

	<b>Extracción de Ácidos Nucleicos a partir de Muestras Biológicas</b>	<b>Código</b>	IPI.CD-03 v.00
		<b>Página</b>	1 de 3

## 1. Objetivo y Alcance

En este instructivo se establecen los lineamientos básicos de la extracción de ácidos nucleicos a partir de muestras clínicas para la detección de enfermedades infecciosas en el Laboratorio del Centro Experimental de Diagnóstico e Investigación Molecular de la Universidad de Pamplona.

El propósito de la extracción es obtener el material genético del microorganismo y/o partícula viral a partir de muestras clínicas. El ácido nucleico es el material requerido para hacer identificación molecular del agente causante de la infección por la técnica de -PCR.

## 2. Responsable

El responsable de ejecutar el presente procedimiento es un profesional en el área de Bacteriología y Laboratorio Clínico y/o Microbiología y Bioanálisis Clínico con experiencia en Biología Molecular

## 3. Definiciones

### 3.1 Cabina de Bioseguridad

Equipo diseñado para mantener un área libre de partículas o contaminantes que puedan alterar un proceso. (Fuente: <http://www.ingeniarg.com/blog/29-funcionamiento-de-las-cabinas-de-bioseguridad>)

### 3.2 Vórtex

Dispositivo usado para agitar tubos o frascos de líquido.

(Fuente: <https://www.balanzascobos.com/htm/productos/ofertas/agitador-para-tubos-de-ensayo-Vortex-Mixer.htm>)

### 3.3 Lisis

Proceso por el cual una célula se desintegra o es destruida a través de la ruptura de su membrana plasmática.

(Fuente: <https://www.lifeder.com/lisis-celular/>)

Las demás definiciones que aplican para el presente Documento se encuentran contempladas en la **Norma NTC ISO 9001 vigente Sistema de Gestión de la Calidad. Fundamentos y vocabulario.**

Elaboró		Aprobó		Validó	
Firma Diana Patricia Bohada Lizarazo		Firma Raúl Rodríguez Martínez		Firma Mabel Johanna Coronel Acevedo	
<b>Fecha</b>	22 de febrero de 2023	<b>Fecha</b>	22 de febrero de 2023	<b>Fecha</b>	02 de agosto de 2023

\*\*\*INFORMACIÓN DOCUMENTADA NO CONTROLADA\*\*\*

	<b>Extracción de ácidos Nucleicos a partir de Muestras Biológicas</b>	<b>Código</b>	IPI.CD-03 v.00
		<b>Página</b>	2 de 3

#### 4. Contenido

Nº DE ACTIVIDAD	ACTIVIDADES	RESPONSABLE	
<b>1</b>	<b>LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN</b>		
1.1	Ponerse adecuadamente los elementos de protección personal antes de ingresar al área de Extracción de Ácidos Nucleicos.	Profesional responsable del área	
1.2	Se limpia y desinfecta la superficie interna de la cabina de bioseguridad y las micropipetas con Hipoclorito de sodio 0,5% y Etanol 70%	Profesional responsable del área	
1.3	Irradiar la cabina de bioseguridad con luz UV	Profesional responsable del área	
<b>2</b>	<b>PROCESO</b>		
2.1	Configurar el equipo KingFisher Duo Prime: el equipo debe estar configurado con la cabeza magnética y el bloque de calor adecuado:	Profesional responsable del área	
	<b>Componente</b>		<b>Tipo</b>
	Cabeza magnética		Cabeza magnética de 12 puntas
	Bloque de calor		Tira de calor de 12 pocillos
2.2	Configurar la placa de muestras y tira de elución para 12 muestras	Profesional responsable del área	
2.3	Preparación de la Solución de Perlas de acuerdo con las instrucciones en el inserto de los diferentes kits de extracción automatizado	Profesional responsable del área	
2.4	Adicionar la muestra inactivada a la placa de muestras	Profesional responsable del área	
2.5	Mezcle por inversión suavemente la mezcla de perlas magnéticas ya preparada y adicione a cada muestra 275µl <b>NOTA:</b> Mezcle previamente la solución de perlas magnéticas antes de agregar a cada muestra; dicha solución es viscosa, pipeteo lentamente. Use una punta nueva para adicionar la solución en cada muestra, esto asegura que no haya variación del volumen agregado	Profesional responsable del área	
2.6	Adicione el buffer de Lavado y los volúmenes de Etanol de acuerdo con lo programado	Profesional responsable del área	
2.7	Seleccione el programa <b>MVP_Duo</b> en el equipo	Profesional responsable del área	
2.8	Inicie la ejecución, luego cargue la tira de elución y la placa de muestras en su posición cuando el equipo lo solicite. Después de completar el protocolo ( 27 minutos después del inicio) retire la tira de elución y transfiera la solución eluida a un tubo epperdorf de 1,5ml nuevo <b>NOTA:</b> Este proceso se repetirá de acuerdo con el número de muestras a procesar	Profesional responsable del área	
2.9	El ácido nucleico purificado está listo para ser usado y entregado al área de Mezcla o deberá ser almacenado a -20°C durante una semana o -80°C durante 5 años	Profesional responsable del área	

	<b>Extracción de ácidos Nucleicos a partir de Muestras Biológicas</b>	<b>Código</b>	IPI.CD-03 v.00
		<b>Página</b>	3 de 3

2.10	Se realiza limpieza y desinfección del Área de Extracción, adicional se llenan los FPI.CD-09 “Monitoreo Luz Ultravioleta”, FPI.CD-06 “Monitoreo Temperatura Ambiental” y FPI.CD-07 “Monitoreo Humedad Ambiental”	Profesional responsable del área
------	--	----------------------------------

## 5. Documentos de Referencia

- NTC ISO 9000 vigente Sistema Integrado de Gestión. Fundamentos y Vocabulario.
- NTC ISO 9001 vigente Sistema Integrado de Gestión. Requisitos.
- Ley 962 de 2005 “Antitrámites”
- Ley 594 de 2000 Archivo General de la Nación.
- MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit Manual isolation of viral nucleic acid (RNA and DNA) from biofluids and transport media. Disponible en: [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018072\\_MagMAXViralPathoNuclAcidIsolatKit\\_Manually\\_UG.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018072_MagMAXViralPathoNuclAcidIsolatKit_Manually_UG.pdf)
- MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit High throughput isolation of viral nucleic acid (RNA and DNA) from biofluids and transport media Disponible en: [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018073\\_MagMAXViralPathoNuclAcidIsolatKit\\_Automated\\_UG.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018073_MagMAXViralPathoNuclAcidIsolatKit_Automated_UG.pdf)
- World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance. WHO/COVID-19/laboratory/2020.5. Geneva: WHO; 2020. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>

## 6. Historia de Modificaciones

Versión	Naturaleza del Cambio	Fecha de Aprobación	Fecha de Validación

## 7. Anexos

No aplica