



**INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL
Y CIENCIAS FORENSES
LABORATORIO DE ANÁLISIS
BIOMOLECULAR**

PL-AB-PA-17

**PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y
PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS**

Versión	04
Vigencia	08/11/2019
Página	1 de 11

LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS

ACTUALIZADO	REVISADO	APROBADO
Nombre: Any Rojas	Nombre: Yazmin Castillo	Nombre: Hebe Monteza
Firma:	Firma:	Firma:
Puesto: Enlace de Calidad	Puesto: Supervisor Técnico	Puesto: Jefe del Laboratorio
Fecha:	Fecha:	Fecha:

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	2 de 11

ÍNDICE

1.	OBJETIVO _____	3
2.	ALCANCE _____	3
3.	DEFINICIONES Y ABREVIATURAS _____	3
4.	REFERENCIAS _____	3
5.	DIAGRAMA DE FLUJO _____	3
6.	RESPONSABILIDADES _____	3
7.	EQUIPOS E INSUMOS _____	4
8.	REACTIVOS Y SOLUCIONES _____	4
9.	DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO _____	4
	9.1. Abrir la muestra. _____	5
	9.2. Describir la pieza _____	5
	9.3. Limpiar la pieza _____	6
	9.4. Pulverizar la muestra. _____	7
	9.5. Limpiar el área de trabajo. _____	8
	9.6. Documentar las actividades en la Hoja de Trabajo. _____	8
	9.7. Almacenar la pieza ósea procesada y las muestras obtenidas. _____	9
10.	GUÍA DE CONCLUSIONES / INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS _____	9
	10.1. Guía de Conclusiones _____	9
	10.2. Interpretación de resultados _____	9
11.	FORMATOS _____	10
	11.1. FM-AB-PA-02 – Formato de Hoja de Trabajo de Pre-Tratamiento de Muestras Críticas. _____	10
	11.2. FM-GC-45 – Formato de Rechazo o Devolución. _____	10
12.	SEGURIDAD Y SALUD OCUPACIONAL _____	10
13.	TABLA DE CONTROL DE CAMBIOS _____	11
14.	ANEXOS _____	11

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	3 de 11

1. OBJETIVO

Describir el proceso para realizar desde la limpieza hasta la pulverización de una pieza ósea.

2. ALCANCE

Para uso en el Laboratorio de Análisis Biomolecular, por Peritos y Asistentes de Laboratorio autorizados, específicamente para realizar la limpieza y obtención de polvo de hueso a partir de una pieza ósea utilizando un taladro.

3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

No aplica.

4. REFERENCIAS

- Manual del Sistema de Gestión de Calidad, **MC-GC-01**.
- Instructivo de Elaboración de Procedimiento, Instructivo, Manual y/o Formatos, **IG-GC-01**.

5. DIAGRAMA DE FLUJO

No aplica.

6. RESPONSABILIDADES

Puesto	Responsabilidades
Perito/Asistente de Laboratorio	– Cumplir con todas las actividades descritas en este Procedimiento.
Supervisor Técnico	– Realizar supervisión del correcto cumplimiento de todas las actividades descritas en este Procedimiento.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	4 de 11

Puesto	Responsabilidades
Líder Técnico/Enlace de Calidad	<ul style="list-style-type: none"> – Realizar Revisiones Técnicas. – Realizar las modificaciones o cambios a los documentos.
Jefe del Laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> – Aprobar el presente Procedimiento

7. EQUIPOS E INSUMOS

Cabina de bioseguridad, mango y hoja de bisturí, fresa de pulir, extensor o eje flexible, taladro dremel, cámara fotográfica, sellador, tijeras.

8. REACTIVOS Y SOLUCIONES

Detergente de amonio cuaternario (Grenadier), detergente SDS, Etanol 70%, [Hipoclorito de sodio 5%](#) y [EDTA 0.5 M](#).

9. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El Perito o Asistente de Laboratorio asignado al procesamiento de muestras de piezas óseas debe cumplir estrictamente con todas las medidas de bioseguridad que el Laboratorio ha establecido para esta actividad y las cuales mencionamos a continuación:

- ❖ Uso de vestimenta desechable.
- ❖ Uso de guantes, mascarilla, cobertor de cabello y cobertores de zapato en todo momento.
- ❖ Uso de lentes de bioseguridad durante el procesamiento de la muestra.
- ❖ Limpieza pre y post análisis del área de trabajo.
- ❖ Descontaminación de los instrumentos de trabajo.

Todo el material desechable se debe descartar en bolsas de bioseguridad una vez se finaliza el proceso.

Nota A: Solo se permite el procesamiento (limpieza y pulverización) de una pieza ósea a la vez en el área de trabajo. Esto con el propósito de evitar contaminaciones cruzadas.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	5 de 11

9.1. Abrir la muestra.

9.1.1. Fotografiar el embalaje de acuerdo a lo descrito en las actividades 3.1 y 3.2 del Instructivo de Toma de Vistas Fotográficas Demostrativas, **IT-AB-PA-10**.

9.1.2. Abrir el embalaje para sacar la muestra haciendo un corte preferiblemente en un área donde no se encuentre el sello inicial. Se procura guardar el embalaje y si el mismo representa un riesgo biológico para quien lo manipule los restos no utilizados de la muestra se embalan al finalizar su procesamiento en un nuevo embalaje dentro del cual se incluye el embalaje original (de ser posible) y de ser así se describe esta actividad en las observaciones del Registro de Cadena de Custodia, **DE-AB-PA-03**.

9.1.3. Comparar la muestra con la información descrita en la copia de la Cadena de Custodia. Si esta no coincide con su descripción, el Perito la rechaza y lo documenta en el Formato de Rechazo o Devolución, **FM-GC-45**.

Nota B: en el área de procesamiento de tejidos (óseos, dentales, musculares, etc.) se utiliza copia de la Cadena de Custodia.

9.1.4. Si la muestra coincide con la descripción de la Cadena de Custodia, el Perito o el Asistente de Laboratorio realiza toma de vista fotográfica de acuerdo a lo establecido en la actividad 3.3 del Instructivo de Toma de Vistas Fotográficas Demostrativas, **IT-AB-PA-10**.

9.2. Describir la pieza

9.2.1. El Perito o Asistente de Laboratorio procede a realizar una descripción general de la pieza ósea, basándose en la que aparece en la Cadena de Custodia de la muestra. Esta descripción se documenta en el Formato de Hoja de Trabajo de Pre-Tratamiento de Muestras Críticas, **FM-AB-PA-02**. Una vez finalizada la comparación y descripción de la información, el Perito destruye la copia de la Cadena de Custodia.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	6 de 11

9.3. Limpiar la pieza

9.3.1. Realizar limpieza de la pieza ósea utilizando un detergente diluido (preferiblemente detergente iónico; por ejemplo: SDS) y sumergiendo la pieza en esta solución hasta que el tejido se pueda desprender.

9.3.2. Si se observan restos de tejido blando en la superficie externa de la pieza, utilizar una hoja de bisturí nueva y rasparlos dentro de una bandeja o sobre papel limpios hasta eliminarlos.

9.3.3. Sumergir la pieza ósea en una solución de hipoclorito de sodio a 5% durante aproximadamente 5 minutos (como mínimo).

9.3.4. Lavar la pieza ósea en un reservorio con agua durante un tiempo aproximadamente igual al tiempo que estuvo expuesto a la solución de hipoclorito de sodio.

9.3.5. Secar la pieza ósea con papel absorbente limpio.

9.3.6. Exponer la pieza ósea durante aproximadamente 15 minutos a luz UV Tipo C por cada lado de la pieza. Si en este momento no se va a continuar con la pulverización inmediatamente la pieza ósea puede ser almacenada transitoriamente en una bolsa plástica nueva y limpia junto con su rótulo de vista fotográfica (el cual contiene el Número Interno de Caso) en un lugar destinado para dicha custodia transitoria dentro de la Sala.

Nota C: en caso de piezas óseas frágiles o pequeñas (por ejemplo, clavículas de fetos) no se realiza pulverización de dicha pieza sino una descalcificación con EDTA 0.5 M a 56°C durante al menos 2 horas. Posterior a las 2 horas se retira la pieza de la solución de EDTA 0.5 M, se lava la pieza ósea en agua y se seca con papel absorbente limpio. Esta actividad se registra en el Formato de Hoja de Trabajo de Pre-tratamiento de Muestras Críticas, **FM-AB-PA-02**. La pieza ósea descalcificada puede ser almacenada transitoriamente en una

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	7 de 11

bolsa plástica nueva o tubo nuevo (a aproximadamente -20°C) hasta su muestreo para ADN.

9.3.7. Para continuar con la pulverización sellar una bolsa plástica transparente nueva y limpia por uno de sus laterales, colocarla dentro de la cabina destinada para ello e introducir la pieza ósea.

9.3.8. Preparar el taladro y sus accesorios para limpieza externa de la pieza ósea realizando lo siguiente:

- ❖ Colocar en el extensor o eje flexible una fresa o accesorio para limpiar y pulir.
- ❖ Conectar el extensor o eje flexible al taladro.

9.3.9. Introducir en la bolsa plástica el extensor o eje flexible del taladro y sellar el otro extremo de la bolsa plástica.

9.3.10. Seleccionar la porción proximal de la diáfisis de la pieza ósea y limpiar su superficie externa con la fresa o accesorio conectado al eje flexible. Se limpia la capa externa procurando eliminar al menos 1 mm para eliminar el periostio.

9.3.11. Limpiar la pieza externamente (para eliminar los restos de polvo del paso anterior) y sacarla de la bolsa plástica (descartar la bolsa plástica en una bolsa de bioseguridad) e introducirla en una bolsa plástica nueva para continuar con la pulverización.

9.4. Pulverizar la muestra.

9.4.1. Pulverizar el área seleccionada de la pieza ósea con el taladro manteniendo contacto entre la pieza ósea y el taladro por periodos no mayores a aproximadamente 20 segundos.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	8 de 11

9.4.2. Recuperar con cuidado el polvo que se obtuvo de la pulverización y transferirlo a un reservorio limpio y nuevo con la capacidad para almacenar la cantidad de polvo obtenida. Sellar este reservorio con papel “parafilm” (si no se va a utilizar esta muestra de inmediato, debe almacenarse a -20°C aproximadamente).

9.4.3. Descartar todo el contenido restante de la bolsa plástica en una bolsa de bioseguridad para desecho biológico.

9.5. Limpiar el área de trabajo.

9.5.1. Al finalizar, todos los accesorios, herramientas (taladro) y áreas de trabajo utilizadas deben ser descontaminadas para lo cual se realiza lo siguiente:

- ❖ Limpieza con detergente de amonio cuaternario (por ejemplo, Grenadier) o solución caotrópica diluido en agua.
 - El extensor debe ser separado del taladro para su limpieza.
 - La fresa del taladro debe ser separada del extensor para su limpieza, y dicha limpieza se realiza con la ayuda de un cepillo.
- ❖ Enjuague con agua.
- ❖ Secar con papel limpio.
- ❖ El taladro, extensor y sus accesorios (como fresas) deben ser expuestos a luz UV Tipo C durante 15 minutos aproximadamente.
- ❖ Al finalizar la limpieza se debe lubricar la porción que se adapta a la fresa y debe dejar el sistema (taladro y sus accesorios) armado para su próximo uso.

9.5.2. Las áreas de trabajo utilizadas deben ser descontaminadas con etanol al 70%.

9.6. Documentar las actividades en la Hoja de Trabajo.

9.6.1. Las actividades que se realizan con la pieza ósea durante este Procedimiento son registradas en el Formato de Hoja de Trabajo de Pre-Tratamiento de Muestras Críticas, **FM-AB-PA-02**.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	9 de 11

9.7. Almacenar la pieza ósea procesada y las muestras obtenidas.

9.7.1. Una vez finalizado el proceso la pieza ósea debe ser regresada a la Sala de Custodia Temporal de Indicios, Evidencias y Muestras para su envío por Cadena de Custodia a la Morgue Judicial.

9.7.2. Las muestras de polvo de hueso obtenidas se custodian transitoriamente en la sala de análisis almacenadas a aproximadamente -20°C hasta continuar con la fase de extracción de ADN y esto hasta la obtención de resultados. Si los resultados obtenidos cumplen con los parámetros de aceptación establecidos por el Laboratorio, los remanentes de la muestra son descartados en una bolsa de bioseguridad roja y se deja constancia de esto en las observaciones del Formato de Hoja de Trabajo de Pre-Tratamiento de Muestras Críticas, **FM-AB-PA-02**.

10. GUÍA DE CONCLUSIONES / INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

10.1. Guía de Conclusiones

10.1.1. La forma de redactar las conclusiones en el Informe Pericial, relacionadas con casos a los cuales se les ha aplicado este Procedimiento, se describen en el **Instructivo de Confección de Informe Pericial, IT-AB-PA-24**.

10.2. Interpretación de resultados

10.2.1. Los resultados de procesamiento de piezas óseas descrito en este documento se obtienen posterior al cumplimiento del Procedimiento de Cuantificación del ADN y se describen en el **Procedimiento de Interpretación de Resultados de la Cuantificación de ADN por PCR en Tiempo Real, PL-AB-PA-10**.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	10 de 11

11. FORMATOS

11.1. FM-AB-PA-02 – Formato de Hoja de Trabajo de Pre-Tratamiento de Muestras Críticas.

Este Formato se utiliza para registrar las actividades de limpieza y selección de muestra de muestras críticas (piezas óseas, dentales y/o tejidos musculares).

11.2. FM-GC-45 – Formato de Rechazo o Devolución.

Formato de rechazo donde se registra las razones por lo cual se rechaza la solicitud y no se acepta la evidencia. (Copia firmada de este formato/registro debería ser entregada al cliente o su representante para su expediente).

12. SEGURIDAD Y SALUD OCUPACIONAL

Durante la aplicación de este Procedimiento es deber del Perito cumplir con las políticas internas de uso de implementos de bioseguridad en las áreas de procesamiento de las muestras, así como cumplir con las actividades de limpieza y organización de su área de trabajo antes y después del procesamiento de las muestras.

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOMOLECULAR	PL-AB-PA-17	
	PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA Y PULVERIZACIÓN DE PIEZAS ÓSEAS	Versión	04
		Vigencia	08/11/2019
		Página	11 de 11

13. TABLA DE CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS						
Versión	Vigencia	Fecha de actualización	Acción (A),(S),(A+S)	Descripción del Texto Modificado	Páginas afectadas	Realizado por
01	01/05/18	17/08/18	A + S		1-10	Any R.
02	17/08/18	28/01/19	A + S	Ajustes en la redacción, se adicionan observaciones realizadas a la versión anterior.	3, 5- 9	Any R.
03	01/02/19	01/11/19	A + S	Ajustes en la redacción y estructura del documento.	3, 4, 9, 10.	Any R.

Abreviatura: A= Adición de texto; S=Supresión; A+S= Adición y Supresión simultáneamente.

14. ANEXOS

No Aplica.