

	DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO P-DCF-ECT-BQM-32
	PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	
Versión: 13	Rige desde: 24/04/2024	PAGINA: 2 de 13

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	2008.06.02	2016.02.29	Versión Inicial del Procedimiento	-	MEE
02	2016.02.29	12/01/2017	Revisión y cambio de formato	-	EFM
03	12/01/2017	22/03/2017	Revisión y cambio de formato	03-2017	EFM
04	22/03/2017	15/06/2017	Lista de chequeo	27-2017	EFM
05	15/06/2017	10/08/2017	Revisión y edición	53-2017	EFM
06	10/08/2017	21/06/2018	Revisión y edición	66-2017	EFM
07	21/06/2018	08/03/2021	Revisión y edición	12-2018	EFM
08	08/03/2021	23/06/2021	Revisión y edición. Elimina Maxwell. Se agrega uso QIASymphony	10-2021	EFM
09	23/06/2021	29/07/2021	Revisión y edición. Se elimina la extracción orgánica de sangres, se eliminan equipos y reactivos que no se utilizan. Se edita redacción de extracción de residuos subungueales. Se completa información de abreviaturas.	23-2021	EFM
10	29/07/2021	08/04/2022	Correcciones	39-2021	EFM
11	08/04/2022	28/02/2023	Revisión y edición post auditoria interna	06-2022	EFM
12	28/02/2023	24/04/2024	Revisión y edición	13-2023	EFM
13	24/04/2024		Revisión y edición	10-2024	EFM

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 3 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

1 Objetivo:

El objetivo de este PON es establecer las metodologías para extraer ADN a partir de tejidos blandos, residuos subungueales, sangres, uñas y otros.

2 Alcance:

Este procedimiento se emplea para extraer ADN a partir de tejidos blandos, residuos subungueales, sangres, uñas y otros.

3 Referencias:

- Barrantes Boza, M. 2001. Bioseguridad. Curso Salud Ocupacional. Facultad de Microbiología. UCR.
- National Research Council. 1989. Biosafety in the Laboratory. Prudent Practices for the Handling and Disposal of Infectious Materials. National Academy Press. Washington, D. C.
- Stricoff, R. S.1995. Handbook of Laboratory Health and Safety. Wiley Interscience Publications. USA.
- Center for Disease Control, Recognizing the Biosafety Levels (<https://www.cdc.gov/training/quicklearns/biosafety/>)
- Boston University Research Support, Appendix E: Biosafety Level 2 (BSL-2) Requirements (<https://www.bu.edu/researchsupport/compliance/ibc/resources/biosafety-manual/appendix-e-biosafety-level-2-bsl-2-requirements/>)

4 Equipos y Materiales:

- Agitador vortex
- Balanza granataria
- Balón aforado estéril
- Beaker estéril
- Botella vidrio estéril
- Canastas para centrifugar
- Centrífuga Termo IEC Centra CL3R con rotor de ángulo fijo para 3000 r.p.m o similar
- Congelador con temperatura cercana a los -20°C (rango -15 a -25°C)
- Equipo de extracción automatizado QIASymphony o similar.
- Erlenmeyer estéril
- Formulario: Lista de Verificación Procedimiento Extracción de Tejidos Blandos, Residuos Subungueales, Sangres y otros : Sección de Bioquímica
- Formulario: Entrega de muestras para cuantificación.
- Gabacha desechable o gabacha limpia

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 4 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

- Gorro desechable
- Guantes desechable
- Horno hibridizador ProBlot Labnet o similar (capaz de alcanzar y mantener los 56 °C \pm 1 °C)
- Marcador con tinta indeleble
- Mascarilla desechable
- Mat para recorte de tarjetas FTA o similar
- Microcentrífuga para tubos de 1.5 mL marca Eppendorf (rango 0-14.000 r.p.m.) o similar
- Micropipetas automáticas de volumen ajustable
- Micropunch de 1,2 mm y/ó 2 mm o similar
- Pizeta con Alcohol al 70 %
- pH-metro
- Probeta estéril
- Puntas para micropipeta automática de volumen ajustable de 10-100 uL, de 20-200 ul y 100-1000 μ L nuevas y estériles
- Recipiente de plástico duro para desecho de material punzocortante marca Fisherbrand Cat. No. 14-827-122 o similar
- Refrigerador con temperatura cercana a los 4 °C (rango 2-8 °C)
- Solución descontaminante de ADN y ARN asas
- Thermomixer marca Eppendorff o similar
- Toallas de papel desechables
- Toallas suaves desechables "Kimwipes", marca Kimberly-Clark o similar
- Tubos para microcentrífuga de 1,5 mL, nuevos y estériles, marca Eppendorf o similar
- Tubo de 2,0 mL con tapa (QIAGEN)

Nota 1: Todas las puntas y tubos utilizados en el presente procedimiento (tubos para microcentrífuga de 1,5 mL deben ser nuevos y estériles (Ver Procedimiento para la esterilización de material mediante autoclavado).

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

Los reactivos deben ser preparados según procedimiento de preparación de reactivos (Ver Anexo Número 1)

- Agua tipo Milli-Q o similar
- Buffer EDTA/PBS 25mM
- Buffer TOPE

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 5 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

- Solución de cloro al 0,5% (Ver anexo 1)
- Control positivo (ver anexo 2)
- Control negativo (ver anexo 2)
- DTT grado biología molecular Sigma D-9799 o similar
- Detergente Terg-A-Zyme (Ver Anexo Número 01) grado comercial, marca Alconox o similar
- DNA Away, cat 7010 o similar
- EDTA 0,5M
- Etanol al 70% grado comercial
- Etanol al 95% grado comercial (Ver Anexo Número 01)
- HCl concentrado
- KCl (Ver anexo 1)
- KH₂PO₄ anhidro (Ver anexo 1)
- Kit de reactivos y consumibles para extracción de ADN por medio de equipo automatizado QIASymphony o similar "QIASymphony DNA Investigator Kit (QIAGEN)" (se incluyen aquí a los Cartuchos de reactivos y sus cobertores, Rack de enzimas, Tapas perforantes, Buffer ATE, Buffer AVE, Buffer ATL, Carrier ARN, Proteinasa K) (*)
- NaCl (Ver anexo 1)
- Na₂HPO₄ anhidro (Ver anexo 1)
- Proteinasa K (kit QIASymphony[®] DNA Investigator[®]) (*)

(*) Reactivos críticos. Ver el punto 7.3.3 Reactivos y suministros críticos del PROCEDIMIENTO DE GESTIÓN DE CASOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS, UNIDAD DE GENÉTICA FORENSE, SECCIÓN DE BIOQUÍMICA, para referirse al proceso de verificación intermedia y de prueba de nuevos lotes de reactivos.

6 Condiciones Ambientales:

El procedimiento de extracción debe realizarse en las áreas designadas para la extracción de ADN de la Unidad de Genética Forense (pre amplificación) de la Sección de BQM.

Para minimizar la posible contaminación por sudor del analista, se recomienda trabajar en áreas de trabajo con aire acondicionado de ser posible. La temperatura de esta área no debe ser registrada.

7 Procedimiento:

Nota 2: Se deben completar los Formularios "Lista de Verificación Procedimiento Extracción de Tejidos Blandos, Residuos Subungueales, Sangres y otros: Sección de Bioquímica" como verificación del seguimiento del procedimiento establecido realizado.

Nota 3: En todas las extracciones descritas en este procedimiento, se debe incluir al menos una muestra de control positivo y una muestra de control negativo por lote de muestras analizadas, las cuales se procesan de la misma forma que las muestras (Ver anexo 2).

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 6 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

Nota 4: Antes de utilizar el Buffer ATL en cualquiera de los procesos aquí descritos, se debe revisar que no contenga precipitados y de ser necesario se debe incubar a 70 °C en agitación suave hasta lograr una apariencia translúcida.

Nota 5: Antes de empezar cualquier procedimiento se debe limpiar el área de trabajo, pipetas y pinzas con solución descontaminante DNA Away y/o etanol al 70% y utilizando ya sea Toallas de papel desechables o Toallas suaves desechables "Kimwipes".

Nota 6: Antes de empezar cualquier procedimiento se debe portar el equipo de protección básica, gabacha desechable, gorro desechable, guantes desechables y mascarilla desechable.

7.1 Procedimiento para tejidos blandos:

- 7.1.1** Coloque cada muestra en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL rotulado con al menos el número de OT correspondiente y el nombre del objeto (muestra) a analizar.
- 7.1.2** Agregue 180 µL de Buffer ATL a cada muestra.
- 7.1.3** Agregue 20 µL de proteinasa K QIAGEN a cada muestra.
- 7.1.4** Agite en vortex.
- 7.1.5** Coloque los tubos en el Thermomixer e incube aproximadamente por 15 minutos, a 56°C y a 900 rpm.
- 7.1.6** Centrifugue los tubos a máxima velocidad durante 3 minutos.
- 7.1.7** Transfiera el contenido de los tubos de microcentrífuga de 1,5 mL o a un tubo de 2,0 mL con tapa (QIAGEN).
- 7.1.8** Continúe con el protocolo 200-ADV-HE en el equipo QIASymphony.
- 7.1.9** Almacene las muestras extraídas en refrigeración hasta el momento de utilizarlas o a temperatura de congelación si necesita preservarlas por más tiempo.
- 7.1.10** Entregue las muestras a la persona encargada de realizar la cuantificación de ADN (humano total y masculino) mediante PCR tiempo Real (Ver: Procedimiento para la cuantificación de ADN por PCR Tiempo Real y el Formulario: Entrega de muestra para Cuantificación).

7.2 Procedimiento para sangres fijadas:

- 7.2.1** Coloque cada muestra en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL rotulado con al menos el número de OT correspondiente y el nombre del objeto (muestra) a analizar.
- 7.2.1.1** Para el recorte de las muestras puede utilizar el Mat para recorte de tarjetas FTA o similar o el Micropunch de 1,2 mm y/o 2 mm o similar
- 7.2.2** Descongele la solución de DTT (1 M) en hielo.
- 7.2.3** Agregue 180 ul de buffer ATL a cada muestra.
- 7.2.4** Agregue 20 µL de proteinasa K QIAGEN a cada muestra.
- 7.2.5** Agregue 5 µL de la solución de DTT (1 M) a cada muestra.
- 7.2.6** Agite en vortex.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 7 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

7.2.7 Coloque los tubos en el Thermomixer e incube por aproximadamente 48 horas, a 56°C y a 900 rpm.

7.2.8 Continúe con el punto 7.1.6 hasta el 7.1.10

7.3 Procedimiento para muestras de referencia:

7.3.1 Coloque cada muestra en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL rotulado con al menos el número de OT correspondiente y el nombre del objeto (muestra) a analizar.

7.3.1.1 Para el recorte de las muestras puede utilizar el Mat para recorte de tarjetas FTA o similar o el Micropunch de 1,2 mm y/ó 2 mm o similar.

7.3.2 Agregue 180 ul de buffer ATL a cada muestra.

7.3.3 Agregue 20 µL de proteinasa K QIAGEN a cada muestra.

7.3.4 Agite en vortex.

7.3.5 Coloque los tubos en el Thermomixer e incube aproximadamente por 15 minutos, a 56°C y a 900 rpm.

7.3.6 Continúe con el punto 7.1.6 hasta el 7.1.10

7.4 Procedimiento para indicios con sangre (aplicadores, telas y otros)

7.4.1 Coloque cada muestra en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL rotulado con al menos el número de OT correspondiente y el nombre del objeto (muestra) a analizar.

7.4.2 Agregue 180 ul de buffer ATL a cada muestra.

7.4.3 Agregue 20 µL de proteinasa K QIAGEN a cada muestra.

7.4.4 Agite en vortex.

7.4.5 Coloque los tubos en el Thermomixer e incube aproximadamente por 15 minutos, a 56°C y a 900 rpm.

7.4.6 Continúe con el punto 7.1.6 hasta el 7.1.10

7.5 Procedimiento para residuos subungueales:

Nota 7: Los residuos subungueales pueden venir en diversos soportes, desde hisopos, aplicadores, uñas o fragmentos de estas y hasta trozos de tela panamá.

Nota 8: Los residuos subungueales de cada mano se analizan en conjunto (mano derecha y mano izquierda).

7.5.1 Residuos subungueales (trozos de uñas).

7.5.1.1 Coloque una porción de la muestra en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL rotulado con al menos el número de OT correspondiente y el nombre del objeto (muestra) a analizar. Considere que se debe de preservar muestra testigo

7.5.1.2 Agregue a cada muestra, una cantidad de buffer EDTA/PBS 0,25mM que sea suficiente para cubrir los trozos de uñas.

7.5.1.3 Incube en agitación constante a temperatura ambiente por al menos 60 minutos (utilice el Thermomixer o el horno de hibridización).

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 8 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

- 7.5.1.4** Centrifugue a máxima velocidad durante 10 minutos y descarte las uñas y el sobrenadante. Reserve el botón.
- 7.5.1.5** Agregue 180 µL del buffer ATL a cada muestra.
- 7.5.1.6** Agregue 20 µL de proteinasa K QIAGEN a cada muestra.
- 7.5.1.7** Agite en vórtex.
- 7.5.1.8** Coloque los tubos en el Thermomixer e incube aproximadamente por 15 minutos a 56°C y a 900 rpm.
- 7.5.1.9** Continúe con el punto 7.1.6 hasta el 7.1.10

7.5.2 Residuos subungueales (aplicadores u otros soportes).

- 7.5.2.1** Coloque la totalidad de la muestra en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL rotulado.
- 7.5.2.2** Agregue 960 µL del buffer ATL a cada muestra.
- 7.5.2.3** Agregue 40 µL de proteinasa K QIAGEN a cada muestra.
- 7.5.2.4** Agite en vórtex.
- 7.5.2.5** Coloque los tubos en el Thermomixer e incube aproximadamente por 15 minutos a 56°C y a 900 rpm.
- 7.5.2.6** Centrifugue los tubos a máxima velocidad durante 10 minutos. Utilice la canasta con el tubo de 1,5 mL y descarte los soportes.
- 7.5.2.7** Continúe con el protocolo 1000-ADV-HE en el equipo QIASymphony.
- 7.5.2.8** Continúe con el punto 7.1.9 hasta el 7.1.10

7.6 Procedimiento para uñas:

- 7.6.1** Coloque aproximadamente de 0,5 a 1cm de uña en un tubo de microcentrífuga rotulado.
- 7.6.2** Agregue 180 µL del buffer ATL a cada muestra.
- 7.6.3** Agregue 20µl de proteinasa K QIAGEN.
- 7.6.4** Coloque los tubos en el Thermomixer e incube aproximadamente por 60 minutos, a 56°C y a 900 rpm.
- 7.6.5** Centrifugue los tubos a máxima velocidad durante 10 minutos y descarte las uñas.
- 7.6.6** Continúe con el punto 7.1.7 hasta el 7.1.10

Nota 9: Para la dispensación de los volúmenes mencionados en los diversos apartados del presente PON utilice las Micropipetas automáticas de volumen ajustable, así como las puntas para micropipeta automática de volumen ajustable nuevas y estériles.

Deseche las puntas utilizadas en los recipientes de plástico duro para desecho de material punzocortante disponibles.

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

Debido a la naturaleza de este procedimiento, los criterio de aceptación o rechazo del mismo no se pueden evaluar sino hasta la siguiente etapa del proceso global de extracción de material

P-DCF-GCG-JEF-001-R3, Versión 01

Emitido y Aprobado por Unidad de Gestión de Calidad

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 9 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

genético. Ver PROCEDIMIENTO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ADN UTILIZANDO EL TERMOCICLADOR PCR TIEMPO REAL ABI7500.

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

N/A

10 Reporte de Análisis y Resultados:

Se debe realizar el reporte de resultados y la interpretación de los mismos de acuerdo a lo definido en el SADCF.

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

Las muestras de origen biológico deben manipularse según normas establecidas, ya que son potencial fuente de enfermedades infectocontagiosas, por lo tanto debe proceder con cautela según lo recomendado para un laboratorio de nivel de bioseguridad tipo II. El acceso al laboratorio está restringido, se requiere el uso de equipo de protección personal (EPP) apropiado, incluidas batas de laboratorio y guantes. También se puede usar protección para los ojos y protectores faciales, según sea necesario. Todos los procedimientos que pueden causar infección por aerosoles o salpicaduras se realizan dentro de una cabina de seguridad biológica

La proteínasa K en polvo o sus soluciones pueden irritar las membranas mucosas. Utilice guantes y mascarilla desechable cuando las maneje.

La solución descontaminante DNA Away y la solución de cloro al 0,5% son irritantes y corrosivas se deben emplear con precaución y utilizando guantes y mascarilla desechable.

12 Simbología:

- ADN: Ácido Desoxirribonucleico
- ADV-HE: según indicación comercial (hace referencia a los protocolos de extracción en el equipo QIASymphony 200-ADV-HE ó 1000-ADV-HE)
- ARN: Ácido Ribonucleico
- ATE: según indicación comercial (Buffer ATE)
- ATL: según indicación comercial (Buffer ATL)
- AVE: según indicación comercial (Buffer AVE)
- BQM: Bioquímica
- Cat: catálogo
- CL3R: según indicación comercial (hace referencia a la centrífuga Termo IEC Centra CL3R)
- DCF: Departamento de Ciencias Forenses
- DTT: ditiotreitól
- EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
- EFM: Eugenia Fernández Mora
- g: gramos
- HCl: ácido clorhídrico
- IEC: según indicación comercial (hace referencia a la centrífuga Termo IEC Centra CL3R)
- KCl: Cloruro de potasio
- KH₂PO₄: Fostato dipotásico
- L: litro
- mL: mililitros

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 10 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

- mM: milimolar
- N: Normalidad
- NaCl: Cloruro de sodio
- Na₂HPO₄: Fosfato disódico
- PBS: Buffer fosfato salino
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- pH: grado de acidez o alcalinidad
- PON: Procedimiento de Operación Normado
- rpm: revoluciones por minuto
- SCD: Solicitud de Cambio Documental
- ° C: Grados Celsius
- µL: microlitros

13 Terminología:

Sangre fijada: manchas de sangre impregnada en tarjeta FTA o papel filtro con las cuales no se ha logrado obtener un perfil genético utilizando los procedimientos de extracción habituales (Chelex).

14 Anexos

No. de Anexo	Nombre del Anexo
01	Preparación de reactivos y controles
02	Preparación de controles

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 11 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

Anexo No. 1
Preparación de reactivos

DETERGENTE TERG-A-ZYME AL 1 %

Pese 10,00 g de detergente Terg-A-Zyme en la balanza granataria.
Disuelva 10 g de Detergente Terg-A-Zyme en 1 Litro de agua de tubo.
Prepare al momento del lavado del material, no se debe almacenar, debe ser consumido en su totalidad en el lavado.

ETANOL AL 70%

Agregue 840 mL de etanol al 95% grado comercial medidos en una probeta estéril y afofe a 1 L con agua desionizada tipo Milli-Q o similar estéril en un balón aforado estéril. Guarde en botella de vidrio estéril y almacene a temperatura ambiente hasta que la solución no presente turbidez.

SOLUCIÓN DE DTT AL 1M

Disuelva 0,77 g de DTT en 5 mL de agua desionizada tipo Milli-Q o similar en un erlenmeyer de 20 mL. Puede ayudar a que se disuelva la disolución más rápido si la incuba por 10 minutos a 37 °C en baño maría. No autoclave. Alicuote en tubos de microcentrífuga de 1,5 mL, nuevos y estériles en volúmenes de 500 uL. Mantenga en congelación en temperaturas cercanas a -20 °C para asegurar la estabilidad del reactivo. Descongele cuando vaya a utilizarlo y mantenga en hielo escarchado. Guarde lo que no se consuma nuevamente en congelación.

SOLUCIÓN DE CLORO AL 0.5%

Ver preparación en Manual de Seguridad y Salud Ocupacional Departamental.

PBS 1X

KCl	0,2g
NaCl	8g
KH ₂ PO ₄ anhidro	0,2g
Na ₂ HPO ₄ anhidro	1,1g
agua desionizada tipo Milli-Q o similar	900mL

Ajustar pH a 7.4 si es necesario con HCl concentrado. Corrobore de ser necesario mediante pH-metro.

Ajustar a 1L, autoclavar. Almacenar a temperatura ambiente

EDTA 0,5 M pH 8

Pese 186,1 g EDTA disódico, coloque en un beaker de 1L y agregue 800 mL de agua desionizada Tipo I, ajuste el pH 8 con perlas de NaOH (Corrobore de ser necesario mediante pH-metro), luego afofe a 1L en un balón aforado, trasvase a botella de vidrio transparente y autoclave.

Almacene a temperatura ambiente y hasta que la solución no presente turbidez.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 12 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

Buffer EDTA/PBS 0,25 mM

En agitación mezcle 0.8 L de PBS 1X, agregue 50 mL de solución EDTA 0.5 M pH 8.0. Ajuste el pH a 7.4 con HCl 1N si es necesario (Corrobore de ser necesario mediante pH-metro). Luego afofe a 1L con PBS 1X. Autoclave y almacene a temperatura ambiente

COPIA NO CONTROLADA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 13	PAGINA: 13 de 13
PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS BLANDOS, RESIDUOS SUBUNGUEALES, SANGRES Y OTROS	P-DCF-ECT-BQM-32	

Anexo No. 2
Preparación de controles

CONTROL POSITIVO

Consiste en una muestra de sangre humana de un donador conocido, que no participa en los análisis y cuyo genotipo ha sido previamente determinado en el laboratorio.

Para su preparación, impregne la sangre en una tarjeta FTA, rotule con marcador de tinta indeleble y seque a temperatura ambiente en la cámara de secado Air Clean Systems por al menos 24 horas. Este control se puede almacenar a temperatura ambiente o en refrigeración.

CONTROL NEGATIVO

Consiste en una tarjeta FTA sin ningún tipo de muestra impregnada en su superficie, rotulada. Este control se puede almacenar a temperatura ambiente o en refrigeración.

COPIA NO CONTROLADA