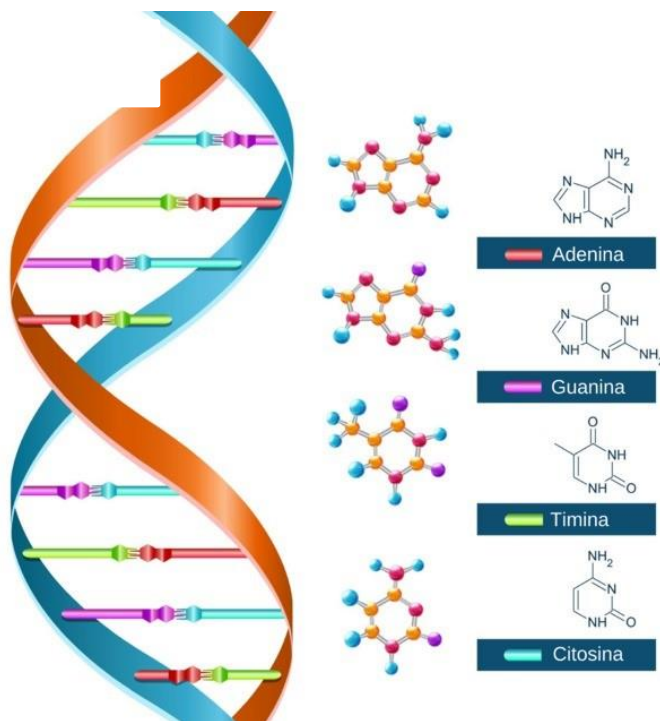


## GUÍA DE PROCEDIMIENTO CUANTIFICACION Y EVALUACION DE LA PUREZA DEL ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (ADN)

UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO  
SUB UNIDAD DE SOPORTE AL DIAGNÓSTICO  
SERVICIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

LABORATORIO DE HISTOCOMPATIBILIDAD Y BIOLOGIA MOLECULAR



Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Técnico del Área de Histocompatibilidad y Biología Molecular del Servicio de Patología Clínica	<ul style="list-style-type: none"><li>Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento</li><li>Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico</li><li>Unidad de Gestión de la Calidad</li></ul>	Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio  Director(e) del Instituto a Nacional de Salud del Niño San Borja

## **GUIA DE PROCEDIMIENTO CUANTIFICACION Y EVALUACION DE LA PUREZA DEL ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO (ADN)**

I.	Título .....	3
II.	Finalidad .....	3
III.	Objetivos .....	3
	a. Objetivos Generales .....	3
	b. Objetivos Específicos .....	3
IV.	Ámbito de aplicación .....	3
V.	Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT .....	4
VI.	Consideraciones Generales .....	4
	a. Definiciones Operativas .....	4
	1. Definición del Procedimiento.....	4
	2. Aspectos Epidemiológicos importantes.....	4
	3. Consentimiento Informado .....	4
	b. Conceptos Básicos .....	4
	c. Requerimientos Básicos.....	5
VII.	Consideraciones Específicas .....	6
	a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento:.....	6
	b. Indicaciones.....	13
	1. Indicaciones Absolutas .....	13
	2. Indicaciones Relativas.....	13
	c. Riesgos o Complicaciones Frecuentes:.....	13
	d. Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes:.....	13
	e. Contraindicaciones.....	13
VIII.	Recomendaciones .....	13
IX.	Autores, Fecha y Lugar .....	14
X.	Anexos.....	14
XI.	Bibliografía.....	15

## GUIA DE PROCEDIMIENTO CUANTIFICACION Y EVALUACION DE LA PUREZA DEL ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (ADN)

### 1) Título

Guía de procedimiento Cuantificación y Evaluación de la pureza del Acido Desoxirribonucleico (ADN).

### 2) Finalidad

Contribuir con la mejora continua de los servicios de salud del INSN-SB, garantizando los procedimientos de laboratorio con estándares internacionales para Cuantificar y Evaluar la pureza del Acido Desoxirribonucleico (ADN).

### 3) Objetivos

#### a. Objetivos Generales

Generar un proceso estandarizado para Cuantificar y Evaluar la pureza del Acido Desoxirribonucleico (ADN).

#### b. Objetivos Específicos

- Garantizar que la concentración y Pureza del ADN extraído sea el adecuado para los posteriores procesos de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que se desarrollan en el laboratorio.
- Almacenar ADN de buena concentración y pureza para posteriores estudios moleculares.

### 4) Ámbito de aplicación

La presente Guía de Procedimiento es de aplicación en el Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular – Servicio de Patología Clínica de la Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento del Instituto Nacional de Salud del Niño, San Borja.

### 5) Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT

Cuantificación y Evaluación de la pureza del Acido Desoxirribonucleico (ADN).

CPT: No aplica.

Fecha : Mayo 2019	Código:GP-045/INSN-SB/USDXT-PC-V.02	Página 3 de 7
-------------------	-------------------------------------	---------------

## 6) Consideraciones Generales

### a. Definiciones Operativas

#### 1. Definición del Procedimiento

La cuantificación y evaluación de la pureza del ADN son esenciales para los análisis por PCR. Uno de los métodos más utilizados para la cuantificación del ADN es el análisis de la absorción Ultravioleta (UV), ya que los nucleótidos poseen máximos de absorción alrededor de 260 nm (por ejemplo, dATP: 259 nm; dCTP: 272 nm; dTTP: 247 nm). Este método proporciona una estimación simple y precisa de la concentración de una muestra, pero sólo si ésta se encuentra pura, sin contaminación significativa de proteínas o solventes orgánicos que absorben a longitudes de onda cercanas. Para evaluar la pureza de la muestra debe determinarse la proporción OD 260nm/OD 280nm. Si la relación es mayor a 1,8 – 2.0 se considera que el ADN extraído es de buena calidad.

#### 2. Aspectos Epidemiológicos importantes

No aplica.

#### 3. Consentimiento Informado

No aplica para este procedimiento.

### b. Conceptos Básicos

- **ADN:** Acido desoxirribonucleico
- **Absorbancia:** Es la medida que refleja cómo se atenúa la radiación cuando atraviesa un elemento.
- **Concentración de ADN:** Es la medida de la cantidad de ADN en un microlitro de solución.
- **Pureza de ADN:** Es la evaluación de la calidad del ADN extraído, resulta de la relación entre las absorbancias a 260/A280.

### c. Requerimientos Básicos

#### Equipos Biomédicos:

- Espectrofotometro

**Materiales e insumos:**

- Micropipeta automáticas de 1 – 10 ul
- Tips con filtro de 1 – 10 ul
- Gradillas para microtubos de 1.5 – 2.0 ml
- Etanol al 70%
- Agua molecular

**7) Consideraciones Específicas****a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento:**

N° Paso	Descripción de Acciones	Responsable
1	Antes iniciar la lectura limpie la superficie superior e inferior del pedestal donde se coloca la muestra utilizando un paño limpio, libre de polvo y pelusas.	Biólogo
2	Coloque 2-3 ul de agua destilada sobre el pedestal donde se coloca la muestra, cierre el “brazo” hasta que haga contacto con la gota de agua destilada.	Biólogo
3	Levante el “brazo” del pedestal y limpie con un paño limpio libre de polvo y pelusa.	Biólogo
4	Abra el software de Nanodrop y seleccione la aplicación <b>Ácidos nucleicos</b> , coloque 1 ul de buffer de elución sobre la superficie del pedestal para realizar una “lectura blanco”.	Biólogo
5	Seleccione <b>BLANK</b> en la aplicación <b>NUCLEIC ACID</b> .	Biólogo
6	Terminada la lectura del “blanco” limpie la superficie del pedestal como el paso N°3.	Biólogo
7	Coloque 2-3 ul de la muestra en el pedestal de lectura, seleccione en tipo de lectura la opción DNA.	Biólogo
8	Inicie la lectura con seleccionando la opción <b>MEASURE</b> .	Biólogo
9	Tome nota de la concentración de ADN en ng/ul.	Biólogo
10	Evalúe la pureza de la muestra mediante el ratio A260/A280.	Biólogo

11	Limpie las superficies de lectura como el paso N°3.	Biólogo
----	---	---------

**b. Indicaciones****1. Indicaciones Absolutas**

- Muestras de ADN extraídas a partir de sangre total, bulbo piloso e hisopado bucal.

**2. Indicaciones Relativas**

- Muestras de ADN re-extraídas por no baja concentración y/o pureza inadecuada.

**c. Riesgos o Complicaciones Frecuentes:**

No aplica para este procedimiento

**d. Riesgos o Complicaciones poco Frecuentes:**

No aplica para este procedimiento

**e. Contraindicaciones**

No aplica para este procedimiento

**8) Recomendaciones**

- Utilizar tips con filtro para el cargado de la muestra y así evitar contaminación de la micropipeta.
- Después de cada lectura realizar la limpieza del pedestal de cargado del equipo.
- Realizar la lectura “blanco” con la misma solución eluyente donde se encuentra el ADN.

**9) Autores, Fecha y Lugar**

*Nombre del Ejecutor responsable:* Blga. Madeley Aliaga Zamudio

*Fecha, hora y Lugar del procedimiento:* Abril 2019 – Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular – Servicio de Patología Clínica – INSN San Borja.

*Fecha de elaboración y vigencia del protocolo:* Abril 2019, vigencia: tres (03) años.

*Lista de Autores y correos electrónicos:*

<b>Fecha : Mayo 2019</b>	<b>Código:GP-045/INSN-SB/USDXT-PC-V.02</b>	<b>Página 6 de 7</b>
--------------------------	--	----------------------



Madeley Karín Aliaga Zamudio MsC(c); [maliaga@insnsb.gob.pe](mailto:maliaga@insnsb.gob.pe)

Carla Elizabeth Méndez Rodríguez Chacón MD; [cmendez@insnsb.gob.pe](mailto:cmendez@insnsb.gob.pe)

Luis Martin Cruz Díaz MsC(c); [lcruz@insnsb.gob.pe](mailto:lcruz@insnsb.gob.pe)

Luis Eduardo Grados Molina; [lgrados@insnsb.gob.pe](mailto:lgrados@insnsb.gob.pe)

Andrea de María Zavaleta Gonzales MD; [azavaleta@insnsb.gob.pe](mailto:azavaleta@insnsb.gob.pe)

## 10) Anexos

No Aplica.

## 11) Bibliografía

1. Philippe Desjardins and Deborah Conklin. NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. Vis Exp. 2010; (45): 2565.
2. M O'Neill, J McPartlin, K Arthure, S Riedel and Nd McMillan. Comparison of the TLDA with the Nanodrop and the reference Qubit system. Journal of Physics: Conference Series 307 (2011) 012047.
3. Palmirotta R, Ludovici G, La De Marchis M, Savonarola A, Leone B, Spila A, De Angelis F, Della Morte D, Ferroni P, and Guadagni F April 2011 Biopreservation and Biobanking, 9(1) pp.35-45. doi:10.1089/bio.2010.0027.