	<b>Preparación de Master Mix para la detección del complejo de <i>Mycobacterium tuberculosis</i></b>	<b>Código</b>	ILA-17 v.00
		<b>Página</b>	1 de 3

## 1. Objetivo y Alcance

En este documento se define la adecuada preparación del Master Mix que permita la amplificación del DNA que sirva para la detección secuencia de inserción de múltiples copias específica IS6110 según el protocolo propuesto por el Kit PCR de *Mycobacterium tuberculosis* de la casa comercial GeneProof y que llevaran a la identificación del complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

## 2. Responsable

El proceso será ejecutado por un profesional del área de Bacteriología o Microbiología Clínica, o profesiones afines que tenga experiencia en Biología o que reciba el respectivo entrenamiento.

## 3. Definiciones

### 3.1 Placa

Contenedor cuya finalidad será observar el comportamiento de las muestras biológicas evaluadas.

### 3.2 Cabina de flujo laminar

Equipo que le da un tratamiento especial al flujo de aire, permitiendo un control de partículas evitando o controlando las posibilidades de contaminación.


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.**

## 4. Contenido

N° DE ACTIVIDAD	ACTIVIDADES	RESPONSABLE
1	<b>PREPARACIÓN</b>	
1.1	Se ingresa al área y todos los días antes de iniciar cualquier procedimiento se debe realizar la limpieza y desinfección de las superficies donde se realizan las actividades propias de la extracción, desinfectando cabinas de bioseguridad, mesones y materiales a utilizar como las micropipetas, usando para estas áreas Hipoclorito de sodio 0,5% y Etanol 70%. Adicionalmente se alistan los elementos que se usan durante el	Profesional responsable del área

Elaboró		Aprobó		Validó	
Firma Monica Alexandra Bustos Carvajal		Firma Freddy Solano Ortega		Firma Mabel Johanna Coronel Acevedo	
<b>Fecha</b>	14 de julio de 2021	<b>Fecha</b>	14 de julio de 2021	<b>Fecha</b>	22 de septiembre de 2021


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

	<b>Preparación de Master Mix para la detección del complejo de <i>Mycobacterium tuberculosis</i></b>	<b>Código</b>	ILA-17 v.00
		<b>Página</b>	2 de 3

	<p>procesamiento como pipetas, frascos o bolsas de descarte con el respectivo inactivador como lo es el hipoclorito y demás elementos necesarios.</p> <p>Una vez se han desinfectado áreas e instrumentos de uso se procede a colocar por 30 a 60 minutos Luz ultravioleta con la finalidad de terminar el proceso de desinfección del área antes de procesar.</p> <p>En el momento de ingresar al área, el bacteriólogo encargado del área de Master mix una vez ingresa a su horario laboral debe dirigirse al área dispuesta como Vestier con la finalidad de colocarse la indumentaria apropiada para el procesamiento de la muestra (bata, uniforme antifluido, elementos de protección personal como tapabocas N95, Careta o Gafas de protección Ocular, y guantes), una vez esté listo procederá al área de master mix.</p>	
1.2	Una vez realizado el proceso de limpieza y desinfección el bacteriólogo debe sacar los reactivos para que se atemperen y mientras tanto se realizan los cálculos para la preparación del Master Mix de PCR según lo indica la casa comercial. Adicionalmente se realiza el mapa de como quedarán dispuestas las muestras en la placa o tiras de strip a procesar.	Profesional responsable del área
2	<b>PROCESO</b>	
2.1	Dependiendo de la cantidad de muestras a trabajar se debe seleccionar el material a usar siendo estas placas o tiras de strip por 8 tubos con volumen de 0,2 ml,, los cuales deben ser estériles y previamente autoclavados en el caso de los strip. Para mantener las condiciones necesarias para la polimerasa es necesario trabajar sobre cooler donde se dispondrá la placa o las tiras de strip	Profesional responsable del área
2.2	Una vez atemperados los reactivos se procede a mezclarlos y en un vial de 1,5 ml se dispensan los volúmenes necesarios de acuerdo a los cálculos desarrollados para que una vez todos los elementos contenidos en el sean mezclados y homogenizados.	Profesional responsable del área
2.3	De la mezcla presente en el vial de 1,5 ml se Agregan 30 µl de Master Mix en los tubos de PCR según el número de muestras a procesar.	Profesional responsable del área
2.4	Se traslada el cooler con las tiras o placa al área de carga de RNA.	Profesional responsable del área
2.5	Como todo proceso una vez finalizado se debe realizar la desinfección y limpieza de las áreas usadas para ello debe limpiar con Hipoclorito de sodio 0,5% y Etanol 70%, y posteriormente se aplica luz Ultravioleta a la cabina de flujo laminar.	Profesional responsable del área
2.6	Se deberá cumplir con el diligenciamiento de los formatos <b>FLA-66 “Monitoreo de luz Ultravioleta”, FLA-63 “Monitoreo Temperatura Ambiental” FLA-64 “Monitoreo Humedad Ambiental”</b> del área de master mix.	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.
- GeneProof Mycobacterium tuberculosis PCR Kit

	<b>Preparación de Master Mix para la detección del complejo de <i>Mycobacterium tuberculosis</i></b>	<b>Código</b>	ILA-17 v.00
		<b>Página</b>	3 de 3

## 6. Historia de Modificaciones

<b>Versión</b>	<b>Naturaleza del Cambio</b>	<b>Fecha de Aprobación</b>	<b>Fecha de Validación</b>

## 7. Anexos

No aplica