave que el laboratorio asigna al indicio al ser recepcionado. Con esta clave el laboratorio dará seguimiento al análisis del indicio. Esta clave debe ser única.

**6.1.2.1.5 Cantidad de ADN detectada.** Se deberá escribir la cantidad de ADN detectada por el equipo en ng/mL

**6.1.2.1.6 Equipo utilizado.** Se deberá anotar la identificación del equipo utilizado para la cuantificación del ADN.

### 6.1.3 Observaciones

**6.1.3.1** Una vez cuantificada y determinada la cantidad de ADN el perito, de acuerdo a su experiencia, establecerá el tratamiento que se le realizará a la muestra de ADN (concentración o dilución) para continuar con la fase de amplificación. Sin embargo de no obtener la cantidad de ADN necesaria, de acuerdo al criterio del perito, se deberá realizar nuevamente la extracción del ADN.

**6.1.3.2** Las observaciones descritas en este apartado serán responsabilidad del perito que realizó la técnica de cuantificación del ADN.

### 6.1.4 Conclusiones

**6.1.4.1** Se escribirá la palabra **CONFORME**, cuando los resultados sean aprobados por el perito que realiza la técnica, por lo tanto se continuara con la fase amplificación.

**6.1.4.2** Se escribirá la palabra **NO CONFORME**, cuando los resultados no sean aprobados por el perito que realiza la técnica, por lo tanto no se podrá continuar con la fase amplificación.

### 6.1.5 Pie de página.

**6.1.5.1** El perito que realizó la técnica debe asentar su nombre completo y firma al final del formato.

## 7 Historia

Versión 00	Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado del Formato de Cuantificación.
------------	---

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

## 8 Referencias

- 8.1** Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
- 8.2** Procedimiento Normalizado de Operación para la Elaboración de Procedimientos para el Laboratorio de Genética Forense. 2009
- 8.3** Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

## 9 Revisión

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

# **ANEXO VI**



<b>LOGO</b>	<b>INDICADOR 5 AMPLIFICACIÓN</b>	Clave del formato
		Fecha de emisión
		No de pagina

### 1. DATOS GENERALES

No de control interno del caso: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

### 2. AMPLIFICACIÓN: PCR

Característica a Evaluar		Descripción							
Kit utilizado									
Controles utilizados		Positivo				Blanco			
No. de ciclos									
Equipo utilizado									
El control positivo amplificó		SI				NO			
El control blanco amplificó		SI				NO			
Clave del indicio									
Se observó producto de PCR									
<b>Cualificación</b>	Tamaño de la escalera alélica								
	Resultado obtenido								

3. OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

4. CONCLUSIÓN: \_\_\_\_\_

Nombre y Firma

Perito

LOGO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN	Clave del PNO
		Pag. 00/ 000

<b>PROCEDIMIENTO PARA EL LLENADO DEL INICADOR 5 “AMPLIFICACION”</b>			<b>Fecha de emisión</b>
			<b>Fecha de vigencia</b>
	Nombre	Área	Firma/Fecha
Elaborado por:			
Revisado por:			
Aprobado por:			

### 1. Objetivo

Establecer un procedimiento para el llenado del indicador 5, fase de Amplificación.

### 2. Fundamento

La PCR se fundamenta en las propiedades del ADN y el criterio esencial es que, la muestra contenga la cantidad diseñada de ADN intacta que abarque la región que va a ser amplificada y que las impurezas sean suficientemente diluidas como para no inhibir la polimerización. Esta técnica se basa en la facilidad que tiene la molécula de ADN para desnaturalizarse y renaturalizarse.

Los componentes básicos para efectuar la PCR son el ADN que se quiere para amplificar un fragmento o locus, los primers o cebadores fragmentos diseñados que sirven para delimitar el copiado a llevarse a cabo, los nucleótidos, la enzima (taq polimerasa) y un buffer adecuado. La reacción se lleva a cabo en un termociclador que realiza la desnaturalización, acoplamiento y la síntesis de la cadena de ADN logrando un aumento exponencial de los fragmentos de ADN de interés

### 3. Alcance

Aplica al área de Amplificación del Laboratorio de Genética Forense.

### 4. Periodicidad

Cada que se requiera amplificar ADN de las muestras.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

## 5. Responsabilidades

- 5.1** Es responsabilidad de los peritos el conocimiento y correcta aplicación de este procedimiento.
- 5.2** Es responsabilidad del jefe de control de calidad verificar el cumplimiento de este procedimiento.
- 5.3** Es responsabilidad del Director de Laboratorio la verificación del cumplimiento de este procedimiento.

## 6 Desarrollo

### 6.1 Llenado del formato

#### 6.1.1 Datos generales

**6.1.1.1 No. de control interno del caso.** Este número de control será único e identificará a cada caso de investigación que reciba el laboratorio. Este número puede ser un número de folio, o una combinación del número de investigación (Averiguación previa, número de expediente, número de partida, etc.) más un número consecutivo asignado por el laboratorio.

**6.1.1.2 Fecha.** Esta fecha corresponde al día en el que se realizan las pruebas. Se deberá escribir en el siguiente orden: día, mes, año. Las fechas se expresan de la siguiente manera: el día con dos dígitos, el mes con sus tres primeras letras en mayúsculas y el año con los dos últimos dígitos. Ej. 01 ENE 09.

#### 6.1.2 Amplificación: PCR

##### 6.1.2.1 Característica a evaluar

**6.1.2.1.1 Kit utilizado.** Se deberá anotar el nombre, fecha de caducidad y número de lote del kit comercial con el que se esta tratando la muestra para su amplificación.

**6.1.2.1.2 Controles utilizados.** Marcar los controles (positivo y blanco) que se utilizaron para la amplificación.

**6.1.2.1.3 Número de ciclos.** Se deberá anotar el número de ciclos que se utilizaron para la amplificación del ADN, así como el tiempo y las temperaturas programadas.

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

**6.1.2.1.4 Equipo utilizado.** Se deberá anotar la identificación del equipo utilizado para la amplificación del ADN.

**6.1.2.1.5 El control positivo amplificó.** Se deberá marcar el recuadro correspondiente SI o NO.

**6.1.2.1.6 El control blanco amplificó.** Se deberá marcar el recuadro correspondiente SI o NO.

**6.1.2.1.7 Clave del indicio.** Anotar la clave que el laboratorio asigna al indicio al ser recepcionado. Con esta clave el laboratorio dará seguimiento al análisis del indicio. Esta clave debe ser única.

**6.1.2.1.8 Se observó producto de PCR.** Escribir en el recuadro correspondiente la palabra SI o NO, en base al resultado obtenido.

#### **6.1.2.1.9 Cualificación**

**6.1.2.1.9.1 Tamaño de la escalera alélica.** Anotar el tamaño de la escalera alélica utilizada como referencia.

**6.1.2.1.9.2 Resultado obtenido.** Anotar, en base a la comparación con la escalera alélica utilizada, el resultado obtenido de la muestra.

**NOTA:** Anexar los resultados obtenidos de la amplificación.

### **6.1.3 Observaciones**

**6.1.3.1** El perito deberá realizar las observaciones y/o fundamentar las causas por las que el estudio continúa o concluye en esta fase.

**6.1.3.2** Las observaciones descritas en este apartado serán responsabilidad del perito que realizó la técnica de amplificación del ADN.

### **6.1.4 Conclusiones**

**6.1.4.1** Se escribirá la palabra **CONFORME**, cuando los resultados sean aprobados por el perito que realiza la técnica, por lo tanto se continuara con la siguiente fase (Interpretación de resultados).

**6.1.4.2** Se escribirá la palabra **NO CONFORME**, cuando los resultados no sean aprobados por el perito que realiza la técnica, por lo tanto no se podrá continuar la siguiente fase (Interpretación de resultados).

LOGO	PNO	Clave del PNO
		Pág. 00/ 000

### 6.1.5 Pie de página.

**6.1.5.1** El perito que realizó la técnica debe asentar su nombre completo y firma al final del formulario.

## 7 Historia

Versión 00	Procedimiento Normalizado de Operación para el llenado del Formato de amplificación.
------------	--

## 8 Referencias

- 8.1** Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación normalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
- 8.2** Procedimiento Normalizado de Operación para la Elaboración de Procedimientos para el Laboratorio de Genética Forense. 2009
- 8.3** Tesina. González Z. C. Aplicación de Indicadores de Control de Calidad durante el proceso de análisis de ADN para un laboratorio de Genética Forense. 2009.

## 9 Revisión

Revisión No.	Fecha de Revisión	Fecha de Vencimiento
00	XXX 00	XXX 00

## Referencias

1. Masías A. E., Oreamuno Z. M., Saborío C. Y., Ugalde G. E., Vargas F. J. y Cervantes F. G. Investigador Forense. Departamento de Ciencias Forenses, Organismo de Investigación Judicial, Costa Rica. Boletín Electrónico de la Asociación Costarricense de Ciencias Forense, 2007. [Consultado el 27 Oct 2008]. Disponible en: [www.accf.or.cr](http://www.accf.or.cr)
2. Farfán E. Ma. J. Introducción a la tecnología del ADN aplicada en el laboratorio forense. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Sevilla. [3934-3956]. [Consultado el: 15 Mayo 2008]. Disponible en: [http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/medicos\\_forenses/MEDI26.pdf](http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/medicos_forenses/MEDI26.pdf)
3. Tesis de Investigación Jurídica. Osvaldo Castillo Ugarte. Identificación de Criminales a través del ADN. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Derecho, Dirección de Investigación. Santiago de Chile; 2005 p. 1-101
4. Penacino G. Análisis de ADN: 12 Marcadores del Cromosoma Masculino en la Investigación Criminal. Unidad de Análisis de ADN, Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímicos de Capital Federal, y Sociedad Latinoamericana de Genética Forense (SLAGF). 2004, p. 1-10
5. Lehninger A., Nelson D., y Cox M. Principles of biochemistry. Fourth edition. W.H. Freeman and company. New Cork. 2005. p 306-338.
6. Carrol M. L. y Ciaffa J. El Proyecto del Genoma Humano. 2003, p 1-7
7. Lorente J. A. Un detective llamado ADN. Paseo de Recoletos, 4.28001 Madrid: Ediciones Temas de Hoy, S. A. (T.H.); 2004
8. Cañedo Andalia R. Nociones de bioquímica y genética útiles para los profesionales de la información del sector de la salud. Acimed 2005;13(1): [1-17]
9. Rodríguez J. R. y Borges L. J.A. La huella genética en medicina legal. ADN con fines forenses. [Consultado el 27 Oct 2008]. Disponible en: <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/643/1/La-huella-genetica-en-Medicina-Legal-ADN-con-fines-forenses.html>. pag 1- 9.
10. Tesis. Dr. Penacino G. A. Investigación e Implementación de Sistema de Identificación de Individuos por Técnicas de Biología Molecular, con especial referencia a los estudios Post-Mortem. Universidad de Buenos Aires, Argentina

11. Butler J. M. Forensic DNA Typing. Biology, Technology and Genetics of STR Markers. 2<sup>da</sup> ed. Ed. ELSEVIER Academia Press USA, 2005
12. Pineda B. L. El Análisis del ADN para Pruebas de Paternidad e Identificación Forense. Acta Científica Venezolana. 1999; 50: [24-28]
13. Martínez de P. Ma. A., Castro A., Fernández F. I. Límites de la Tecnología basada en el ADN. Instituto Vasco de Criminología, San Sebastián. 1998; (12): [125-145]
14. Checa C. M.A. Polimorfismos Genéticos: Importancia y Aplicaciones. Rev Ins Nal Enf Resp Mex. 2007; 20 (3): [213-221]
15. Quintero R. A., Hernández Z. G., Olivares G. N. y Rivas S. F. Uso de Marcadores Polimorficos de ADN en Pruebas de Paternidad. Rev Mex Patol Clin. 2006; 53: [67-68]
16. Torres Y., Aler M., Plata A., Domínguez A., Sanz P. y Gisbert M. Factores que afectan el Análisis Biológico de las muestras de agresiones sexuales. Cuad Med Forense. 2007; 13 (47): [54-56]
17. Lowe A, Murray C, Whitaker J, Tully G, Gill P: The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. Forensic Sci. Int. 2002; 129: [25-34]
18. Wickenheiser RA: Trace DNA: a review, discussion of theory and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. J. Forensic Sci. 2002; 47: [442-450]
19. Sheehan F., Kobilinsky L. Human Blood Identification: A Forensic Science Approach. J. Of Chemical Educ. 1984; 61(6): [542-546]
20. Tesina para obtener el grado de QFB. Ruiz S. A. M. Evaluación de la Prueba Absorción-Elución en la determinación de grupos sanguíneos en manchas de sangre seca. Asesor: Alicia Cabrera Aguilar. Diplomado en Química Legal. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2005.
21. González A. F., Sánchez A. y Martínez J. B. El estudio de polimorfismos de ADN a partir de restos óseos y diente y sus aplicaciones en la identificación de desaparecidos. Ciencia Forense. 2005; 7: [163-182]
22. Gross A M et al. The effect of Luminol on presumptive tests and DNA analysis using the polymerase chain reaction. J. Forensic Science 1999; 44(4):837-40.

23. Dela Manna A, Montpetit S. A novel approach to obtaining reliable PCR results from Luminol treated bloodstains. *J. Forensic Science* 2000; 45(4):886-90.
24. Castelló P. A., Álvarez S. M, Miquel F. M. y Verdú P. F.A. Revelado de Manchas Latentes: Efectividad del Luminol y Evaluación de su Efecto sobre el Estudio de ADN. *Cuad Med Forense*. 2002; (28): [3-36]
25. Prieto R.-C. V. El estudio de las agresiones sexuales en el laboratorio de biología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Sevilla. [Consultado el 27 Oct 2008]. Disponible en: [http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/medicos\\_forenses/MEDI28.pdf](http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/medicos_forenses/MEDI28.pdf) p. 4119-4133
26. Sweet D. J., Lorente J.A., Lorente M., Valenzuela A. y Villanueva E. An improved method to recover saliva from human skin: The double swab technique. *J Forensic Sci* 1997; 42(2): [320-322]
27. Sweet D. J. Análisis de las marcas de los dientes como indicios forenses. *Ciencia Forense*. 2005; 7: [99-110]
28. Hernández J. A. Interés toxicológico de la cavidad oral. *Ciencia Forense*. 2005; 7: [125-146]
29. Mayoral A. G., Pérez C. M. E., Martínez M. L., Hernández C. P. y Pérez C. E. Identificación forense de fluido seminal. *Laborat-acta*. 2006; 18 (2): [43-46]
30. Tratado de Criminalística – Tomo II – La química Analítica en la Investigación del Delito” - cap V, pag 271.
31. Schumann G. B., Badwawy S., Peglow A. y Henry J. B. Prostatic acid phosphatase-current assessment in vaginal fluid of alleged rape victims. *Am. J. Clin. Pathol*. 1976; 66: [944-952]
32. Findley T. p. Quantitation of vaginal acid phosphatase and its relationship to time of coitus. *Am. J. Clin. Pathol*. 1977; 68: [238-242]
33. Martín M. P. La identificación Genética de Retos Cadavéricos. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Madrid. [394-4014].
34. Manual de procedimientos para el manejo de los indicios en el lugar de hechos y de muestras de personas en materia de genética forense. Curso Taller del 14 al 16 de Octubre y del 25 al 27 de Noviembre del 2002.



35. Jiménez A. G. y Morera B. B. Revisión sobre la extracción de ADN partir de huesos humanos. *Med. leg. Costa Rica*. 1999; 16 (1-2): [1-7]
36. Lorente J., Entrala C., Alvarez C., Arce B., Heinrichs B., Lorentem et al. Identification of missing persons: Spanish «Phoenix» Program. *Croat Med. J.* 2001; 42(3): [267-270]
37. Pääbo S., Higuchi R.G. y Wilson A. 1989. Ancient DNA and the polymerase chain reaction. *J. Biol. Chem.* 264: 9709-9712.
38. Golenberg E. 1991. Amplification and analysis of miocene plant fossil DNA. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. b.* 333: 419-427.
39. Golenberg E. 1994. DNA from plant compression fossils. in: ancient DNA. Ed. Springer-Verlag. New York.
40. Hinojal F. R. Las partes óseas estomatológicas y los dientes en la identificación de las personas. *Ciencia Forense*. 2005; 7: [35-68]
41. Valdebenito Z. G. Y Báez C. M. E. El pelo: ¿esconde secretos para la ciencia forense? *Ciencia....Ahora*. 2007; 10(20): [103-110]
42. Salcedo C. M. Manejo de la evidencia física de posible fuente biológica. Editorial Universidad del Valle. [Consultado el 27 Oct 2008]. Disponible en: <http://books.google.com.mx/books?id=ZYIErPIKlC&printec=frontcover&dq=manual+de+levantamiento+de+indicios&lr=>. Pag 23-37
43. Spagnoletti M.P. El estudio del pelo en la criminalística. Forencia. [Consultado el: 27 Oct 2008]. Disponible en: <http://www.forencia.com.ar/Pelos.pdf> pag 1-9
44. Jiménez R. Estudio criminalítico de pelos y fibras. Instituto nacional de ciencias penales. 1ª edición. México 1981
45. Cardini F. Técnicas de investigación criminal. Segunda edición. Editorial Dunken. Argentina 2004
46. Metro-Dade police department. Handbook of physical evidence. Editorial Borrard of country commisioners. US. Capítulo 2, pag 6 1996
47. Kubic T., Petraco N. Microanálisis and examination of trace evidence in forensic science: An introduction scientific investigative techniques. V.H. Stuart and J. Nordby (eds). CRC press. Florida, USA. 2003

48. Prieto S. L. Aplicaciones Forenses del ADN. Comisaría General de Policía Científica. Laboratorio de ADN. p. 1872-1889
49. Fernández de S. L. La Recogida y Envío de muestras al Laboratorio con fines de Identificación Genética (Mesa Redonda) Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses Depto de Madrid. P. 4104. [Consultado el 20 Dic 2007]. Disponible en: [http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/medicos\\_forenses/MEDI26.pdf](http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/medicos_forenses/MEDI26.pdf)
50. Mullis K. B., Faloona F. A. S. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerasecatalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987; 155: [335-350]
51. Lorente A. M., Lorente A. J.A. y Villanueva C.E. La Medicina Clínica ante los indicios criminales biológicos y la Identificación Genética. Departamento de Medicina Legal, Facultad de Medicina, Universidad de Granada. *Med Clin (Barc).* 1994; 102: [113-115]
52. Lorente J. A., Vega N. L. y Rosas G. O. Genética Forense, La ciencia al servicio de la justicia. *Mensaje Bioquímico.* 2007; XXXI: [44-65].
53. Tesis. Cortazar M. A. y Silva R. E.P. Métodos Físico-químico en Biotecnología. Instituto de Biotecnología UNAM. 2004, p 1-43
54. Hernández Y. Estandarización de la PCR y generalidades. CENSA. La Habana, Cuba. [Consultado el: 27 Oct. 2008]. Disponible en: <http://scholar.google.com.mx/scholar>
55. Entrala C. Técnicas de Análisis del ADN en Genética Forense. Laboratorio de ADN forense, Depto. de Medicina Legal. 2000. [Consultado el: 27 Oct. 2008]. Disponible en: <http://ugr.es/~eianez/Biotecnologia/forensetec.htm> pag 1-18
56. Ruíz E. L. Aplicación de la Genética en las Ciencias Forenses. Colegio Libre de Estudios Universitarios. Campus Oaxaca, Facultad de Criminología, Criminalística y Técnicas Periciales. [Consultado el: 27 Oct. 2008]. Disponible en: <http://www.criminalistic.org>
57. Jorquera G. H, Acuña P. y Cifuentes L. Estudios de parentesco mediante marcadores del ADN: Experiencia en resolución de casos en los últimos seis años. *Rev Méd Chile.* 2008; 136: [193-200]
58. Alonso A. A. Conceptos Básicos de ADN Forense. Instituto Nacional de

- Toxicología y Ciencias Forenses. Servicio de Biología. Madrid: [1860-1871]
59. Juvenal G., Gangitano D. Y Padula R. ADN y análisis forense. CNEA. 2001; 1(4): [21-25]
60. Vilanueva E, Lorente JA: Aplicaciones del ácido desoxirribonucleico (DNA) en Medicina Legal. En: Gisbert Calabuig JA, Medicina Legal y Toxicología 5ª Ed. Salvat. Barcelona. 1998. p 1177-1181
61. Andrews C, Coquoz R. PCR DNA typing of washed stains. En: Bär W, Fiori A, Rossi U, Advances forensic haemogenetics 5. Berlin: Springer-Verlag, 1994: [343-345]
62. Castro N. M., Fernández R. O., Castillo S. Y., Espino E. T., Delá H. E. y Cabrera L. P. Aplicación de un Programa de Inspección de Calidad acorde con las Buenas Prácticas de Laboratorio. Revista Cubana. 2002; 36 (2): [1-6]
63. Dux Janes P. Handbook of quality assurance for the analytical chemistry laboratory. 2 ed. New York: Van Nostrand Rinhold (VNR); 1990: [145-8]
64. Adams D. and Lothridge K. Scientific Working Groups, Forensic Science Communications. 2000; 2(3): [1]
65. Rodríguez Y. L. Evaluación e Indicadores de Calidad en Base de Datos. CSIC, CINDOC. [1-7]
66. Boletín epidemiológico. Organización Panamericana de la Salud. Inicadores de Salud. 2001; 22(4): [1-2]
67. Chaloner-L. G., Roger A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Primera parte: Procedimientos de operación ormalizados y fórmulas maestras. Organización Mundial de la Salud (OMS). 1998. [Consultado el: 03 Nov 2008]. Disponible en: <http://www.who.ch/gpv-documents>
68. Lorente A. J.A. y Lorente A. M.J. En busca de la huella perdida. Med Clin. 1996; 107(4):[133-134]
69. Gascón A. M. Válidez y Valor de las Pruebas Científicas: La Prueba del ADN. [Consultado el 20 Dic 2007]. Disponible en: <http://www.uv.es/CEFD/15/gascon.pdf>
70. Norma Mexicana. NMX-EC-17025-IMNC-2006 “Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración”. Equivalente a la norma ISO/IEC 17025:2005 “General Requirements for the Competente of Testing

and Calibration Laboratories”. COTENNSISCAL, Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. México. 2006

71. ASCLD/LAB-International An ISO 17025 Program of Accreditation. Supplemental requirements for the accreditation of forensic science testing laboratories. Corresponds to ISO/IEC 17025:2005. 2006: [1-26]
72. Campos F. La relevancia de la custodia de la evidencia en la investigación judicial. Med. leg. Costa Rica. 2002; 19: [75-87]