



INCT Hongos de Brasil

POE 2: Lista de Verificación (Checklist) para Recepción de Muestras

Aviso: Este documento fue traducido con el apoyo de IA generativa (Gemini).

Manual para el Comité Gestor

Objetivo:

Establecer el procedimiento estándar para evaluadores del Comité y Puntos Focales en la recepción, verificación y validación de muestras de ADN remitidas por los investigadores de la red, garantizando su aptitud para el envío a la *facility* de secuenciación en EE. UU.

1. Recepción Física y Cotejo Documental

Al recibir un lote de muestras, el responsable del Punto Focal debe iniciar inmediatamente la verificación.

- **Paso 1: Verificación de la Integridad del Paquete**
 - ¿Llegó el paquete congelado (presencia de hielo seco o geles refrigerantes aún congelados)?
 - ¿Están los tubos o placas intactos, sin fisuras ni fugas?
- **Paso 2: Cotejo Documental**
 - ¿Se envió digitalmente la "Planilla 1: Envío de Muestras de ADN"?
 - ¿Coincide exactamente la cantidad física de tubos con la declarada en la planilla?

- ¿Corresponde la rotulación de los tubos con los códigos de la planilla?

2. Checklist de Calidad del ADN (Validación Técnica)

El Comité evaluará los datos remitidos en la planilla para cada muestra. Cualquier muestra que no cumpla con los siguientes parámetros será clasificada como **"RECHAZADA"** o **"PENDIENTE DE NUEVA EXTRACCIÓN"**.

Criterio de Evaluación	Parámetro Aceptable	Acción en Caso de No Conformidad
¿Método de Extracción Declarado?	Sí	Solicitar información al investigador.
Tampón de Suspensión	Agua ultrapura o tampón libre de EDTA	Rechazar. Solicitar nueva extracción (precipitar y resuspender no garantiza preservar la calidad).
Volumen Total	20 µL a 50 µL	Si es < 20 µL, verificar si la masa total cumple. Si es > 50 µL, solicitar concentración (si es viable) o nueva extracción.
Cantidad Total de ADN	≥ 500 ng	Rechazar. La <i>facility</i> exige este mínimo estricto para <i>PCR-free</i> .
Método de Cuantificación	Qubit (o fluorómetro equivalente)	Si fue medido solo por NanoDrop, el Punto Focal/Hub debe recuantificar por Qubit.
Relación 260/280	1.6 a 2.0	Rechazar. Solicitar nueva purificación o extracción.
Relación 260/230	≥ 1.8	Rechazar. Alto riesgo de inhibidores. Solicitar limpieza (<i>cleanup</i>).
Integridad del ADN en Gel	ADN íntegro en gel al 0.8%	Rechazar muestras severamente degradadas.

3. Consolidación en Placas de 96 Pocillos

Tras la validación, las muestras aprobadas deben transferirse a placas de PCR de 96 pocillos para su envío internacional.

- **Mapeo:** Completar el mapa de placa (A1 a H12) asociando el código original a la posición asignada.
- **Pipeteo:** Homogeneizar bien la muestra antes de cargarla en la placa.
- **Sellado:** Utilizar sellos adhesivos de aluminio (*foil seals*) asegurando un cierre hermético.
- **Protección:** Colocar una tapa plástica rígida sobre el sello de aluminio o proteger con papel absorbente fijado con bandas elásticas.
- **Lotes:** Agrupar en lotes de 50 a 96 muestras por placa (placas con menos de 50 muestras no optimizan la automatización de la *facility*).

4. Preparación para el Envío Internacional

- Exportar la planilla consolidada definitiva con el mapa de placa.
- Verificar la vigencia de los permisos de exportación (ej. SisGen) y registrarlos en la planilla.
- Embalar las placas en cajas isotérmicas con abundante hielo seco para tránsito internacional.
- Dirección de envío: Facility – [Dirección en EE. UU.].

