

	Extracción de ARN a partir de Muestras Clínicas para la Detección de SARS-CoV-2	Código	ILA-07 v.00
		Página	1 de 3

1. Objetivo y Alcance

En este instructivo se establecen los lineamientos básicos de la extracción de ARN viral a partir de muestras clínicas para la detección de SARS-CoV-2 en el Laboratorio del Centro Experimental de Diagnóstico e Investigación Molecular de la Universidad de Pamplona.

El propósito de la extracción de RNA viral es obtener el material genético del virus a partir de muestras clínicas. El RNA viral es el insumo requerido para hacer identificación molecular del agente causante del COVID-19, SARS-CoV2 por RT-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 Freddy Solano Ortega		Firma Jhon Arvery Arenas	
Fecha	30 de septiembre de 2020	Fecha	19 de marzo de 2021	Fecha	25 de marzo de 2021

INFORMACIÓN DOCUMENTADA NO CONTROLADA

	Extracción de ARN a partir de Muestras Clínicas para la Detección de SARS-CoV-2	Código	ILA-07 v.00
		Página	2 de 3

4. Contenido

N° DE ACTIVIDAD	ACTIVIDADES	TIEMPO	RESPONSABLE	
1	LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN			
1.1	Ponerse adecuadamente los elementos de protección personal. antes de ingresar al área de Extracción de ARN	10 minutos	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%	5 minutos	Profesional responsable del área	
1.3	Irradiar la cabina de bioseguridad con luz UV	15 minutos	Profesional responsable del área	
2	PROCESO			
2.1	Configurar el equipo KingFisher Duo Prime: el equipo debe estar configurado con la cabeza magnética y el bloque de calor adecuado:	10 minutos	Profesional responsable del área	
	Componente			Tipo
	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	15 minutos	Profesional responsable del área	
2.3	Preparación de la Solución de Perlas de acuerdo con las instrucciones en el inserto del kit de MagMax Viral Pathogen	10 minutos	Profesional responsable del área	
2.4	Adicionar la muestra inactivada a la placa de muestras	5 minutos	Profesional responsable del área	
2.5	Mezcle por inversión suavemente la mezcla de perlas magnéticas ya preparada y adicione a cada muestra 275µl NOTA: Mezcle previamente la solución de perlas magnéticas antes de agregar a cada muestra; dicha solución es viscosa, pipetee lentamente. Use una punta nueva para adicionar la solución en cada muestra, esto asegura que no haya variación del volumen agregado	10 minutos	Profesional responsable del área	
2.6	Adicione el buffer de Lavado y los volúmenes de Etanol de acuerdo con lo programado	10 minutos	Profesional responsable del área	
2.7	Seleccione el programa MVP_Duo en el equipo	1 minuto	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 eluída a un tubo epperdorf de 1,5ml nuevo NOTA: Este proceso se repetirá de acuerdo con el número de muestras a procesar	27 minutos	Profesional responsable del área	
2.9	El ARN 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	1 semana a 5 años	Profesional responsable del área	

	Extracción de ARN a partir de Muestras Clínicas para la Detección de SARS-CoV-2	Código	ILA-07 v.00
		Página	3 de 3

2.10	Se realiza limpieza y desinfección del Área de Extracción, adicional se llenan los FLA-66 “Monitoreo Luz Ultravioleta”, FLA-63 “Monitoreo Temperatura Ambiental” y FLA-64 “Monitoreo Humedad Ambiental”	30 minutos	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
- 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
- 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