



**bancó·adn**

## **EJERCICIO DE INTERCOMPARACIÓN - 2022**

**PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE SANGRE  
TOTAL**

## **DATOS DE CONTACTO**

---

Banco Nacional de ADN (Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca)

Edificio Multiusos I+D+i. Universidad de Salamanca

Calle Espejo, s/n. 37007. Salamanca

923 29 45 00, ext. 5474

e-mail: [enaptitud@usal.es](mailto:enaptitud@usal.es)

Página web: <https://www.bancoadn.org>

---

## PROCESO ID1.5. PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE SANGRE TOTAL Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA MUESTRA DE ADN

<b>NOMBRE DEL CENTRO</b>	Biobanco del Sistema de Salud de Aragón/ Servicio de Secuenciación y Genómica Funcional. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud
<b>CODIFICACIÓN ASIGNADA</b>	<b>ID015</b>
<b>PROTOCOLO UTILIZADO</b>	Extracción esferas magnéticas

### 1. DATOS GENERALES DE CENTROS PARTICIPANTES.

-Número de centros participantes y protocolo utilizado:

RESULTADOS GLOBALES CONTROL DE CALIDAD DE ADN		
<b>Biobancos participantes</b>	<b>13</b>	
<b>Método de extracción</b>	<b>Manual</b>	<b>Automatizado</b>
<b>Kit de extracción por columna</b>	4	
<b>Extracción esferas magnéticas</b>		6
<b>Precipitación sales o "salting out"</b>	3	

### 2. DESCRIPCIÓN DEL EJERCICIO.

La clasificación general del desempeño del proceso de extracción de ADN de cada centro participante se va a llevar a cabo mediante la evaluación por separado de diferentes parámetros que definen la calidad de la muestra de ADN obtenida. En concreto se realizará la evaluación del desempeño de cada laboratorio en función del rendimiento obtenido en el proceso de extracción, la pureza de la muestra mediante los ratios A260/280 y A260/230 y la integridad con el valor de DIN (DNA Integrity Number) obtenido mediante su análisis por el equipo TapeStation 2200.

### 3. EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO. CÁLCULO DEL VALOR Z-SCORE.

La evaluación del desempeño de cada laboratorio se realizará siguiendo las recomendaciones de la norma ISO 17043 de Evaluación de conformidad: requisitos generales para ensayos de aptitud. Esta evaluación se llevará a cabo mediante la puntuación **Z-score** aplicando la siguiente fórmula:

$$Z = (X_i - X_{pt}) / \sigma_{pt}$$

Donde  $X_i$  = resultado del laboratorio

$X_{pt}$  = valor de referencia asignado correspondiente a la media de los resultados de los participantes y,

$\sigma_{pt}$  = valor de la desviación estándar (SDPA) del ejercicio

La interpretación del valor Z-score según la norma ISO 17043 es la siguiente:

$|Z| \leq 2$  desempeño **satisfactorio**; no genera ninguna señal de atención. Se representará con color verde.

$2.0 < |Z| < 3$  desempeño **cuestionable**; genera una señal de atención. Se representará con color amarillo.

$|Z| \geq 3.0$  desempeño **insatisfactorio**; genera una señal de atención. Se representará con color rojo.

La justificación estadística asume que cuando el valor  $|Z| \leq 2$  los resultados de los participantes difieren del valor asignado menos de dos veces la desviación típica del ejercicio. Los otros dos casos se interpretan del mismo modo. Los valores pueden tener signo “+” o “-” indicando si el error es positivo o negativo.

En este ejercicio también se considerará que un valor  $|Z| > 1$  se corresponderá a un desempeño **adecuado** que se representará con color verde oscuro. Este desempeño no genera una señal de atención pero es indicativo de que los resultados difieren en mayor grado del valor asignado que un valor  $|Z| \leq 1$ .

No obstante, debe hacerse una interpretación adecuada de los resultados obtenidos. Por ejemplo, en los parámetros de calidad en los que un valor elevado es indicativo de una mejor calidad, como el rendimiento o el valor de DIN, un resultado  $>+2$  no generaría una señal de atención sino que estaría relacionado con un desempeño satisfactorio. Por el contrario, un valor  $\leq -2$  sí se correspondería con un valor dudoso o cuestionable puesto que se aleja dos veces de la desviación típica en un rango inferior.

### **3.1. MÉTODO ESTADÍSTICO UTILIZADO PARA CALCULAR LOS VALORES $X_{pt}$ Y $\sigma_{pt}$ DEL EJERCICIO.**

En primer lugar se verificará la distribución de los resultados de los participantes. Si esta distribución es normal o cuasinormal se llevará a cabo un análisis utilizando estadísticos paramétricos (estadística clásica) eliminando para este cálculo los laboratorios discrepantes, que se identificarán mediante el test de Grubbs (variabilidad entre laboratorios). Los laboratorios discrepantes no serán tenidos en cuenta en los cálculos globales para determinar el valor asignado de referencia del ensayo ( $X_{pt}$ ) y la desviación típica de reproducibilidad ( $\sigma_{pt}$ ) calculados por consenso, si bien, igual que el resto de laboratorios, sus resultados serán analizados teniendo en cuenta los valores  $X_{pt}$  y  $\sigma_{pt}$  calculados para el ejercicio. Por el contrario, si los resultados presentan una gran dispersión se utilizarán métodos de estadística robusta para la determinación del valor asignado y de la desviación típica del ejercicio (ISO 13528). En concreto se llevará a cabo el cálculo de los algoritmos A y S. La ventaja de los estimadores robustos es que no están influidos por la presencia de valores discrepantes en los resultados de los participantes.

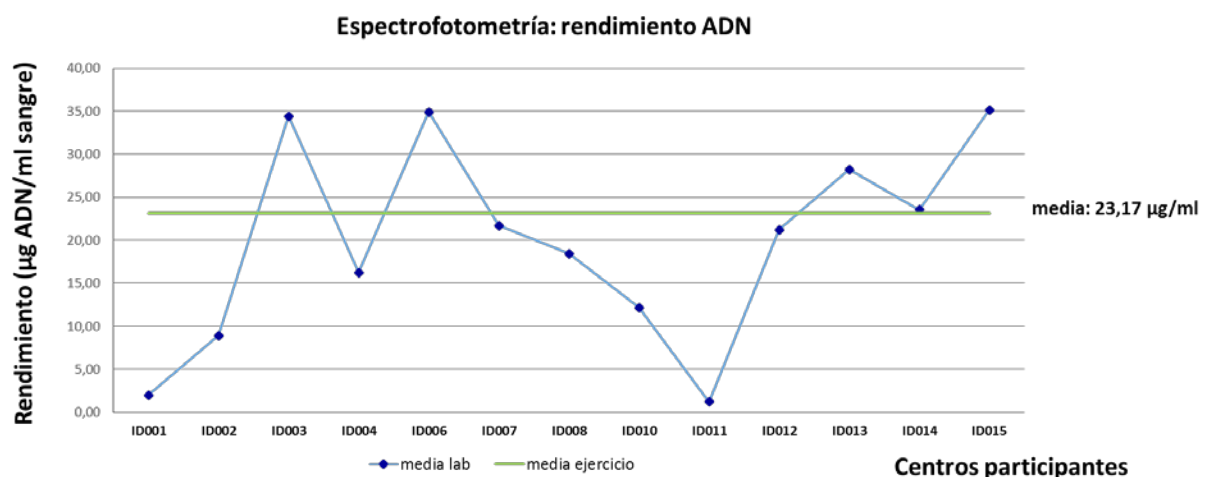
#### 4. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO OBTENIDO MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA.

El rendimiento obtenido en el proceso de extracción se expresa como  $\mu\text{g}$  de ADN totales/ ml de sangre de partida. El rendimiento se ha obtenido mediante la estimación de la concentración de la muestra de ADN por espectrofotometría llevando a cabo tres réplicas de la medida de concentración con el equipo Nanodrop2000c en el Banco Nacional de ADN.

Para este parámetro se observa una gran disparidad entre los resultados obtenidos por los centros participantes debido no sólo a la diversidad de protocolos empleados sino también a diferentes cantidades de sangre de partida utilizada para realizar la extracción, a pesar de que en las instrucciones del ejercicio se solicitó utilizar la totalidad de la muestra para evitar esta variabilidad.

##### 4.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS POR LOS CENTROS PARTICIPANTES.

La **figura 1** muestra la distribución de los datos de rendimiento obtenidos en cada uno de los centros participantes tomando el valor de la media del rendimiento del ejercicio como valor de referencia para esta distribución. El valor de cada centro participante se corresponde con la media de los valores de rendimiento calculados a partir de las tres réplicas realizadas para medir la concentración de la muestra de ADN obtenida en cada centro. Asociado al valor de la media de cada centro se representa el valor de la desviación estándar de las tres réplicas. En este caso la desviación entre réplicas es muy pequeña y no es visible en la gráfica.



**Figura 1.** Distribución de los datos de rendimiento del ADN obtenido por espectrofotometría en cada uno de los centros participantes expresado como  $\mu\text{g}$  de ADN/ ml de sangre.

#### 4.2. MÉTODO ESTADÍSTICO UTILIZADO PARA CALCULAR LOS VALORES $X_{pt}$ Y $\sigma_{pt}$ .

Debido a la elevada dispersión de los datos obtenidos por cada centro participante el cálculo de los valores  $X_{pt}$  y  $\sigma_{pt}$  para el rendimiento estimado por espectrofotometría se ha realizado por estadística robusta mediante el cálculo de los algoritmos A y S.

#### 4.3. VALOR DE Z-SCORE OBTENIDO POR EL CENTRO ID015.

En la **tabla 1** se muestra el valor de Z-Score obtenido por el centro ID015 para la determinación del rendimiento estimado mediante espectrofotometría. En la tabla se incluyen los datos de rendimiento calculados a partir de cada una de las tres réplicas realizadas para la determinación de la concentración, así como el valor asignado (media) y la desviación estándar del ejercicio obtenidos con los resultados aportados por todos los centros participantes.

**Tabla 1.** Cálculo del valor Z-Score obtenido para el centro **ID015**.

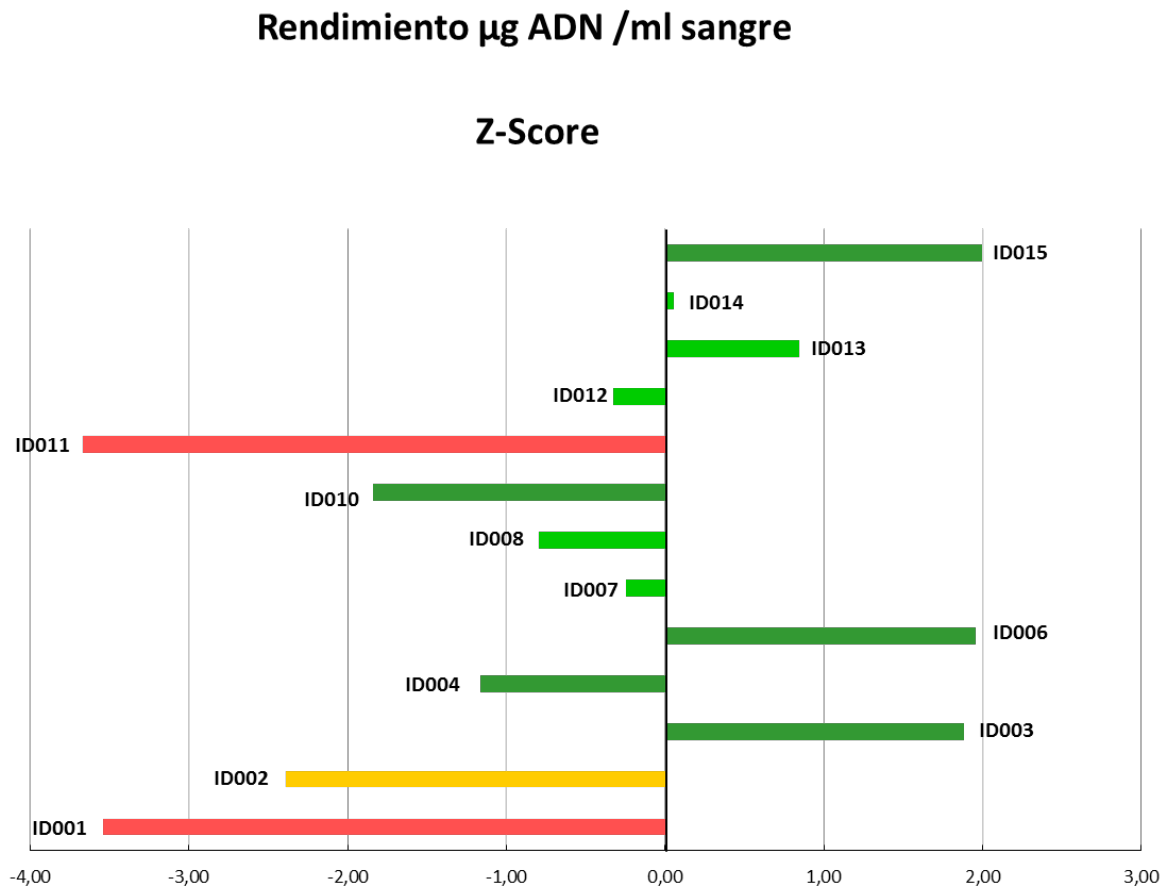
CENTRO ID015. Rendimiento espectrofotometría ( $\mu\text{g}$ ADN /ml sangre)								
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Media	Desviación estándar	Media del ejercicio	Desviación estándar ejercicio	Z-Score
Muestra ID015	35,06	35,23	35,14	35,14	0,08	23,17	6,39	2,0

El valor Z-score = 2,0 se correspondería con un desempeño adecuado ya que los resultados difieren en mayor grado (2 veces la desviación estándar del ejercicio) del valor asignado que con un desempeño satisfactorio. No obstante, al tratarse de rendimiento un valor Z-score positivo  $>+1$  sería considerado como un desempeño **SATISFACTORIO** puesto que está relacionado con un mayor rendimiento que el obtenido por consenso entre todos los participantes.

#### 4.4. CLASIFICACIÓN GLOBAL DEL DESEMPEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

##### 4.4.1. Representación de los valores Z-Score obtenidos para cada uno de los centros participantes.

**Figura 2.** Valores Z-Score obtenidos por todos los centros participantes para la determinación del rendimiento mediante espectrofotometría de la muestra de ADN obtenida a partir de sangre total



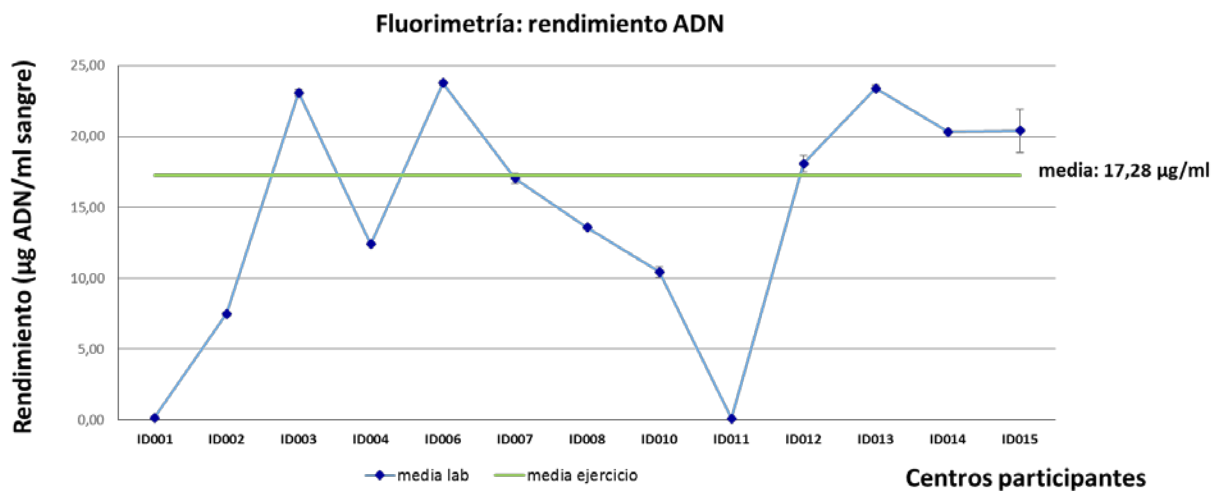
Para este ejercicio los valores Z-Score  $>+2$  se corresponden con un mayor rendimiento y por lo tanto no estarían relacionados con una señal de alerta del desempeño sino con una mayor eficiencia del protocolo de extracción utilizado.

## 5. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO OBTENIDO MEDIANTE FLUORIMETRÍA.

El rendimiento obtenido en el proceso de extracción se expresa como  $\mu\text{g}$  de ADN totales/ ml de sangre de partida. El rendimiento se ha obtenido mediante la estimación de la concentración de la muestra de ADN por fluorimetría llevando a cabo tres réplicas de la medida de concentración con el equipo Qubit™Flex Fluorometer en el Banco Nacional de ADN.

### 5.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS POR LOS CENTROS PARTICIPANTES.

La **figura 3** muestra la distribución de los datos de rendimiento obtenidos en cada uno de los centros participantes tomando el valor de la media del rendimiento del ejercicio como valor de referencia para esta distribución. El valor de cada centro participante se corresponde con la media de los valores de rendimiento calculados a partir de las tres réplicas realizadas para medir la concentración de la muestra de ADN obtenida en cada centro. En la gráfica se representa, asociado al valor de la media, el valor de la desviación estándar de las tres réplicas.



**Figura 3.** Distribución de los datos de rendimiento del ADN obtenido por fluorimetría en cada uno de los centros participantes expresado como  $\mu\text{g}$  de ADN/ ml de sangre.

### 5.2. MÉTODO ESTADÍSTICO UTILIZADO PARA CALCULAR LOS VALORES $X_{pt}$ Y $\sigma_{pt}$ .

Debido a la elevada dispersión de los datos obtenidos por cada centro participante el cálculo de los valores  $X_{pt}$  y  $\sigma_{pt}$  para el rendimiento estimado por fluorimetría se ha realizado por estadística robusta mediante el cálculo de los algoritmos A y S.



### 5.3. VALOR DE Z-SCORE OBTENIDO POR EL CENTRO ID015.

En la **tabla 2** se muestra el valor de Z-Score obtenido por el centro ID015 para la determinación del rendimiento estimado mediante fluorimetría. En la tabla también se incluyen los datos de rendimiento calculados a partir de cada una de las tres réplicas realizadas para la determinación de la concentración, así como el valor asignado (media) y la desviación estándar del ejercicio obtenidos con los resultados aportados por todos los centros participantes.

**Tabla 2.** Cálculo del valor Z-Score obtenido para el centro **ID015**.

CENTRO ID015. Rendimiento fluorimetría ( $\mu\text{g ADN /ml sangre}$ )								
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Media	Desviación estándar	Media del ejercicio	Desviación estándar ejercicio	Z-Score
Muestra ID015	18,89	20,33	21,98	20,40	1,55	17,28	3,66	0,9

Por las mismas razones que se han explicado para el rendimiento medido por espectrofotometría, el valor de Z-Score=0,9 asociado al rendimiento por fluorimetría se corresponde con un desempeño **SATISFACTORIO**.

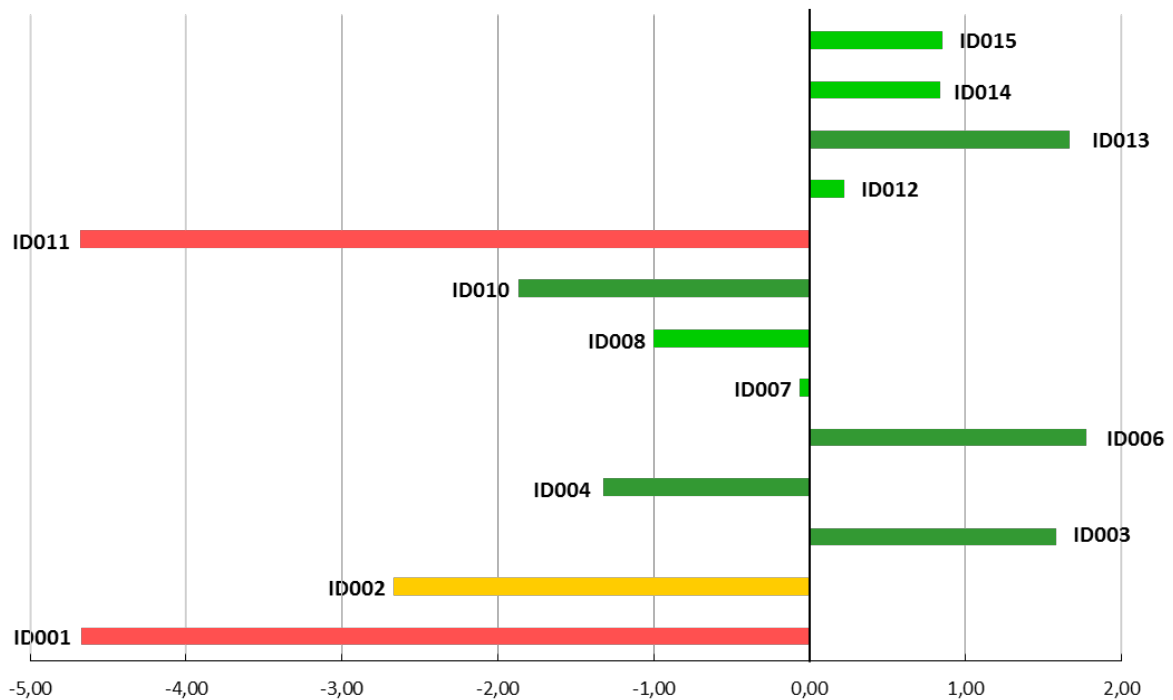
#### 5.4. CLASIFICACIÓN GLOBAL DEL DESEMPEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

##### 5.4.1. Representación de los valores Z-Score obtenidos para cada uno de los centros participantes.

**Figura 4.** Valores Z-Score obtenidos por todos los centros participantes para la determinación mediante fluorimetría del rendimiento de la muestra de ADN obtenida a partir de sangre total.

### Rendimiento $\mu\text{g}$ ADN/ml sangre.

#### Z-Score



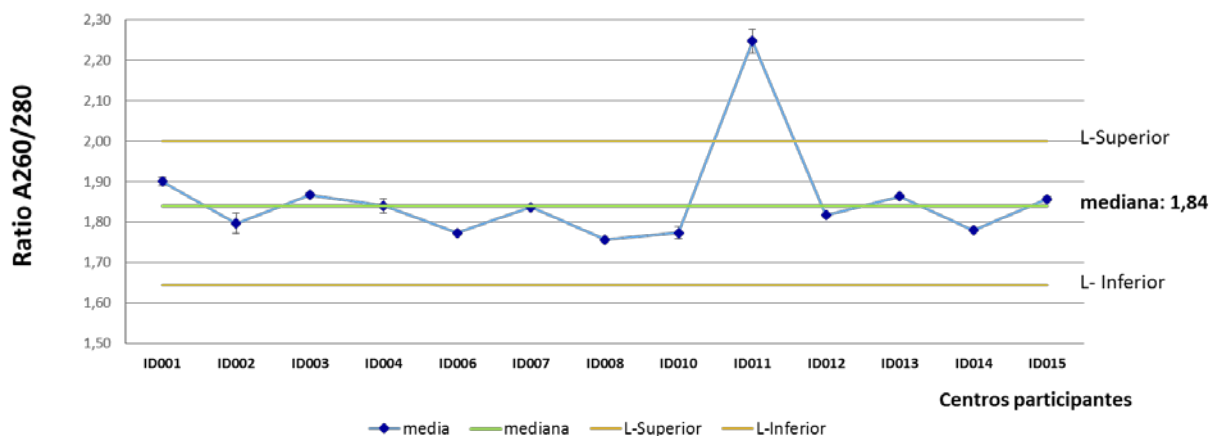
Para este ejercicio los valores Z-Score  $>+2$  se corresponden con un mayor rendimiento y por lo tanto no estarían relacionados con una señal de alerta del desempeño sino con una mayor eficiencia del protocolo de extracción utilizado.

## 6. DETERMINACIÓN DE LA PUREZA DE LA MUESTRA MEDIANTE EL RATIO A260/280

### 6.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS POR LOS CENTROS PARTICIPANTES.

La **figura 5** muestra la distribución de los datos de pureza A260/280 obtenidos por todos los centros participantes tomando el valor de la mediana como valor de referencia para esta distribución. El valor de cada centro participante es la media de los valores de las tres réplicas realizadas para determinar la pureza mediante el ratio A260/280. Asociado al valor de la media de cada centro se representa el valor de la desviación estándar de las tres réplicas.

En la gráfica aparecen representados los límites superior e inferior de detección de valores atípicos mediante Test de Tukey.



**Figura 5.** Distribución de los datos de pureza para el ratio A260/280 y representación de los límites superior e inferior de detección de valores atípicos.

### 6.2. MÉTODO ESTADÍSTICO UTILIZADO PARA CALCULAR LOS VALORES $X_{pt}$ Y $\sigma_{pt}$ .

El cálculo del valor asignado ( $X_{pt}$ ) y la desviación estándar ( $\sigma_{pt}$ ) del ejercicio en la determinación de la pureza mediante el ratio A260/280 se ha realizado por estadística clásica identificando en primer lugar los centros cuyos resultados son discrepantes por el test de Grubbs y excluyéndolos para el cálculo de ambos parámetros.

### 6.3. RESULTADOS OBTENIDOS POR EL CENTRO ID015.

En la **tabla 3** se muestra el valor de Z-Score obtenido por el centro ID015 para la determinación de la pureza de la muestra de ADN mediante el ratio A260/280. En la tabla se incluyen los valores del ratio A260/280 de cada una de las tres réplicas realizadas, así como el valor asignado (media) y la desviación estándar del ejercicio obtenidos con los resultados aportados por todos los centros participantes.

**Tabla 3.** Cálculo del valor Z-Score obtenido para el centro **ID015**.

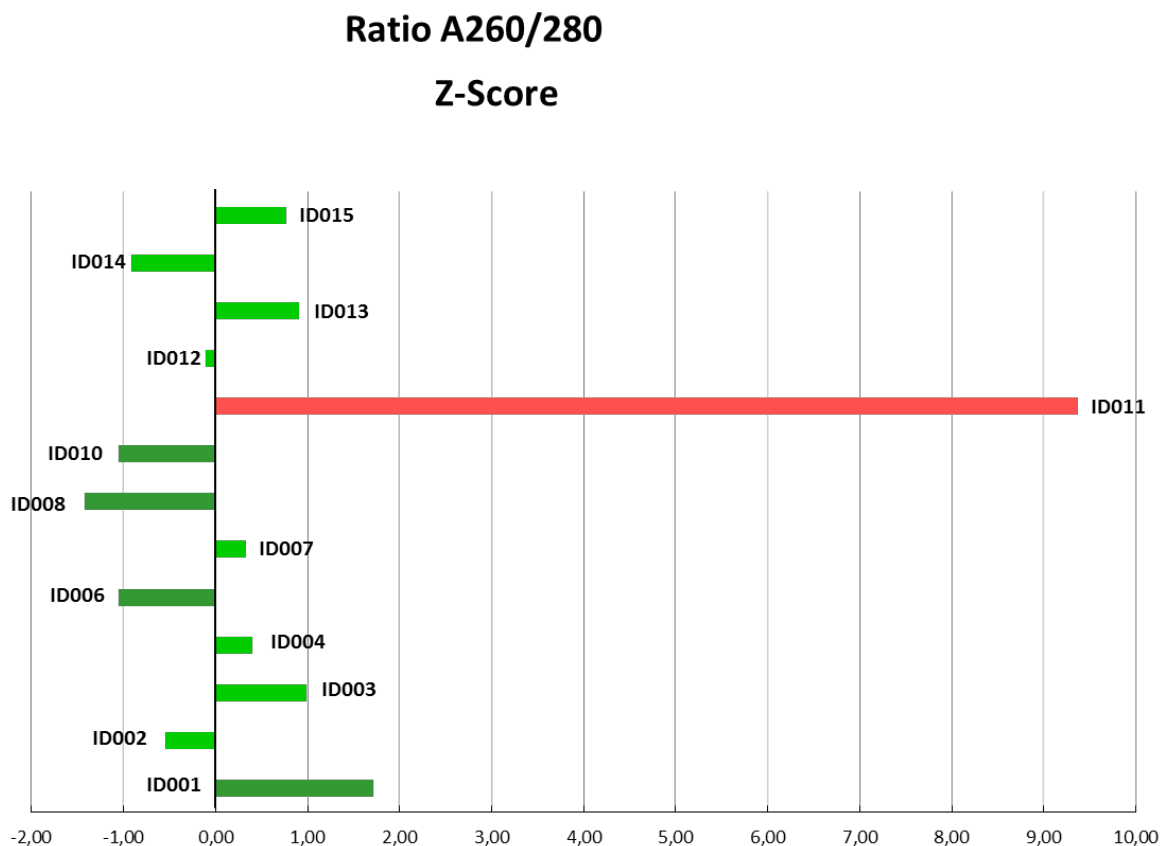
CENTRO ID015. Ratio A260/280								
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Media	Desviación estándar	Media del ejercicio	Desviación estándar ejercicio	Z-Score
Muestra ID015	1,85	1,86	1,86	1,86	0,01	1,82	0,05	0,8

El valor Z-score =0,8 se corresponde con un desempeño **SATISFACTORIO**. Los resultados reportados por el centro ID015 son muy parecidos a los calculados por consenso entre todos los centros participantes.

#### 6.4. CLASIFICACIÓN GLOBAL DEL DESEMPEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PUREZA MEDIANTE EL RATIO A260/280 DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

##### 6.4.1 Representación de los valores Z-Score obtenidos para cada uno de los centros participantes.

**Figura 6.** Valores Z-Score obtenidos por todos los centros participantes para la determinación de la pureza mediante el ratio A260/280 de la muestra de ADN obtenida a partir de sangre total.

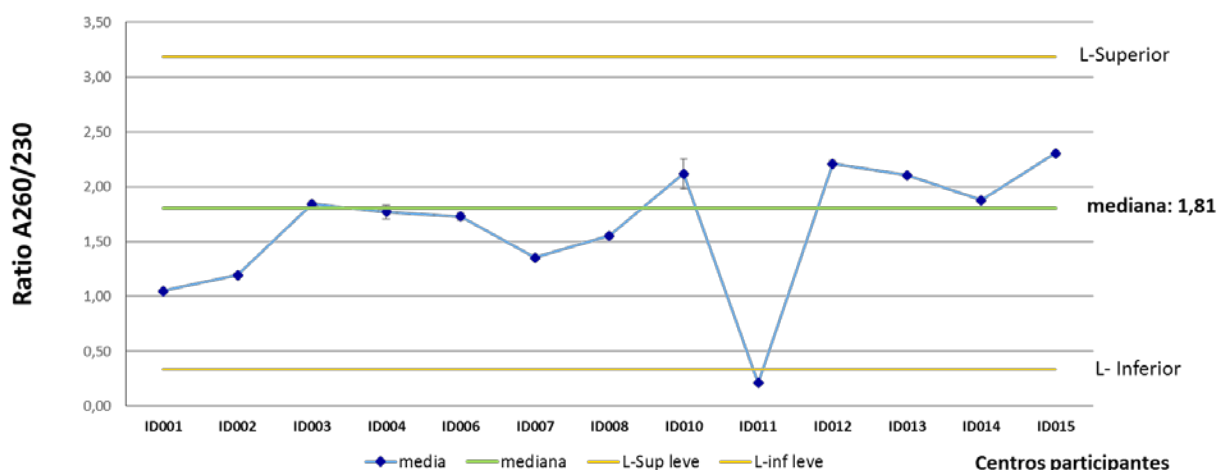


## 7. DETERMINACIÓN DE LA PUREZA DE LA MUESTRA MEDIANTE EL RATIO A260/230

### 7.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS POR LOS CENTROS PARTICIPANTES.

La **figura 7** muestra la distribución de los datos de pureza A260/230 obtenidos por todos los centros participantes tomando el valor de la mediana como valor de referencia para esta distribución. El valor de cada centro participante es la media de los valores de las tres réplicas realizadas para determinar la pureza mediante el ratio A260/230. Asociado al valor de la media de cada centro se representa el valor de la desviación estándar de las tres réplicas.

En la gráfica aparecen representados los límites superior e inferior de detección de valores atípicos mediante Test de Tukey.



**Figura 7.** Distribución de los datos de pureza para el ratio A260/230 y representación de los límites superior e inferior de detección de valores atípicos.

### 7.2. MÉTODO ESTADÍSTICO UTILIZADO PARA CALCULAR LOS VALORES $X_{pt}$ Y $\sigma_{pt}$ .

El cálculo del valor asignado ( $X_{pt}$ ) y la desviación estándar ( $\sigma_{pt}$ ) del ejercicio para la determinación de la pureza con el ratio A260/230 se ha realizado por estadística robusta mediante el cálculo de los algoritmos A y S.

### 7.3. RESULTADOS OBTENIDOS POR EL CENTRO ID015.

En la **tabla 4** se muestra el valor de Z-Score obtenido por el centro ID015 para la determinación de la pureza de la muestra de ADN mediante el ratio A260/230. En la tabla se incluyen los valores del ratio A260/230 de cada una de las tres réplicas realizadas, así como así como el valor asignado (media) y la desviación estándar del ejercicio obtenidos con los resultados aportados por todos los centros participantes.

**Tabla 4.** Cálculo del valor Z-Score obtenido para el centro **ID015**.

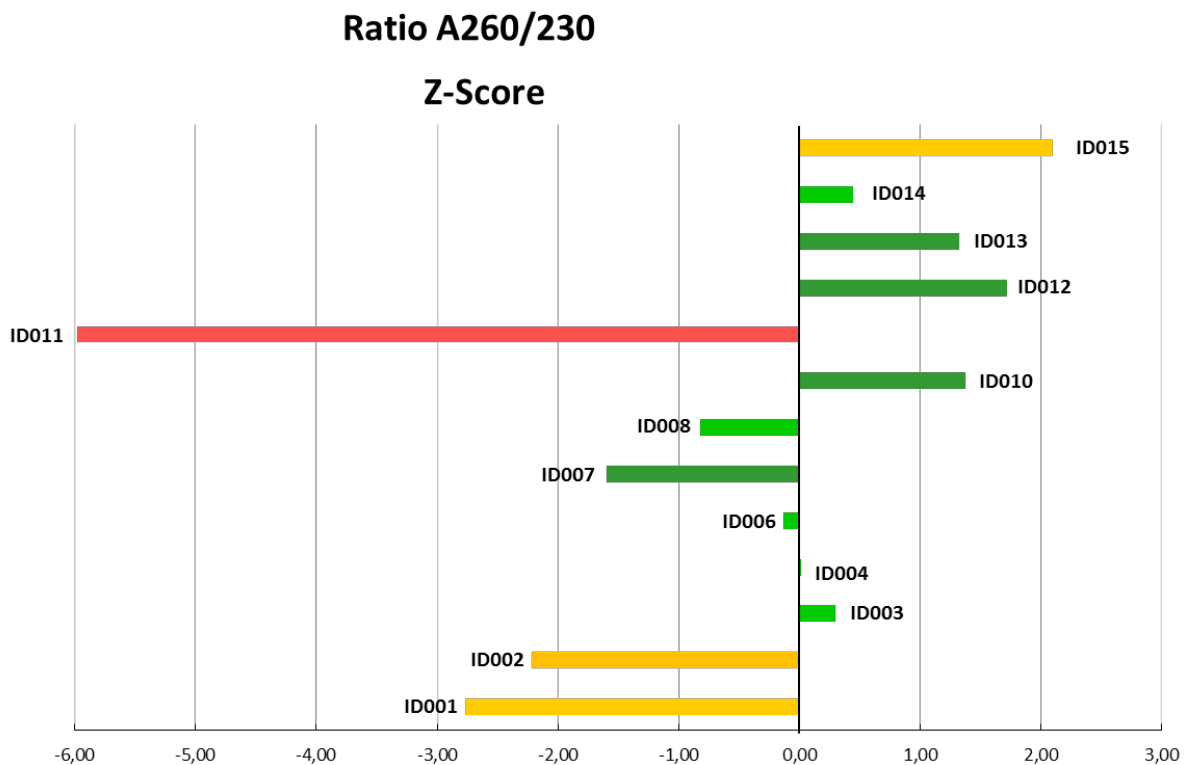
CENTRO ID015. Ratio A260/230								
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Media	Desviación estándar	Media del ejercicio	Desviación estándar ejercicio	Z-Score
Muestra ID015	2,32	2,29	2,31	2,31	0,02	1,77	0,26	<b>2,1</b>

El valor Z-score = 2,1 se corresponde con un desempeño **CUESTIONABLE** ya que difiere considerablemente del valor obtenido por consenso entre todos los centros participantes.

#### 7.4. CLASIFICACIÓN GLOBAL DEL DESEMPEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PUREZA MEDIANTE EL RATIO A260/230 DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

##### 7.4.1 Representación de los valores Z-Score obtenidos para cada uno de los centros participantes.

**Figura 8.** Valores Z-Score obtenidos por todos los centros participantes para la determinación de la pureza mediante el ratio A260/230 de la muestra de ADN obtenida a partir de sangre total.

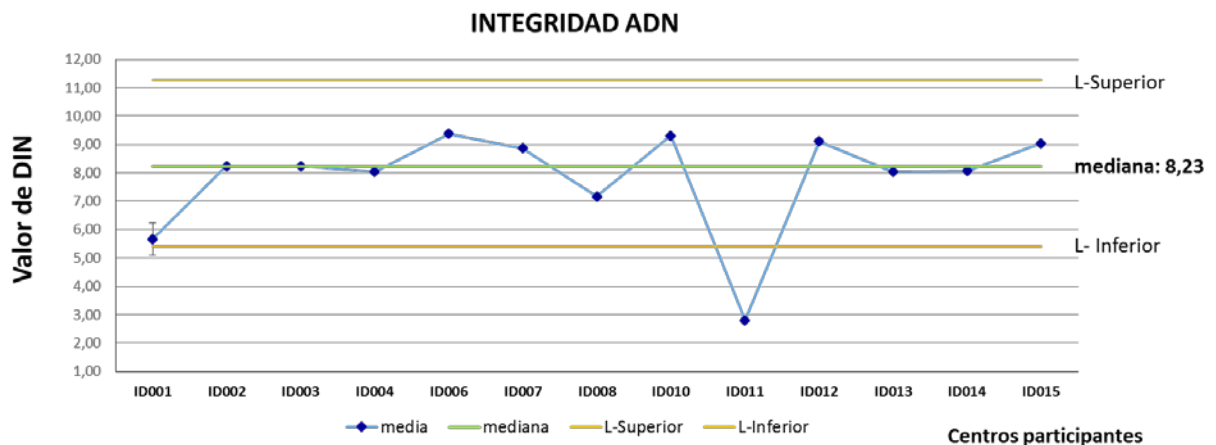


## 8. DETERMINACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LAS MUESTRAS MEDIANTE EL ANÁLISIS POR TAPESTATION Y VALOR DE DIN.

### 8.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS OBTENIDOS POR LOS CENTROS PARTICIPANTES.

La **figura 9** muestra la distribución de los datos aportados por todos los centros participantes tomando el valor de la mediana como valor de referencia para esta distribución. El valor de cada centro participante es la media de los valores de las tres réplicas realizadas para determinar el valor de DIN (DNA Integrity Number) con el equipo TapeStation 2200. Asociado al valor de la media de cada centro se representa el valor de la desviación estándar de las tres réplicas.

En la gráfica aparecen representados los límites superior e inferior de detección de valores atípicos mediante Test de Tukey.



**Figura 9.** Distribución de los valores de integridad (DIN) y representación de los límites superior e inferior de detección de valores atípicos.

### 8.3. MÉTODO ESTADÍSTICO UTILIZADO PARA CALCULAR LOS VALORES $X_{pt}$ Y $\sigma_{pt}$ .

El cálculo del valor asignado ( $X_{pt}$ ) y la desviación estándar ( $\sigma_{pt}$ ) del ejercicio para la determinación de integridad mediante el valor de DIN se ha realizado mediante estadística clásica identificando en primer lugar los centros cuyos resultados son discrepantes por el test de Grubbs y excluyéndolos para el cálculo de ambos parámetros.

### 8.4. RESULTADOS OBTENIDOS POR EL CENTRO ID015.

En la **tabla 5** se muestra el valor de Z-Score obtenido por el centro ID015 para la determinación de la integridad de la muestra mediante el valor de DIN. En la tabla se incluyen los valores de DIN de cada una de las tres réplicas realizadas, así como el valor asignado (media) y la desviación estándar del ejercicio obtenidos con los resultados obtenidos en todos los centros participantes.

**Tabla 5.** Cálculo del valor Z-Score obtenido para el centro **ID015**.

CENTRO ID015. Valor DIN								
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Media	Desviación estándar	Media del ejercicio	Desviación estándar ejercicio	Z-Score
Muestra ID015	9,00	9,00	9,10	9,03	0,06	8,3	1,0	<b>0,7</b>

El valor Z-score  $|0,7|$  se corresponde con un desempeño **SATISFACTORIO** del centro ID015 asociado a la integridad de la muestra de ADN extraída.

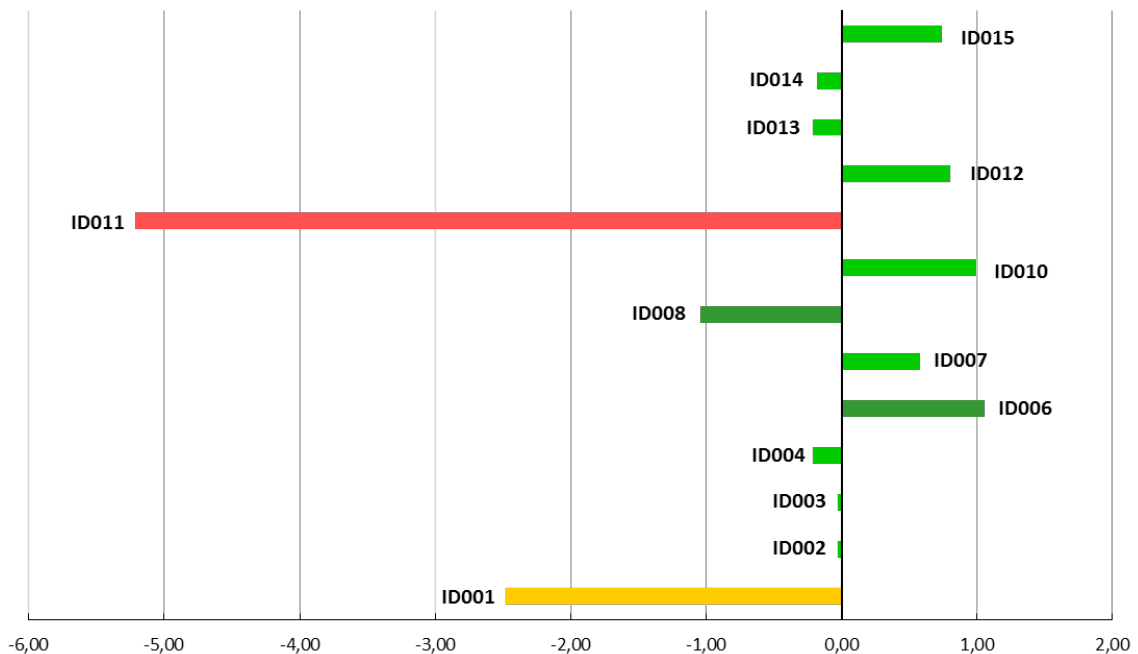
## 8.5. CLASIFICACIÓN GLOBAL DEL DESEMPEÑO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

### 8.5.1. Representación de los valores Z-Score obtenidos para cada uno de los centros participantes.

**Figura 10.** Valores Z-Score obtenidos por todos los centros participantes para la determinación de la integridad de la muestra de ADN mediante el valor de DIN proporcionado por el equipo TapeStation.

### Integridad. Valor de DIN

#### Z-Score



Para este ejercicio los valores Z-Score  $>+2$  se corresponden con una mayor integridad de las muestras de ADN y por lo tanto no estarían relacionados con una señal de alerta del desempeño sino con una mayor eficiencia del protocolo de extracción utilizado.



## 9. EVALUACIÓN CONJUNTA DEL DESEMPEÑO DE LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE SANGRE TOTAL.

### 9.1. CLASIFICACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL CENTRO ID015.

**Tabla 6.** Muestra el valor de Z-Score para el centro ID015 que permite la clasificación del proceso de extracción de ADN a partir de sangre total. Este valor Z-Score se ha calculado como valor absoluto del promedio de los valores de Z-Score correspondientes a la determinación de los diferentes parámetros de calidad analizados en la muestra de ADN remitida por este centro: rendimiento por espectrofotometría y fluorimetría, pureza con los ratios A260/280 y A260/230 e integridad mediante el análisis del valor de DIN.

CÓDIGO MUESTRA	Z-Score Rendimiento espectrofotometría (µg/ml)	Z-Score Rendimiento fluorimetría (µg/ml)	Z-Score Pureza A260/280	Z-Score Pureza A260/230	Z-Score Valor DIN	Z-Score Puntuación promedio	CLASIFICACIÓN DESEMPEÑO
15-ID015	2 ≈ 0	0,9	0,8	2,1	0,7	0,9	<b>SATISFACTORIO</b>

Para el cálculo del valor promedio de Z-Score los valores de Z-Score  $>+1$  asociados al rendimiento y la integridad se puntúan como valor =0 puesto que su desempeño se podría considerar como “altamente satisfactorio”, ya que dan lugar a muestras de ADN de elevado rendimiento y concentración. Teniendo en cuenta estas consideraciones el resultado del valor Z-score promedio =  $|0,9|$  se corresponde con un desempeño **SATISFACTORIO** para el centro ID015 en el proceso de extracción de ADN a partir de sangre total.

### 9.2. CLASIFICACIÓN GLOBAL DEL DESEMPEÑO DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

**Tabla 7.**

MÉTODO DE EXTRACCIÓN	CLASIFICACIÓN GLOBAL DESEMPEÑO CENTROS					
	INSATISFACTORIO		ADECUADO		SATISFACTORIO	
	% centros	nº centros	% centros	nº centros	% centros	nº centros
Kit de extracción por columna	8	1	8	1	15	2
Extracción esferas magnéticas			8	1	38	5
Precipitación sales o "salting out"	8	1			15	2

**Tabla 7.** Muestra el porcentaje y nº de centros clasificados en función del desempeño obtenido en el proceso de extracción como promedio de la determinación los diferentes parámetros de calidad analizados en la muestras de ADN enviadas por cada centro. Se muestra también la relación entre este desempeño y el protocolo utilizado. Ninguno de los centros participantes fue clasificado como desempeño cuestionable por lo que esta categoría no se ha incluido en la tabla.

Debido a que no han participado el mismo número de laboratorios por cada método de extracción no se puede establecer una relación concluyente entre el desempeño alcanzado y el método de extracción utilizado.

## **10. DETERMINACION DE LA CALIDAD DE LA MUESTRA DE ADN OBTENIDA EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN MEDIANTE UN SISTEMA DE PUNTUACIÓN ESTABLECIDO EN EL BNADN.**

Alternativamente a la evaluación del desempeño mediante el cálculo del valor Z-Score se ha procedido a la valoración de la calidad de la muestra de ADN extraída aplicando un sistema de puntuación elaborado por el Banco Nacional de ADN (BNADN) que permite integrar el análisis de criterios de calidad no cuantitativos. Estos criterios de calidad no cuantitativos se corresponden a una valoración de la integridad de la muestra de ADN mediante electroforesis en gel de agarosa y amplificación de un fragmento de gran tamaño (5kb) por PCR. La amplificación por PCR además de aportar información sobre el tamaño del ADN permite comprobar si la muestra de ADN es funcional

El sistema de puntuación establecido en el BNADN para poder valorar de manera conjunta, objetiva y estandarizada todos los parámetros de calidad analizados en la muestra de ADN extraída en este ejercicio se describe en la **figura 11**.

<b>SISTEMA DE PUNTUACIÓN BNADN</b>				
<b>CALIDAD MUESTRAS DE ADN</b>				
<b>TÉCNICA DE ANÁLISIS</b>	<b>PARÁMETRO</b>	<b>CRITERIOS DE VALIDEZ</b>		<b>PUNTUACIÓN</b>
	Rendimiento µg/ml	Rendimiento alto	≥ 20	3
		Rendimiento adecuado	≥ 10 < 20	2
		Bajo rendimiento	< 10	1
Espectrofotometría	Pureza (A260/280)	Pureza óptima	≥ 1,8 – 2,1	3
		Pureza aceptable	≥ 1,6 – < 1,8	2
		ADN contaminado (aromático)	< 1,6	1
		ADN contaminado (RNA)	> 2,1	1
Espectrofotometría	Pureza (A260/230)	Pureza óptima	≥ 2 – 2,2	3
		Pureza aceptable	≥ 1,8	2,5
		ADN contaminado (sales, fenol, hidratos de carbono...)	> 1,5 < 1,8	2
		ADN altamente contaminado (sales, fenol, hidratos de carbono...)	< 1,5	1
Electroforesis en gel de agarosa	Integridad del ADN	Alta: Banda definida en la parte superior del gel y un ligero smear		3
		Adecuada: Presencia simultánea de la banda en la parte superior del gel y un ligero smear		2,5
		Parcialmente degradado: Ausencia de banda definida y presencia de smear concentrado (parte superior del gel)		2
		Totalmente degradado: Smear concentrado (parte inferior del gel)		1
Microelectroforesis automatizada	Integridad del ADN (DIN = DNA Integrity Number)	Integridad alta	≥ 8	3
		Integridad adecuada	≥ 6 – 7,9	2,5
		Parcialmente degradado	≥ 3 – 6	2
		Totalmente degradado	< 3	1
PCR	Funcionalidad del ADN (Amplificación por PCR de 5 kb)	Amplifica producto de PCR- ADN funcional		3
		Amplifica producto de PCR pero débilmente- ADN funcionalmente comprometido		2
		No amplifica producto de PCR- ADN no funcional		1

<b>CLASIFICACIÓN GLOBAL SEGÚN PUNTUACIÓN</b>
≥ 2,5 OPTIMO
≥ 2 ACEPTABLE < 2,5
< 2 MEJORABLE

**Figura 11.** Sistema de puntuación establecido en el BNADN para evaluación de la calidad de las muestras de ADN

### 10.1. DETERMINACION DE LA CALIDAD DE LA MUESTRA DE ADN OBTENIDA EN EL CENTRO ID015.

**Tabla 8.**

1. RESULTADOS PARÁMETROS CALIDAD DEL ADN ID015												
Rendimiento espectrofotometría (µg/ml)		Rendimiento fluorimetría (µg/ml)		Pureza A260/280		Pureza 260/230		Integridad (Valor DIN)		Integridad (gel de agarosa)	Funcionalidad PCR 5 kb	Puntuación promedio
35,14	3	20,40	3	1,86	3	2,31	3	9	3	3	3	3

2. CLASIFICACIÓN GLOBAL DE LA MUESTRA DE ADN ID015	
Puntuación promedio	CALIDAD
3	ÓPTIMA

**Tabla 8.** Se muestra la puntuación correspondiente a cada uno de los parámetros de calidad analizados en la muestra de ADN extraída por el centro ID015. La puntuación promedio es la media de las puntuaciones alcanzadas en cada uno de los parámetros analizados y permite la clasificación global de la calidad de la muestra.

La calidad global de la muestra de ADN extraída en el centro ID015 es **ÓPTIMA**. Cabe destacar que resulta óptima para todos los parámetros de calidad analizados.

### 10.2. CLASIFICACIÓN GLOBAL DE LA CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE ADN EXTRAÍDAS EN LOS CENTROS PARTICIPANTES EN EL EJERCICIO.

**Tabla 9.**

MÉTODO DE EXTRACCIÓN	CLASIFICACIÓN GLOBAL CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE ADN					
	MEJORABLE		ACEPTABLE		ÓPTIMA	
	% muestras	nº muestras	% muestras	nº muestras	% muestras	nº muestras
Kit de extracción por columna	8	1	8	1	15	2
Extracción esferas magnéticas			8	1	38	5
Precipitación sales o "salting out"	8	1			15	2

**Tabla 9.** Muestra el porcentaje y nº de muestras de ADN clasificadas en función de la calidad global obtenida aplicando el sistema de puntuación establecido en el BANDN. Se muestra también la relación entre la calidad de las muestras de ADN y el protocolo utilizado.

Del mismo modo que se ha comentado en la clasificación del desempeño, no se puede establecer una relación concluyente entre la calidad de las muestras de ADN y el método de extracción ya que no han participado el mismo número de laboratorios por cada uno de los métodos de extracción utilizados.

**INFORME EMITIDO POR:**

---

Banco Nacional de ADN (Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca)

Fecha: 2022-10-03



Dra. Rosa Pinto Labajo

Departamento de Control de Calidad de Ácidos Nucleicos

---