

 <p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>, <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> Y <i>NEISSERIA GO- NORRHOEAE</i></p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-43</p>
	<p>Versión: 04</p> <p>Rige desde: 24/04/2024</p>

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	15/12/2010	24/01/2020	Revisión completa del documento. Cambio en el nombre del documento.	-	MEE
02	24/01/2020	29/07/2021	-	01-2020	MSC
03	29/07/2021	24/04/2024	Cambio de kit y de metodología	39-2021	EFM
04	24/04/2024		Revisión y actualización	09-2024	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

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>, <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> Y <i>NEISSERIA GO- NORRHOEAE</i></p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-43</p>
<p>Versión: 04</p>	<p>Rige desde: 24/04/2024</p>	<p>PAGINA: 3 de 7</p>

1 Objetivo:

El objetivo de este Procedimiento Operativo Normado es establecer los pasos a seguir para el procesamiento de muestras para el diagnóstico molecular de *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* y *Neisseria gonorrhoeae* en la Sección de Bioquímica.

2 Alcance:

Este procedimiento se emplea para el procesamiento de sedimentos urinarios, medios de transporte y aplicadores para el diagnóstico molecular de *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* y *Neisseria gonorrhoeae* solicitado por las autoridades judiciales.

3 Referencias:

- QIASymphony DNA Investigator Handbook. QIAGEN, 2013.
- QIASymphony SP Protocol Sheet, QIAGEN, 2019.

4 Equipos y Materiales:

- Agitador magnético con calentador
- Agitador tipo vórtex
- Basurero para descarte de material biopeligroso no punzocortante
- Basurero para descarte de material biopeligroso punzocortante
- Congelador con temperatura a 0 °C
- Equipo de Purificación y concentración de ADN QIASymphony o similar
- Formulario Entrega de Muestras para Cuantificación
- Formulario Esquema de Montaje de muestras de la Unidad de Genética Forense
- Formulario: Lista de Verificación Procedimiento Extracción de sangre, saliva, células epiteliales y otros con QIASymphony, Sección de Bioquímica
- Gabacha desechable
- Guantes desechables de látex o similar
- Microcentrífuga para tubos de plástico tipo eppendorf o similar
- Micropipetas graduables (0,5 a 10 uL, 100 a 1000 uL, 10 a 100 uL, 2 a 20 uL) y puntas estériles o nuevas
- Pinzas de metal
- Rotador clínico

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>, <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> Y <i>NEISSERIA GO- NORRHOEAE</i></p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-43</p>
<p>Versión: 04</p>	<p>Rige desde: 24/04/2024</p>	<p>PAGINA: 4 de 7</p>

- Thermomixer
- Toallas de papel desechables
- Tubos para microcentrífuga de 1,5 mL, nuevos y estériles (tipo eppendorf)

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

- Control Negativo del kit PCR TR
- Descontaminante de ADN y ADNasas: DNA Away Cat 7010 o similar
- Etanol comercial al 70%
- Kit de reactivos y consumibles para extracción de ADN por medio de equipo automatizado Qiasymphony o similar:
 - Buffer ATE, Buffer ATL, Carrier RNA, Cartuchos de reactivos, Proteína K, Rack enzimas, Tubos de 2 mL con tapa rosca
 - Tapas perforantes
- Solución salina estéril al 0,85%

6 Condiciones Ambientales:

El procedimiento para el procesamiento de muestras para el diagnóstico molecular de *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* y *Neisseria gonorrhoeae* debe efectuarse en las áreas designadas para el análisis de muestras en la Sección de Bioquímica.

7 Procedimiento:

Nota 1: Antes de iniciar cualquier procedimiento colóquese guantes desechables y gabacha, al inicio y al final del procedimiento limpie la mesa de trabajo con una toalla de papel desechable con etanol al 70%.

7.1 Revisión de la solicitud de dictamen pericial:

7.1.1 Revise detalladamente los datos suministrados y los análisis indicados en la solicitud de dictamen pericial F-083i.

7.2 Procesamiento de aplicadores:

7.2.1 Coloque 1 mL de solución salina estéril al 0,85% al tubo tipo eppendorf utilizando una pipeta Pasteur de plástico.

7.2.2 Cierre el tubo tipo eppendorf.

7.2.3 Agite en el vórtex durante 10 segundos.

7.2.4 Deje los tubos tipo eppendorf en agitación durante 40 minutos en el rotador clínico a 180 rpm.

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>, <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> Y <i>NEISSERIA GO- NORRHOEAE</i></p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-43</p>
<p>Versión: 04</p>	<p>Rige desde: 24/04/2024</p>	<p>PAGINA: 5 de 7</p>

7.2.5 Extraiga con pinzas limpias el aplicador y descártelo en el basurero para descarte de material biopeligroso punzocortante.

7.2.6 Centrifugue los tubos tipo eppendorf en la microcentrífuga por 20 minutos a 15000 rpm.

7.2.7 Descarte el sobrenadante.

7.3 Procesamiento de aplicadores y sedimentos urinarios para la extracción automatizada utilizando equipo QIASymphony:

Nota 2. Antes de iniciar el proceso se debe verificar que el Buffer ATL no presente precipitado. En caso necesario colocar a 70° C por al menos 30 minutos.

7.3.1 Agregue utilizando una micropipeta 180 uL de buffer ATL a cada tubo tipo eppendorf y al control negativo.

7.3.2 Agregue utilizando una micropipeta 20 uL de proteinasa K al tubo tipo eppendorf.

7.3.3 Cierre el tubo tipo eppendorf.

7.3.4 Agite en el vórtex.

7.3.5 Incube en el Thermomixer a 56° C por al menos 15 minutos a 900 rpm.

7.3.6 Centrifugue las muestras y el control negativo durante 5 minutos a 12000-14000 rpm.

7.3.7 Rotule con el número de OT y el tipo de muestra los tubos de 2 mL con tapa de rosca y los tubos tipo eppendorfs del rack de tubos de elución. Además, rotule los tubos para el control negativo.

7.3.8 Transfiera 200 uL del sobrenadante obtenido a cada tubo de 2 mL con tapa rosca.

7.3.9 Coloque los tubos en el equipo QIASymphony y proceda con el protocolo de extracción 200-ADV-HE o similar. (Ver procedimiento de Gestión de casos e interpretación de resultados, Sección de Bioquímica)

7.3.10 Guarde el extracto a 0 °C

7.3.11 Remita las muestras para su respectiva cuantificación de ADN por PCR tiempo real según el Procedimiento para la cuantificación de ADN utilizando el termociclador PCR tiempo real (P-DCF-ECT-BQM-34).

 <p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>, <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> Y <i>NEISSERIA GO- NORRHOEAE</i></p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-43</p>
	<p>Versión: 04</p> <p>Rige desde: 24/04/2024</p>

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

No.	Criterio de Aceptación	Valor Límite	Corrección Aplicable
	N/A	N/A	N/A

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

N/A

10 Reporte de Análisis y Resultados:

10.1 Proceda a reportar los datos obtenidos en el SADCF.

Acciones Correctivas:

N/A

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

Recuerde colocarse la gabacha y los guantes antes de manipular las muestras.

Debe asegurarse de limpiar el área de trabajo con alcohol de 70%, antes y después de realizar las pruebas.

Ante una eventual contaminación con la muestra analizada lave la zona afectada con abundante agua y jabón, posteriormente aplique alcohol al 70%. Informe inmediatamente a la Jefatura de Sección lo ocurrido.

12 Simbología:

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ATE: [Indicación comercial](#)

ATL: Indicación comercial

°C: Grados centígrados

mL: Mililitro

N/A: No aplica

PON: Procedimiento de Operación Normado

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

rpm: Revoluciones por minuto

SADCF: Sistema Automatizado del Departamento de Ciencias Forenses

uL: Microlitro

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>, <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> Y <i>NEISSERIA GO- NORRHOEAE</i></p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-43</p>
<p>Versión: 04</p>	<p>Rige desde: 24/04/2024</p>	<p>PAGINA: 7 de 7</p>

13 Terminología:

N/A

14 Anexos

N/A

COPIA NO CONTROLADA