

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD





INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

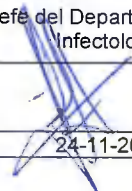
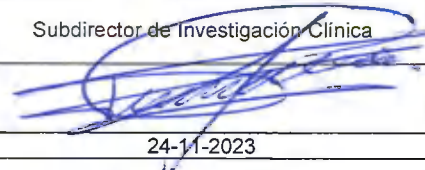
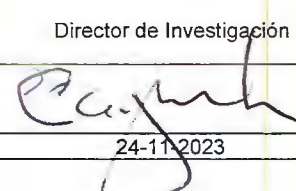
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DEL
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGÍA



NOVIEMBRE 2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 1 DE: 32

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN		30
I. OBJETIVO DEL MANUAL		31
II. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE DIAGNÓSTICO:		32
1. PREPARAR EL MEDIO DE TRANSPORTE VIRAL		
2. REALIZAR EL TRANSPORTE Y RECEPCIÓN DE MUESTRAS CLÍNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE SARS-CoV-2 Y OTROS PATÓGENOS RESPIRATORIOS		
3. REALIZAR EL ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS		
4. DETERMINAR SARS-CoV-2 E INFLUENZA A Y B POR qRT-PCR MULTIPLEX DE POR EL KIT CoviFlu DE Genes2Life		
5. REALIZAR PANEL DE BACTERIAS Y VIRUS RESPIRATORIOS POR RESPIFINDER EN EL EQUIPO ROTOR-GENE Q		
6. REALIZAR PANEL DE BACTERIAS Y VIRUS RESPIRATORIOS POR EL KIT FILM ARRAY (RESPIRATORY PANEL 2.1) EN EL EQUIPO BIOFIRE		
7. REALIZAR PANEL DE VIRUS, BACTERIAS Y PARÁSITOS GASTROINTESTINALES POR EL KIT FILM ARRAY (FILM ARRAY GASTROINTESTINAL (GI)) EN EL EQUIPO BIOFIRE		
8. REALIZAR LA SECUENCIACIÓN DEL VIRUS SARS-CoV-2 MEDIANTE EL SISTEMA ILLUMINA COVIDSEQ ASSAY		
9. REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE IgG, IgA E IgM ANTI-Histoplasma capsulatum POR ELISA		
10. REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE VIRUELA SÍMICA POR RT-PCR EN TIEMPO REAL		

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 2 DE: 32

III. PROCEDIMIENTOS SISTEMA DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA:

11. SISTEMA MICROCLIN

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Informatica/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-INF-02%20MicroClin.pdf>

12. DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE GLUTAMATO DESHIDROGENASA (GDH) PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Anaerobios/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-308%20GDH.pdf>

13. PRUEBA DE CAMP

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-%20149%20CAMP.pdf>

14. LEUCINA AMINOPEPTIDASA (LAP)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-139%20LAP.pdf>

15. PRUEBA DE HIDRÓLISIS DE PIRROLIDONIL-B-NAFTILAMINA (PYR)

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-140%20PYR_listo.pdf



16. DETERMINACIÓN DE HIDRÓLISIS DE ALMIDÓN

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-141,%20Almidon%20FUSION.pdf>

17. DETERMINACIÓN DE LA UREASA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-142%20Urea.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 3 DE: 32

18. REACCIÓN DE VOGES-PROSKAUER

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-143%20VP.pdf>

19. PRUEBA DE SATELITISMO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-144%20Satelitismo.pdf>

20. TOLERANCIA A SALES BILIARES E HIDRÓLISIS DE ESCULINA

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-145%20BE_listo.pdf

21. DETERMINACIÓN DE DNASA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-146%20DNAsa%20FUSION.pdf>

22. PRUEBA DE LA BACITRACINA

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-147%20Baci%20A_listo.pdf

23. DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD EN BILIS


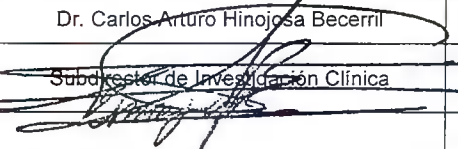
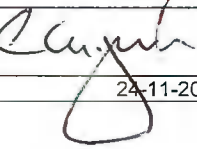
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-148%20SBil.pdf>



24. DETERMINACIÓN DE CATALASA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-150%20Catalasa.pdf>

25. PRUEBA DE COAGULASA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-153%20Coagulasa.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 4 DE: 32

26. DESCARBOXILACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS LISINA, ORNITINA Y ARGININA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-154%20LOA.pdf>

27. DETECCIÓN DE ÁCIDO SULFÚDRICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-155%20H2S.pdf>

28. PRUEBA DE OXIDACIÓN-FERMENTACIÓN

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-156%20OF.pdf>

29. FERMENTACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN KLIGLER O TSI

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-157%20Ferm%20TSI Kligler.pdf>

30. PRUEBA DE UTILIZACIÓN DE CARBOHIDRATOS PARA BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-158%20F O%20Carbohidratos.pdf>

31. PRUEBA DE DETECCIÓN DE INDOL


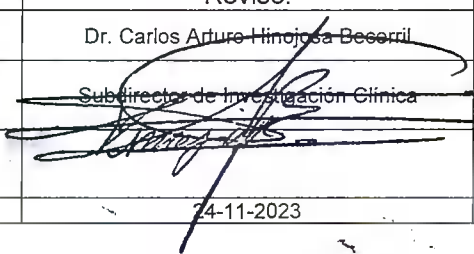
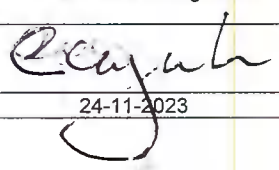
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-159%20Indol.pdf>



32. PRUEBA DEL ROJO DE METILO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-160%20RM.pdf>

33. PRUEBA DE OPTOQUINA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-163%20PN.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerra	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 5 DE: 32

34. PRUEBA DE LA FOSFATASA ALCALINA

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-166%20%20Fosfatasa%20Alcalina%20\(FAL\).pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-166%20%20Fosfatasa%20Alcalina%20(FAL).pdf)

35. PRUEBA DE TOLERANCIA A FUCSINA Y TEONINA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BRUCELLA SPP

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-171%20Brucella%20FUSION.pdf>

36. DETECCIÓN DE B-LACTAMASAS POR NITROCEFÍN

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-172%20Nitrocefin.pdf>

37. PRUEBA DE LA LICUEFACCIÓN DE LA GELATINA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-175%20Gelatina.pdf>

38. HIDRÓLISIS DE HIPURATO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-300%20HIP%20FUSION.pdf>

39. TÉCNICA DE CAMPO OSCURO PARA LA BÚSQUEDA DE ESPIROQUETAS

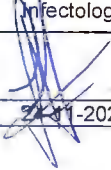
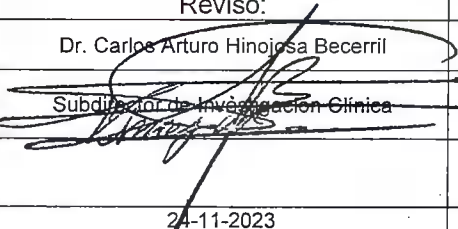
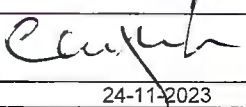
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%20123%20CO%20FUSION.pdf>



40. SEGUIMIENTO DEL CULTIVO DE BIOPSIA Y BIOPSIA CUANTITATIVA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-17%20Seq%20Bx BxQ.pdf>

41. CONTROL DE CALIDAD DE TARJETAS DE IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD VITEK 2

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-314%20QC%20Tarjetas%20V2%20FUSION.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 6 DE: 32

42. INTERPRETACIÓN DE UROCULTIVO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-76%20Interpretacion%20URO.pdf>

43. SEGUIMIENTO DE LOS CULTIVOS DE ABSCESO, SENOS PARANASALES Y ASPIRADO PERCUTÁNEO

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-79%20Seg%20ABS_SPN_APC.pdf

44. SEGUIMIENTO DEL CULTIVO DE EXPECTORACIÓN, ASPIRADO ENDOTRAQUEAL, LAVADO BRONQUIOALVEOLAR Y LBA CON CEPILLO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-80%20Seg%20EXP,%20AE,%20LBA%20y%20LBAC%20FUSION.pdf>

45. SEGUIMIENTO DE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DEL APARATO GENITAL (EXUDADO VAGINAL, EXUDADO URETRAL, EXUDADO PROSTÁTICO Y ESPERMOCULTIVO)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-83%20Seg%20Ex%20Vg,%20Ure,%20Sem,%20Pros.pdf>

46. RECEPCIÓN Y PROCESO DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO URINARIO DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE Y LEGIONELLA PNEUMOPHILA Y DETECCIÓN DE S. PNEUMONIAE EN LCR

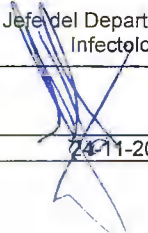
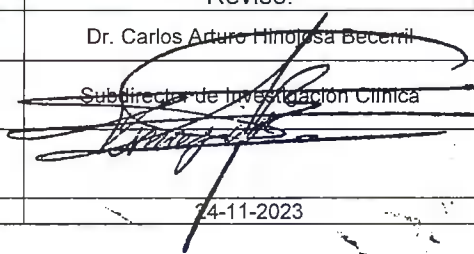
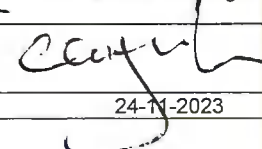
- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Serologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-127%20R%20Aq%20U%20Spn_Lpn.pdf



47. DETERMINACIÓN DE INTERFERÓN GAMMA EN SANGRE COMPLETA (IGRA –INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAY)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Serologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-325%20Q-gamma.pdf>

48. DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE CRYPTOCOCCUS SPP EN LCR Y SUERO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Serologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-328%20Seg%20Aq%20Cryptococcus%20FUSION.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerra	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 7 DE: 32

49. DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS Y NEISSERIA GONORRHOEAE Y MYCOPLASMA GENITALIUM

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-109%20PCR%20STI.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-109%20PCR%20STI.pdf)

50. DETECCIÓN DE DNA DEL COMPLEJO M. TUBERCULOSIS Y RESISTENCIA A RIFAMPICINA MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (PCR-TR).

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-113%20GXpert%20MTB.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-113%20GXpert%20MTB.pdf)

51. DETECCIÓN DE DNA DE VIRUS HERPES SIMPLE TIPO 1, TIPO 2 Y VARICELA-ZOSTER MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DE LA POLIMERASA EN CADENA EN TIEMPO REAL (PCR-TR)

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-135%20HSV1%20HSV2%20VVZ.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-135%20HSV1%20HSV2%20VVZ.pdf)

52. IDENTIFICACIÓN Y DETECCIÓN DE RESISTENCIA A OXACILINA EN STAPHYLOCOCCUS SPP MEDIANTE PCR

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-138%20PCR%20SARM.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-138%20PCR%20SARM.pdf)

53. DETECCIÓN DE TOXINA B Y BINARIA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE

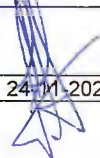
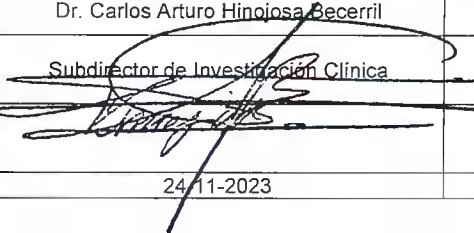
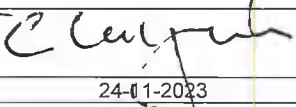
- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-307%20Xpert%20TxB,%20binaria%20Cdf.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-307%20Xpert%20TxB,%20binaria%20Cdf.pdf)



54. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE DNA DE VIRUS BK MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (PCR-TR)

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-320%20VBK,.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-320%20VBK,.pdf)

55. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE DNA HERPESVIRUS HUMANO 6 (HHV6) Y HERPESVIRUS HUMANO 8 (VHH8) MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (PCR-TR)

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-321%20VHH6,%20VHH8.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-321%20VHH6,%20VHH8.pdf)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 8 DE: 32

56. IDENTIFICACIÓN DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA Y/O ISONIAZIDA DEL COMPLEJO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS POR MÉTODOS MOLECULARES

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-360%20GTyping_HAIN.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-360%20GTyping_HAIN.pdf)

57. DETECCIÓN CUANTITATIVA DE DNA DE CITOMEGALOVIRUS Y VIRUS EPSTEIN-BAAR MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (PCR-TR)

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-369%20PCR%20CMV%20FUSION.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Biologia_Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-369%20PCR%20CMV%20FUSION.pdf)

58. PLAN DE HIGIENE QUÍMICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bioseguridad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-347%20%20Plan%20de%20Higiene%20Q.pdf>

59. MANTENIMIENTO DE LAS CEPAS CONTROL DEL "AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (ATCC)"

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Cepas%20ATCC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-350%20Cepas%20ATCC.pdf>

60. DETERMINACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS CD4 Y CD8 EN EL EQUIPO FACS LYRIC

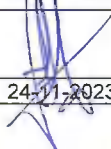
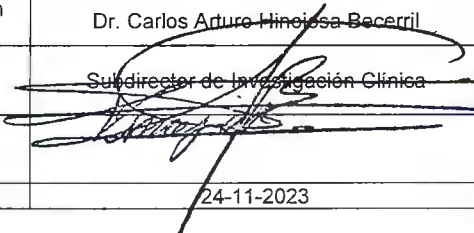
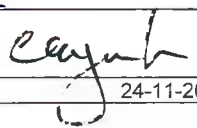
- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Citometria de Flujo/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-363%20CD4CD8_Lyric.pdf



61. DETERMINACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS CD4 Y CD8 EN EL EQUIPO FACS CANTO II

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Citometria de Flujo/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-132%20Seg%20CD4CD8_FACSCanto%20II.pdf

62. CAPTURA DE RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD POR EL CAP

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-333%20Captura%20Res%20EEC_CAP.pdf

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 9 DE: 32

63. PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-337%20QC%20PEEC%20CAP.pdf>

64. MANEJO DE MERCANCIAS PELIGROSAS CLASE 6.2 (UN2814/UN3373) Y CLASE 9 (UN1845), PARA ENVÍO AÉREO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-341%20Mercancias%20Peligrosas.pdf>

65. POLÍTICAS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-351%20%20Pol%C3%ADticas%20LMC.pdf>

66. EVALUACIÓN DE COMPETENCIA Y ENTRENAMIENTO DEL PERSONAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-355%20Eval%20Entrenamiento%20y%20Competencia.pdf>

67. POLÍTICAS DE EVALUACIÓN DE LA LECTURA DE INSTRUCCIONES OPERATIVAS

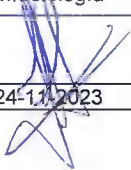
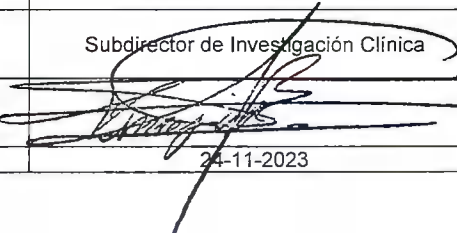
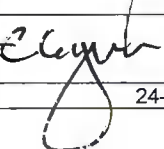
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-357%20Lectura%20IOs.pdf>



68. POLÍTICA PARA LA RE-EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS EN CASO DE ERROR SISTEMÁTICO DEL CONTROL DE CALIDAD

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-358%20Reev%20Mstras%20LMC.pdf>

69. POLÍTICA PARA LA DETECCIÓN DE ERRORES ADMINISTRATIVOS Y ANALÍTICOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-359%20%20Errores%20Adm%20y%20Anal%C3%ADticos.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 10 DE: 32

70. POLÍTICAS DE MANIPULACIÓN, ANÁLISIS, REVISIÓN DE RESULTADOS Y SOLUCIÓN DE PROBLEMAS DE CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-367%20QC%20Citometria.pdf>

71. POLÍTICAS DE REVISIÓN DE RESULTADOS DE LAS ÁREAS DE CITOMETRÍA DE FLUJO Y MICROBACTERIAS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-368%20Revision%20Resultados%20C Y LMC.pdf>

72. PRUEBA CUALITATIVA DE AJUSTES DE CUBREBOCAS: "FIT TESTING"

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-371%20FIT%20Testing.pdf>

73. CORRECCIÓN Y CANCELACIÓN DE CELDAS EN UN DOCUMENTO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Control%20Calidad%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-372%20QC%20Correccion%20Doc.pdf>

74. USO Y MANTENIMIENTO DE ESTERILIZADORES DE VAPOR

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Equipos%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-339%20Uso%20Autoclave.pdf>

75. USO Y MANTENIMIENTO DEL GABINETE DE BIOSEGURIDAD TIPO A2

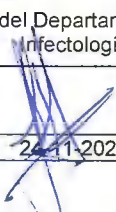
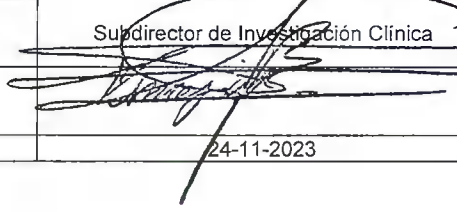
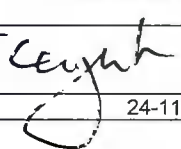
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Equipos%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-340%20GBS-A2.pdf>



76. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN NEGATIVA DEL LABORATORIO BSL-3

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Equipos%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-342%20Presion%20BSL-3.pdf>

77. USO Y MANTENIMIENTO DE SISTEMAS DE PURIFICACIÓN AGUA ELIX Y MILLIQ

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Equipos%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-343%20Agua%20MilliQ%20y%20Elix.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 11 DE: 32

78. CONTROL DEL USO DE LA LÁMPARA DEL MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Equipos%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-345%20Lampara%20MERCURIO%20MF.pdf>

79. MANEJO, USO Y LIMPIEZA DEL MICROSCOPIO ÓPTICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Equipos%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-349%20EQ%20Limpieza%20Microscopio%20Luz.pdf>

80. IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD DIRECTA DE BACIOS GRAMNEGATIVOS AISLADOS DEL CULTIVO DE SANGRE Y LÍQUIDOS CORPORALES

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Hemocultivos/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%20301%20Hemo%20DIRECTO.pdf>

81. PROCESAMIENTO DE CULTIVOS DE SANGRE Y OTROS FLUÍDOS CORPORALES POSITIVOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Hemocultivos/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-115%20Seg%20Hemos%20Liq%20Corporales.pdf>

82. OBSERVACIÓN E INTERPRETACIÓN DE LA TINCIÓN DE GRAM DEL CULTIVO DE SANGRE Y FLUIDOS CORPORALES POSITIVOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Hemocultivos/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-116%20Obs%20GRAM%20Hemos.pdf>

83. PRUEBA DE COAGULASA EN TUBO DIRECTA DEL CULTIVO DE SANGRE

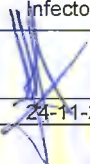
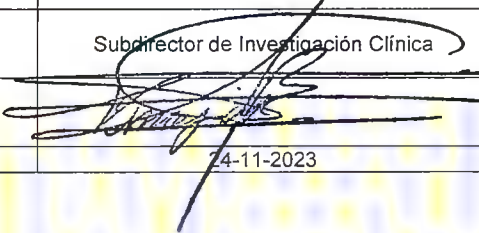
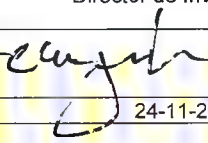
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Hemocultivos/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-329%20H%20Sau%20Directa%20FUSION.pdf>



84. VALIDACIÓN DEL SISTEMA MICRO-CLIN (LIS)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Informatica/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-353%20Validaci%C3%B3n%20MicroClin.pdf>

85. LIMPIEZA DE LAS SECCIONES DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Lavado de Material/IO-MICL-318%20%20Limpieza%20LMC.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Lavado%20de%20Material/IO-MICL-318%20%20Limpieza%20LMC.pdf)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 12 DE: 32

86. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN NEGATIVA DEL LABORATORIO BSL-3

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Mantenimiento%20LMC/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-342%20Presion%20BSL-3.pdf>

87. PRUEBA DE PIRAZINAMIDASA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MYCOBACTERIUM BOVIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobiologia/Bioquimicas%20Y/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-362%20Pba%20PZA.pdf>

88. DETECCIÓN DE DNA DEL COMPLEJO M. TUBERCULOSIS Y RESISTENCIA A RIFAMPICINA MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (PCR-TR)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobiologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-113%20GXpert%20MTB%20FUSION.pdf>

89. PROCESO DE DIGESTIÓN, DESCONTAMINACIÓN-CONCENTRACIÓN DE MUESTRAS PARA CULTIVO DE MICOBACTERIAS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobiologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-194%20Digestion%20Y.pdf>

90. SEGUIMIENTO DE CULTIVO DE MICOBACTERIAS

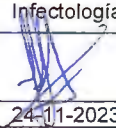
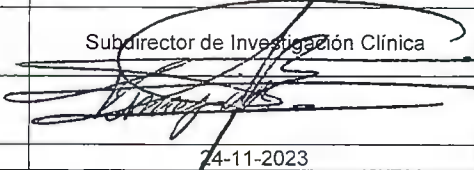
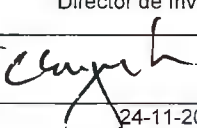
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobiologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-195%20Seg%20Cult%20Y.pdf>



91. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL COMPLEJO M. TUBERCULOSIS (MÉTODO FLUORESCENTE) A ANTIBIÓTICOS DE PRIMERA LÍNEA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobiologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-20%20S%20Mtb%201a%20LINEA.pdf>

92. GUÍA RÁPIDA PARA ENTRADA Y SALIDA DEL BLS3

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobiologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-313%20BSL3.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 13 DE: 32

93. IDENTIFICACIÓN DE MICROBACTERIAS POR MEDIO DEL SISTEMA BD™ BRUKER MALDI-TOF BIOTYPER™

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-346%20MALDI%20MTB.pdf>

94. TOMA DE MUESTRA DE ESPUTO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobacteriologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-61%20Exp%20FINAL.pdf>

95. COMPARACIÓN DE LAS OBSERVACIONES MICROSCÓPICAS DE BAAR ENTRE EL PERSONAL DEL LABORATORIO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobacteriologia/QC%20Micobacterias/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-344%20InterObserv%20ZN.pdf>

96. PROCESO DE REVISIÓN Y MONITOREO DE INDICADORES DE CALIDAD PARA EL ÁREA DE MICROBACTERIAS

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micobacteriologia/QC%20Micobacterias/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-352%20Rev_Monitoreo%20IC%20Y.pdf

97. SEGUIMIENTO DE CULTIVOS DEL ÁREA DE MICOLOGÍA


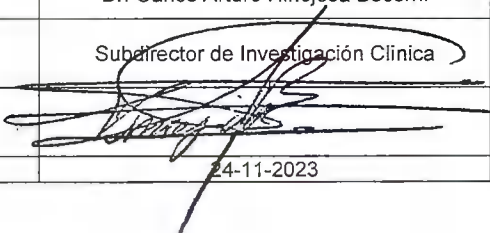
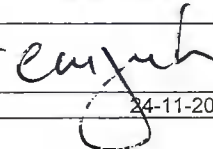
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-102%20Seg%20Cult%20G%20FUSION.pdf>



98. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS, LEVADURAS Y ACTINOMICETOS MEDIANTE LA PLATAFORMA MALDI-TOF BRUKER

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-103%20G%20Filamentosos.pdf>

99. IDENTIFICACIÓN DE ACTINOMICETOS AEROBIOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-105%20Seg%20ID%20ACTINO%20FUSION.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 14 DE: 32

100. PRUEBA DEL TUBO GERMINAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-106%20T%20Germinal.pdf>

101. DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE CANDIDA SPP

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-107%20S%20CANDIDA.pdf>

102. TINCIÓN DE AZUL DE LACTOFENOL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-189%20T%20AZUL%20LACTOFENOL.pdf>

103. TINCIÓN DE KINYOUN PARA ACTINOMICETOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-191%20T%20Kinyoun%20Actino.pdf>

104. DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE GALACTOMANANO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-315%20Detecci%C3%B3n%20GAL.pdf>

105. SEGUIMIENTO DE IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS


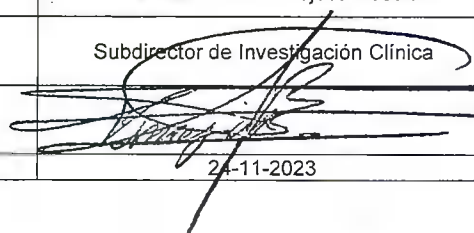
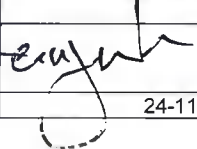
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-323%20Seg%20ID%20LEVADURAS%20FUSION.pdf>



106. IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS, LEVADURAS Y ACTINOMICETOS MEDIANTE LA PLATAFORMA MALDIT-TOF BRUKER

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-324%20ID%20MALDI%20HF%20LEV%20ACT%20FUSION.pdf>

107. DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE HISTOPLASMA CAPSULATUM EN ORINA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-332%20D%20Histoplasma%20ORINA%20FUSION.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 15 DE: 32

108. PCR PARA LA DETECCIÓN DE ASPERGILLUS SPP

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-335%20PCR%20Detecci%C3%B3n%20de%20Aspergillus%20FUSION.pdf>

109. TINCIÓN DE GOMORI-GROCOTT PARA LA BÚSQUEDA DE HONGOS, INCLUYENDO PNEUMOCYSTIS JIROVECI

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Micologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-96%20Seg%20Gomori-Grocott%20FUSION.pdf>

110. PROCESO DE RASPADO ANAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Parasitologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-100%20Seg%20Raspado%20Anal.pdf>

111. BÚSQUEDA DE PARÁSITOS EN ASPIRADO DUODENAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Parasitologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-101%20Seg%20Asp%20Duodenal.pdf>

112. PROCESO PARA EL COPROPARASITOSCÓPICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Parasitologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-93%20COPROPARA%20FUSION.pdf>

113. DETECCIÓN DE AMIBA EN FRESCO Y LEUCOCITOS

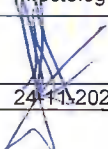
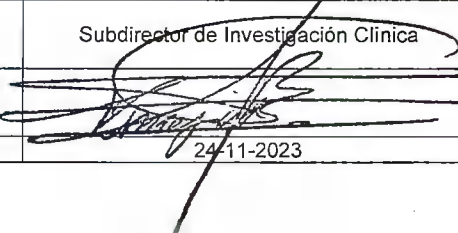
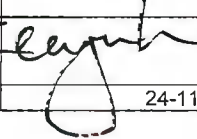
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Parasitologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-98%20Seg%20Amib%20y%20Leu.pdf>



114. MEDICIÓN DE PARÁSITOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Parasitologia/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-99%20Seg%20Micrometria%20FUSION.pdf>

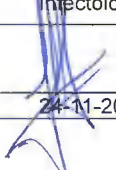
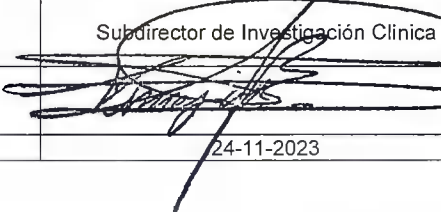
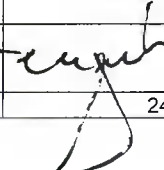
115. REACTIVOS



- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Reactivos/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-296%20Manual%20Reactivos.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 16 DE: 32

116. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE ABSCESO, ASPIRADO PERCUTÁNEO Y SENOS PARANASALES
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ABS-HX/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-42%20R%20ABS AP Senos.pdf>
117. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE SECRECIÓN DE HERIDA
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ABS-HX/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-46%20R%20Hx.pdf>
118. RECEPCIÓN DE UÑAS, PELOS Y ESCAMAS
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ANEXOS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-51%20R%20U%C3%B1as%20Escamas.pdf>
119. RECEPCIÓN DE CÉLULAS TALLO: PRE-CRIO, POST-CRIO, AFÉRESIS Y PLAQUETAS
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/BANCO%20DE%20SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%2053%20Pre-Pos-Crio%20FUSION.pdf>
120. RECEPCIÓN Y SEGUIMIENTO DE LOS INDICADORES DE ESTERILIDAD
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/CONTROL%20DE%20ESTERILIDAD/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-311%20R%20y%20Seg%20Controles%20Esterilidad%2009%20Mayo%2022.pdf>
121. RECEPCIÓN Y CULTIVO DE DISPOSITIVOS MÉDICOS
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/CONTROL%20DE%20ESTERILIDAD/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-327%20R%20y%20Seg%20Dispositivos%20MED.pdf>
122. RECEPCIÓN Y CULTIVO DE AGUA DE DUODENOSCOPIOS
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/CONTROL%20DE%20ESTERILIDAD/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-75%20R%20Duodenoscopia.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 17 DE: 32

123. RECEPCIÓN Y PROCESO DE MUESTRAS DE EXUDADO VAGINAL Y EXUDADO URETRAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/EXUDADOS%20GENITALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%2038%20R%20ExVg%20y%20ExUre.pdf>

124. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEDE, MYCOPLASMA GENITALIUM Y TRICHOMONAS VAGINALIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/EXUDADOS%20GENITALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-66%20R%20STI.pdf>

125. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE MYCOPLASMA HOMONIS Y UREAPLASMA UREALITICUM

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/EXUDADOS%20GENITALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-67%20R%20Mho Uur.pdf>

126. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE LÍQUIDO ARTICULAR O SINOVIAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%2033%20R%20Lart.pdf>

127. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE LÍQUIDO DE ASCITIS


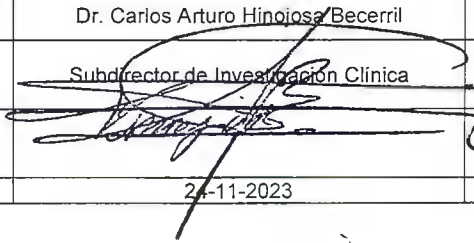
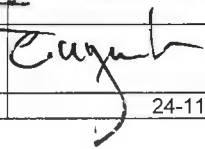
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-28%20R%20Lasc.pdf>



128. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE LÍQUIDO DE DIÁLISIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-29%20R%20LD.pdf>

129. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-30%20R%20LCR.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 18 DE: 32

130. CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS CORPORALES Y LAVADO BRONQUIOALVEOLAR POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE CITOCENTRIFUGACIÓN

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-306%20Cyto Centrifugacion%20FUSION.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-306%20Cyto%20Centrifugacion%20FUSION.pdf)

131. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DEL LÍQUIDO PLEURAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-31%20R%20LPL.pdf>

132. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE LÍQUIDO PERICÁRDICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-34%20R%20LPC.pdf>

133. CUENTA CELULAR DE FLUÍDOS CORPORALES

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/FLUIDOS%20CORPORALES/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-74%20R%20Cm%20L%C3%ADquidos%20FUSION.pdf>

134. RECEPCIÓN Y PROCESO DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO URINARIO DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE Y LEGIONELLA PNEUMOPHILA Y DETECCIÓN DE S. PNEUMONIAE EN LCR

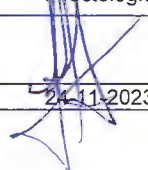
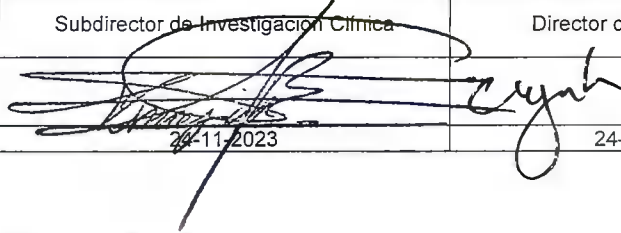
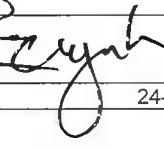
- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/LCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-127%20R%20Aq%20U%20Spn Lpn.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/LCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-127%20R%20Aq%20U%20Spn%20Lpn.pdf)



135. TINCIÓN DE TINTA CHINA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/LCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-190%20T%20TCH.pdf>

136. DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE CRYPTOCOCCUS SPP EN LCR, SUERO, PLASMA, SANGRE TOTAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/LCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-328%20Seq%20Aq%20Cryptococcus%20FUSION.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 19 DE: 32

137. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA PCR DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/MUESTRAS%20PCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-364%20R%20GeneXpert%20TB.pdf>

138. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA PCR DE MUESTRAS SMPLES, VARICELA ZOSTER, CITOMEGALOVIRUS, VK, EPSTEIN BARR Y HERPES HUMANO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/MUESTRAS%20PCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-365%20R%20HVS VZ CMV BK EB HHV6 HHV8.pdf>

139. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEAE, MYCOPLASMA GENTALUM Y TRICHOMONAS VAGINALIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/MUESTRAS%20PCR/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-66%20R%20STI.pdf>

140. RECEPCIÓN DE PROCESO DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO URINARIO DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE Y LEGIONELLA PNEUMOPHILA Y DETECCIÓN DE ANTÍGENO D S. PNEUMONIAE EN LCR

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ORINA/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-127%20R%20Ag%20U%20Spn Lpn.pdf>

141. RECEPCIÓN Y PROCESO DE MUESTRAS PARA LA BÚSQUEDA DE ESPIROQUETAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA POR LA TÉCNICA DE CAMPO OSCURO

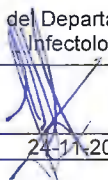
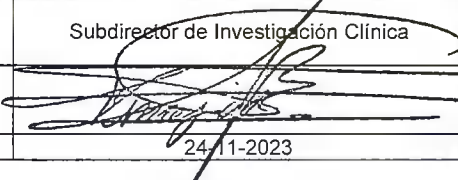
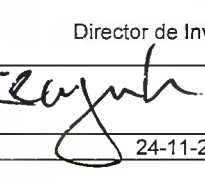
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ORINA/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-27%20R%20CO.pdf>



142. RECEPCIÓN Y DE ORINA PARA CULTIVO MICROBIOLÓGICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ORINA/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-43%20rec%20URO%20FUSION.pdf>

143. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEAE, MYCOPLASMA GENITALUM Y TRICHOMONAS VAGINALIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/ORINA/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-66%20R%20STI.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 20 DE: 32

144. RECEPCIÓN Y ALTA DE MUESTRAS CLÍNICAS EN EL SISTEMA MICROCLIN DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (LMC)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/REC%20Y%20ALTA%20MUESTRAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-326%20R%20Alta%20Mtras%20CI%C3%ADn%20 abril%202022.pdf>

145. GUÍA RÁPIDA PARA INGRESAR LOS VIALES AL BACTEC FX

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%20294%20R%20G%20Hs.pdf>

146. RECEPCIÓN DE MUESTRA PARA LA DETERMINACIÓN DE LINFOCITOS CD4 Y CD8

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%2065%20R%20CD4.pdf>

147. GUÍA DE PROTOCOLOS DE INCUBACIÓN BACTEC FX

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-134%20R%20P%20Incubaci%C3%B3n%20FUSION.pdf>

148. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE GALACTOMANANO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-310%20R%20Galactomanano.pdf>

149. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA LA BÚSQUEDA DE HEMATOZOARIO

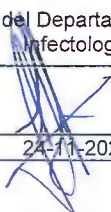
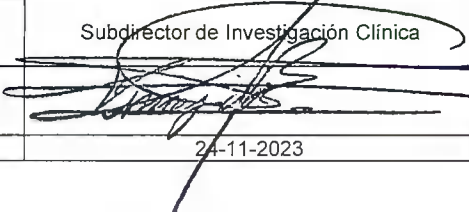
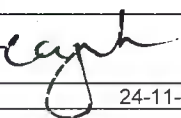
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-63%20Hematozoario.pdf>



150. RECEPCIÓN DE MIELOCULTIVO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-69%20R%20Mielo.pdf>

151. RECEPCIÓN DE HEMOCULTIVOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-70%20R%20Hs.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 21 DE: 32

152. RECEPCIÓN Y PROCESO DE MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS DEL CONCENTRADO ERITROCITARIO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/SANGRE/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-73%20CEritro.pdf>

153. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE BIOPSIA Y BIOPSIA CUANTITATIVA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TEJIDOS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-41%20R%20Bx BxQ%20FUSION.pdf>

154. TRANSPORTE DE MUESTRAS CLÍNICAS PARA EL PROCESO MICROBIOLÓGICO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TRANSP-MUESTRAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-216%20Trans%20MUESTRAS.pdf>

155. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA COPROCULTIVO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TUBO%20DIGESTIVO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL%2056%20R%20CopCult.pdf>

156. RECEPCIÓN DE JUGO GÁSTRICO


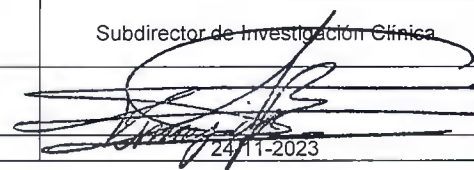
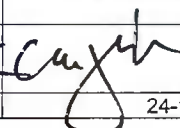
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TUBO%20DIGESTIVO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-36%20R%20JugG.pdf>



157. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA COPROPARASITOSCÓPICO Y/O BÚSQUEDA DE CRIPTOSPORIDIUM E ISOSPORA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TUBO%20DIGESTIVO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-57%20R%20Coppa%20Cry%20e%20Isos.pdf>

158. RECEPCIÓN DE MUESTRA PARA AMIBA EN FRESCO Y BÚSQUEDA DE LEUCOCITOS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TUBO%20DIGESTIVO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-58%20R%20Amiba.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 22 DE: 32

159. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE GLUTAMATO DESHIDROGENASA (GDH) Y/O PCR PARA TOXINA B Y BINARIA DE CLOSTRIDIODES DIFFICILE

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TUBO%20DIGESTIVO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-62%20R%20GDH_TxB%20y%20BnCdf%20FUSION.pdf

160. RECEPCIÓN DE RASPADO ANAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/TUBO%20DIGESTIVO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-71%20R%20Rasp%20Anal.pdf>

161. TOMA DE MUESTRA Y PROCESO PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE SARS-COV-2

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/URG%20MICRO/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-361%20U%20Ag%20SARS-CoV-2.2.pdf>

162. CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS CORPORALES Y LAVADO BRONQUIOALVEOLAR POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE CITOCENTRIFUGACIÓN

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/VIAS%20RESPIRATORIAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-306%20Cyto_Centrifugacion%20FUSION.pdf

163. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE EXUDADO NASAL Y FARÍNGEO

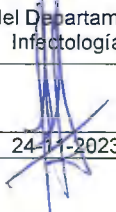
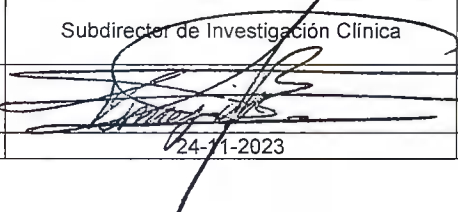

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/VIAS%20RESPIRATORIAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-45%20R%20ExNas_ExF%20FUSION.pdf



164. RECEPCIÓN Y PROCESO DE MUESTRAS DE EXPECTORACIÓN Y ASPIRADO ENDOTRAQUEAL

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/VIAS%20RESPIRATORIAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-48%20R%20EXP_AE.pdf

165. RECEPCIÓN Y SIEMBRA DE LAVADO (LBA) Y LAVADO BRONQUIOALVEOLAR CON CEPILLO (LBAc)

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/VIAS%20RESPIRATORIAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-49%20LBA_LBA%20FUSION.pdf

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 23 DE: 32

166. RECEPCIÓN DE MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEAE, MYCOPLASMA GENTALUM Y TRICHOMONAS VAGINALIS

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Recepcion/VIAS%20RESPIRATORIAS/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-66%20R%20STI.pdf>

167. TINCIÓN DE AURAMINA / RODAMINA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Tinciones/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-187%20T%20A R.pdf>

168. TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Tinciones/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-188%20T%20ZN.pdf>

169. TOMA DE MUESTRA DE EXUDADO FARÍNGEO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-01%20ExF%20UTM.pdf>

170. TOMA DE MUESTRA DE EXUDADO NASAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-02%20Ex%20Nas%20UTM%20FUSION.pdf>

171. TOMA DE MUESTRA DE EXUDADO PROSTÁTICO

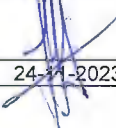
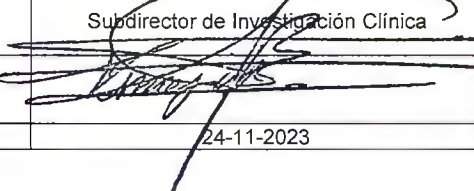
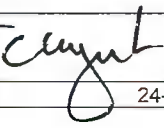
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-03%20ExProst%20UTM.pdf>



172. TOMA DE MUESTRA DE EXUDADO VAGINAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-05%20Ex%20Vg%20UTM.pdf>

173. TOMA DE MUESTRA DE LÍQUIDO BILIAR

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-07%20LB%20UTM.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 24 DE: 32

174. TOMA DE MUESTRA DE LÍQUIDO DE DIÁLISIS PERITONEAL AMBULATORIO

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-08%20Dialisis%20Ambulatorio%20UTM.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-08%20Dialisis%20Ambulatorio%20UTM.pdf)

175. TOMA DE MUESTRAS DE SECRECIÓN DE HERIDAS

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-09%20SxHx%20UTM.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-09%20SxHx%20UTM.pdf)

176. TOMA DE MUESTRAS DE UROCULTIVO

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-10%20URO%20UTM%20FUSION.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-10%20URO%20UTM%20FUSION.pdf)

177. APLICACIÓN DE INTRADERMORREACCIÓN PPD

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-11%20PPD%20UTM%20FUSION.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-11%20PPD%20UTM%20FUSION.pdf)

178. TOMA DE MUESTRA PARA LA BÚSQUEDA DE AMIBA EN FRESCO

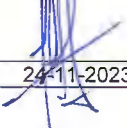
- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-15%20Amiba%20Fresco%20UTM.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-15%20Amiba%20Fresco%20UTM.pdf)



179. TOMA DE MUESTRA PARA COPROPARASITOSCÓPICO Y BÚSQUEDA DE COCCIDIAS Y MICROSPORIDIA

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-20%20Copopara%20UTM.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-20%20Copopara%20UTM.pdf)

180. TOMA DE MUESTRAS PARA COPROPARASITOSCÓPICO Y BÚSQUEDA DE COCCIDIAS Y MICROSPORIDIA

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma de muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-20%20Copopara%20UTM.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-20%20Copopara%20UTM.pdf)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 25 DE: 32

181. TOMA DE MUESTRA DE ASPIRADO DUODENAL

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-21%20Asp%20Duodenal%20UTM.pdf

182. TOMA DE MUESTRA PARA COPROCULTIVO

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-25%20Coprocultivo%20UTM.pdf

183. TOMA DE MUESTRA PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEAE, MYCOPLASMA GENITALIUM Y TRICHOMONAS VAGINALIS

- http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-30%20UTM%20STI%20FUSION.pdf

184. TOMA DE MUESTRA DE LÍQUIDO SEMINAL PARA ESPERMOCULTIVO

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=LI%CC%81quido%20seminal%20y%20Espermocultivo%20\(IO-MICL-130\)%20V.1.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=LI%CC%81quido%20seminal%20y%20Espermocultivo%20(IO-MICL-130)%20V.1.pdf)

185. TOMA DE MUESTRA DE RASPADO ANAL

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=Raspado%20Anal%20\(IO-MICL-19\)%20V.1.pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/toma_de_muestras/pdf-flipbook-master/?archiv=Raspado%20Anal%20(IO-MICL-19)%20V.1.pdf)

186. UTILIZACIÓN DE CITRATO

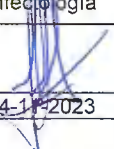
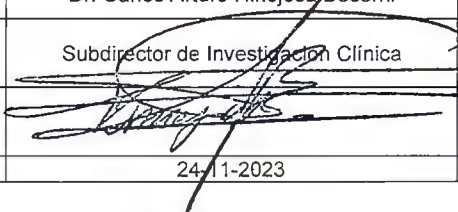
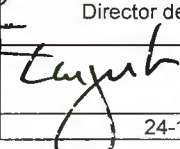
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-151%20CIT.pdf>



187. PRUEBA DE ASIMILACIÓN DE MALONATO DE SODIO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-152%20MALONATO.pdf>

188. PRUEBA DE MOTILIDAD

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/microbiologiaclinica/Bacteriologia/Bioquimicas/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-MICL-161%20Motilidad.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 26 DE: 32

IV. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE INFECTOLOGÍA:

189. COPROCULTIVO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Bacteriologia%20Intestinal/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-BAC-01%20Coproculativo.pdf>

190. BRUCELLA AGLUTINACIÓN EN PLACA (ROSA DE BENGALA)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-02%20Brucella%20Rosa%20de%20Bengala.pdf>

191. DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VIH Y AG p24

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-09%20Determinacio%CC%81n%20de%20Anticuerpos%20Anti-VIH%201%20y%202%20y%20Aq%20p24.pdf>

192. ANTICUERPOS ANTI-VIH PRUEBA CONFIRMATORIA WESTERN BLOT (WB)

- [http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-10%20Anticuerpos%20Anti-VIH%201%20Prueba%20Confirmatoria%20Western%20Blot%20\(WB\).pdf](http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-10%20Anticuerpos%20Anti-VIH%201%20Prueba%20Confirmatoria%20Western%20Blot%20(WB).pdf)

193. V.D.R.L.

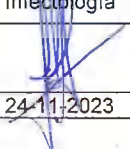
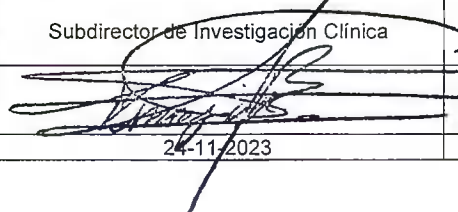
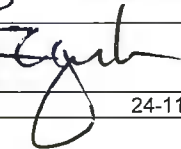
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-12%20V.D.R.L .pdf>



194. AC ANTI-VHC, PRUEBA CONFIRMATORIA (INMUNOBLOD)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-23%20VHC%20Inmunoblot.pdf>

195. FLUJOGRAMA DE ACTIVIDADES DEL LABORATORIO DE SOROLOGÍA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-26%20FLUJOGRAMA%20de%20Actividades%20del%20Lab%20de%20Serologi%CC%81a.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 27 DE: 32

196. DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES DEL LABORATORIO DE SEROLOGÍA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-27%20Desinfeccio%CC%81n%20de%20Superficies%20del%20Lab%20de%20Serologi%CC%81a.pdf>

197. GUÍA RÁPIDA PARA EL USO DE LA CENTRÍFUGA HETTICH

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-30%20centri%CC%81fuga%20Hettich%20Cent-II-050.pdf>

198. GUÍA RÁPIDA PARA EL USO DE LA CENTRÍFUGA HETTICH ROTINA 420

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-31%20Centri%CC%81fuga%20Rotina%20420.pdf>

199. DETERMINACIÓN DE NIVELES DE PROCALCITONINA EN SUERO

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-32%20Determinacio%CC%81n%20de%20Niveles%20de%20Procalcitonina.pdf>

200. ANTICUERPOS DE FLUORESCENTES IgG ANTI TREPONEMA PALLIDUM FTA-ABS

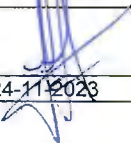
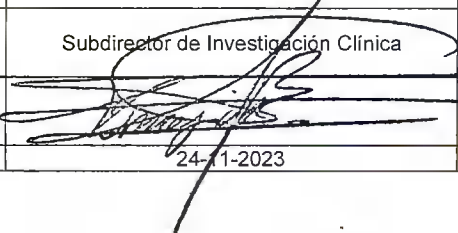
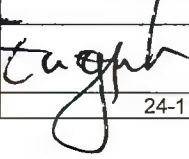
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-37%20%20FTA%20Abs%20IgG%20EUROINMUNE.pdf>



201. BRUCELLA-AGLUTINACIÓN LENTA ESTÁNDAR Y (2 MERCAPTOETANOL)

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Serolog%c3%ada/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-SERO-38%20Brucella%20Prueba%20de%20aglutinacion%20lenta%20esta%CC%81ndar%20y%202-Mercaptoetanol.pdf>

202. CARGA VIRAL PARA VIH-1 PARA LA PRUEBA DE ABBOTT REALTIME HIV-1

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=IO-VIRM-02%20Carga%20Viral%20para%20VIH-1%20para%20la%20prueba%20de%20Abbott%20RealTime%20HIV-1.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 28 DE: 32

203. AUDITORÍA, REGISTRO Y CONTROL DE DOCUMENTOS DEL PERSONAL

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-ARCDP%20Auditori%CC%81a%20registro%20y%20control%20de%20documentos%20de%20personal.pdf>

204. CONTROL DE ACCESO AL LABORATORIO DE INFECTOLOGÍA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-CALI%20Control%20Acceso%20al%20Laboratorio%20Infectologi%CC%81a.pdf>

205. CONTROL DE SEGURIDAD DE ACCESO A LA INFORMACIÓN

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-CSAI%20Control%20de%20seguridad%20y%20acceso%20a%20la%20informacio%CC%81n.pdf>

206. EVALUACIÓN DE LA COMPETENCIA

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-EC%20Evaluacio%CC%81n%20de%20Competencia.pdf>

207. GABINETES DE BIOSEGURIDAD

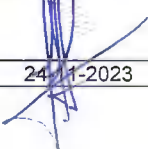
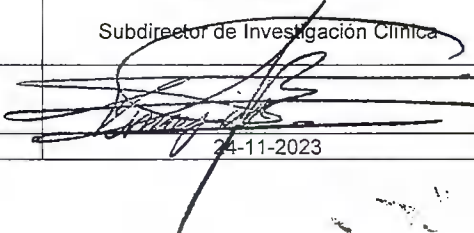
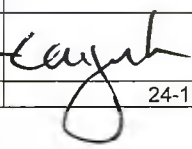
- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-GB%20Gabinetes%20de%20Bioseguridad.pdf>



208. REVISIÓN Y COMPRESIÓN DE POE'S

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-RCPOE%E2%80%99s%20%20Revisio%CC%81n%20y%20compresio%CC%81n%20de%20POE>

209. ROLES, RESPONSABILIDADES Y AUTORIDADES

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-RRA%20%20Roles,%20responsabilidades%20y%20autoridades.pdf>

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Índice		HOJA: 29 DE: 32

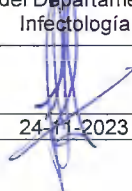
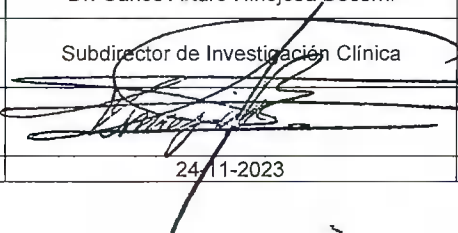
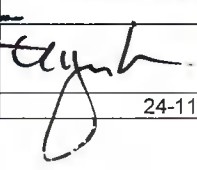
210. TRANSPORTE DE MUESTRAS INTERNO Y EXTERNO



- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-TMIE%20Transporte%20de%20muestras%20interno%20y%20externo.pdf>

211. VERIFICACIÓN LOTE A LOTE

- <http://interoperabilidad.incmnsz.mx:8080/intranet/laboratorios/infectologia/Virolog%c3%ada%20Molecular/pdf-flipbook-master/?archiv=LVM-PG-VLL%20Verificacio%CC%81n%20lote%20a%20lote.pdf>

AUTORIZACIÓN

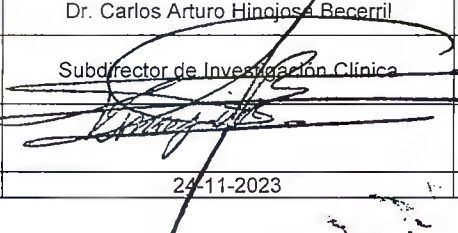
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	Introducción		HOJA: 30 DE: 32

INTRODUCCIÓN

La elaboración del presente manual tiene como propósito protocolizar los procedimientos que realizan las servidoras y/o los servidores públicos del Departamento de Infectología en el desarrollo de sus funciones de los procedimientos técnicos del Laboratorio de Biología y Virología Molecular estableciendo condiciones de operación, normatividad, medidas de control dentro del Instituto.

Se incluyen, además, las ligas electrónicas de los procedimientos técnicos de los laboratorios de Biología y Virología Molecular y del Laboratorio de Microbiología Clínica ya protocolizados en el Sistema de Gestión de Calidad del Instituto y que se encuentran en la plataforma electrónica de consulta.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

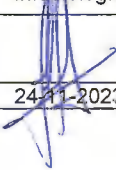
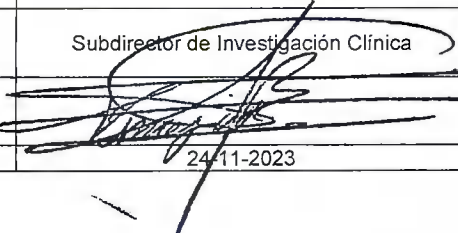
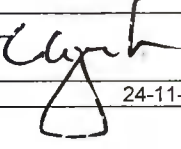
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Objetivo del Manual		HOJA: 31 DE: 31



I. OBJETIVO DEL MANUAL

Precisar la secuencia lógica de los procedimientos, la responsabilidad operativa, descripción grafica de los flujos de las operaciones de las servidoras y/o los servidores públicos del Departamento de Infectología en el Laboratorio de Biología y Virología Molecular.

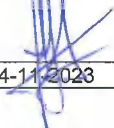
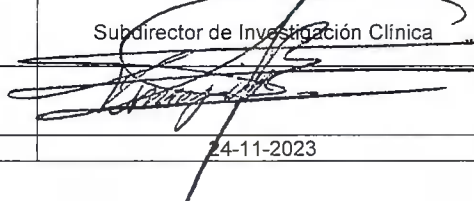
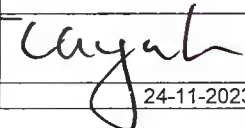
Indicar las ligas de acceso de los procedimientos técnicos que se encuentran en la plataforma electrónica del Sistema de Gestión de Calidad del Instituto, para su fácil acceso y consulta.



El presente manual sirve como medio de integración y orientación de las servidoras y/o los servidores operativos de nuevo ingreso, facilitando su incorporación a las áreas correspondientes.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

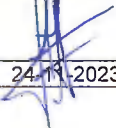
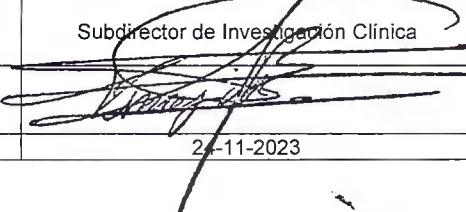
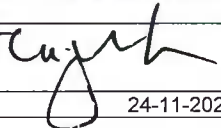
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Procedimientos Técnicos		HOJA: 32 DE: 32

II. PROCEDIMIENTOS DE DIAGNOSTICO:

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 1 DE: 7

1. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA PREPARAR EL MEDIO DE TRANSPORTE VIRAL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 2 DE: 7

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

El procedimiento establece las actividades para la preparación del Medio de Transporte Viral (MTV), manteniendo las condiciones de esterilidad necesarias para la mezcla de los reactivos en las concentraciones definidas, envasado y almacenaje a 4°C para su conservación hasta su uso.

2.0 OBJETIVO

El presente procedimiento describe la metodología de la preparación del Medio de Transporte Viral (MTV) que se utiliza en la toma de muestra nasofaríngea para el diagnóstico de enfermedad respiratoria viral.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participan en el procedimiento, cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. Es responsabilidad del área de Biología Molecular cumplir con lo descrito en el procedimiento.
2. Es responsabilidad de las Químicas y/o los Químicos y de las y/o los Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

1. Guantes de nitrilo.
2. Bata de laboratorio.
3. Gasas.
4. Pipetas serológicas de 10 y 25 ml.
5. Filtro para esterilización con membrana de polietersulfona (PES) de baja unión de proteínas y poro de 0.22µm.
6. Dispensadores para pipeta de repetición de 50ml.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 3 DE: 7

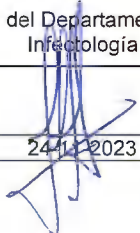
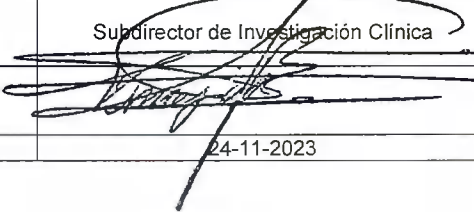
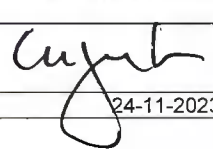
7. Tubos de polipropileno con tapa de rosca y fondo cónico de 15ml, estériles.
8. Vasos de precipitado de 1000 ml.
9. Frascos de vidrio con tapón de rosca de 500 y 1000 ml.
10. Gradilla para tubos de 15 ml.
11. Tiras reactivas para medición de Ph.
12. Etiquetas termorresistentes.



4.2 Accesorios y equipo de laboratorio

1. Pipetor automático.
2. Pipeta de repetición.
3. Bomba de vacío.
4. Campana de flujo laminar Clase II Tipo A2.
5. Refrigerador 4°C.
6. Impresora para etiquetas.

4.3 Reactivos

1. Albúmina Sérica Bovina (BSA) al 7.5%.
2. Penicilina/Estreptomicina (10,000 U/ml / 10,000µg/ml).
3. Bicarbonato de sodio (NaHCO3) 7.5%
4. Solución salina balanceada de Hank's 10X.
5. Agua desionizada.
6. Solución de alcohol etílico al 70% para desinfección (EtOH 70%).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 4 DE: 7

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorio de Cultivo Celular del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2).

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica.
D.O.F. 19-II-2013

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.1 Preparación del equipo y material

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista:

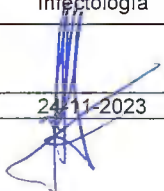
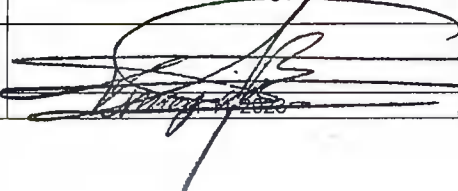
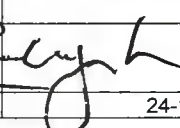
1. Desinfecta las superficies de la campana de flujo laminar Clase II Tipo A2 con EtOH al 70%.
2. Esteriliza con luz ultravioleta por 15 minutos.
3. Limpia las superficies externas de todos los insumos con EtOH al 70% y los introduce en la campana de flujo laminar.



7.2 Preparación del MTV

PREPARAR 1000 ML DE MTV SE REQUIEREN:	
Solución salina balanceada de Hank's	100 ml
NaHCO ₃ al 7.5 %	4.7 ml
BSA 7.5%	26.7 ml
Penicilina/Estreptomicina	10 ml
Agua cbp	1000 ml

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Mezclar todos los reactivos en un vaso de precipitados y agita suavemente para homogenizar.
2. Determinar el pH con una tira reactiva y, de ser necesario, ajusta el pH de 7.0 a 7.2 con NaHCO₃ al 7.5 %.

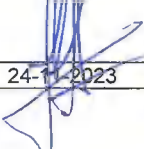
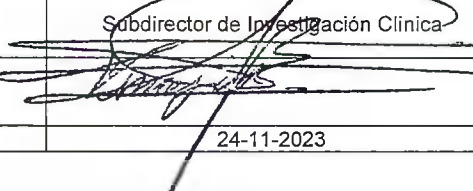
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 5 DE: 7

3. Esterilizar por filtración con vacío.
4. Envasar el Medio de Transporte Viral (MTV) en los tubos estériles de 15 ml, colocando 3 mL/tubo con la pipeta de repetición (véase en figura 1)
5. Etiquetar, indicando fecha de elaboración, lote y caducidad (véase en figura 2).
6. Almacenar en refrigeración a 4°C hasta por 3 meses.
7. Transferir 3 tubos al área de extracción para realizar control de amplificación.



Figura 1: Envasado, Medio de Transporte Viral (MTV)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 6 DE: 7

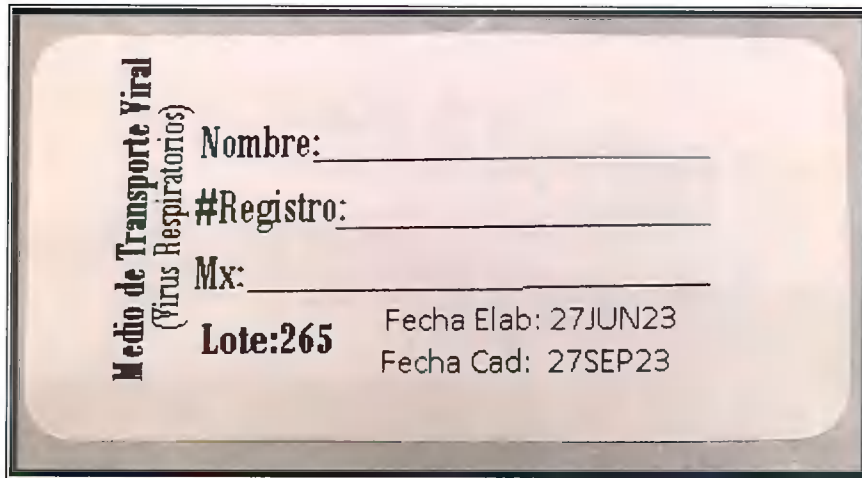


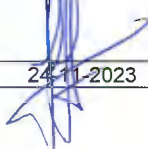
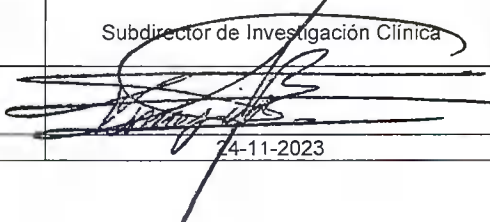
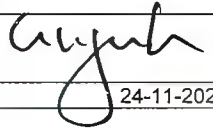
Figura 2: Etiqueta, Medio de Transporte Viral (MTV)



8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

– Usar guantes de nitrilo, bata de laboratorio.

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Campana de flujo laminar:** Instrumento que genera una zona de trabajo libre de partículas de hasta 0.1 micras mediante la filtración de aire por filtros HEPA.
- 9.2 Etiquetas termorresistentes:** Etiqueta para rotular resistente a temperaturas de -180°C hasta 121°C.
- 9.3 Pipeta de repetición:** Instrumento para manejo de líquidos que dispensa repetidamente varios volúmenes iguales después de una aspiración de un volumen mayor de líquido.
- 9.4 Pipetor automático:** Instrumento al que se acopla una pipeta serológica para la aspiración y dispensación automática de líquidos, presionando los botones situados en la parte anterior del mango.
- 9.5 Muestra nasofaríngea:** Muestra biológica que se obtiene frotando la nasofaringe con un hisopo con punta de nylon insertado a través de cada una de las fosas nasales de la persona beneficiaria.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Preparar el Medio de Transporte Viral		HOJA: 7 DE: 7

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Lineamiento estandarizado para la vigilancia epidemiológica y por laboratorio de COVID-19. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Epidemiología. 2020.

Lineamiento estandarizado para la vigilancia epidemiológica y por laboratorio de la enfermedad respiratoria viral. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Epidemiología. Enero de 2022.

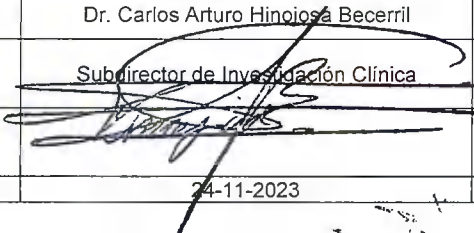
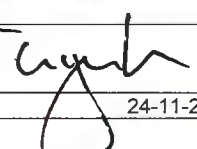
Laboratory testing for 2019 novel coronavirus 2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. 17 January 2020. WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.3.



11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

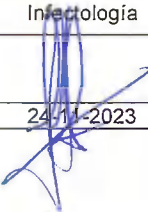
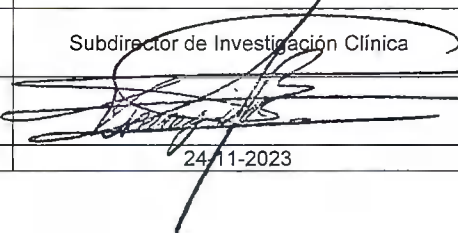
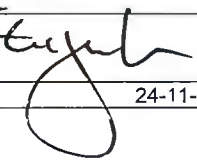
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN

Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 1 DE: 7

2. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR EL TRANSPORTE Y RECEPCIÓN DE MUESTRAS CLÍNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE SARS-CoV-2 Y OTROS PATÓGENOS RESPIRATORIOS

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 2 DE: 7

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

El procedimiento indica las condiciones para la toma de muestra y la correcta identificación de la persona beneficiaria con sospecha de infección respiratoria, el manejo de la muestra durante su transporte a 4° y su recepción en el laboratorio para el registro y transferencia para su procesamiento.

2.0 OBJETIVO

El presente procedimiento describe las actividades para realizar el transporte y recepción de muestras respiratorias en los laboratorios de Biología y Virología Molecular (laboratorio).

El procedimiento incluye la recepción de muestra verificando la cadena de frío, identificación correcta de la persona beneficiaria, registro de la muestra y su transferencia al laboratorio para el procesamiento.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA


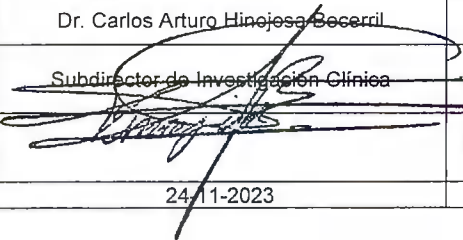
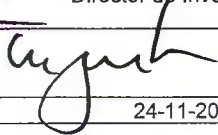
Las servidoras y/o los servidores públicos de salud que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. Es responsabilidad de las áreas de toma de muestras respiratorias y del laboratorio cumplir con lo descrito en el procedimiento.
2. Es responsabilidad de las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y las y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

1. Guantes de nitrilo.
2. Bata desechable de manga larga.
3. Respiradores NIOSH N95 o N100.
4. Lentes con protección lateral (goggles).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 3 DE: 7

5. Gradilla de policetona para tubos de 15 ml.

6. Hisopos con punta de nylon y vástago de plástico con muesca de quiebre, estériles.

4.2 Accesorios y equipo de Laboratorio

1. Hielera de polipropileno o policarbonato con bolsas refrigerantes congeladas.

2. Refrigerador 4°C.

4.3 Reactivos

1. Medio de Transporte Viral (MTV).

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Área de Recepción, Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2).

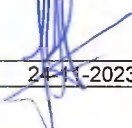
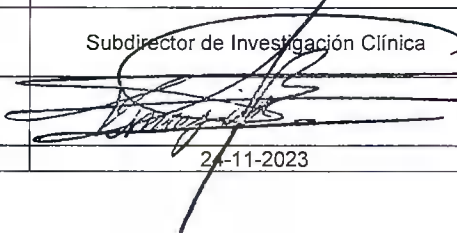
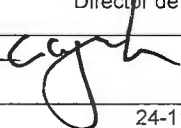
6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS



Ley General de Salud

D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica.

D.O.F. 19-II-2013

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 4 DE: 7

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

Las muestras respiratorias incluyen: hisopados nasofaríngeos u orofaríngeos, lavado broncoalveolar, aspirado traqueal, esputo, lavados o aspirados nasofaríngeos u orofaríngeos.

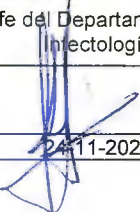
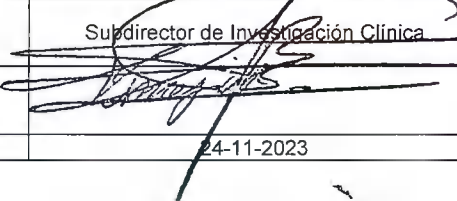
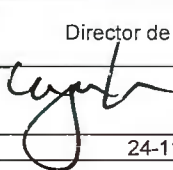
Las servidoras y/o los servidores públicos responsables de realizar la toma de muestra:

1. Seleccionar el kit de toma de muestra que incluye un tubo de Medio de Transporte Viral (MTV) y dos hisopos estériles.
2. Completar la requisición de laboratorio con el nombre completo y registro temporal o permanente de la persona beneficiaria y fecha de toma.
3. Registrar los datos de la persona beneficiaria en el tubo de MTV.
4. Tomar la muestra de acuerdo con los procedimientos propios de su área (Urgencias, Hospitalización, Epidemiología Hospitalaria, etc.) introducir la punta de cada hisopo con punta de nylon en el tubo con MTV, corta el vástago del hisopo por la muesca de quiebre y lo desecha.
5. Cerrar perfectamente el tubo.
6. Cotejar los datos de la persona beneficiaria escritos en el tubo con los registrados en la requisición de laboratorio.
7. Colocar el tubo en una gradilla de policetona para tubos de 15 ml dentro de la hielera de polipropileno o policarbonato de transporte con las bolsas refrigerantes congeladas para mantener la muestra a 4°C durante su transporte al laboratorio.

7.1 Recepción de la muestra en el laboratorio de Infectología

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Colocar guantes de nitrilo, saca la muestra de la hielera de polipropileno o policarbonato y la coloca en una gradilla de policetona en la mesa de recepción.
2. Cotejar los datos de la etiqueta de la muestra con la requisición de laboratorio, la hoja de solicitud o el listado anexo de cada sitio de toma.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 5 DE: 7

3. Verificar que la muestra no presente factores de rechazo:

- a. Muestra no etiquetada.
- b. Muestra no registrada en la requisición de laboratorio, hoja de solicitud o listado.
- c. Muestra no transportada en refrigeración
- d. Muestra tomada con hisopo de algodón o alginato y vástago de madera.
- e. Muestra en MTV insuficiente, volumen menor a 1ml.
- f. Muestra mal cerradas y/o derramada.

4. Confirmar la identificación correcta de la muestra, firmar y sellar la requisición de laboratorio, hoja de solicitud o listado anexo.

5. Asignar número de registro de laboratorio (ID de laboratorio) a la muestra anotándolo en la requisición de laboratorio, hoja de solicitud o listado.

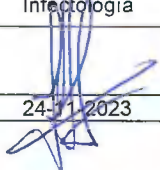
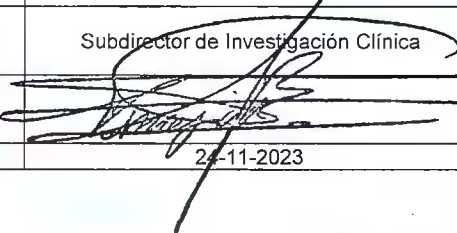
6. Rotular la muestra con ID asignada.



7. Colocar la muestra en el refrigerador de Muestras Biológicas a 4°C hasta que sea transferida al laboratorio para su procesamiento.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

1. Cotejar los datos de las solicitudes con la etiqueta de las muestras, firmar las solicitudes de recibido validando los datos.

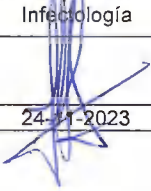
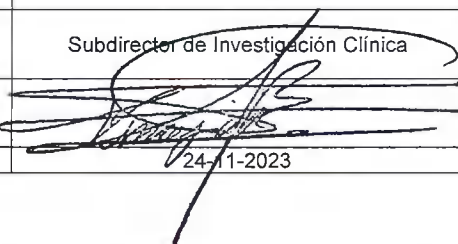
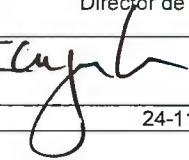
2. Usar guantes de nitrilo, lentes con protección lateral (goggles), bata de laboratorio o traje de protección.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 6 DE: 7

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Aspirado traqueal:** Secreciones respiratorias obtenidas por succión con una sonda de aspiración introducida a través del tubo endotraqueal.
- 9.2 Aspirados nasofaríngeos:** Secreciones nasofaríngeas obtenidas por aspiración con un catéter introducido en la fosa nasal y conectado a una trampa de esputo/moco con una bomba de vacío.
- 9.3 Aspirados orofaríngeos:** Secreciones orofaríngeas obtenidas por aspiración con un catéter introducido por la boca hasta la parte posterior de la garganta y conectado a una trampa de esputo/moco con una bomba de vacío.
- 9.4 Cadena de frío:** Cadena de suministro, transporte y almacenamiento con temperatura controlada a 4°C.
- 9.5 Espudo** Expectoración profunda, evitando contaminación con saliva o secreciones nasales.
- 9.6 Hisopo alginato:** Palillo de madera recubierto en una punta con alginato de calcio usado para la toma de muestras biológicas por absorción.
- 9.7 Hisopo con punta de nylon:** Palillo de plástico (vástago) con una punta cubierta con microcerdas de nylon dispuestas en forma perpendicular para la toma de muestra por adherencia.
- 9.8 Hisopados nasofaríngeos:** Muestra biológica que se obtiene frotando la nasofaringe con un hisopo con punta de nylon insertado a través de cada una de las fosas nasales.
- 9.9 Hisopados orofaríngeos:** Muestra biológica que se obtiene frotando con firmeza la pared posterior de la garganta con un hisopo con punta de nylon insertado a través de la boca, abatiendo la lengua con un abatelenguas.
- 9.10 Lavado broncoalveolar:** Muestra biológica obtenida por fibronoscopio enclavado en árbol bronquial, instilando 120 mililitros de solución salina fisiológica y aspirándola después

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	2. Procedimiento Técnico para realizar el Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la Determinación de SARS-COV-2 y otros Patógenos Respiratorios		HOJA: 7 DE: 7

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Lineamiento estandarizado para la vigilancia epidemiológica y por laboratorio de COVID-19. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Epidemiología. 2020.

Lineamiento estandarizado para la vigilancia epidemiológica y por laboratorio de la enfermedad respiratoria viral. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Epidemiología. Enero de 2022.

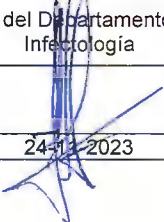
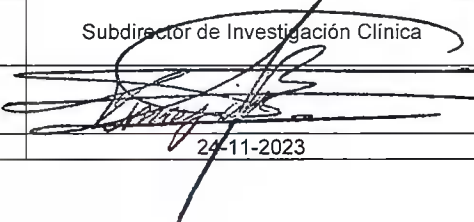
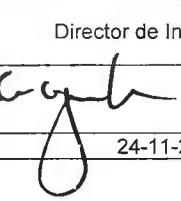
Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. 17 January 2020. WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.3.



11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

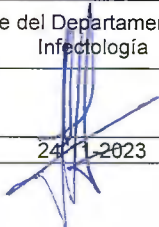
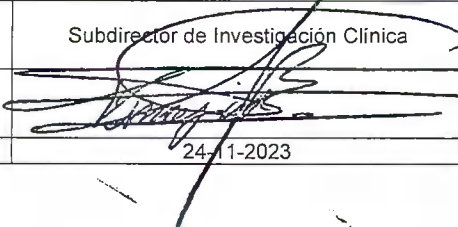
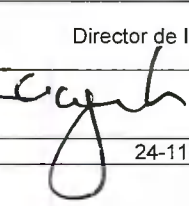
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN

Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 1 DE: 25

3. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR EL ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 2 DE: 25

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Procedimiento para el almacenaje de muestras biológicas a bajas temperaturas (criopreservación).

2.0 OBJETIVO

La criopreservación es el proceso de congelación a muy bajas temperaturas, desde -65°C hasta -196°C , en el que las células, tejidos y cualquier otro tipo de muestra biológica mantiene su viabilidad por largo tiempo.

El presente procedimiento describe las actividades para realizar el almacenaje de muestras biológicas en condiciones de ultracongelación que permiten conservar sus características biológicas sin deterioro.

El procedimiento incluye la identificación correcta de la muestra a almacenar, su distribución en alícuotas, el etiquetado de cada alícuota para su identificación correcta y ubicación en las cajas de almacenaje que son colocadas en los equipos de ultracongelación, así como el registro digital de cada una de ellas para su localización física en el repositorio y su trazabilidad digital.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. Es responsabilidad del repositorio de muestras biológicas debe cumplir con la elaboración de este procedimiento.
2. Es responsabilidad de las Químicas y/o los Químicos y de las y/o los Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

1. Guantes de nitrilo.
2. Bata desechable de manga larga.
3. Respirador NIOSH N95 o N100.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 3 DE: 25

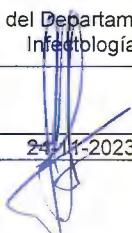
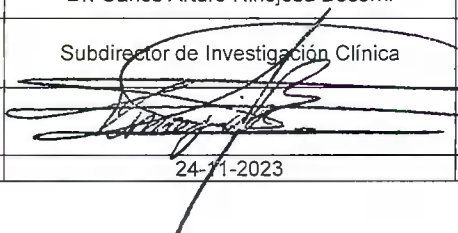
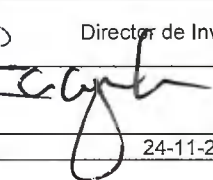
4. Lentes con protección lateral (goggles).
5. Gasas.
6. Tubos de polipropileno con tapa de rosca interna, capacidad de 2 ml, estériles.
7. Puntas para micropipeta con filtro de 100 a 1000µl.
8. Gradilla para tubos de 2ml.
9. Cajas de cartón resistentes a ultracongelación para tubos de 2ml, con separadores para 81 y/o 100 tubos.
10. Pinzas.
11. Vaso de precipitados de polipropileno para desechos Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI).
12. Etiquetas termorresistentes.



4.2 Accesorios y equipo de laboratorio

1. Micropipeta automática de 100 a 1000 µl.
2. Campana de flujo laminar Clase II Tipo A2.
3. Ultracongelador a -70°C.
4. Guantes criogénicos.
5. Computadora con Sistema Digital Freezerworks.
6. Impresora para etiquetas.
7. Lector de código de barras.

4.3 Reactivos

1. Solución de alcohol etílico al 70% para desinfección (EtOH 70%).
2. Solución de hipoclorito de sodio al 5% para decontaminación de residuos RPBI (NaClO al 5%).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 4 DE: 25

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2).

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Ley General de Salud.

D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

Ley General de Archivos.

D.O.F. 15-VI-2018 y sus reformas

Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.

D.O.F. 19-I-2004 y sus reformas

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica.

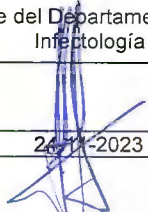
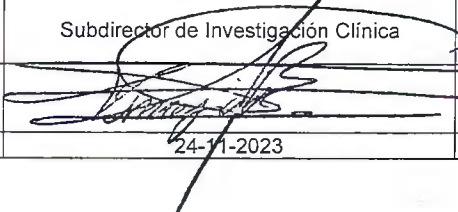
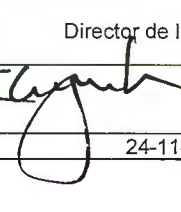
D.O.F. 19-II-2013



7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.3 Identificación de la muestra

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Confirmar la identificación correcta de la muestra cotejando su etiqueta con el registro en la bitácora de laboratorio:
 - a. Número de registro de laboratorio (ID de laboratorio).
 - b. Registro de la persona beneficiaria.
 - c. Tipo de muestra.
 - d. Fecha de la toma.
2. Capturar los datos de las muestras en el sistema digital Freezerworks 5.2 (véase en anexo 1).
3. Capturar el número de alícuotas de cada muestra que sea almacenada y el volumen de cada una de ellas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 5 DE: 25

4. Generar e imprimir las etiquetas necesarias para identificar cada una de las alícuotas.

7.4 Preparación de las alícuotas de la muestra y almacenamiento en ultracongelación

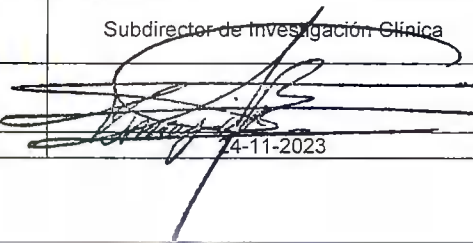
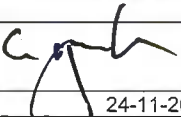
La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:



1. Desinfectar las superficies de la campana de flujo laminar con EtOH al 70%.
2. Esterilizar con luz ultravioleta por 15 minutos.
3. Limpiar las superficies externas de todos los insumos con EtOH al 70% y los introduce en la campana de flujo laminar.
4. Numerar la cantidad de tubos necesarios para la preparación de las alícuotas de cada muestra.
5. Preparar las alícuotas distribuyendo 1ml de la muestra por tubo utilizando la micropipeta automática y puntas con filtro estériles.
6. Etiquetar cada tubo con las etiquetas generadas previamente y los ubica en las cajas de almacenamiento de acuerdo con el ID de la muestra en forma consecutiva.

Nota: La caja de almacenamiento se rotula por tipo de muestra con número consecutivo.

7. Colocar las cajas de almacenamiento en el ultracongelador e identifica su posición en el sistema freezerworks por:
 - a. Número de nivel del ultracongelador.
 - b. Número de rack en el nivel.
 - c. Número de fila/columna en el rack.

Nota: Todos desechos plásticos utilizados deben manejarse como Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI), depositándose en contenedor de polipropileno con NaClO al 5% para su descontaminación, antes de su disposición final.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 6 DE: 25

7.5 Vigilancia de los equipos de ultracongelación.


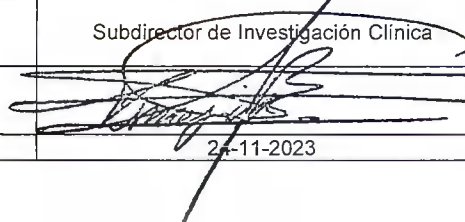
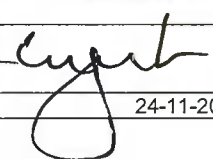
La criopreservación depende del funcionamiento y la estabilidad de la temperatura en los equipos repositores, por lo que cada equipo cuenta con mantenimiento preventivo constante, vigilancia y mantenimiento de los equipos de criopreservación **(véase en anexo 2)**.



La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Verificar la temperatura del ultracongelador dos veces al día, anotándola en el formato de Registro de Temperatura **(véase en formato 1)** colocado en la puerta del equipo.
2. En caso de falla:
 - a. Informa a la Química o el Químico responsable del equipo y a la Jefa y/o el Jefe de laboratorio quién sigue las acciones pertinentes **(véase en anexo 2)**.
 - b. En caso de persistencia de la falla, la Química o el Químico responsable del equipo lo reporta vía telefónica al Departamento de Ingeniería Biomédica, con el número de control del ultracongelador (etiqueta verde pegada en el equipo, ej. ULCO-II-050).
 - c. La Jefa y/o el Jefe de laboratorio contacta al Ing. de Servicio Externo (contrato), para darle atención inmediata al problema.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

1. Uso de prendas de protección y barreras de contención primarias para evitar riesgo de contaminación.
2. Confirmar la estabilidad y esterilidad de las muestras durante todo su manejo.
3. Identificación correcta de las muestras utilizando un sistema de etiquetas impresas resistentes a humedad.
4. Supervisión constante de los equipos de almacenamiento mediante registro de temperatura.
5. Confirmar la trazabilidad digital y física de las muestras.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 7 DE: 25

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS



- 9.1 Alícuota:** Parte que se toma de una muestra inicial cuyas propiedades físicas, químicas y biológicas representan las de la muestra original.
- 9.2 Campana de flujo laminar:** Instrumento que genera una zona de trabajo libre de partículas de hasta 0.1 micras mediante la filtración de aire por filtros HEPA.
- 9.3 Criopreservación:** Proceso de congelación a muy bajas temperaturas, desde -65°C hasta -196°C, en el que las muestras biológicas mantienen su viabilidad por largo tiempo.
- 9.4 Guantes criogénicos:** Guantes de protección utilizados para el manejo y manipulación de elementos en ambientes de frío extremo, resisten temperaturas hasta de 196°C
- 9.5 ID:** Número de registro de laboratorio asignado a la muestra.
- 9.6 RPBI:** Residuos peligrosos biológico infecciosos.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

IARC Biobanking. Standard operating procedures. WHO, 2011.


Bioseguridad en biobancos. Orientaciones de bioseguridad aplicables a biobancos de muestras humanas para investigación. Oficina de Coordinación de la Red Nacional de Biobancos (Instituto de Salud Carlos III) Enero, 2012.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 8 DE: 25

11.0 FORMATOS Y ANEXOS

FORMATO 1: REGISTRO DE TEMPERATURA DE LOS EQUIPOS DE CRIOPRESERVACIÓN



REGISTRO DE TEMPERATURA

Departamento: Infectología
 Laboratorio: Biología Molecular
 Equipo: Termo Scientific ULCO-8

MES: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Matutino																																
Vespertino																																
Nocturno																																

MES: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Matutino																																
Vespertino																																
Nocturno																																

MES: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Matutino																																
Vespertino																																
Nocturno																																

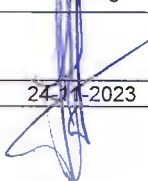
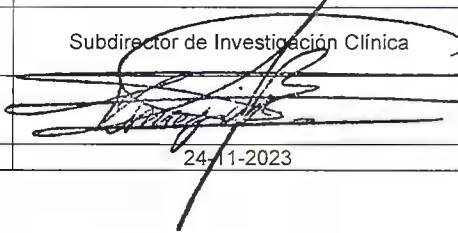
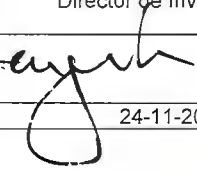
MES: _____



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Matutino																																
Vespertino																																
Nocturno																																

INTERVALO DE -40°C a -90°C Responsable: _____

NOTA: El la temperatura exacta al momento, favor de marcar con lápiz azul y comunicarlo al Responsable

PR-014-04 Versión: 0

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

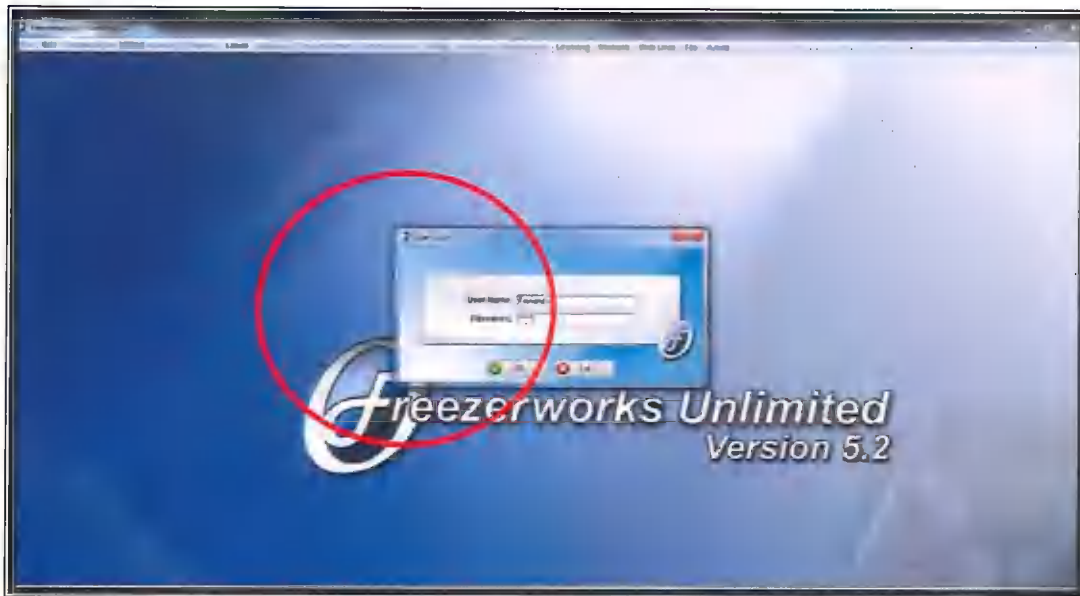
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 9 DE: 25

ANEXO 1: REGISTRO DE MUESTRAS EN SISTEMA FREEZERWORKS 5.2

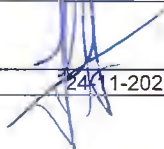
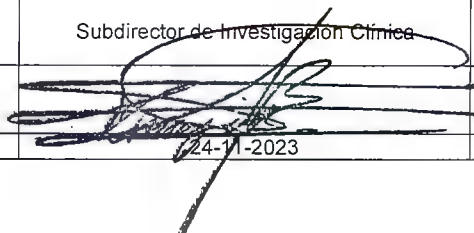
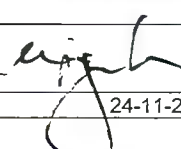
1. Abrir programa "Freezer works 5.2"





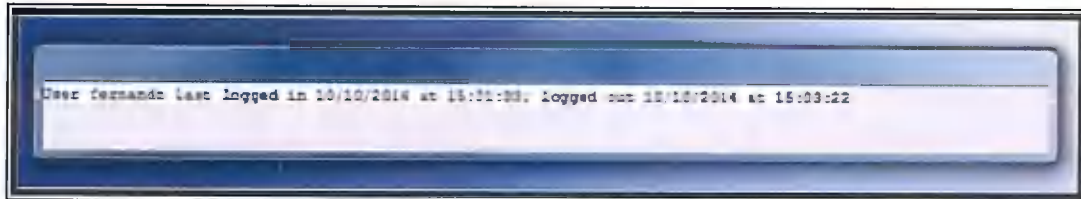
2. Introducir: Usuario y contraseña para iniciar sesión.



El software muestra una pantalla donde aparece el usuario que ha iniciado sesión, la fecha de inicio de sesión y la hora.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

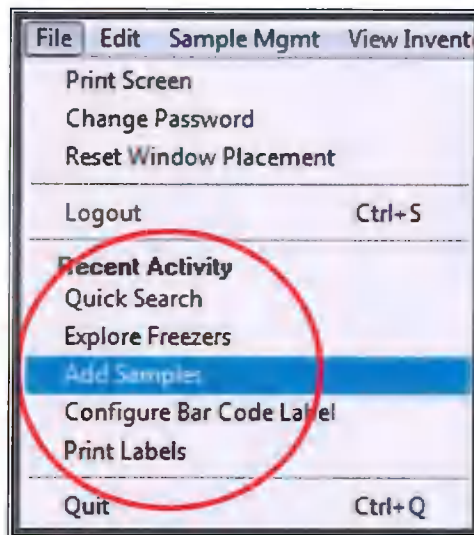
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 10 DE: 25

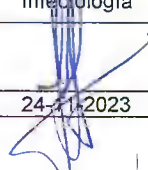
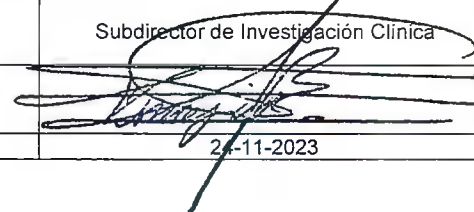
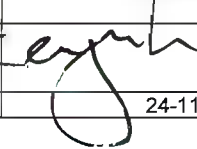




3. Dar clic en "File" (pestaña superior izquierda).



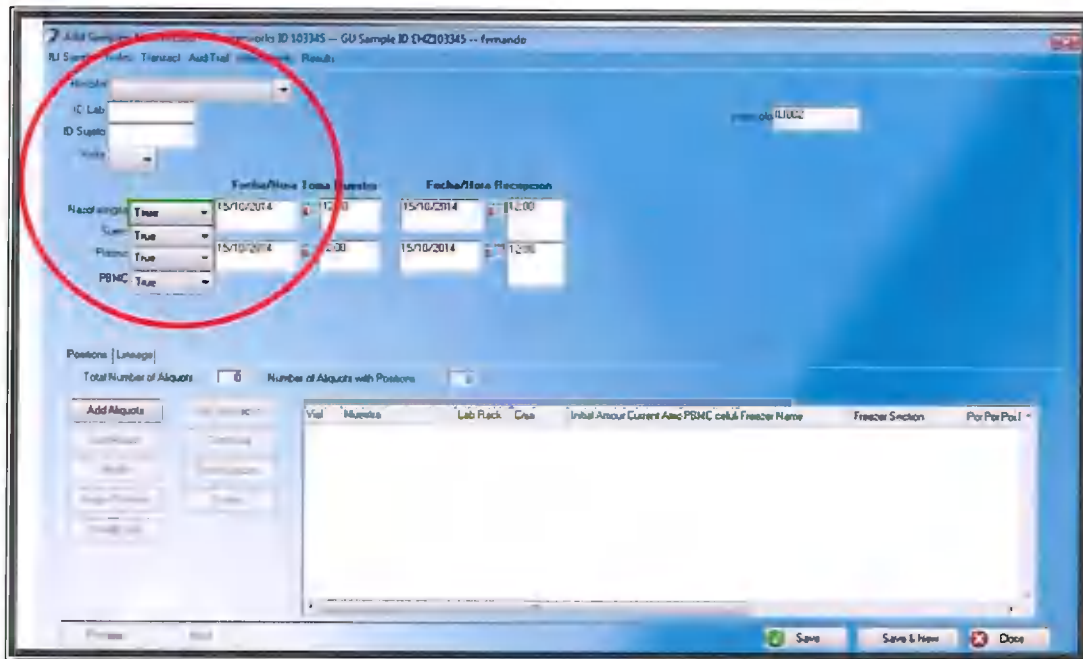
4. Al abrir esta pestaña se desglosa el menú para adición de muestras, dar clic en "Add Samples".

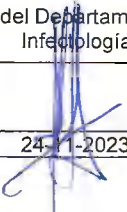
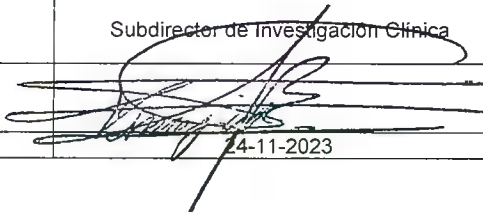




CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 11 DE: 25

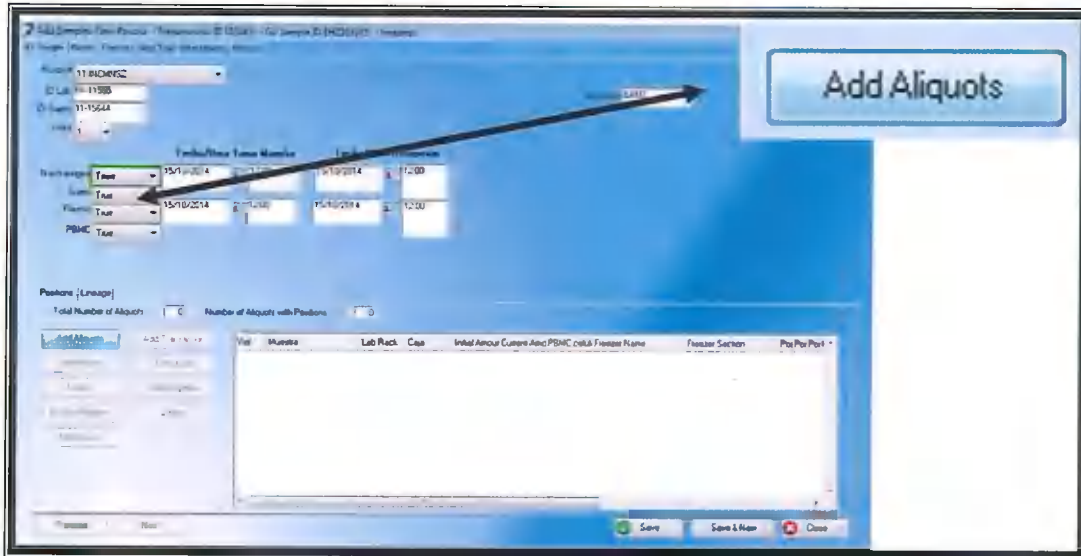
5. Al abrir esta pestaña aparece la ventana con las opciones de almacenamiento y captura de datos de la muestra.

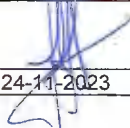
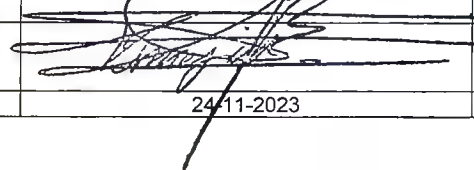
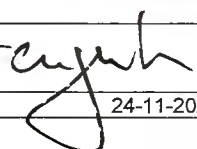




CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 12 DE: 25

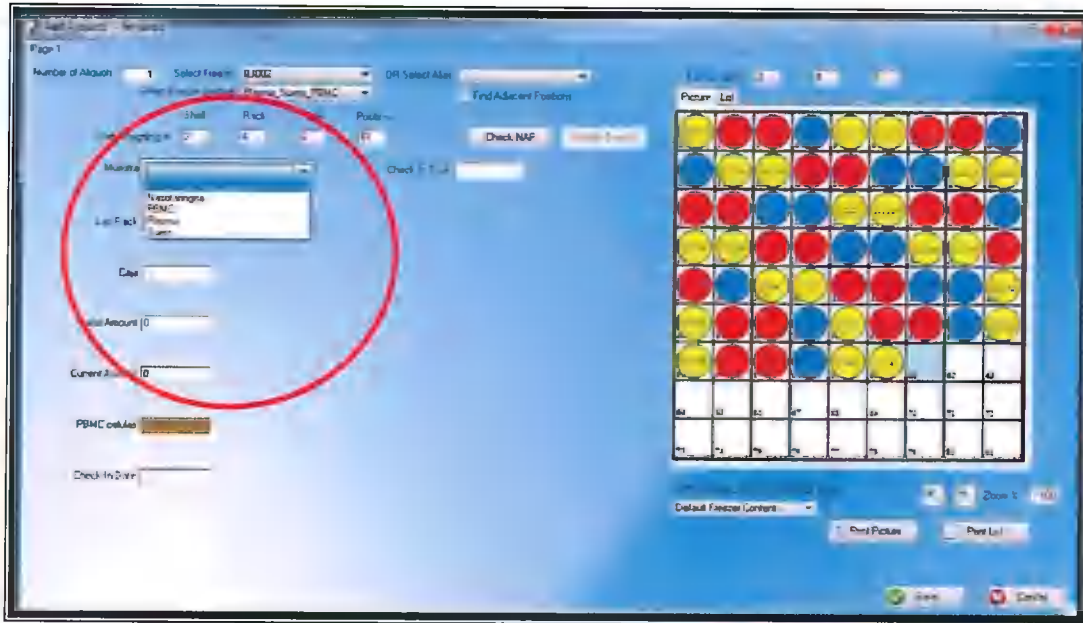
6. Después de capturar los datos de la muestra agregar el número de alícuotas de cada tipo de muestra. Dar clic en "Add Aliquots".



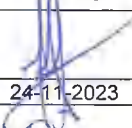
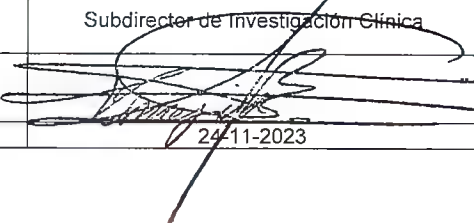
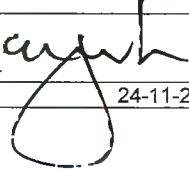
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 13 DE: 25

7. En esta ventana se registran las alícuotas obtenidas de cada tipo de muestra, volumen, y lugar en la caja de almacenamiento.

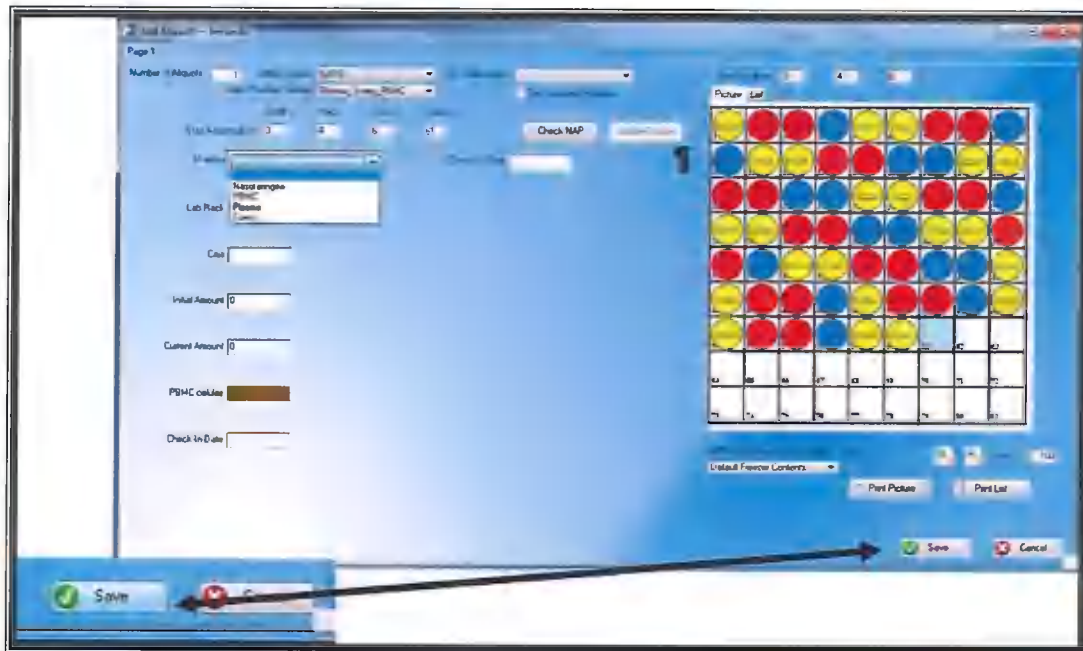


8. Al terminar de registrar las alícuotas, se debe cotejar la caja de almacenamiento virtual con la caja de almacenamiento física para su coincidencia. (Control de Calidad).


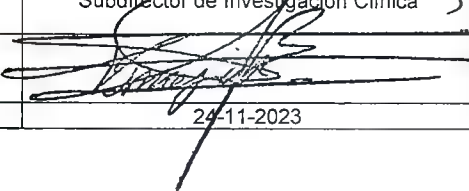
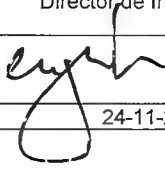
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 14 DE: 25

9. Dar clic en "Save" para guardar los registros realizados.



10. Cerrar el sistema.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 15 DE: 25

ANEXO 2: VIGILANCIA Y MANTENIMIENTO DE LOS EQUIPOS DE CRIOPRESERVACIÓN

Equipos:

1. Los equipos de criopreservación incluyen ultracongeladores a -70°C , que son utilizados como repositorios para el mantenimiento a largo plazo de muestras y otros materiales biológicos sin menoscabo de su viabilidad.

Mantenimiento:

Para el funcionamiento de los equipos se siguen las indicaciones del manual del equipo para el mantenimiento, calibración y verificación de equipos e instrumentos.

1. Mantenimiento ultracongeladores: Todos los equipos están incluidos en el Programa Anual de Mantenimientos Preventivos por Contrato y los servicios correspondientes son realizados en las fechas establecidas por los ingenieros de la empresa contratada bajo la supervisión del Departamento de Ingeniería Biomédica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.
2. Soporte eléctrico alterno: Todos los equipos, sin excepción, están conectados a las plantas de luz de emergencia del Instituto.

En caso de requerir servicio de mantenimiento correctivo por falla en el equipo:

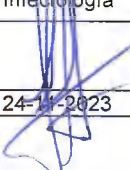
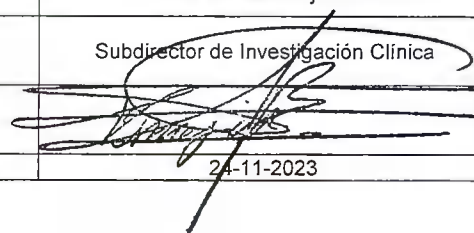
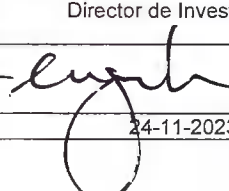
✓ Se reporta la falla al Departamento de Ingeniería Biomédica con el Número de Control del Equipo (etiqueta verde pegada en la parte frontal del equipo).



✓ Se contacta al Ing. de Servicio Externo (contrato), que, de acuerdo con los procedimientos establecidos en los contratos de mantenimiento, debe acudir en un lapso no mayor de dos horas para atender la falla.

Soporte de Almacenamiento:

En caso de falla del equipo que no pueda resolverse de manera inmediata y para verificar la integridad de las muestras almacenadas:

1. Repositorio alterno: se considera el uso de otros ultracongeladores como soporte alternativo para el almacenamiento transitorio de las muestras en lo que se repara el repositorio principal.
2. Traslado de las muestras: la cadena de frío con el uso de hieleras de transporte con hielo seco para conservar la temperatura de -70°C .

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garguño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 16 DE: 25


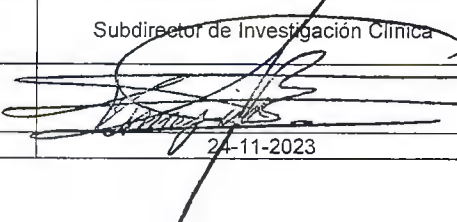
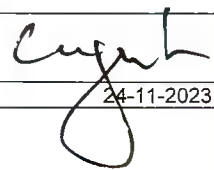
Medidas Generales:



1. La Jefa o el Jefe de Laboratorio es responsable de verificar el cumplimiento de los programas de mantenimiento preventivo y dar seguimiento a la resolución de fallas.
2. Las Químicas o los Químicos y/o las o los Laboratoristas son responsables de conocer el funcionamiento de los equipos y seguir las instrucciones de manejo contenidas en el manual del equipo.
3. Las Químicas o los Químicos y/o las o los Laboratoristas son responsables de conocer el procedimiento a seguir en caso de falla del equipo.
4. Las Químicas o los Químicos y/o las o los Laboratoristas son responsables de mantener la cadena de frío en caso de traslado de muestras.

ESTADO NORMAL Y ALARMAS DEL EQUIPO.

Estado normal: Pantalla inicial (Véase en figura 1 y 2).

1. Muestra la temperatura actual del equipo.
2. Un gráfico con las lecturas de temperatura recientes.
3. Un indicador del estado del sistema (corazón en la parte superior).
4. Barra de herramientas en la columna azul en el lado izquierdo de la pantalla.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 17 DE: 25

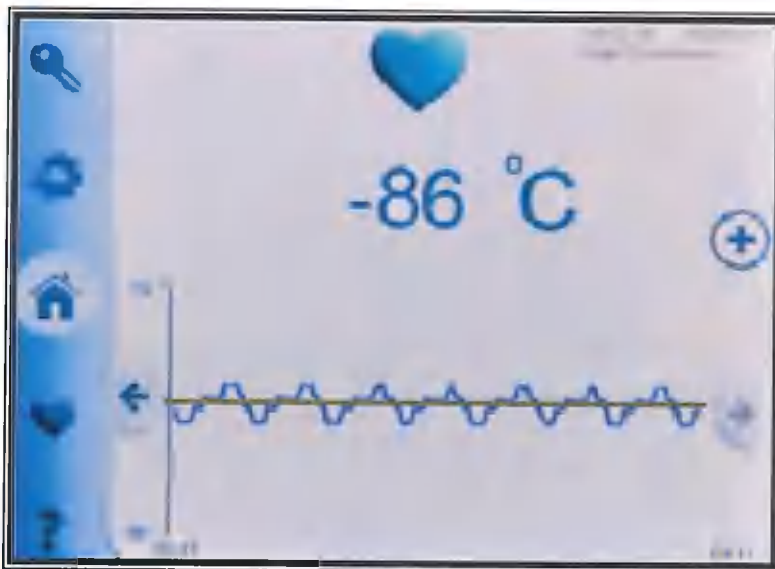


Figura 1: Pantalla inicial del equipo.

El color del corazón en la parte superior indica el estado del sistema:






-  El color azul indica un estado normal
-  El color amarillo indica un problema registrado
-  El color rojo indica una condición grave de alarma

Figura 2: Indicador del estado de alarma.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 18 DE: 25

Pantalla de estado normal:

Al pulsar el corazón en la barra de herramientas en la columna azul del lado izquierdo de la pantalla. Se despliega la siguiente pantalla: **(Véase en la figura 3)**

1. Estado normal: Sistema OK.
2. Panel de condiciones de error y alarma: sin eventos.
3. Condiciones: tensión en línea eléctrica y temperatura ambiental.
4. Excursiones de temperatura: real es la temperatura actual del equipo; Cálido y Frío son las temperaturas más alta y más baja registradas desde la última reinicialización.
5. Apertura de puerta: número de aperturas desde la última reinicialización, fecha y hora de la última apertura realizada.
6. Icono de libro: registro de eventos pasados.
7. Flecha de retorno: pulsar para volver a pantalla de inicio.

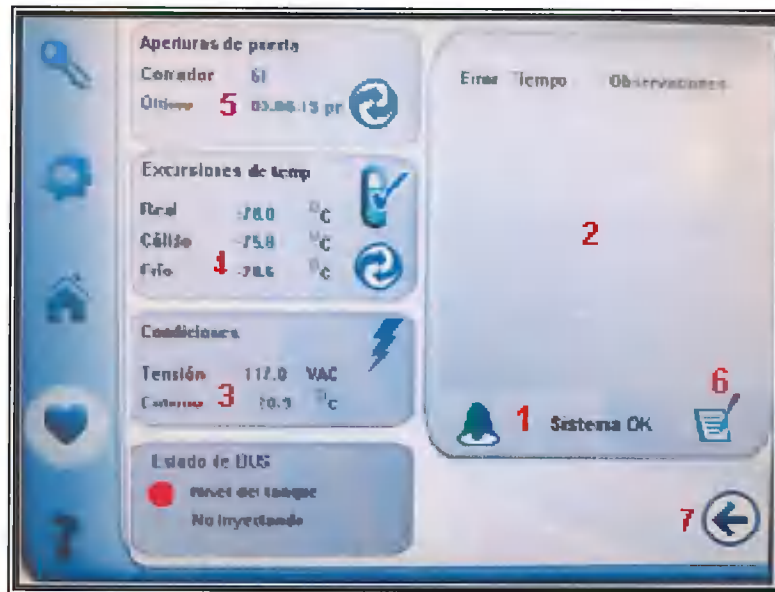

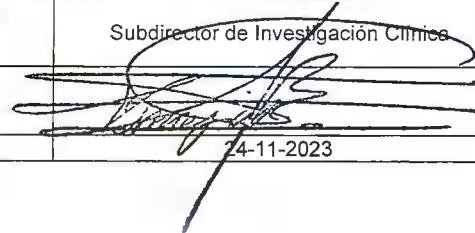
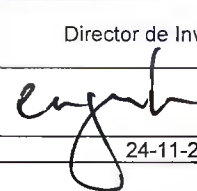




Figura 3: Pantalla de estado normal.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 19 DE: 25

Alarmas del Equipo:

1. Fallo eléctrico.
2. Alarma de frío.
3. Alarma de calor.
4. Puerta entreabierta.



Figura 4: Requiere atención inmediata.

5. Temperatura ambiental extrema.
6. Incapacidad para alcanzar el set point.
7. Limpiar filtro.
8. Batería baja.
9. Registro de eventos anteriores.

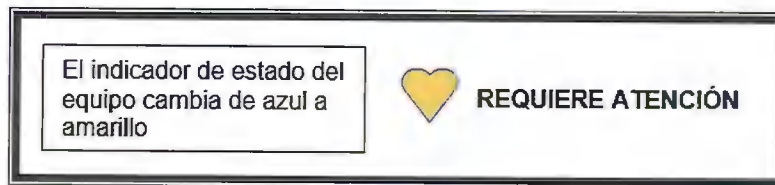
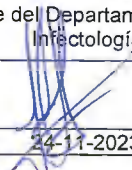
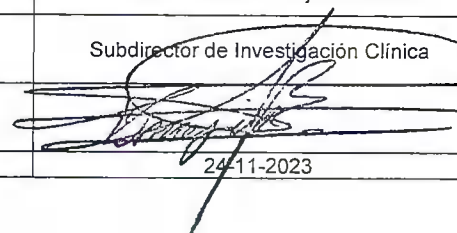
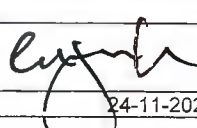




Figura 5: Requiere atención.

UN CORAZÓN PARPADEANTE INDICA UNA ALARMA ACTIVA O CONDICIÓN DE ERROR

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 20 DE: 25

ACCIONES EN SITUACIONES DE ALARMA QUE REQUIEREN ATENCIÓN INMEDIATA

Pulsar el corazón en la barra de herramientas en la columna azul en el lado izquierdo de la pantalla. Se despliega la siguiente pantalla: (Véase en la figura 6).

1. Estado de alarma activo.
 - a. Pulsar la campana para silenciar la alarma audible.
2. Panel de condiciones de error.
 - b. Revisar los errores reportados

Nota: Las acciones a seguir dependen del error registrado.

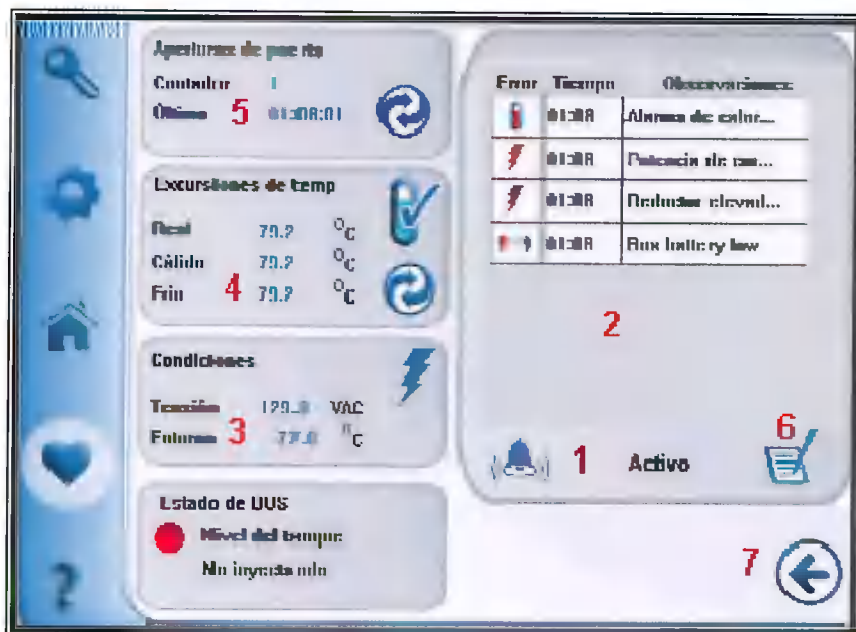
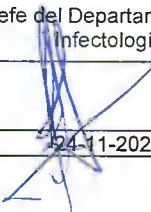
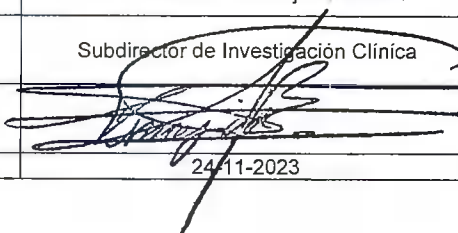
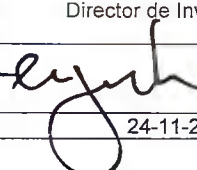




Figura 6: Pantalla de estado de alarma activo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 21 DE: 25

Fallo eléctrico

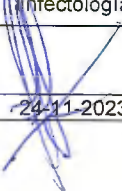
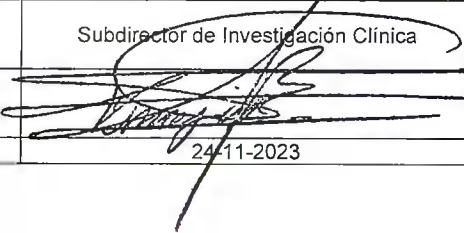
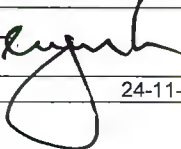
Verificar la ausencia o disminución de voltaje en el panel número 3 "Condiciones":

Acciones:

1. Verificar el suministro de energía eléctrica en el contacto correspondiente al ultracongelador:
 - a. Cada contacto está identificado por número de tablero (ej, TD4 (B)) y número de pastilla en el tablero (ej 41).
 - b. Acudir al tablero e identificar la pastilla por número. Si se botó la pastilla, el interruptor se encuentra en posición de apagado y se observa una ventana roja.
 - c. Restablecer la pastilla colocando el interruptor en posición de encendido, desaparécela ventana roja.
 - d. Verificar que se restablece la corriente en el congelador.

2. Verificar el encendido del ultracongelador:
 - Revisar que el interruptor de encendido del ultracongelador, ubicado en la sección inferior derecha en la parte trasera del equipo, esté en posición de encendido (ON), si el equipo no restablece su funcionamiento se debe reinicializar.
 - Reinicializar: poner el interruptor en posición de apagado, esperar 5 minutos y regresar el interruptor a la posición de encendido para que el congelador empiece a funcionar.

3. Pulsar la flecha (7) para regresar a la pantalla inicial.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 22 DE: 25



Figura 7: Contacto de suministro de energía.

SI EL PROBLEMA PERSISTE REPORTAR AL DEPTO. DE INGENIERÍA BIOMÉDICA Y AL ING. DE SERVICIO POR CONTRATO

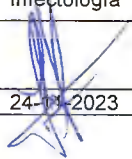
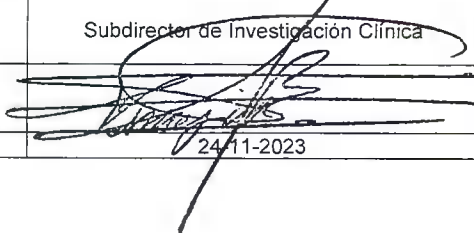
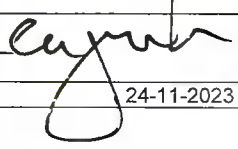
Alarma de calor



Confirmar el aumento o disminución de temperatura en el panel 4 Excursiones de Temperatura.

Acciones:

1. Verificar el suministro de corriente.
2. Verificar la apertura de puerta en el panel 5.

Nota: Si hay indicación de que la puerta se conservó abierta mucho tiempo, restringir su apertura hasta que se normalice la temperatura del equipo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 23 DE: 25

**SI EL PROBLEMA PERSISTE REPORTAR AL DEPTO. DE INGENIERÍA BIOMÉDICA Y AL
ING. DE SERVICIO POR CONTRATO**

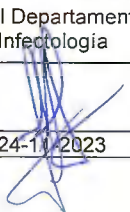
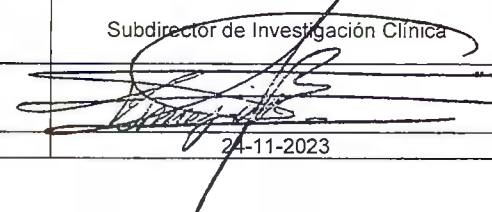
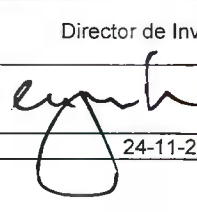
Puerta entreabierta

Acciones:

1. Cerrar la puerta, restringir su apertura hasta que se normalice la temperatura del equipo.
- ACCIONES EN OTRAS SITUACIONES DE ALARMA**

Pulsar el corazón en la barra de herramientas en la columna azul en el lado izquierdo de la pantalla. Se despliega la siguiente pantalla (véase en la figura 7).

1. Registro de evento pasado.
 - Aparece una X en lugar de la campana
2. Panel de condiciones de error.
 - Revisar los errores reportados
3. Pulsar X.
 - Si el sistema se restablece, el equipo regresa a su estado normal, lo que indica falla transitoria.
4. Pulsar la flecha (7) para regresar a la pantalla inicial.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



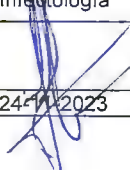
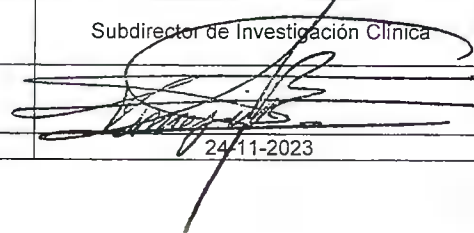
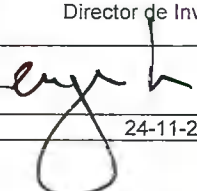


	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 24 DE: 25



Figura 7: Pantalla de estado de alarma pasado.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 01
	3. Procedimiento Técnico para el Almacenamiento de Muestras		HOJA: 25 DE: 25

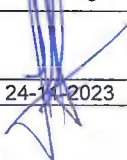
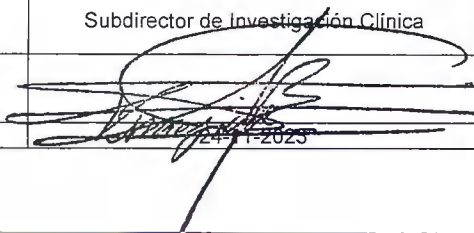
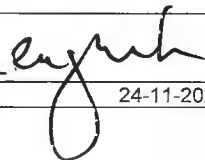
En caso de que persista alguno de los siguientes eventos:

- a. Temperatura ambiental extrema.
- b. Incapacidad para alcanzar el set point.
- c. Limpiar filtro.
- d. Batería baja.

REPORTAR AL DEPTO. DE INGENIERÍA BIOMÉDICA

12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN



Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 1 DE: 14

4. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA DETERMINAR SARS-CoV-2 E INFLUENZA A Y B POR qRT-PCR MULTIPLEX POR EL KIT CoviFlu DE Genes2Life

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 2 DE: 14

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

El procedimiento establece el desarrollo del protocolo CoviFlu kit Multiplex diseñado para la detección y semi cuantificación in vitro del genoma de los virus SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B por transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT-PCR o RT-PCR en tiempo real).

2.0 OBJETIVO

El presente procedimiento describe el uso de iniciadores y sondas de hidrólisis (TaqMan®), para la detección cualitativa y caracterización del virus a partir de muestras clínicas obtenidas de vías respiratorias altas y bajas. Los oligonucleótidos y sondas han sido diseñados para una hibridación y amplificación específicas de las secuencias genéticas de la nucleocápside (N) del virus SARS-CoV-2 y de la matriz (M) de los virus de Influenza A e Influenza B.

El procedimiento incluye las actividades para el proceso de muestras de exudado faríngeo y nasofaríngeo, lavado bronquioalveolar, aspirado traqueal, aspirado nasofaríngeo, lavado nasal y biopsia pulmonar para detectar los virus SARS-CoV-2, influenza A (incluidos los subtipos A(H3) y A(H1N1) pdm09) e influenza B (incluidos los linajes Victoria y Yamagata) en una sola reacción, mediante RT-qPCR, para el abordaje diagnóstico de enfermedad respiratoria viral en las personas beneficiarias.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

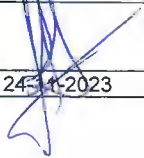
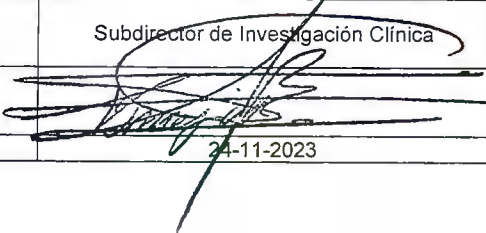
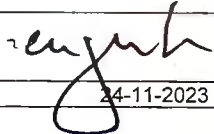
Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. La responsable y/o el responsable del área de Biología Molecular debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y las y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

1. Guantes de nitrilo.
2. Bata desechable de manga larga.

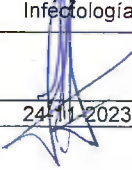
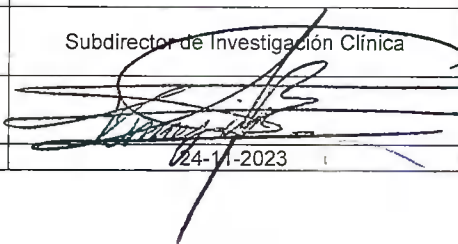
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 3 DE: 14

3. Respiradores NIOSH N95 o N100.
4. Lentes con protección lateral (goggles).
5. Pinzas.
6. Tubos estériles libres de nucleasas de 1.5 ml.
7. Puntas con filtro de 0.1-200µl, 0.5-10µl, 100-1000µl.
8. Microtubos de polipropileno con capacidad de 1500 µL.
9. Placas de reacción MicroAmp Fast Optical de 96 pozos con código de barras, de 0.1 mL.
10. Tapas ópticas MicroAmp, tira de 8 tapas para placas de 96 pozos MicroAmp Fast Applied Biosystems.
11. Caja de almacenamiento para criotubos para temperaturas de hasta -100° C.

4.2 Accesorios y equipo de laboratorio

1. Equipo de extracción KingFisher Flex Purification System con consumibles:
 - a. Placas de pozo profundo.
 - b. Placas con peines.
 - c. Placas de elución.
2. Termocicladores de Tiempo Real 7500 Real Time PCR System y QuantStudio 5.
3. Campana de flujo laminar Clase II Tipo A2.
4. Centrifuga (1,000 a 3,000 rpm).
5. Ultracongelador a -70°C.
6. Refrigerador a 4°C.
7. Micropipetas automáticas de 0.1-200µl, 0.5-10µl y 100-1000µl.
8. Guantes criogénicos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 4 DE: 14

9. Bloque de enfriamiento para microtubos de polipropileno con capacidad de 1500 / 2000 µL.

10. Bloque de enfriamiento para placas y tiras de tubos.

4.3 Reactivos

1. Kit CoviFlu Multiplex que contiene:

- CoviFlu Primer Mix.
- Enzima.
- Buffer 5X.
- Control sintético positivo C-InfCoV.
- Agua libre de nucleasas.

2. Kit de extracción MagMAX Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation:

- Solución de unión.
- Buffer de lavado.
- Solución de elución.
- Proteinasa K.
- Perlas magnéticas.

3. Alcohol etílico absoluto (100%).


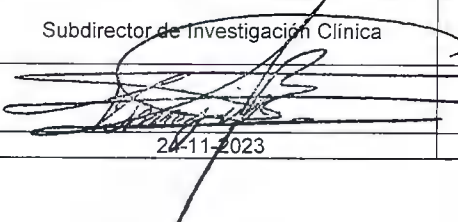
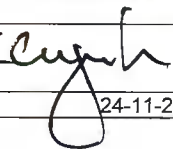
4. H2O libre de DNAsas y RNAsas.



5. Solución de alcohol etílico al 70% para desinfección (EtOH 70%).

6. Solución de hipoclorito de sodio al 5% para decontaminación de residuos RPBI (NaClO al 5%).

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2): área de Extracción 1, área de Preparación de la Mezcla de Reacción y Manejo de Ácidos Nucléicos y área de PCR 1.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 5 DE: 14

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica.
D.O.F. 19-II-2013

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.1 Muestras Clínicas

Se procesan las muestras clínicas recibidas en el laboratorio de acuerdo al **Procedimiento Técnico número 2- Transporte y Recepción de Muestras Clínicas para la determinación de SARS-CoV-2** del presente manual.

7.2 Consideraciones Generales

Debido a la sensibilidad del ensayo, se toman precauciones especiales para evitar amplificaciones falsas positivas:

Evitar la contaminación de las muestras

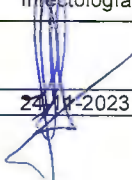
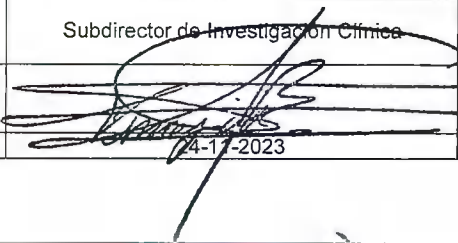
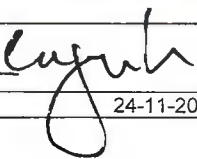
1. Mantener áreas separadas para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos.
2. Mantener equipo separado y específico para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos (pipetas, microcentrífugas, tubos, puntas).
3. Vestir: bata de laboratorio en cada área.



Nota: Queda prohibido ingresar al área de preparación de mezcla de reacción con **vestimenta usada en las áreas de extracción y manejo de ácidos nucleicos.**

4. Utilizar guantes desechables.

Nota: Cambiarlos al salir de cada área y cada vez que exista posibilidad de estar contaminados.

5. Mantener los reactivos y tubos de reacción tapados tanto como sea posible.
6. Utilizar siempre puntas con filtro.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 6 DE: 14

7.3 Procedimiento de la Prueba

Extracción

Este procedimiento se realiza en el área de extracción 1 con el equipo de extracción KingFisher Flex Purification System (instrumento) y con el kit de extracción MagMAX Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista:

- a. Configurar las placas de lavado, elución y peines fuera del instrumento de acuerdo con la siguiente tabla.

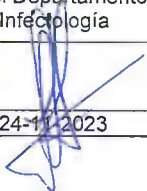
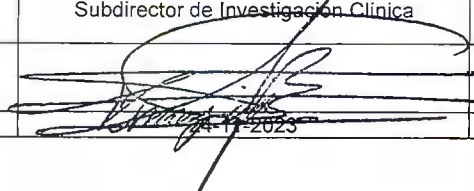
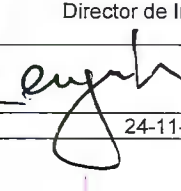
IDENTIFICACIÓN DE LA PLACA	POSICIÓN DE LA PLACA	TIPO DE PLACA	REACTIVO	VOLUMEN POR POZO
Placa de lavado 1	2	Pozo profundo	Buffer de lavado	1 mL
Placa de lavado 2	3	Pozo profundo	80% Etanol	1 mL
Placa de lavado 3	4	Pozo profundo	80% Etanol	500 uL
Placa de elución	5	Pozo profundo	Solución de elución	50–100 uL
Placa con peines	6	Coloque un peine de punta de 96 pozos profundos en una placa estándar		



Tabla 1: Identificación de la placa.

- b. Preparar la mezcla de unión/digestión

COMPONENTE	VOLUMEN POR POZO
Solución de unión	530 uL
Perlas magnéticas	20 uL
Volumen total	550 uL

Tabla 2: Volúmenes para preparación de mezcla de unión/digestión.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 7 DE: 14

Mezclar bien por inversión y almacenar a temperatura ambiente.

c. Preparar la placa de muestras (templado).

✓ Desinfectar las superficies de la campana de flujo laminar con EtOH al 70%.

✓ Esterilizar con luz ultravioleta.

✓ Limpiar las superficies externas de todos los insumos con EtOH al 70% y los introduce en la campana de flujo laminar junto con las muestras en una gradilla.

1. Agregar 10 µl de proteinasa K a cada pozo de una placa de 96 pozos de pozo profundo.

2. Agitar el tubo con la muestra (MTV) en vortex a velocidad alta por 30 segundos para descargar la muestra del hisopo en el medio y coloca 400 µl del sobrenadante en la placa de muestra para su lisis (un pozo por muestra). El tubo con el sobrenadante remanente se mantiene en refrigeración para su posterior almacenaje a -70°C en caso de que la muestra resulte positiva.

3. Agregar 550 µl de la mezcla de unión/digestión a cada pozo con muestra.

4. Seleccionar el programa MVP_Flex en el instrumento.

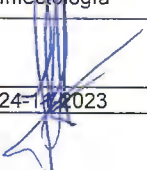
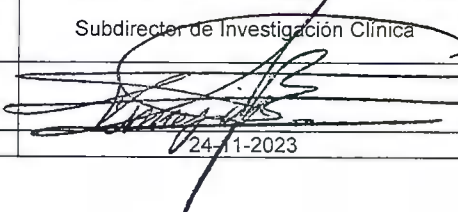
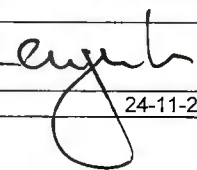
5. Colocar las placas de lavado, la placa de elución y la placa de peines en la posición correspondiente como lo indica el programa del instrumento. El programa tarda aproximadamente 25 minutos.



6. Una vez terminado el programa, retirar la placa de elución (templado) y la cubre con mica adhesiva.

7. Guardar el templado a 4°C, si será procesado inmediatamente, o lo almacena a -70° si será procesado posteriormente.

7.3.1 qRT-PCR Multiplex

a. Preparación de la mezcla de reacción

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 8 DE: 14

Este procedimiento se realiza en el área del laboratorio designada para la preparación de la mezcla de reacción y con el Kit CoviFlu Multiplex.

Condiciones de almacenamiento del Kit CoviFlu Multiplex.

1. Evitar los ciclos de congelación/descongelación.
2. Mantener en refrigeración 2 a 4 °C cuando su uso es continuo durante un mismo día.
3. Mantener -20°C si el almacenaje es por periodos prolongados.
4. El control positivo sintético C-InfCoV se mantiene en un área separada del resto de los reactivos para el montaje de la reacción de PCR, con los mismos criterios de almacenamiento de acuerdo a su uso.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

✓ Desinfectar las superficies de la campana de flujo laminar con EtOH al 70%.

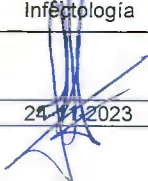
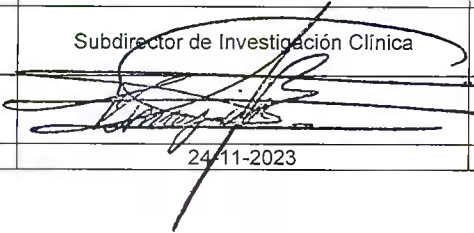
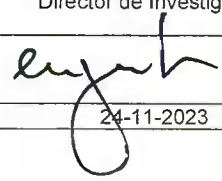
✓ Esterilizar con luz ultravioleta.



✓ Limpiar las superficies externas de todos los insumos con EtOH al 70% y los introduce en la campana de flujo laminar.

1. Descongelar el Primer Mix y el Buffer 5X y los homogeniza por inversión previo a su uso.
2. Mantener los reactivos en una gradilla fría (2° a 8 °C).
3. Realizar los cálculos correspondientes al número de reacciones (rxn) necesarias, incluyendo el número total de muestras y controles positivos y negativos para preparar una mezcla maestra (Master Mix), tomando como referencia la siguiente tabla:

COMPONENTE	VOLUMEN 1 RXN
CoviFlu Primer Mix	14.5 µL
Buffer 5X	5 µL
Enzima	0.5 µL
Templado	5 µL
Volumen total:	25µL

Tabla 3: Volúmenes de preparación de mezcla por reacción.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 9 DE: 14

4. Preparar el Master Mix y dispensa 20ul por pozo en una placa de reacción, mantenida a 4°C en bloque de enfriamiento.
5. Agregar 5 µl de agua en el pozo correspondiente al control negativo, en el que no se colocará templado.
6. Agregar 5 µl del templado pozo a pozo haciendo coincidir las posiciones correspondientes en ambas placas, el templado también debe mantenerse a 4°C en bloque de enfriamiento.
7. Agregar 5 µl del control positivo (C-InfCoV) al final de la placa.
8. Cubrir la placa con una mica adhesiva óptica y transferirla en el bloque de enfriamiento al área de PCR.

7.3.2 Protocolo de PCR


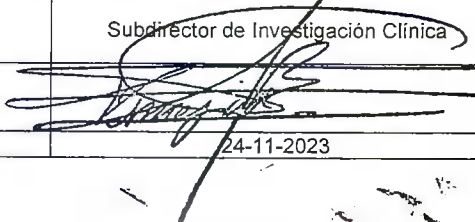
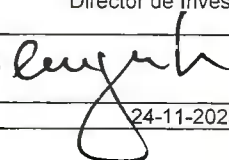
Este procedimiento se realiza en el área de PCR 1 con el termociclador en tiempo real.



La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Introducir la placa de reacción en el termociclador.
2. Programar el protocolo de reacción en el termociclador de acuerdo a la siguiente tabla:

CICLOS	ETAPA	TIEMPO	TEMPERATURA
1	Retrotranscripción	30 minutos	50°C
1	Desnaturalización inicial	5 minutos	95°C
45	Desnaturalización	15 segundos	95°C
	Alineamiento/Extensión (lectura de datos)	30 segundos	62°C

Tabla 4: Protocolo de reacción

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 10 DE: 14

3. Programar la adquisición de datos utilizando la siguiente tabla:

BLANCO	CANAL	COLOR DETECTOR
Control endógeno <i>RNase P</i>	Cy5	Verde
Influenza A <i>Matriz (M)</i>	FAM	Azul
Influenza B <i>Matriz (M)</i>	TEXAS Red	Amarillo
SARS-CoV-2 <i>nucleocápside (N)</i>	HEX	Rojo

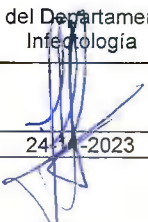
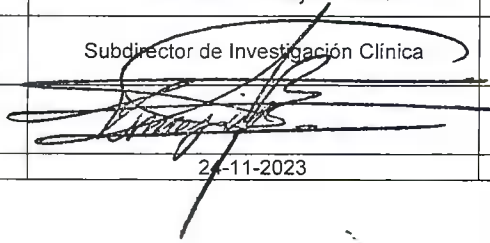
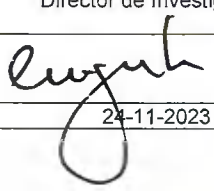
Tabla 5: Programa de adquisición de datos.



7.3.3 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Validación de Resultados

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Validar los resultados del proceso de acuerdo a los siguientes parámetros:
 - a. Control Negativo: Ausencia de señal.
 - b. Control Positivo: Amplificación correcta.
 - c. Marcador endógeno humano RNAsa P: Ct (Umbral de Ciclo, Ct por sus siglas en inglés) \leq 38 en cada muestra.
2. Analiza

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 11 DE: 14

3. Reinterpretar los resultados de acuerdo a la siguiente tabla:



INFLUENZA A FAM	INFLUENZA B TEXAS RED	SARS-COV-2 HEX	RNASAP CY5	INTERPRETACIÓN
+	+	+	+	POSITIVO Influenza A, B y COVID-19
+	+	-	+	POSITIVO Influenza A y B
-	+	+	+	POSITIVO Influenza B y COVID-19
+	-	+	+	POSITIVO Influenza A y COVID-19
+	-	-	+	POSITIVO Influenza A
-	+	-	+	POSITIVO Influenza B
-	-	+	+	POSITIVO COVID-19
-	-	-	+(Ct<3 8)	NEGATIVO
±	±	±	+(Ct ≥38)	RESULTADO INVALIDO
-	-	-	-	RESULTADO INVÁLIDO

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

La inclusión de controles positivo y negativo permite validar la viabilidad y reproducibilidad de los reactivos que se utilizan, con lo que se evita el reporte de resultados falsos positivos o falsos negativos en las muestras de las personas beneficiarias.

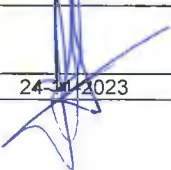
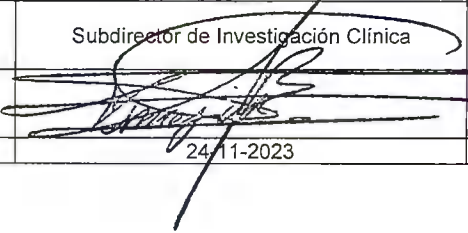
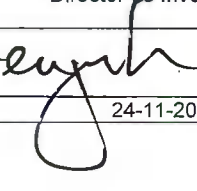
La amplificación del gen RNasaP para cada muestra funciona como control interno positivo para demostrar la presencia de RNA y la validación del proceso de extracción de la muestra clínica.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24/11/2023	24/11/2023	24/11/2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 12 DE: 14

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Ácidos nucleicos:** Macromoléculas constituidas por nucleótidos, encargadas de almacenar, transmitir y expresar la información genética. Existen dos tipos: DNA y RNA.
- 9.2 Aspirado nasofaríngeo:** Secreciones nasofaríngeas obtenidas por aspiración con un catéter introducido en la fosa nasal y conectado a una trampa de esputo/moco con una bomba de vacío.
- 9.3 Aspirado traqueal:** Secreciones respiratorias obtenidas por succión con una sonda de aspiración introducida a través del tubo endotraqueal.
- 9.4 Biopsia pulmonar:** Muestra del tejido del pulmón extraída por punción con una aguja especial para biopsia.
- 9.5 Exudado faríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando con firmeza la pared posterior de la garganta con un hisopo con punta de nylon insertado a través de la boca, abatiendo la lengua con un abatelenguas.
- 9.6 Exudado nasofaríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando la nasofaringe con un hisopo con punta de nylon insertado a través de cada una de las fosas nasales.
- 9.7 Hibridación:** Proceso en el que dos moléculas complementarias de una sola hebra de DNA y/o RNA se unen y forman una molécula de doble cadena.
- 9.8 Oligonucleótidos:** Cadenas cortas de DNA que se sintetizan artificialmente para tener una secuencia definida.
- 9.9 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- 9.10 RPBI:** Residuos peligrosos biológico infecciosos
- 9.11 Sondas de hidrólisis:** Secuencias cortas de DNA o RNA marcadas químicamente.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 13 DE: 14

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Thermo Scientific KingFisher Flex. User Manual. Catalog Number N07669. Pub. No. MAN0019870 Rev. A.0. 2020

MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit. High throughput isolation of viral nucleic acid (RNA and DNA) from biofluids and transport media. Catalog Number A42352. Pub. No. MAN0018073 Rev. C.0. september 2020

CoviFlu kit Multiplex. Genes2life. Manual de usuario. M6IG2LCF. 2021

Chen, R., & Holmes, E. C. (2008). The evolutionary dynamics of human influenza B virus. Journal of molecular evolution, 66(6), 655.

Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., ... & Mulders,

D. G. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Eurosurveillance, 25(3), 2000045.

Cox, N. J., & Subbarao, K. (1999). Influenza. The Lancet, 354(9186), 1277-1282.

Corman, V., Bleicker, T., Brünink, S., Drosten, C., Zambon, M., & World Health Organization. (2020). Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR. Geneva: World Health Organization, January, 13.

Dawood F., Jain S., Finelli L., Shaw M., Lindstrom S., Garten R., et al. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. (2009). Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. New England journal of medicine, 360(25), 2605-2615.

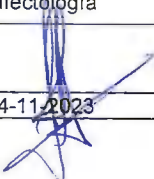
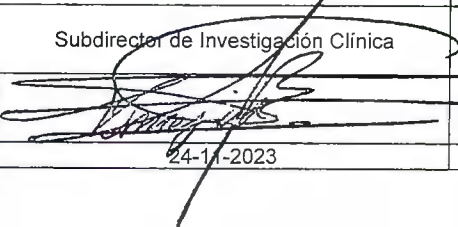
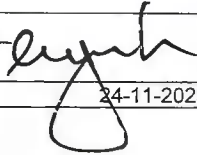
Morgan, O. W., Bramley, A., Fowlkes, A., Freedman, D. S., Taylor, T. H., Gargiullo, P., ... & Fiore, A. (2010). Morbid obesity as a risk factor for hospitalization and death due to 2009 pandemic influenza A (H1N1) disease. PloS one, 5(3), e9694.



Mullooly, J. P., & Barker, W. H. (1982). Impact of type A influenza on children: a retrospective study. American Journal of Public Health, 72(9), 1008-1016.

Munster, V. J., Koopmans, M., van Doremalen, N., van Riel, D., & de Wit, E. (2020). A novel coronavirus emerging in China—key questions for impact assessment. New England Journal of Medicine, 382(8), 692-694.

Luk, H. K., Li, X., Fung, J., Lau, S. K., & Woo, P. C. (2019). Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. Infection, Genetics and Evolution, 71, 21-30.

Shrestha, S. S., Swerdlow, D. L., Borse, R. H., Prabhu, V. S., Finelli, L., Atkins, C. Y., ... & Brammer, L. (2011). Estimating the burden of 2009 pandemic influenza A (H1N1) in the United States (April 2009–April 2010). Clinical Infectious Diseases, 52(suppl_1), S75-S82.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

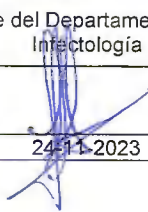
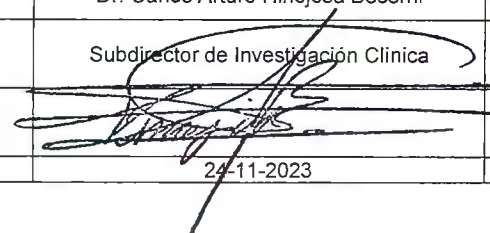
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	4. Procedimiento Técnico para Determinar SARS-COV-2 e Influenza A y B por qRT-PCR MULTIPLEX por el KIT CoviFlu de Genes2Life		HOJA: 14 DE: 14



11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

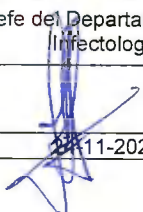
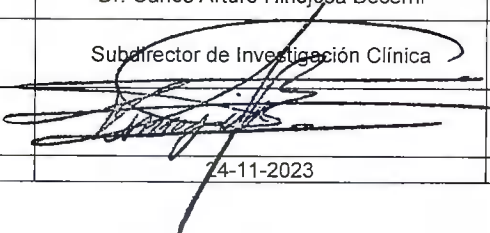
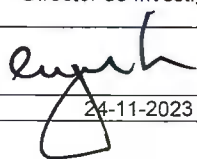
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN



Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 1 DE: 23

**5. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR PANEL DE BACTERIAS Y VIRUS
RESPIRATORIOS POR RESPIFINDER EN EL EQUIPO ROTOR-GENE Q**

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 2 DE: 23

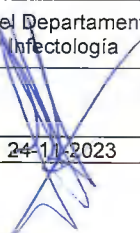
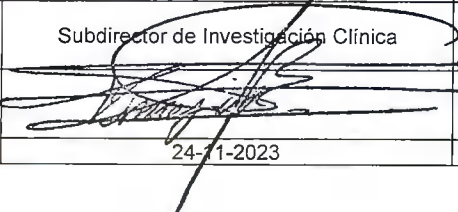
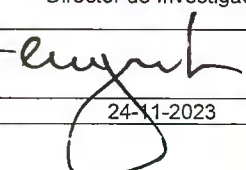
1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO



El sistema PathoFinder® es un sistema automatizado de diagnóstico in vitro que se basa en la tecnología SmartFinder (Single tube Multiplex Amplification in Real Time, por sus siglas en inglés) que permite el análisis de hasta 13 objetivos en una sola reacción de Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR. Incluye 23 diferentes juegos de cebadores 2SMART combinados con 15 sondas SMART marcadas con fluorescencia que permiten la detección de 22 patógenos diferentes más un Control Interno y 2 Controles de Amplificación.

El kit RespiFinder® 2SMART (PathoFinder, Maastricht, The Netherlands) es una prueba multiplex de ácidos nucleicos consiste en una pre-amplificación que combina una reacción de retrotranscripción con una reacción de PCR en un solo paso. Subsecuentemente, la reacción de pre-amplificación se divide en dos tubos para llevar a cabo dos reacciones SmartFinder por separado. La identificación de cada patógeno se lleva a cabo por análisis de la curva de fusión usando el equipo Rotor-Gene Q, para personas beneficiarias con indicios de infecciones de las vías respiratorias.

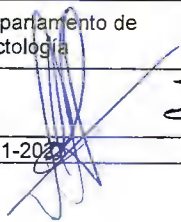
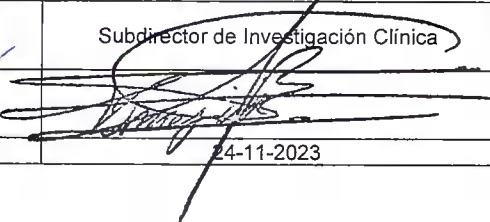
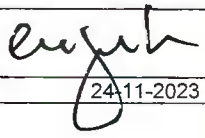
2.0 OBJETIVO



El procedimiento incluye las actividades para el proceso con el sistema PathoFinder® de muestras de exudado faríngeo y nasofaríngeo, lavado bronquioalveolar, aspirado traqueal, aspirado nasofaríngeo, lavado nasal y biopsia pulmonar con el kit RespiFinder® 2SMART para detectar los virus y bacterias siguientes:

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 3 DE: 23

PATÓGENO		GENE
Rhinovirus/Enterovirus	Rhino/Entero	5' untranslated region Polyprotein (PP) gene
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	C. pneu	Major outer membrane protein (OmpA) gene
Influenza A	InfA	Matrix protein (M1) gene
Influenza B	InfB	Matrix protein (M1) gene
Influenza A H1N1pdm09	H1N1	Neuraminidase gene
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M. pneu	Cytadhesin protein (P1) gene
hMPV	hMPV	Nucleocapsid protein (NP) gene
Adenovirus	Adeno	Hexon (H) gene
Parainfluenza 1	PIV1	Haemagglutinin-neuraminidase (HN) gene
Parainfluenza 2	PIV2	Haemagglutinin-neuraminidase (HN) gene
Parainfluenza 3	PIV3	Haemagglutinin-neuraminidase (HN) gene
Parainfluenza 4	PIV4	Major nucleocapsid protein (N) gene
<i>Legionella pneumophila</i>	L. pneu	Macrophage infectivity potentiator (MIP) gene
RSV-A	RSVA	Nonstructural protein gene
RSV-B	RSVB	Nucleoprotein gene
<i>Bordetella pertussis</i>	B. pert	Insertion sequence 481 (IS481)
Corona NL63	NL63	Nucleocapsid protein (NP) gene
Corona OC43	OC43	Nucleocapsid protein (NP) gene
Corona 229E	C229E	Nucleocapsid protein (NP) gene
Corona HKU1	HKU1	Nucleocapsid phosphoprotein (N) gene
SARS-CoV-2	SARS-2	Nucleocapsid (N) gene
MERS coronavirus	MERS	Envelope (E) gene
Bocavirus	Boca	Nonstructural protein 1 (NP1) gene
Internal Control	IC	MS2 phage coat protein/lysis protein genes
Amplification Control 1	AC1	Unique artificial sequence
Amplification Control 2	AC2	Unique artificial sequence

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 4 DE: 23

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

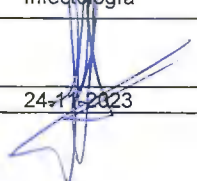
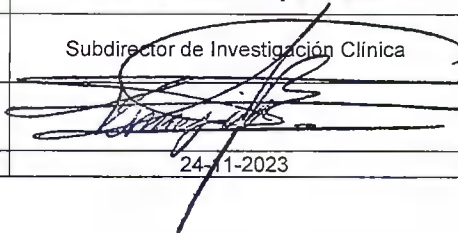
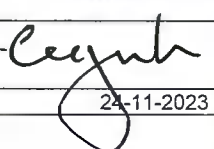
Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. La responsable y/o el responsable del área de Biología Molecular debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de los las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y de las y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

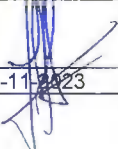
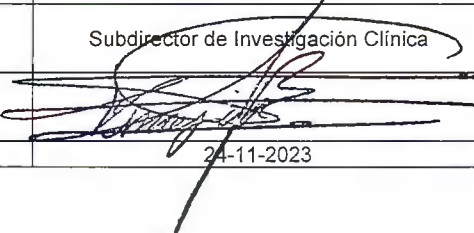
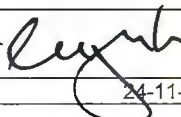
1. Guantes de nitrilo.
2. Bata desechable de manga larga.
3. Respiradores NIOSH N95 o N100.
4. Lentes con protección lateral (goggles).
5. Pinzas.
6. Tubos estériles libres de nucleasas de 1.5 ml.
7. Puntas con filtro de 0.1-200µl, 0.5-10µl, 100-1000µl.
8. Placas de 96 pozos para PCR, de 0.2 ml.
9. Tapas para placas de PCR.
10. Tubos para PCR de 0.2 ml.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 5 DE: 23

4.2 Accesorios y equipo de laboratorio

1. Equipo Rotor-Gene® Q con:
 - a. Software versión 2.3.1 o mayor.
 - b. Rotor de 72 pozos.
 - c. Tubos y tapas para rotor.
2. Equipo de extracción KingFisher Flex Purification System con consumibles:
 - a. Placas de pozo profundo.
 - b. Placas con peines.
 - c. Placas de elusión.
3. Termociclador para tubos de 0.2 ml
 1. Campana de flujo laminar Clase II Tipo A2.
 2. Microcentrifuga.
 3. Centrífuga para placas.
 4. Congelador a -20°C.
 5. Ultracongelador a -70°C.
 6. Refrigerador a 4°C.
 7. Micropipetas automáticas de 0.1-200µl, 0.5-10µl y 100-1000µl.
 8. Guantes criogénicos.
 9. Vortex.
 10. Bloque de enfriamiento para microtubos de polipropileno con capacidad de 1500 / 2000 µL.
 11. Bloque de enfriamiento para placas y tiras de tubos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 6 DE: 23

4.3 Reactivos

1. Kit RespiFinder® 2SMART que contiene:

COMPONENTE	COLOR DEL TAPÓN DE ROSCA	VOLUMEN
Mezcla maestra de pre amplificación	Púrpura	> 320 µl
Mezcla de cebadores de pre amplificación	Blanco	> 450 µl
2SMART buffer1 (contiene Amplificación Control 1, AC1)	Rojo	> 1000 µl
2SMART buffer2 (contiene Amplificación Control 2, AC2)	Azul	> 1000 µl
Enzima 2SMART	Naranja	> 100 µl

Tabla 1: Caja A

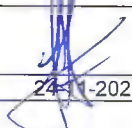
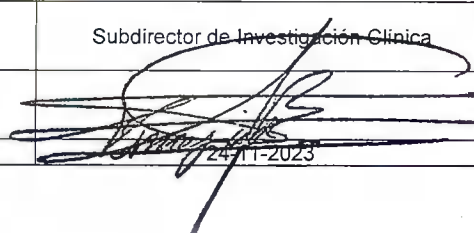
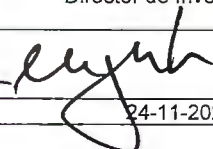
COMPONENTE	COLOR DEL TAPÓN DE ROSCA	VOLUMEN
Control Interno (CI)	Negro	> 800 µl
Control Positivo (PC)	Verde	> 100 µl
Tampón de dilución	Transparente	> 1500 µl



Tabla 2: Caja B

2. Kit de extracción MagMAX Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation

- a. Solución de unión.
- b. Buffer de lavado.
- c. Solución de elución.
- d. Proteinasa K.
- e. Perlas magnéticas.

3. Alcohol etílico absoluto (100%).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 7 DE: 23

4. Formamida.
5. H₂O libre de DNAsas y RNAsas.
6. Solución de alcohol etílico al 70% para desinfección (EtOH 70%).
7. Solución de hipoclorito de sodio al 5% para descontaminación de residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) (NaClO al 5%).

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2): área de Extracción 1, área de Manejo de Ácidos Nucleicos, área de PCR 1 y área de Secuenciación.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica.
D.O.F. 19-II-2013

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.1 Muestras Clínicas

Se procesan las muestras clínicas recibidas en el laboratorio de acuerdo con el procedimiento técnico no. 2 **Transporte y recepción de Muestras Clínicas para la determinación de Sars-Cov-2** del presente manual.

7.2 Consideraciones Generales

Debido a la sensibilidad del ensayo, se toman precauciones especiales para evitar amplificaciones falsas positivas:

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 8 DE: 23

Evitar la contaminación de las muestras

1. Mantener áreas separadas para cada proceso:
 - ✓ Extracción.
 - ✓ Preparación de mezclas de reacción.
 - ✓ Adición de la muestra de RNA/DNA (ácido ribonucleico/ácido desoxirribonucleico) a la mezcla de reacción.
 - ✓ Realización de reacción de pre-amplificación, amplificación y detección.
2. Mantener el equipo separado y específico para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos (pipetas, microcentrifugas, tubos, puntas).
3. Limpiar y descontaminar las áreas de trabajo, pipetas y centrifugas con una solución de cloro al 5% (pueden usarse reactivos como "DNAzap" o "RNase AWAY") para minimizar el riesgo de contaminación con ácidos nucleicos.
4. Vestir con bata de laboratorio en cada área.



Nota: No ingresar al área de preparación de mezcla de reacción con vestimenta usada en las áreas de extracción y manejo de ácidos nucleicos.

5. Utilizar guantes desechables.

Nota: Cambiar los guantes desechables al salir de cada área y cada vez que exista posibilidad de haber sido contaminados.

6. Mantener los reactivos y tubos de reacción tapados tanto como sea posible.
7. Utilizar siempre puntas con filtro.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 9 DE: 23

7.3 Extracción

Este procedimiento se realiza en el área de extracción 1 con el equipo de extracción KingFisher Flex Purification System (instrumento) y con el kit de extracción MagMAX Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

- a. Configurar las placas de lavado, elución y peines fuera del instrumento de acuerdo con la siguiente tabla:

IDENTIFICACIÓN DE LA PLACA	POSICIÓN DE LA PLACA	TIPO DE PLACA	REACTIVO	VOLUMEN POR POZO
Placa de lavado 1	2	Pozo profundo	Buffer de lavado	1 mL
Placa de lavado 2	3	Pozo profundo	80% Etanol	1 mL
Placa de lavado 3	4	Pozo profundo	80% Etanol	500 uL
Placa de elución	5	Pozo profundo	Solución de elución	50–100 uL
Placa con peines	6	Coloque un peine de punta de 96 pozos profundos en una placa estándar		

Tabla 3: Configuración de las placas

- b. Preparar la mezcla de unión/digestión

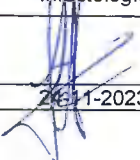
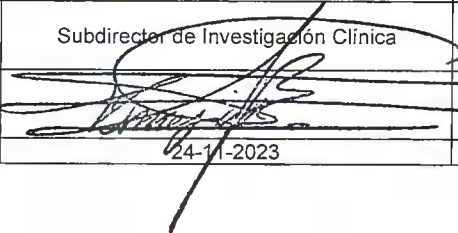
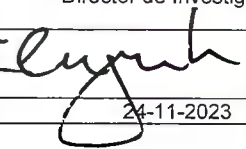
COMPONENTE	VOLUMEN POR POZO
Solución de unión	530 uL
Perlas magnéticas	20 uL
Volumen total	550 uL



Tabla 4: Volúmenes para preparación de mezcla de unión/digestión.

Mezclar bien por inversión y almacenar a temperatura ambiente.

- c. Preparar la placa de muestras (templado)

- ✓ Desinfectar las superficies de la campana de flujo laminar con EtOH al 70%.
- ✓ Esterilizar con luz ultravioleta.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 10 DE: 23

✓ Limpiar las superficies externas de todos los insumos con EtOH al 70% e introducir en la campana de flujo laminar junto con las muestras en una gradilla.


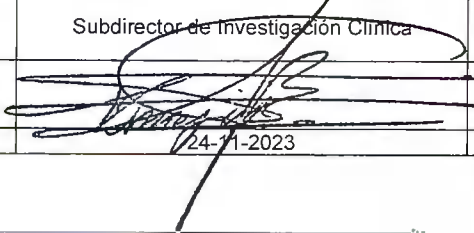
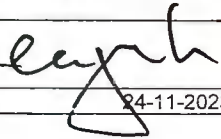
1. Agregar 10 µl de proteinasa K a cada pozo de una placa de 96 pozos de pozo profundo.
2. Agitar el tubo con la muestra (MTV) en vortex a velocidad alta por 30 segundos para descargar la muestra del hisopo en el medio y coloca 400 µl del sobrenadante en la placa de muestra para su lisis (un pozo por muestra). El tubo con el sobrenadante remanente se mantiene en refrigeración para su posterior almacenaje a -70°C en caso de que la muestra resulte positiva.
3. Agregar 550 µl de la mezcla de unión/digestión a cada pozo con muestra.
4. Seleccionar el programa MVP_Flex en el instrumento.
5. Colocar las placas de lavado, de elución y la placa de peines en la posición correspondiente como lo indica el programa del instrumento. El programa tarda aproximadamente 25 min.
6. Una vez terminado el programa, retira la placa de elución (templado) y la cubre con mica adhesiva.
7. Guardar el templado a 4°C si será procesado inmediatamente, o lo almacena a -70° si será procesado posteriormente.



7.4 Ensayo de RespiFinder 2SMART

Este procedimiento se realiza en el área del laboratorio designada para la preparación de la mezcla de reacción y con el Kit RespiFinder 2SMART.

Condiciones de manejo del Kit RespiFinder 2SMART:

1. Almacenar en la obscuridad y en congelador entre -20 y -30°C.
2. Evitar los ciclos de congelación/descongelación (<5x).
3. Durante el proceso mantener las enzimas siempre a 4°C en hielo o bloques enfriadores.
4. Preparar alícuotas de formamida de 500 µl y mantenerlas en congelador entre -15 y -20°.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerri	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 11 DE: 23

7.4.1 Pre-amplificación

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

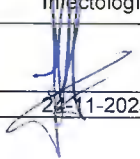
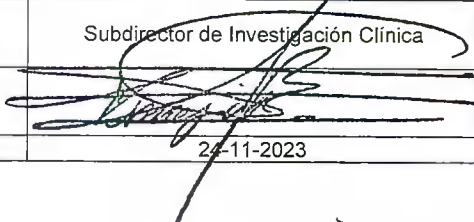
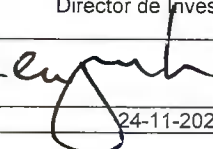
1. Descongelar los reactivos y los homogeniza gentilmente con vortex o con micropipeta, manteniéndolos a 4°C:
 - a. Templado de RNA/DNA (ácido ribonucleico/ácido desoxirribonucleico).
 - b. Mezcla maestra de pre-amplificación.
 - c. Mezcla maestra de cebadores.
2. Preparar la mezcla de reacción (rx) de acuerdo a la siguiente tabla:

COMPONENTE (TAPA)	VOLUMEN / REACCIÓN
Mezcla maestra de pre amplificación (púrpura)	6.25 µl
Mezcla maestra de cebadores (blanco)	8.75 µl
Volumen total	15 µl

Tabla 5: mezcla de reacción (rx)

3. Dispensar 15 ul mezcla de pre-amplificación a cada tubo o pozo.
4. Adicionar 10 ul de templado y mezcla bien. Mantener en frio.
5. Programar el termociclador con los ciclos.
6. Programar Respi Pre amp:

TIEMPO	TEMPERATURA		COMENTARIO
10 minutos	50 °C		Transcripción reversa
2 minutos	95 °C		Activación Taq polimerasa
20 segundos 20 segundos 35 segundos	94 °C 55 °C 72 °C	40 ciclos	Pre-amplificación PCR
Mantener	20 °C		

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 12 DE: 23

Tabla 6: Protocolo de preamplificación

7. Comenzar el programa de RT-PCR y colocar los tubos hasta que el termociclador alcance los 50°C.

7.4.2 Amplificación y detección genérica

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:



1. Descongelar el 2SMART buffer y el 2SMART buffer 2. Mantiene en frío.
2. Preparar la mezcla de reacción de acuerdo a la siguiente tabla:

MEZCLA 2SMART	COMPONENTE (TAPA)	VOLUMEN /REACCIÓN
1	2SMART buffer 1 (rojo)	19 µl
	Taq polimerasa (naranja)	1 µl
	Volumen total	20 µl
2	2SMART buffer2 (azul)	19 µl
	Taq polimerasa (naranja)	1µl
	Volumen total	20 µl

Tabla 7: Preparación de la mezcla de reacción.

3. Dispensar 20 µl de cada mezcla de hibridación a tubos nuevos para cada muestra.
4. Adicionar 5 ul de rx de pre-amplificación diluido. Tapar muy bien los tubos, ya que cualquier evaporación incrementa la cantidad de sales alterando la Tm de las curvas de fusión.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

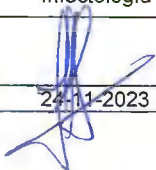
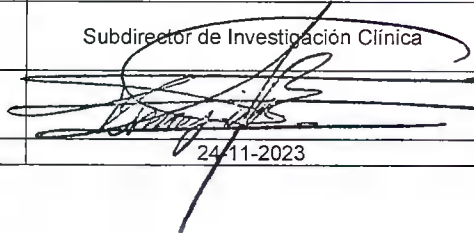
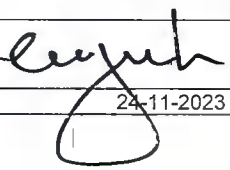
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 13 DE: 23



5. Programar el protocolo Respifinder, en el equipo Rtor-Gene Q.

TIEMPO	TEMPERATURA	COMENTARIO
2 minutos	95°C	Paso de desnaturalización inicial
15 segundos	94°C	PCR 1
15 segundos	55°C 10 ciclos	
15 segundos	72 °C	
15 segundos	94°C	PCR 2, adquisición a 50 °C
15 segundos	50 °C 23 ciclos	
15 segundos	72°C	
2 minutos	95°C	Paso de desnaturalización
90 segundos	40°C	Paso de incubación
----	40°C - 90°C	Programa de fusión, adquisición
1 segundos	37°C	Enfriamiento

Tabla 8: Protocolo respifinder.

- a. Abrir el Rotor Gene Q Series Software en el escritorio.
- b. Abrir la ventana de NEW RUN (Nueva corrida).
- c. Abrir el Respifinder dando doble click.
- d. Abrir la ventana ADVANCE RUN WIZARD (asistente de ejecución avanzada).
- e. Seleccionar rotor 72 pozos y dar click en LOCKING RING ATTACHED (anillo de bloqueo unido).
- f. Dar NEXT (siguiente).
- g. Dar SKIP WIZARD (saltar asistente).
- h. En la cintilla superior dar START (inicio).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

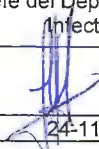
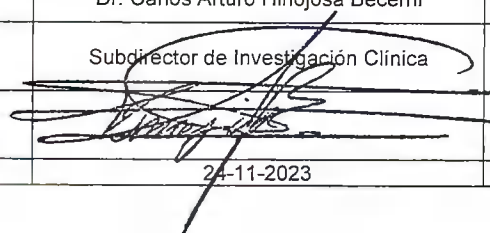
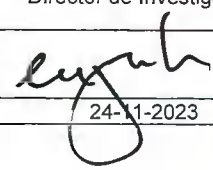
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 14 DE: 23



- i. Abrir la ventana PROFILE RUN CONFIRMATION (confirmación del perfil de ejecución).
- j. Dar START (inicio).
- k. Abrir la ventana para SALVAR COMO. Salva con el nombre y carpeta propuestos o dar los requeridos como usuario.
- l. Dar guardar.
- m. Empezar la corrida

El Equipo Rotor-Gene Q utilizar tres canales para la adquisición de las diferentes señales fluorescentes:

CANAL	FLUOROFORO SMART	FILTRO DE EXCITACIÓN	FILTRO DE DETECCIÓN	GAIN
Green	Dark quencher	470 nm	510 nm	5
FAM/ROX	ROX	470 nm	610 nm	5
FAM/ATTO647N	ATTO647N	470 nm	660 nm	5

Tabla 9: Canales de detección de los fluoróforos.


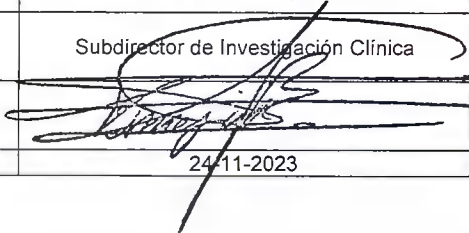
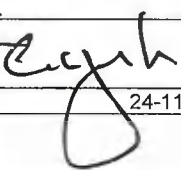
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 15 DE: 23

Y la longitud de los fragmentos amplificados es:

REACCIÓN 2SMART	FLUORÓ FORO	SONDA SMART	PATÓGENO	ROTOR-GENE Q	
				Tm (°C)	Rango Tm* (°C)
1	ROX	probe 1	RSVA	54	52.5-55.5 57-60 62-65 66-69 71.5-74.5 76.5-79.5
		probe 2	Adeno	58.5	
		probe 3	hMPV	63.5	
		probe 4	RSVB	67.5	
		probe 5	InfA	73	
		probe 6	InfB	78	
	ATTO647N	probe 1	L. pneu	53.5	52-55 56-59 61.5-64.5 67.5-70.5 71-74
		probe 2a	B. pert	57.5	
		probe 3	Rhino/Entero	63	
FAM	probe 4	C. pneu	69	70.5-73.5	
	probe 5	M. pneu	72.5		
2	ROX	probe 1	Internal Control (IC)	72	52.5-55.5 57-60 62-65 66-69 71.5-74.5
		probe 2	Amplification Control 1(AC1)	63	
		probe 1	PIV1	54	
		probe 2	PIV2	58.5	
		probe 3	PIV3	63.5	
	ATTO647N	probe 4	PIV4	67.5	51.5-54.5 54.5-57.5 61.5-64.5 67.5-70.5 71.5-74.5 77-80
		probe 5	Boca	73	
		probe 1	OC43	53	
		probe 2b	NL63/HKU1	56	
		probe 3	C229E	63	
		probe 4	SARS-CoV-2	69	
	FAM	probe 5	MERS	73	70.5-73.5
probe 6		H1N1pdm09	78.5		
FAM	probe 1	Internal Control (IC)	72	55.5-59.5	
	probe 2	Amplification Control 2(AC2)	57.5		

Tabla 10: Longitud de los fragmentos amplificados.

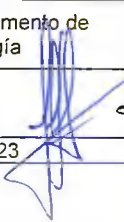
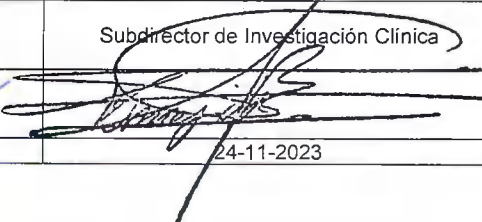
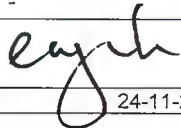
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 16 DE: 23

7.4.3 Resultados

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de revisar:

1. Al finalizar de la corrida se abren tres ventanas en la pantalla:
 - a. Melt A.Green.
 - b. Melt A.Fam/Rox.
 - c. Melt A.Fam/Atto647N (esta puede estar abierta).
2. Abrir la ventana Melt A.Fam/Atto647N.
3. Dar click en "OPTIONS" (se encuentra debajo de la gráfica) y seleccionar "NORMALISE TO Melt A.Fam/Rox".
4. Se genera una nueva ventana Melt A.Fam/Atto647N/ Melt A.Fam/Rox.
5. Cerrar la ventana Melt A.Fam/Atto647N.
6. En la cintilla superior dar click en "ANALYSIS".
7. Abrir una ventana con 4 pestañas:
 - a. 2Std Curve.
 - b. Other.
 - c. Quantification.
 - d. Melt.
8. Seleccionar "Melt" (aparece una palomita verde).
9. Abrir las 4 curvas:
 - a. Melt A.Fam/Atto647N.
 - b. Melt A.Fam/Atto647N/ Melt A.Fam/Rox.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 17 DE: 23

c. Melt A.Fam/Rox.



d. Melt A.Green.

10. Abrir Melt A.Fam/Atto647N/ Melt A.Fam/Rox dando doble click. Se abren las ventanas de gráficos y de resultados (lista).
11. En la parte derecha de la pantalla aparece la ventana de muestras, y debajo de ésta esta la opción "EDIT SAMPLES", da click. Se abre la ventana de muestras.
12. Seleccionar las reacciones de mix 1 (generalmente 1-36) y dar "YES" en éstas. Selecciona las muestras de mix 2 (generalmente 37-72) y selecciona la opción "NO". Da click en OK.

Nota: Es importante verificar que solo estén activas las muestras del mix 1.

13. En la parte inferior de la gráfica da "AUTOESCALE".
14. En la parte derecha de la pantalla, debajo de la ventana de muestras, da Threshold de 0.03 y T de 45.
15. Dar click en "IMPORT BINS" y se abre la ventana con los archivos para cada análisis.
16. Dar click en "Fam/Atto647N mix 1". Se abre la gráfica con los patógenos que se detectan.
17. En la ventana de resultados con la lista de muestras, revisar los resultados para cada muestra y para los controles.
18. Una vez analizada y sobre la misma curva, editar nuevamente las muestras, seleccionando ahora las reacciones del mix 2 (37-72) con "YES" y seleccionar "NO" para las reacciones de mix 1 (1-36). Dar Ok.
19. En la parte inferior de la gráfica da "AUTOESCALE".
20. Verificar que los parámetros sigan igual: Threshold de 0.03 y T de 45.
21. Dar click en "IMPORT BINS" y dar click en "Fam/Atto647N mix 2". Se abre la gráfica con los patógenos que se detectan.
22. En la ventana de resultados con la lista de muestras, revisa los resultados para cada muestra y para los controles.
23. Cerrar la ventana Melt A.Fam/Atto647N/ Melt A.Fam/Rox.
24. Dar click en "ANALYSIS" y luego en "Melt".

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerriil	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 18 DE: 23

25. Abrir Melt A.Fam/Rox dando doble click.
26. Editar las muestras en "EDIT SAMPLES". Seleccionar las reacciones de mix 1 y da "YES" en éstas. Ahora seleccionar las muestras de mix 2 y seleccionar la opción "NO". Dar click en OK. Verificar que estén activas las muestras del mix 1.
27. En la parte inferior de la gráfica dar "AUTOESCALE" y dar los parámetros Threshold de 1 y T de 45.
28. Dar clic en "IMPORT BINS" y seleccionar "Fam/Rox mix 1".
29. En la ventana de resultados con la lista de muestras, revisa los resultados para cada muestra y para los controles.
30. Una vez analizada y sobre la misma curva, editar nuevamente las muestras, seleccionando ahora las reacciones del mix 2 (37-72) con "YES" y seleccionar "NO" para las reacciones de mix 1 (1-36). Dar Ok.
31. En la parte inferior de la gráfica da "AUTOESCALE".
32. Verificar que los parámetros sigan igual: Threshold de 1 y T de 45.
33. Dar clic en "IMPORT BINS" y dar clic en "Fam/Rox mix 2".
34. En la ventana de resultados con la lista de muestras, revisa los resultados para cada muestra y para los controles.

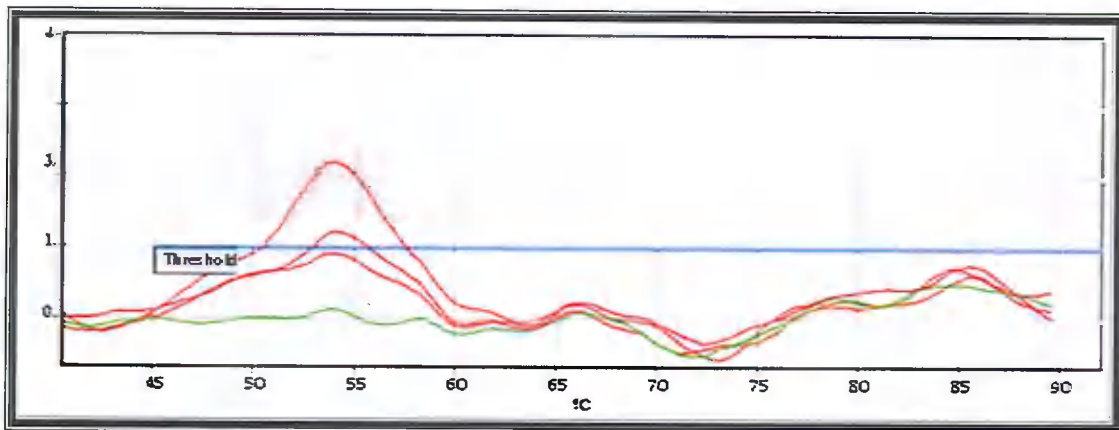
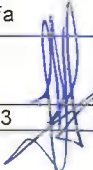
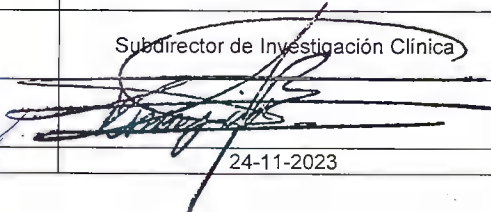
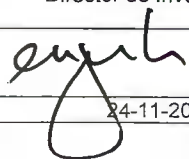




Figura 1: Ejemplo de ventana de resultados

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 19 DE: 23

Ejemplo de lectura:

Las dos muestras claramente positivas presentan un pico de fusión por arriba del límite (treshold) de detección. La muestra por debajo del límite se considera debil positiva.

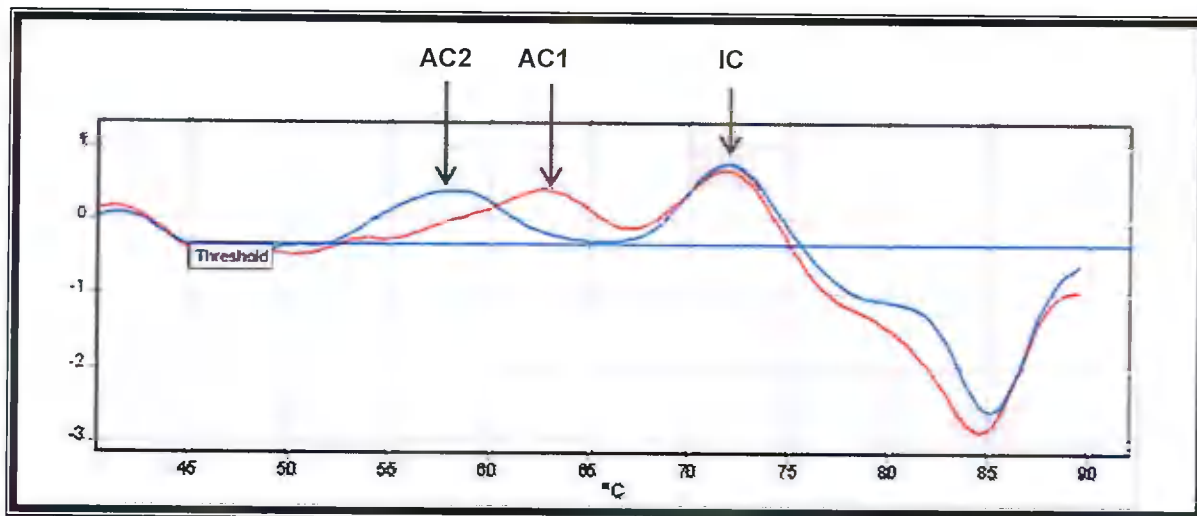
Las muestras que no dan ninguna señal positiva en el canal FAM/ROX o FAM/ATTO647N son posibles muestras negativas. Para poder discriminar entre una muestra negativa verdadera y una muestra negativa falsa, estas muestras también se analizan en el canal GREEN (ajustes de filtro 470–510 nm). En una muestra negativa verdadera, los picos de fusión deben estar presentes con ambas mezclas 2SMART para IC y AC como se indica en la tabla.

REACCIÓN DE MUESTRA	CANAL FAM/ROX	FAM/ATTO647N CANAL	CANAL VERDE	
2SMART 1	Sin pico de fusión	Sin pico de fusión	CI	70,5–73,5 °C
			AC1	61–65 °C
2SMART 2	Sin pico de fusión	Sin pico de fusión	CI	70,5–73,5 °C
			AC2	55,5–59,5 °C

Tabla 11: Resultados de una muestra negativa.

Ejemplo de muestra negativa:

La detección se hace en el canal green.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 20 DE: 23

35. Cerrar la ventana Melt A.Fam/Rox.
36. Dar click en "ANALYSIS" y luego en "Melt".
37. Abrir Melt A.Green dando doble click.
38. Quitar la selección de la casilla "Flip sign of dF/dT" para convertir los picos de negativos a positivos.
39. Editar las muestras en "EDIT SAMPLES". Seleccionar todas las muestras que fueron negativas en las reacciones de mix 1 y mix 2 dando "YES" en ellas. Dejar como "NO" las muestras positivas. Dar click en OK. Verificar que estén activas las muestras negativas.
40. Ajustar manualmente el Threshold en el punto más alto de fluorescencia en la región entre 45°C y 50°C.
41. Dar clic en "IMPORT BINS" y seleccionar "RF Green mix1+2.met".
42. Aparecen las líneas para el control interno CA1 del mix 1 y el CA2 para el mix 2. En la ventana de resultados con la lista de muestras, revisar los resultados para cada muestra y para los controles. Deben observarse las curvas del control interno (pueden observarse dos curvas) y para CA1 y CA2.
43. Si no se observan para patógenos, CA o CI, el resultado es inválido.
44. Una vez terminado el análisis, cerrar todas las ventanas, dar click en guardar.
45. Apagar los equipos.

7.4.4 Interpretación de Resultados

1. Los controles negativos: no muestran ninguna señal de amplificación por arriba de la línea de reacción de fondo, excepto para la señal del CI. Si se observa una señal de amplificación en cualquiera de ellos puede haber ocurrido una contaminación:
 - a. Invalidar la corrida y repetir el ensayo.
 - b. Desechar la alícuota de H₂O.
 - c. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.
2. Controles positivos: todas las reacciones muestran una señal de amplificación en la T_m correspondiente a los virus incluidos en el control positivo. Si alguna de las reacciones resultara negativa:
 - a. Invalidar la corrida y se repite.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 21 DE: 23

- b. Desechar el control positivo y utilizar uno nuevo.
 - c. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.
3. Todas las muestras clínicas exhiben una señal para el CI y los CA1 y 2, tomando en cuenta que este pudiera ser negativo en caso de muestras con carga viral o bacteriana alta. Para validar estas muestras, es necesario que éstas exhiban una curva de fusión para cualquier patógeno. Si el resultado es negativo para cualquier señal puede deberse a varias causas:
 - a. Existencia de inhibidores en la muestra. Repetir la reacción diluyendo la muestra 1:10 y/o 1:100.
 - b. Falla en la ejecución del ensayo. Revisar las curvas del control positivo.
 - c. Falla en el proceso de extracción resultando en pérdida de RNA. Revisar si existen reacciones positivas en las otras muestras clínicas extraídas al mismo tiempo. Re extraer la muestra.
 - d. Mal funcionamiento del equipo o de los reactivos. Revisar curvas del control positivo.
 4. Cuando todos los controles cumplan con los requerimientos establecidos, se considera la muestra positiva para un patógeno cuando se presente una señal de amplificación con el peso específico para ese patógeno, según el marcador de referencia.
 5. Cuando todos los controles cumplan con los requerimientos establecidos, se considera una muestra negativa para los patógenos analizados si no se observa ninguna señal, excepto la del CI y CA1 y CA2.

7.4.5 Reporte de Resultados

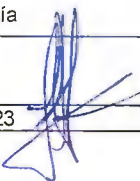
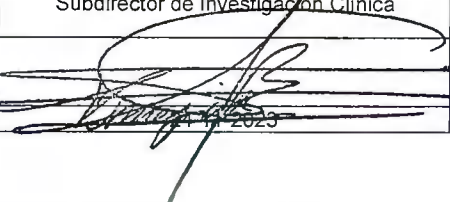
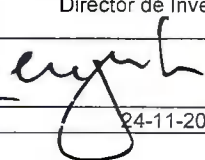
La Química y/o Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:



Registrar los resultados obtenidos en las bitácoras de resultados y en la base de datos de acuerdo con los criterios de validación, la prueba sea válida. Se liberan en el sistema de reporte de resultados.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

Interno CI) permite discriminar entre muestras negativas verdaderas y muestras negativas falsas debido a la degradación del ácido nucleico, inhibición de la PCR o falla de la prueba.

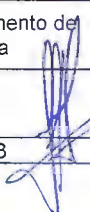
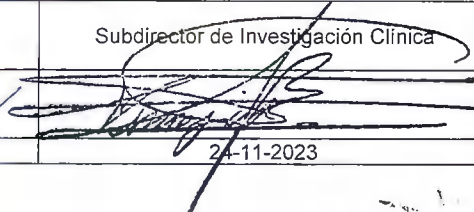
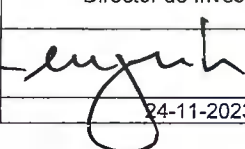
En el RespiFinder 2SMART e utilizan, además, 2 controles de amplificación (AC por sus siglas en inglés) que permiten una discriminación entre falla de extracción y falla de amplificación en el ensayo, con lo que se evita el reporte de resultados falsos positivos o falsos negativos en las muestras de las personas beneficiarias.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 22 DE: 23

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Ácidos nucleicos:** Macromoléculas constituidas por nucleótidos, encargadas de almacenar, transmitir y expresar la información genética. Existen dos tipos: DNA y RNA.
- 9.2 Aspirado nasofaríngeo:** Secreciones nasofaríngeas obtenidas por aspiración con un catéter introducido en la fosa nasal y conectado a una trampa de esputo/moco con una bomba de vacío.
- 9.3 Aspirado traqueal:** Secreciones respiratorias obtenidas por succión con una sonda de aspiración introducida a través del tubo endotraqueal.
- 9.4 Biopsia pulmonar:** Muestra del tejido del pulmón extraída por punción con una aguja especial para biopsia.
- 9.5 Campana de flujo laminar:** Instrumento que genera una zona de trabajo libre de partículas de hasta 0.1 micras mediante la filtración de aire por filtros HEPA.
- 9.6 Exudado faríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando con firmeza la pared posterior de la garganta con un hisopo con punta de nylon insertado a través de la boca, abatiendo la lengua con un abatelenguas.
- 9.7 Exudado nasofaríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando la nasofaringe con un hisopo con punta de nylon insertado a través de cada una de las fosas nasales.
- 9.8 Lavado bronquioalveolar:** Muestra biológica obtenida por fibronoscopio enclavado en árbol bronquial, instilando 120 mililitros de solución salina fisiológica y aspirándola después.
- 9.9 Lavado nasal:** Muestra biológica obtenida por aspiración de la fosa nasal instilando solución salina.
- 9.10 Patógeno:** Organismo capaz de causar una enfermedad.
- 9.11 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- 9.12 Retrotranscripción:** Generación de una cadena de DNA de doble cadena denominado DNA complementario a partir de un RNA de cadena simple.
- 9.13 Señales fluorescentes:** Luminiscencia que se genera cuando un fluoróforo absorbe luz a una longitud de onda determinada (excitación) y la emite a una longitud de onda más larga (emisión).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	5. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por Respifinder en el Equipo ROTOR-GENE Q		HOJA: 23 DE: 23

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

RespiFinder 2SMART. Instructions for use. August 2021

Dabisch-Ruthe M, et al. Comparison of three multiplex PCR assays for the detection of respiratory viral infections: evaluation of xTAG respiratory virus panel fast assay, RespiFinder 19 assay and RespiFinder SMART 22 assay. BMC Infect Dis. 2012 Jul 24; 12:163.

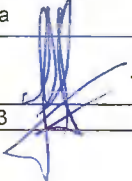
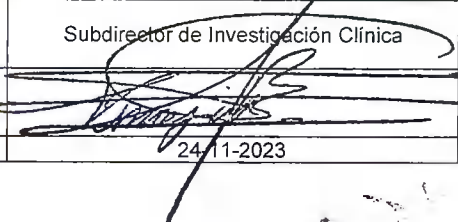
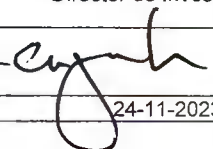
Pillet S, et al. Comparative evaluation of six commercialized multiplex PCR kits for the diagnosis of respiratory infections. PLoS One. 2013 Aug 23;8(8): e72174.



11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

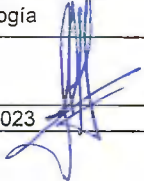
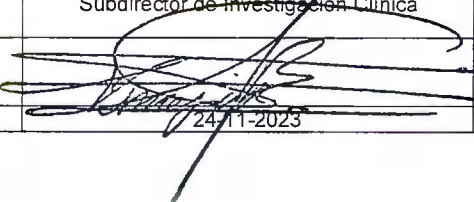
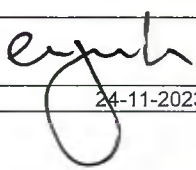
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN



Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 1 DE: 18

6. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR PANEL DE BACTERIAS Y VIRUS RESPIRATORIOS POR EL KIT FILM ARRAY (RESPIRATORY PANEL 2.1) EN EL EQUIPO BIOFIRE

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 2 DE: 18

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

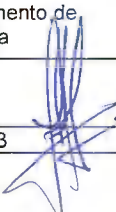
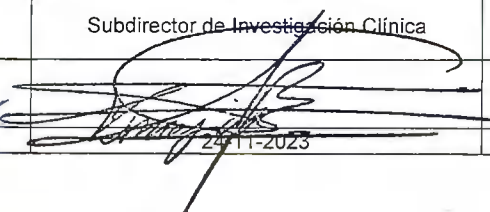
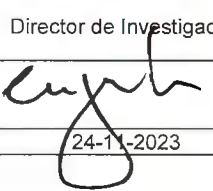
El sistema BioFire® es un sistema automatizado de diagnóstico in vitro que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis de las curvas de disociación de alta resolución para detectar e identificar diversas dianas de ácidos nucleicos presentes en las muestras clínicas. La operadora y/o el operador del BioFire Torch introduce la muestra en el cartucho de reactivos, coloca el cartucho en el BioFire Torch Module e inicia la prueba. El BioFire Torch Module interactúa con el cartucho de reactivos para extraer ácidos nucleicos de la muestra y para amplificar secuencias de ácido desoxirribonucleico (ADN) específicas de patógenos a las que van dirigidos los ensayos. Los productos que se obtienen de la PCR se evalúan mediante análisis de curvas melting de ADN y el software de BioFire® FilmArray® presenta y determina automáticamente los resultados en un informe de la prueba.



BioFire Respiratory Panel 2.1 (BioFire RP2.1) es una prueba multiplex de ácidos nucleicos basada en PCR diseñada para usarse con los sistemas BioFire® FilmArray® 2.0 o BioFire® FilmArray® Torch para la detección e identificación cualitativa simultánea de ácidos nucleicos de virus y bacterias en personas beneficiarias con indicios de infecciones de las vías respiratorias.

2.0 OBJETIVO

El procedimiento incluye las actividades para el proceso en el sistema BioFire® de muestras de exudado faríngeo y nasofaríngeo, lavado bronquioalveolar, aspirado traqueal, aspirado nasofaríngeo, lavado nasal y biopsia pulmonar con el panel BioFire RP2.1 para detectar los virus y bacterias siguientes:

1. Adenovirus (Adenovirus).
2. Coronavirus 229E (Coronavirus 229E).
3. Coronavirus HKU1 (Coronavirus HKU1).
4. Coronavirus NL63 (Coronavirus NL63).
5. Coronavirus OC43 (Coronavirus OC43).
6. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2) (SARS-CoV-2).
7. Human Metapneumovirus (Metapneumovirus humano).
8. Human Rhinovirus/Enterovirus (Rinovirus/Enterovirus humano).
9. Influenza A (Influenza A), incluidos los subtipos H1, H3 y H1-2009.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 3 DE: 18

10. Influenza B (Influenza B).
11. Parainfluenza Virus 1 (Virus parainfluenza 1).
12. Parainfluenza Virus 2 (Virus parainfluenza 2).
13. Parainfluenza Virus 3 (Virus parainfluenza 3).
14. Parainfluenza Virus 4 (Virus parainfluenza 4).
15. Respiratory Syncytial Virus (Virus respiratorio sincicial).
16. *Bordetella parapertussis*.
17. *Bordetella pertussis*.
18. *Chlamydia pneumoniae*.
19. *Mycoplasma pneumoniae*.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

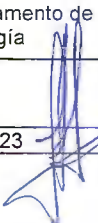
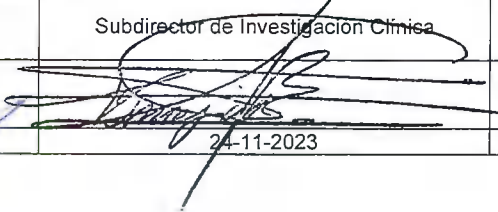
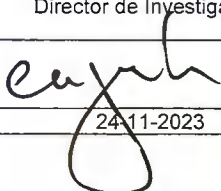
Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.




1. El responsable del área de Biología Molecular debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento. confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de los las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y las Técnicas y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

Panel Biofire RP2.1 que contiene:

1. Cartuchos en envase individual de BioFire RP2.1.
2. Ampollas de Sample Buffer (Amortiguador para muestra) de un solo uso de 1,0 ml.
3. Hydration Injection Vials (Viales de inyección de hidratación) de 1,5 ml precargados de un solo uso (azul).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 4 DE: 18

4. Sample Injection Vials (Viales de inyección de muestra) de un solo uso (rojo).

5. Transfer Pipettes (Pipetas de transferencia) envasadas individualmente.

6. Estación de carga de cartuchos.

Equipo BioFire Torch FilmArray

1. Software del módulo de cartucho BioFire® RP2.1.

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2), Área de Secuenciación y laboratorio sur.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica.
D.O.F. 19-II-2013

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

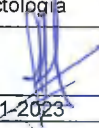
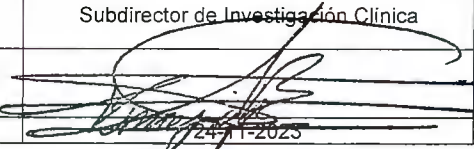
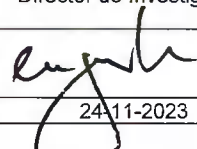
7.1 Muestras Clínicas



Se procesan las muestras clínicas recibidas en el laboratorio de acuerdo al Procedimiento Técnico No. **2 Realizar el transporte y recepción de muestras clínicas para la determinación de Sars-Cov-2** y otros patógenos respiratorios del presente manual.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista realiza las siguientes actividades:

Paso 1: Preparación del cartucho

1. Extraer el cartucho de su envase sellado al vacío rasgando o cortando el envase exterior ranurado y abriendo el recipiente protector.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 5 DE: 18

2. Validar la fecha de caducidad del cartucho.

Nota: No se utilizan cartuchos caducados.

- Deslizar el cartucho en la estación de carga de cartuchos de forma que las etiquetas roja y azul del cartucho estén alineadas con las flechas roja y azul de la estación de carga de cartuchos.
- Colocar un vial de inyección de muestra con tapón de color rojo en el pocillo rojo de estación de carga de cartuchos.
- Colocar un vial de inyección de hidratación con tapón de color azul en el pocillo azul de estación de carga de cartuchos.

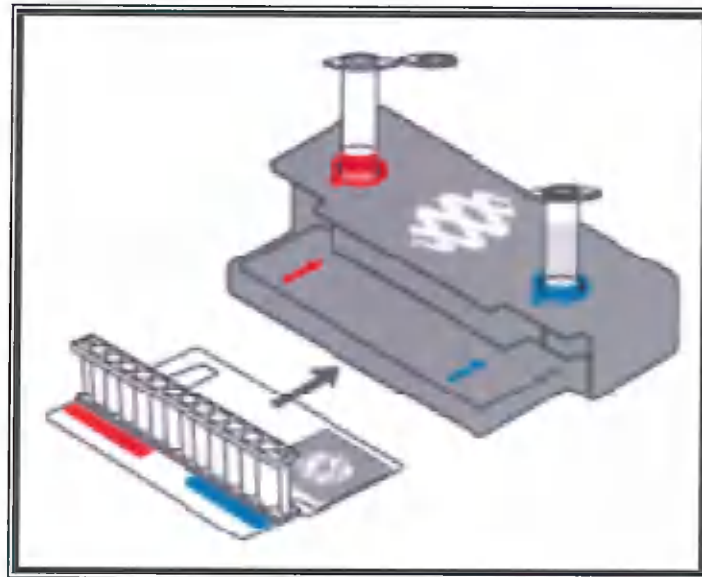
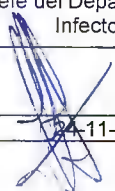
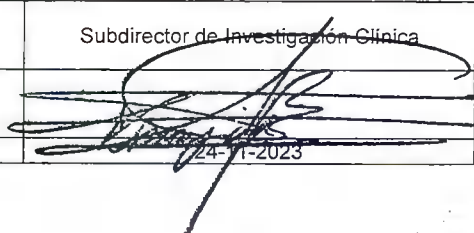
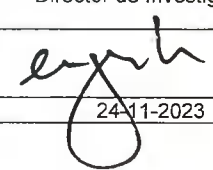




Figura 1: Preparación del cartucho.

Paso 2: Hidratación del cartucho

- Desenroscar el vial de inyección de hidratación del tapón azul.
- Retirar el vial de inyección de hidratación, dejando el tapón de color azul en la estación de carga de cartuchos.
- Introducir la punta de la cánula del vial de inyección de hidratación en el puerto de hidratación del cartucho situado justo debajo de la flecha azul de la estación de carga de cartuchos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 6 DE: 18

4. Presionar hacia abajo enérgicamente con un movimiento firme y rápido para perforar el sello y hasta que escuche un "pop" y sienta una disminución de la resistencia.
5. Esperar a que el volumen de solución de hidratación se introduzca en el cartucho por vacío.
 - Si la solución de hidratación no se extrae automáticamente al cartucho, repetir el paso 2 para comprobar que el sello del puerto de hidratación del cartucho está roto.
 - Si la solución de hidratación sigue sin introducirse en el cartucho, desecha el cartucho, tomar uno nuevo y repetir los pasos a partir del Paso 1: Preparación del cartucho.
6. Comprueba que el cartucho ha quedado hidratado.
 - Bajar la etiqueta del código de barras y comprueba que el fluido ha entrado en los pocillos de reactivo.

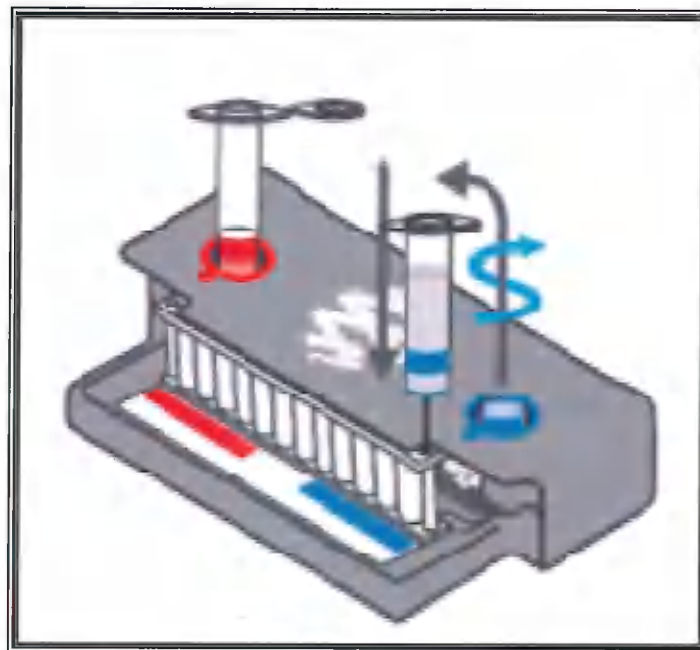
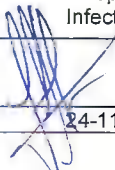

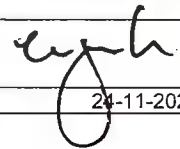




Figura 2: Hidratación del cartucho.

Paso 3: Preparación de la mezcla de muestra

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 7 DE: 18

1. Incorporar el amortiguador para muestra en el vial de inyección de muestra.
 - Sujetar la ampolla del amortiguador para muestra de manera que la punta mire hacia arriba.
 - Ajustar firmemente la pestaña con textura de plástico situada en el lateral de la ampolla hasta que se rompa el precinto.
 - Invertir el frasco sobre el vial de inyección de muestra con tapón de color rojo y dispensa amortiguador para muestra apretando lentamente, pero con fuerza y, a continuación, vuelve a apretar.

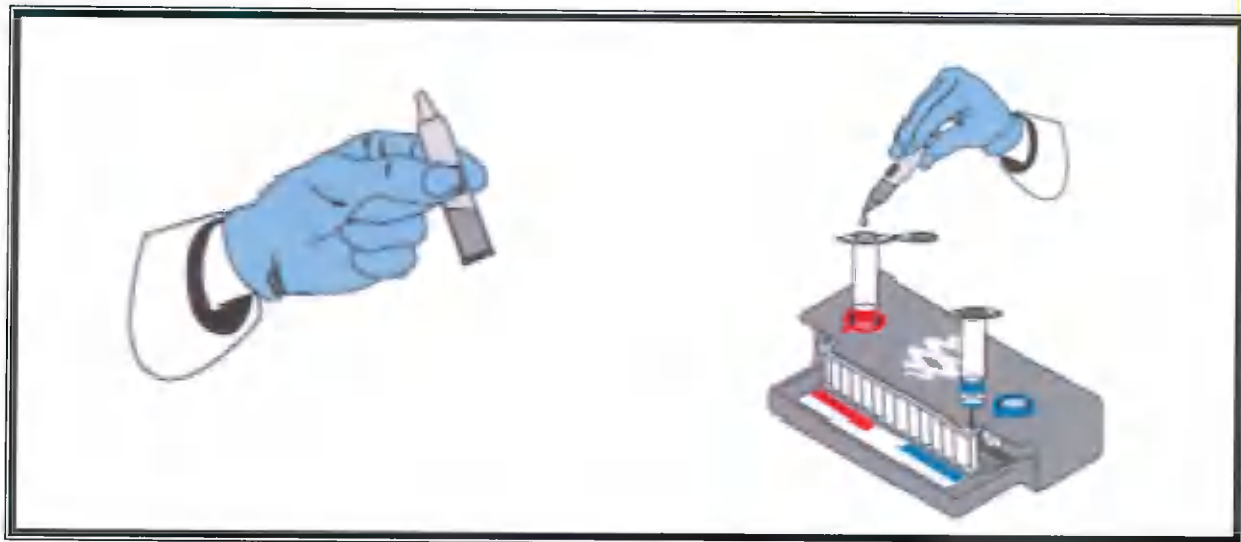

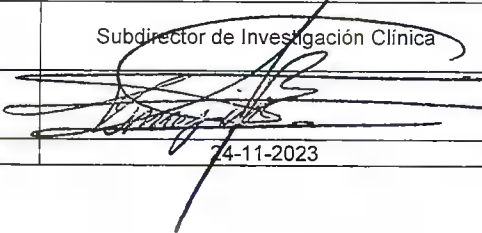
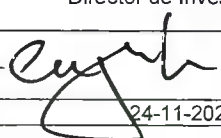




Figura 3: Incorporación del amortiguador

2. Mezclar bien el tubo con la muestra nasofaríngea para descargar la muestra del hisopo en el medio por agitación.
3. Utilizar la pipeta de transferencia proporcionada en el kit, extraer muestra hasta la tercera línea (aproximadamente 0,3 ml).
4. Añadir la muestra al amortiguador para muestra del vial de inyección de muestra.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 8 DE: 18

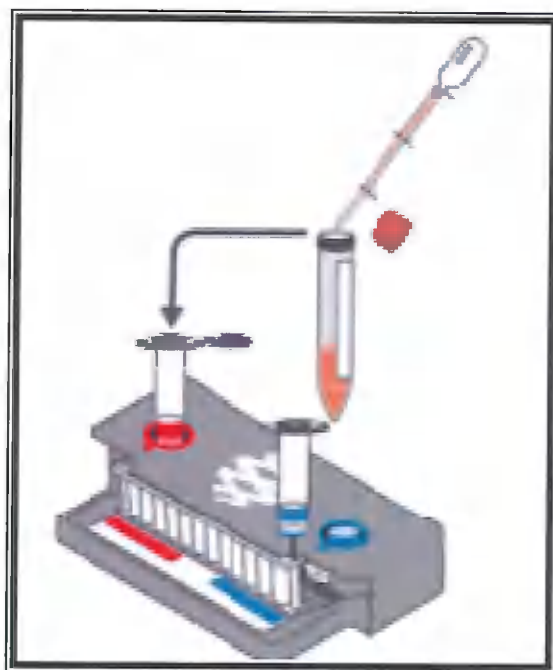


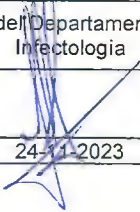
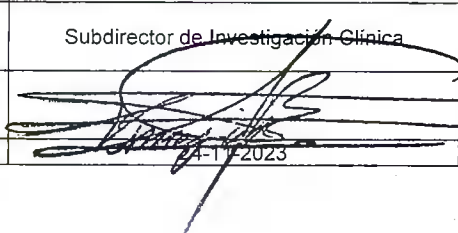
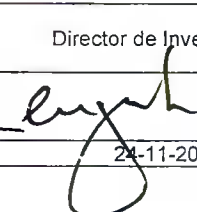
Figura 4: Adición de la muestra.



5. Cerrar bien la tapa del vial de inyección de muestra y desecha la pipeta de transferencia en un recipiente para residuos biopeligrosos.
6. Retirar el vial de inyección de muestra de la estación de carga de cartuchos e invierte suavemente el vial al menos 3 veces para mezclar.
7. Volver a poner el vial de inyección de muestra en el pocillo rojo de la estación de carga de cartuchos

PASO 4: Carga de la mezcla de muestra

1. Girar lentamente para desenroscar el tapón rojo del vial de inyección de muestra y espera 5 segundos con el vial apoyado sobre el tapón.

Nota: Al esperar 5 segundos se reduce el riesgo de goteo y contaminación a causa de la muestra.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 9 DE: 18

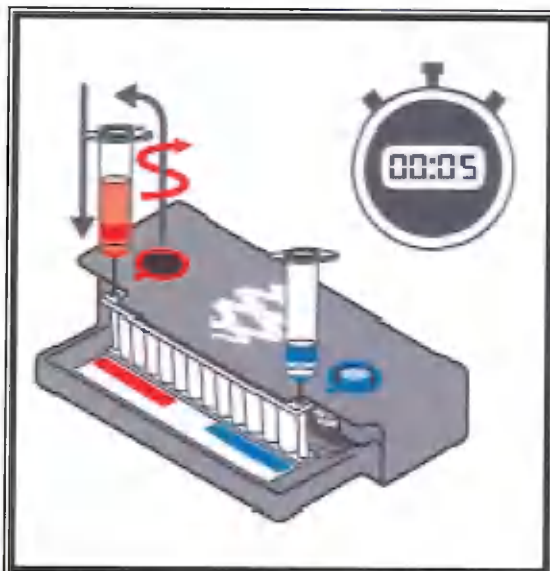
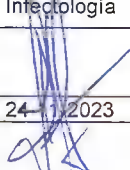
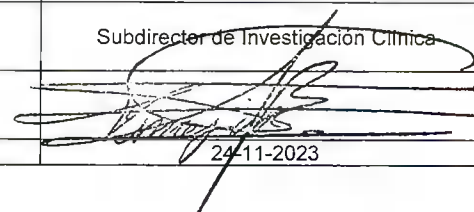
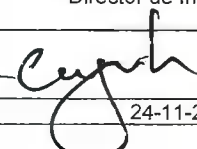




Figura 5: Preparación del vial de inyección de muestra.

2. Levantar el vial de inyección de muestra, dejando el tapón rojo en el pocillo de la estación de carga de cartuchos e introduce la punta de la cánula del vial de inyección de muestra en el puerto de muestra del cartucho situado directamente debajo de la flecha roja de la estación de carga de cartuchos.
3. Presionar hacia abajo enérgicamente con un movimiento firme y rápido para perforar el sello (se escuchará un “pop”) y que la muestra se introduzca en el cartucho por vacío.
4. Comprobar que la muestra se ha cargado.
 - Deslizar hacia abajo la etiqueta con el código de barras para verificar si el líquido ha entrado en el pocillo de reactivos situado junto al puerto de carga de la muestra.
 - Si el cartucho no puede extraer la muestra del vial de inyección de muestra, el cartucho deberá desecharse. Tomar un cartucho nuevo y repite los pasos a partir del Paso 1: Preparación del cartucho.
5. Desechar el vial de inyección de muestra y el vial de inyección de hidratación en un recipiente para objetos punzantes con riesgo biológico.
6. Registrar el número de registro de laboratorio (ID) de la muestra en la zona prevista para ello en la etiqueta del cartucho y extraer el cartucho de la estación de carga de cartuchos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 10 DE: 18

Paso 5: Análisis del cartucho

El programa BioFire® FilmArray Torch incluye instrucciones paso a paso en pantalla para guiar a la Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista a la hora de realizar una prueba:

1. Asegurar que el sistema esté encendido.
2. Seleccionar un módulo disponible en la pantalla táctil.

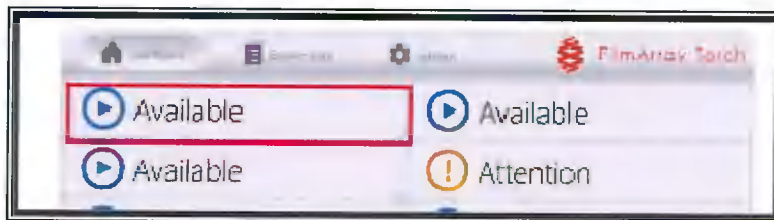
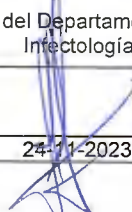
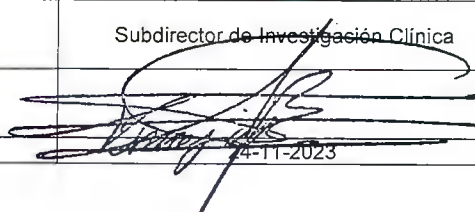
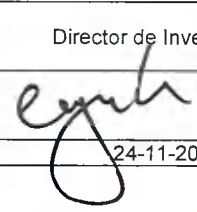




Figura 6: Selección del módulo.

3. Los datos de identificación del cartucho número de lote y número de serie tipo de cartucho protocolo se introducen automáticamente al escanear el código de barras. También se pueden introducir manualmente en los campos correspondientes a partir de la información proporcionada en la etiqueta del cartucho.
4. Introducir el ID de la muestra. Se puede introducir manualmente, o bien escanearse mediante el lector de código de barras si se utiliza un ID de la muestra con código de barras.
5. Introducir el cartucho en el módulo disponible.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 11 DE: 18

– Se asegura de que la etiqueta del accesorio del cartucho quede plana sobre la parte superior del cartucho, no doblada. Al insertar el cartucho, el módulo lo introducirá dentro de la cámara.



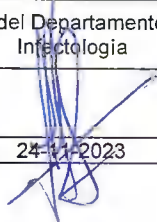
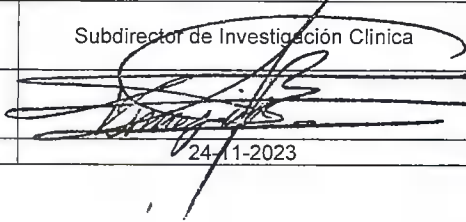
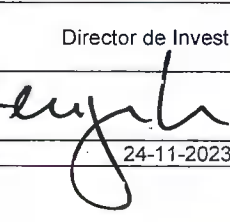
Figura 7: Introducción del cartucho en el módulo.



6. Si es necesario, seleccionar o confirmar el protocolo para su tipo de muestra en la lista desplegable protocolo. BioFire RP2.1 tiene un único protocolo disponible en la lista desplegable.

7. Introducir el nombre de usuario, contraseña, a continuación, seleccionar Next (Siguiente).

Nota: El color de letra del nombre de usuario y la contraseña es rojo hasta que el nombre de usuario sea reconocido por el software.

8. Revisar la información de la prueba introducida en la pantalla. Si es correcta, seleccionar Start Run (Iniciar análisis).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 12 DE: 18

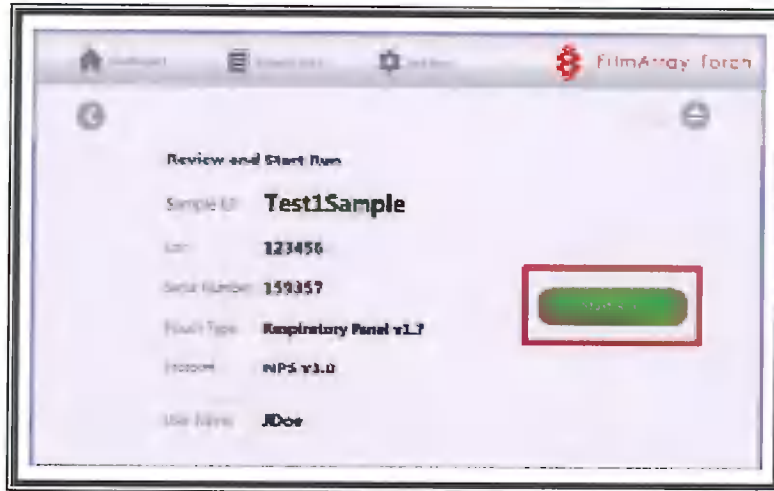


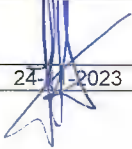
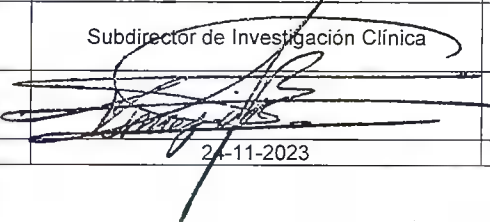
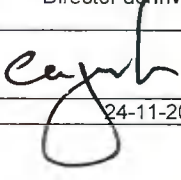
Figura 8: Información de la prueba



Tras iniciar la prueba, la pantalla muestra una lista de los pasos que el módulo está llevando a cabo y el número de minutos que faltan para finalizar la prueba.

Nota: El ruido del equipo homogeneizador de esferas se percibe como un ruido agudo durante el primer minuto de funcionamiento.



Figura 9: Prueba en curso.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 13 DE: 18

9. Al final del análisis, retira el cartucho parcialmente expulsado, e inmediatamente lo desecha en un recipiente para residuos biopeligrosos.
10. El archivo del análisis se guarda automáticamente en la base de datos del programa BioFire y el informe de la prueba se puede ver, imprimir o guardar como archivo PDF.

Cuando termina una prueba, se puede ver el informe en:

- a. La pantalla Run In Progress (prueba en curso): el informe de la prueba aparece una vez que ha finalizado la prueba.
- b. La pantalla de la Dashboard: aparece un icono de informe y el estado cambia a Finished. Al seleccionar la casilla del módulo se muestra el informe de la prueba. Una vez que se retira el cartucho del BioFire Torch Module, el estado cambia a Available.
- c. La Pantalla Browse Runs: se puede acceder a los informes de las pruebas desde la tabla.

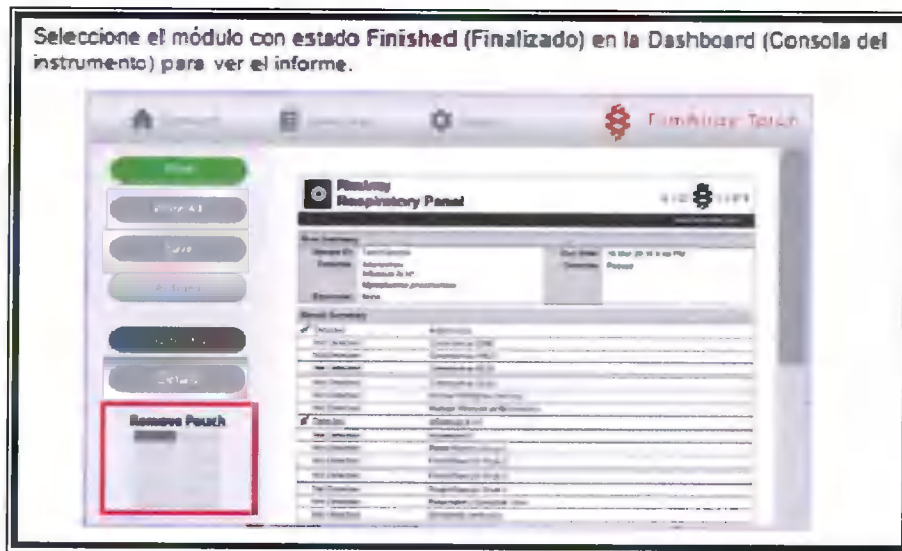
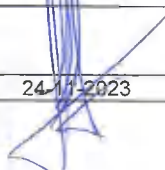
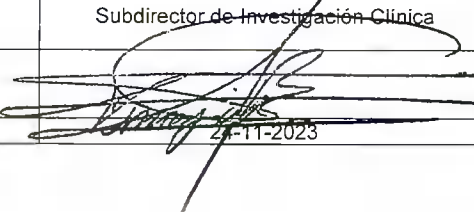
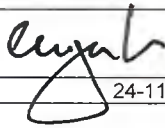




Figura 10: Informe de resultados.

Informe de la prueba de BioFire RP2.1

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 14 DE: 18

Para imprimir un informe de una prueba anterior de un cartucho BioFire®:

1. Seleccionar Browse Runs (Explorar pruebas) en el menú superior de la pantalla táctil.
2. Seleccionar solo la prueba que desee de la tabla.
3. Seleccionar View report (Visualización del informe) para abrir la página del informe.

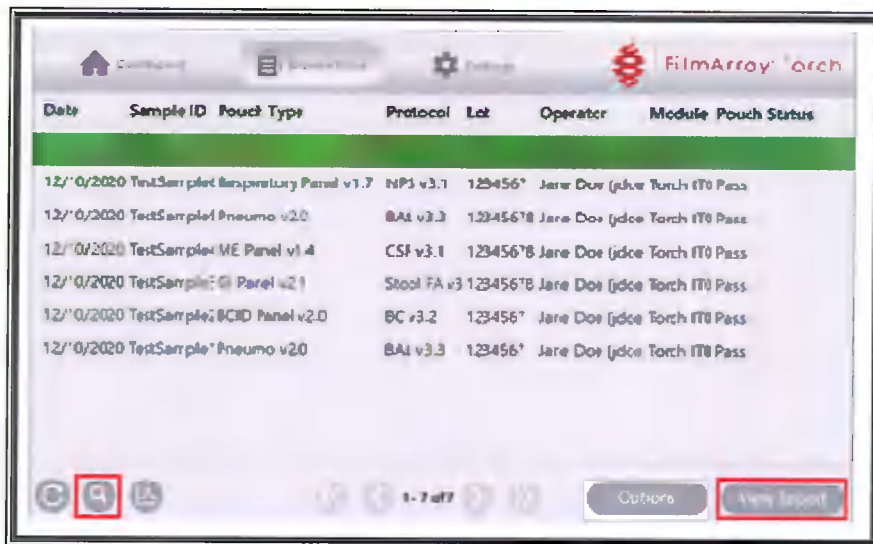
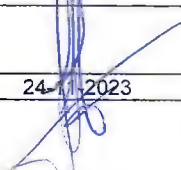
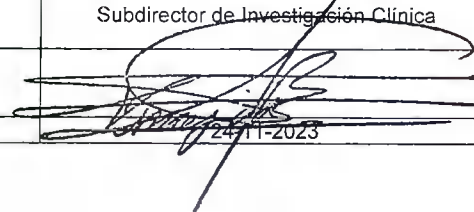
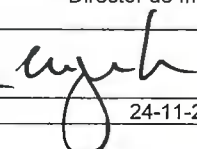




Figura 11: Selección de prueba para impresión.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 15 DE: 18

4. Seleccionar Print.

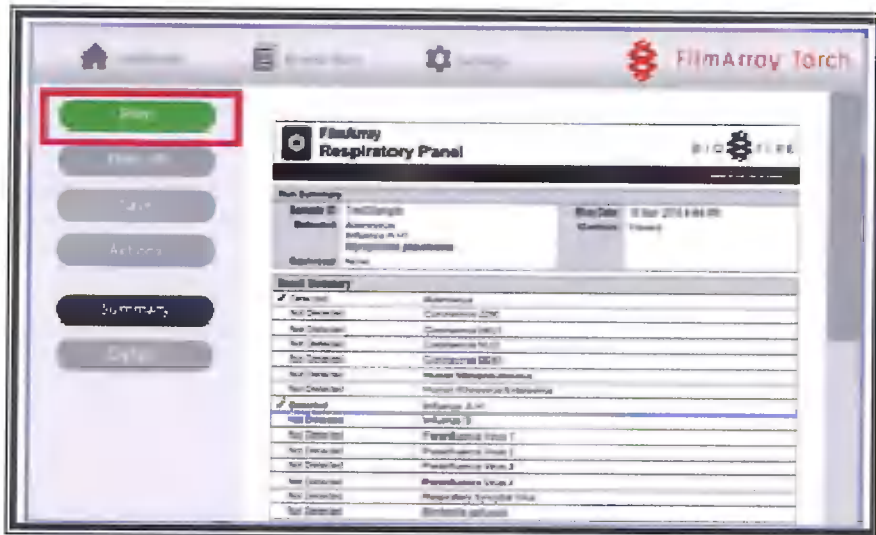
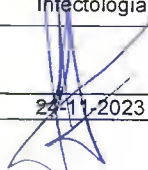
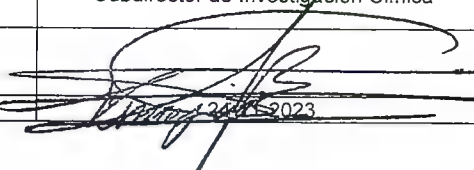
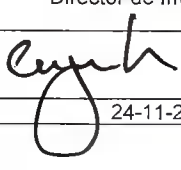




Figura 12: Pantalla de impresión.

5. Informe impreso

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 16 DE: 18

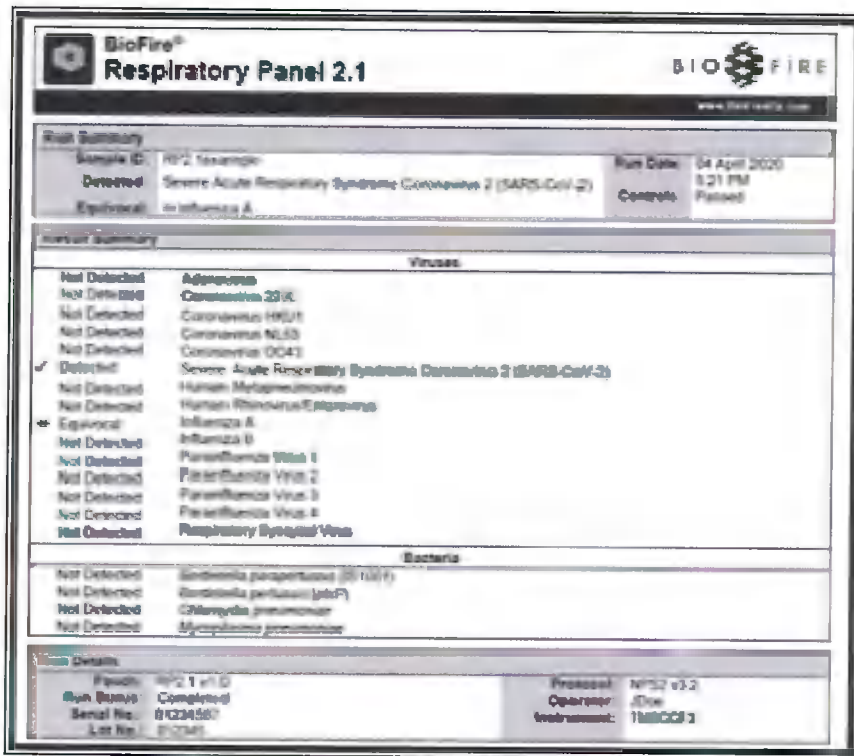



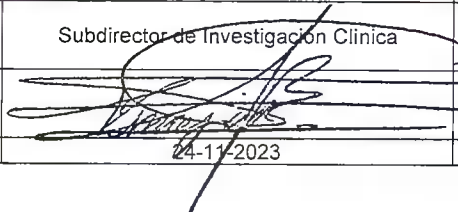
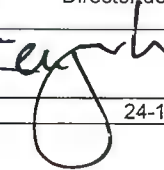
Figura 13: Reporte de resultados.



8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

Cada vez que se realiza la prueba también se procesan controles positivos y negativos para validar la viabilidad y reproducibilidad de los reactivos que se utilizan. Los controles positivos pueden ser preparados en el laboratorio con RNA de muestras conocidas positivas, por la Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista responsable.

Mantener los reactivos en las condiciones y temperatura adecuadas asegura resultados reproducibles.

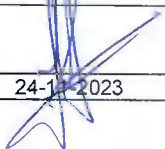
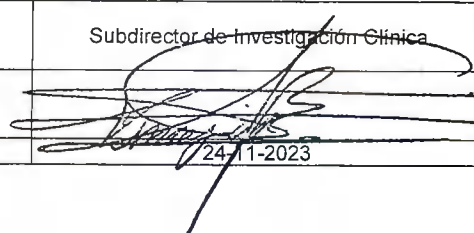
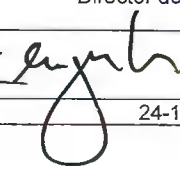
Usar el equipo de seguridad adecuado para evitar contaminación de los reactivos.




CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 17 DE: 18

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Amortiguador:** Solución reguladora del equilibrio ácido/base, tiene la capacidad de mantener estable el pH en una disolución.
- 9.2 Aspirado nasofaríngeo:** Secreciones nasofaríngeas obtenidas por aspiración con un catéter introducido en la fosa nasal y conectado a una trampa de esputo/moco con una bomba de vacío.
- 9.3 Aspirado traqueal:** Secreciones respiratorias obtenidas por succión con una sonda de aspiración introducida a través del tubo endotraqueal.
- 9.4 Biopsia pulmonar:** Muestra del tejido del pulmón extraída por punción con una aguja especial para biopsia.
- 9.5 Dianas de ácidos nucleicos:** Secuencias específicas del genoma de los microorganismos que permiten su detección e identificación en una muestra biológica.
- 9.6 ID:** Número de registro de laboratorio.
- 9.7 Exudado faríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando con firmeza la pared posterior de la garganta con un hisopo con punta de nylon insertado a través de la boca, abatiendo la lengua con un abatelenguas.
- 9.8 Exudado nasofaríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando con firmeza la pared posterior de la garganta con un hisopo con punta de nylon insertado a través de la boca, abatiendo la lengua con un abatelenguas.
- 9.9 Lavado bronquioalveolar:** Muestra biológica obtenida por fibronoscopio enclavado en árbol bronquial, instilando 120 mililitros de solución salina fisiológica y aspirándola después.
- 9.10 Lavado nasal:** Muestra biológica obtenida por aspiración de la fosa nasal instilando solución salina.
- 9.11 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerriil	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	6. Procedimiento Técnico para realizar Panel de Bacterias y Virus Respiratorios por el KIT FILM ARRAY (Respiratory Panel 2.1) en el Equipo Biofire		HOJA: 18 DE: 18

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

BioFire Respiratory Panel 2.1 (RP2.1):

- Instrucciones de uso: [https://www.biofire.com/e-labeling/ITI0105 Rx Only](https://www.biofire.com/e-labeling/ITI0105-Rx-Only).
- Guía rápida: <https://www.biofire.com/e-labeling/ITI0111>.
- Software del módulo de cartucho <https://www.biofire.com/e-labeling/ITIFA20RP2110>.

Manual de usuario BFR0000-9160-01a Marzo de 2021.

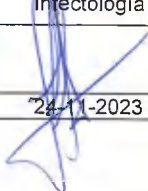
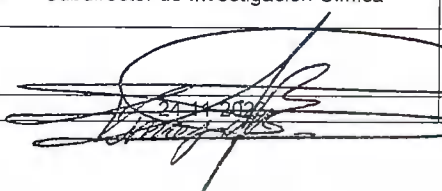
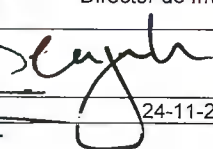
Manual del operador del BioFire® FilmArray® Torch CE IVD. HTFA-PRT-0012-06 marzo de 2021.

11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

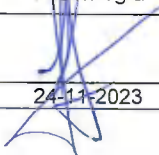
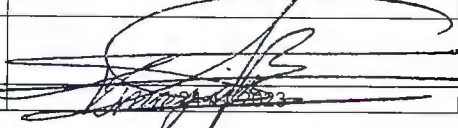
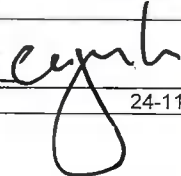
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN

Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 1 DE: 19

7. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR PANEL DE VIRUS, BACTERIAS Y PARÁSITOS GASTROINTESTINALES POR EL KIT FilmArray (FILM ARRAY GASTROINTESTINAL (GI)) EN EL EQUIPO BIOFIRE

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 2 DE: 19

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

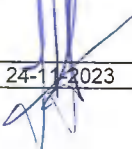
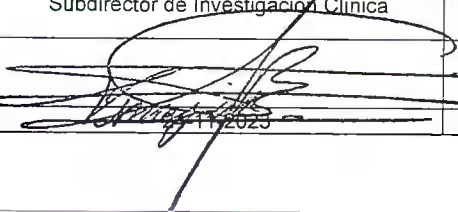
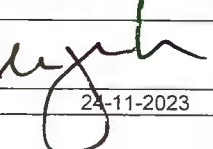
El sistema BioFire® es un sistema automatizado de diagnóstico in vitro que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis de las curvas de disociación de alta resolución para detectar e identificar diversas dianas de ácidos nucleicos presentes en las muestras clínicas. La operadora y/o el operador del BioFire Torch introduce la muestra en el cartucho de reactivos, coloca el cartucho en el BioFire Torch Module e inicia la prueba. El BioFire Torch Module interactúa con el cartucho de reactivos para extraer ácidos nucleicos de la muestra y para amplificar secuencias de ADN específicas de patógenos a las que van dirigidos los ensayos. Los productos que se obtienen de la PCR se evalúan mediante análisis de curvas melting del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el software de BioFire® FilmArray® presenta y determina automáticamente los resultados en un informe de la prueba.

BioFire Film Array Gastrointestinal (GI) Panel es una prueba multiplex de ácidos nucleicos basada en PCR diseñada para usarse con los sistemas BioFire® FilmArray® 2.0 o BioFire® FilmArray® Torch para la detección e identificación cualitativa simultánea de ácidos nucleicos de virus, bacterias y parásitos en personas beneficiarias con indicios de infecciones del tracto gastrointestinal.

2.0 OBJETIVO

El procedimiento incluye las actividades para el proceso en el sistema BioFire® de muestras de heces con el panel BioFire Film Array Gastrointestinal (GI) para detectar los virus, bacterias y parásitos siguientes:

1. *Campylobacter (C. jejuni/C. coli/C. upsaliensis)*
2. *Clostridium difficile (C. difficile) toxina A/B*
3. *Plesiomonas shigelloides*
4. *Salmonella*
5. *Vibrio (V. parahaemolyticus/V. vulnificus/V. cholerae)*, incluida la identificación específica de *Vibrio cholerae*
6. *Yersinia enterocolitica*
7. *Escherichia coli enteroagregativa (EAEC)*
8. *Escherichia coli enteropatógena (EPEC)*
9. *Escherichia coli enterotoxigénica LT/ST*

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

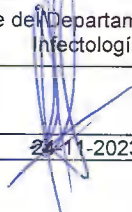
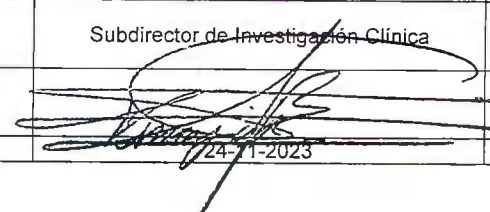
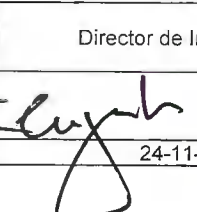
 SALUD SECRETARÍA DE SALUD 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 3 DE: 19

10. *Escherichia coli* productora de toxina tipo Shiga (STEC) stx1/stx2 (incluida la identificación específica del serogrupo O157 de *E. coli* dentro de STEC)
11. *Shigella/Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)
12. *Cryptosporidium*
13. *Cyclospora cayetanensis*
14. *Entamoeba histolytica*
15. *Giardia lamblia* (también conocida como *G. intestinalis* y *G. duodenalis*)
16. Adenovirus F 40/41
17. Astrovirus
18. Norovirus GI/GII
19. Rotavirus A
20. Sapovirus (Genogrupos I, II, IV, y V)

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.

1. El responsable del área de Bacteriología debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de los las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y las y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 4 DE: 19

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

BioFire Film Array Gastrointestinal (GI) que contiene:

1. Cartuchos en envase individual de BioFire (GI)Panel.
2. Ampollas de Sample Buffer (Amortiguador para muestra) de un solo uso de 1,0 ml.
3. Hydration Injection Vials (Viales de inyección de hidratación) de 1,5 ml precargados de un solo uso (azul).
4. Sample Injection Vials (Viales de inyección de muestra) de un solo uso (rojo).
5. Transfer Pipettes (Pipetas de transferencia) envasadas individualmente.
6. Software del módulo de cartucho BioFire® RP2.1.
7. Estación de carga de cartuchos.

Equipo BioFire Torch FilmArray

1. Software del módulo de cartucho BioFire® (GI) Panel.

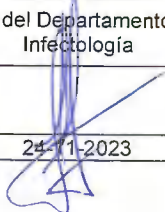
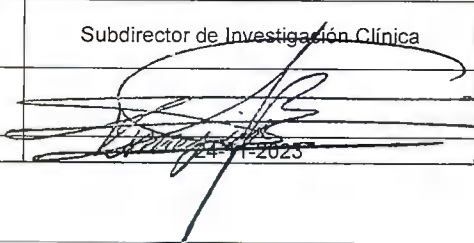
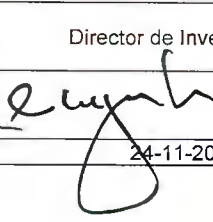
5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2), Área de Secuenciación y Bacteriología.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica.
D.O.F. 19-II-2013

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 5 DE: 19

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.1 Muestras Clínicas

Se procesan las muestras de heces recibidas en el laboratorio de acuerdo a la Instrucción Operativa Clave IO-BAC-01 del área de Bacteriología I.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista realiza las siguientes actividades:

Paso 1: Preparación del cartucho

1. Extraer el cartucho de su envase sellado al vacío rasgando o cortando el envase exterior ranurado y abriendo el recipiente protector.
2. Validar la fecha de caducidad del cartucho.

Nota: No se utilizan cartuchos caducados.

3. Deslizar el cartucho en la estación de carga de cartuchos de forma que las etiquetas roja y azul del cartucho estén alineadas con las flechas roja y azul de la estación de carga de cartuchos.
4. Colocar un vial de inyección de muestra con tapón de color rojo en el pocillo rojo de estación de carga de cartuchos.
5. Colocar un vial de inyección de hidratación con tapón de color azul en el pocillo azul de estación de carga de cartuchos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 6 DE: 19

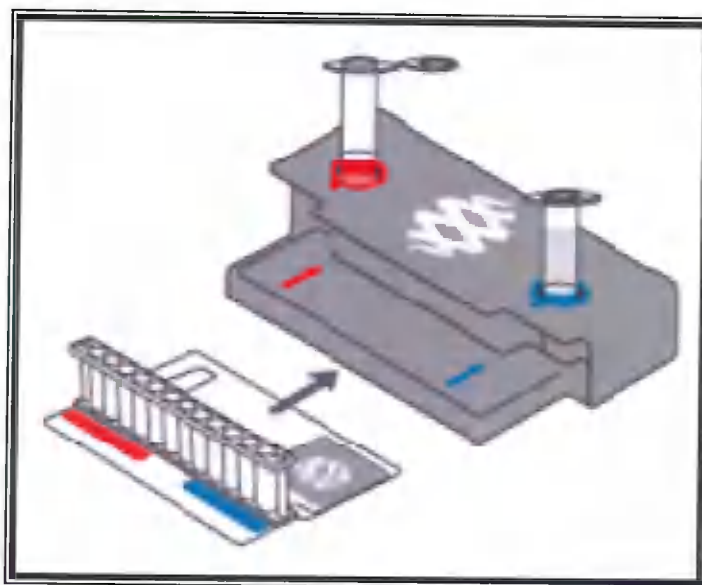
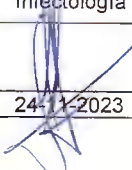
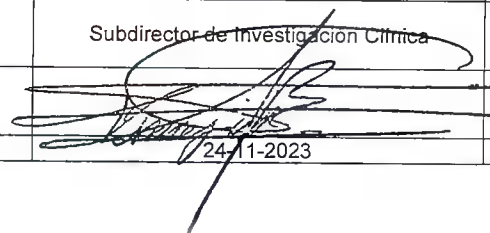
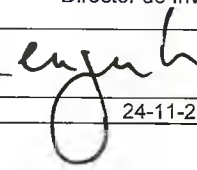


Figura 1: Preparación del cartucho

Paso 2: Hidratación del cartucho

1. Desenroscar el vial de inyección de hidratación del tapón azul.
2. Retirar el vial de inyección de hidratación, dejando el tapón de color azul en la estación de carga de cartuchos.
3. Introduce la punta de la cánula del vial de inyección de hidratación en el puerto de hidratación del cartucho situado justo debajo de la flecha azul de la estación de carga de cartuchos.
4. Presionar hacia abajo enérgicamente con un movimiento firme y rápido para perforar el sello y hasta que escuche un "pop" y sienta una disminución de la resistencia. Esperar a que el volumen de solución de hidratación se introduzca en el cartucho por vacío.
 - Si la solución de hidratación no se extrae automáticamente al cartucho, repite el paso 2 para comprobar que el sello del puerto de hidratación del cartucho está roto. Si la solución de hidratación sigue sin introducirse en el cartucho, desecha el cartucho, coge uno nuevo y repite los pasos a partir del Paso 1: Preparación del cartucho.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 7 DE: 19

5. Verificar que el cartucho ha quedado hidratado.

- Baja la etiqueta del código de barras y comprueba que el fluido ha entrado en los pocillos de reactivo.

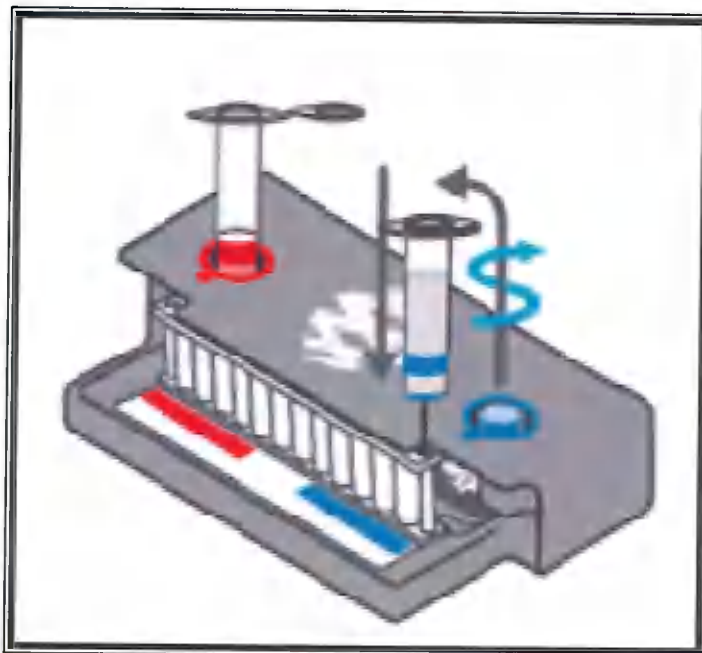
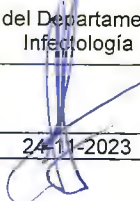
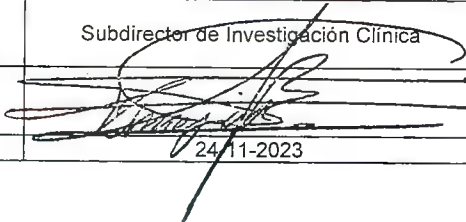
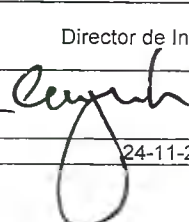


Figura 2: Hidratación del cartucho.

Paso 3: Preparación de la mezcla de muestra

1. Incorporar el amortiguador para muestra en el vial de inyección de muestra.
 - Sujetar la ampolla del amortiguador para muestra de manera que la punta mire hacia arriba.
 - Ajustar firmemente la pestaña con textura de plástico situada en el lateral de la ampolla hasta que se rompa el precinto.
 - Invertir el frasco sobre el vial de inyección de muestra con tapón de color rojo y dispensa amortiguador para muestra apretando lentamente, pero con fuerza y, a continuación, volver a apretar.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 8 DE: 19

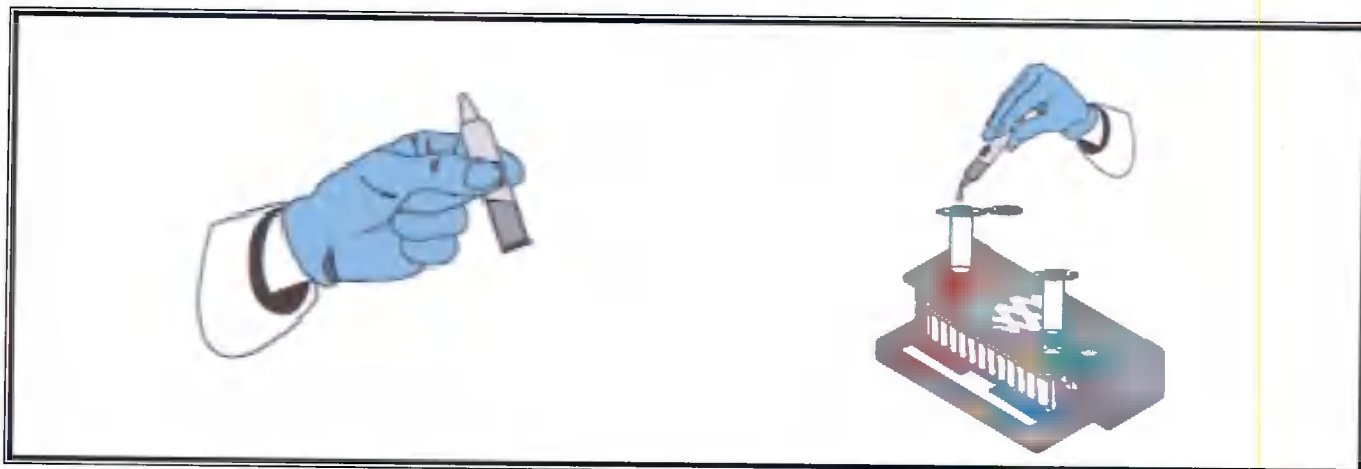
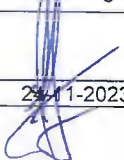
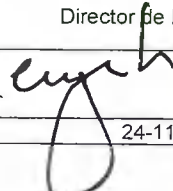


Figura 3: Incorporación del amortiguador.

2. Mezclar bien la muestra de heces por agitación.
3. Utilizar la pipeta de transferencia proporcionada en el kit, extraer muestra hasta la segunda línea (aproximadamente 0,2 ml).
4. Añadir a la muestra al amortiguador para muestra del vial de inyección de muestra.

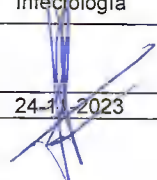
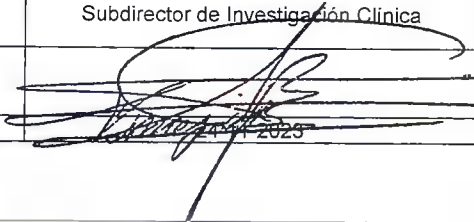
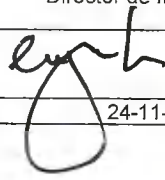
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 9 DE: 19



Figura 4: Adición de la muestra

5. Cerrar bien la tapa del vial de inyección de muestra y desechar la pipeta de transferencia en un recipiente para residuos biopeligrosos.
6. Retirar el vial de inyección de muestra de la estación de carga de cartuchos e invertir suavemente el vial al menos 3 veces para mezclar.
7. Volver a poner el vial de inyección de muestra en el pocillo rojo de la estación de carga de cartuchos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 10 DE: 19

Paso 4: Carga de la mezcla de muestra

1. Girar lentamente para desenroscar el tapón rojo del vial de inyección de muestra y esperar cinco segundos con el vial apoyado sobre el tapón.

Nota: Al esperar cinco segundos se reduce el riesgo de goteo y contaminación a causa de la muestra.

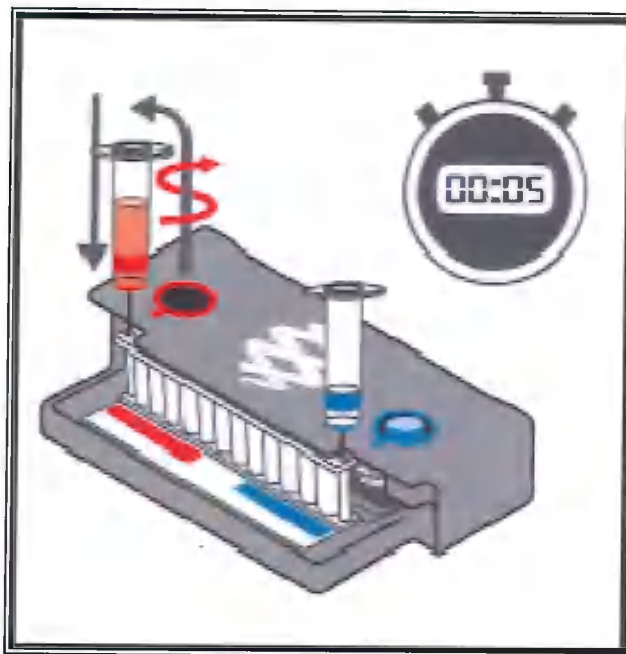
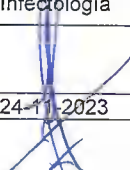
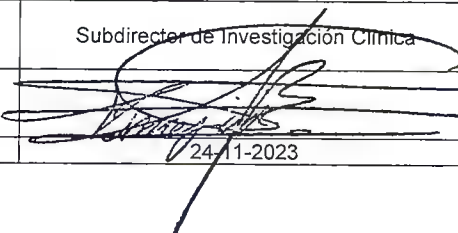
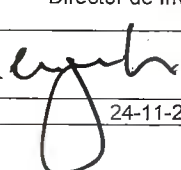


Figura 5: Preparación del vial de inyección de muestra

2. Levantar el vial de inyección de muestra, dejando el tapón rojo en el pocillo de la estación de carga de cartuchos e introduce la punta de la cánula del vial de inyección de muestra en el puerto de muestra del cartucho situado directamente debajo de la flecha roja de la estación de carga de cartuchos.
3. Presionar hacia abajo enérgicamente con un movimiento firme y rápido para perforar el sello (se escuchará un “pop”) y que la muestra se introduzca en el cartucho por vacío.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 11 DE: 19

4. Comprobar que la muestra se ha cargado.

- Deslizar hacia abajo la etiqueta con el código de barras para verificar si el líquido ha entrado en el pocillo de reactivos situado junto al puerto de carga de la muestra.
- Si el cartucho no puede extraer la muestra del vial de inyección de muestra, el cartucho se desecha. Tomar un cartucho nuevo y repite los pasos a partir del Paso 1: Preparación del cartucho.

5. Desechar el vial de inyección de muestra y el vial de inyección de hidratación en un recolector de punzocortantes RPBI.

6. Registrar el número de registro de laboratorio (ID) de la muestra en la zona prevista para ello en la etiqueta del cartucho y extraer el cartucho de la estación de carga de cartuchos

Paso 5: Análisis del cartucho

El programa BioFire® FilmArray Torch incluye instrucciones paso a paso en pantalla para guiar a la Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista a la hora de realizar una prueba:

1. Verificar que el sistema esté encendido.
2. Seleccionar un módulo disponible en la pantalla táctil.

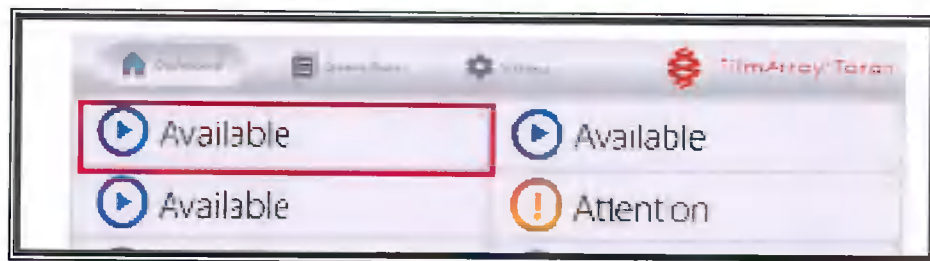
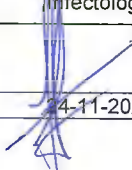
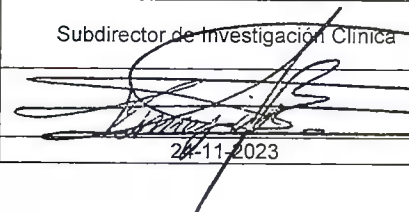
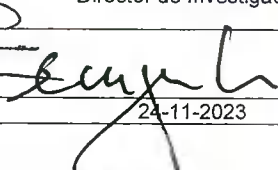


Figura 6: Selección del módulo

3. Los datos de identificación del cartucho número de lote y número de serie tipo de cartucho protocolo se introducen automáticamente al escanear el código de barras. También se pueden introducir manualmente en los campos correspondientes a partir de la información proporcionada en la etiqueta del cartucho.

4. Introducir el ID de la muestra. Se puede introducir manualmente, o bien escanearse mediante el lector de código de barras si se utiliza un ID de la muestra con código de barras.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 12 DE: 19

5. Introducir el cartucho en el módulo disponible.

- Asegurarse que la etiqueta del accesorio del cartucho quede plana sobre la parte superior del cartucho, no doblada. Al insertar el cartucho, el módulo lo introduce dentro de la cámara.

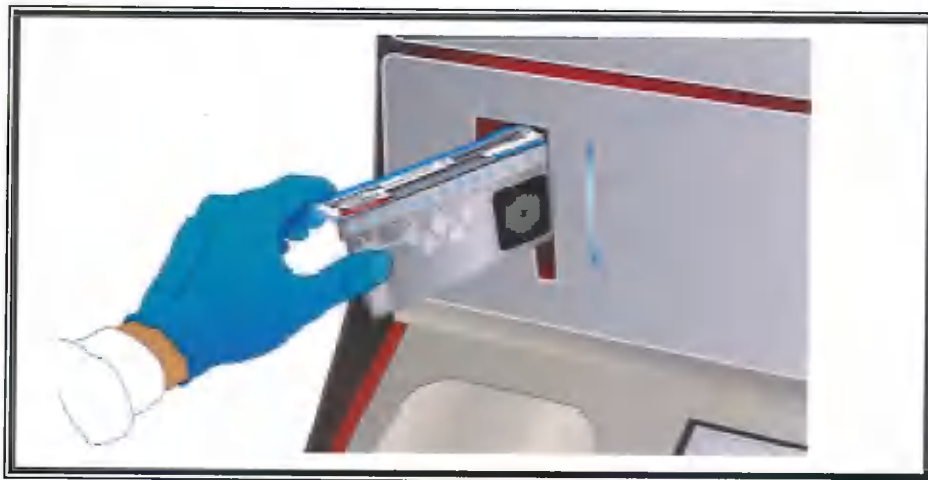
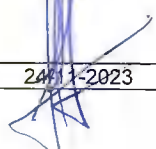
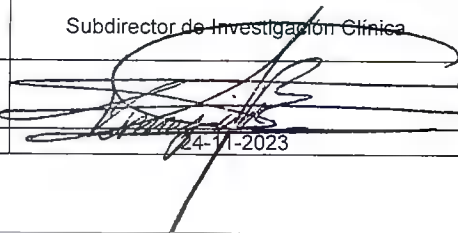
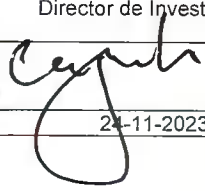


Figura 7: Introducción del cartucho en el módulo

6. Si es necesario, seleccionar o confirmar el protocolo para su tipo de muestra en la lista desplegable protocolo.

7. Introducir el nombre de usuario y contraseña, a continuación, seleccionar Next (Siguiete).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 13 DE: 19

Nota: El color de letra del nombre de usuario y la contraseña es rojo hasta que el nombre de usuario sea reconocido por el software.

- Revisar la información de la prueba introducida en la pantalla. Si es correcta, seleccionar Start Run (Iniciar análisis).

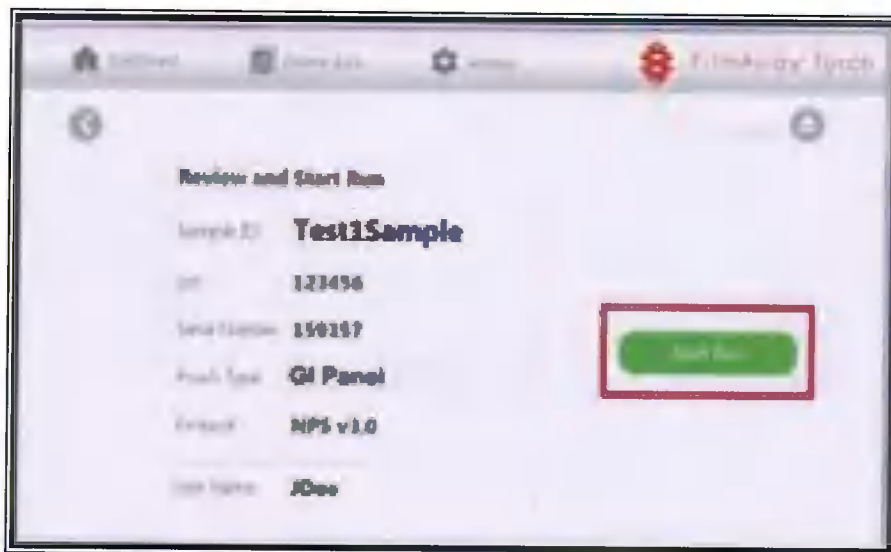
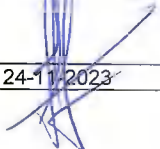
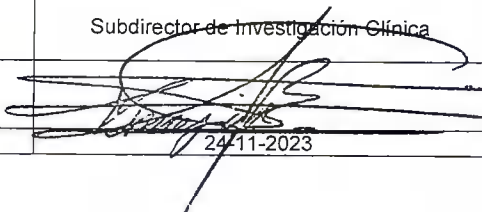
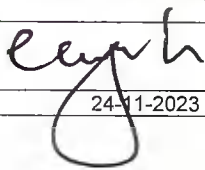


Figura 8: Información de la prueba

Tras iniciar la prueba, la pantalla muestra una lista de los pasos que el módulo está llevando a cabo y el número de minutos que faltan para finalizar la prueba.

Nota: El ruido del equipo homogeneizador de esferas se percibe como un ruido agudo durante el primer minuto de funcionamiento.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 14 DE: 19

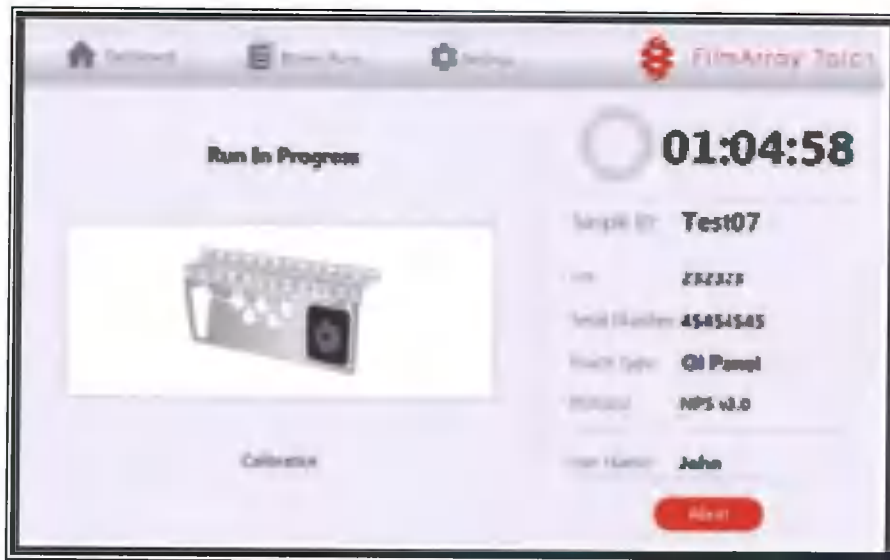
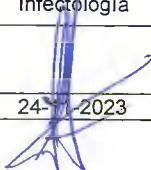
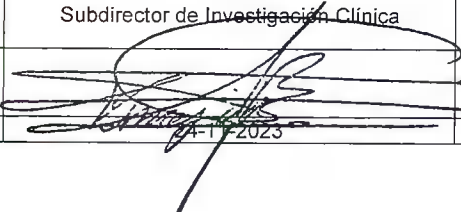
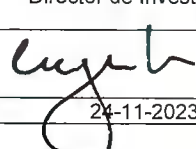


Figura 9: Prueba en curso.

9. Al final del análisis, retirar el cartucho parcialmente expulsado, e inmediatamente lo desecha en un recipiente para residuos biopeligrosos.
10. El archivo del análisis se guarda automáticamente en la base de datos del programa BioFire y el informe de la prueba se puede ver, imprimir o guardar como archivo PDF.

Cuando termina una prueba, se puede ver el informe en:

- a. La pantalla Run In Progress (Prueba en curso): el informe de la prueba aparece una vez que ha finalizado la prueba.
- b. La pantalla de la Dashboard: aparece un icono de informe y el estado cambia a Finished. Al seleccionar la casilla del módulo se muestra el informe de la prueba. Una vez que se retira el cartucho del BioFire Torch Module, el estado cambia a Available.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerri	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 15 DE: 19

c. La Pantalla Browse Runs: se puede acceder a los informes de las pruebas desde la tabla.

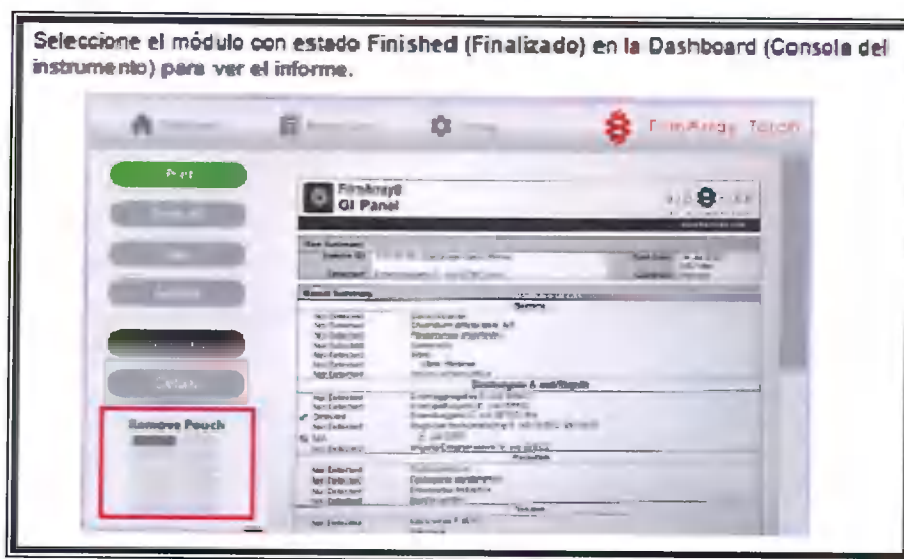


Figura 10: Informe de resultados.

Informe de la prueba de BioFire Film Array Gastrointestinal (GI)

Para imprimir un informe de una prueba anterior de un cartucho BioFire®:

1. Seleccionar Browse Runs (Explorar pruebas) en el menú superior de la pantalla táctil.
2. Seleccionar solo la prueba que desee de la tabla.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 16 DE: 19

3. Seleccionar View report (Visualización del informe) para abrir la página del informe.

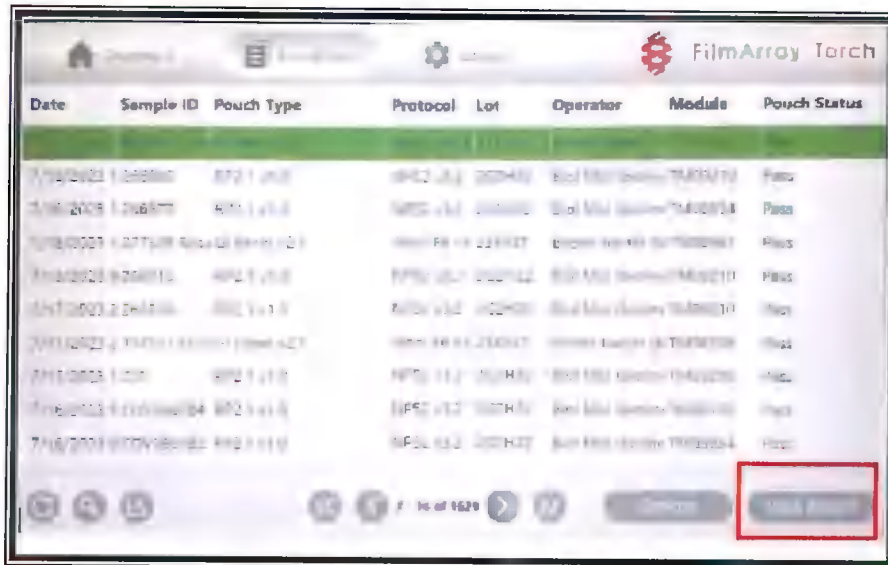
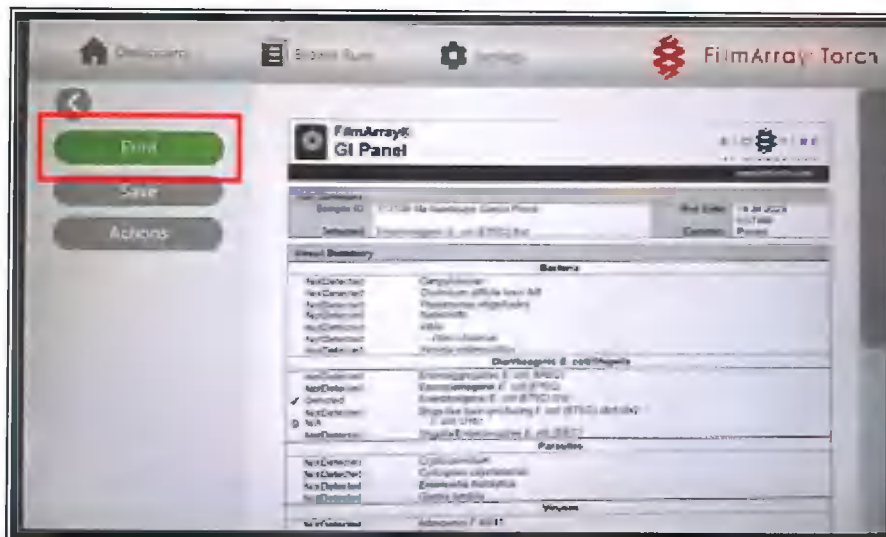
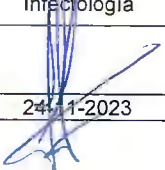
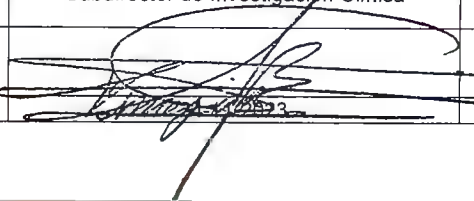
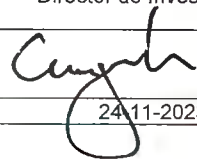



Figura 11: Selección de prueba para impresión.

4. Seleccionar Print.

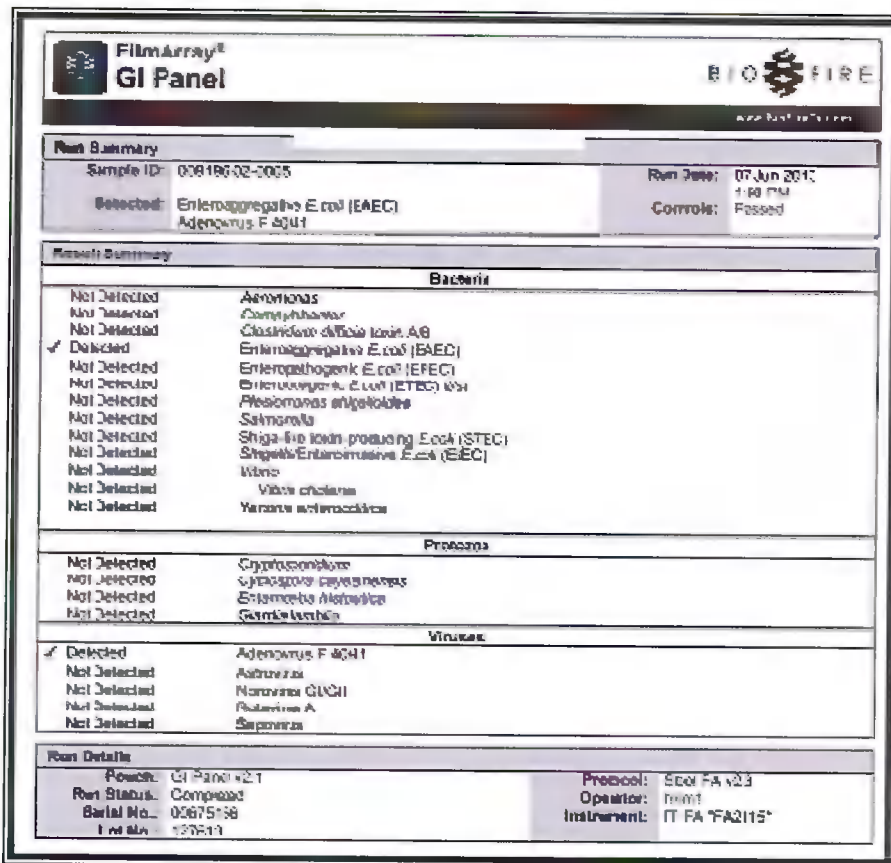


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24/11/2023		24/11/2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 17 DE: 19

5. Informe impreso

Figura 12: Pantalla de impresión



FilmArray[®] GI Panel BIO FIRE

Run Summary

Sample ID: 008186-02-0005 Run Date: 07 Jun 2013 1:48 PM
 Detected: Enteraggregative E.coli (EAEC) Controls: Passed
 Adenovirus F 40/11

Results Summary

Bacteria	
Not Detected	Aeromonas
Not Detected	Compylobacter
Not Detected	Clostridium difficile toxin A/B
✓ Detected	Enteraggregative E.coli (EAEC)
Not Detected	Enteropathogenic E.coli (EPEC)
Not Detected	Enterotoxigenic E.coli (ETEC) 10/4
Not Detected	Plesiomonas shigelloides
Not Detected	Salmonella
Not Detected	Shiga-like toxin producing E.coli (STEC)
Not Detected	Shigella/Enteroinvasive E.coli (EIEC)
Not Detected	Yersinia
Not Detected	Yersinia enterocolitica

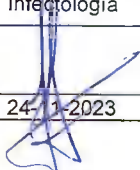
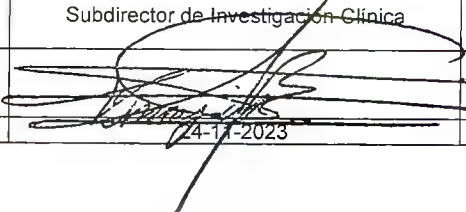
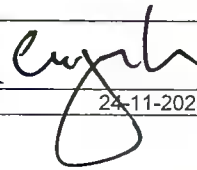
Parasites	
Not Detected	Cryptosporidium
Not Detected	Isospora parviformis
Not Detected	Entamoeba histolytica
Not Detected	Giardia lamblia

Viruses	
✓ Detected	Adenovirus F 40/11
Not Detected	Rotavirus
Not Detected	Norovirus GI/GII
Not Detected	Poliovirus A
Not Detected	Sarbecovirus

Run Details

Pouch: GI Panel v2.1 Protocol: SE01 FA v2.3
 Run Status: Completed Operator: TMMT
 Barial No.: 00675138 Instrument: IT FA "FA2115"
 Lot No.: 137813

Figura 13: Reporte de resultados.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 18 DE: 19

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

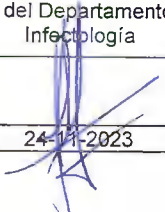
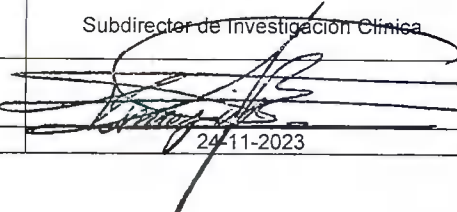
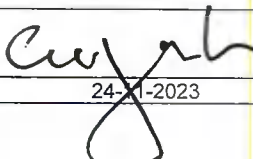
Cada vez que se realiza la prueba también se procesan controles positivos y negativos para validar la viabilidad y reproducibilidad de los reactivos que se utilizan. Los controles positivos pueden ser preparados en el laboratorio con RNA de muestras conocidas positivas, por la Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista responsable.

Mantener los reactivos en las condiciones y temperatura adecuadas asegura resultados reproducibles.

Usar el equipo de seguridad adecuado para evitar contaminación de los reactivos.

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Ácidos nucleicos:** Macromoléculas constituidas por nucleótidos, encargadas de almacenar, transmitir y expresar la información genética. Existen dos tipos: DNA y RNA.
- 9.2 Amortiguador:** Solución reguladora del equilibrio ácido/base, tiene la capacidad de mantener estable el pH en una disolución.
- 9.3 ID:** Número de registro de laboratorio.
- 9.4 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- 9.5 RPBI:** Residuos peligrosos biológico infecciosos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	7. Procedimiento Técnico para Realizar Panel de Virus, Bacterias y Parásitos Gastrointestinales por el KIT FILMARRAY (FILM ARRAY Gastrointestinal (GI)) en el Equipo Biofire		HOJA: 19 DE: 19

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

BioFire Film Array Gastrointestinal (GI)

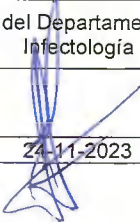
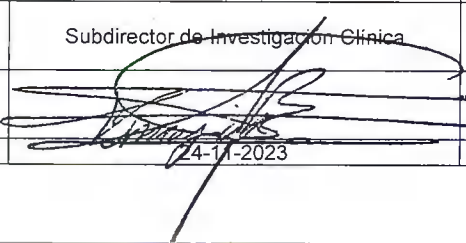
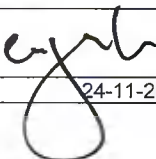
- Instrucciones de uso <https://www.biofire.com/e-labeling/ITI0030>.
- Guía rápida <https://www.biofire.com/e-labeling/ITI0011>.
- Ficha de datos de seguridad (FDS) <https://www.biofire.com/e-labeling/ITI0009>.
- Módulo de cartucho <https://www.biofire.com/e-labeling/ITIFA20GI21>.
- FilmArray GI Reagent Instruction Booklet RFIT-PRT-0237-06 marzo de 2023.
- Manual del operador del BioFire® FilmArray® Torch CE IVD. HTFA-PRT-0012-06 marzo de 2021.



11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

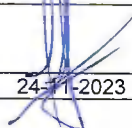
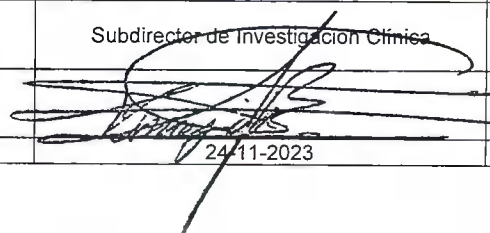
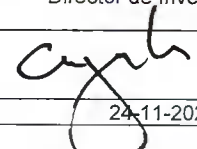
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN



Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 1 DE: 46

8. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR SECUENCIACIÓN DEL VIRUS SARS-CoV-2 MEDIANTE EL SISTEMA ILLUMINA COVIDSEQ ASSAY

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 2 DE: 46

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

El procedimiento establece el protocolo de secuenciación de las cepas de SARS-CoV-2 con los sistemas Illumina COVIDSeq Assay y MiSeq de Illumina.

2.0 OBJETIVO

Describir el procedimiento de secuenciación del virus SARS-CoV-2, para determinar su filogenia. El procedimiento incluye las actividades para la preparación de bibliotecas a partir de Ácido Ribonucleico (RNA) extraído de muestras positivas a SARS-CoV-2 obtenidas de las personas beneficiarias utilizando el sistema Illumina COVIDSeq Assay para su posterior secuenciación en el sistema MiSeq de Illumina.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

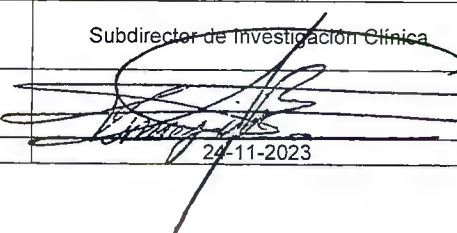
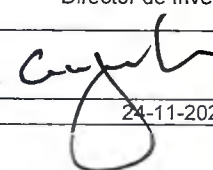
Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.

1. La responsable y/o el responsable del área de Biología Molecular debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de los las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y las Técnicas y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio.

1. Guantes de nitrilo.
2. Bata desechable de manga larga.
3. Respiradores NIOSH N95 o N100.
4. Lentes con protección lateral (goggles).
5. Pinzas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 3 DE: 46

6. Tubos para microcentrifuga libres de nucleasas de 0.5 y 1.7 ml.
7. Puntas con filtro de 0.5-10µl, 0.5-20µl, 0.1-200µl, 100-1000µl.
8. Placas de 96 pozos para PCR, de 0.2 ml.
9. Tubos cónicos de 15 ml.
10. Micas adhesivas.
11. Rodillo de sellado.
12. Gradilla de separación magnética.

4.2 Accesorios y equipo de laboratorio.

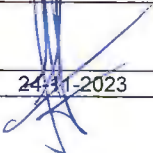
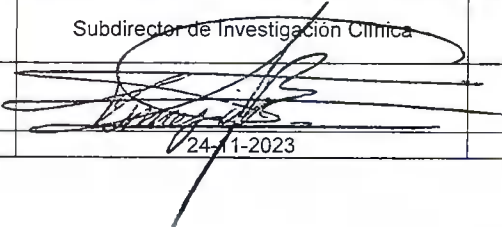
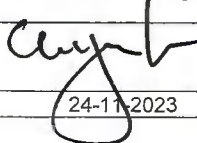
1. Flurómetro Qubit 3.0.
2. Termociclador Veriti.
3. Microcentrifuga.
4. Centrifuga para placas.
5. Refrigerador a 4°C.
6. Micropipetas automáticas de de 0.5-10µl, 0.5-20µl, 0.1-200µl, 100-1000µl.
7. Micropipetas automáticas de 8 canales de 0.5-10µl, 0.5-20µl, 0.1-200µl, 100-1000µl.
8. Vortex.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 4 DE: 46

4.3 Reactivos

1. Qubit dsDNA HS Assay Kit.
2. Illumina COVIDSEQ Assay para 96 muestras que contiene:
 - Caja 1 ITB Bolas de calibración de Illumina.
 - ST2 Tampón de tagmentación de parada 2.
 - Caja 2 EBLTS BLT de enriquecimiento.
 - ELB Tampón de elución.
 - RSB (Tampón de resuspensión).
 - TWB Tampón de lavado detagmentación.
 - Caja 3 CPP1 Grupo del cebador 1 de COVIDSeq.
 - CPP2 Grupo del cebador 2 de COVIDSeq.
 - EPH3 Mezcla 3HC de elución, cebado y fragmentación.
 - EPM Mezcla de PCR.
 - FSM Mezcla de la primera cadena.
 - IPM Mezcla de PCR de Illumina.
 - RVT Transcriptasa inversa.
 - TB1 Tampón de tagmentación 1.
3. IDT for Illumina-PCR INDEXES.
4. MISEQ REAGENT KIT.
5. Sistema de secuenciación MiSEQ.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 5 DE: 46

6. Plataforma de tecnología bioinformática DRAGEN Bio-IT o BaseSpace Sequence Hub.

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2), Área de Secuenciación.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

D.O.F. 17-II-2003 y sus reformas

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.1 Muestras Clínicas

Se procesan las muestras positivas para SARS-CoV-2 por qRT-PCR de acuerdo al **procedimiento técnico no. 4 Determinar Sars-Cov-2 e Influenza A Y B por Qrt-Pcr Multiplex de por el Kit Coviflu de Genes2Life** del presente manual.

7.2 Preparación de bibliotecas utilizando Illumina COVIDSeq Assay.

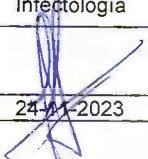
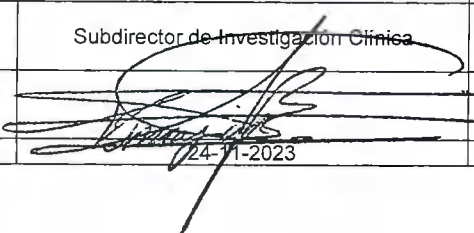
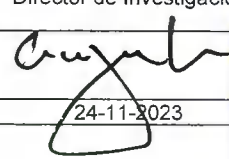
La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista realiza las siguientes actividades:



7.2.1 Alineación del ARN

Durante este proceso, el ácido ribonucleico (ARN) extraído se alinea mediante hexámeros aleatorios para preparar la síntesis de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc).

Consumibles

1. EPH3 (agitar en vortex antes de su uso).
2. Placa para PCR.
3. Micas adhesivas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 6 DE: 46

Preparación

	T°C almacen	Vol. Vial	Vol. Por muestra	Vol. Final X No. Muestra	No. Viales a utilizar
EPH3	-25° a -15°	284 µL	8.5 µL	816 µL	3

Alineación del RNA		Programa de PCR	
	1 rx	COVIDSeq Anneal	
EPH3	8.5 µL en c/pozo	Vol. Rx	17 µL
muestra eluida	8.5 µL en c/pozo	65 °C	3 min
		4 °C	infinito
placa CDNA1	17 µL a cada pozo		

Tabla 1: Alineación de ARN

Procedimiento de alineación

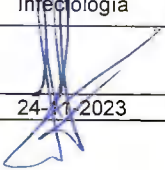
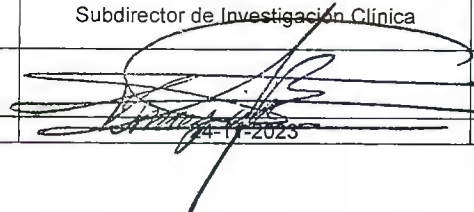
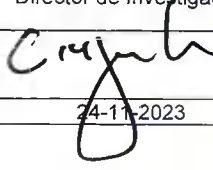
1. Etiquetar la nueva placa de PCR como CDNA1.
2. Añadir 8,5 µl de EPH3 en cada pocillo.
3. Añadir 8,5 µl de muestra eluida en cada pocillo.
4. Sellar y agitar a 1600 rpm durante 1 minuto.
5. Centrifugar a 1000 × g durante 1 minuto.
6. Colocar en el termociclador preprogramado y lleva a cabo el programa de alineación de COVIDSeq.



7.2.2 Síntesis de ADNc de la primera cadena

Durante este proceso, el ARN alineado se prepara para la síntesis de ADNc

Consumibles

1. FSM (Mezcla de la primera cadena).
2. RTV (Transcriptasa inversa).
3. Tubos de 1,7 ml (1 por cada placa de muestras de 96 pocillos).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 7 DE: 46

4. Micas adhesivas.

Preparación

	T°C almacen	Vol. Vial	Vol. Por muestra	Vol. Final X No. Muestra	No. Viales a utilizar
FSM	-25° a -15°	460 µL	9 µL	864 µL	2
RVT	-25° a -15°	96 µL	1 µL	96 µL	1


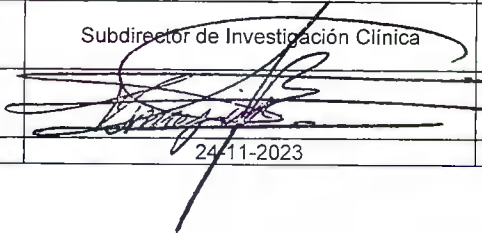
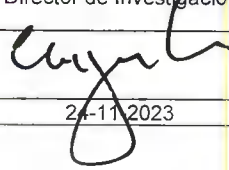
Mezcla de reacción PCR			
		Síntesis de cDNA	
		1 rx	96 rx
FSM	9 µL	864 µL	
RVT	1 µL	96 µL	
		10 µL	1056 µL
placa CDNA1	8 µL	a cada pozo	



Programa de PCR	
COVIDSeq FSS	
Vol. Rx	25 µL
25 °C	5 min
50 °C	10 min
80 °C	5 min
4 °C	infinito

Tabla 2: Síntesis de ADNc

Procedimiento de síntesis

- En un tubo de 1,7 ml, combina los siguientes volúmenes para preparar mezcla maestra de ADNc de la primera cadena.
- Multiplicar cada volumen por el número de muestras más una.
 - FSM (9 µl).
 - RVT (1 µl).
- Añadir 8 µl de mezcla maestra en cada pocillo de la placa CDNA1.
- Sellar y agitar a 1600 rpm durante 1 minuto.
- Centrifugar a 1000 × g durante 1 minuto.
- Colocar en el termociclador preprogramado y llevar a cabo el programa FSS de COVIDSeq.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 8 DE: 46

PUNTO DE DETENCIÓN SEGURO

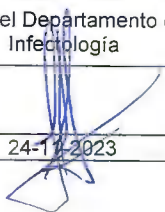
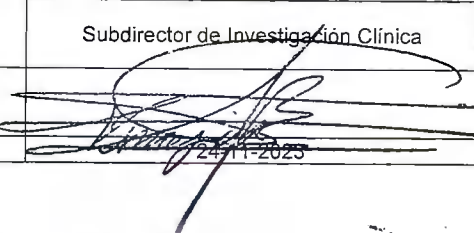
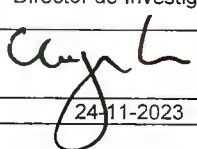
En este punto se puede interrumpir el proceso: sellar la placa y almacenar en congelación entre -15 y -25°C durante un periodo máximo de siete días.



7.2.3 Amplificación del ADNc

Este paso utiliza dos reacciones de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) independientes para amplificar el ADNc.

Consumibles

1. IPM (Mezcla de PCR de Illumina).
2. CPP1 (Grupo del cebador 1 de COVIDSeq).
3. CPP2 (Grupo del cebador 2 de COVIDSeq).
4. Agua sin nucleasas.
5. Tubo de 15 ml.
6. Placas para PCR.
7. Mica adhesiva.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 9 DE: 46

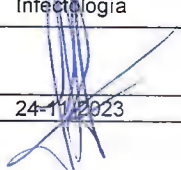
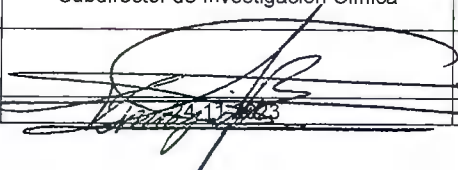
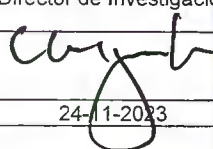
Preparación



Mezcla de reacción PCR					Programa de PCR		
	PCR 1 CPP1		PCR 2 CPP2		COVIDSeq PCR1		
	1 rx	96 rx	1 rx	96 rx	Vol. Rx		
IPM	15 µL	1440 µL	15 µL	1440 µL	25 µL	95 °C	3 min
H ₂ O	4.7 µL	451.2 µL	4.7 µL	451.2 µL	ciclos 35	98 °C	15 seg
CPP1	4.3 µL	412.8 µL	NA	NA		63 °C	5 min
CPP2	NA	NA	4.3 µL	412.8 µL		4 °C	infinito
	24 µL	2400 µL	24 µL	2400 µL			
	20 µL a cada pozo		20 µL a cada pozo				
	5 µL cDNA		5 µL cDNA				

Tabla 3: Mezcla de reacción PCR1 y PCR2 y programa de PCR

Procedimiento amplificación

- Etiquetar dos nuevas placas de PCR como COV1 y COV2.
- Las placas representan dos reacciones PCR independientes en cada muestra y un control en la placa CDNA1.
- En un tubo de 15 ml, combina los siguientes volúmenes para preparar la mezcla maestra PCR 1 de COVIDSeq y la mezcla maestra PCR 2 de COVIDSeq. Multiplicar cada volumen por el número de muestras más una.
- Añadir 20 µl de mezcla maestra PCR 1 de COVIDSeq a cada pocillo de la placa COV1 correspondiente a cada pocillo de la placa CDNA1.
- Añadir 5 µl de Síntesis de ADNc de la primera cadena de cada pocillo de la placa CDNA1 al pocillo correspondiente de la placa COV1.
- Añadir 20 µl de mezcla maestra PCR 2 de COVIDSeq a cada pocillo de la placa COV2 correspondiente a cada pocillo de la placa CDNA1.
- Añadir 5 µl de Síntesis de ADNc de la primera cadena de cada pocillo de la placa CDNA1 al pocillo correspondiente de la placa COV2.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 10 DE: 46

8. Sellar y agitar a 1600 rpm durante 1 minuto.

9. Centrifugar a 1000 × g durante 1 minuto.

10. Colocar en el termociclador preprogramado y llevar a cabo el programa PCR de COVIDSeq.

PUNTO DE DETENCIÓN SEGURO

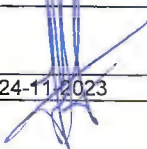
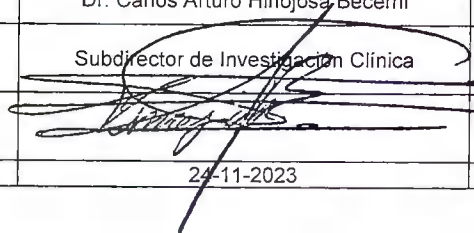
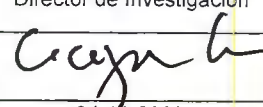
En este punto se puede interrumpir el proceso: sellar la placa y almacenar en congelación entre -15 y -25°C durante un periodo máximo de tres días.



7.2.4 Tagmentación de amplicones PCR

En este paso, se usa el buffer EBLTS para la tagmentación de amplicones PCR, que es un proceso que fragmentar y etiquetar los amplicones PCR con secuencias del adaptador.

Consumibles

1. EBLTS (BLT buffer de enriquecimiento).
2. TB1 (Tampón de tagmentación 1).
3. Agua sin nucleasas.
4. Tubo de 1,7 ml.
5. Tubo de 15 ml.
6. Placa para PCR.
7. Mica adhesiva.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Aiberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 11 DE: 46

Preparación

EBLTS	2° a 8°	290 µL	4 µL	384 µL	1
TB1	-25° a -15°	290 µL	12 µL	1152 µL	4

Mezcla de reacción PCR

		Tagmentación	
		1 rx	96 rx
EBLTS		4 µL	384 µL
TB1		12 µL	1152 µL
H₂O		20 µL	1920 µL
CPP2	NA	NA	NA
		36 µL	3552 µL

Programa PCR:
COVIDSeq TAG
Vol. Rx 50 µL
55 °C 5 min
4 °C infinito

30 µL a cada pozo
10 µL PCR1
10 µL PCR2

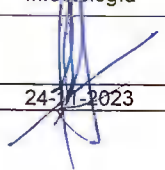
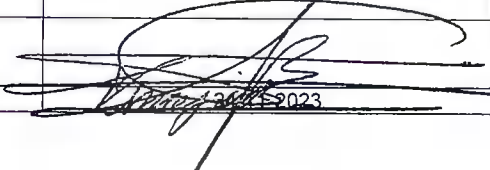
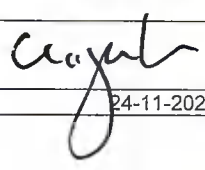
Tabla 4: Tagmentación de amplicones

Procedimiento de tagmentación

Nota: El EBLTS se debe mantener en posición vertical a temperaturas por encima de los 2 °C y las perlas siempre sumergidas en el tampón.

Si las perlas están adheridas al lateral o a la parte superior de la placa se debe centrifugar a 500 × g durante 1 minuto y después pipetear para resuspender.

1. Etiquetar una nueva placa de PCR como TAG1.
2. Combinar COV1 y COV2 de la siguiente manera.
 - a. Transferir 10 µl de cada pocillo de la placa COV1 al pocillo correspondiente de la placa TAG1.
 - b. Transferir 10 µl de cada pocillo de la placa COV2 a cada pocillo de la placa TAG1 que contenga COV1.
3. En un tubo de 15 ml, combinar los siguientes volúmenes para preparar la mezcla maestra de tagmentación.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 12 DE: 46

4. Multiplicar cada volumen por el número de muestras.
 - a. TB1 (12 µl).
 - b. EBLTS (4 µl).
 - c. Agua sin nucleasas (20 µl).
5. Añadir 30 µl de mezcla maestra en cada pocillo de la placa TAG1.
6. Sellar y agitar a 1600 rpm durante 1 minuto.
7. Colocar en el termociclador preprogramado y llevar a cabo el programa TAG deCOVIDSeq.

7.2.5 Limpieza tras la tagmentación

En este paso, se lavan los amplicones etiquetados con adaptadores antes de la amplificación PCR.

Consumibles



1. ST2 (Tampón de tagmentación de parada 2).
2. TWB (Tampón de lavado de tagmentación).
3. Mica adhesiva.

Acerca de los Reactivos

Preparación

ST2	temp amb	1400 µL	10 µL	960 µL	1
TWB	2° a 8°	41000 µL	200 µL	19200 µL	0.5

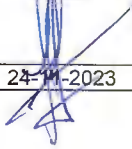
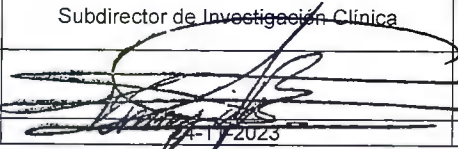
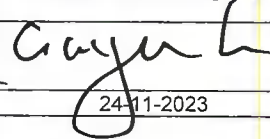
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 13 DE: 46

Procedimiento de limpieza

Nota: El ST2 y el TWB se deben dispensar poco a poco para minimizar la formación de espuma. El TWB se dispensa directamente sobre las perlas.

1. Centrifugar la placa TAG1 a 500 × g durante 1 minuto.
2. Añadir 10 µl de ST2 en cada pocillo de la placa TAG1.
3. Sellar y agita a 1600 rpm durante 1 minuto.
4. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.
5. Centrifugar a 500 × g durante 1 minuto.
6. Colocar en el soporte magnético y esperar hasta que el líquido esté transparente (aproximadamente 3 minutos).
7. Comprobar que no haya burbujas en el sello. Si las hay, centrifuga a 500 x g durante 1 minuto y después de colocar en el soporte magnético (aproximadamente 3 minutos).
8. Retirar y desechar todo el sobrenadante.
9. Lavar las perlas de la siguiente manera:
 - a. Retirar de la placa magnética.
 - b. Añadir 100 µl de TWB en cada pocillo.
 - c. Sellar y agitar a 1600 rpm durante 1 minuto.
 - d. Centrifugar a 500 × g durante 1 minuto.
 - e. Colocar en el soporte magnético y espera hasta que el líquido esté transparente (aproximadamente 3 minutos).
 - f. Para el primer lavado retirar y desechar todo el sobrenadante de cada pocillo.
10. Lavar las perlas por segunda vez.
11. Dejar el sobrenadante en la placa para el segundo lavado para evitar que se sequen demasiado las perlas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 14 DE: 46

7.2.6 Amplificación de los amplicones fragmentados por tagmentación.

En este paso, se amplifican los amplicones fragmentados por tagmentación mediante un programa de PCR.

El paso de PCR añade un par de bases 10 preemparejado, adaptadores de índices 1 (i7), adaptadores de índices 2 (i5) y las secuencias necesarias para la generación de grupos de secuenciación.

Consumibles

1. EPM (Mezcla de PCR mejorada).
2. Adaptadores indexados (IDT for Illumina-PCR Indexes, conjuntos 1, 2, 3 y 4).
3. Agua sin nucleasas.
4. Tubos de 15 ml.
5. Placa para PCR.

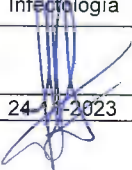
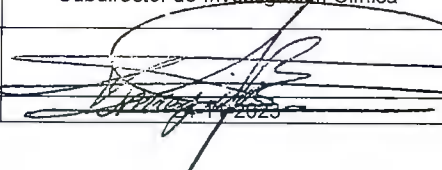
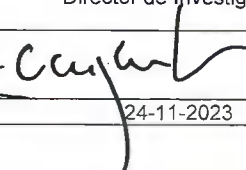
Preparación



EPM	-25° a -15°	1400 µL	10 µL	960 µL	1
INDEXs	-25° a -15°	41000 µL	200 µL	19200 µL	0.5

Mezcla de reacción PCR		
Amplificación de amplicones		
	1 rx	96 rx
EPM	24 µL	2304 µL
H₂O	24 µL	2304 µL
	48 µL	4704 µL
	40 µL a cada pozo	
	10 µL INDEXs	

Programa PCR:		
COVIDSeq TAG PCR2		
Vol. Rx	50 µL	
72 °C	3 min	
98 °C	3 min	
98 °C	20 seg	
60 °C	30 seg	
72 °C	1 min	
ciclos 7		
72 °C	3 min	
4 °C	infinito	

Tabla 6: Amplificación de Amplicones

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 15 DE: 46

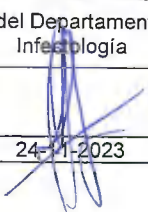
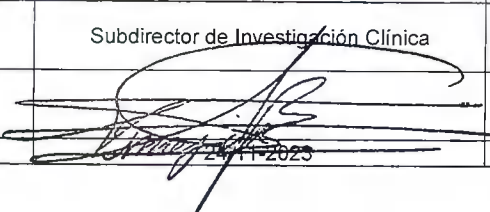
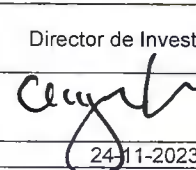
Procedimiento de ampliaciones




Nota: No se debe añadir muestras a los pocillos de la placa de índices. Los pocillos de la placa de índices son de un solo uso, por lo que no se reutilizan.

1. En un tubo de 15 ml, combina los siguientes volúmenes para preparar la mezcla maestra de PCR.
2. Multiplicar cada volumen por el número de muestras:
 - a. EPM (24 µl).
 - b. Agua sin nucleasas (24 µl).
3. Agitar en vortex la mezcla maestra de PCR para mezclar.
4. Mantener la placa TAG1 en el soporte magnético y retirar el TWB.
5. Utilizar una pipeta de 20 µl para retirar cualquier TWB restante.
6. Retirar la placa TAG1 del soporte magnético.
7. Añadir 40 µl de mezcla maestra de PCR a cada pocillo.
8. Añadir 10 µl de adaptadores de índices en cada pocillo de la placa de PCR.
9. Sellar y agitar a 1600 rpm durante 1 minuto.
10. Si hay líquido visible en el sello, centrifugar a 500 x g durante 1 minuto.
11. Verificar que las perlas están resuspendidas. Para resuspender, cargar la pipeta con 35 µl con el émbolo hacia abajo y, a continuación, pipetea poco a poco para mezclar.
12. Colocar en el termociclador preprogramado y llevar a cabo el programa TAG PCR de COVIDSeq.

7.2.7 Agrupación y limpieza de las bibliotecas

En este paso, se combinan las bibliotecas de cada placa de muestras de 96 pocillos en un tubo de 1,7 ml. Las bibliotecas se unen a las perlas magnéticas y los fragmentos que son demasiado pequeños o grandes se eliminan, de acuerdo con el kit.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 16 DE: 46

Consumibles

1. ITB (Perlas de calibración de Illumina).
2. RSB (Tampón de resuspensión).
3. Etanol al 80 % recién preparado (EtOH).
4. Tubo de 1,7 ml (2 por cada placa de muestras de 96 pocillos).
5. [Illumina COVIDSeq Test (RUO)] gradilla de 8 tubos de PCR.

Preparación

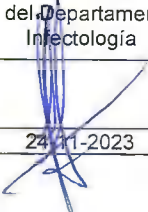
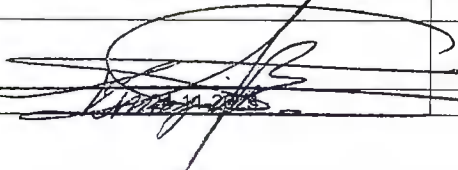
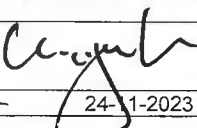
c/u muestras					
IPB	temp amb	10000 μL	0.9 μL	436.5 μL	0.044
LIBRERÍAS	pool A	C/librería	48 muestras	IPB	
		5 μL	vol. final	240 μL	216.0 μL
	pool B	C/librería	49 muestras	IPB	
		5 μL	vol. final	245 μL	220.5 μL



Tabla 7: Agrupación de bibliotecas

Procedimiento de agrupación y limpieza

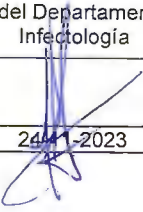
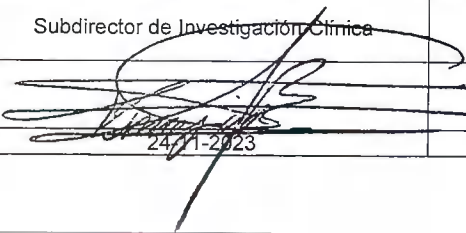
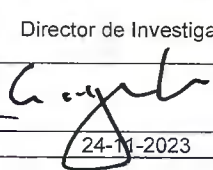
Nota: El ITB se debe agitar en vortex antes de cada uso. Se debe agitar en vortex frecuentemente para que las perlas se mantengan distribuidas de manera uniforme. Por la viscosidad de la solución se debe aspirar y dispensar lentamente.



1. Centrifugar la placa TAG1 a $500 \times g$ durante 1 minuto.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24/11-2023	24/11-2023	24/11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 17 DE: 46

2. Colocar en el soporte magnético y espera hasta que el líquido esté transparente (aproximadamente 3 minutos).
3. Para agrupar bibliotecas, sigue las instrucciones kit y repite los pasos para cada placa de muestras adicional:
 - a. Etiquetar un nuevo tubo de 1,7 ml como ITB agrupadas.
 - b. Transferir 5 µl de biblioteca de cada pocillo de la placa TAG1 al tubo de ITB agrupadas.
4. Agitar en vortex los tubos de ITB agrupadas para mezclar y, a continuación, centrifuga brevemente.
5. Agitar en vortex las ITB para resuspender.
6. Añadir ITB usando el volumen resultante del volumen del tubo de ITB agrupadas multiplicado por 0,9.
7. Agitar en vortex para mezclar.
8. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.
9. Centrifugar brevemente.
10. Colocar en el soporte magnético y espera hasta que el líquido esté transparente (aproximadamente 5 minutos).
11. Retirar y desechar todo el sobrenadante.
12. Lavar las perlas de la siguiente manera:
 - a. Mantener en el soporte magnético y añadir 1 ml de EtOH al 80 % recién preparado a cada tubo.
 - b. Esperar 30 segundos.
 - c. Retirar y desechar todo el sobrenadante.
13. Lavar las perlas por segunda vez.
14. Utilizar una pipeta de 20 µl para retirar todo el EtOH restante.
15. Añadir 55 µl de RSB.
16. Agitar en vortex para mezclar y, a continuación, centrifugar brevemente.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 18 DE: 46

17. Incubar a temperatura ambiente durante 2 minutos.
18. Colocar en el soporte magnético y esperar hasta que el líquido esté transparente (aproximadamente 2 minutos).
19. Transferir 50 µl de sobrenadante de cada tubo de ITB agrupadas a un nuevo tubo de microcentrifugado.

PUNTO DE DETENCIÓN SEGURO

En este punto se puede interrumpir el proceso: sella la placa y almacenar en congelación entre -15 y -25°C durante un periodo máximo de treinta días.

7.2.8 Cuantificación y normalización de bibliotecas

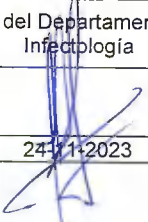
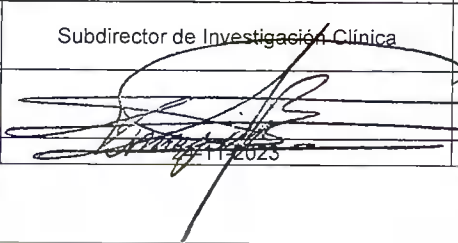
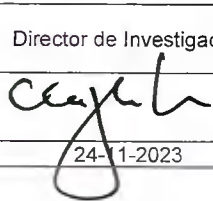
1. Analizar 2 µl de grupos de bibliotecas utilizando Qubit dsDNA HS Assay kit.
2. Si las bibliotecas están fuera del rango estándar, diluir a una concentración de 1:10 y volver a analizar.
3. Calcular el valor de molaridad usando la siguiente fórmula:



$$\frac{\text{Concentración de la biblioteca ng/}\mu\text{l}}{660 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times \text{tamaño promedio de la biblioteca (pb)}} \times 10^9 = \text{Molaridad (nM)}$$

4. Utilizar 400 pb como tamaño medio de la biblioteca.
5. Diluir cada grupo de bibliotecas a un mínimo de 30 µl a una concentración normalizada de 4 nM usando RSB.

7.2.9 Desnaturalización y dilución de las librerías

1. A 5µL de la librería ajustada a 4nM adiciona 5µL de NaOH 0.2N (recién preparado).
2. Mezclar en vortex.
3. Centrifugar e incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
4. Adicionar 990µL de HT1 (frio). Esto corresponde a 1 mL de librería desnaturalizada 20 pM.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 19 DE: 46

5. Diluir la librería en la concentración requerida dependiente al cartucho de reactivos (MiSeq Reagent kit) a utilizar de acuerdo con la siguiente tabla:

Concentration	6 pM	8 pM	10 pM	12 pM	15 pM	20 pM
20 pM library	180 µl	240 µl	300 µl	360 µl	450 µl	600 µl
Prechilled HT1	420 µl	360 µl	300 µl	240 µl	180 µl	0 µl

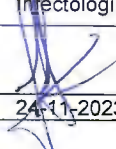
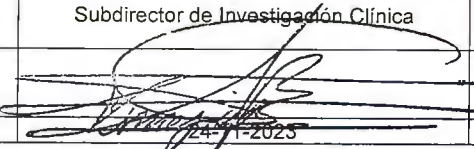
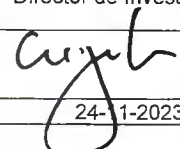
6. Invertir para mezclar.
7. Sustraer 6µL de la librería y adiciona 6µL del control PhiX (20 pM) para que quede al 1% final.
8. Utilizar los 600 µL para cargar el cartucho de los reactivos (MiSeq Reagent kit); previamente descongelado.
9. Iniciar la corrida en el equipo MiSeq.
10. Seguir instrucciones del manual del equipo, inicio de corrida en el sistema miseq (véase en anexo 1).




8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

El estricto apego a los protocolos establecidos permite el conocimiento de las secuencias génicas de las cepas circulantes en nuestro medio para determinar su prevalencia y variación, lo que redundará en el beneficio no sólo de las personas beneficiarias de las se obtuvieron las cepas virales, sino para toda la población.

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Amplicones:** Fragmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) amplificado por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- 9.2 ADN:** Ácido desoxirribonucleico.
- 9.3 ADNc:** Secuencia de ADN obtenida por retrotranscripción.
- 9.4 Filogenia:** Estudio de las relaciones evolutivas entre secuencias o especies.
- 9.5 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- 9.6 Tagmentación:** Fragmentación y marcaje del ADN en una sola reacción.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 20 DE: 46

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Guía de referencia. Kits de Illumina COVIDSeq Assay., N° de documento 1000000126053 v06 ESP., julio, 2021. Illumina.

11.0 FORMATOS Y ANEXOS

ANEXO 1: INICIO DE CORRIDA EN EL SISTEMA MISEQ

COMPONENTES DEL SISTEMA

El sistema MiSeq consta de un monitor de pantalla táctil, una barra de estado, un botón de encendido con puertos USB adyacentes y tres compartimentos.

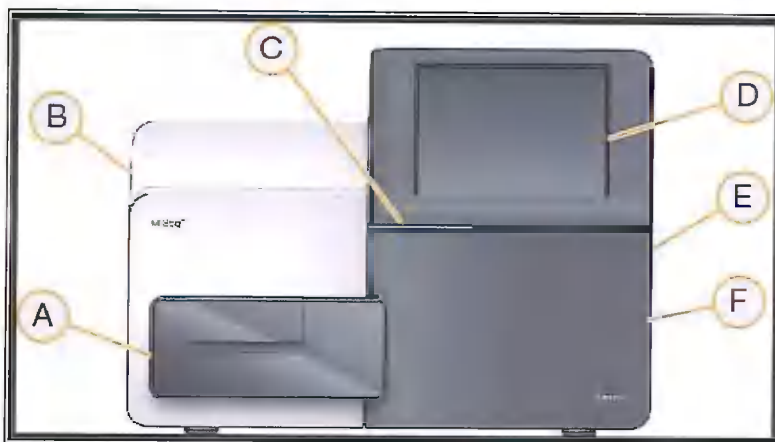
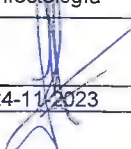
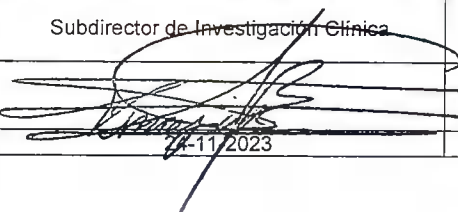
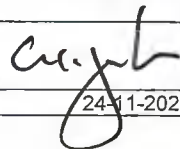




Figura 1: Sistema MiSeq

- A. Compartimento de la celda de flujo: contiene la platina de la celda de flujo que alberga la celda de flujo durante el experimento. Los motores de la platina de la celda de flujo sacan la platina del módulo óptico cerrado para la carga de celdas de flujo y la devuelven a su sitio cuando empieza el experimento.
- B. Compartimento óptico cerrado: contiene componentes ópticos que permiten la adquisición de imágenes de la celda de flujo.
- C. Barra de estado: indica el estado de la celda de flujo como listo para la secuenciación (verde), en procesamiento (azul) o requiere asistencia (naranja).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 21 DE: 46

D. Monitor de pantalla táctil: muestra la interfaz del software de control para la configuración del sistema y del experimento.

E. Puertos USB externos: facilitan la transferencia de los archivos y los datos al ordenador del instrumento desde el monitor de pantalla táctil.

F. Compartimento de reactivos: contiene los reactivos a las temperaturas adecuadas, las soluciones de lavado y una botella para los reactivos utilizados. La puerta del compartimento de reactivos se asegura mediante un cierre magnético.

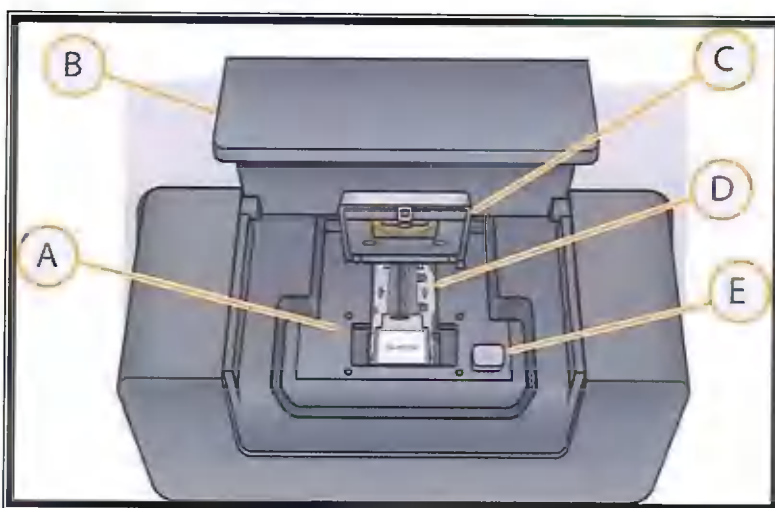
La interfaz de MiSeq le guía por los pasos de configuración del experimento mediante el monitor de pantalla táctil.

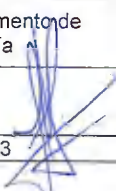
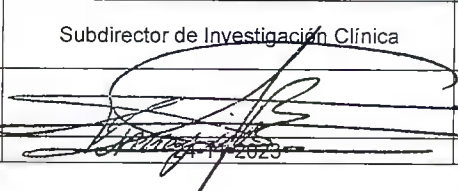
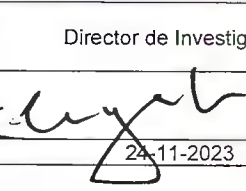
Nota: Para cargar los componentes del experimento, debe acceder al compartimento de reactivos y al de la celda de flujo.

COMPARTIMENTO DE LA CELDA DE FLUJO

El compartimento de la celda de flujo contiene la platina de la celda de flujo, la estación térmica y las conexiones de fluidica para la celda de flujo. La platina de la celda de flujo sostiene la celda de flujo y la abrazadera la fija y la posiciona. Una vez que se cierra la abrazadera de la celda de flujo, dos pasadores situados cerca de la bisagra de la abrazadera posicionan automáticamente la celda de flujo.

La estación térmica, situada bajo la platina de la celda de flujo, controla los cambios de temperatura de la celda de flujo necesarios para generar y secuenciar grupos.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023




 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 22 DE: 46

Figura 2: Compartimento de la celda de flujo

- A. Platina de la celda de flujo.
- B. Puerta del compartimento de la celda de flujo.
- C. Abrazadera de la celda de flujo.
- D. Celda de flujo.
- E. Botón de apertura de la abrazadera de la celda de flujo.

COMPARTIMENTO DE REACTIVOS


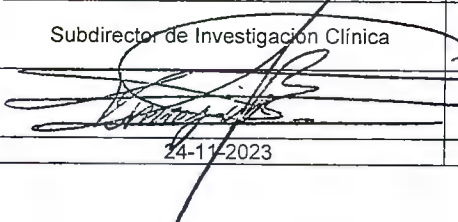
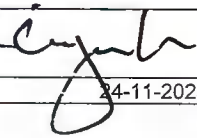
El compartimento de reactivos contiene el refrigerador de reactivos y las posiciones para la botella del tampón de lavado (PR2) y la botella de residuos.



Para mantener una temperatura constante, abrir y cerrar la puerta del refrigerador de reactivos solo cuando se le pida.

Nota: La temperatura necesaria del refrigerador de reactivos es de 2 °C a 11 °C.

El refrigerador de reactivos sujeta un cartucho de reactivo de un solo uso durante el experimento. Durante el lavado del instrumento, el refrigerador de reactivos sujeta la bandeja de lavado. El software baja automáticamente los dispensadores al interior del depósito del cartucho de reactivos en el momento adecuado del experimento, en función del proceso que se esté realizando.

A la derecha del refrigerador de reactivos hay ranuras que se adaptan a la forma de las botellas de PR2 y de residuos. El mango del dispensador fija las botellas en su sitio y baja el dispensador adecuado al interior de cada botella. Los reactivos se bombearán por los dispensadores, los conductos de fluidica y, a continuación, la celda de flujo. El residuo de reactivo se enviará a la botella de residuos durante el proceso.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 23 DE: 46

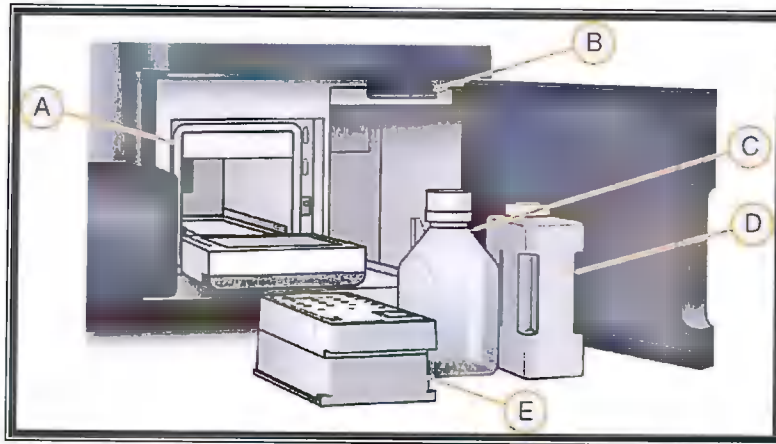


Figura 3: Componentes del compartimento de reactivos.


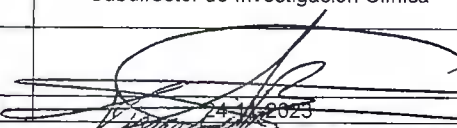
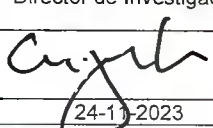
- A. Refrigerador de reactivos.
- B. Mango del dispensador (se muestra en posición elevada).
- C. Botella de PR2.
- D. Botella de residuos.
- E. Cartucho de reactivos.



SOFTWARE DEL SISTEMA

El paquete de software del instrumento incluye aplicaciones integradas que realizan experimentos de secuenciación, análisis integrados en el instrumento y funciones relacionadas.

Local Run Manager es una solución integrada en el instrumento que permite crear un experimento, hacer un seguimiento de su estado, analizar los datos de secuenciación y ver los resultados.

Local Run Manager lleva a cabo también un seguimiento de la información sobre las muestras y controla los permisos del usuario. El software se ejecuta como un servicio de Windows en el ordenador del instrumento y se visualiza a través de un explorador web.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 24 DE: 46

ICONOS DE ESTADO

Un icono de estado de la interfaz del software de control indica un cambio en las condiciones durante la configuración del experimento o durante este mismo. Un número en el icono indica el número de condiciones para un estado.

Cuando cambia el estado de un experimento, el icono parpadea para alertarle. Seleccione el icono para visualizar una descripción del estado. Seleccione Acknowledge (Aceptar) para que desaparezca el mensaje y Close (Cerrar) para salir del cuadro de diálogo.

Filtre los tipos de mensajes que aparecen en la ventana de estado seleccionando los iconos del margen superior de la ventana. Al seleccionar un icono se muestra o se oculta el estado.




Icono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Estado correcto	No hay cambios. El sistema está normal.
	Advertencia	Las advertencias no tienen un experimento. Sin embargo, algunas podrían requerir una acción antes de continuar.
	Error	Los errores normalmente tienen los experimentos y suelen requerir acciones antes de continuar con el experimento.

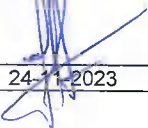
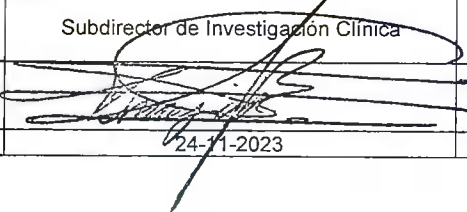
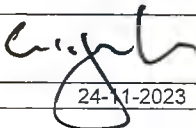
Figura 4: Iconos de Estado del Sistema



INDICADORES DEL SENSOR

Los indicadores del sensor, que aparecen en la base de cada pantalla de la interfaz, representan el estado de los componentes del instrumento.



Figura 5: Indicadores del sensor

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 25 DE: 46

OPCIONES DE ANÁLISIS SECUNDARIO

Los datos de secuenciación de MiSeq pueden analizarse en el ordenador del instrumento con Local Run Manager o en la nube con BaseSpace. Estas aplicaciones generan información sobre la alineación, las variantes y los conjuntos de cóntigos de cada genoma solicitado y de cada muestra de un experimento de varias muestras.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE BASESPACE

BaseSpace® es el entorno informático basado en la nube de Illumina.

Inicie sesión en BaseSpace cuando configure el experimento de secuenciación. Al usar BaseSpace, tiene la opción adicional de almacenar datos del experimento localmente.

Cuando se inicia el experimento de secuenciación, el icono cambia para indicar que MiSeq está conectado a BaseSpace y que los archivos de datos se están transfiriendo a la ubicación especificada.

En BaseSpace, los archivos de datos se cifran durante el tránsito, se descifran durante el análisis y se vuelven a cifrar cuando se almacenan.

SOFTWARE LOCAL RUN MANAGER

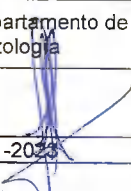
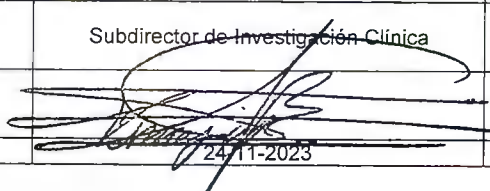
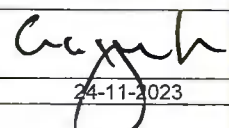
El software Local Run Manager es una solución integrada en el instrumento que permite crear un experimento, hacer un seguimiento de su estado, analizar los datos de secuenciación y visualizar los.



DESCRIPCIÓN GENERAL DEL KIT DE REACTIVOS DE MISEQ

El kit de reactivos de MiSeq es un kit de reactivos de un solo uso necesario para realizar un experimento de secuenciación. Está disponible en varios tipos y tamaños. Cada tipo de kit de reactivos de MiSeq incluye un tipo de celda de flujo específico del kit y todos los reactivos necesarios para realizar un experimento.

La celda de flujo, la botella de PR2 y el cartucho de reactivos incluidos en el kit utilizan la identificación por radiofrecuencia (RFID) para ofrecer precisión en la compatibilidad y el seguimiento de los consumibles.

Se utiliza el cartucho de reactivos asociado a su tipo de celda de flujo. Si el cartucho de reactivos no es compatible, aparecerá un mensaje durante la configuración del experimento que le indicará que cargue un cartucho de reactivos compatible.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 26 DE: 46

CELDA DE FLUJO

La celda de flujo de MiSeq es un sustrato de un solo uso elaborado con cristal en el que se generan grupos y se lleva a cabo la reacción de secuenciación.

Los reactivos entran en la celda de flujo a través del puerto de entrada, pasan por el área de adquisición de imágenes de carril único y salen de la celda de flujo por el puerto de salida. Los residuos que salen de la celda de flujo se depositan en la botella de residuos.

Se cargan las bibliotecas en el cartucho de reactivos antes de configurar el experimento y, después, se transfieren automáticamente a la celda de flujo, tras empezar el experimento.

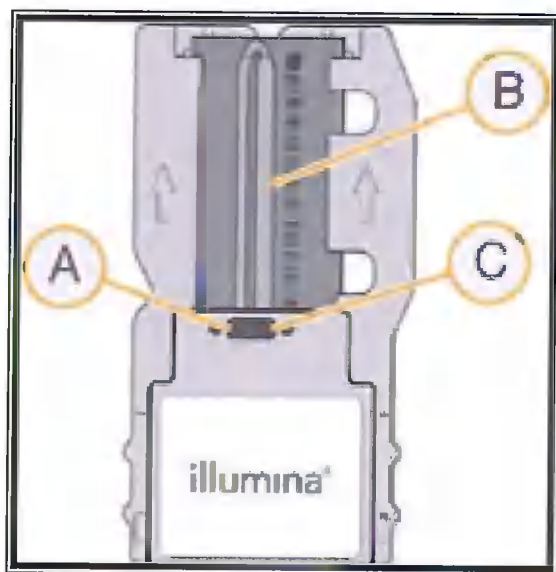
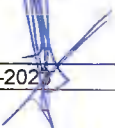

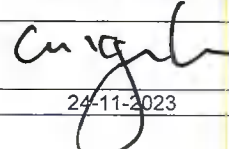




Figura 6: Celda de flujo de MiSeq.

- A. Puerto de salida.
- B. Área de adquisición de imágenes.
- C. Puerto de entrada.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 27 DE: 46

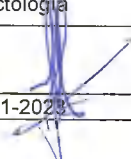
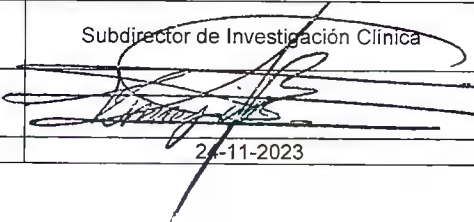
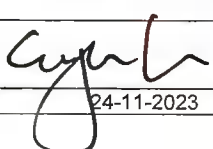
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL CARTUCHO DE REACTIVOS



El cartucho de reactivos de MiSeq es un consumible de un solo uso que consta de depósitos con cierre metálico, precargados con reactivos de secuenciación y de generación de grupos suficientes para la secuenciación de una celda de flujo.

Todos los depósitos del cartucho están numerados. Las bibliotecas de muestras se cargan en el cartucho en la posición 17, etiquetada como Load Samples (Carga de muestras).



Figura 7: Cartucho de reactivos con depósitos numerados.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 28 DE: 46

POSICIÓN	NOMBRE DEL REACTIVO	DESCRIPCIÓN
8	LDR	Reactivo de desnaturalización (contiene formamida)
17	Reservado	Carga de muestras (reservado para las bibliotecas de muestras)
18	Reservado	Reservado para el cebador personalizado de la lectura 1 [Opcional]
19	Reservado	Reservado para el cebador personalizado de la lectura del índice [Opcional]
20	Reservado	Reservado para el cebador personalizado de la lectura 2 [Opcional]

Tabla 1: Depósitos de cartuchos de reactivos.

PUESTA EN MARCHA DE MISEQ

1. Cambiar el interruptor de alimentación situado en la parte posterior del instrumento a la posición (encendido).

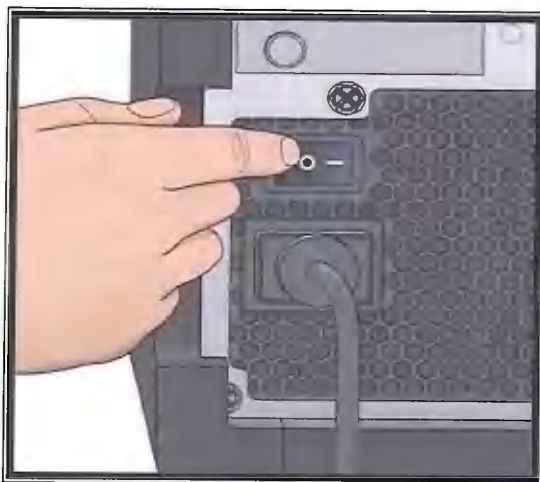




Figura 8: Ubicación del interruptor de alimentación.

2. Esperar a que el sistema se cargue, a continuación, inicie sesión en el sistema operativo. Cuando el sistema operativo está cargado, el software de control de MiSeq (MCS) se inicia e inicializa el instrumento automáticamente.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 29 DE: 46

3. Con Local Run Manager, si se ha habilitado la gestión de usuarios, inicie sesión con su nombre y contraseña de Local Run Manager y seleccione Next (Siguiente).

PERSONALIZACIÓN DE LOS AJUSTES DEL SISTEMA

1. En el menú principal, seleccionar System Settings (Configuración del sistema).
2. Seleccionar la ficha Run (Experimento).
3. Seleccionar Post Run Wash (Lavado posterior al experimento) o Maintenance Wash (Lavado de mantenimiento).
4. Se debe realizar un lavado del instrumento tras cada experimento. El software precisa que se realice un lavado antes de configurar un experimento posterior. La opción Post-Run Wash (Lavado posterior al experimento) especifica el tipo de lavado que se realiza de forma predeterminada. El lavado posterior al experimento dura aproximadamente 30 minutos. El lavado de mantenimiento dura aproximadamente 90 minutos.
5. Seleccionar la ficha BaseSpace.
6. Seleccionar la región de BaseSpace a la que debe conectarse el instrumento. Este ajuste se utiliza para el almacenamiento adecuado de los datos que se envían al Servicio de supervisión proactiva de Illumina.

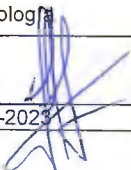
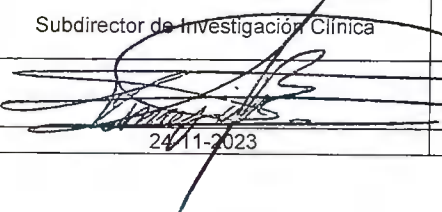
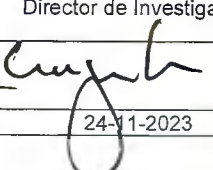
Secuenciación:



INTRODUCCIÓN

Para realizar un experimento de secuenciación en MiSeq, siga los pasos de configuración descritos en este capítulo.

Hay tres opciones de configuración de experimentos:

- A. Local Run Manager: seleccione un experimento que se haya preparado con Local Run Manager.
- B. Sample sheets (Hojas de muestras): cree un experimento mediante una hoja de muestras. Las hojas de muestras se validan en Local Run Manager.
- C. Manual: cree un experimento introduciendo manualmente hasta 10 ciclos por cada lectura. No se realizará ningún análisis secundario cuando esta opción esté seleccionada.
- D. Una vez iniciado el experimento, el usuario no tendrá que intervenir más.
- E. Use alguna de las siguientes opciones para supervisar el experimento de secuenciación:

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 30 DE: 46

BaseSpace Sequence Hub. En el instrumento, con la pantalla Sequencing (Secuenciación).

1. De forma remota, con Sequencing Analysis Viewer (SAV). Esta aplicación opcional se puede descargar en el sitio web de Illumina.
2. De forma remota, con Local Run Manager.

Cuando haya finalizado el experimento de secuenciación, no olvide lavar el instrumento.

NÚMERO DE CICLOS DE UNA LECTURA

En un experimento de secuenciación, el número de ciclos realizados en una lectura es un ciclo más que el número de ciclos analizados. El ciclo adicional es necesario para los cálculos de hebra retrasada y hebra adelantada.

ANÁLISIS

Cuando finaliza el experimento mediante el modo Sample Sheet (Hoja de muestras) o Local Run Manager, el software de análisis Local Run Manager se inicia automáticamente para realizar el análisis secundario, que incluye la alineación y la llamada de variantes. Puede supervisar el análisis secundario con una conexión a Internet desde otro ordenador.

DESCONGELACIÓN DEL CARTUCHO DE REACTIVOS

Descongelar el cartucho de reactivos introduciéndolo en un baño con agua a temperatura ambiente.

Nota: También puede descongelar los reactivos de un día para otro en un almacenamiento a entre 2°C y 8°C. Los reactivos permanecen estables hasta una semana cuando se almacena a esta temperatura.

1. Extraer el cartucho de reactivos almacenado a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C.
2. Colocar el cartucho de reactivos en un baño de agua, con suficiente agua desionizada a temperatura ambiente para que se sumerja la base del cartucho de reactivos. No permita que el agua supere la línea de agua máxima indicada en el cartucho de reactivos.

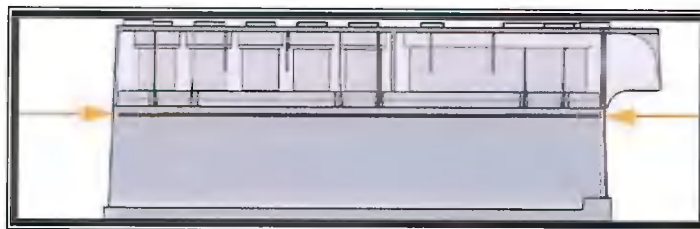
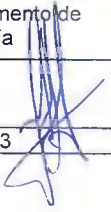
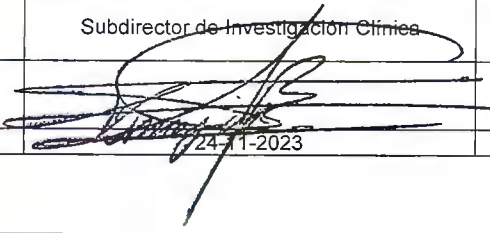
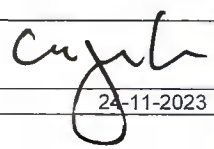


Figura 9: Línea de agua máxima.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerri	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 31 DE: 46

3. Descongelar el cartucho de reactivos en el baño de agua a temperatura ambiente hasta que esté completamente descongelado.

✓ Cartuchos MiSeq v3: aprox. 60-90 minutos.

✓ Cartuchos MiSeq v2: aprox. 60 minutos.

4. Sacar el cartucho del baño de agua y dé unos suaves toques en la mesa para que el agua salga de la base del cartucho. Secar la base del cartucho.

INSPECCIÓN DEL CARTUCHO DE REACTIVOS

1. Invertir el cartucho de reactivos diez veces para mezclar los reactivos descongelados y compruebe que todas las posiciones estén descongeladas.

2. Inspeccionar los reactivos de las posiciones 1, 2 y 4 para revisar que se han mezclado completamente y no presentan precipitados.

3. Golpear suavemente el cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire en los reactivos.

DES NATURALIZACIÓN Y DILUCIÓN DE BIBLIOTECAS

Si el tipo de biblioteca lo requiere, desnaturalice y diluya las bibliotecas y añada el control PhiX opcional.

CARGA DE BIBLIOTECAS DE MUESTRAS



Cuando el cartucho de reactivos esté completamente descongelado y listo para usar, cargue las bibliotecas preparadas en el cartucho.

1. Limpiar el sello metálico que cubre el depósito etiquetado como Load Samples (Carga de muestras) con una toallita de laboratorio sin pelusa.

2. Perforar el sello metálico con una pipeta limpia de 1 ml.

3. Pipetee 600 µl de las bibliotecas preparadas en el depósito Load Samples (Carga de muestras). Evitar tocar el sello metálico.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 32 DE: 46

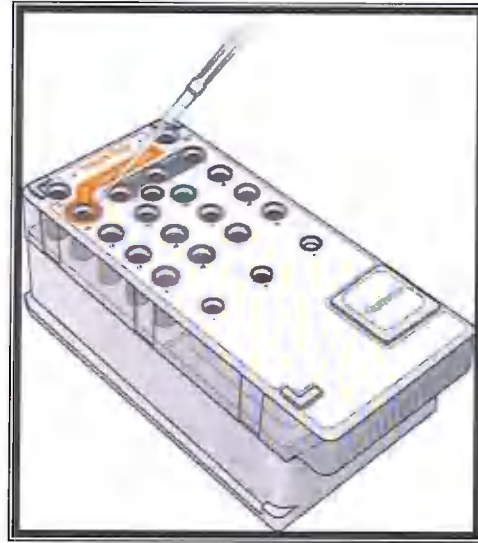


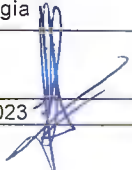
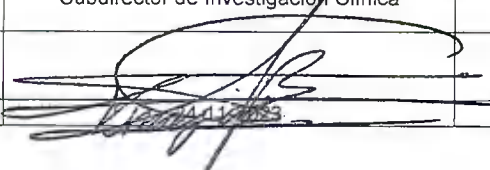
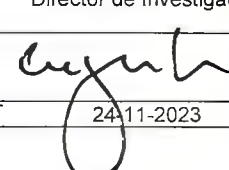
Figura 10: Carga de bibliotecas.



- Continuar directamente con los pasos de configuración del experimento mediante la interfaz del software de control de MiSeq (MCS).

CONFIGURACIÓN DE UN EXPERIMENTO CON MCS

- En el menú principal, seleccione Reboot (Reiniciar) para reiniciar el software del sistema.
- En la pantalla Home (Inicio), seleccione Sequence (Secuenciar) para iniciar los pasos de configuración del experimento.

Al seleccionar Sequence (Secuenciar) en la pantalla Home (Inicio), se abrirá una serie de pantallas de configuración del experimento en el siguiente orden: Sequence Mode Selection (Selección de modo de secuencia) [Local Run Manager, Sample Sheet (Hoja de muestras), Manual], BaseSpace Option (Opción BaseSpace), Load Flow Cell (Cargar celda de flujo), Load Reagents (Cargar reactivos), Review (Revisar) y Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023


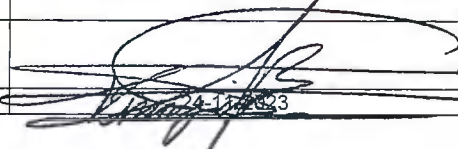
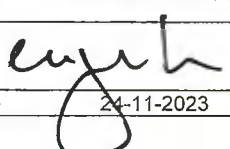
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 33 DE: 46



DEFINICIÓN DE LA OPCIÓN DE LOCAL RUN MANAGER

1. En la pantalla Home (Inicio), seleccionar Sequence (Secuenciar).
2. Desde la pantalla Sequence Mode Selection (Selección de modo de secuencia), seleccionar Local Run Manager.
3. [Opcional] En la pantalla BaseSpace Options (Opciones de BaseSpace), seleccionar Use BaseSpace™ (Utilizar BaseSpace).
4. Para obtener más información, consulte *Configuración de la opción BaseSpace*.
5. Seleccionar Next (Siguiente).
6. Seleccionar el nombre de un experimento en la lista de experimentos disponibles.
7. [Opcional] Seleccionar Preview Samples (Vista previa de muestras) para ver las muestras que están asociadas con el análisis.
8. Seleccionar Next (Siguiente) para ir a *Cargue la celda de flujo*.

DEFINICIÓN DE LA OPCIÓN DE HOJA DE MUESTRAS

1. En la pantalla Home (Inicio), seleccionar Sequence (Secuenciar).
2. Desde la pantalla Sequence Mode Selection (Selección de modo de secuencia), seleccionar Sample Sheet (Hoja de muestras).
3. Seleccionar Next (Siguiente).
4. Buscar el archivo de hoja de muestras y seleccionarlo.
5. El archivo se envía a Local Run Manager para su validación o para la creación del experimento.
6. Seleccionar Next (Siguiente) Seleccionar Next (Siguiente).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 34 DE: 46

LIMPIEZA DE LA CELDA DE FLUJO

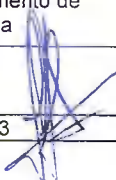
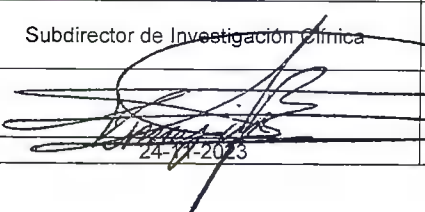
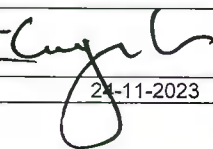
1. Utilizar un nuevo par de guantes sin talco.
2. Utilizar unas pinzas de plástico para agarrar la celda de flujo por la base del cartucho de plástico y retirar del contenedor de celdas de flujo.





Figura 11: Retirada de la celda de flujo.

3. Enjuagar ligeramente la celda de flujo con agua de laboratorio hasta que se haya eliminado el exceso de sales tanto en el cartucho de plástico como en el cristal.

El exceso de sales puede afectar a la colocación de la celda de flujo en el instrumento, y si se secan en el área de adquisición de imágenes, esta también se verá afectada.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 35 DE: 46

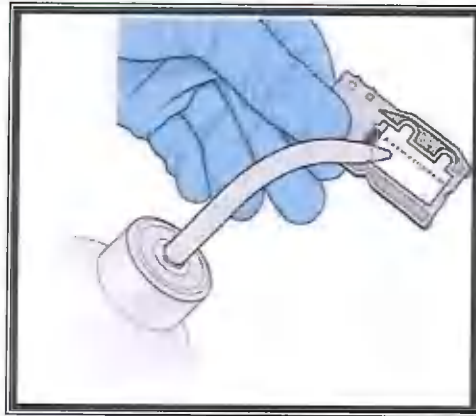


Figura 12: Enjuague de la celda de flujo.

4. Secar bien la celda de flujo y el cartucho con una toallita para limpiar lentes sin pelusa teniendo especial cuidado alrededor de la junta del puerto de la celda de flujo negra. Secar con suaves golpecitos la zona de las juntas y el cristal adyacente.

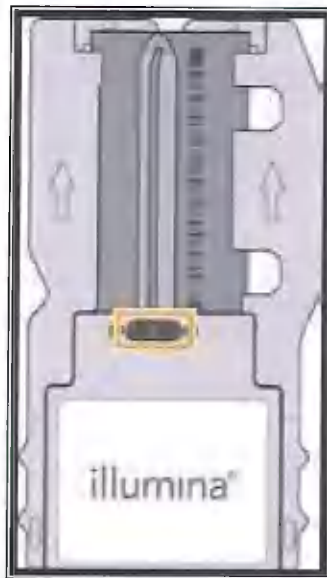
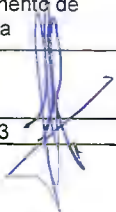
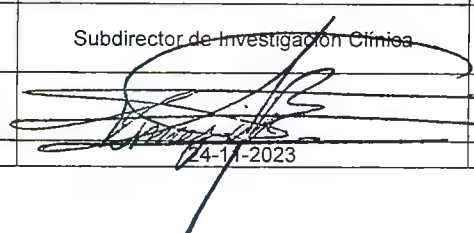
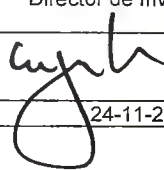




Figura 13: Puertos de celdas de flujo y juntas.

5. Limpiar el cristal de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol. Revisar que en el cristal no haya pelusas, ni fibras de tejido, huellas u otras marcas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 36 DE: 46

Nota: No usar el paño humedecido en alcohol en la junta del puerto de la celda de flujo.

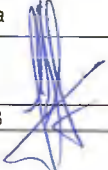
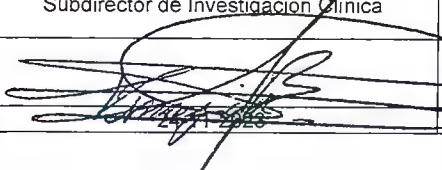
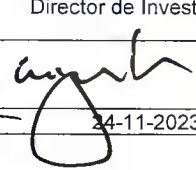



Figura 14: Secado de la celda de flujo.

1. Secar el exceso de alcohol con una toallita para limpiar lentes sin pelusa.
2. Revisar que los puertos de las celdas de flujo no están obstruidos y de que las juntas están bien asentadas alrededor de los puertos de las celdas de flujo.
3. Si las juntas parecen estar desplazadas, vuelva a presionar con cuidado hasta que queden perfectamente colocadas en su posición alrededor de los puertos de las celdas de flujo.

Cargue la celda de flujo

1. Levantar la puerta del compartimento de la celda de flujo y, a continuación, pulse el botón de apertura situado a la derecha de la abrazadera de la celda de flujo. Se abrirá la abrazadera de la celda de flujo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023		24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 37 DE: 46

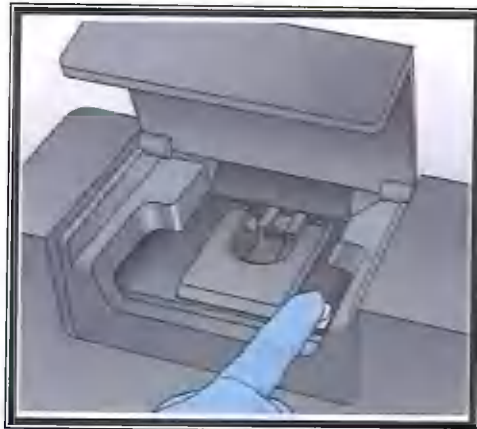


Figura 15: Abra la abrazadera de la celda de flujo.

- Revisar que la platina de la celda de flujo no tiene pelusa. Si hubiera pelusa o cualquier otro desecho, limpie la platina de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol o una toallita sin pelusa humedecida en etanol o isopropanol. Limpiar con cuidado la superficie de la platina de la celda de flujo hasta que esté totalmente limpia y seca.
- Colocar la celda de flujo en la platina sosteniendo dicha celda por los extremos.

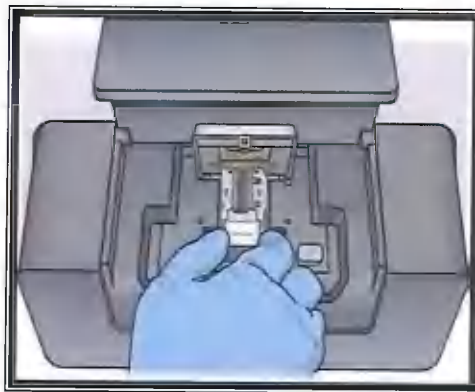


Figura 16: Coloque la celda de flujo en la platina.

- Pulsar suavemente la abrazadera de la celda de flujo para cerrarla sobre la celda de flujo.

Una vez cerrada la abrazadera de la celda de flujo, unos pasadores de alineación la posicionan. Sonará un chasquido que indica que la abrazadera de la celda de flujo está en posición segura.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 38 DE: 46




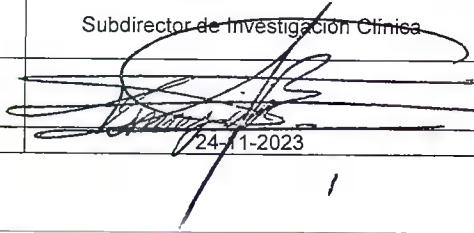
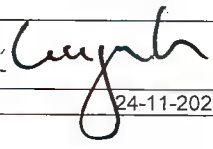
Figura 17: Cierre de la abrazadera de la celda de flujo



1. Si el software no identifica el identificador por radio frecuencia (RFID) de la celda de flujo, consulte *Resolución del error de lectura de RFID*.
2. Cerrar la puerta del compartimento de la celda de flujo.
3. Seleccionar Next (Siguiente).

Carga de reactivos

Carga de PR2 y comprobación de la botella de residuos

1. Retirar la botella de PR2 del almacenamiento a entre 2 y 8 °C. Invertir para mezclar el contenido y luego retirar la tapa.
2. Abrir la puerta del compartimento de reactivos.
3. Levantar el mango del dispensador hasta que se quede fijo en su sitio.
4. Retirar la botella de lavado y cargar la botella de PR2.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 39 DE: 46

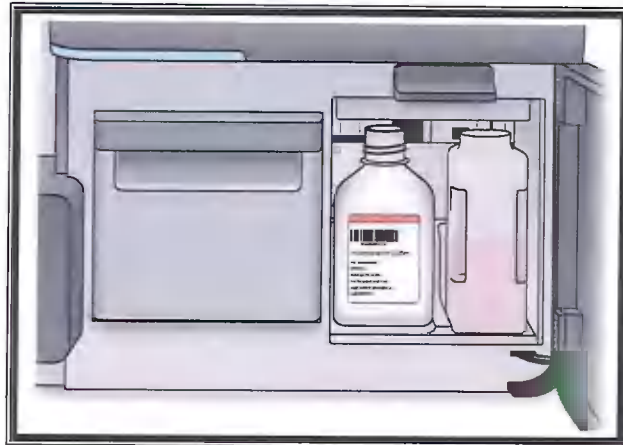


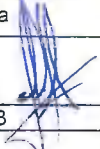
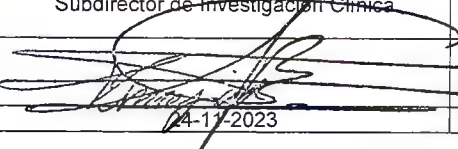
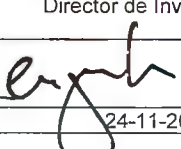
Figura 18: Cargue la botella de PR2.



1. Vaciar el contenido de la botella de residuos en el contenedor de residuos apropiado.
2. Bajar lentamente el mango del dispensador. Revisar que los dispensadores bajan a las botellas de PR2 y de residuos.



Figura 19: Baje el mango del dispensador

3. Seleccionar Next (Siguiete).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 40 DE: 46

Carga del cartucho de reactivos

1. Abrir la puerta del refrigerador de reactivos.

Nota: No deje la puerta del refrigerador de reactivos abierta durante periodos prolongados.

2. Sujetar el cartucho de reactivos por el extremo que tiene la etiqueta de Illumina e introducir en el refrigerador de reactivos hasta que el cartucho se detenga.
3. Utilizar siempre el cartucho de reactivos asociado al tipo de celda de flujo que ha cargado. Si el cartucho de reactivos no es compatible, aparece un mensaje en la pantalla. Seleccionar Back (Atrás) para cargar el cartucho de reactivos correspondiente o seleccione Home (Inicio) para volver a la pantalla Home (Inicio).

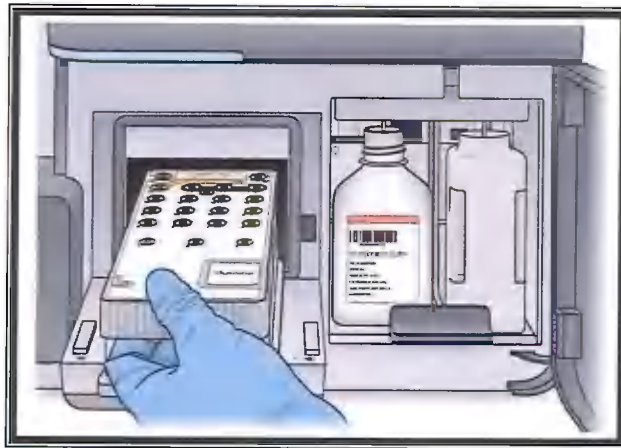
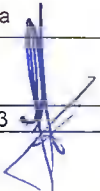
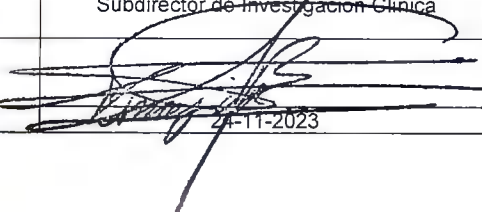
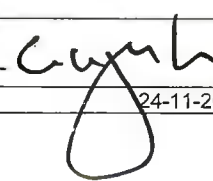




Figura 20: Cargue el cartucho de reactivos

4. Cerrar la puerta del refrigerador de reactivos.
5. Si el cartucho de reactivos no es compatible con la celda de flujo, aparecerá un mensaje. Seleccionar Back (Atrás) para cargar un cartucho compatible o seleccionar Exit (Salir) para volver a la pantalla Home (Inicio).
6. Cerrar la puerta del compartimento de reactivos.
7. Seleccionar Next (Siguiente).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 41 DE: 46

Inicio del experimento

Tras cargar la celda de flujo y los reactivos, repase los parámetros del experimento.

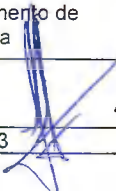
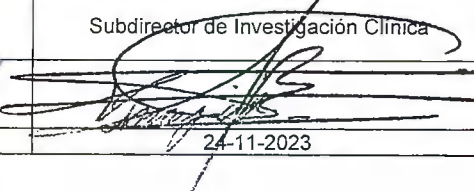
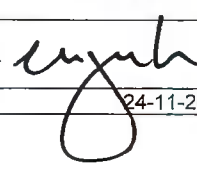
Realización de un lavado posterior al experimento



1. El lavado posterior al experimento es la forma de lavado estándar del instrumento que se lleva a cabo entre experimentos de secuenciación.
2. Llevar a cabo siempre un lavado del instrumento después de terminar un experimento.
3. Seguir las indicaciones del software para cargar los componentes del lavado y realizar dicho lavado.
4. El lavado posterior al experimento dura aproximadamente 20 minutos
5. Iniciar el lavado justamente después de finalizar un experimento.
6. Debe lavar el instrumento antes de configurar el experimento siguiente.
7. Para realizar un lavado posterior al experimento en otro momento que no sea justo después de un experimento, utilizar el comando de la pantalla Perform Wash (Realizar lavado) para iniciar dicho lavado.

Nota: Dejar la celda de flujo usada en el instrumento. Debe haber una celda de flujo cargada en el instrumento para llevar a cabo un lavado del instrumento.

Procedimiento de lavado

1. Preparar una solución de lavado nueva con Tween 20 (0.5 %) y agua:
2. Preparar los componentes de lavado con solución de lavado nueva:
 - a. Añadir 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b. Añadir 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
3. Una vez finalizado el experimento, seleccionar Start Wash (Iniciar lavado).
4. Introducir la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope, a continuación, cerrar la puerta del refrigerador de reactivos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 42 DE: 46

5. Levantar el mango del dispensador delante de la botella de PR2 y de la botella de residuos hasta que quede bloqueado en su sitio.
6. Retirar la botella de PR2 y sustituirla por la botella de lavado.
7. Retirar la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Devolver la botella de residuos al compartimento de reactivos.
8. Bajar despacio el mango del dispensador y revisar que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
9. Cerrar la puerta del compartimento de reactivos.
10. Seleccionar Next (Siguiente).
11. Cuando el lavado haya finalizado, deje en el instrumento la celda de flujo usada, la bandeja de lavado y la botella de lavado con la solución de lavado sobrante.

Mantenimiento


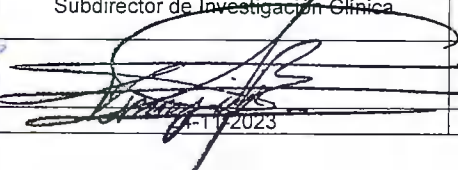
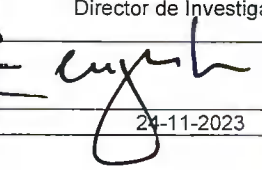
Realización de un lavado de mantenimiento

Realizar un lavado cada 30 días para mantener el rendimiento del sistema.

El lavado de mantenimiento tarda en torno a 90 minutos en completarse. El lavado comprende una serie de tres pasos de lavado que purgan completamente el sistema.

Procedimiento de lavado

1. Revisar que haya una celda de flujo usada cargada en el instrumento.
2. En la pantalla Home (Inicio), seleccionar Perform Wash (Realizar lavado).
3. En la pantalla Perform Wash (Realizar lavado), seleccionar Perform Maintenance Wash (Realizar lavado de mantenimiento).
4. El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 43 DE: 46



Realización del primer lavado

1. Preparar una solución de lavado nueva con Tween 20 (0.5 %) y agua.
2. Preparar los componentes de lavado con solución de lavado nueva:
 - a. Añadir 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b. Añadir 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
3. Cargar la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento:
 - a. Abrir la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos y extraiga la bandeja de lavado o el cartucho de reactivos utilizados del refrigerador.
 - b. Introducir la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cerrar la puerta del refrigerador de reactivos.
 - c. Levantar el mango del dispensador situado frente a la botella de PR2 y la botella de residuos hasta que quede bloqueado en su sitio y sustituir la botella de PR2 por la botella de lavado.

Nota: Desechar la botella de PR2 después de cada experimento. No reutilizar el PR2 restante.

- d. Retirar la botella de residuos y desechar el contenido de manera adecuada. Devolver la botella de residuos al compartimento de reactivos.
 - e. Bajar despacio el mango del dispensador y revisar que los dispensadores descendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - f. Cerrar la puerta del compartimento de reactivos.
4. Seleccionar Next (Siguiete). Comenzará el primer lavado.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 44 DE: 46

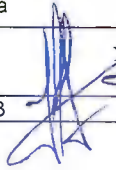
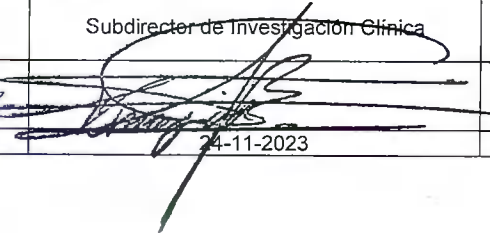
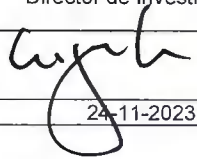
REALIZACIÓN DEL SEGUNDO LAVADO



Utilizar siempre solución de lavado nueva para cada paso de lavado. La reutilización de la solución de lavado de un lavado anterior puede devolver residuos a los conductos de fluidica.

1. Preparar una solución de lavado nueva con Tween 20 (0.5 %) y agua.
2. Cuando se finalice el primer lavado, retirar la bandeja de lavado y la botella de lavado y desechar la solución de lavado restante.
3. Rellenar los componentes de lavado con solución de lavado nueva de la siguiente forma:
 - a. Añadir 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b. Añadir 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
4. Cargar la bandeja de lavado y la botella de lavado como se explica a continuación:
 - a. Introducir la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cerrar la puerta del refrigerador de reactivos.
 - b. Cargar la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador; revisar que los dispensadores descendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - c. Cerrar la puerta del compartimento de reactivos.
5. Seleccionar Next (Siguiete). Comenzará el segundo lavado.

REALIZACIÓN DEL LAVADO FINAL

1. Preparar una solución de lavado nueva con Tween 20 (0.5 %) y agua.
2. Cuando se haya finalizado el segundo lavado, retirar la bandeja de lavado y la botella de lavado y desechar la solución de lavado restante.
3. Rellenar los componentes de lavado con solución de lavado nueva:
 - a. Añadir 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b. Añadir 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 45 DE: 46


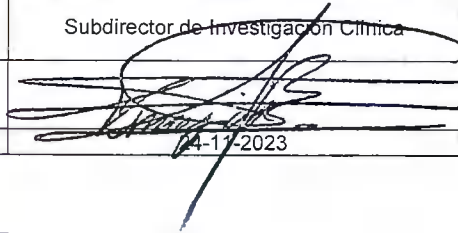
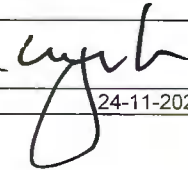
4. Cargar la bandeja de lavado y la botella de lavado:
 - a. Introducir la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cerrar la puerta del refrigerador de reactivos.
 - b. Cargar la botella de lavado y bajar despacio el mango del dispensador; revisar que los dispensadores descendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - c. Cerrar la puerta del compartimento de reactivos.
5. Seleccionar Next (Siguiete). Comenzará el lavado final.



DESPUÉS DEL LAVADO

Cuando el lavado haya finalizado, deje en el instrumento la celda de flujo usada, la bandeja de lavado y la botella de lavado con la solución de lavado sobrante.

REALIZACIÓN DE UN LAVADO EN MODO EN ESPERA


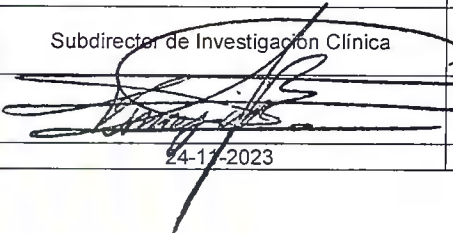
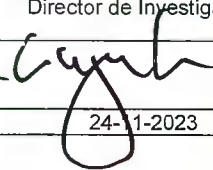
1. Cuando no tenga previsto utilizar el instrumento en los siguientes siete días, preparar el instrumento y los conductos de fluidica de este para que permanezca inactivo realizando un lavado en modo en espera.
2. Realizar un lavado en modo en espera cada 30 días si el instrumento permanece inactivo.
3. El lavado en modo en espera tarda aproximadamente dos horas en completarse.
4. El lavado realiza dos lavados consecutivos que enjuagan cada posición para limpiar el sistema de cualquier residuo de reactivos o acumulación de sales.
5. Cada lavado tarda aproximadamente 60 minutos.
6. Cuando el lavado en modo en espera haya finalizado, el instrumento estará en modo en espera y aparecerá un mensaje en la pantalla Home (Inicio) indicando el estado del instrumento.
7. Cuando el instrumento está en modo en espera, es preciso realizar un lavado de mantenimiento antes de iniciar un experimento de secuenciación.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	8. Procedimiento Técnico para Realizar Secuenciación del Virus SARS-COV-2 Mediante el Sistema Illumina COVIDSEQ ASSAY		HOJA: 46 DE: 46

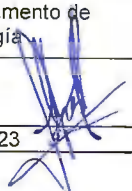
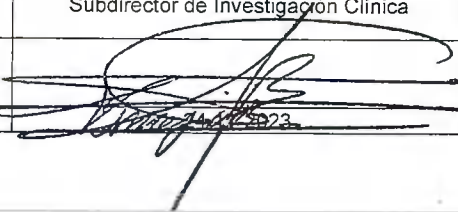
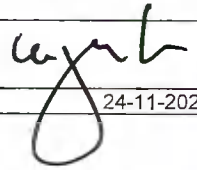
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN



Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 1 DE: 14

9. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE IgG, IgA E IgM ANTI-Histoplasma capsulatum POR ELISA

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 2 DE: 14

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Procedimiento para determinación de anticuerpos IgG, IgA e IgM anti-Histoplasma capsulatum por ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA, por sus siglas en inglés).

2.0 OBJETIVO

El presente procedimiento describe las actividades para realizar la determinación de anticuerpos de los tipos IgG, IgA e IgM contra *Histoplasma capsulatum* en muestras de suero de las personas con afecciones que provoquen inmunocompromiso como infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana, cáncer y candidatos y/o candidatas a trasplante entre otros.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

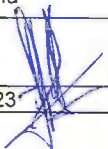
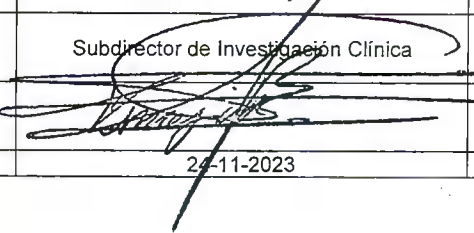
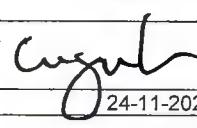
Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. La responsable y/o el responsable del área de Serología debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

1. Guantes de nitrilo.
2. Puntas de 0.1-200µl, 0.5-10µl, 100-1000µl.
3. Placas de 96 pozos para ELISA, tipo maxisorp, con certificado de calidad.
4. Tubos para microcentrifuga de 1.5 ml.
5. Tubos cónicos de 15 ml con tapón de rosca.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

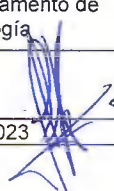
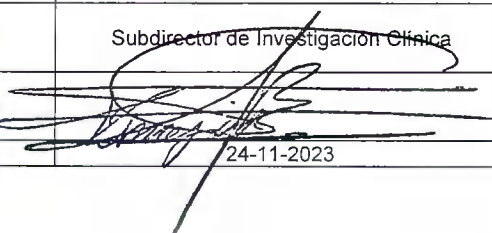
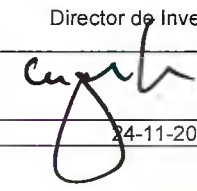
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 3 DE: 14



4.2 Accesorios y equipo de laboratorio

1. Lector de microplacas de ELISA (espectrofotómetro).
2. Lavador de microplacas de ELISA.
3. Balanza analítica.
4. Incubadora.
5. Congelador a -20°C.
6. Ultracongelador a -70°C.
7. Refrigerador a 4°C.
8. Micropipetas automáticas de 0.1-200µl, 0.5-10µl y 100-1000µl.
9. Guantes criogénicos.

4.3 Reactivos

1. Anticuerpo de conejo anti-IgG humana conjugado con peroxidasa (Anti-IgG/OPD).
2. Anticuerpo de conejo anti-IgA humana conjugado con peroxidasa (Anti-IgA/OPD).
3. Anticuerpo de conejo anti-IgM humana conjugado con peroxidasa (Anti-IgM7OPD).
4. Antígeno crudo de Histoplasma capsulatum (proporcionado por la UNAM).
5. Sueros control positivos y negativos generados de personas beneficiarias con respuesta positiva y negativa al antígeno de Histoplasma capsulatum.
6. Sustrato para peroxidasa: Dihidrocloruro de o-fenilendiamina en tabletas de 5mg (OPD).
7. Carbonato de sodio Na₂CO₃.
8. Bicarbonato de sodio NaHCO₃.
9. Cloruro de Sodio NaCl.
10. Fosfato de sodio monobásico hidratado NaH₂PO₄-H₂O.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 4 DE: 14

11. Fosfato de sodio dibásico heptahidratado Na₂HPO₄-7H₂O.

12. Ácido cítrico C₆H₈O₇.

13. Albúmina Sérica Bovina BSA.

14. Polietilenglicol PEG.

15. Tween 20.

16. Peróxido de Hidrogeno H₂O₂.

17. Ácido Sulfúrico (H₂SO₄).

18. H₂O bidestilada.


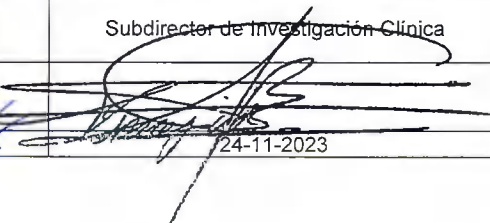
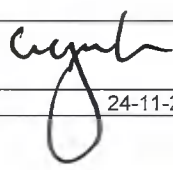
4.4 Preparación de Soluciones



1. Solución de carbonatos 0.05M, pH 9.6 (preparar cada 2 semanas)

Na ₂ CO ₃	0.795g
NaHCO ₃	1.465g
H ₂ O bidestilada	300mL
Ajustar pH	9.6
H ₂ O cbp	500mL

2. Solución Salina de Fosfatos (PBS) 10X, 1.45/0.085/0.015M, pH 7.4 o pH 6.8 (preparar cada mes)

NaCl	85.0g
Na ₂ HPO ₄ -7H ₂ O	22.79g
NaH ₂ PO ₄ -H ₂ O	2.07g
H ₂ O	700mL
Ajustar pH	7.4 ó 6.8
H ₂ O cbp	1000mL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 5 DE: 14

3. Solución Salina de Fosfatos (PBS) 1X

PBS 10X	100ml
H2O cbp	1000mL

4. Solución de lavado 10X: NaCl 1.45M/Tween 20 5% (preparar cada mes)

NaCl	85g
Tween 20	50 mL
H2O bidestilada	1000m

5. Solución de lavado 1X

Solución de lavado 10X	100ml
H2O cbp	1000mL

6. Solución de Incubación: BSA 0.5%/Tween 20 0.5%/PEG 0.005% (preparar cada 2 semanas)

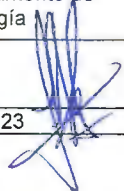
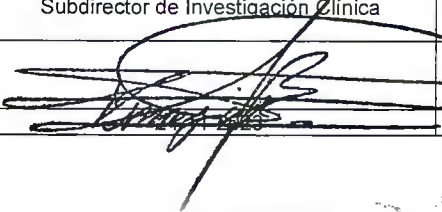
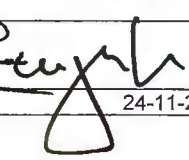
PBS 1X	1000mL
BSA	5g
Tween 20	5mL
PEG	50µl




7. Solución de Bloqueo: BSA 1%

BSA	1gr
Solución de Incubación	100ml

8. Solución de Citratos pH 5.5

Ácido cítrico	0.730gr
Na2HPO4	1.18 gr
H2O bidestilada	100mL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023		24-11-2023

 	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 6 DE: 14

9. Solución de sustrato (se prepara en el momento de uso)

Solución de citratos	5ml
OPD	1 tableta
H2O2	5µl

10. Solución de Paro, 2N

H2O bidestilada	50ml
H2SO4	5.4ml
H2O bidestilada cbp	100mL

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2): Área de Serología.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

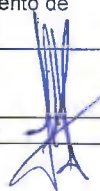
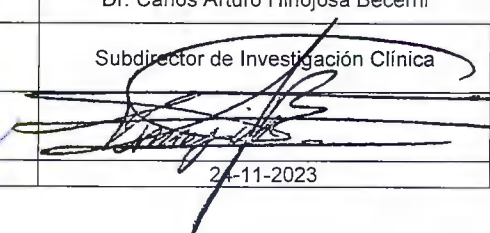
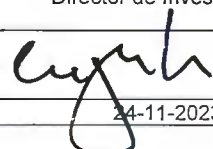
Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo
D.O.F. 17-II-2003 y sus reformas



Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos
D.O.F. 27-III-2012

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

7.1 Muestras Clínicas

Se procesan las muestras clínicas de suero o plasma recibidas en el laboratorio de la Unidad de Toma de Muestra, Laboratorio Central y otras Instituciones de Salud.

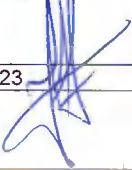
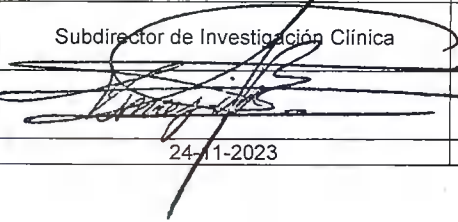
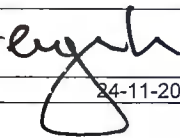
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 7 DE: 14

7.1.1 Recepción de la muestra

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista:

1. Verificar que la muestra esté perfectamente identificada y etiquetada, conteniendo en la etiqueta el nombre completo de la persona beneficiaria, número de registro y fecha de la toma.
 - a. Si la muestra no tiene número de registro verificar que esté acompañada por la solicitud correspondiente con los datos completos de la persona beneficiaria y médico que lo solicita.
 - b. Si la muestra proviene de otra institución de salud verificar que esté acompañada con la hoja de referencia de la institución correspondiente sellada por la Coordinación de Servicios Subrogados del Departamento de Tesorería del Instituto.
2. Rechazar la muestra si presenta alguno de los siguientes factores:
 - a. Muestra lipémica.
 - b. Muestra hemolizada.
 - c. Muestra mal etiquetada.
 - d. Volumen menor a 1 ml.
 - e. Presencia de micropartículas.
3. Cuando rechaza la muestra debe comunicarlo a la unidad de envío correspondiente para solicitud de nueva muestra.
4. Registrar la muestra en la bitácora de recepción de muestras y le asigna número de identificación de laboratorio (ID).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 8 DE: 14

7.2 Procedimiento de la prueba

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista:

1. Sensibilizar la microplaca:

- a. En un tubo de 15 ml prepara el antígeno con una concentración de 5 µg/ml, colocando 10 ml de solución de carbonatos y agregándole 50µg del antígeno, mezcla suavemente.
- b. En una microplaca de ELISA de 96 pozos agrega 100µl por pozo del antígeno en solución preparado y coloca una mica adhesiva para sellar la placa y prevenir evaporación.
- c. Incubar a 28-30°C por 16 h para que el antígeno se adsorba a la superficie de cada pozo.

2. Preparar las muestras:

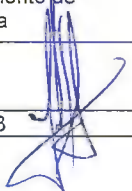
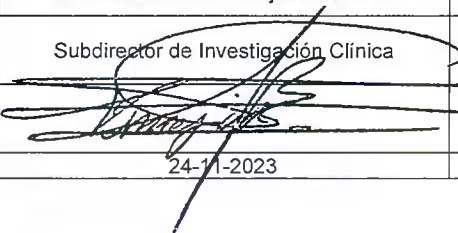
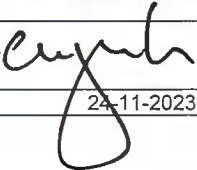
- a. En un tubo de microcentrifuga de 1.5 ml diluye la muestra 1:10, colocando 585µl de la solución de incubación y agregándole 65µl de la muestra, se pueden probar hasta 5 muestras por placa.



3. Preparar los controles:

- a. Blanco (BCO): solución de incubación.
- b. Positivo medio (Cm+): descongela una alícuota del suero control positivo medio y la diluye en solución de incubación de acuerdo a su título.
- c. Positivo alto (Ca+): descongela una alícuota del suero control positivo alto y la diluye en solución de incubación de acuerdo a su título.
- d. Negativo: descongela una alícuota del suero control negativo y la diluye 1:10 en solución de incubación.

4. Preparar las microplacas sensibilizadas para llevar a cabo la reacción antígeno-anticuerpo:

- a. Eliminar la solución de antígeno/carbonatos sacudiendo la placa suavemente
- b. Adicionar 100µl de solución de bloqueo a cada pozo, para eliminar reacciones inespecíficas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023


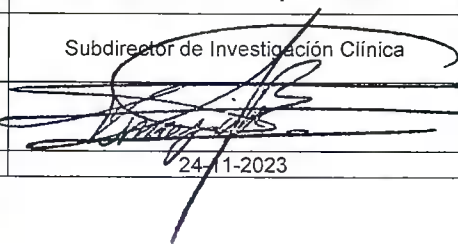
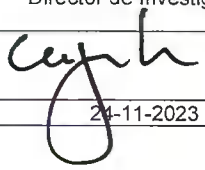
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 9 DE: 14



- c. Incubar 60 min a 37°C.
- d. Lavar la microplaca 4 veces en el lavador de placas con 300µl/pozo de solución de lavado.
- e. Adicionar las muestras y los controles, 100µl/pozo:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Cm+	Cm+	M3	Cm+	Cm+	M3	Cm+	Cm+	M3		
C		Ca+	Ca+	M3	Ca+	Ca+	M3	Ca+	Ca+	M3		
D		C-	C-	M4	C-	C-	M4	C-	C-	M4		
E		BCO	BCO	M4	BCO	BCO	M4	BCO	BCO	M4		
F		M1	M1	M5	M1	M1	M5	M1	M1	M5		
G		M2	M2	M5	M2	M2	M5	M2	M2	M5		
H												

Tabla 1: Distribución de Controles y Muestras

- f. Cubrir con una mica adhesiva e incuba 2 h a 28-30°C.
5. Adicionar los conjugados policlonales anti-IgG, anti-IgA y anti-IgM humanos marcados con peroxidasa.
- a. Preparar cada conjugado por separado, diluyendo 1:2000 en solución de incubación; en un tubo cónico coloca 1999µl y añade 1µl del conjugado, esta cantidad es suficiente para una microplaca (multiplica por el número de microplacas).
 - b. Lavar la microplaca 6 veces en el lavador de placas con 300µl/pozo de solución de lavado.
 - c. Remover el exceso de solución de lavado invirtiendo la placa sobre una toalla absorbente, golpeándola suavemente.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 10 DE: 14

d. Adicionar 100µl de del conjugado correspondiente como se indica:

- ✓ Anti-IgG/OPD: Columnas 2 a 4, Filas B a G.
- ✓ Anti-IgA/OPD: Columnas 5 a 7, Filas B a G.
- ✓ Anti-IgM/OPD: Columnas 8 a 10, Filas B a G.

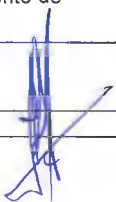
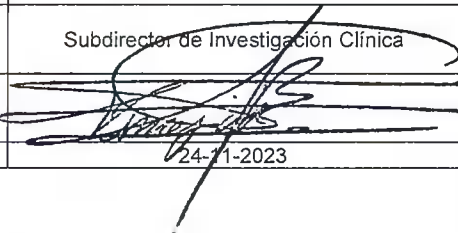
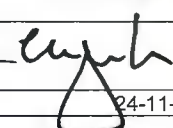
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		Anti-IgG/OPD			Anti-IgA/OPD			Anti-IgM/OPD				
B		Cm+	Cm+	M3	Cm+	Cm+	M3	Cm+	Cm+	M3		
C		Ca+	Ca+	M3	Ca+	Ca+	M3	Ca+	Ca+	M3		
D		C-	C-	M4	C-	C-	M4	C-	C-	M4		
E		BCO	BCO	M4	BCO	BCO	M4	BCO	BCO	M4		
F		M1	M1	M5	M1	M1	M5	M1	M1	M5		
G		M2	M2	M5	M2	M2	M5	M2	M2	M5		
H												



Tabla 2: Adición de los Conjugados Policlonales

e. Cubrir con una mica adhesiva e incuba por 2hr a 37°C.

6. Adición de sustrato:

- a. Preparar la solución de sustrato con concentración con OPD a una concentración de 1mg/ml. La solución debe estar a temperatura ambiente.
- b. Lavar la microplaca 5 veces en el lavador de placas con 300µl/pozo de solución de lavado.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 11 DE: 14

- c. Remover el exceso de solución de lavado invirtiendo la placa sobre una toalla absorbente y golpeándola suavemente.
- d. Adicionar 100µl de solución sustrato a cada pozo.
- e. Incubar 10min a temperatura ambiente evitando la exposición a la luz.
- f. Detener la reacción con 50µl7pozo de solución de paro.

7. Medir de Densidad Óptica (DO):

- a. Colocar la microplaca en el espectrofotómetro para medir la DO a una longitud de onda de 450 nm; el rango lineal del espectrofotómetro debe ser entre 0.1 y 2.
- b. Considerar la prueba como válida cuando las DO de los controles son:
 - ✓ Control positivo DO>0.25
 - ✓ Control negativo DO<0.25
 - ✓ Blanco DO<0.2

7.3 Resultados

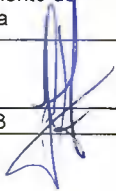
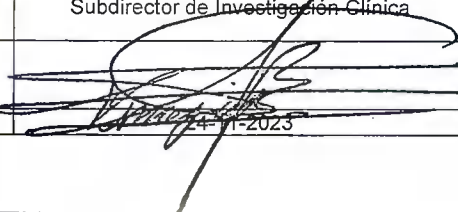
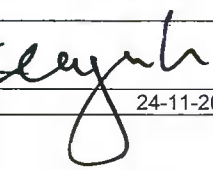
La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:



1. Determinar las Unidades Internacionales (UI) para cada suero, basándose en la curva de respuesta de los sueros de referencia y compararlo con los controles.
2. Utilizar como referencia el programa Unit Calc Software desarrollado por R. Mollby para el cálculo de UI.

Criterios de aceptación de los resultados:

Calcular las UI cuando los siguientes criterios se cumplen:

- ✓ Se genera una línea recta al graficar 4 o más de los valores obtenidos en la curva dosis-respuesta de los sueros (diluciones).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 12 DE: 14

- ✓ El coeficiente de regresión en la recta previa debe ser mayor o igual a 0.95.
- ✓ La pendiente de la recta debe ser mayor o igual a 0.5; o menor a dos veces el valor de la pendiente de la línea recta correspondiente a los sueros de referencia.
- ✓ Si el valor de DO de alguna dilución es mayor a su dilución previa, esta puede ser excluida manualmente y se realizará un nuevo cálculo.

3. Criterios para repetir un ensayo:

Trazar una curva control de los sueros de referencia y sueros control. Los límites como punto de corte serán determinados como la media total $\pm 2SD$, (para la media de los valores de cada suero, obtenidos de 15 ensayos acumulados).

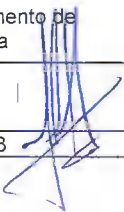
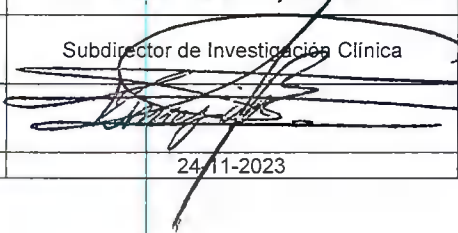
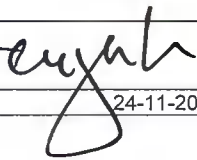
- ✓ Si la media de los valores de los controles, excede los límites de punto de corte; el ensayo se repite. (en caso de que sea solo 1 control de una microplaca el que se encuentra fuera y al excluir este valor, los resultados están dentro de los límites, se repetirá solo esta microplaca).
- ✓ Si el control de 1 sola microplaca excede los límites de punto de corte, los sueros serán repetidos por duplicado.
- ✓ Si los sueros de referencia de una microplaca se encuentran fuera de límites, la microplaca se repite.
- ✓ Si problemas técnicos obvios ocurren durante el proceso, la microplaca se repite.
- ✓ Si la densidad óptica de fondo es mayor a 0.15, la microplaca se repite.



4. Determinación de una muestra como positiva:

Determinar una muestra como positiva cuando se obtenga por lo menos 4 veces el valor de nivel mínimo de detección, considerando un coeficiente de variación menor a 25% para esa muestra. 20 datos individuales de ensayos son graficados para estimar el nivel mínimo de detección.

5. Interpretación de Resultados:

- ✓ Muy bajo nivel de anticuerpos: 2 UI.
- ✓ Muy alto nivel de anticuerpos, repetir la muestra con diluciones seriadas base 10.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 13 DE: 14

6. Reporte de Resultados:

- ✓ Registrar los resultados obtenidos en las bitacoras correspondientes y/o base de datos; siempre y cuando, de acuerdo a los criterios de aceptación, la muestra se válida.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

La inclusión de sueros control y de referencia cada vez que se realiza la prueba determina la validez de los procesos y resultados, con lo que se evita el reporte de resultados falsos positivos o falsos negativos para las personas beneficiarias.


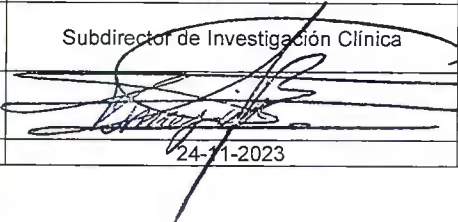
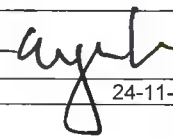
9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS



- 9.1 Anti-Histoplasma capsulatum:** Anticuerpos específicos contra el hongo Histoplasma capsulatum.
- 9.2 ID:** Número de identificación de laboratorio.
- 9.3 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

ELISA for early diagnosis of histoplasmosis Allan Jefferson Guimaraes,¹ Claudia Vera Pizzini,¹ Herbert Leonel de Matos Guedes,¹ Priscila Costa Albuquerque,¹ Jose´ Mauro Peralta,² Andrew John Hamilton³ and Rosely Maria Zancopé´-Oliveira¹, Journal of Medical Microbiology (2004), 53, 509–514.

Diagnosis of Acute Pulmonary Histoplasmosis by Antigen Detection S. Swartzentruber,¹ L. Rhodes,² K. Kurkjian,^{3,4} M. Zahn,⁵ M. E. Brandt,⁴ P. Connolly,¹ and L. J. Wheat¹ 1 MiraVista Diagnostics and MiraBella Technologies, Indianapolis, Indiana; 2 Lehigh Valley Hospital, Allentown, Pennsylvania; 3 Virginia Department of Health, Richmond; 4 Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia; and 5 University of Louisville, Louisville, Kentuck. CID 2009;49 (15 December).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	9. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de IGG, IGA E IGM ANTI- Histoplasma Capsulatum por ELISA		HOJA: 14 DE: 14

Detection and identification of the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*: from conventional to molecular methods, César O. Muñoz¹, Luz E. Cano¹, Angel González¹. Infectio. 2010; 14(S2): S145-S158.

Diagnosis of histoplasmosis in immunosuppressed patients Carol A. Kauffman; Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins; 2008, 0951-7375.

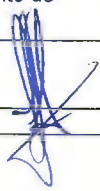
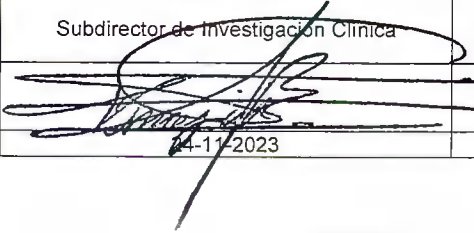
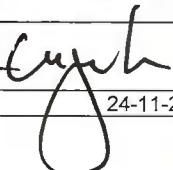
Phplate Microplate techniques AB, Nobels väg 12^a, SE-171 77 Stockholm, Sweden.



11.0 FORMATOS Y ANEXOS

No aplica.

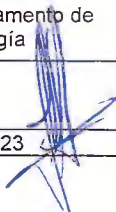
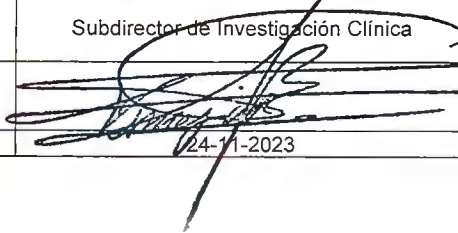
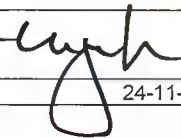
12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN



Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 1 DE: 21

10. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE VIRUELA SÍMICA POR RT-PCR EN TIEMPO REAL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 2 DE: 21

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

El procedimiento establece el desarrollo del protocolo para la detección genérica del virus de viruela símica por transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT-PCR o RT-PCR en tiempo real).

2.0 OBJETIVO

El presente procedimiento describe el uso de iniciadores y sondas de hidrólisis para amplificar un fragmento de la región codificante para la proteína CrmB del virus de la viruela símica (VVS) o monkeypox virus (MPXV). En la misma reacción se incluyen iniciadores y sondas para RNAsA_P humana como control de reacción.

El procedimiento incluye las actividades para la detección cualitativa del VVS a partir de muestras clínicas obtenidas por hisopado de lesiones cutáneas en piel (vesículas y/o pústulas), costras y exudado faríngeo u orofaríngeo de las personas beneficiarias.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA


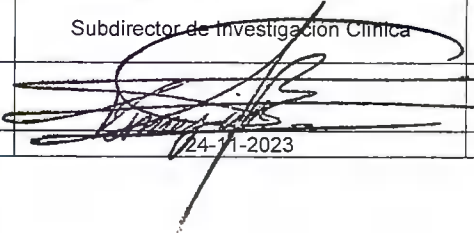
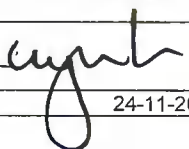
Las servidoras y/o servidores públicos de salud que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.



1. La responsable y/o el responsable del área de Biología Molecular debe confirmar que se cumpla con lo descrito en este procedimiento.
2. Es responsabilidad de las Químicas y/o los Químicos, las y/o los Laboratoristas y las Técnicas y/o los Técnicos Laboratoristas cumplir con lo descrito en este procedimiento

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

4.1 Insumos desechables y material de laboratorio

1. Guantes de nitrilo.
2. Bata desechable de manga larga.
3. Respiradores NIOSH N95 o N100.
4. Lentes con protección lateral (goggles).
5. Pinzas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

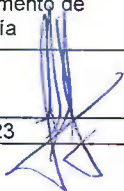
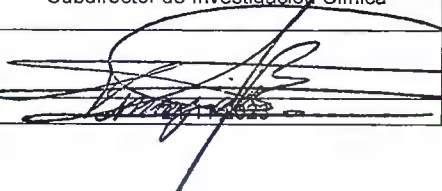
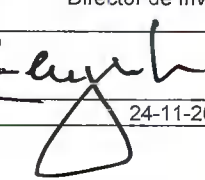
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 3 DE: 21



6. Tubos cónicos de polipropileno estériles con tapa de rosca de 15 ml.
7. Tubos para microcentrifuga libres de nucleasas de 1.5 ml.
8. Puntas con filtro de 0.1-200µl, 0.5-10µl, 100-1000µl.
9. Gradilla de policetona para tubos de 15 ml.
10. Gradilla de enfriamiento para tubos de 1.5 ml y placas de 96 pozos.
11. Caja de almacenamiento para tubos para microcentrifuga de 1.5ml a temperaturas de hasta -70° C.
12. Hisopos con punta de nylon y vástago de plástico con muesca de quiebre, estériles.
13. Contenedor cilíndrico de polipropileno con tapa de rosca de 1L.
14. Toallas desinfectantes o gasas impregnadas en desinfectante cuaternario de amonio.
15. Bolsa de transporte para muestras biológicas infecciosas con material absorbente.
16. Bolsa de polipropileno, esterilizable por autoclave para residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI).
17. Material para transporte en triple embalaje (contenedor secundario, refrigerantes, contenedor externo).
18. Placas de reacción MicroAmp Fast Optical de 96 pozos con código de barras, de 0.1 ml.
19. Tapas ópticas MicroAmp, tira de 8 tapas para placas de 96 pozos.

4.2 Accesorios y equipo de laboratorio

Equipo de extracción KingFisher Flex Purification System con consumibles:

1. Placas de pozo profundo.
2. Placas con peines.
3. Placas de elución.
4. Termocicladores de Tiempo Real 7500 Real Time PCR System y QuantStudio 5.
5. Campana de flujo laminar Clase II Tipo A2.
6. Microcentrifuga (1,000 a 3,000 rpm).

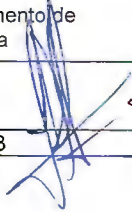
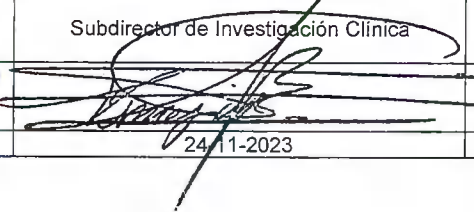

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 4 DE: 21

7. Centrifuga de placas.
8. Ultracongelador a -70°C.
9. Refrigerador a 4°C.
10. Micropipetas automáticas de 0.1-200µl, 0.5-10µl, 100-1000µl.
11. Guantes criogénicos.
12. Hielera de transporte con refrigerantes congelados.
13. Vortex.
14. Bloque de enfriamiento para microtubos de polipropileno con capacidad de 1500 / 2000 µL.
15. Bloque de enfriamiento para placas y tiras de tubos.

4.3 Reactivos

1. Medio de Transporte Viral (MTV).
2. Kit de extracción MagMAX Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation.
 - ✓ Solución de unión.
 - ✓ Buffer de lavado.
 - ✓ Solución de elución.
 - ✓ Proteinasa K.
 - ✓ Perlas magnéticas.
3. Kit PoxVirDetect Duplex GENES2LIFE que contiene:
 - ✓ Mezcla de iniciadores PoxVirDetect DP primer mix.
 - ✓ Mezcla de reacción Star Q 5X.
 - ✓ Control sintético positivo C-PoxVirDetect.
 - ✓ Agua libre de nucleasasa.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 5 DE: 21

4. Alcohol etílico absoluto (100%).
5. H2O libre de DNAsas y RNAsas.
6. Solución de alcohol etílico al 70% para desinfección (EtOH 70%).
7. Solución de hipoclorito de sodio al 5% para decontaminación de residuos RPBI (NaClO al 5%).
8. Solución detergente con sales cuaternarias de amonio para desinfección.

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

Laboratorios del Piso 8 de la UPA, Nivel de Bioseguridad 2 (BSL-2): BSL-2-plus, área de Extracción 1.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-137-SSA1-2008, Etiquetado de dispositivos médicos
D.O.F. 12-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica.
D.O.F. 19-II-2013

Ley General de Salud
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

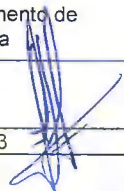
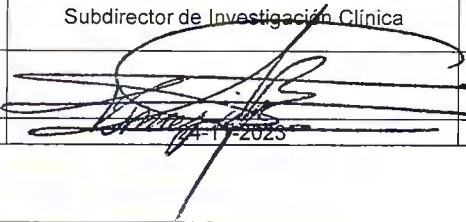
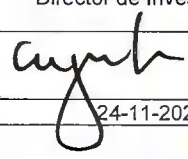
7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO



7.1 Muestras Clínicas

7.1.1 Muestras Internas

1. Epidemiología Hospitalaria registra a la persona beneficiaria en el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) que depende de la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud.

✓ El acceso al sistema se realiza con clave asignada por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 6 DE: 21


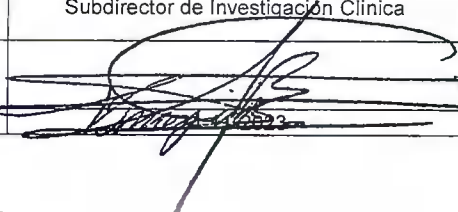
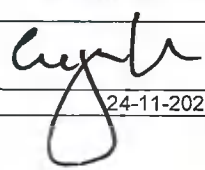
- ✓ Las muestras son tomadas por personal entrenado que NO pertenece al laboratorio, en un consultorio designado para ello en el 5° piso de la UPA.
- ✓ El laboratorio le proporciona al personal encargado del proceso el kit para toma de muestra que consiste de un tubo de MTV y 2 hisopos con punta de nylon.



1. Los hisopos de lesiones cutáneas, las costras, exudados, no deben mezclarse en el mismo tubo.
2. Las muestras deben mantenerse en frío desde la primera hora de recolección.
3. Una vez tomadas las muestras, los tubos deben colocarse dentro de una bolsa de transporte para muestras biológicas infecciosas con material absorbente suficiente para que absorba todo el líquido en caso de fuga o rotura.
4. La bolsa debe cerrarse y desinfectarse con toallas desinfectantes o utilizando gasas impregnadas en desinfectante cuaternario de amonio antes de colocarse en la hielera conteniendo refrigerantes congelados.
5. Transportar siempre de manera vertical.
6. Si las muestras no son enviadas al laboratorio para su proceso inmediato, se almacena a 4-8°C hasta por 5 días.
7. Si el tiempo de transporte hasta el análisis de la muestra es superior a 5 días, se almacena a -20 °C o menos. Se recomienda el almacenamiento de muestras a largo plazo a -70 °C (>60 días desde la toma).

7.1.2 Muestras Externas

Las muestras de otras instituciones de salud se reciben con oficio de la institución públicas con los datos completos de la persona beneficiaria.

1. Nombre completo de la persona beneficiaria.
2. Fecha de toma de muestra.
3. Prueba solicitada.
4. No. de folio en SINAVE.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 7 DE: 21

La jurisdicción sanitaria correspondiente para cada institución registra a la persona beneficiaria en el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) que depende de la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud. El INDRE es el responsable de asignar clave de acceso a cada institución.

7.2 Recepción de la muestra

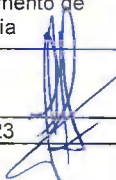
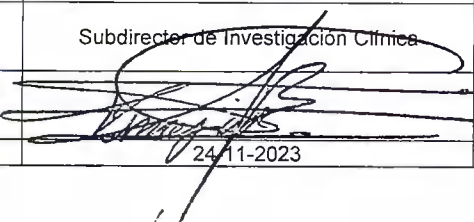
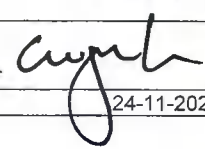
En el área de recepción de muestras de los laboratorios:



La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

1. Colocarse el equipo de protección personal (EPP).
2. Desinfectar la hielera o contenedor de transporte con gasas impregnadas con desinfectante cuaternario de amonio.
3. Revisar que los datos de la persona beneficiaria estén dados de alta en la base de datos digital y en la plataforma de SINAVE. Debe de contar con el ID de la persona beneficiaria, nombre completo, registro, fecha de la toma.
4. Asignar número de identificación de laboratorio a cada persona beneficiaria.

En el área de recepción de muestras de los laboratorios.

5. Abrir la hielera o contenedor y coloca las muestras dentro de la campana de seguridad biológica.
6. Cotejar los datos de la persona beneficiaria registrados en la base de datos con los especificados en las etiquetas de las muestras.
 - a. Nombre completo y legible.
 - b. Fecha de la toma.
 - c. Tipo de muestra.
7. Verificar que la muestra no presente algún factor de rechazo:
 - a. Muestras no etiquetadas o mal etiquetadas.
 - b. Muestras en MTV con volumen insuficiente, menor a 2.0 ml.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 8 DE: 21

- c. Muestras derramadas.
- d. Muestras tomadas con hisopo de algodón.
- e. Muestras que lleguen a temperatura ambiente.
- f. Especímenes no mantenidos a 4-8°C (≤5 días).
- g. Especímenes no congelados a -20° C o menos después de 5 días.
- h. Muestras que no tengan solicitud de laboratorio o que no estén registradas en el sistema digital.

7.3 Separación de la muestra

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

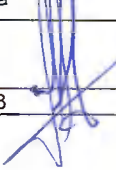
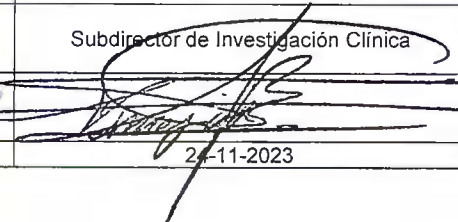
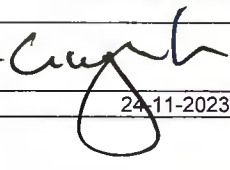
Colocarse el equipo de protección personal (EPP).



En el área de extracción 1:

1. Preparar los tubos para microcentrifuga de 1.5 ml con 400 µl cada uno de solución de unión del kit de extracción, un tubo por muestra, con un plumón indeleble los rotula con el número de laboratorio correspondiente y la fecha, protege el marcado con cinta adhesiva transparente.
2. Los tubos preparados los coloca en una gradilla de polipropileno y los transporta al área BSL-2 Plus, donde los coloca en la campana de seguridad biológica.

En el área BSL2-Plus, en la campana de seguridad biológica:

3. Colocar los tubos con las muestras en una gradilla para tubos de 15 ml.
4. Agitar el tubo con MTV para descargar la muestra del hisopo.
5. Utilizar la micropipeta y puntas con filtro, toma 400 µl de la muestra y los añade a los tubos preparados y rotulados previamente, el volumen final debe ser de 800 µl. Pipetea suavemente con la punta, este proceso inactiva los virus vivos por lisis.
6. El resto de la muestra la resguarda en refrigeración, dentro de un contenedor con tapa de rosca y de manera vertical, hasta que el resultado sea validado y liberado.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 9 DE: 21

7. Limpiar todos los tubos con gasas impregnadas con desinfectante cuaternario de amonio, dejándolo actuar por 15 minutos y posteriormente los limpia con gasas impregnadas en agua.

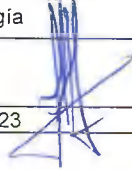
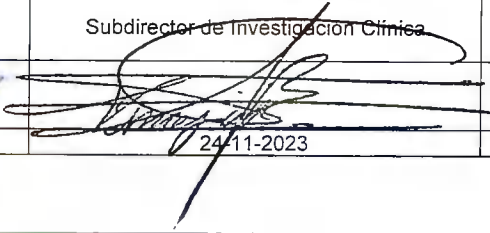
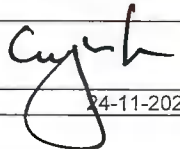
8. Los tubos ya desinfectados con las muestras lisadas se trasladan al área de extracción 1.



7.4 Consideraciones Generales

Debido a la sensibilidad del ensayo, se deben tomar precauciones especiales para evitar amplificaciones falsas positivas:

1. Evitar la contaminación de las muestras

- ✓ Mantener áreas separadas para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos.
- ✓ Mantener equipo separado y específico para la extracción, preparación de la mezcla de reacción y manejo de ácidos nucleicos (pipetas, microcentrifugas, tubos, puntas).
- ✓ Vestir bata de laboratorio en cada área. No ingresar al área de preparación de mezcla de reacción con vestimenta usada en las áreas de extracción y manejo de ácidos nucleicos.
- ✓ Utilizar guantes desechables. Cambiarlos al salir de cada área y cada vez que exista posibilidad de haber sido contaminados.
- ✓ Mantener los reactivos y tubos de reacción tapados tanto como sea posible.
- ✓ Utilizar siempre puntas con filtro.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 10 DE: 21

7.5 Procedimiento de la prueba.

7.5.1 Extracción

Este procedimiento se realiza en el área de extracción 1 con el equipo de extracción KingFisher Flex Purification System (instrumento) y con el kit de extracción MagMAX Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

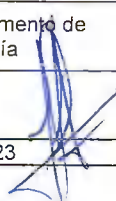
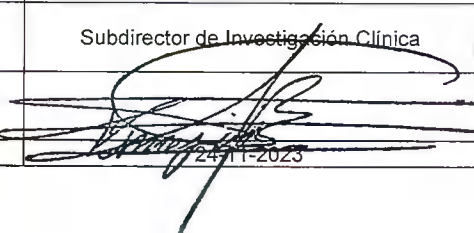
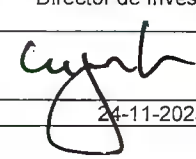
- a) Configurar las placas de lavado, elución y peines fuera del instrumento de acuerdo con la siguiente tabla.



IDENTIFICACION DE LA PLACA	POSICIÓN DE LA PLACA	TIPO DE PLACA	REACTIVO	VOLUMEN POR POZO
Placa de lavado 1	2	Pozo profundo	Buffer de lavado	1 mL
Placa de lavado 2	3	Pozo profundo	80% Etanol	1 mL
Placa de lavado 3	4	Pozo profundo	80% Etanol	500 uL
Placa de elución	5	Pozo profundo	Solución de elución	50-100 uL
Placa con peines	6	Coloque un peine de punta de 96 pozos profundos en una placa estándar		

Tabla1: Identificación de la placa

b) Preparar la placa de muestras (templado)

- ✓ Desinfectar las superficies de la campana de flujo laminar con EtOH al 70%.
 - ✓ Esterilizar con luz ultravioleta.
 - ✓ Limpiar las superficies externas de todos los insumos con EtOH al 70% e introducirlos en la campana de flujo laminar junto con las muestras en una gradilla.
1. Agregar 10 µl de proteinasa K a cada pozo de una placa de 96 pozos de pozo profundo.
 2. Agregar 800 µl de la muestra lisada.
 3. Agregar 20 µl de la mezcla de unión/digestión a cada pozo con muestra.
 4. Seleccionar el programa MVP_Flex en el instrumento.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 11 DE: 21

5. Colocar las placas de lavado, de elución y la placa de peines en la posición correspondiente como lo indica el programa y se indica en la tabla del paso 1. El programa tarda aproximadamente 25 minutos.
6. Una vez terminado el programa, retira la placa de elución (templado) y la cubre con mica adhesiva.
7. Guardar el templado a 4°C si será procesado inmediatamente, o lo almacena a -70° si será procesado posteriormente.

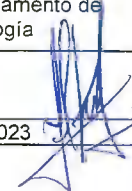
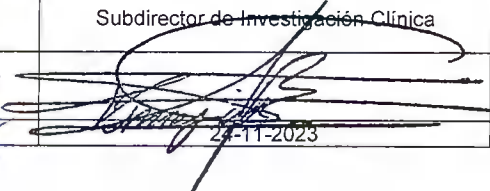
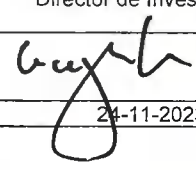
7.5.2 RT-PCR en Tiempo Real



a) Preparación de la Mezcla de Reacción

Este procedimiento se realiza en el área del laboratorio designada para la preparación de la mezcla de reacción y con el Kit PoxVirDetect Duplex

Condiciones de almacenamiento uso del Kit PoxVirDetect Duplex:

1. Las sondas para detectar el virus de viruela símica están marcadas en la terminación 5'- con la molécula 6-carboxyfluoresceína (FAM). Las sondas para detectar RNasaP están marcadas en la terminación 5'- con HEX.
2. Los sets sets iniciadores/sonda pueden sufrir modificaciones periódicas de acuerdo a información de los virus circulantes.
3. Los componentes del kit se reciben listos para usarse.
4. Se almacena a -20 °C en alicuotas hasta su uso.
5. Las sondas pueden mantenerse, en obscuridad, hasta por 3 meses a 2-8 °C.
6. Evitar los ciclos de congelación/descongelación.
7. Mantener en refrigeración 2 a 4 °C cuando su uso es continuo durante un mismo día.
8. Mantener -20°C si el almacenaje es por periodos prolongados.
9. El control positivo sintético debe mantenerse en un área separada del resto de los reactivos para el montaje de la reacción de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con los mismos criterios de almacenamiento de acuerdo a su uso.
10. Mantener los iniciadores y sondas siempre en frío durante el ensayo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 12 DE: 21

11. Descongelar y mantener los reactivos siempre en frío durante el ensayo.

12. Mezclar los reactivos por inversión, nunca agitar con vortex.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

✓ Desinfectar las superficies de la campana de flujo laminar con EtOH al 70%.

✓ Esterilizar con luz ultravioleta.

✓ Limpiar y descontaminar las pipetas y centrífugas con NaClO al 5%.

1. Llenar la hoja de trabajo para el PCR en tiempo real (véase en anexo 1).

2. Etiquetar un tubo para microcentrifuga de 1.5 ml para cada set de iniciador/sonda

3. Determinar el número de reacciones (N) a realizar por corrida. Es necesario calcular un exceso de mezcla de reacción, incluyendo control positivo (C+) y control negativo (NTC, No Template Control, siglas en inglés) para prevenir errores de pipeteo:

✓ Si el número de muestras (n) incluyendo los controles es de 1 a 14, entonces.

$$N = n + 1$$

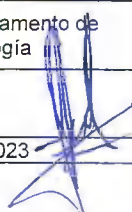
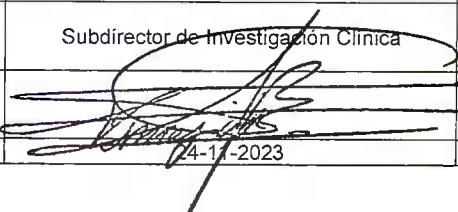
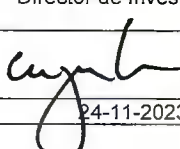
✓ Si el número de muestras (n) incluyendo los controles es > 15, entonces.



$$N = n + 2$$

Se utiliza la siguiente tabla para facilitar los cálculos de volumen de cada reactivo.

Reactivo	Volumen de reactivo por reacción (ul)	x N
H2O libre de nucleasa	7	
PoxVirDetect DP Primer Mix	4	
StarQ 5X	4	
Volumen Total	15	

Tabla2: Volúmenes de preparación de mezcla de reacción

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 13 DE: 21

4. Mezclar los reactivos con micropipeta. No agitar con vortex.
5. Centrifugar por 5 segundos y coloca los tubos con las mezclas de reacción en la gradilla de enfriamiento.
6. Dispensar 15 µl de la mezcla de reacción en cada pozo de la placa de 96, procediendo columna por columna.

Mantiene la placa en frío mientras se dispensa la mezcla. Utilizar el siguiente esquema:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9	17									
B	2	10	18									
C	3	11	Negati vo									
D	4	12	Positi vo									
E	5	13	etc									
F	6	14	etc									
G	7	15										
H	8	16										

Tabla 3: Distribución de muestras y controles

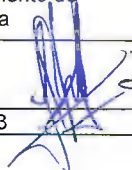
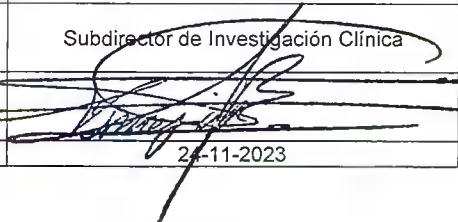
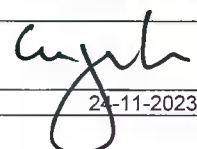
7. Adicionar 5 µl de H₂O libre de nucleasas al pozo del control negativo (NTC) y tapa los pozos.
8. Cubrir la placa y la transferir al área de manejo de ácidos nucleicos



En el área de manejo de ácidos nucleicos:

9. Adicionar 5µl del ADN de las muestras a cada reacción. Adicionar las muestras por columna, de acuerdo al esquema previo. Cambiar la punta para cada pozo. Tapar los pozos cada vez que se termine de adicionar una muestra.
10. Transferir la placa al área de adición de control positivo (C+).

En el área de adición de ácidos nucleicos:

11. Adiciona 5µl del control positivo y tapa
12. Transfiere la placa al área de PCR 1.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 14 DE: 21

Notas:

- Mantener en frío las muestras durante todo el proceso.
- Mantener la placa de 96 pozos en la gradilla de enfriamiento durante todo el proceso, desde que se dispensan la mezcla de reacción, las muestras, los controles negativo y positivo y hasta colocar en el termociclador.
- El C+ se debe agregar después de que se han agregado todas las muestras y el NTC, al final de la placa.
- Se deben de registrar en la hoja de trabajo tanto la clave de las muestras, como la distribución dentro de la placa los datos de los operarios, la fecha y clave de corrida, protocolo rt-pcr tiempo real mpvx (**véase en anexo 1**).

b) Protocolo de PCR

Este procedimiento se realiza en el área de PCR 1 con el termociclador en tiempo real.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

- Introducir la placa de reacción en el termociclador.
- Programar el protocolo de reacción en el termociclador de acuerdo con la siguiente tabla:

Proceso	Temperatura y Tiempo
Desnaturalización inicial	95°C 2 min
Amplificación 45 ciclos	95°C 15 segundos 62°C 45 segundos*

Tabla 3: Protocolo de reacción

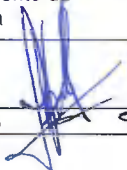
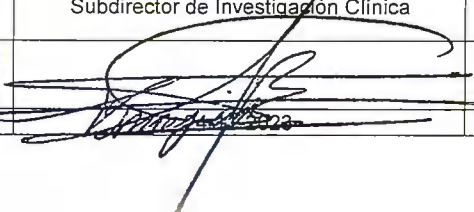
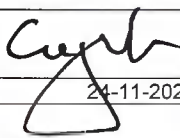
* Los datos de la fluorescencia (FAM) deben se recabados durante el paso de incubación a 62°C.



7.6 Resultados

7.6.1 Interpretación de resultados.

La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:

- Una vez que el programa terminó, procede al análisis de las curvas de amplificación en el termociclador, análisis de curvas de amplificación (**véase en anexo 2**).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023		24-11-2023

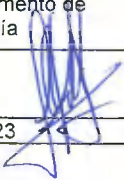
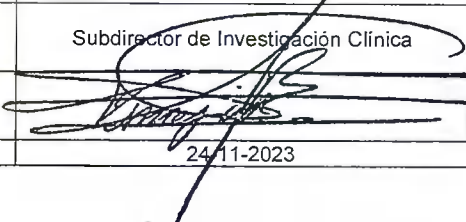
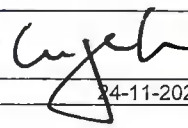
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 15 DE: 21



2. Los controles negativos no deben mostrar curvas de fluorescencia por arriba de la línea de reacción de fondo. Si observa una curva de fluorescencia en cualquiera de las reacciones, puede haber ocurrido una contaminación:
 - a. Invalidar la corrida y repite el ensayo.
 - b. Desechar la alícuota de H₂O.
 - c. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.

3. Los controles positivos deben ser positivos antes de los 39 ciclos. Si alguna de las reacciones resultara negativa:
 - a. Invalidar la corrida y la repite.
 - b. Desechar el control positivo y utilizar uno nuevo.
 - c. Revisar el procedimiento para determinar la causa de la falla.

4. Las señales de las reacciones están identificadas en el equipo con diferentes colores:
 - a. RNAsa P: verde.
 - b. Viruela Símica. Rojo.

5. Todas las muestras clínicas deben exhibir una curva para RNAsaP antes del ciclo 37 que indica que la calidad de la muestra es aceptable. Si el resultado es negativo:
 - a. Ausencia o bajo número de células humanas en la muestra. Solicita nueva muestra.
 - b. Existencia de inhibidores en la muestra. Repite la reacción diluyendo la muestra 1:10 y 1:100.
 - c. Falla en la ejecución del ensayo. Revisar las curvas del control positivo.
 - d. Falla en el proceso de extracción resultando en pérdida de DNA. Revisar si existen reacciones positivas en las otras muestras clínicas extraídas al mismo tiempo. Reextrae la muestra.
 - e. Mal funcionamiento del equipo o de los reactivos. Revisar curvas del control positivo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 16 DE: 21

6. Determinar válida la prueba si los resultados de los controles son:

- a. Control negativo: NEGATIVO.
- b. Control positivo: POSITIVO.
- c. Marcador endógeno humano RNAsa P: POSITIVO.

7.6.2 Reporte de resultados.

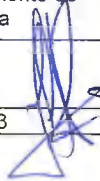
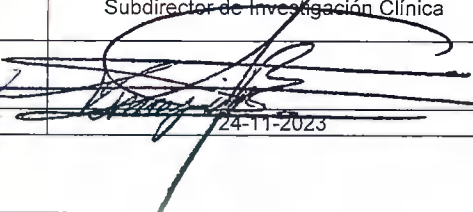
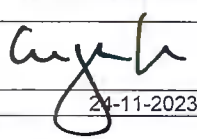
La Química y/o el Químico y la y/o el Laboratorista es responsable de:



1. Registrar los resultados obtenidos en la base de datos correspondiente y los valida mediante la firma electrónica.
2. Registrar y validar los resultados en el sistema SINAVE cuando así corresponda.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

La inclusión de controles positivo y negativo permite validar la viabilidad y reproducibilidad de los reactivos que se utilizan, con lo que se evita el reporte de resultados falsos positivos o falsos negativos en las muestras de las personas beneficiarias.

La amplificación del gen RNAsaP para cada muestra funciona como control interno positivo, para demostrar la presencia de RNA y la validación del proceso de extracción de la muestra clínica.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 17
			DE: 21

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 ADN:** Ácido desoxirribonucleico.
- 9.2 Exudado faríngeo:** Muestra biológica que se obtiene frotando con firmeza la pared posterior de la garganta con un hisopo con punta de nylon insertado a través de la boca, abatiendo la lengua con un abatelenguas.
- 9.3 Monkeypox virus:** Virus causante de la viruela símica, pertenece al género Orthopoxvirus.
- 9.4 PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- 9.5 RPBI:** Residuos peligrosos biológico infecciosos.
- 9.6 Viruela Símica:** Zoonosis viral causada por el virus de la viruela símica, que pertenece al género Orthopoxvirus.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Pruebas de laboratorio para el virus de la viruela símica. Orientaciones provisionales.


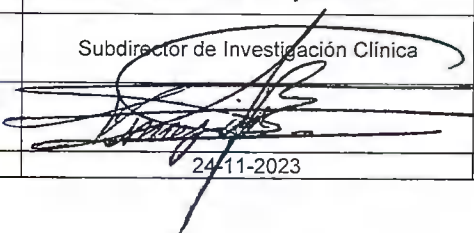
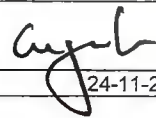
23 de mayo de 2022. OMS.



<https://www.who.int/es/health-topics/monkeypox>

Laboratory Guidelines for the Detection of Monkeypox Virus. Department of Virology Public Health Laboratories Division (PHLD), National Institutes of Health (NIH), Ministry of National Health Services, Regulations & Coordination. 17 June, 2022 (Version:01).

PoxVirDetect Duplex. Kit para la detección mediante qPCR dúplex del Orthopoxvirus causante de la viruela símica. Catálogo G2LPVDP-01. Instructivo de uso M31G2LPD.

Gobierno de México. Secretaría de Salud. Guía para el manejo médico de los casos de Viruela Símica en México, 2022. Versión 1.01. 26 de julio de 2022.


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 18 DE: 21

11.0 FORMATOS Y ANEXOS

ANEXO 1: PROTOCOLO RT-PCR TIEMPO REAL MPXV

MPXV Q55 Placa 13 071 000023



Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Laboratorio de Biología Molecular

PROTOCOLO: RT-PCR Tiempo Real MPXV

MQ: _____ Q55 MPXV Q55 Placa 00 Día Mes Año

Mezcla de reacción	1 rx	7
H2O	7.0	49
PowerBlock DP Primer Mix	4.0	28
StarQ SA	4.0	28
Total	20.0	
DNA	5.0	

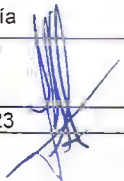
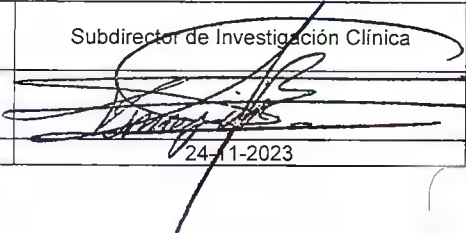
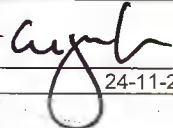
1. Dispensar 20 µL de mezcla de reacción.
 2. Adicionar 5 µL de template
 3. Programa: MPXV_IndRE
 95° 2 min/ 45 ciclos: 95° 15 seg/62° 45 seg
 primers MPXV (rojo), RNaseP (verde)



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	MP1											
B	MP2											
C	MP3											
D	MP4											
E	NEG											
F	ODP											
G												
H												

Extracción: _____ King Fisher Programación: _____ PRC

Templado: _____ PRC Lectura: _____ PRC

Procesó: _____ FLB / / Notas: _____

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 19 DE: 21

ANEXO 2: ANÁLISIS DE CURVAS DE AMPLIFICACIÓN

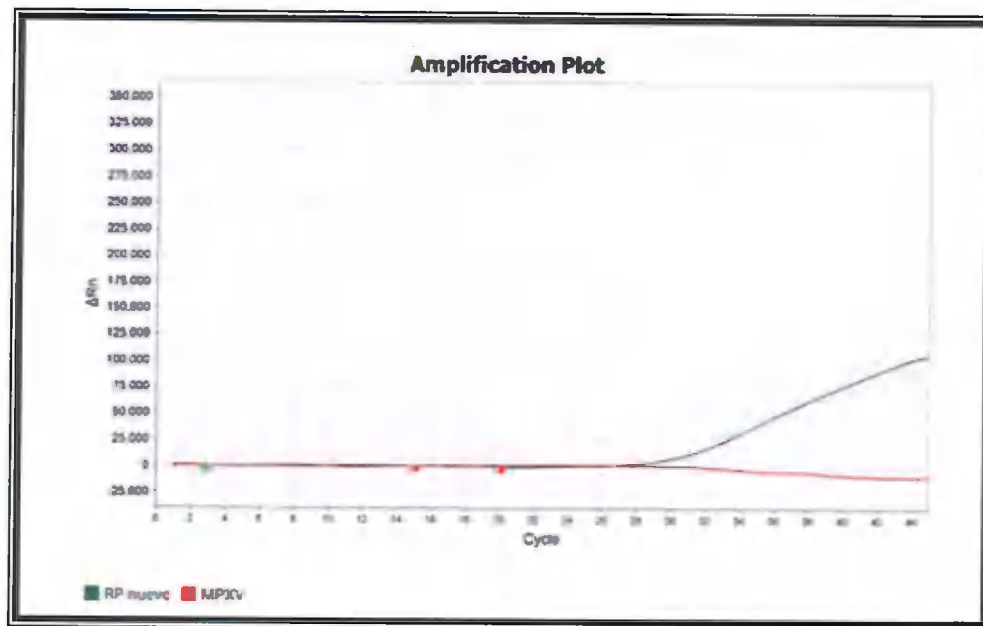
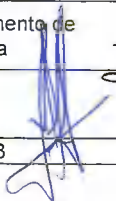
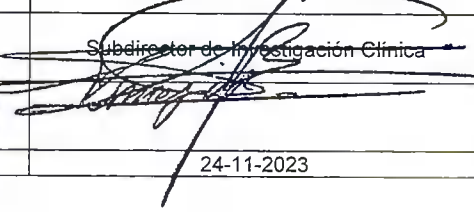
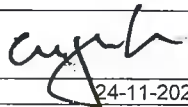


Figura 1: Muestra Negativa

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Bocerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

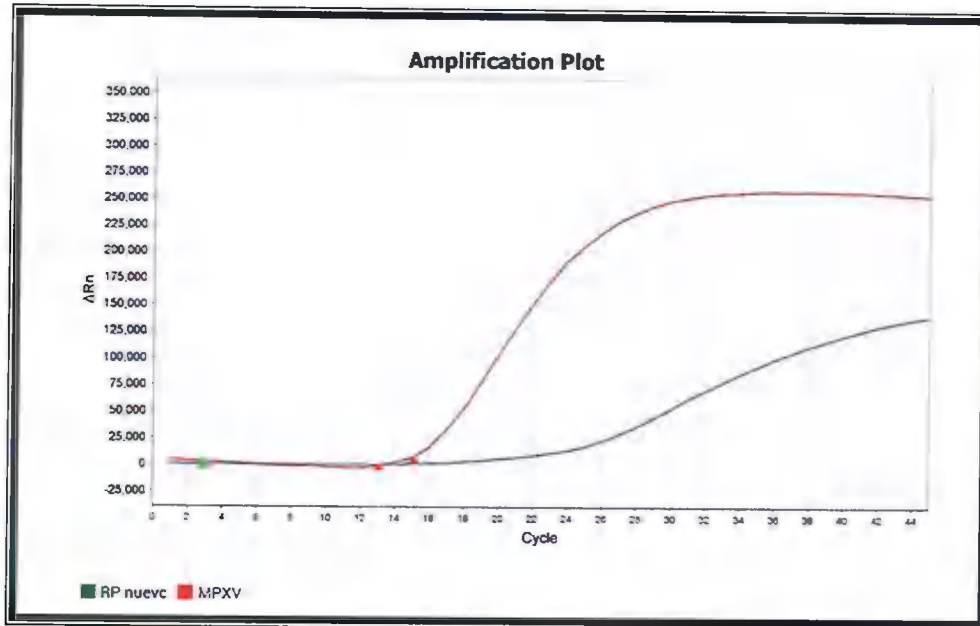
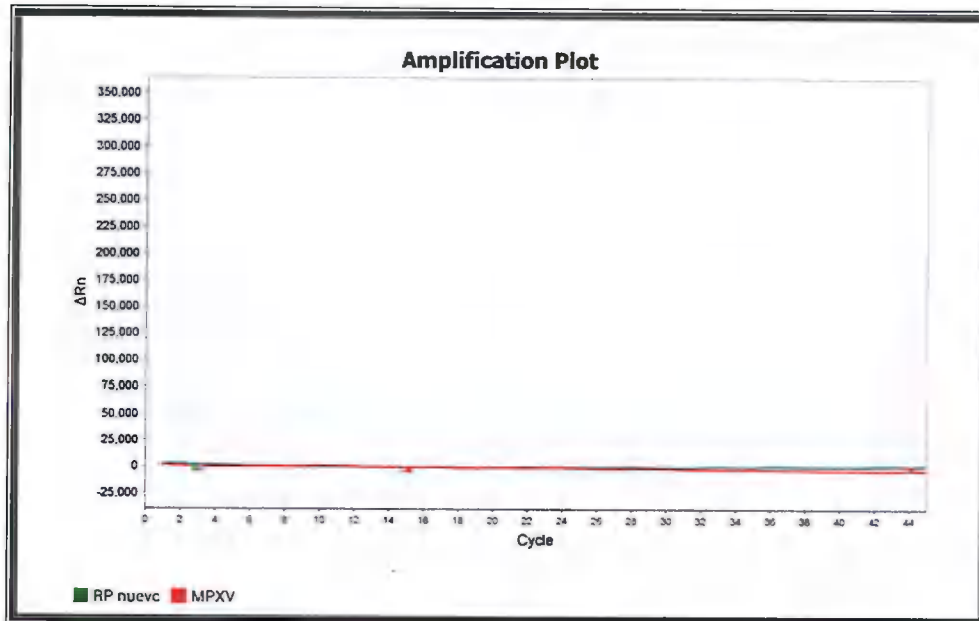


Figura 2: Muestra Positiva



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023



	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	10. Procedimiento Técnico para Realizar la Determinación de Viruela Símica por RT-PCR en Tiempo Real		HOJA: 21 DE: 21

Figura 3: Control Negativo

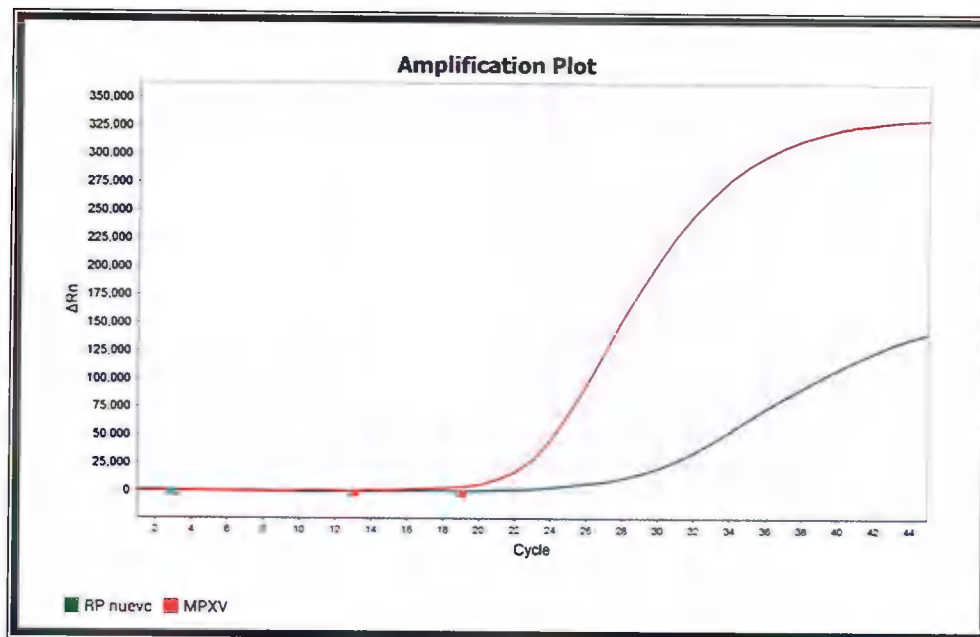
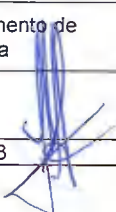
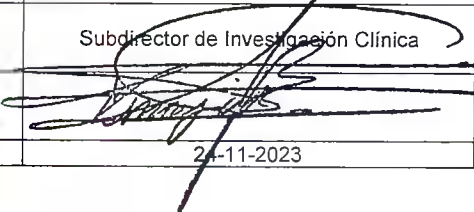
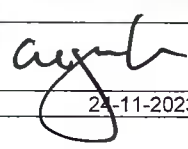




Figura 4: Control Positivo

12.0 CAMBIOS DE ESTA VERSIÓN

Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
00	24-11-2023	No Aplica


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Autorización		HOJA: 1 DE: 3

El presente documento fue autorizado por el Comité de Mejora Regulatoria en la quinta sesión extraordinaria de fecha 04/12/2023.


AUTORIZACIÓN

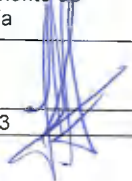
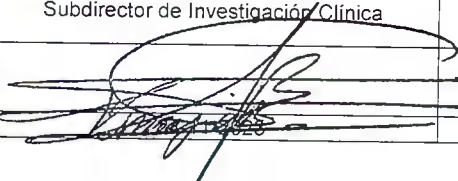
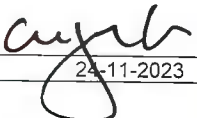
ELABORADO POR:




 Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño.
 Jefe del Departamento de Infectología.


 Dra. Luz Elena Cervantes Villar.
 Jefa de Laboratorios de Virología y Biología Molecular.

REVISADO POR:



 Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril.
 Subdirector de Investigación Clínica.

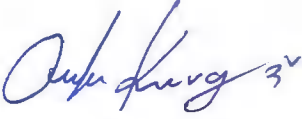
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023		24-11-2023

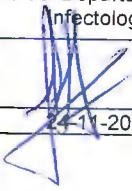
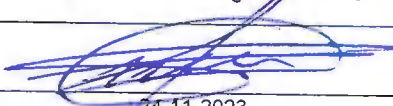
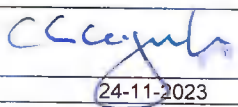
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Autorización		HOJA: 2 DE: 3



REVISIÓN METODOLÓGICA:


 C.P. Merit Fabiola Morales.
 Jefa del Departamento de Organización y Modernización Administrativa.


 C.P. Remedios Verónica Hernández Tenorio.
 Coordinadora de Organización y Modernización.


 Ing. Karen Andrea Villanueva García.
 Asesora Externa.

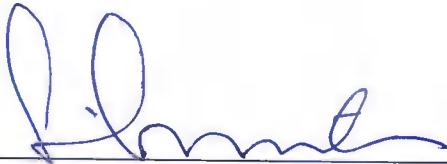
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small>	CÓDIGO: M.T./ 0.6.1.1.
	Departamento de Infectología		REV: 00
	Autorización		HOJA: 3 DE: 3

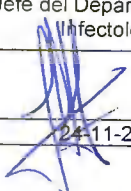
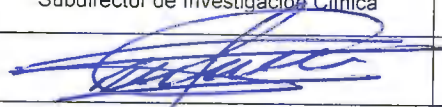
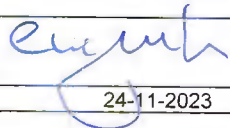
AUTORIZADO POR:



Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas.
Director de Investigación.



Dr. José Sifuentes Osornio.
Director General.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño	Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas
Cargo-puesto:	Jefe del Departamento de Infectología	Subdirector de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	24-11-2023	24-11-2023	24-11-2023