



**A LA ATENCIÓN DEL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN MIXTA DE SEGUIMIENTO Y CONTROL DEL CONVENIO MARCO FISABIO - UNIVERSITAT DE VALÈNCIA-ESTUDI GENERAL**

**ASUNTO: RECOMENDACIONES DE OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS ÓSEAS DE LAS FOSAS PARA MINIMIZAR EL RIESGO DE CONTAMINACIÓN QUE DIFICULTE EL ANÁLISIS DEL ADN**

Seguindo las indicaciones de la Honorable Señora D<sup>a</sup> Rosa Pérez Garijo, Consellera de Participación, Transparencia, Cooperación y Calidad Democrática, expresadas en la Comisión Mixta Seguimiento Convenio Marco FISABIO - Universitat de València-Estudi General, celebrada el pasado 1 de diciembre de 2021, se adjunta el informe con la sugerencia de protocolo de actuación requerido en la Fosas, para minimizar el riesgo de contaminación de las muestras.

Este protocolo tratará de minimizar la fuente inicial de contaminación de las muestras que suele producirse en el momento de la excavación, pero sin obviar también los posibles focos de contaminación externos a la excavación, que también disminuyen la probabilidad de éxito de las identificaciones.

De este modo, el Protocolo y recomendaciones que se presenta se basa en los procedimientos de trabajo con evidencia científica de Perry et al., (1988), Alonso et al., (2001), Budowle et al., (2005), Prinz et al., (2007), Fortea et al., (2008), Lalueza-Fox et al., (2012), Barrio-Caballero (2013) y en la experiencia propia.

Para facilitar el trabajo se describe a continuación punto por punto el protocolo con las sugerencias y recomendaciones:

**1.** Genotipar a todo el personal de las empresas que vayan a participar en el Trabajo de la Fosa a estudiar, así como de las personas involucradas en los análisis de laboratorio y en los procesos intermedios de la cadena de trabajo y/o custodia.

Este procedimiento inicial deberá ser liderado y realizado por el personal de Fisabio, especialistas en el análisis de ADN, que además lo necesitan para aumentar las probabilidades de éxito de las identificaciones.

**2.** El genotipado deberá realizarse siempre antes de empezar los trabajos en la Fosa a estudiar.

**3.** Asimismo, antes de iniciar cualquier trabajo en la Fosa se deberá perimetrar obligatoriamente la zona de trabajo creando una zona de exclusión.

4. Sólo debe permitirse acceder a la zona de exclusión al personal que haga el trabajo de campo, y siempre que esté previamente genotipado. El número de personas que acceda a esta zona de exclusión debe ser siempre el mínimo imprescindible.
5. Se debe prohibir el acceso a la zona de exclusión a toda persona no imprescindible en el trabajo de campo y a aquellas que no tengan que realizar trabajo de campo en el interior de la Fosa, pese a que pertenezcan al equipo de las empresas adjudicatarias. El menor número de personas en la zona de trabajo minimiza la posibilidad de contaminación de la muestra a analizar.
6. Es deseable instalar una carpa que delimite el acceso y salida de la zona a estudiar, y a ser posible que el acceso y salida de la carpa se realice por zonas diferentes.
7. Para acceder a la zona de trabajo (desde la zona de exclusión y hasta al acceso a la Fosa) se deberá poner alfombras anticontaminantes que deberán desecharse tras cada jornada de trabajo o tras cada parón para descansar. Lo mismo en la zona de salida de la zona de exclusión.
8. Todo el personal que acceda a la Fosa deberá ir completamente equipado para evitar la contaminación de los restos: ello implica trabajar con equipos de protección integrales (trajes EPI, buzos, mascarillas faciales de protección a ser posible FFP2, gafas y pantallas faciales, guantes estériles desechables, gorros desechables, calzos desechables, etc).
9. En el interior de la zona de exclusión y de la Fosa jamás debe quitarse el equipo de protección ningún miembro del grupo que esté trabajando.
10. Es deseable establecer una zona/espacio previo al acceso a la Fosa, donde el personal se vista con la ropa de trabajo adecuado, bajo la supervisión de un responsable del grupo, que verifique que no queda ninguna zona del cuerpo expuesta al exterior que permita ser un foco de contaminación.
11. Asimismo, una vez en la Fosa se deberá emplear utensilios quirúrgicos estériles para tomar las muestras y tratar el material como los cepillos y utensilios de forma regular con una solución de hipoclorito de sodio al 30% antes y después de su uso. Al finalizar la jornada laboral se deberá esterilizar todo el material empleado. Se recomienda tener disponible mínimo el triple de material para que siempre se disponga de material estéril para su uso.
12. Cada vez que se tenga la certeza de que los restos pertenecen a un individuo diferente se deberá esterilizar (por ejemplo, cepillos) y/o desechar el material que se haya empleado (por ejemplo, guantes). Para evitar contaminación se recomienda abandonar la Fosa, y ponerse el nuevo material (por ejemplo, traje EPI, guantes) en el exterior de la Fosa, pero dentro de la zona de exclusión.
13. Cada vez que el personal de trabajo de campo abandone la zona de exclusión/perimetración deberá desecharse todo el material anterior (EPIs, buzos, calzos, mascarillas, etc) y procederse a la desinfección/esterilización de las gafas/pantallas faciales y utensilios quirúrgicos y de trabajo (cepillos, etc). Para ello hay que seguir los protocolos básicos de retirada de restos de laboratorio y jamás reutilizar ese material fungible o intercambiarlo entre los miembros del grupo de trabajo.

**14.** Los antropólogos forenses que estén trabajando en la Fosa tratarán de identificar e individualizar in situ los restos y se evitará en todo momento lavar los restos excavados.

**15.** Para prevenir un daño al ADN el trabajo in situ de los antropólogos forenses de cada empresa adjudicataria implicará que los restos considerados de interés de cada individuo (dos muestras por individuo) se introduzcan en bolsas de plástico debidamente identificadas mediante códigos y se congelen inmediatamente a -20 °C (Fortea et al., 2008; Lalueza-Fox et al., 2012) hasta que lleguen al laboratorio encargado del estudio genético.

**16.** En el caso de que los antropólogos forenses no puedan individualizar in situ los restos óseos en el interior de la Fosa se deberá disponer de un local específicamente acondicionado para su estudio. El acceso a este local deberá seguir lo indicado en los puntos anteriores: acceso a través de alfombras anticontaminantes, acceso con equipo de trabajo que impida la contaminación de la muestra, acceso sólo del personal que vaya a trabajar, desinfección de material de trabajo y eliminación del que proceda, prohibición de acceso del personal que no pertenezca al grupo de trabajo, eliminación del material de trabajo cada vez que se abandone el local (guantes, mascarillas, buzos, pantallas faciales, gafas, calzos, trajes EPI, etc), y al acabar la jornada laboral, etc.

**17.** Las muestras que se seleccionen serán tanto dentarias, con preferencia de muestras molares, y en caso de no ser posible se obtendrían premolares, caninos e incisivos, por ese orden, así como muestras de tejido óseo compacto obtenidas de las diáfisis de un hueso largo, preferentemente fémur, y en caso de no ser posible se extraería de la diáfisis de tibia, peroné, húmero, radio o cúbito. La preferencia de fémur y tibia se establece en el hecho de que el ADN está normalmente menos degradado esos dos huesos (Perry et al., 1988; Alonso et al., 2001; Prinz et al., 2007).

**18.** La selección de la muestra ósea vendrá condicionado por el estado de conservación de los restos y la posibilidad de presencia de patologías dentarias y/o óseas que presenten.

**19.** Asimismo, cuando las muestras óseas sean sometidas a segundas identificaciones meses o años después de haber sido trasladadas a los cementerios y/o museos o centros de estudio especializados, será necesario también identificar y genotipar a todo el personal de esas instalaciones que haya podido estar en contacto con los restos.

**20.** En caso de restos ya manipulados previamente sin las medidas de protección descritas en los puntos anteriores, o en caso de duda o imposibilidad de saberlo, se recomienda no utilizar la superficie de la muestra ósea para el análisis, ya que puede estar fácilmente contaminada.

**21.** Finalmente, se recomienda, siempre que sea posible, que todo el personal de las empresas adjudicatarias involucrado realice simulacros de campo previos empleando animal de experimentación enterrado específicamente para ello, para familiarizarse y automatizar estos protocolos de trabajo.

## Referencias

Alonso A, Andelinovic S, Martin P, Sutlovic D, Erceg I, Huffine E, et al. DNA typing from skeletal remains: evaluation of multiplex and megaplex STR systems on DNA isolated from bone and teeth samples. *Croat Med J.* 2001;42:260-6.

Barrio-Caballero PA. Revisión de métodos de extracción de ADN a partir de restos óseos en el laboratorio forense. *Rev Esp Med Legal*. 2013;39:54-62.

Budowle B, Bieber FR, Eisenberg AJ. Forensic aspects of mass disasters: strategic considerations for DNA-based human identification. *Legal Medicine*, 2005;7: 230-43.

Fortea J, de la Rasilla M, García-Taberner A, Gigli E, Rosas A, Lalueza-Fox C. Excavation protocol of bone remains for Neandertal DNA analysis in El Sidrón Cave (Asturias, Spain). *J Hum Evol*. 2008;55:353-7.

Lalueza-Fox C, Rosas A, de la Rasilla M. Palaeogenetic research at the El Sidrón Neanderthal site. *Ann Anat*. 2012;194:133-7.

Perry WL, Bass WM, Riggsby WS, Sirotkin K. The autodegradation of deoxyribonucleic-acid (DNA) in human rib bone and its relationship to the time interval since death. *J Forensic Sci*. 1988;33:144-53.

Prinz M, Carracedo A, Mayr WR, Morling N, Parsons TJ, Sajantila A, et al. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Sci Int Genetics*. 2007;1:3-12.