

	Carga de ADN Bacteriano en Placas o Tiras de Tubo para PCR en Tiempo Real	Código	ILA-18 v.00
		Página	1 de 3

1. Objetivo y Alcance

El objetivo del presente instructivo es mencionar los pasos adecuados para el proceso de carga de los ácidos nucleicos obtenidos anteriormente en el proceso de Extracción, y de esta manera realizar la mezcla con los reactivos del master mix necesarios para el proceso de amplificación del ADN bacteriano en búsqueda del Complejo de *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 molecular.

3. Definiciones

3.1 Placa o strip x 8 tubos para PCR

Recipiente plástico termoestable cuya utilidad es servir de contenedor para los reactivos de la master mix y la muestra biológica permitiendo la ejecución de la PCR

3.2 Prueba PCR en tiempo real

Técnica de Laboratorio denominada reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. (Fuente: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2013/ir132d.pdf>)


3.3 Tapa óptica

Elemento plástico usado para cubrir herméticamente las tiras de pcr donde se llevará a cabo el proceso de amplificación.

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 Monica Alexandra Bustos Carvajal		Firma Freddy Solano Ortega		Firma Mabel Johanna Coronel Acevedo	
Fecha	14 de julio de 2021	Fecha	14 de julio de 2021	Fecha	22 de septiembre de 2021

INFORMACIÓN DOCUMENTADA NO CONTROLADA

	Carga de ADN Bacteriano en Placas o Tiras de Tubo para PCR en Tiempo Real	Código	ILA-18 v.00
		Página	2 de 3

4. Contenido

N° DE ACTIVIDAD	ACTIVIDADES	RESPONSABLE
1	LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN	
1.1	Se ingresa al área de mezcla y todos los días antes de iniciar cualquier procedimiento se deberá realizar la limpieza y desinfección de las superficies donde se realizarán las actividades propias del área de mezcla, 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 usarán durante el procesamiento como pipetas, frascos o bolsas de descarte con el respectivo inactivador como lo es el hipoclorito y demás elementos necesarios.	Profesional responsable del área
1.2	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.	Profesional responsable del área
1.3	El bacteriólogo encargado del área de mezcla una vez ingresa a su horario laboral deberá 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 mezcla	Profesional responsable del área
2	PROCESO	
2.1	Antes de iniciar el proceso el profesional debe realizar el esquema o mapa donde ubicará y relacionará como se hará la disposición de cada una de los ADN provenientes del área de Extracción, para ello diligenciará el FLA-62 "Registro de Muestras en el Plato de 96 Pozos" . En este paso se mantendrá la numeración que se presente desde extracción.	Profesional responsable del área
2.2	En cada uno de los pozos se realizará el proceso de servir 10 uL de ADN extraído de las muestras clínicas de acuerdo con el esquema diseñado previamente, con el fin de obtener un volumen final de la reacción de 40 uL.	Profesional responsable del área
2.3	Servir 10 ul de control positivo del kit.	Profesional responsable del área
2.4	Servir 10 ul de H ₂ O como control negativo.	Profesional responsable del área
2.5	Una vez se hallan servido las muestras y los controles se deberá tapar dependiendo del recipiente utilizado podrán usarse las tapas ópticas o las filmas adhesivas.	Profesional responsable del área
2.6	Se traslada el cooler con los tubos o el plato debidamente sellado al área de amplificación donde se encuentra el termociclador.	Profesional responsable del área
2.7	Como todo proceso una vez finalizado se debe realizar la desinfección y limpieza de las áreas usadas para ello deberán limpiar con Hipoclorito de sodio 0,5% y Etanol 70%, y posteriormente se aplicará luz Ultravioleta a la cabina de flujo laminar. Se deberá cumplir con el diligenciamiento de los formatos FLA-66 "Monitoreo de luz Ultravioleta" , FLA-63 "Monitoreo Temperatura Ambiental" FLA-64 "Monitoreo Humedad Ambiental" del área de mezcla.	Profesional responsable del área

5. Documentos de Referencia

	Carga de ADN Bacteriano en Placas o Tiras de Tubo para PCR en Tiempo Real	Código	ILA-18 v.00
		Página	3 de 3

- 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

6. Historia de Modificaciones

Versión	Naturaleza del Cambio	Fecha de Aprobación	Fecha de Validación

7. Anexos

No Aplica