



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS

DIVISION DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-IS-BS-18

Página 1 de 5

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión vigente: 02

INDICE

	Pág.
1.0 ALCANCE.....	01
2.0 DOCUMENTOS APLICABLES.....	01
3.0 DEFINICIONES.....	02
4.0 MATERIAL Y EQUIPO.....	02
5.0 DESARROLLO.....	03
6.0 ANEXOS.....	07
7.0 CONTROL DE CAMBIOS.....	08

1. Alcance:

Esta instrucción de trabajo aplica al proceso basado en la reacción en cadena de la polimerasa para la detección del ARN del Virus Inmunodeficiencia Humana, el ARN del Virus de la Hepatitis C y el ADN del Virus de la Hepatitis B. Desde la toma de muestra en el área de sangrado hasta el registro de resultados para la liberación de unidades, incluyendo Control de Calidad Externo, acorde a la N/A NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

2. Documentos aplicables:

PR-IS-BS-13 Procedimiento Determinaciones Analíticas de Agentes Transmisibles por Transfusión.

FT-IS-BS-01 Tarjeta de Registro de Donador.

IT-IS-BS-20 Instrucción de trabajo detección de agentes infecciosos transmisibles por transfusión técnica Quimioluminiscencia.

N/A NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

N/A NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

N/A Sistema Informático

N/A Etiqueta sangre segura

N/A Libro de Ingresos/Egresos

N/A Libro Serologías Reactivas

N/A Libro Sangre Descartada

N/A Carpeta para Resultados de NAT para VHC, VHB y VIH.

N/A Carpeta controles de tercera opinión (ACCURUN) NAT.

	Elaboró	Revisó	Autorizó
COPIA NO CONTROLADA	QFB. Nancy Mercedes Ibarra De la Torre <i>[Signature]</i> Químico del Banco de Sangre	Dra. Esperanza Elizabeth Zuno Reyes <i>[Signature]</i> Jefa de Banco de Sangre	Dr. Santiago López Venegas <i>[Signature]</i> Jefe De La División de servicios auxiliares de diagnóstico y tratamiento

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS	Código: IT-IS-BS-18
		Página 2 de 8
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 02

N/A Manual del Usuario
N/A Manual del Operador
N/A Bitácora de Mantenimiento

3. Definiciones:

NAT: Nucleic Acid Amplification, siglas en inglés de amplificación del ácido nucleico.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Proceso in vitro utilizado para amplificar secuencias cortas específicas de ácido nucleico. La tecnología de PCR se lleva a cabo mediante la técnica de termociclación.

Pool: Un pool corresponde a 6 muestras de diferentes donadores a procesar.

Repetición: Aplica en muestras insuficientes, o con coágulo, burbuja, fibrina y pool inválido.

Resolución: Aplica cuando se detectan pools reactivos para identificar la muestra reactiva identificando el ARN del VIH, el ARN de la Hepatitis C y el ADN del virus de la Hepatitis B.

Resultado NO REACTIVE: Sinónimo de NEGATIVO para efectos de esta instrucción de trabajo.

Etiqueta sangre segura: Etiqueta que se adhiere a la unidad de sangre y a cada hemocomponente con los datos completos y correctos que cumplan con trazabilidad y con N/A NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

Destino final: Deposita los hemocomponentes en contenedor de residuos peligrosos biológico infecciosos de acuerdo con la N/A NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

Unidades liberadas: Unidades con etiqueta de sangre segura adherida a cada hemocomponente sin motivo de baja ni descarte ni serología reactiva ni en zona gris. Disponibles para uso transfusional.

ACCURUN: controles de tercera opinión.

4. Material y Equipo:

- Equipo HAMILTON Microlab STAR
- Equipo COBAS AmpliPrep
- Equipo COBAS TaqMan
- Tubos con anticoagulante EDTA 13x100
- Control NEGATIVO Y POSITIVOS del fabricante
- Controles de tercera opinión
- Solución buffer

COPIA NO CONTROLADA



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS

Código: IT-IS-BS-18

Página 3 de 8

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Versión Vigente: 02

- Tubos S (S-tubes)
- Tubos K (K-tubes)
- Puntas K (K-tips)
- Rack para muestras SK32 y para controles SK24
- Rack para reactivos
- Guantes sin talco
- Centrifuga
- Placas de archivo
- Tapas para placas de archivo
- Core-tips
- SPU
- Reactivo TaqScreen MPX Versión 2.0
- Puntas de 1000 y 200 microL
- Pipetas automáticas de 1000 y 200microL
- Alcohol al 70%
- Agua destilada
- Microcid
- Gasas
- Plastic chute
- Wastebag Biohazard

5. Desarrollo:

No.	Responsables	Descripción de la Actividad
5.1	Químico /TLC	Limpia y desinfecta minuciosamente todas las superficies de trabajo utilizando alcohol etílico al 70% ó Microcid 1 onza + 945mL de agua destilada, en caso de no contar con Microcid comercial ver Anexo 1.
5.2	Químico /TLC	Recibe muestras del área de sangrado, externas (con VoBo de Jefatura) y/o de control de calidad externo. Las muestras del control de calidad externos son tratadas y procesadas como una muestra más. Centrifuga las muestras por 10 minutos a 3500 rpm. <i>Ver inserto: requisitos y características de las muestras para biología molecular para determinación de NAT por PCR.</i> Ver PR-IS-BS-13 Procedimiento Determinaciones Analíticas de Agentes Transmisibles por Transfusión.
5.3	Químico /TLC	Atempera kit de controles, reactivos, muestras antes de su uso y de acuerdo a calendario los controles externos de calidad.

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE
ACIDOS NUCLEICOS**

Código: IT-IS-BS-18

Página 4 de 8

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Versión Vigente: 02

5.4	Químico /TLC	Limpia todos los racks SK24 y SK32 con etanol al 70% antes de cada corrida; además, realiza mantenimiento del Hamilton diario o semanal (según corresponda) de acuerdo al Manual del Usuario. Mantenimiento al TaqMan y Ampliprep; ver Manual del Usuario.						
5.5	Químico /TLC	<p>Selecciona en Hamilton el software WIZARD, elige el tipo de ensayo en la versión 2.0, de acuerdo al ensayo seleccionado eligirá si corre o no controles de tercera opinión.</p> <p>Carga las muestras, los consumibles y los controles siguiendo las instrucciones del software; los viales de los controles de tercera opinión deberán limpiarse con una gasa impregnada de Microcid, dejará reposar unos minutos y antes de abrir los viales limpiar con una gasa humedecida con alcohol al 70%.</p> <p>Corroborar al final se haya transmitido la orden de trabajo del Hamilton al AMPLILINK. Tapar S-tubes, corrobora volumen correcto y no contenga burbujas.</p> <p>En AMPLIPREP: Carga consumibles, reactivos y los pools realizados en el Hamilton. Ver Manual del Usuario.</p> <p>Registra en N/A Bitácora de Mantenimiento, los mantenimientos efectuados según haya correspondido.</p>						
5.6	Químico /TLC	<p>Pulsa en el software AMPLILINK en la pantalla principal la opción "Start" e inicia el procedimiento de PCR en la corrida.</p> <p>Aparece en la pantalla un tiempo estimado para el término de la preparación, automáticamente las muestras son trasladadas al COBAS TaqMan para la amplificación y detección.</p> <p>Retira los consumibles utilizados del AMPLIPREP; y desecha de acuerdo con la N/A NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.</p> <p>Retira los reactivos y registra en la caja las pruebas disponibles y refrigera.</p>						
5.7	Químico /TLC	Concluido el procedimiento, los resultados son transmitidos de manera automática del AMPLILINK al Datamanager.						
5.8	Químico /TLC	<p>Revisa los controles de la corrida:</p> <table border="1" data-bbox="487 1591 1461 1780"> <thead> <tr> <th data-bbox="487 1591 711 1665">¿Controles Válidos?</th> <th data-bbox="711 1591 1461 1665">ENTONCES:</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="487 1665 711 1701">SI</td> <td data-bbox="711 1665 1461 1701">Acepta resultados e imprime. Continúa en 5.9</td> </tr> <tr> <td data-bbox="487 1701 711 1780">NO</td> <td data-bbox="711 1701 1461 1780">Acepta y repite la corrida a partir de la placa de archivo. Pasa a 5.1</td> </tr> </tbody> </table> <p>*NOTA: El resultado del control de calidad externo se reporta a</p>	¿Controles Válidos?	ENTONCES:	SI	Acepta resultados e imprime. Continúa en 5.9	NO	Acepta y repite la corrida a partir de la placa de archivo. Pasa a 5.1
¿Controles Válidos?	ENTONCES:							
SI	Acepta resultados e imprime. Continúa en 5.9							
NO	Acepta y repite la corrida a partir de la placa de archivo. Pasa a 5.1							

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS	Código: IT-IS-BS-18
		Página 5 de 8
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 02

		Jefatura pasa 5.12	
5.9	Químico /TLC	Revisa resultados de las muestras procesadas:	
		¿Pool Reactivo o Inválido?	Entonces
		SI	Realiza Resolución (en pool reactivo) o Repetición (en pool Inválido) a partir de la placa de archivo. Pasa a 5.1 Separa y resguarda todas las unidades de sangre y sus componentes que forman parte del pool reactivo y/o inválido en el refrigerador en el área de sangre no liberada.
		NO	Reporta resultados en N/A Libro de Ingresos/Egresos, FT-IS-BS-01 Tarjeta de Registro de Donador y N/A Sistema Informático como NO REACTIVO.
		* NOTA: en caso de control de calidad externo el resultado se reporta a jefe de servicio, o en su ausencia al médico coordinador. Continúa en 5.12.	
5.10	Químico /TLC	Recibe notificación y visto bueno del químico en determinaciones analíticas por Quimioluminiscencia que los registros están completos y unidades no liberadas para etiquetarse. Ver IT-IS-BS-20 Instrucción de trabajo determinaciones de agentes infecciosos transmisibles por transfusión técnica Quimioluminiscencia.	
5.11	Químico /TLC	Imprime N/A Etiqueta de sangre segura y las adhiere a cada una de las unidades de sangre y sus componentes corroborando correspondan número de unidad, nombre completo del donador, verifica corresponda tubo piloto y hemocomponente fraccionado. Deja disponibles las unidades liberadas en refrigeración, congelación o en agitación según corresponda su conservación. Ver N/A NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.	
5.12	Químico /TLC	Resultado de la Resolución válido	
		SI	Acepta e imprime. Revisa resultados e identifica las muestras reactivas. La reporta como REACTIVA especificando el ensayo a cual fue reactivo en N/A Libro de Ingresos/Egresos, FT-IS-BS-01 Tarjeta de Registro de Donador y N/A Sistema Informático; N/A Libro Serologías Reactivas; N/A Libro Sangre Descartada. Archiva

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS	Código: IT-IS-BS-18
		Página 6 de 8
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 02

		<p>expediente clínico completo en folder verde correspondiente al mes en curso. Da destino final a las unidades implicadas, en caso de ser necesario. Ver N/A NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.</p>
	NO	Acepta y repite la corrida del pool reactivo. Repite a partir de la placa de archivo. Pasa a 5.1
		Resultado de la Repetición válido
	SI	<p>Acepta e imprime. Resultado NEGATIVO. Lo reporta como NEGATIVO en N/A Libro de Ingresos/Egresos, FT-IS-BS-01 Tarjeta de Registro de Donador y N/A Sistema Informático. Resultado REACTIVO. Realiza resolución del pool reactivo a partir de la placa de archivo. Pasa a 5.1</p>
	NO	Acepta y repite el pool inválido. Repite a partir de la placa de archivo. Hasta un máximo de tres repeticiones. Pasa a 5.1
5.13	Jefe de servicio/Médico o coordinador del Banco de Sangre	Reporta resultados de control de calidad externo vía internet en la página correspondiente.
5.14	Químico /TLC	<p>Una vez reportado los resultados de NAT en FT-IS-BS-01 Tarjeta de Registro de Donador, se resguardan en caja identificada previamente con el mes y año en curso para archivo; al final del mes se anexan las bajas por diferentes motivos exceptuando los reactivos. Resguarda impresiones de resultados de plataforma de NAT en N/A Carpeta para Resultados de NAT para VHC, VHB y VIH. Resguarda los gráficos obtenidos de los controles de tercera opinión en N/A Carpeta controles de tercera opinión (ACCURUN) NAT.</p>

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS	Código: IT-IS-BS-18
		Página 7 de 8
DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019	
	Versión Vigente: 02	

6. Anexos:

ANEXO 1

Limpieza diaria: Utilizar soluciones de Cloro al 0.5% y de Etanol al 70%, siguiendo el protocolo ya establecido

- Iniciar la limpieza aplicando la solución de cloro al 0.5% con una gasa humedecida en la misma, sobre las superficies de trabajo y en el exterior de los instrumentos. Dejar actuar de 1 a 2 minutos-
- Continuar aplicando la solución de Etanol al 70%, con una gasa humedecida en la misma, igualmente sobre las superficies de trabajo y el exterior de los instrumentos. Dejar actuar de 1 a 2 minutos.

La preparación de las soluciones deberá realizarse de acuerdo a las siguientes indicaciones:

CLORO al 0.5%:

1. No utilizar metal para la preparación de las soluciones de cloro –utilizar envases de vidrio o de plástico
2. Siempre adicionar el cloro al agua y nunca a la inversa.
3. Indicaciones de preparación:

SOLUCION COMERCIAL	SOLUCION DESEADA	PREPARAR
Solución de cloro concentrada al 5.0%	Solución de cloro diluida al 0.5%	Agregar 9 partes de agua a una parte de solución de cloro al 5.0% (solución comercial)
Solución de cloro concentrada al 6.0%	Solución de cloro diluida al 0.5%	Agregar 11 partes de agua a una parte de solución de cloro al 6.0% (solución comercial)

ETANOL al 70%:

1. No utilizar metal para la preparación de la solución, utilizar envases de vidrio o de plástico
2. Indicaciones de preparación:

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO AMPLIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS	Código: IT-IS-BS-18
		Página 8 de 8
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Septiembre 2019
		Versión Vigente: 02

SOLUCION COMERCIAL	SOLUCION DESEADA	PREPARAR
Etanol al 96% (grado laboratorio)	Solución de etanol diluida al 70%	Agregar 27 ml de agua a 73 ml de etanol al 96%

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
0	Marzo 2016	Alta al documento
1	Noviembre 2017	Mejoras en el proceso
2	Septiembre 2019	Revisión anual, mejoras en la instrucción de trabajo para disminuir el riesgo de contaminación cruzada.

COPIA NO CONTROLADA