



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

Propuesta de un Manual de  
Procedimientos Normalizados de  
Operación para el Laboratorio de  
BCT-I

TESIS

Que para obtener el título de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

Saúl de Jesús Díaz Ramírez

DIRECTORA DE TESIS

M. en C. Araceli García del Valle

ASESORA DE TESIS

Mtra. Leonor Aguilar Santelises



Proyecto PAPI ME PE210815

Ciudad de México, 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Mi sincero agradecimiento a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) quienes, a través del Programa PAPIME, facilitaron los recursos para la realización del proyecto PE210815.

## AGRADECIMIENTOS...

A la Universidad Nacional Autónoma de México, *mater quae nutrit mens et anima*. Por darme el privilegio de ser parte de su magnánima historia y por permitirme escribir la propia bajo su fastuosa áurea...

A la FES Zaragoza, *in canin Ocelotl techyolleua huicpa in yaochichihualiztli\**, por investirme de un hogar y de una estirpe; por poner en mis manos el fuego supremo del conocimiento que, así como Prometeo, repartiré entre mis semejantes para que de éste obtengan provecho; por plantar en mi camino personas de luz, cuyo resplandor me ha conferido un brillo particular...

A la M. en C. Araceli García del Valle, *poi che inalzai un poco più le ciglia, vidi il Maestro di color che sanno... tutti lo miran, tutti onor gli fanno\*\**. Por el honor que fue haber trabajado bajo su encomienda. Agradezco infinitamente su invaluable apoyo y su inagotable paciencia...

A la Mtra. Leonor Aguilar Santelises, *tu se' lo mio maestro e il mio autore, tu se' solo colui, da cui io tolsi lo bello stile che m' ha fatto onore\*\*\**. Por ser la fuente de conocimiento de la cual he abrevado en innumerables ocasiones. Mi más sincero agradecimiento por todos los consejos y sugerencias que externó antes y durante la realización de este trabajo...

A la M. en C. Margarita Cruz Millán, *Hipatia moderna*. Por ser guía y consejera. Le doy las gracias por estimular mi aprendizaje no solo en el plano académico, sino también en el ámbito personal...

A la Mtra. Dora Alicia Pérez González, por el tiempo invertido en la revisión de este trabajo y por aportar su conocimiento para la mejora del mismo...

Al M. en C. Fernando Hernández Clemente, por la escrupulosa revisión realizada a mi trabajo y por su sincera preocupación por enriquecerlo con cada una de sus puntuales indicaciones...

A la profesora Mireya García Casas, *Higia terrena*. Por transmitirme su entusiasmo por el quehacer farmacéutico, al grado de transmutar mi paradigma profesional...

Al Q.F.B. Roberto Pérez Sánchez, *Panamacani yollopiltic...* Por permitirme ser digno de tu confianza y generosidad y por ser un excelente colega y amigo.

\* Extracto del poema *Aca Ilhuilitl*, de Luis Aveláis Pozos

\*\*Extracto del Canto Primero de *"El Infierno"* de Dante Alighieri

\*\*\*Extracto del Canto Cuarto de *"El Infierno"* de Dante Alighieri

## DEDICATORIAS...

A mi madre, Dolores Ramírez Hernández, por ser mi aliento y mi abrigo; por ser mis manos, mis ojos y mi voz; porque por mi corazón fluyen tus vertientes y por mi alma se extiende tu esencia; porque no existen las palabras precisas para poder agradecer el maravilloso sacrificio de ofrendar tu vida para poder erigir la mía...

A mi padre, Samuel Díaz Gómez, por la senda que labraste y por la cual me has permitido transitar para llegar hasta aquí, conduciéndome por medio de tu ejemplo y tu sabio consejo...

A mis hermanos Nancy, Evelyn, Samuel, David y Rubén, por el barullo de nuestros primeros años, por las avenencias y desacuerdos durante nuestra lozanía y por el apego que en el presente y futuro fortalecerá nuestra robusta raíz, irrigada por el impetuoso torrente del río carmesí...

A mis sobrinos, Alejandro, Ángel, Alverick, Alonso y Mareni, porque son la centella que devendrá en un luminoso porvenir, que anhelo me enceguezca y me colme de orgullo...

A José Luis, Daniel, Victoria y Naremi, porque juntos hemos visto declinar el alba de nuestras respectivas existencias, y de la misma manera, recibiremos gustosos el atardecer que nos iluminará con una luz distinta... porque siempre estarán conmigo, estando y sin estar...

A Isis, Jessica, Nidia, Ana Lilia, Araceli, Paola y Hanna, por ser mis mujeres fantásticas, orgullosas herederas de Minerva, de quienes he recibido, cual ninfas, la melodía exquisita de su algazara y que me han permitido surcar el cielo, cual valquirias, gracias al impulso que siempre me prodigan...

A Fernando, Luis y Christian, por ser el escudo y la espada que me permitieron superar incontables batallas, por ser compañeros de correrías y tropelías, por su valentía y caballerosidad que son dignas de emular...

A Alejandra, porque *buscando ser*, has sido; porque *mi realidad ha superado mi imaginación*; por ser *rara* y aun así *agradarme*; porque me has dado más de *una razón para volver a tu refugio*; porque he tenido el honor de tus tardes, por cuyo honor *he visto restaurado el mío*; porque has sido esa *persona amada que me arranca los suspiros*...

Some say we walk alone  
Barefoot on wicked stone, no light  
And sanctuary found never waits around awhile

Marching to the sea  
Their dreams stay in the shadows  
Their dreams stay firmly rooted in the shallows  
See the scraping sky  
See my destination there tonight

So say I walk alone, barefoot  
On wicked stone tonight  
Will you leap to follow  
Will you turn and go  
Will your dreams stay rooted in the shallows

See the scraping sky  
Far beyond the shallows  
Far beyond the reaches of the shadows

Though youth may fade with boyhood's cares  
New fear will catch us unawares  
I know it will

So you might say  
The path we share is one of danger  
And of fear  
Until the end

*Sea within a sea*

*The Horrors*

*2009*

# CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. EL LABORATORIO .....	10
2.2. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL) .....	10
2.2.1 PRINCIPALES PRINCIPIOS QUE ABARCAN LAS BPL .....	11
2.3. CALIDAD.....	12
2.3.1. CONCEPTO DE CALIDAD .....	12
2.3.2. PRINCIPIOS DE GESTIÓN DE CALIDAD.....	13
2.3.3. SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD.....	14
2.3.4. ENFOQUE DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD .....	15
2.3.5. DOCUMENTACIÓN EN UN SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD.....	15
2.4. MANUAL DE CALIDAD .....	22
2.5. MANUALES DE PROCEDIMIENTOS .....	22
2.5.1. IMPORTANCIA DE LOS MANUALES DE PROCEDIMIENTOS.....	23
2.5.1.1. VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LA UTILIZACIÓN DE MANUALES.....	25
2.5.2. PARTES QUE CONFORMAN EL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS.....	25
2.6. PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN.....	27
2.6.1. DESARROLLO DE UN PNO.....	28
2.6.2. FORMATO Y DISEÑO .....	30
2.6.3. CONTENIDO .....	31
2.6.4. REDACCIÓN .....	33
2.6.5. EMISIÓN Y ACTUALIZACIÓN.....	34
2.6.6. REVISIÓN Y APROBACIÓN.....	35
2.6.7. DISTRIBUCIÓN Y CONTROL .....	36
2.6.8. DOCUMENTOS DERIVADOS DE LA APLICACIÓN DE UN PNO .....	37
2.7. DIAGRAMAS DE FLUJO.....	38
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	41

4. HIPÓTESIS .....	43
5. OBJETIVOS .....	44
6. MATERIAL .....	45
7. METODOLOGÍA.....	46
8. RESULTADOS .....	48
9. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	49
10. CONCLUSIONES.....	58
11. SUGERENCIAS .....	59
12. REFERENCIAS.....	60
ANEXOS .....	63
Procedimiento normalizado de operación para la extracción y análisis de lípidos presentes en yema de huevo por espectrofotometría visible. ....	64
Procedimiento normalizado de operación para la separación de muestras de ADN humano por electroforesis .....	81

# 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el nivel de exigencia respecto a la calidad obliga a tener una estructuración de trabajo que permita que todas las variables que intervienen en los distintos procesos (de diseño, de producción o de comercialización, etc.) estén controladas de forma que el resultado que se obtenga sea, no sólo predecible, sino siempre el esperado.

Un sistema de calidad permite saber qué se espera de su trabajo, cómo realizar sus tareas y cuándo hacer su trabajo y esto, a su vez, permite obtener un resultado predecible y, por tanto, controlable.

Para implantar un sistema de calidad es necesario planificar las etapas y acciones necesarias. Se debe realizar una programación temporal y fijar claramente las responsabilidades tanto de la empresa como del equipo consultor que asesora el proceso.

La documentación constituye una base para poder entender el sistema, comunicar sus procesos y requisitos dentro de la organización, describirse a otras organizaciones y determinar la eficacia de la implementación. Se exige que la organización establezca, documente, mantenga y mejore el sistema de gestión de la calidad. Es responsabilidad de la dirección facilitar el establecimiento de dicho sistema. El sistema documentado debe reflejar actividades que realmente se llevan a cabo para garantizar la conformidad. En este sentido, se busca que la conformación adecuada de un manual de Procedimientos Normalizados de Operación (PNO) para el Laboratorio de Bioquímica Celular y de Tejidos, delimite las actividades que se llevan a cabo, facilitando la ejecución, seguimiento y evaluación del desempeño dentro del laboratorio. Éste debe

constituirse en un instrumento ágil que apoye el proceso de actualización y mejora, mediante la elaboración de los procedimientos que permitan un trabajo adecuado y eficiente de las funciones asignadas.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. EL LABORATORIO

En el desarrollo, razonable pero no necesario de las tecnologías intelectuales, que son las ciencias, hay una invención cultural a la que hay que dar importancia capital: el laboratorio. Un laboratorio es un lugar abstracto en el que se pueden practicar ciertas experiencias controladas <sup>(1)</sup>.

El principal objetivo de un laboratorio es producir resultados fiables <sup>(2)</sup>; estos datos deben ser obtenidos con técnicas analíticas confiables, precisas y adecuadas para su fin. Esto, que parece obvio, no es tan fácil de lograr en la realidad, como se ha demostrado en múltiples estudios entre laboratorios, que muestran que laboratorios diferentes, utilizando una misma metodología analítica y personal experimentado, analizando una misma muestra, obtienen resultados con una amplia variabilidad. Con todo eso, el laboratorio debe asegurar la calidad de los resultados, de una manera planeada y revisada, y debe considerar el uso de esquemas internos de control de calidad <sup>(3)</sup>.

La pregunta entonces sería: ¿cómo mejorar la calidad en el laboratorio?

### 2.2. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL)

Ahora bien, la calidad no sólo hay que controlarla al final de un proceso, sino hay que planificarla desde el momento en el que se va a producir un producto farmacéutico, cosmético, alimentario, etc., o se va a realizar una investigación o estudio. Las normas que pueden orientarnos sobre lo que tenemos que realizar para obtener un determinado nivel de calidad son precisamente las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

Las BPL son “un conjunto de reglas, procedimientos operacionales y prácticas establecidas que se consideran de obligado cumplimiento para asegurar la calidad e integridad de los datos producidos en determinados tipos de investigaciones o estudios”. Las BPL es todo lo relacionado con el proceso de organización y las condiciones técnicas bajo las cuales los estudios de laboratorio se han planificado, realizado, controlado, registrado e informado" <sup>(4)</sup>.

Las normas BPL constituyen, en esencia, una filosofía de trabajo, son un sistema de organización de todo lo que de alguna forma interviene en la realización de un estudio o procedimiento encaminado a la investigación de todo producto químico o biológico que pueda tener impacto sobre la especie humana. Las normas inciden en cómo debe trabajar a lo largo de todo el estudio, desde su diseño hasta el archivo <sup>(5)</sup>.

#### 2.2.1 PRINCIPALES PRINCIPIOS QUE ABARCAN LAS BPL <sup>(6)</sup>.

- Condiciones adecuadas. Desde el punto de vista del trabajo, para que éste pueda ser realizado por los trabajadores en forma segura y apropiada. Se debe contar con suficientes salas, para que el personal trabaje sin limitaciones de espacio. El propósito y el tipo de producto a analizar deben ser considerados en el diseño de un laboratorio.
- Personal calificado. Es importante contar con personal calificado. Esto es una decisión de manejo basada en trabajo de calidad.
- Equipamientos mantenidos y calibrados. Emplear equipos mantenidos y calibrados de manera apropiada. Además disponer de los registros de los mantenimientos.

- Procedimientos Estándares de Operación. Documentos que garantizan la calidad e integridad de los datos generados por dicha instalación <sup>(4)</sup>. Es importante esta práctica, tanto para las operaciones de muestreo como en las del procedimiento analítico.

Si se tiene en cuenta que los laboratorios son los que en última instancia confirman la calidad de los productos con sus especificaciones, es importante el buen desempeño de su labor para el correcto desenvolvimiento del comercio, la garantía de los negocios, la seguridad de los productos para el consumo y la prevención de pérdidas económicas, por lo que la garantía de la calidad en los laboratorios es un indicador de su competencia de gran importancia para la seguridad. Ello exige que los laboratorios tengan cada vez más la necesidad de operar con sistemas de gestión de la calidad <sup>(7)</sup>.

### 2.3. CALIDAD

Las organizaciones en general, buscan mejorar sus productos y/o servicios, con el fin de aumentar su productividad, competitividad u obtener reconocimiento, y de esta manera garantizar su supervivencia y crecimiento en el mercado, en el cual existen nuevas exigencias cada día. Uno de los mecanismos que mayores resultados ha proporcionado es la implantación de una dirección basada en la calidad <sup>(8)</sup>.

#### 2.3.1. CONCEPTO DE CALIDAD

El concepto de calidad es tan antiguo como el comercio y básicamente se enfocaba como la conformidad del producto. La calidad considerada genéricamente es un concepto abstracto que tiene muchas implicaciones, por lo que no es de extrañar que se encuentren un sinnúmero de definiciones que hacen énfasis en distintos aspectos <sup>(6)</sup>.

La calidad es un conjunto de características de un producto o servicio que le confiere la aptitud necesaria para satisfacer e incluso superar las necesidades y expectativas del cliente o usuario <sup>(9)</sup>.

El concepto de calidad ha ido evolucionando a lo largo de los años, ampliando objetivos y variando la orientación; pasando de la simple idea de realizar una verificación de calidad, a tratar de generar calidad desde los orígenes. Se busca asegurar la calidad en el proceso de producción para evitar que este dé lugar a productos defectuosos <sup>(10)</sup>.

La calidad no se obtiene por casualidad, sino mediante los recursos y los procedimientos adecuados, es decir, a través de la gestión. La parte de una empresa que se relaciona con la obtención de la calidad es la gestión de la calidad. La gestión de la calidad incluye actividades como la planificación de la calidad, el control de la calidad, el aseguramiento de la calidad y la mejora de la calidad <sup>(11)</sup>.

### 2.3.2. PRINCIPIOS DE GESTIÓN DE CALIDAD

Para conducir y operar una organización en forma exitosa se requiere que ésta se dirija y controle en forma sistemática y transparente. Se han identificado siete principios de gestión de la calidad que pueden ser utilizados por la alta dirección con el fin de conducir a la organización hacia una mejora en el desempeño:

- **Enfoque al cliente:** Las organizaciones dependen de sus clientes y por lo tanto deberían comprender las necesidades actuales y futuras de los clientes, satisfacer los requisitos de los clientes y esforzarse en exceder las expectativas de los clientes.
- **Liderazgo:** Los líderes establecen la unidad de propósito y la orientación de la organización. Ellos deberían crear y mantener un ambiente interno, en el cual el

personal pueda llegar a involucrarse totalmente en el logro de los objetivos de la organización.

- Participación del personal: El personal, a todos los niveles, es la esencia de una organización y su total compromiso posibilita que sus habilidades sean usadas para el beneficio de la organización.
- Enfoque basado en procesos: Un resultado deseado se alcanza más eficientemente cuando las actividades y los recursos relacionados se gestionan como un proceso.
- Mejora: La mejora continua del desempeño global de la organización debería ser un objetivo permanente de ésta.
- Toma de decisiones informadas: Las decisiones eficaces se basan en el análisis de los datos y la información.
- Gestión de las relaciones: Una organización y sus proveedores son interdependientes, y una relación mutuamente beneficiosa aumenta la capacidad de ambos para crear valor.

Estos siete principios de gestión de la calidad constituyen la base de las normas de sistemas de gestión de la calidad de la familia de Normas ISO 9000 <sup>(7, 12)</sup>.

### 2.3.3. SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD

La gestión de la calidad se lleva a cabo mediante un sistema, es decir, mediante un conjunto de elementos mutuamente relacionados entre sí o que actúan entre sí <sup>(11)</sup>.

El sistema de calidad es el conjunto de la estructura organizativa, responsabilidades, procedimientos, procesos y recursos que se establecen para llevar a cabo una gestión de calidad que proporcione la adecuada confianza. La empresa debe aportar los

recursos necesarios para que la política de calidad sea viable y documentar el sistema para que no se pierda el esfuerzo realizado <sup>(13)</sup>.

#### 2.3.4. ENFOQUE DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD

La gestión de una organización comprende la gestión de la calidad entre otras disciplinas de gestión. Un enfoque para desarrollar e implementar un sistema de gestión de la calidad comprende diferentes etapas como:

- Determinar las necesidades y expectativas de cada una de las partes interesadas.
- Establecer la política y objetivos de calidad.
- Determinar los procesos y responsabilidades necesarias para el logro de los objetivos de la calidad.
- Determinar y proporcionar los recursos necesarios para el logro de los objetivos de la calidad.
- Establecer métodos para medir la eficiencia del proceso.
- Determinar medios para prevenir no conformidades y eliminar sus causas.
- Establecer y aplicar un proceso para la mejora continua del sistema de gestión de calidad <sup>(14)</sup>.

#### 2.3.5. DOCUMENTACIÓN EN UN SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD

La importancia de la documentación de un SGC es comunicar por escrito los objetivos y propósitos de la organización sobre la calidad y demostrar si las acciones fueron consistentes con éstos.

Es importante señalar que la documentación no es un fin, sino una actividad que aporta valor a la operación y efectividad al sistema de gestión de calidad. La utilización de la documentación contribuye a:

- Lograr la conformidad con los requisitos de la tarea propuesta y la mejora de la calidad.
- Proveer la formación apropiada.
- La repetibilidad y la trazabilidad.
- Proporcionar evidencia objetiva.
- Evaluar la eficacia y la adecuación continua del Sistema de Gestión de Calidad <sup>(15,16)</sup>.

#### 2.3.5.1. ESTRUCTURACIÓN DE UN SISTEMA DE DOCUMENTACIÓN

La parte documental es uno de los sistemas fundamentales que apoyan al sistema de calidad, por lo tanto su estructura debe ser sólida y asegurar su comprensión, su aplicación, seguimiento y efectividad, para lo cual cada empresa debe considerar los siguientes aspectos al implementar el sistema documental:

- La planeación de la estructura de la documentación, en donde se decide qué tipo de documentos maestros se manejarán, y se generan los PNO para la elaboración de los mismos.
- La evaluación de los recursos, que involucran al personal, los equipos, sistemas y áreas, los instrumentos, los procesos y métodos utilizados en la empresa.
- El establecimiento o mejora del sistema de calidad, para lo cual se debe contar con planes de calidad, establecer los criterios de actualización de los documentos y contar con la evidencia documentada (registros) que demuestre el cumplimiento del sistema de calidad.

- La demostración del cumplimiento del sistema de calidad basada en la evidencia documentada que incluye el uso de documentación maestra, el uso de documentación vigente, el control de los documentos y el control de los registros.
- El flujo que tendrá la documentación a través de los departamentos establecidos por el organigrama de la empresa y las descripciones de labores.
- La capacitación constante del personal involucrado, tanto en la elaboración como en el control y la aplicación de los documentos <sup>(17)</sup>.

Una vez que se ha estructurado el sistema de documentación se debe tener en cuenta que éste debe evaluarse constantemente para asegurar su efectividad con base en las especificaciones sobre las que fue diseñado, para realizar posibles mejoras <sup>(17, 18)</sup>.

#### 2.3.5.2. NIVELES DE UN SISTEMA DE DOCUMENTACIÓN

El sistema de documentación puede clasificarse en 5 niveles <sup>(17, 18)</sup>:

Nivel	Tipo de documentación	Descripción	Ejemplos
1	Documentos legales	Aquellos que se basan en las exigencias regulatorias	Leyes, reglamentos, farmacopeas, normas, guías, decretos, acuerdos y reportes técnicos, auditorías de la Secretaría de Salud.
2	Documentos maestros	Reflejan los criterios de la empresa y engloban sus políticas, sirven de base para generar documentos de niveles menores.	Expediente maestro de planta, manual de calidad, el plan maestro de validación y los planes de calidad.
3	Procedimientos	Son documentos específicos para cada área o departamento que desglosan las actividades que en ella se realizan.	Procedimientos Normalizados de Operación, protocolos, especificaciones, programas de mantenimiento y de calibración, descripciones de puesto.
4	Instructivos	Son documentos que incluyen actividades sencillas dirigidas generalmente a nivel operativo.	Instructivos, guías de trabajo, instrucciones, lineamientos y listados de verificación.
5	Registros	Son los documentos derivados de la ejecución de las actividades indicadas en los documentos de los niveles anteriores.	Bitácoras, certificados y etiquetas.

Cuadro 1: Niveles de documentación en un SGC

### 2.3.5.3. CARACTERÍSTICAS DE LA DOCUMENTACIÓN <sup>(20)</sup>

Independientemente del nivel que se trate, la documentación tendrá que cumplir con ciertos requisitos. Entre las principales características se pueden mencionar:

- Todos los documentos existentes en un establecimiento deben mantenerse actualizados y ordenados.
- Los documentos que contienen instrucciones deben ser aprobados, firmados y fechados. Todos los tipos de documentos deben definirse y apegarse a lo establecido. Los requisitos aplican de igual manera a todas las formas de documentación.
- Los documentos del sistema deben estar escritos en idioma español. Cuando los documentos estén en dos idiomas o más, siempre deben incluir la versión en español.
- Algunos documentos pueden existir en forma híbrida, por ejemplo, parte en formato electrónico y otros en papel. Los documentos que contienen instrucciones deben redactarse de manera ordenada y ser fáciles de comprobar. El estilo y lenguaje de los documentos debe concordar con su intención de uso.
- Los documentos del Sistema de Gestión de Calidad deben revisarse periódicamente y mantenerse actualizados
- Los documentos deben diseñarse, prepararse, revisarse y distribuirse de acuerdo a lo establecido en el Sistema de Gestión de Calidad.
- Los documentos no deben ser manuscritos; sin embargo, cuando los documentos requieran un registro de datos, debe dejarse espacio suficiente para permitir la realización de dichas entradas.
- Los registros escritos a mano en documentos, deben realizarse de forma clara, legible e indeleble. El registro de actividades debe realizarse al momento de la actividad respetando el orden cronológico.

- Cualquier corrección al registro de una actividad o a un documento debe ser firmado y fechado y permitir la lectura de la información original.
- Cuando se requiera una explicación del motivo de la corrección debe documentarse; estos registros deben contener la fecha e identificar quién realizó la actividad.
- Debe existir un mecanismo que permita identificar las firmas y rúbricas del personal que ejecuta la operación.

#### 2.3.5.4. TIPOS DE DOCUMENTOS UTILIZADOS EN LOS SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD

El sistema de gestión de calidad tiene que incluir

- La información documentada requerida por la norma ISO 9001:2015
- La información documentada que la empresa determine como necesaria para obtener la eficiencia del Sistema de Gestión de la Calidad, la cual dependerá del tamaño de la organización y el tipo de actividad que realiza, además de los procesos, productos y servicios, la complejidad de los diferentes procesos con los que cuenta y a competencia de las personas <sup>(12)</sup>.

Dentro de la norma ISO 9001:2015 se encuentra el término “Información documentada”, el cual se refiere a la información que debe ser controlada y mantenida por una organización y el medio en el que está contenida. Esta definición incluye dos notas:

1. La información documentada puede estar en cualquier formato y medio y ser de cualquier fuente.
2. La información documentada puede referirse al Sistema de Gestión de Calidad, incluyendo los procesos relacionados; la información creada por la organización

para su operación (documentación) y la evidencia de los resultados obtenidos en su operación <sup>(12, 21)</sup>.

En la versión de la Norma ISO 9001:2015 no se utilizan los términos procedimientos y registros, ya que estos dos elementos ahora se denominan en conjunto como “información documentada”, aunque dentro de la norma se hablará, en varias ocasiones, de mantener y retener: cuando se mencione mantener se referirá a documentar, y en el momento en que se hable de retener será referido al registro <sup>(12, 21)</sup>. Si bien es cierto que el término “información documentada” hace referencia a cualquier documento que se genere y/o utilice dentro de una organización, es importante conocer qué tipo de documentos son indispensables en un Sistema de Gestión de Calidad para su funcionamiento. A continuación, se citan los más importantes:

- Los planes de calidad, que describen como se aplica el sistema de gestión de la calidad a un producto, proyecto o contrato específico.
- Las especificaciones, que son documentos que aportan información sobre cómo deben o cómo están constituidos ciertos productos.
- Las guías, que son documentos que establecen recomendaciones o sugerencias.
- Los procedimientos e instrucciones de trabajo, que proporcionan información sobre como efectuar las actividades y los procesos de manera coherente.
- Los registros, que son los documentos que proporcionan evidencia objetiva de las actividades realizadas y de los resultados obtenidos, y que son la evidencia de que el sistema de gestión de la calidad está operando <sup>(14, 19)</sup>.

Todo lo anterior debe estar contenido en un manual de calidad, que define los papeles y responsabilidades del personal y los procedimientos de operación del laboratorio <sup>(12, 21)</sup>.

## 2.4. MANUAL DE CALIDAD

El manual de calidad es el documento que describe el conjunto del sistema de gestión de la calidad, sus procesos y las interrelaciones entre esos procesos: puede contener o bien remitir a procedimientos documentados más detallados. El manual deberá ser de utilidad para facilitar la comprensión del sistema de gestión de la calidad, y la organización no deberá sentirse obligada a utilizar un formato en concreto para el contenido del manual <sup>(22)</sup>. La redacción de este manual es una de las tareas más arduas en la implementación del sistema, y el mismo debe ser el resultado de un esfuerzo conjunto del personal del laboratorio <sup>(3)</sup>.

El formato y la organización deben establecer y mantener un manual de calidad que incluya:

- El alcance del sistema de gestión de la calidad, incluyendo los detalles y la justificación de cualquier exclusión.
- Los procedimientos documentados establecidos para el sistema de gestión de la calidad, o referencia de los mismos.
- El contenido debe desarrollarse de forma que describa el modo en que funciona realmente el sistema de gestión de la calidad de la organización.

El instrumento primario para la aplicación del control de calidad está constituido por los manuales de procedimientos técnicos y administrativos <sup>(9)</sup>.

## 2.5. MANUALES DE PROCEDIMIENTOS

Los sistemas de calidad como garantía de un buen servicio se han llevado a cabo desde hace ya varios años por diferentes sectores industriales y organizaciones, estos promueven la estandarización de la gestión y coordinación en la organización como

estrategia del aseguramiento de la calidad. En los diferentes niveles de actividad, se hace necesario contar con un manual de procedimientos para las diversas actividades a realizar que aseguren la reproducibilidad de las acciones ejecutadas <sup>(23)</sup>.

Se entiende como procedimiento a la descripción precisa, concisa y clara del material, equipo, condiciones, actividades y requerimientos para obtener un producto o un servicio de una calidad definida <sup>(24)</sup>. Se considera al manual de procedimientos como el instrumento que establece los mecanismos esenciales para el desempeño organizacional de las unidades administrativas.

Los estándares nacionales que se adoptan por consenso de los usuarios o miembros, deben estar basados en los estándares internacionales preparados por la International Standard Organization <sup>(12, 25)</sup>.

#### 2.5.1. IMPORTANCIA DE LOS MANUALES DE PROCEDIMIENTOS <sup>(25)</sup>

- Constituyen una fuente formal y permanente de información y orientación acerca de la manera de ejecutar un trabajo determinado.
- Establecen los lineamientos y mecanismos para la correcta ejecución de un trabajo determinado.
- Contribuyen a dar continuidad y coherencia de las actividades que describen.
- Delimitan responsabilidades y evitan desviaciones arbitrarias o malos entendidos en la ejecución de un trabajo determinado.
- Facilitan la supervisión del trabajo y proporcionan a los jefes los elementos necesarios para verificar el cumplimiento de las actividades de los subordinados.
- Son una herramienta para capacitar al personal en el desempeño de sus funciones.

- Sirven como base para la realización de estudios de métodos y sistemas, con la finalidad de agilizar, simplificar, automatizar o desconcentrar las actividades que se llevan a cabo en las dependencias.
- Auxilian en las labores de auditoría administrativa.
- Establecen claramente el grado de autoridad y responsabilidad de los distintos niveles jerárquicos que la componen.
- Promueven el aprovechamiento racional de los recursos humanos, materiales, financieros y tecnológicos disponibles
- Funcionan como medio de relación y coordinación con otras organizaciones <sup>(26)</sup>.

### 2.5.1.1. VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LA UTILIZACIÓN DE MANUALES <sup>(26)</sup>

VENTAJAS	DESVENTAJAS
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Son una fuente permanente de información sobre las prácticas generales y sectoriales de una organización.</li> <li>✓ Son una herramienta de apoyo en el entrenamiento y capacitación de nuevos empleados.</li> <li>✓ Logran y mantienen un sólido plan de organización.</li> <li>✓ Aseguran que todos los interesados tengan una adecuada comprensión del plan general y de sus propios papeles y relaciones pertinentes.</li> <li>✓ Determinan la responsabilidad de cada puesto y su relación con otros puestos de la organización.</li> <li>✓ Contribuyen al control del cumplimiento de las tareas y evitan su alteración arbitraria.</li> <li>✓ Ayudan a institucionalizar y hacer efectivos los objetivos, las políticas, los procedimientos, etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✗ Constituyen una herramienta, pero no la solución para todos los problemas administrativos que se puedan presentar.</li> <li>✗ Si no se actualizan permanentemente, pierden vigencia con rapidez.</li> <li>✗ Incluyen sólo los aspectos formales de la organización dejando de lado los informales, cuya vigencia e importancia para la vida de la misma es notoria.</li> <li>✗ Algunos consideran que es demasiado caro, limitativo y laborioso preparar un manual y conservarlo al día.</li> <li>✗ Existe el temor de que pueda conducir a una estricta reglamentación y rigidez.</li> </ul>

Cuadro 2: Ventajas y limitaciones de los manuales de procedimientos

### 2.5.2. PARTES QUE CONFORMAN EL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

Bajo la base de los requerimientos que plantea la Norma ISO9001-2008, se presentan los apartados que pueden formar parte de un manual de procedimientos <sup>(14, 19)</sup>.

- Identificación: Este manual debe incluir, en primer término, los siguientes datos:

- ✓ Logotipo de la organización. La expresión gráfica de la identidad corporativa de una organización compuesta por un símbolo, un emblema y una tipografía.
- ✓ Nombre de la organización.
- ✓ Denominación y extensión del manual (general o específico). Si corresponde a una unidad en particular, debe anotarse el nombre de ésta.
- ✓ Lugar y fecha de elaboración. Día, mes y año en que se terminó de elaborar el procedimiento.
- ✓ Numeración de páginas. En el primer espacio debe anotarse el número progresivo de las hojas del manual y, en el segundo, el número total de hojas en que consta el documento.
- ✓ Sustitución de páginas (actualización de información).
- ✓ Unidades responsables de su elaboración, revisión y/o autorización.
- ✓ Clave del formulario; en primer término, se deben escribir las siglas de la organización; en segundo, las de la unidad administrativa responsable de elaborar o utilizar la forma; en tercero, el número consecutivo del formulario y, en cuarto, el año. Para leerla con facilidad, deberá colocarse un guion o una diagonal entre las siglas y los números <sup>(27)</sup>.
- Introducción: En la introducción se presenta y da a conocer el manual al lector, indicando su función y los procedimientos que en él se detallan, así como demás información que genere un conocimiento básico de lo que se puede encontrar en el manual.
- Índice: Es la relación de los capítulos o apartados que constituyen el cuerpo del documento <sup>(27)</sup>.

- Contenido: Lista de procedimientos que integran el contenido del manual.
- Objetivo del manual: Presenta la finalidad del manual.
- Normativa de aplicación: Se refiere a las normas que se aplican dentro del manual.
- Características de los procedimientos: Se dan a conocer las peculiaridades y particularidades de los procedimientos.
- Instrucciones para el uso del manual: Se dan las indicaciones, tales como abreviaturas y símbolos necesarios para la comprensión y uso del manual.

## 2.6. PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN (PNO)

Por definición normativa, los PNO son documentos que contienen las instrucciones mínimas necesarias para llevar a cabo una operación de manera reproducible, así como el objetivo, alcance, responsabilidad, desarrollo del proceso y referencias bibliográficas <sup>(23)</sup>. Estos documentos definen el qué, quién, cómo, cuándo y dónde de una o varias actividades del establecimiento, descritas en forma específica y clara <sup>(19)</sup>.

La aplicación de los PNO constituye uno de los pilares para el buen funcionamiento del establecimiento. Implementar los PNO para cada una de las actividades contribuye a ordenar y controlar la operación del establecimiento, prevenir y corregir irregularidades, dar seguimiento a los trabajos y confirmar que se cumplan los requisitos. Además de las ventajas mencionadas, contribuyen a:

- Mejorar la organización y ejecución de las actividades.
- Facilitar el trabajo al personal, tanto de carácter técnico como administrativo.
- Proporcionar uniformidad en la utilización de los equipos de toma de muestras y de análisis, reduciendo las posibilidades de error.

- Garantizar el registro de los datos primarios.
- Facilitar el seguimiento y control de las operaciones realizadas.
- Proporcionar datos comparativos, tanto dentro del propio laboratorio como con otros laboratorios, a lo largo del tiempo.
- Ayudar a la formación del nuevo personal.
- Reducir gastos

Los PNO deben describir las responsabilidades del personal operativo en cada paso del proceso, explicando cómo se ejecutan las diferentes actividades, los documentos y los registros que se requieren, los controles que se deben aplicar y las actividades de supervisión que deben ser registradas.

De manera general, los PNO permiten que una actividad sea desarrollada de la misma forma por todo el personal, sirven como guía de capacitación y se pueden consultar para verificar su cumplimiento en cada etapa del proceso durante una auditoria.

Los PNO deben estar disponibles para todo el personal en el lugar en que debe aplicarlos y supervisarlos, en forma de copias controladas o bien por medios electrónicos, de manera que se prevenga la utilización de versiones obsoletas o no autorizadas. Asimismo, los registros derivados de los PNO deben realizarse de manera inmediata durante el proceso de acuerdo con lo que se señale en los mismos.

#### 2.6.1. DESARROLLO DE UN PNO

En el desarrollo de los PNO pueden establecerse pasos definidos que son <sup>(19, 28)</sup>:

- Revisión de la práctica actual por parte de las personas involucradas en la elaboración del PNO, partiendo de la revisión de la documentación, procedimientos e instrucciones existentes.

- Análisis de la práctica actual para determinar si las prácticas son satisfactorias o si deben modificarse.
- Elaboración de un borrador en el que se especifique el método mediante el que se realiza la actividad, señalando quién hace qué, cómo, cuándo, dónde y porqué. El procedimiento debe elaborarse de acuerdo a un formato establecido.
- Distribución del borrador al personal interesado para que realice sus comentarios.
- Revisión de los comentarios para decidir cuáles son aplicables.
- Revisión y distribución del PNO para su aceptación, una vez que se hicieron las correcciones.
- Aprobación del PNO por las personas responsables designadas antes de entregarlo para su uso.
- Entrega para su uso al personal interesado. Cuando varias personas utilizan el mismo PNO deben tener fácil acceso al mismo. Los procedimientos deben entregarse bajo condiciones controladas.
- Puesta en práctica del PNO, lo cual debe incluir un proceso de capacitación para que todo el personal involucrado se familiarice con el contenido y los métodos de aplicación.
- Supervisión y revisión, este proceso se realiza después de unas semanas de la puesta en práctica para verificar la efectividad y el cumplimiento del PNO.

## 2.6.2. FORMATO Y DISEÑO <sup>(19)</sup>

El formato de los PNO debe reunir ciertas características de funcionalidad dentro de la industria farmacéutica, para lo cual debe contener como mínimo en cada página los siguientes datos:

- Título o denominación del PNO.
- Logotipo o nombre del establecimiento: Distintivo o denominación del establecimiento.
- Número o clave del PNO, el cual es un código interno alfanumérico que indica la actividad a la que pertenece y el consecutivo que le corresponde con relación al manual del PNO. Esta clave sirve como referencia en cualquier documento que cite el PNO en cuestión. El carácter de referencia para cada área o actividad será como se defina de manera interna. El consecutivo de todos los casos iniciará en 01 y se incrementará en forma cronológica.
- Número de edición (versión), el cual es un número consecutivo cronológico al documento. Será escrito con dos dígitos y en todos los casos incluirá el 01, incrementándose de forma consecutiva.
- Paginación, que abarca el número de página actual y las páginas totales que conforman el PNO. Por ejemplo: 1 de 4 o 1/4, significa que es la primera de las cuatro páginas totales que contiene el PNO.
- Fecha de emisión, que es la fecha en que entra en vigor hasta la publicación de la siguiente versión.
- Fecha de revisión, que indica la fecha probable en que se revisará un PNO de acuerdo con su periodicidad: Si no tiene una periodicidad clara se indican dos

años después de la fecha de vigencia. Además, considerar cada vez que se modifiquen las disposiciones aplicables al establecimiento o las actividades del mismo.

- Sustituye a: Los procedimientos que sean elaborados por primera vez, deben llevar en este lugar la leyenda "NUEVO", o la clave o versión que reemplaza al PNO vigente.
- Elaboró: Fecha en que fue escrito el PNO, nombre, firma y puesto que tiene la persona responsable de su publicación
- Revisó: Fecha en que fue revisado el PNO, nombre, firma, y puesto de la persona.
- Autorizó: Fecha en que fue autorizado el PNO, nombre y firma del responsable.

### 2.6.3. CONTENIDO

Los PNO deben contener la siguiente información, como mínimo:

- Título. (O denominación del PNO): Debe ser breve y directo. Debe especificar el propósito del PNO.
- Clave o código: Se define según las políticas de la empresa. Generalmente se utiliza un número secuencial que refleja el área a la que pertenece el PNO y las actualizaciones que se realizan.
- Objetivo: Frecuentemente se encuentra en un título bien escrito, pero puede utilizarse para extender el propósito del procedimiento. Bosqueja la intención del documento.
- Alcance: Indica a que persona(s) y departamentos aplica, y hasta cuando es aplicado.

- Responsabilidad: Indica que persona es la responsable de realizar la actividad descrita, así como las personas responsables de verificar o supervisar que se realice dicha actividad.
- Desarrollo: Describe la forma de llevar a cabo el proceso, señalando de manera cronológica los pasos que contiene dicho proceso, además de indicar el material o los instrumentos utilizados.
- Referencias bibliográficas: Cita el material bibliográfico, hemerográfico o electrónico utilizado, el cual debe ser actualizado <sup>(23)</sup>. Aquí se detallan otros documentos relacionados con las actividades dentro del procedimiento ya sean externos (farmacopeas, guías, normas, etc.) o internos (referencias de PNO, protocolos, manuales, etc.).
- Anexos: Incluye todo el material agregado que se utiliza como guía o descripción del PNO, estos pueden ser tablas, dibujos, registros o formatos <sup>(23)</sup>.
- Glosario o definiciones. Incluir si se considera que en el PNO se encuentran palabras poco usuales o con acepciones específicas, se debe incluir cada palabra con su definición respectiva.
- Símbolos: Incluir aquellos utilizados en el PNO que requieren explicación o descripción para una mejor comprensión de la información contenida.
- Abreviaturas. Incluir todas las abreviaturas que contiene el PNO y presentar cada una con su significado <sup>(23)</sup>.
- Control de cambios. Cuando sea necesario realizar modificaciones al PNO, independientemente de la fecha de la próxima revisión, se debe registrar en el formato de control de cambios (al final del PNO) exactamente cuál fue el cambio,

por qué se hizo, quién lo hizo y en qué fecha. De esta manera, se conseguirá tener la historia del PNO en forma condensada <sup>(19)</sup>.

- Firmas de conocimiento. Tener un registro del personal que es informado del PNO, a través de su firma, así como la fecha en que es enterado del mismo <sup>(23)</sup>.

#### 2.6.4. REDACCIÓN

Los PNO son un apoyo para el desempeño cotidiano de quien los emplea y deben proporcionar una guía clara al lector sobre la actividad a realizar, por lo que deben de usar un lenguaje claro y directo, empleando verbos en infinitivo, palabras simples y directas, y evitar el uso de términos fuera de uso.

Cuando se utiliza un material hay que mencionar su nombre y su número. Los nombres comunes del equipo, departamento o procedimiento pueden ser utilizados, por esta razón es conveniente que sean revisados por los técnicos y las personas que los utilizan.

A continuación, se mencionan algunos aspectos de redacción que es importante considerar para obtener documentos claros y de fácil aplicación:

- *Redacción efectiva.* Debe ser clara, simple y directa, siempre dando importancia a escribir para que el lector entienda fácilmente el desarrollo de la actividad.
- *Puntuación.* Es básica para una redacción clara y para la comprensión de un texto. Generalmente las frases largas resultan difíciles de entender, por lo que se recomienda que las frases y los párrafos sean breves, dando una instrucción por frase y un tema por párrafo.

- *Uso de palabras.* El uso de palabras precisas es muy importante, deben utilizarse palabras o frases que tengan significados específicos, y no palabras o frases que puedan ser sujetas a interpretación.
- *Iniciales, siglas y abreviaturas.* Se recomienda evitar su uso cuando tengan diversos significados. Si es necesario usarlas debido a que se presentan con mucha frecuencia, deben relacionarse junto con su significado completo en la sección de definiciones.
- *Claridad.* Las palabras largas o redundantes y las frases largas pueden ocasionar problemas al poner en práctica los procedimientos. También presentan dificultades al realizar auditorías <sup>(19)</sup>.

#### 2.6.5. EMISIÓN Y ACTUALIZACIÓN

Todas las actividades que engloban los procesos de producción, con el paso del tiempo pueden requerir de modificaciones por factores como variación o actualización de las técnicas, optimización de los procesos, uso de nuevos equipos o instrumentos, etc., y estos cambios deben verse reflejados en los PNO.

Por otro lado, los PNO son documentos que con el paso del tiempo pueden volverse obsoletos.

Debido a lo anterior deben establecerse las causas para la emisión y/o actualización de un PNO:

- Cuando hay una operación que no está documentada.
- A partir de observaciones derivadas de una auditoría.
- Cambios en los equipos o áreas.
- La oportunidad de mejora sobre los procesos de producción.

- La oportunidad de mejora sobre la operación de los equipos.
- Cualquier modificación realizada al proceso y/o equipo que implique la eliminación, modificación o la realización de nuevos pasos de operación.
- Avances tecnológicos que propicien cambios en algún proceso.
- La revisión periódica del PNO <sup>(19)</sup>.

La emisión o elaboración de un PNO debe realizarla aquella persona o conjunto de personas que llevan a cabo el trabajo que será descrito en el procedimiento.

Para que los PNO reflejen las prácticas tal como deben ser realizadas, los procedimientos deben ser actualizados periódicamente.

Como los PNO son revisados en un tiempo determinado, debe conservarse una historia tanto de las revisiones, como de las actualizaciones o cambios que se le han realizado, indicando qué cambios ocurren, porqué y quién los realizó. El tiempo de revisión recomendado para los PNO es de tres años a partir de su emisión <sup>(19)</sup>.

#### 2.6.6. REVISIÓN Y APROBACIÓN

Para que la aplicación de los PNO que se ponen en circulación dentro de un laboratorio sea efectiva, deben ser revisados y aprobados antes de su utilización.

La revisión y aprobación de un PNO debe llevarla a cabo el departamento o área que aplica el procedimiento, generalmente la realiza el jefe o la persona de más alto rango, y una persona de aseguramiento de calidad.

Las personas que revisan y aprueban un PNO deben firmarlo para avalar la autorización para su uso. Las personas que firman el PNO son aquellas personas autorizadas que están involucradas directa o indirectamente con la operación que se

describe en él, por lo tanto, no tiene un número específico de firmas, pero generalmente se incluyen un mínimo de tres:

- ✓ La persona que lo elaboró.
- ✓ La persona que lo revisó y/o aprobó.
- ✓ Una persona de Aseguramiento de calidad.

Todos los PNO generados deben ir firmados por las personas que los elaboran y revisan, y deben ser autorizados por el responsable sanitario; además deben contener un número secuencial que refleje las actualizaciones que se han realizado al documento, la fecha de emisión, actualización y aplicación.

#### 2.6.7. DISTRIBUCIÓN Y CONTROL

Los PNO originales deben ser controlados en archivos del área de Documentación y a partir de ellos se obtienen las copias que se distribuyen a las áreas respectivas para su consulta. Se debe contar con una lista, o registro de distribución de copias controladas, en donde quede documentada la distribución. Este formato debe ser resguardado por el área de documentación.

Cada PNO debe tener su propio registro de distribución de copias controladas con los siguientes datos.

- Clave, título y versión del PNO.
- Número de copia controlada distribuida.
- Área o departamento al que se entregó.
- Nombre y firma de la persona responsable de la documentación.
- Fecha de distribución.

Cada departamento relacionado directa o indirectamente con la operación descrita debe recibir una copia del PNO. Es indispensable que el PNO se encuentre en las áreas donde se lleva a cabo la actividad.

El área de documentación debe llevar a cabo el control de la revisión periódica de los PNO y dar aviso al área emisora, con la finalidad de que se cuente con PNO actualizados.

La distribución de nuevos procedimientos o la actualización de los mismos, debe ser documentada y debe retirarse de las áreas el PNO obsoleto.

Cuando se retira un PNO obsoleto de las áreas, la copia controlada debe ser destruida, pero el original debe conservarse junto con su registro de control y su registro de control de cambios, su uso será únicamente para fines de consulta histórica.

Para el control de los PNO debe haber un archivo con todos los procedimientos del laboratorio en orden numérico según la clave de identificación, así como un índice para su fácil localización <sup>(19)</sup>.

#### 2.6.8. DOCUMENTOS DERIVADOS DE LA APLICACIÓN DE UN PNO

Existen documentos relacionados con un PNO, los cuales se derivan de su uso y aplicación, tales documentos son:

- Bitácoras, ya sea de equipos, instrumentos o de áreas.
- Formatos de registro de alguna actividad, por ejemplo, listas de cotejo o Kardex.
- Etiquetas de identificación.

Siempre que se requiera utilizar alguno de los documentos anteriores, debe citarse en el PNO junto con las indicaciones de la manera en que debe ser llenada correctamente la información que se pide en el registro <sup>(19)</sup>.

## 2.7. DIAGRAMAS DE FLUJO <sup>(27)</sup>

Estos diagramas, que también se conocen como fluxogramas, representan de manera gráfica, la sucesión en que se realizan las operaciones de un procedimiento, el recorrido de formas o materiales o ambas cosas. En ellos se muestran las áreas o unidades administrativas y los puestos que intervienen en cada operación descrita. Además, pueden mencionar el equipo o los recursos que se deben utilizar en cada caso. Para facilitar su comprensión, los diagramas deben presentar, en forma sencilla y accesible, una descripción clara de las operaciones. Para este efecto, es aconsejable el empleo preciso de símbolos, gráficos simplificados o ambos. Asimismo, conviene que las operaciones que se numeraron o codificaron en la descripción escrita del procedimiento se anoten en el mismo orden en el diagrama.

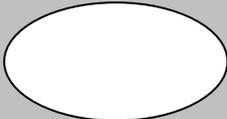
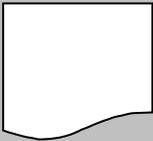
Elaborar diagramas de flujo, con un lenguaje preciso y coherente es un requisito fundamental para entender y manejar adecuadamente el cúmulo de información que produce una organización. Bajo esta perspectiva, los símbolos de diagramación que se emplean internacionalmente son los de las siguientes instituciones:

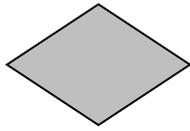
1. American Society of Mechanical Engineers (ASME), quienes han desarrollado símbolos que a pesar de que son aceptados en áreas de producción, se emplean escasamente en el trabajo de diagramación administrativa.
2. American National Standard Institute (ANSI), quienes han preparado una simbología para representar flujos de información del procesamiento electrónico de datos, de la cual se emplean algunos símbolos para diagramas de flujo administrativo.

3. International Organization for Standardization (ISO), quienes han elaborado una simbología para apoyar la garantía de calidad de consumidores y clientes de acuerdo con las normas ISO:9000.
4. Deutsches Institute fur Normung (DIN).El cual se utiliza para la norma del manejo de información de la familia de las normas ISO.

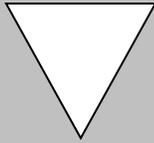
Asimismo, es posible emplear los símbolos de los diagramas integrados de flujo (DIF) en sus estilos Yourdon-DeMarco y Gane & Sarson, del flujograma de ingeniería de operaciones y de administración y mejora de la calidad del proceso (DO).

El correcto uso de los dibujos y contenido de los diagramas de flujo concede a las organizaciones ventajas manifiestas en cuanto a su destino, aplicación, comprensión e interpretación de la información (Cuadro 3).

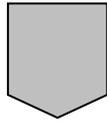
Símbolo	Representa
	<b>Inicio o término.</b> Indica el principio o el fin del flujo. Puede ser acción o lugar, además, se usa para indicar una oportunidad administrativa o persona que recibe o proporciona información
	<b>Actividad.</b> Describe las funciones que desempeñan las personas involucradas en el procedimiento
	<b>Documento.</b> Representa cualquier documento que entre, se utilice, se genere o salga del procedimiento



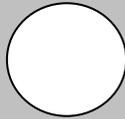
**Decisión alternativa.** Indica un punto dentro del flujo en donde se debe tomar una decisión entre dos o más opciones



**Archivo.** Indica que se guarde un documento en forma temporal o permanente.



**Conector de página.** Representa una conexión o enlace con otra hoja diferente, en la que continúa el diagrama de flujo



**Conector.** Representa una conexión o enlace de una parte del diagrama de flujo con otra parte del mismo.

Cuadro 3. Símbolos de la norma ANSI para elaborar diagramas de flujo (diagramación administrativa) <sup>(26)</sup>.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Dentro del Plan de Estudios de la licenciatura de Q.F.B. de la FES Zaragoza, se imparte en cuarto semestre el módulo de Bioquímica Celular y de Tejidos I (BCT I). En dicho módulo se estudian los procesos bioquímicos más importantes a nivel celular, así como las estructuras, función e importancia biológica de las biomoléculas. El módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I, tiene dos componentes: teoría y laboratorio. Con respecto a este último, se trata de obtener en los alumnos la capacidad y habilidades para trabajar dentro de un laboratorio, tanto en el trabajo diario como en el manejo adecuado de los datos obtenidos en el desarrollo de la práctica, analizar e interpretar los resultados y concluir a partir de éstos.

Con frecuencia se piensa que el desarrollo de las prácticas de laboratorio requiere un tiempo prolongado, métodos complicados y el uso de una amplia gama de recursos materiales, por lo cual podría parecer una tarea compleja el adecuar las actividades del laboratorio con el tiempo curricular disponible y la capacidad de los estudiantes en la etapa que cursan la asignatura.

El uso de manuales de procedimientos se ha ido incrementando cada vez más en las organizaciones, debido a los beneficios que se logran al instaurarlos, que van desde la facilitación de la inducción para el nuevo personal, hasta la obtención de información que permite tomar decisiones y crear nuevos métodos de trabajo que aumentan la eficiencia de las operaciones y del personal de la empresa.

Actualmente, el módulo de laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I de la carrera de Q.F.B. de la FES Zaragoza, no cuenta con un manual de procedimientos que permita la consecución de las ventajas que trae consigo la implementación de este tipo

de manuscritos. Si bien es cierto que se cuenta con un manual de prácticas en la cual se compilan todas las prácticas de laboratorio que se realizan durante el semestre, debe señalarse que en el existen omisiones en su contenido, lo cual entorpece el trabajo del estudiante durante su experiencia en el laboratorio.

Sin embargo, la aspiración del módulo es la mejora continua y la obtención de reconocimiento por un buen manejo de normas de calidad. Por ello se pretende implantar una propuesta de un manual de procedimientos con la finalidad de contar con un instrumento que contenga la secuencia de pasos necesarios que aseguren la correcta ejecución del trabajo que se realiza dentro del Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I. De esta manera, se controlará el cumplimiento de las prácticas de trabajo y mejorará la calidad de los resultados obtenidos en las prácticas que se realizan.

## 4. HIPÓTESIS

Una vez realizada la investigación documental y bibliográfica correspondiente, será posible estructurar una propuesta de un manual de procedimientos normalizados de operación para el laboratorio de BCT I, el cual pueda ser puesto a consideración del Comité Académico de la carrera de QFB para su revisión, evaluación y aprobación para su implementación y que permita establecer la organización, coordinación y desempeño de los procesos.

La aplicación de los Procedimientos Normalizados de Operación constituiría uno de los pilares para el buen funcionamiento del módulo de laboratorio, ya que con ello se optimizaría el tiempo de trabajo, se reduciría gasto en los reactivos utilizados y se fomentaría el desarrollo profesional de los estudiantes.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. OBJETIVO GENERAL

Elaborar un manual de Procedimientos Normalizados de Operación que permita uniformar la descripción de actividades que se realizan durante las prácticas del módulo de Laboratorio Bioquímica Celular y de los Tejidos I (BCT I) y que mejore la calidad de trabajo realizado por el estudiante y los resultados que obtenga de él.

### 5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificar los requisitos que debe contener un manual de procedimientos, acatando los lineamientos que dictan las referencias consultadas.
- Conocer el contenido y participar en el desarrollo de las prácticas del módulo de laboratorio de BCT I.
- Homologar y difundir los procedimientos para efectuar las prácticas del laboratorio.
- Coadyuvar en la actividad del docente del módulo de laboratorio de BCT I.

## 6. MATERIAL

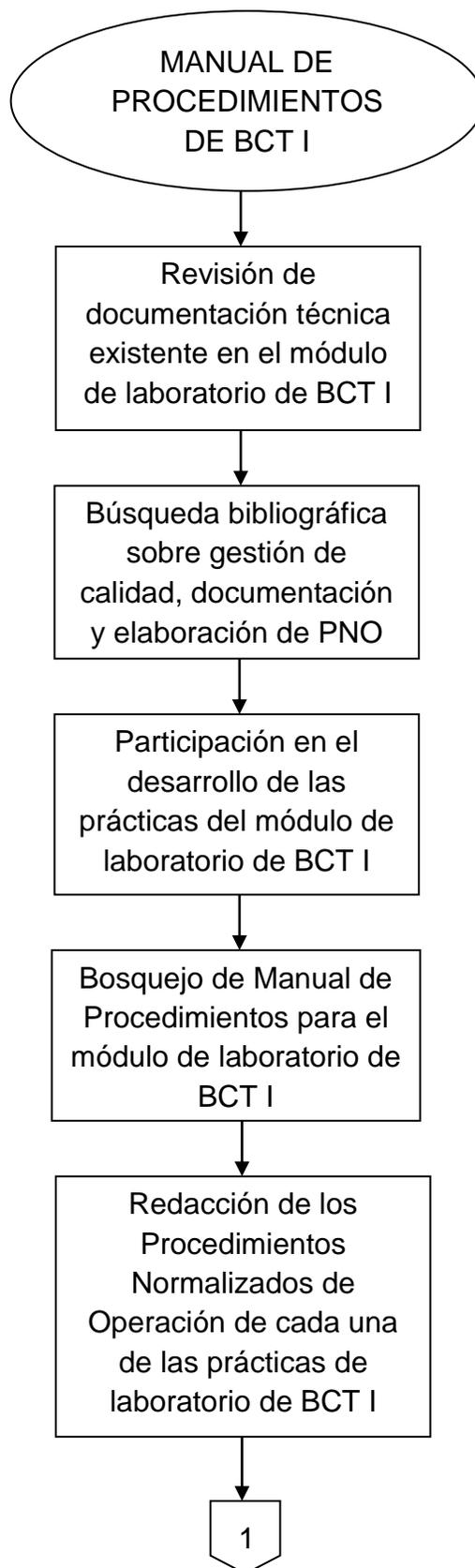
### Equipo

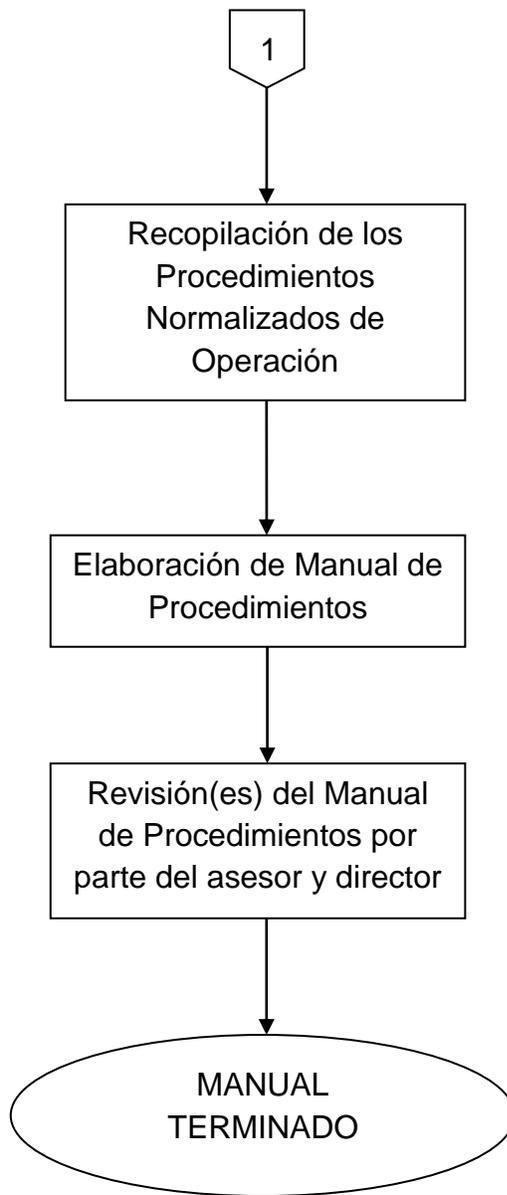
- Computadora Personal HP PavilionSlimline Modelo s5702la.
  - Sistema operativo: Windows 7 Home Basic.
  - Programa: Microsoft Office Word 2007 Professional Plus

### Documentación

- Documentación existente en el Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I
  - Propuesta del Manual de Calidad
  - Manual de Laboratorio
  - Instructivos y formatos
- Guías para la elaboración de manuales de Procedimientos:
  - Norma Internacional. ISO 9001:2015 Sistemas de Gestión de Calidad
  - Norma Internacional. ISO 9001:2008 Sistemas de Gestión de Calidad

## 7. METODOLOGÍA





## 8. RESULTADOS

#	Nombre del procedimiento	Clave
1.	Procedimiento Normalizado de Operación para el manejo de aparatos de uso común en el laboratorio de BCT I	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO01
2.	Procedimiento Normalizado de Operación para el manejo de micropipetas	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO02
3.	Procedimiento Normalizado de Operación para la cuantificación de albúmina de clara de huevo por espectrofotometría visible	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO03
4.	Procedimiento Normalizado de Operación para el uso del microscopio óptico	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO04
5.	Procedimiento Normalizado de Operación para la identificación de estructuras celulares presentes en diferentes organismos	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO05
6.	Procedimiento Normalizado de Operación para la identificación y cuantificación de biomoléculas constituyentes de la materia viva	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO06
7.	Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción e identificación de carbohidratos de reserva en organismos animales y vegetales.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO07
8.	<b>Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción y análisis de lípidos presentes en yema de huevo por espectrofotometría visible</b>	<b>SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08</b>
9.	Procedimiento Normalizado de Operación para identificar lípidos presentes en la yema de huevo por cromatografía	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO09
10.	Procedimiento Normalizado de Operación para la identificación de aminoácidos por cromatografía en capa fina.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO10
11.	Procedimiento Normalizado de Operación para la titulación de aminoácidos.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO11
12.	Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción de muestra sanguínea por punción venosa.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO12
13.	Procedimiento Normalizado de Operación para la separación y cuantificación de proteínas plasmáticas por espectrofotometría visible.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO13
14.	Procedimiento Normalizado de Operación para la separación de proteínas plasmáticas por electroforesis	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO14
15.	Procedimiento normalizado de operación para la extracción y purificación de ADN de germen de trigo.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO15
16.	Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción y purificación de ADN humano	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO16
17.	Procedimiento normalizado de operación para la cuantificación de ADN humano	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO17
18.	<b>Procedimiento Normalizado de Operación para la separación de muestras de ADN humano por electroforesis</b>	<b>SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18</b>
19.	Procedimiento Normalizado de Operación para analizar la actividad enzimática de la amilasa salival.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO19
20.	Procedimiento Normalizado de Operación para analizar la actividad enzimática de la invertasa.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO20
21.	Procedimiento Normalizado de Operación para la observación e identificación de las fases del ciclo celular en raíces de cebolla.	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO21
22.	Procedimiento Normalizado de Operación para el análisis de los pigmentos fotosintéticos	SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO22
S/N	Anexo para la preparación de reactivos	S/C

Cuadro 4. Lista de Procedimientos Normalizados de Operación que integran el Manual de Procedimientos de BCT I. En *negritas*, los procedimientos que pueden revisarse en el apartado de Anexos del presente trabajo

## 9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En un sistema de gestión de calidad, la documentación juega un papel fundamental para el adecuado control de los procesos que se desarrollan dentro de la organización que la implementa. Prácticamente en cualquier contexto, ya sea laboral o de docencia, se cuenta con un sistema de documentación que no sólo permite el cumplimiento de lo que exigen las normas de calidad, sino que regulariza las actividades que se ejecutan, aumenta la eficacia y la productividad del personal que lo aplica y minimiza el riesgo de errores, lo cual se traduce en la obtención de productos de excelentes cualidades.

El módulo de laboratorio de Bioquímica Celular de los Tejidos I (BCT I) cuenta con un Sistema de Gestión de Calidad que se mantiene actualizado de acuerdo a las normas y reglamentos vigentes, así como a los lineamientos existentes dentro de la misma Facultad. A fin de mantener un buen Sistema de Gestión de Calidad, se propuso implementar un Manual de Procedimientos, el cual tuvo como finalidad actualizar el contenido de las 21 prácticas de laboratorio que se desarrollan a lo largo del periodo semestral y modificar su formato al de Procedimientos Normalizados de Operación (PNO).

Para la consecución de esta labor, se realizó la búsqueda biblio-hemerográfica sobre los elementos que integran un Sistema de Gestión de Calidad, la importancia de la documentación en los distintos procesos que se ejecutan dentro de un laboratorio de docencia y los elementos que integran los PNO. Paralelamente, fue revisada la documentación existente dentro del módulo de laboratorio de BCT I, la cual consta de un Manual de Calidad, que contiene las directrices que gestionan las funciones dentro del aula de laboratorio para que se obtengan resultados confiables <sup>(29)</sup>; dos antologías

que incluyen artículos e información que está relacionada con cada una de las prácticas de laboratorio, procedimientos de algunos dispositivos y equipos con los que cuenta el módulo de BCT I para la ejecución de determinadas prácticas, tales como micropipetas, cámaras para electroforesis, vortex, y biofotómetro, así como el Manual de Prácticas de Laboratorio. Aunado a lo anterior, se consideró que con la participación activa en cada una de las prácticas de laboratorio se lograría diseñar un trabajo mejor elaborado, ya que se tendría una idea más amplia sobre la organización que rige el trabajo dentro del aula, la forma en que se desarrollan las actividades durante una práctica de laboratorio y el tiempo que toma llevarlas a cabo, las variables que intervienen durante la experimentación, los equipos y sustancias que se utilizan y los espacios de los que se dispone para lograr los objetivos trazados. Por estas razones, se aceptó la invitación de los asesores del módulo de laboratorio de BCT I para colaborar en las actividades propias del módulo durante los semestres 2016-1 y 2016-2. Además, se asistió en algunas de las sesiones en las que se perfeccionaba el desarrollo de actividades en dos prácticas de reciente inclusión en el plan curricular del módulo: *Electroforesis de Proteínas y Electroforesis de ADN Humano*.

En el transcurso del periodo semestral 2016-1, fueron elaborados los borradores de los procedimientos normalizados de operación. El bosquejo fue diseñado siguiendo las especificaciones contenidas en el material biblio-hemerográfico consultado, referentes al formato y contenido que debe incluir este tipo de documentos normativos. Es en estas primeras versiones donde se señala cual es el objetivo que pretende cubrir cada uno de los procedimientos, se especifica su alcance, se asignan responsabilidades para cada una de las partes implicadas en el desarrollo del proceso y se delimita el material, equipos y reactivos estrictamente necesarios para llevar a cabo el trabajo experimental.

Del mismo modo, se comienza a describir con detenimiento cada una de las actividades que en conjunto dan forma a los procedimientos, las cuales, fueron afinándose gracias a las sugerencias y experiencias de algunos de los profesores de la asignatura y a las observaciones realizadas sobre el desempeño de los alumnos durante la ejecución de las prácticas. Por último, se elaboró un apartado de anexos, que invariablemente incluía un diagrama de flujo. La inserción de esta representación gráfica se diseñó para facilitar la ejecución del procedimiento por parte del estudiante, ilustrando cada uno de los componentes del proceso y la forma en que se interrelacionan.

Durante el periodo semestral 2016-2, la versión preliminar de los PNO sufre modificaciones en su estructura, con la finalidad de acatar las directrices que son establecidas en el *Procedimiento para la Elaboración y Control de Documentos (SGC-FESZ-PO01)* y en el *Procedimiento de Elaboración y Actualización de un Manual de Laboratorio (SGC-FESZ-PO02)* en cuanto al formato que posee la documentación que integra el sistema de Gestión de Calidad de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. De esta manera, fueron incorporados los elementos que se citan a continuación:

- Portada: En la parte superior se ubica la inscripción *Universidad Nacional Autónoma de México* y en el párrafo inferior se localiza el nombre del plantel en donde se llevó a cabo el presente trabajo, utilizando la fuente “Arial”, tamaño 14. Debajo de estas dos líneas, se encuentra inscrita la leyenda “*Sistema de gestión de la Calidad de los Laboratorios de Docencia*” en “Arial”, tamaño 12. En el costado izquierdo del encabezado se encuentra el escudo de la Universidad en color negro, presentando un tamaño de 2 cm de largo por 2 cm de ancho, con

base en los establecido en el Reglamento del Escudo y Lema de la UNAM” (9 de enero de 1979); del lado derecho, y utilizando la misma cromática y dimensiones, se encuentra el escudo de la Facultad utilizado en la página web de la institución.

En el centro se encuentra el título del procedimiento inscrito en “Arial”, tamaño 16 y utilizando el formato de fuente “negritas”; debajo del título se encuentra la clave correspondiente al procedimiento. En la parte inferior de la hoja de portada se acotan los créditos del documento: quién estuvo a cargo de su elaboración, quien o quienes fueron los responsables de revisarlo y quién tendrá la encomienda de aprobarlo para su utilización.

- Índice: Es en esta sección en donde se señala al lector los numerales contenidos en el documento, junto con el número de página en que aparecen.
- Encabezado y pie de página. Se utilizó la plantilla diseñada por el Sistema de Gestión de la Calidad de los Laboratorios de Docencia de la FES Zaragoza, en la cual, los escudos institucionales y la inscripción “*Sistema de Gestión de la Calidad de los Laboratorios de Docencia*” se inscriben en mayúscula y utilizando la fuente Arial tamaño 12. Debajo de estas líneas se coloca la leyenda *Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I*, utilizando las mismas características; por último se colocó una Tabla de 4 columnas y dos renglones, donde se incluye un código alfanumérico que permite la identificación rápida del procedimiento; la fecha de creación del documento, que está compuesto por los dos dígitos del día (dd), dos dígitos según el mes que corresponda (mm) y los cuatro dígitos del año (aaaa); La *versión* del documento, que en este caso, se le

asignó el número “Cero” (0) y el tipo de paginación utilizado, escribiendo el número de página (X) y el número total de páginas (XX) del documento.

- Términos, abreviaturas y definiciones: Apartado en el que se dilucida el significado de ciertos vocablos y palabras acortadas, presentes en la descripción del proceso cuyo desconocimiento puede causar desconcierto durante la primera lectura del procedimiento. Su contenido está redactado de acuerdo al procedimiento a ejecutar.
- Desarrollo del proceso: Se toma como base la descripción de actividades de la versión preliminar de cada procedimiento y se ajusta al formato de numerales definido en el *SGC-FESZ-PO01*. Además, se propone la inclusión de “*Notas*” que describen acciones preventivas o correctivas en puntos críticos de determinados procesos, buscando con ello evitar retrasos o errores durante el desarrollo de las actividades y se introduce al estudiante en el correcto tratamiento de datos generados en el laboratorio mediante “*Casos ilustrativos*”, en los cuales, se describe con claridad los pasos que deben seguirse para la construcción gráfica de lo obtenido en el aula de laboratorio y el desarrollo matemático que permita la interpretación de lo que se busca conocer. Este tipo de ejemplos se citan en aquellos procedimientos en donde se hace uso de técnicas espectrofotométricas para la determinación de la cantidad de sustancia presente en una disolución en particular, mediante el método de curva estándar, ya que los estudiantes tienen ciertas dificultades para asimilar los cálculos matemáticos que deben realizarse en este respecto. *En el Procedimiento Normalizado de Operación para el Manejo de Micropipetas (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO02)*, también se indica cómo se realiza el tratamiento estadístico de los

datos que se obtienen al ejecutar este procedimiento y cuyo cálculo permite determinar si estos dispositivos de medición de volumen son exactos.

- Registros.
- Documentos normativos y Bibliografía. En este apartado se incluyen las referencias biblio-hemerográficas que fueron utilizadas para la elaboración del procedimiento, así como los documentos propios del módulo de BCT I, mencionados en párrafos anteriores.
- Anexos. En algunos procedimientos, fueron mejorados los recursos visuales y didácticos ya existentes en las versiones preliminares. En el caso del *Procedimiento Normalizado de Operación para el Manejo de Aparatos de Uso Común en el Laboratorio (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO01)* y del *Procedimiento Normalizado de Operación para el uso del Microscopio Óptico (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO04)*, se dispuso de ilustraciones con mayor resolución de cada uno de los dispositivos cuyo empleo es de importancia capital para efectuar el trabajo dentro del laboratorio, indicando en las imágenes correspondientes las partes que componen cada uno de los aparatos. Este mismo concepto es retomado en el *Procedimiento Normalizado de Operación para el Manejo de Micropipetas (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO02)*, en donde no sólo se presenta la imagen de las partes que integran estos dispositivos, sino de la forma en que deben ser manipulados, la manera en que se succiona y expelle un líquido y de las particularidades que posee cada tipo de micropipeta, como lo es su color distintivo, el rango de volumen que puede medir, como se ajusta dicha magnitud y de qué manera se visualiza en el indicador de volumen. Por último, en el caso

de los procedimientos en cuya ejecución se generan residuos peligrosos, biológico-infecciosos (RPBI) se incluye un cuadro en donde se le indica al estudiante la forma en la que deben ser desechados conforme a los lineamientos establecidos para el manejo de muestras biológicas, particularmente lo referido en la *NOM-087-ECOL-SSA1-2002 Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo*.

Una vez resuelta la unificación del formato y la afinación del contenido, se compilaron los 21 documentos elaborados para conformar el Manual de Procedimientos. Dentro del apartado de “Anexos” del presente trabajo se incluyen dos de los procedimientos que fueron incluidos en el manual referido: el *Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción y análisis de lípidos presentes en yema de huevo por espectrofotometría visible*, con clave *SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08*, y el *Procedimiento Normalizado de Operación para la separación de muestras de ADN humano por electroforesis*, con clave *SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18*.

Además, a esta propuesta de manual le fue integrado el siguiente contenido:

- *Procedimiento Normalizado de Operación para la Extracción de una muestra sanguínea por punción venosa (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO12)*. Aunque dentro de la documentación del módulo de BCT I se encuentra un protocolo que describe el proceso de toma de muestra de sangre, se consideró importante revisarlo y actualizarlo bajo el formato de PNO y con ello contar con un documento que estandarice esta acción, ya que en la ejecución de los *Procedimientos Normalizados de Operación para la Separación y Cuantificación de Proteínas Plasmáticas por Espectrofotometría Visible (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO13)* y en el

*Procedimiento Normalizado de Operación para la Extracción y Purificación de ADN Humano (SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO16)*, se requiere una muestra del tejido hematológico para poder desarrollar las indicaciones puntualizadas en estos documentos. Aunado a lo anterior, este módulo representa la primera experiencia del estudiante de Q.F.B. en la toma y manejo de muestras de sangre, por lo que se busca que esta tarea se realice sistemáticamente y que la manipulación y posterior desecho del espécimen sanguíneo se lleva a cabo de forma adecuada.

- Un anexo titulado *“Preparación de Reactivos”*. En este apartado, se puntualizan las instrucciones para la elaboración de las disoluciones, mezclas de sustancias y muestras biológicas que deben ser utilizados en la ejecución de los procedimientos que así lo requieran, indicando las cantidades de reactivo y los materiales estrictamente necesarios para su preparación.

Los PNO elaborados para el módulo de BCT I fueron puestos a disposición de las profesionales que dirigieron y asesoraron el presente trabajo para su evaluación. Se consensó que los procedimientos cuentan con los elementos suficientes para poder llevar a cabo cada una de las actividades descritas en ellos y que el formato y contenido cumple con las características propias de un documento de tal índole. Asimismo, consideraron acertada la organización que presenta el manual, la inclusión del PNO para la extracción de muestra sanguínea por punción venosa y la propuesta de incluir ejemplos para ilustrar el tratamiento de datos obtenidos en la ejecución de los procedimientos. Sin embargo, se estableció que debía mejorarse el diagrama de flujo en algunos de los procedimientos y la redacción y la ortografía en ciertos numerales que así lo requerían.

Una vez realizadas las modificaciones correspondientes, el Manual de Procedimientos obtuvo la aprobación de las asesoras al no encontrar errores tipográficos o de contenido en los documentos.

El Manual de Procedimientos será puesto a consideración del Comité Académico de la carrera de Q.F.B. para su revisión, evaluación y aprobación para su implementación.

## 10. CONCLUSIONES

Por mucho tiempo, el laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I ha utilizado y elaborado documentación para la realización de sus actividades y la consecución de sus objetivos. Sin embargo, no disponía de un Manual de Procedimientos que regulara las actividades que se realizan en dicho módulo.

Se elaboró un Manual de Procedimientos Normalizados de Operación, los cuales, contienen los elementos necesarios con los que debe contar un documento de esta categoría y cumplen con la función de normar las actividades que en ellos se describen. Con la implementación del presente Manual de Procedimientos Normalizados de Operación, se propiciará que las actividades se realicen con mayor calidad, optimizando los recursos propios del laboratorio y reduciendo el tiempo de trabajo para cada una de las partes involucradas.

El Manual de Procedimientos apoyará a los profesores en su labor académica, debido a que facilitará la supervisión del trabajo que realicen los estudiantes a su cargo.

El empleo del presente Manual de Procedimientos permitirá que los estudiantes dispongan de instrucciones claras sobre la realización del trabajo de laboratorio, reduciendo así los errores en la experimentación y fomentará que el alumno adquiera la formación en el empleo de la documentación, concientizándolo sobre el papel del Químico Farmacéutico Biólogo en el desarrollo y la implementación de la misma, la cual utilizará a lo largo de su carrera y en la práctica profesional.

## 11. SUGERENCIAS

- Proporcionar las suficientes copias autorizadas de los procedimientos a las áreas que están involucradas en el desarrollo de las actividades descritas en el Manual.
- Dar seguimiento al Sistema de Gestión de Calidad que permita que el módulo de BCT obtenga una certificación de calidad que respalde sus operaciones, todo esto, haciendo uso de los precedentes generados con la implementación del manual de procedimientos.

## 12. REFERENCIAS

1. Fourez G. La construcción del conocimiento científico. Sociología y ética de la ciencia. 4ta. ed. Madrid: Narcea Ediciones; 2006.
2. La garantía de la calidad en el laboratorio químico de control de los alimentos [base de datos en Internet]. Depósito de documentos de la FAO): FAO - [acceso 18 de octubre de 2015].  
Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t0845s/t0845s04.htm#TopOfPage>
3. Rodríguez-Benavides G, Blanco-Sáenz R. Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17025 en los laboratorios químicos y clínicos. Revcostarricciencméd. 2001: 22(1-2). Disponible en  
[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S025329482001000100009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S025329482001000100009&script=sci_arttext)
4. World Health Organization. Handbook Good Practice Laboratory (GLP): Quality practices for regulated non-clinical research and development. 2nd. ed. Lausanne: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data; 2009. Available in:  
<http://www.who.int/tdr/publications/documents/glp-handbook.pdf>
5. Durán-Rodríguez LS, Méndez-López DR. Elaboración de un panorama de riesgos y actualización del manual de bioseguridad del laboratorio de parasitología ambiental y cartillas de bioseguridad de los laboratorios de las líneas de investigación de calidad de aguas y lodos [Tesis de licenciatura]. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana; 2008.  
Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis103.pdf>
6. Valcárcel M, Ríos A. La calidad en los laboratorios analíticos. Madrid: Editorial Reverte; 2002.
7. Odelin-Prieto Y. Buenas prácticas de laboratorio y las Normas ISO 9001:2000. Biotecnología Aplicada. 2008; 25 (3): 255.
8. Torres-Saumeth KA, Ruiz-Afanador TS, Solis-Ospino L, Martínez-Barraza F. Calidad y su evolución: Una revisión. Dimens. empres. 2012; 10 (2): 100-107.  
Disponible en:  
[http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas\\_cientificas/dimension-empresarial/volumen-10-no-2/articulo08.pdf](http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas_cientificas/dimension-empresarial/volumen-10-no-2/articulo08.pdf)

9. Fernández-Espina C, Mazziotta D. Gestión de calidad en el laboratorio clínico. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005.
10. Cuatrecasas L. Gestión Integral de la Calidad: Implantación, control y certificación. 3ra. ed. Madrid: Editorial Planeta; 2000.
11. Griful-Ponsati E, Canela-Campos, MA. Gestión de la calidad. Barcelona: Edicions de la Universitat Politècnica de Catalunya; 2002.
12. Norma Internacional. ISO 9001:2015 Sistemas de Gestión de Calidad- Requisitos.; Septiembre 2015.
13. Evans J, Lindsay W. Administración y control de la calidad. 7ma. ed. Ciudad de México: Cengage Learning; 2008.
14. Norma Internacional. ISO 9001:2008 Sistemas de Gestión de Calidad- Requisitos.; Noviembre 2008.
15. Gutiérrez-Pulido H. Calidad total y productividad. 3ra. ed. Ciudad de México: McGraw-Hill; 2010.
16. Norma Internacional. ISO 9001:2000 Sistemas de Gestión de Calidad- Requisitos.; Diciembre 2000.
17. Documentación. CIPAM. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación. Monografía técnica No. 13. 2da ed. México, D.F. 2004.
18. Cortés-Garrido LA. Obtención de una licencia sanitaria para establecimientos farmacéuticos. Caso práctico: Veeker's Laboratorios S.A. de C.V. [Tesis de Licenciatura]. Cuautitlán, Edo. de México: FES Cuautitlán, UNAM; 2008.
19. Izaguirre-Cervantes, D. Elaboración de PNO's para un sistema de documentación en un laboratorio farmacéutico [Tesis de Licenciatura]. Cuautitlán, Edo de México: FES Cuautitlán, UNAM; 2007.
20. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos.
21. IsoTools [página de internet]. Santiago: Escuela Europea de Excelencia. Nueva ISO 9001:2015, cambios clave; 2016 [acceso 21 de octubre de 2016]. Disponible en:<http://www.nueva-iso-9001-2015.com/7-5-informacion-documentada/>

22. Gestión de la calidad (ISO 9001/2008) Málaga: Editorial Vértice; 2010.
23. Secretaría de Salud. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Suplemento para establecimientos dedicados a la venta y suministro de medicamentos y demás insumos para la salud. 5ta. ed. México; 2014.
24. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Guía para la elaboración de manuales de acreditación de laboratorios clínicos para América Latina. Bioquimia, 2003: 28 (3). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq-2003/bq033e.pdf>
25. Dirección General del Personal, Universidad Nacional Autónoma de México. Guía técnica para la elaboración de Manuales de Procedimientos. México. 1994.
26. Gómez-Ceja G. Planeación y organización de empresas. 8va. ed. Edo. de México: Mc Graw-Hill; 1994.
27. Franklin-Finkowsky EB. Organización de empresas, 3ra. ed. Ciudad de México: Mc Graw-Hill; 2009.
28. Stebbing L. Aseguramiento de la Calidad. El camino a la eficiencia y la competitividad. México: Compañía Editorial Continental; 1991.
29. Meneses-Rivera Y. Propuesta de un Manual de Gestión de Calidad para el Laboratorio de BCT I bajo el marco regulatorio de la Norma ISO 9001:2008 [Tesis de Licenciatura]. Iztapalapa, Ciudad de México: FES Zaragoza, UNAM; 2010.

# **ANEXOS**



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD DE LOS LABORATORIOS DE DOCENCIA

**Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción y  
análisis de lípidos presentes en yema de huevo por  
espectrofotometría visible.  
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08**

**Este documento fue revisado por:**

Elaboró	Saúl de Jesús Díaz Ramírez	
Revisó	Mtra. Leonor Aguilar Santelises M. en C. Araceli García del Valle	
Aprobó	Comité Académico de la Carrera de Q.F.B.	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	2/17

## Índice

1. Propósito .....	3
2. Alcance .....	3
3. Términos, definiciones y abreviaturas .....	3
4. Responsabilidad y autoridad .....	4
5. Descripción de actividades.....	4
5.1. Insumos a utilizar .....	4
5.2. Preparación de la muestra .....	6
5.3. Obtención de lípidos .....	6
5.4. Curva estándar de fósforo .....	8
5.5. Digestión y lectura espectrofotométrica de muestras problema.....	9
5.6. Determinación de concentración de fósforo en lípidos de yema de huevo. ....	11
6. Registros .....	14
7. Referencias normativas y bibliografía. ....	14
8. Identificación de cambios .....	15
Anexos .....	16

---

Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impreso, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	3/17

## 1. Propósito

Definir al alumno con claridad las actividades que debe desarrollar para extraer lípidos presentes en la yema de huevo y cuantificar el contenido de fósforo en dichas biomoléculas por medio de espectrofotometría visible.

## 2. Alcance

Este procedimiento aplica a asesores, alumnos y personal administrativo involucrado en la ejecución del presente PNO, incluido en el Manual de Procedimientos del Módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I de la Carrera de Q.F.B. de la FES Zaragoza.

## 3. Términos, definiciones y abreviaturas

### 3.1. Términos y definiciones

- Digestión: Proceso por el cual la materia orgánica es reducida a su composición elemental, o por lo menos a sustancias más simples, utilizando métodos físicos y químicos.
- Dilución: Reducción de la concentración de una sustancia química en disolución cuando se agrega más disolvente.
- Espectrofotometría: Método de análisis óptico frecuentemente usado en análisis químicos para determinar la cantidad de luz absorbida por una solución, la cual, es proporcional a la concentración presente en ella.
- Lípidos: Término colectivo que describe un grupo de compuestos químicamente diversos, solubles en solventes orgánicos y casi insolubles en agua. La mayoría de los organismos, los utilizan como reservorios de moléculas fácilmente utilizables para producir energía.
- Translúcido: Que deja pasar la luz, pero que no deja ver nítidamente los objetos.
- Turbio: Líquido mezclado o alterado por algo que oscurece o quita la claridad natural o transparencia.

### 3.2. Abreviaturas

3.2.1. g: Gramos.

3.2.2.  $\mu$ g: Microgramos.

3.2.3. mL: Mililitros.

3.2.4. nm: Nanómetros.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	4/17

3.2.5. sln: Solución.

## 4. Responsabilidad y autoridad

### 4.1. Asesor del Módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I

- Verificar que se aplique el contenido del presente documento y vigilar que se cumpla con los requerimientos necesarios para llevar a cabo de manera correcta el procedimiento.

### 4.2. Personal administrativo

- Proporcionar el material, equipos e instrumentos necesarios para la correcta ejecución de este procedimiento y mantener el aula de laboratorio en condiciones óptimas para la realización de las actividades.

### 4.3. Alumnos del Módulo de Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I

- Conocer y aplicar correctamente las actividades descritas en este procedimiento.
- Delegar actividades para cada integrante del equipo.
- Hacer buen uso del material y equipos proporcionados, comprometiéndose a entregarlos limpios y en buen estado.
- Mantener limpia el área de trabajo y desechar adecuadamente los residuos que se generen durante y al final de las actividades.

## 5. Descripción de actividades

### 5.1. Insumos a utilizar

#### 5.1.1. Material y equipo

- 1 Soporte universal.
- 1 Anillo de hierro.
- 1 Embudo de separación de 125 mL.
- 1 Embudo de tallo corto.
- 7 Matraces aforados de 10mL.
- 2 Matraces aforados de 50mL.
- 7 Vasos de precipitados de 25 mL.
- 1 Vaso de precipitados de 100 mL.

---

Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impresa, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	5/17

2 Vaso de precipitados de 250 mL.  
2 Matraces microKjendahl de 30 mL.  
1 Micropipeta p1000.  
1 Micropipeta p5000.  
1 Probeta graduada de 50 mL.  
1 Probeta graduada de 100 mL.  
Papel filtro Whatman # 1 de poro grueso.  
Puntas nuevas para micropipeta.  
Recipiente de aluminio.  
Marcador indeleble de punta extrafina.  
Parrilla de calentamiento.  
Balanza analítica.  
Digestor de microKjendahl.  
Espectrofotómetro.  
Celdas para espectrofotómetro.

### 5.1.2. Reactivos

Solución estándar de fosfatomonopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de fósforo).  
Reactivo 1 para la identificación de fosfatos (Reactivo de molibdato).  
Reactivo 2 para la identificación de fosfatos (Reactivo reductor).  
Mezcla cloroformo-metanol 2:1 v/v.  
Acetona.  
Solución de cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ) al 1%  
Sulfato de sodioanhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ).  
Éter de petróleo.  
Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).  
Peróxido de hidrógeno o agua oxigenada ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 30%.  
Hidroxiquinona ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$ ).  
Solución de Hidróxido de sodio 1 N.

### 5.1.3. Material biológico

Yema de un huevo de gallina.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	6/17

**Nota: Verificar que el material utilizado durante la ejecución de todos los puntos que integran este procedimiento se encuentre completamente seco.**

## 5.2. Preparación de la muestra

- 5.2.1. Romper un huevo de gallina y separar la clara de la yema utilizando un desyemador.
- 5.2.2. Introducir la yema dentro de un vaso de precipitados con capacidad para 250 mL; agregar 90 mL de la mezcla cloroformo-metanol 2:1 v/v y disolver la yema agitando suavemente con una varilla de vidrio. Dejar reposar la solución de yema de huevo por un lapso de 10 minutos.
- 5.2.3. Adaptar un anillo de hierro al soporte universal; colocar sobre el anillo un embudo que contenga papel filtro de poro grueso doblado en canales. Filtrar la solución de yema de huevo y recolectar el líquido filtrado en un vaso de precipitados con capacidad para 150 mL.
- 5.2.4. Dividir el líquido depurado en dos partes y proporcionar a otro equipo de trabajo el volumen que le corresponda.

## 5.3. Obtención de lípidos

- 5.3.1. Transferir el filtrado a un embudo de separación de 125 mL. Añadir lentamente y sobre las paredes del embudo 25 mL de solución de cloruro de sodio al 1%. Fijar el tapón e invertir el embudo cuidadosamente en dos ocasiones para lavar la solución.
- 5.3.2. Montar el embudo de separación sobre el anillo de hierro y dejar reposar la solución por 10 minutos. En el transcurso del tiempo especificado, se debe observar la separación de una fase acuosa y una fase clorofórmica; al concluir este periodo, coleccionar la fase clorofórmica en un vaso de precipitados de 250 mL (la parte inferior, de color amarillo).
- 5.3.3. Agregar a la fase clorofórmica aproximadamente 2 g de sulfato de sodio anhidro y agitar vigorosamente hasta obtener una solución translúcida de color amarillo-anaranjado, libre de humedad. Filtrar la solución cristalina coleccionándola en un vaso de precipitados con capacidad para 250 mL.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	7/17

**Nota:** En caso que la solución filtrada permanezca turbia, agregar más sulfato de sodio hasta que el líquido posea las características arriba descritas.

5.3.4. Tomar un volumen de 0.25 mL de la disolución anterior y trasladar a un tubo Eppendorf®, etiquetado con la inscripción “Lípidos totales” (LT). Resguardar la muestra dentro del refrigerador hasta su análisis mediante cromatografía en capa fina, con base en lo descrito en el **PNO-SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO09**.

5.3.5. Colocar el vaso que contiene la solución de lípidos generada en el paso 5.3.3. en un baño de agua hirviente (baño María).

**Nota:** Para preparar el baño María, puede verter un poco de agua corriente dentro de un recipiente de aluminio poco profundo (puede utilizar una lata para envasar atún) y colocarlo sobre una parrilla de agitación y calentamiento, hasta que el líquido alcance el punto de ebullición.

5.3.6. Evaporar el disolvente de la muestra de lípidos hasta obtener un líquido espeso de olor característico (sin olor a disolvente).

**Nota:** Deberá asir cuidadosamente el vaso que contiene la solución de lípidos y agitarlo constantemente realizando suaves movimientos circulares. Procediendo así, se evitará que la muestra de lípidos se evapore de forma brusca. Es importante utilizar guantes para evitar algún tipo de quemadura.

5.3.7. Retirar el vaso del baño de agua y agregar al producto obtenido 15 mL de acetona fría. Asentar el vaso en un baño de hielo por 15 minutos. Con ello se obtienen dos productos: una fase cetónica (fase líquida) que contiene lípidos no fosforilados y un precipitado sólido (lípidos fosforilados).

5.3.8. Filtrar los productos para separar ambas fases, reteniendo el precipitado en el papel filtro y colectando la fase cetónica en un frasco ámbar etiquetado con la inscripción “LNP” (Lípidos no fosforilados). Añadir a la solución algunas trazas de hidroxiquinona y resguardar la muestra dentro del refrigerador hasta su uso, descrito en el apartado 5.5. de este procedimiento.

5.3.9. Lavar el precipitado (lípidos fosforilados) con 5 mL de acetona fría. Posteriormente, disolver el sólido lavado con 10 mL de éter de petróleo



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	8/17

dentro de un vaso de precipitados con capacidad para 50 mL. Verter la solución obtenida en un frasco ámbar etiquetado con la inscripción “LP” (Lípidos fosforilados). Añadir a la solución algunas trazas de hidroxiquinona y resguardar la muestra dentro del refrigerador hasta su uso, descrito en el apartado 5.5. de este procedimiento.

- 5.3.10. Asimismo, tomar volúmenes de 0.25 mL de cada una de las disoluciones y trasladar a respectivos tubos Eppendorf®, etiquetados con las inscripciones “LNP” y “LP” Resguardar las muestras dentro del refrigerador hasta su análisis mediante cromatografía en capa fina, de acuerdo a lo descrito en el PNO **SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO09**.

#### 5.4. Curva estándar de fósforo

5.4.1. Preparar cinco matraces volumétricos con aforo hasta 10 mL y verter alícuotas de 0.2, 0.6, 1.0, 2.0 y 3.0 mL de solución patrón de fosfatos en cada uno de ellos, completar su aforo con agua destilada.

5.4.2. Vaciar cada una de las soluciones patrón a un respectivo vaso de precipitados con capacidad para 25 mL. Agregar 10 mL de agua destilada en otro vaso de la misma capacidad para preparar el blanco de reactivos.

5.4.3. Agregar a todos los vasos 0.4 mL de reactivo de Molibdato (Reactivo 1), mezclar y dejar reposar las soluciones por 10 minutos.

5.4.4. Agregar a todos los vasos 0.2 mL de reactivo reductor (Reactivo 2), mezclar y dejar reposar por 5 minutos.

**Nota:** A excepción del vaso que contiene el blanco de reactivos, las soluciones adquirirán una coloración azul característica, cuya intensidad deberá ser proporcional a la concentración de soluto que posea cada una de ellas.

5.4.5. Encender y ajustar el espectrofotómetro con base en lo establecido en el PNO **SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO01**. Leer las absorbancias de las soluciones patrón de fosfatos a una longitud de onda de 615 nm.



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	9/17

## 5.5. Digestión y lectura espectrofotométrica de muestras problema

5.5.1. Evaporar en un baño María bajo las condiciones descritas en el punto 5.3.5 las dos soluciones de lípidos preparadas en el punto 5.3.7 hasta obtener un residuo de color amarillo en ambos casos.

**Nota:** El residuo puede ser oleoso o sólido y debe estar libre de disolvente.

5.5.2. Cortar dos trozos pequeños de papel filtro. Utilizar uno de ellos para pesar aproximadamente 10 mg de lípidos fosforilados y otro para pesar aproximadamente 10 mg de lípidos no fosforilados.

5.5.3. Envolver las muestras dentro del papel filtro e introducirlos en cada uno de los matraces microKjendhal (Figura 1).

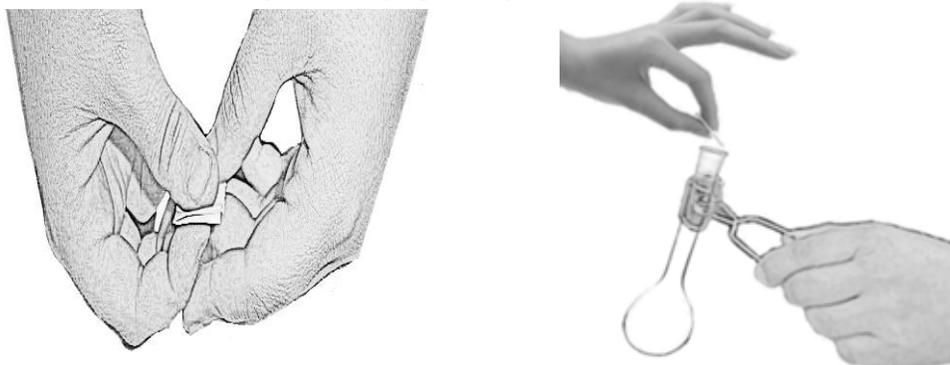


Figura 1. Envoltura de muestras de lípidos y depósito en matraz micro Kjendhal.

5.5.4. Cortar un nuevo trozo de papel filtro e introducirlo dentro de un matraz micro Kjendhal.

**Nota:** Con este material se preparará una “solución blanco” que se utilizará para ajustar a cero el valor de absorbancia antes de realizar la lectura espectrofotométrica de las muestras problema. Los asesores determinarán que equipos de trabajo serían responsables de la preparación de esta solución.

5.5.5. Colocar el digestor dentro de una campana de extracción y conectarlo a la toma de corriente. Ajustar el colector de humos de acuerdo a la longitud de los matraces micro Kjendhal, de tal forma que estos puedan sacarse con facilidad de los orificios durante el calentamiento de las muestras.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	10/17

5.5.6. Agregar a cada matraz 1 mL de ácido sulfúrico concentrado y colocarlos sobre los calefactores del digestor, accionando la respectiva perilla para infundir calor a las muestras (Figura 2).

**Nota:** Al calentarse, las muestras de lípidos se tornarán oscuras.

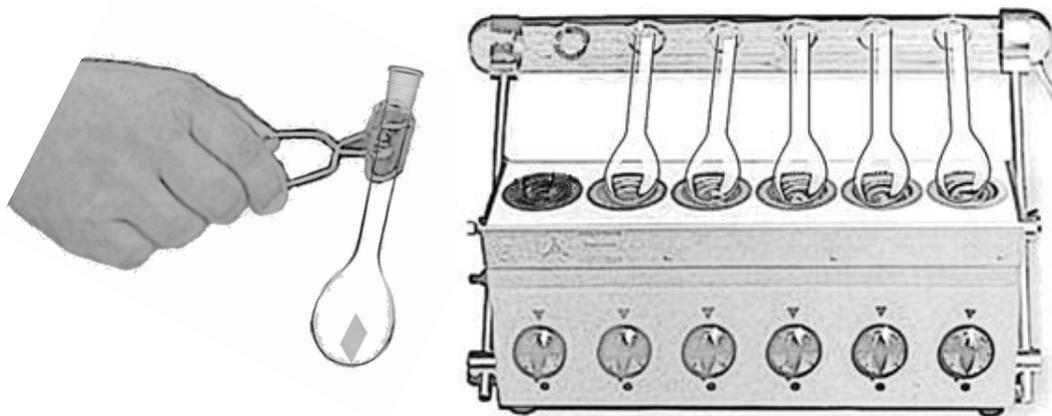


Figura 2. Colocación y calentamiento de muestras de lípidos sobre el digestor.

5.5.7. Adicionar durante el calentamiento gotas de peróxido de hidrógeno al 30%; continuar con la digestión hasta que el líquido se encuentre incoloro y cristalino.

**Nota:** Recuerde operar el matraz microKjendhal con unas pinzas para evitar quemaduras.

5.5.8. Retirar los matraces microKjendahl del digestor y trasvasar los líquidos resultantes en respectivos matraces volumétricos con capacidad para 50 mL. Completar el aforo con agua destilada.

5.5.9. Extraer una alícuota de 1 mL de cada una de las diluciones obtenidas en el punto anterior y transferirlas a un respectivo vaso de precipitados con capacidad para 50 mL.

5.5.10. Agregar a cada alícuota, gotas de solución sobresaturada de hidróxido de sodio, hasta que éstas alcancen un pH neutro. Verificar el valor de pH haciendo uso de tiras de papel tornasol.

**Nota:** Si las alícuotas no pueden llevarse a un pH neutro, pueden trabajarse desde el momento en que éstas presenten un pH ligeramente alcalino.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	11/17

5.5.11. Verter las soluciones neutralizadas dentro de un respectivo matraz volumétrico con capacidad para 10 mL, completando el aforo con agua destilada.

5.5.12. Vaciar cada muestra a un respectivo vaso de precipitados de 25 mL y agregar 0.4 mL de reactivo de molibdato (Reactivo 1) y dejar reposar por 10 minutos; agregar posteriormente 0.2 mL del reactivo reductor (Reactivo 2) y dejar reposar por 5 minutos.

5.5.13. Leer las absorbancias de las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 615 nm.

## 5.6. Determinación de concentración de fósforo en lípidos de yema de huevo.

5.6.1. Registrar en la bitácora de trabajo el valor de absorbancia obtenido en la lectura de cada dilución preparada a partir de la solución estándar.

*Caso ilustrativo: Se trabajaron una serie de lecturas espectrofotométricas de soluciones estándar de fosfatos y soluciones problema de lípidos obteniéndose los siguientes resultados:*

*Cuadro 1. Lectura espectrofotométrica de soluciones estándar*

No. Tubo	Volumen de sln. estándar (mL)	Absorbancia
Blanco	0.0	0.000
1	0.2	0.040
2	0.6	0.120
3	1.0	0.243
4	2.0	0.482
5	3.0	0.72

*Cuadro 2. Lectura espectrofotométrica de soluciones problema*

Muestra problema	Absorbancia
Lípidos fosforilados	0.200
Lípidos no fosforilados	0.098

5.6.2. Realizar un factor de conversión para conocer la cantidad de fósforo disuelto en la solución estándar de fosfato monopotásico.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	12/17

*Caso ilustrativo: La concentración de la solución estándar de fosfato monopotásico es de 43.94  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Si deseamos saber únicamente la cantidad de fósforo disuelto en la solución estándar, se debe utilizar el siguiente factor de conversión:*

$$43.94 \mu\text{g}/\text{mL} \text{ de fosfato monopotásico} \left( \frac{31 \mu\text{g de fósforo}}{136.1 \mu\text{g de fosfato monopotásico}} \right) = 10.0 \mu\text{g de fósforo}/\text{mL}$$

5.6.3. Realizar un factor de conversión para conocer la cantidad de fósforo presente en cada uno de los volúmenes utilizados para la construcción de la curva estándar.

$$0.2 \text{ mL de solución} \left( \frac{10 \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \right) = 2 \mu\text{g de fósforo}$$

$$0.6 \text{ mL de solución} \left( \frac{10 \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \right) = 6 \mu\text{g de fósforo}$$

$$1.0 \text{ mL de solución} \left( \frac{10 \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \right) = 10 \mu\text{g de fósforo}$$

$$2.0 \text{ mL de solución} \left( \frac{10 \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \right) = 20 \mu\text{g de fósforo}$$

$$3.0 \text{ mL de solución} \left( \frac{10 \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} \right) = 30 \mu\text{g de fósforo}$$

5.6.4. Bosquejar en una hoja en papel milimétrico un gráfico en el cual el eje horizontal represente la cantidad de fósforo en  $\mu\text{g}$  y el eje vertical represente la absorbancia. Utilizar la escala adecuada para cada eje (figura 3).

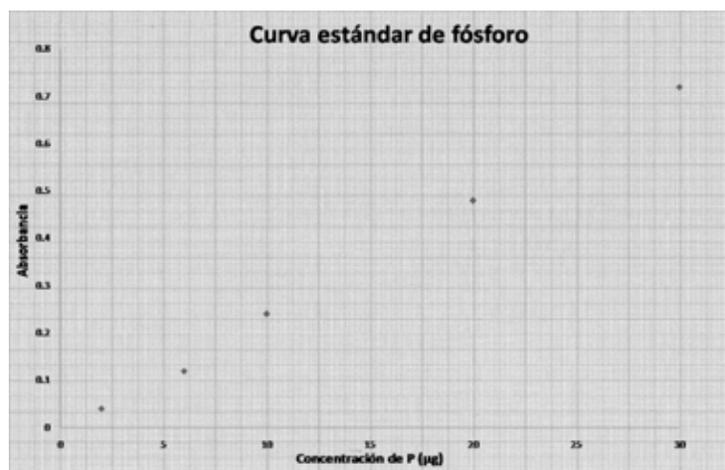


Figura 3. Bosquejo de la curva estándar



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	13/17

5.6.5. Trazar la curva estándar a partir de los valores de absorbancia obtenidos en cada solución durante la lectura en el espectrofotómetro. La gráfica deberá tender a una línea recta donde a medida que aumente la concentración, la señal de respuesta sea mayor (Figura 4).

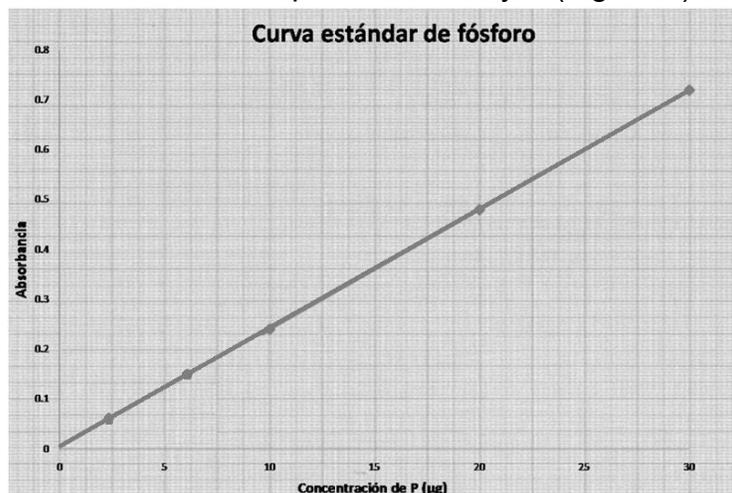


Figura 4. Trazo de la curva estándar

5.6.6. Ingresar en la calculadora los datos de concentración y absorbancia y realizar una regresión lineal para determinar la ecuación de la recta, así como el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), cuyo valor debe ser mayor o igual a 0.998 (Figura 5).

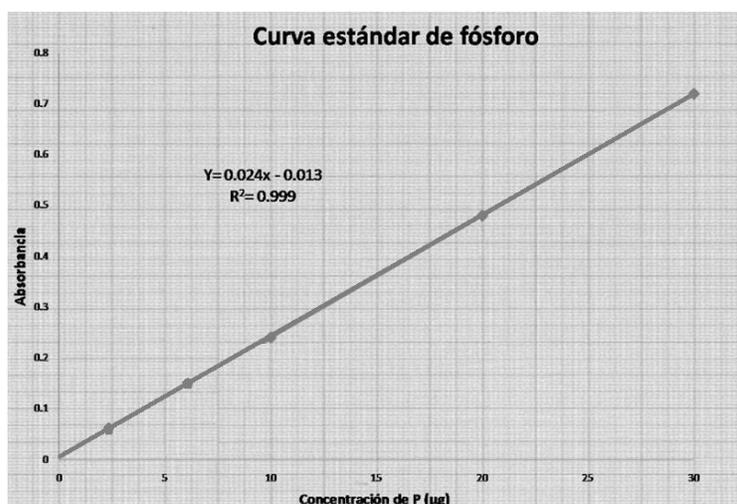


Figura 5. Determinación de ecuación de la recta y  $r^2$  por regresión lineal



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	14/17

- 5.6.7. Interpolar en la curva trazada los valores de absorbancia obtenidos en las lecturas de las muestras de lípidos fosforilados y no fosforilados para determinar su contenido de fósforo (Figura 6).

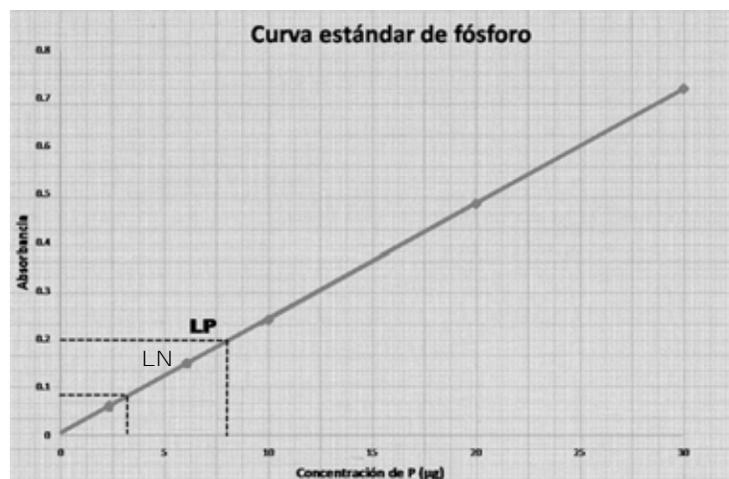


Figura 6. Interpolación de absorbancias de muestras problema.

Con base en la interpolación, la cantidad de fósforo presente en la muestra de lípidos fosforilados es de  $8.4 \mu\text{g}$  y la cantidad de fósforo presente en la muestra de lípidos no fosforilados es de  $3.8 \mu\text{g}$ .

- 5.6.8. Multiplicar los valores obtenidos por los factores de dilución utilizados para conocer la concentración de fosfatos presentes en la yema de huevo y comparar los resultados con la concentración teórica.

## 6. Registros

- SGC-FESZ-QFB-BCTI-POXX Lista maestra de documentos.

## 7. Referencias normativas y bibliografía.

### 7.1. Documentos internos

- Aguilar-Santelises L, García-del Valle A, Corona-Ortega MT. Manual de prácticas de Bioquímica celular y de los tejidos I. México: FES Zaragoza; 2014.
- Aguilar-Santelises L, García-del Valle A, Corona-Ortega MT, Rangel-Corona R, Cruz-Millán M. Antología de Laboratorio de Bioquímica celular y de los



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	15/17

tejidos I y Laboratorio Integral de Biología I. Material en CD e impreso. México: FES Zaragoza; 2007.

## 7.2. Bibliografía

- ISO 9001:2015 Sistemas de gestión de calidad – Requisitos.
- Colección Llave de la ciencia: Diccionario de Biología. Bogotá: Grupo educativo Norma; 2001.
- Dosal MA, Villanueva M. Introducción a la metrología química, curvas de calibración en los métodos analíticos. Antología de Química Analítica Experimental [Internet]; 2008. [Consulta 04 may. 2016]. Disponible desde: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION\\_23498.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION_23498.pdf)
- Facultad de Química. UNAM. Licenciatura en Química en Alimentos. Análisis de alimentos, fundamentos y técnicas.[on line] Disponible en: [dspace.universia.net/bitstream/2024/1067/1/ManualdeFundamentosyTecnicasdeAnalisisdeAlimentos\\_6501.pdf](https://dspace.universia.net/bitstream/2024/1067/1/ManualdeFundamentosyTecnicasdeAnalisisdeAlimentos_6501.pdf).
- Harper HA, et al. Bioquímica de Harper. 28va. ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2010.
- McKee T, McKee J. Bioquímica: las bases moleculares de la vida. 4ta. ed. Madrid: McGraw Hill-Interamericana; 2009.
- Real Academia Española (2014). «Translúcido». Diccionario de la lengua española. 23va. edición. Madrid: Espasa. Consultado el 23 de mayo de 2016.
- Real Academia Española (2014). «Turbio». Diccionario de la lengua española. 23va. edición. Madrid: Espasa. Consultado el 23 de mayo de 2016.
- Voet D, Voet JG, PrattChW: Fundamentos de bioquímica. La vida a nivel molecular. 2da. ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica-Panamericana; 2007.

## 8. Identificación de cambios

Fecha de revisión	Versión	Descripción de la modificación	Sección
20/09/2016	0	Ninguna (Versión original)	Ninguna

Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impreso, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



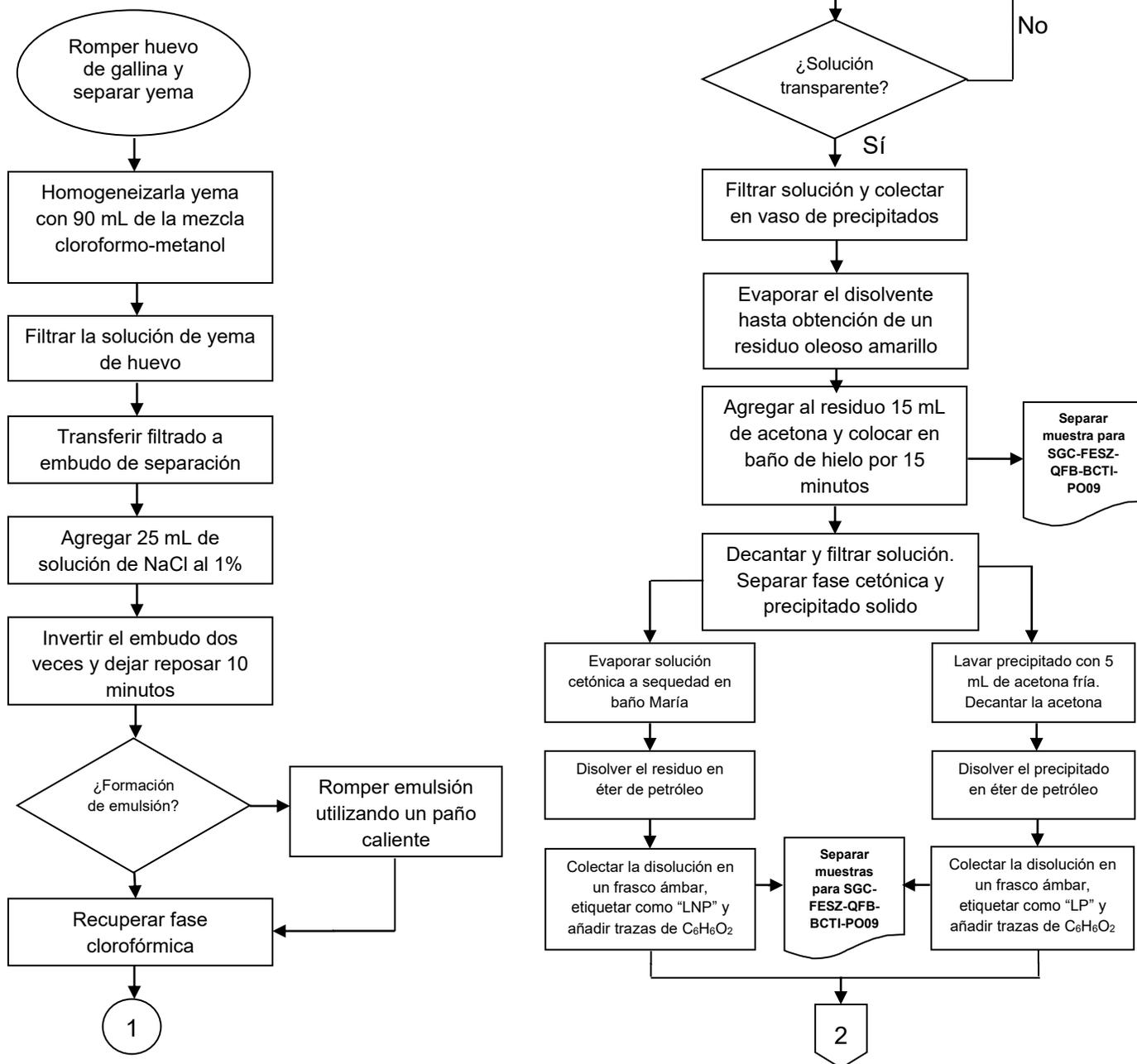
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	16/17

## Anexos

### 1. Diagrama de flujo



Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impresa, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

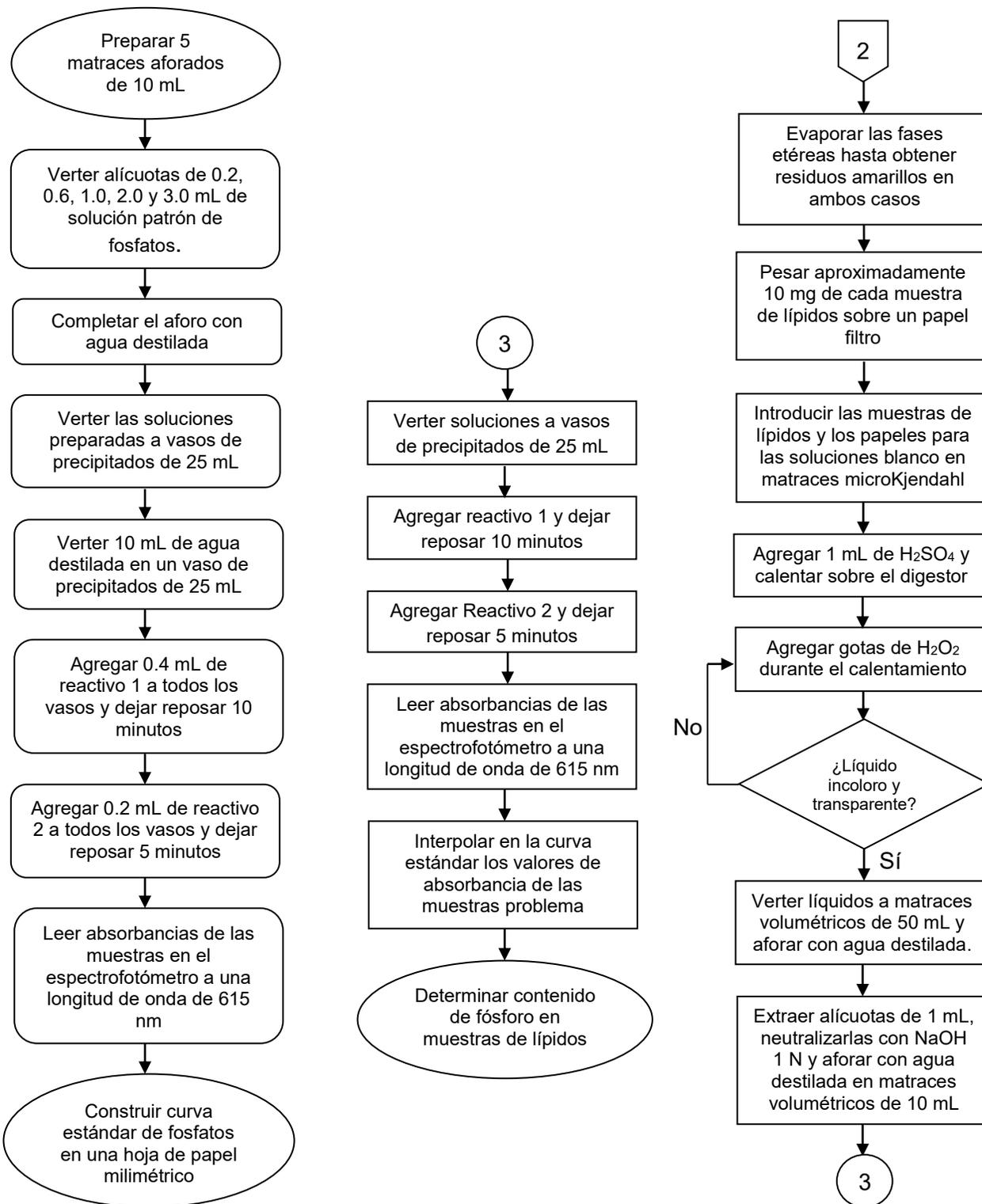
Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE  
LOS TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO08	dd/mm/aaa	0	2/17



Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impresa, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD DE LOS LABORATORIOS DE DOCENCIA

## Procedimiento Normalizado de Operación para la separación de muestras de ADN humano por electroforesis SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18

Este documento fue revisado por:

Elaboró	Saúl de Jesús Díaz Ramírez	
Revisó	M. en C. Araceli García del Valle Mtra. Leonor Aguilar Santelises	
Aprobó	Comité Académico de la Carrera de Q.F.B.	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	2/12

## Índice

1. Propósito .....	3
2. Alcance .....	3
3. Términos, definiciones y abreviaturas .....	3
4. Responsabilidad y autoridad .....	4
5. Descripción de actividades.....	4
5.1. Insumos a utilizar .....	4
5.2. Preparación y montaje de gel de agarosa.....	5
5.3. Colocación de las muestras .....	7
5.4. Corrida electroforética y revelado de gel.....	8
6. Registros .....	9
7. Referencias normativas y bibliografía .....	9
8. Identificación de cambios .....	10
Anexos .....	11

---

Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impreso, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	3/12

## 1. Propósito

Definir al alumno con claridad las actividades que debe desarrollar para separar fragmentos de ADN humano mediante la técnica de electroforesis e identificarlos interpretando las bandas obtenidas en el gel de agarosa.

## 2. Alcance

Este procedimiento aplica a asesores, alumnos y personal administrativo involucrado en la ejecución del presente PNO, incluido en el Manual de Procedimientos del Módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I de la Carrera de Q.F.B. de la FES Zaragoza.

## 3. Términos, definiciones y abreviaturas

### 3.1. Términos y definiciones

- ADN: Ácido nucleico que se encuentra principalmente en los cromosomas que contienen la información hereditaria de los organismos.
- Agarosa: Fracción polimérica extraída de algas productoras de agar, responsable fundamental del poder gelificante de éste. Presenta una diferencia entre temperaturas de fusión y solidificación importante, que la hace idónea para técnicas de separación tales como electroforesis, cromatografía y otras, empleadas en el campo de la Bioquímica y Biología Molecular.
- Amortiguador (Buffer): Sistema acuoso que tiende a resistir los cambios en el pH cuando se les agrega pequeñas cantidades de ácido o base.
- Electroforesis: Técnica de separación de moléculas en la cual se emplea un campo eléctrico aplicado, que actúa sobre partículas cargadas causando su movimiento a través de una matriz porosa.
- Polimerización: Reacción química por la cual los reactivos, monómeros (compuestos de bajo peso molecular), forman enlaces químicos entre sí, para dar lugar a una molécula de gran peso molecular (macromolécula), ya sea esta de cadena lineal o de estructura tridimensional, denominada polímero.

### 3.2. Abreviaturas

- 3.2.1. ADN: Ácido desoxirribonucleico.
- 3.2.2. g: Gramos.
- 3.2.3. L: Litros.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	4/12

3.2.4.  $\mu$ L: Microlitros.

3.2.5. mL: Mililitros.

3.2.6. V: Voltios.

## 4. Responsabilidad y autoridad

### 4.1. Asesor del Módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I

- Verificar que el contenido del presente documento cumpla con los requerimientos necesarios para llevar a cabo de manera correcta el procedimiento.

### 4.2. Personal administrativo

- Proporcionar el material, equipos e instrumentos necesarios para la correcta ejecución de este procedimiento y mantener el aula de laboratorio en condiciones óptimas para la realización de las actividades.

### 4.3. Alumnos del Módulo de Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I

- Conocer y aplicar correctamente las actividades descritas en este procedimiento.
- Delegar actividades para cada integrante del equipo.
- Hacer buen uso del material y equipos proporcionados, comprometiéndose a entregarlos limpios y en buen estado.
- Mantener limpia el área de trabajo y desechar adecuadamente los residuos que se generen durante y al final de las actividades.

## 5. Descripción de actividades

### 5.1. Insumos a utilizar

#### 5.1.1. Material y equipo

Equipo para electroforesis horizontal Enduro®, marca LabNet®

1 Tanque para electroforesis horizontal.

1 Peine formador de pocillos.

1 Bandeja para fundición de gel.

1 Soporte para la formación de geles.

Equipo para electroforesis horizontal Mini-Sub® Cell GT, marca BioRad®

1 Cámara para electroforesis.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	5/12

- 1 Bandeja para fundición de geles.
- 1 Peine formador de pocillos.
- 2 Matraces Erlenmeyer con capacidad para 250 mL.
- 1 Matraz volumétrico de 1000 mL.
- 3 Micropipetas de 20  $\mu$ L.
- 3 Micropipetas de 200  $\mu$ L.
- 3 Micropipetas de 1000  $\mu$ L.
- Puntas nuevas y limpias para las micropipetas.
- Envase de poliuretano con capacidad para 1L.
- Guantes de látex
- Horno de microondas.
- Fuente de poder.
- Niveles de burbuja.
- Transiluminador.
- Vortex.

### 5.1.2. Reactivos

- Amortiguador TBE 10X.
- Reactivo Midori-Green®
- Buffer de carga 6X Promega®
- Marcador de peso molecular Promega® de 1000 pares de bases (1000bp)
- Agarosa grado biología molecular.
- Agua destilada.

### 5.1.3. Material biológico

- Muestra de ADN humana purificada.

**Nota: El analista deberá portar guantes de látex o de nitrilo durante la ejecución de todos los puntos que integran el presente procedimiento.**

## 5.2. Preparación y montaje de gel de agarosa

- 5.2.1. Verificar que las cámaras de electroforesis y las bandejas para fundición de geles a utilizar presenten una perfecta horizontalidad respecto a la superficie donde estén dispuestas. Esto se logra utilizando niveles de burbuja: el



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	6/12

equipo se encontrará nivelado cuando la burbuja del instrumento se encuentre simétricamente entre las dos marcas de referencia.

5.2.2. Preparar una solución amortiguadora TBE 0.5X a partir de TBE 10X.

*Caso ilustrativo: Para preparar 1 L de solución TBE 0.5X, se debe tomar una alícuota de 50 mL de TBE 10X y verter dentro de un matraz volumétrico de 1000 mL. Completar el aforo con agua destilada*

5.2.3. Pesar la masa requerida de agarosa y vaciarla en un matraz Erlenmeyer con capacidad para 250 mL. Verter el volumen necesario de solución amortiguadora TBE 0.5X para disolver el sólido previamente pesado.

**Nota:** Los geles de agarosa se preparan usando solución en porcentaje p/v.

*Caso ilustrativo: Para preparar 100 mL de gel de agarosa al 0.8%, pesar 0.8 g de agarosa y disolverlo en amortiguador TBE 0.5X.*

5.2.4. Colocar el matraz dentro del horno de microondas y calentar 1 minuto y medio para favorecer la disolución completa del sólido (la solución se tornará transparente). Retirar el matraz del horno de microondas al finalizar el tiempo de calentamiento y dejar enfriar la solución de agarosa hasta que la temperatura del matraz sea tolerable al tacto.

5.2.5. Adaptar una punta limpia a una micropipeta de 20  $\mu$ L y extraer 5  $\mu$ L de Reactivo Midori-Green®. Sumergir la punta dentro de la solución de agarosa y expeler el reactivo de esta manera. Mezclar la solución agitando el matraz con movimientos circulares.

5.2.6. Vaciar la solución de agarosa dentro del soporte para fundición de geles y colocar el peine para formar los pozos en número y tamaño deseados.  
**Nota:** Corroborar que el soporte para formación del gel se encuentre perfectamente nivelado, momentos antes de verter la solución.

5.2.7. Dejar solidificar la agarosa por un lapso de 20 minutos. Una vez sólida, retirar el peine cuidadosamente de forma vertical y en un sólo movimiento, para evitar que los pocillos se rompan o se deformen.

5.2.8. Colocar los geles en la posición correcta dentro de la cámara de electroforesis, es decir, con los pocillos formados del lado del cátodo (cables de color negro).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	7/12

5.2.9. Llenar la cámara electroforética con amortiguador TBE 0,5X hasta que el gel se encuentre completamente sumergido.

### 5.3. Colocación de las muestras

5.3.1. Adaptar una punta limpia a una micropipeta de 20  $\mu\text{L}$  y extraer 5  $\mu\text{L}$  de marcador de peso molecular. Cargar dicho volumen dentro del primer pozo formado en el gel.

5.3.2. Extraer la punta del pocillo, manteniendo el botón pulsador de la micropipeta en posición "C", hasta que ésta se encuentre fuera de la cámara electroforética. Desechar la punta utilizada dentro de un frasco destinado para tal fin.

5.3.3. Preparar una dilución de buffer de carga 1X a partir de una solución buffer Promega® 6X.

*Caso Ilustrativo: Para preparar 120  $\mu\text{L}$  de buffer de carga 1X, extraiga 20  $\mu\text{L}$  de solución de buffer de carga Promega® 6X y deposite dicho volumen en un tubo Eppendorf® con capacidad para 0.2 mL. Posteriormente, agregue 100  $\mu\text{L}$  de amortiguador TBE 0.5X y diluya haciendo uso de la micropipeta.*

5.3.4. Utilizando una micropipeta de 20  $\mu\text{L}$ , depositar 4  $\mu\text{L}$  de buffer de carga 1X Promega® sobre un trozo de papel parafilm (el reactivo adoptará sobre el papel la forma de una gota de rocío).

5.3.5. Preparar la muestra a analizar, incorporando 4  $\mu\text{L}$  de solución de ADN purificado dentro del buffer de carga utilizando una micropipeta de 20  $\mu\text{L}$  de la siguiente manera:

- Succionar la muestra de ADN con la micropipeta, llenando la punta con el volumen requerido.
- Introducir la punta de la micropipeta dentro de la gota de buffer de carga dispuesta sobre el papel parafilm e "inyectar" en ella la muestra de ADN, presionando el botón pulsador de la micropipeta hasta la posición "C".
- Retirar la punta del líquido y girar la rueda dentada de la micropipeta hasta ajustar en ésta un volumen de 8  $\mu\text{L}$ .
- Presionar el botón pulsador de la micropipeta hasta la posición "B" e introducir nuevamente la punta dentro de la mezcla. Liberar el botón



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	8/12

pulsador de la micropipeta hasta la posición "A", para aspirar completamente el líquido mezclado.

- e. Presionar nuevamente el botón pulsador de la micropipeta hasta la posición "B", depositando la mezcla de reactivos sobre el papel parafilm.
- f. Por último, aspirar la mezcla de reactivos liberando el botón pulsador de la micropipeta hasta alcanzar la posición "A". Retener en la punta la mezcla de reactivos hasta su siembra.

Procediendo de esta manera, se integran correctamente los reactivos, evitando errores durante el corrimiento.

5.3.6. Cargar la muestra de ADN cuidadosamente dentro del pozo indicado por el asesor, presionando el botón pulsador de la micropipeta hasta la posición "C" para verterla completamente. Una vez cargada, extraer la punta del pocillo, manteniendo el botón pulsador de la micropipeta en posición "C", hasta que ésta se encuentre fuera de la cámara electroforética.

5.3.7. Desechar la punta utilizada en un frasco para tal fin.

**Nota:** Cada equipo de trabajo es responsable de sembrar sus respectivas muestras de ADN en el pocillo que les corresponda y siguiendo la metodología descrita en este apartado.

#### 5.4. Corrida electroforética y revelado de gel

5.4.1. Tapar la cámara de electroforesis y conectar los electrodos a la fuente de poder, ajustándolos en las terminales correspondientes (los cables deben conectarse en las entradas del mismo color).

**Nota:** Recordar que el ADN migrará en la cámara de electroforesis del polo negativo hacia el polo positivo.

5.4.2. Enchufar la fuente de poder a la toma de corriente.

5.4.3. Encender la fuente de poder y ajustar la tensión eléctrica a 80 V. Dejar correr las muestras a este voltaje durante 90 minutos y supervisar el frente de corrimiento de las muestras de vez en vez durante este periodo, observando el desplazamiento del indicador

**Nota:** El reactivo Midori-Green® es fotosensible, por lo que se recomienda disminuir la intensidad de la luz dentro del aula durante la corrida electroforética.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	9/12

- 5.4.4. Apagar la fuente de poder y desconectarla de la toma de corriente al concluir el tiempo de corrimiento. Retirar los electrodos y destapar la cámara de electroforesis.
- 5.4.5. Retirar cuidadosamente el soporte que contiene el gel de la cámara, secando la parte inferior del mismo con una toalla de papel absorbente.
- 5.4.6. Utilizando una espátula cortar longitudinalmente un trozo del gel de agarosa del lado opuesto a donde se formaron los pocillos, para que pueda colocarse en la charola del transiluminador.
- 5.4.7. Encender el transiluminador para observar la presencia de bandas separadas de ADN. Establecer su peso molecular aparente comparando el corrimiento de las muestras con el marcador de peso molecular. De ser posible, captar el resultado en una fotografía digital.  
**Nota:** Para facilitar la observación de los resultados, puede apagar la luz del aula de laboratorio.
- 5.4.8. Aunque se ha demostrado que el reactivo Midori-Green® es escasamente tóxico, se recomienda depositar el gel en una bolsa de plástico y colocarlo en espacio destinado para desechos generados en el laboratorio.
- 5.4.9. Recuperar el amortiguador TBE contenido en la cámara electroforética, vaciándolo primeramente en un vaso de precipitados de 600 mL. Verterlo posteriormente dentro de un envase de polietileno con capacidad para 1L.
- 5.4.10. Enjuagar la cámara y los soportes utilizados con agua destilada, secarlos con toallas de papel absorbente y guardarlos en donde corresponda.

## 6. Registros

- SGC-FESZ-QFB-BCTI-POXX      Lista maestra de documentos.

## 7. Referencias normativas y bibliografía

### 7.1. Documentos internos

- Aguilar-Santelises L, García-del Valle A, Corona-Ortega MT. Manual de prácticas de Bioquímica celular y de los tejidos I. México: FES Zaragoza, UNAM; 2014.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	10/12

- Aguilar-Santelises L, García-del Valle A, Corona-Ortega MT, Rangel-Corona R, Cruz-Millán M. Antología de Laboratorio de Bioquímica celular y de los tejidos I y Laboratorio Integral de Biología I. Material en CD e impreso. México: FES Zaragoza, UNAM; 2007.

## 7.2. Bibliografía

- Concepción J, Puerta B. Prácticas de Biología Molecular. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana; 2005.
- Escrig A. Manual de Neurogenética. Madrid: ediciones Díaz de Santos S.A.; 2003.
- Fonseca D, Mateus H. Prácticas de Laboratorio de Biología Molecular: Su aplicación en genética básica. Bogotá: Universidad del Rosario; 2010.
- Gonzalez-Moran MG. Técnicas de laboratorio en Biología Molecular. México: Facultad de Ciencias, UNAM, AGT editor S.A.; 2008.
- Karp G. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos. 6ta. ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2011.
- Laboratorios Conda.com [Internet]. Madrid: Pronadisa, Agarosas; 2010. [acceso 17 agosto de 2016]. Disponible en: [www.condalab.com/pdf/folleto\\_agarosas09.pdf](http://www.condalab.com/pdf/folleto_agarosas09.pdf)
- Mendoza-Rincón JF, García del Valle A, Aguilar-Santelises L. Protocolos en Biología Molecular. México: FES Zaragoza, UNAM; 2004.

## 8. Identificación de cambios

Fecha de revisión	Versión	Descripción de la modificación	Sección
29/02/2016	0	Ninguna (Versión original)	Ninguna

Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impreso, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.



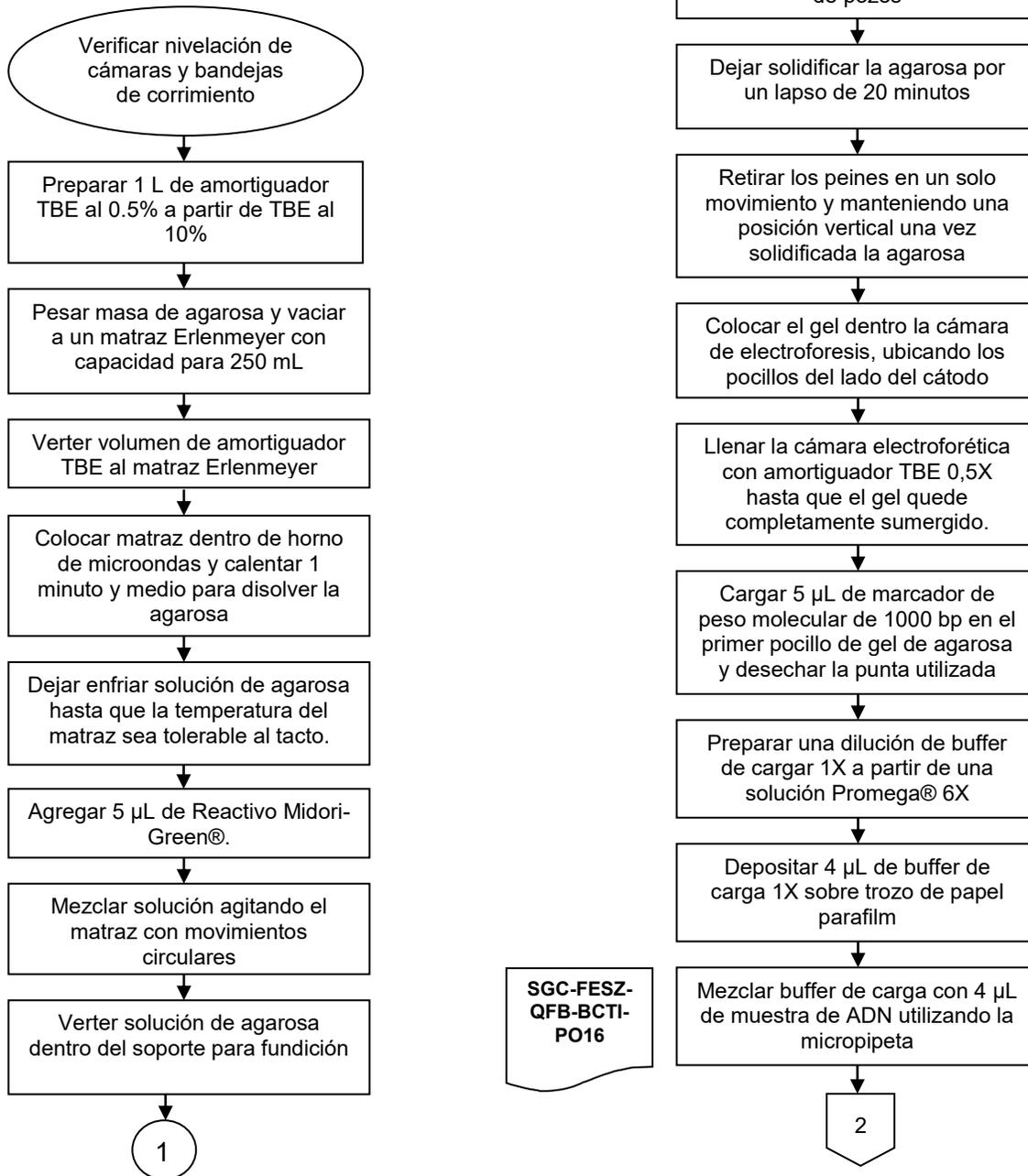
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	11/12

## Anexos

### 1. Diagrama de flujo.

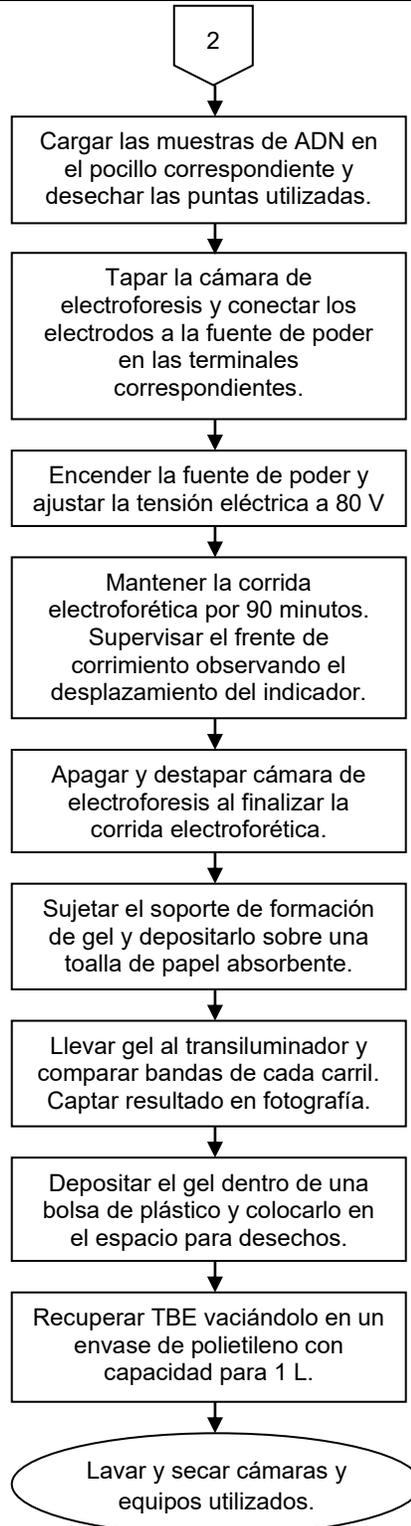




SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA CELULAR Y DE LOS  
TEJIDOS I



Código	Fecha de emisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-BCTI-PO18	dd/mm/aaa	0	12/12



Este documento es de carácter informativo y no tiene validez impreso, deberá ser destruido cuando se reciba la nueva versión por parte del Departamento de Certificación Académica.

Para tener certeza sobre el estado de revisión de este documento se debe consultar al Comité del Sistema de Gestión de la Calidad.