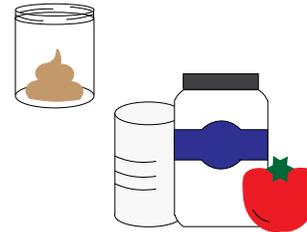




ESQUEMA SIMPLIFICADO DE TODO EL PROCESO

PASO UNO:

Obtención de la muestra



Ver página 4

PASO DOS:

Extracción del ADN de la muestra



Ver página 4-6

PASO TRES:

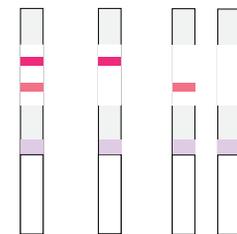
Detección de *Salmonella* spp.



Ver página 6-7

PASO CUATRO:

Visualización del resultado



Ver página 7-8



SALMONET -ADN

REF DLSAN01

Almacene según su etiqueta individual



Uso deseado

SALMONET-ADN incluye lo necesario para extraer ADN a partir de una amplia variedad de muestras (de origen humano y animal e industriales como las de alimentos o farmacéutica) usando el kit de extracción MagnetiDNA, detectar de forma cualitativa ADN correspondiente al genoma de *Salmonella spp.* en dichas muestras para la visualización de los resultados mediante las tiras de Bionet multi.

Introducción

La *Salmonella spp.* es una bacteria patógena responsable de causar algunas de las enfermedades que se transmiten a los seres humanos mediante el consumo de alimentos. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades diarreicas representan más de la mitad de las enfermedades transmitidas por vía alimentaria, de hecho se estima que alrededor de 550 millones de personas se enferman y 230,000 de estas fallecen cada año. El grupo más afectado por este tipo de enfermedades son los niños pues 220 millones enferman y 96,000 mueren anualmente. Todo esto ha generado un problema de salud pública a nivel mundial.

Los síntomas que se presentan pueden ser de corta duración como la náusea, vómito y diarrea, así como de larga duración siendo el cáncer, la insuficiencia renal o hepática, trastornos cerebrales y neuronales los más relacionados. El tratamiento contra esta bacteria se basa principalmente en el uso de antibióticos [1,2,3]. En la actualidad la *Salmonella spp.* puede ser detectada tanto en muestras clínicas como en alimentos contaminados con esta. Para ello, se disponen de diversas técnicas tradicionales como el cultivo, pruebas inmunológicas o métodos basados en biosensores, sin embargo, las técnicas de detección molecular a temperatura constante han demostrado una gran ventaja por tener una alta sensibilidad y especificidad brindando grandes beneficios como al sector salud al lograr un diagnóstico rápido y preciso y, al sector alimentario permitiendo garantizar la calidad de sus productos con mayor rapidez [4,5].

Principio

Extracción de ADN: Este kit incluye el producto MagnetiDNA plus (REF BMPUR01), el cual tiene la función de obtener ADN aprovechando la carga de este, una propiedad química de los ácidos nucleicos, ya que estos poseen una carga negativa debido a los grupos fosfato presentes en su estructura, lo que permite capturar dicho material utilizando moléculas cargadas positivamente [8]. Las perlas magnéticas consisten en un centro de hierro recubierto por resina que confiere una carga positiva en su superficie, éstas se encuentran suspendidas en un buffer con cierto pH para mantener las cargas tanto de la superficie de las perlas magnéticas como la de los ácidos nucleicos, con ayuda del buffer de lisis celular (contiene agentes desnaturizantes de proteínas y lípidos) tendrá la función de lisar las células presentes en la muestra, de esta forma facilitará a las perlas magnéticas capturar los ácidos nucleicos, una vez realizado dicho proceso con ayuda de un imán o magneto se atraerán los núcleos de hierro permitiendo la separación de las perlas del resto de componentes de la muestra (proteínas, lípidos entre otros) para luego eliminar dichos componentes por pipeteo. Mientras las perlas son retenidas en la pared del microtubo por el imán/magneto se realizará un proceso de lavado con el buffer de lavado, el cual, tiene la función de eliminar todos los componentes no deseados posteriormente se elimina todo el buffer de lavado para finalmente eluir las perlas magnéticas en una solución acuosa con pH básico con el fin de neutralizar el pH de las perlas liberando los ácidos nucleicos capturados [9].

Detección de ADN: El SALMONET-ADN (REF DLSAN01), es un ensayo basado en la amplificación isotérmica mediada por bucle (*LAMP por sus siglas en inglés*) que permite detectar la presencia de ADN de *Salmonella spp.* La reacción de LAMP se realiza mezclando la muestra (ADN) en un tubo con reactivo seco, luego se incubaba a 65 °C en condiciones isotérmicas, si la muestra de ADN contiene ADN de *Salmonella spp.* en una concentración mayor al límite de detección se llevará a cabo el proceso de amplificación durante el cual se incorporan las marcas biotina-FAM. En caso contrario,

de no estar presente o se encuentre por debajo del límite de detección no se realizará el proceso de amplificación ni tampoco el marcaje (etiquetado).

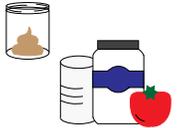
Visualización del resultado: Una vez concluido la detección, se utiliza el producto BIONET MULTI (REF DLBIO01) incluido. Para ello el producto de la amplificación es diluido en reactivo de corrimiento en el cual se colocará la prueba para que la muestra migre a través de ésta por acción capilar. Si la muestra contenía ADN de *Salmonella spp.* las marcas biotina-FAM reaccionarán con las partículas recubiertas de anticuerpos anti-fluoresceína presentes en el conjugado, luego continuará migrando hasta encontrarse con los anticuerpos anti-biotina en la región de prueba (T), estos reaccionarán formando una línea de color en dicha región T, esto indica un resultado positivo debido a que fue detectada la presencia de ADN de *Salmonella spp.* Por el contrario, si no hay ADN de *Salmonella spp.* no habrá marcas de biotina-FAM y por lo tanto no se formará la línea de color en la región T, esto indica un resultado negativo. La prueba posee un control (C) que indica que se ha agregado la cantidad de muestra correcta y el procedimiento se ha realizado con éxito.

INSTRUCCIONES DE USO

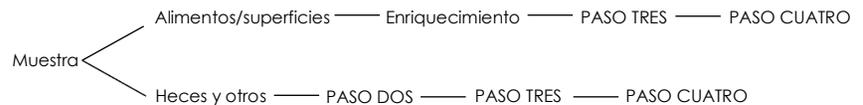
PASO UNO: OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Obtención: Esto dependerá del tipo de muestra, por lo tanto, considere lo siguiente.

- La muestra debe recolectarse y almacenarse en un recipiente estéril, esto incluye bolsas herméticas.
- Los hisopos y soluciones utilizados para la toma de muestra de superficies deben ser estériles y deben ser almacenados en un recipiente estéril.



Preparación: Particularmente en el caso de los alimentos/superficies se requiere realizar un proceso de **enriquecimiento** para la detección de un número bajo de bacterias o células estresadas de *Salmonella spp.*, siga lo estipulado en el apartado **A.6.1** de la **NOM-210-SSA1-2014** según el alimento y considere lo siguiente:



PASO DOS: EXTRACCIÓN DE ADN DE LA MUESTRA

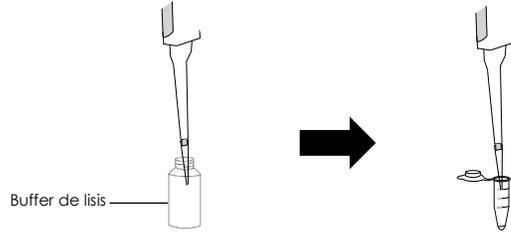
PRECAUCIÓN: Las muestras clínicas deben almacenarse máximo dos horas a temperatura ambiente previo al ensayo y en refrigeración (4 °C) hasta por 5 días. Sin embargo, para obtener un mejor desempeño se recomienda que las muestras sean analizadas inmediatamente después de su recolección, una manipulación, almacenamiento o transporte incorrecto puede generar desviaciones en los resultados.

A continuación, siga cada uno de los pasos que se describen, recuerde no modificar y/o alterar ninguno de los pasos o cantidades que se indican.

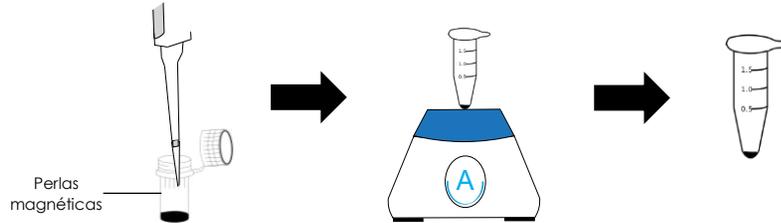
- I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el kit de extracción MagnetiDNA y asegúrese de contar con todo lo necesario.
- II. Para muestras clínicas como heces:
 - Para muestras **sólidas** recolecte 25 mg (miligramos) o menos de ¼ de un chícharo de 3 sitios diferentes con una espátula o palillo estéril y deposítelos en un tubo nuevo de 1.5-2 mL.
 - Para muestras **líquidas** recolecte 25 µL (microlitros) y deposítelos en un tubo nuevo de 1.5-2 mL.

- Agregue 600 μL de solución isotónica de cloruro de sodio (SSI) y mezcle por vortex hasta obtener una apariencia homogénea.

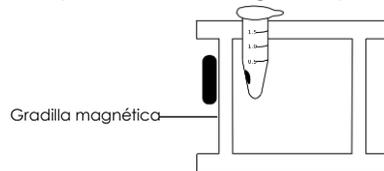
III. Utilizando una micropipeta y puntas (nuevas) tome 50 μL de la suspensión de la muestra y transfíralos a un tubo de 1.5-2 mL estéril. Posteriormente adicione 500 μL de buffer de lisis al tubo de 1.5-2 mL donde previamente colocó la muestra, mezcle por vortex o pipeteo e incube por 5 minutos a 65 $^{\circ}\text{C}$.



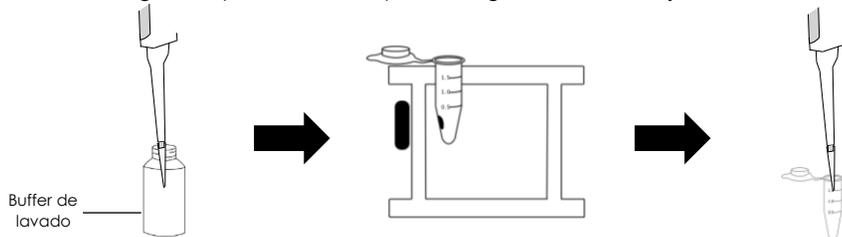
IV. Tome y agite el contenedor de perlas magnéticas de forma vertical por 10 segundos o hasta que su contenido sea homogéneo luego tome 20 μL de las perlas magnéticas y dépositelas en el tubo con la muestra. Cierre perfectamente y mezcle con ayuda de un vortex por 1 minuto, al finalizar deje reposar el tubo por 5 minutos a temperatura ambiente.



V. Coloque el tubo en una gradilla magnética, déjelo en esa posición hasta que se aprecie que la mayoría de las perlas magnéticas se han aglomerado cerca del imán (aproximadamente 5 minutos), posteriormente retire completamente el sobrenadante sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.



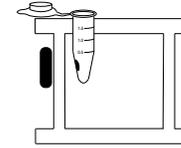
VI. Agregue 500 μL de buffer de lavado y mezcle por vortex durante 10 segundos luego regrese el tubo a la gradilla magnética y déjelo hasta que la mezcla se aclare (aproximadamente 1-2 minutos), proceda a remover el sobrenadante sin retirar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas. Evite dejar residuos.



VII. Repita nuevamente el paso anterior (VI).

5

VIII. A continuación, deje el tubo abierto en la gradilla para eliminar cualquier residuo del buffer de lavado, esto hasta por 2 minutos y asegúrese de que no existan microgotas en el tubo. NOTA: Si no se remueve por completo el buffer de lavado puede inhibir las reacciones posteriores.



IX. En un tubo de 200 μL caliente 50 μL del buffer de elución a 65 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos después agréguelos al tubo de 1.5-2 mL y mezcle por vortex durante 30 segundos, luego regrese el tubo a la gradilla magnética y deje por 2 minutos. Al finalizar recolecte completamente el sobrenadante (ADN purificado) después transfíralo a un tubo nuevo de 1.5-2 mL, finalmente rotúelo para identificarlo.

X. **¡Felicidades ha obtenido su ADN!**



PASO TRES: DETECCIÓN DE SALMONELLA SPP.

PRECAUCIÓN: La muestra enriquecida o ADN purificado puede ser utilizado luego de su obtención, de lo contrario almacénelo a -20 $^{\circ}\text{C}$ y permita que alcance temperatura ambiente antes utilizarlo.

A continuación, siga cada uno de los pasos que se describen, recuerde no modificar y/o alterar ninguno de los pasos o cantidades que se indican.

I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el producto SALMONET-ADN y asegúrese de contar con todo lo necesario.

II. Prepare cada tubo por separado según lo descrito.

• Muestra (S):

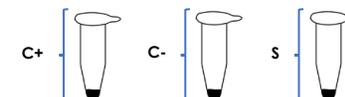
- **Si realizó el enriquecimiento de la muestra:** Transfiera 10 μL de sobrenadante a un tubo de 1.5-2 mL (nuevo) luego añada 90 μL de agua libre de nucleasas y caliente a 95 $^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos. Posteriormente tome un tubo con reactivo seco y agregue 20 μL de reactivo diluyente, 5 μL de muestra y mezcle por pipeteo hasta obtener una consistencia homogénea. Al finalizar cierre el tubo y rotule de tal forma que pueda identificarla.

- **Si realizó la extracción de ADN de la muestra:** Tome un tubo con reactivo seco y agregue 20 μL de reactivo diluyente, 5 μL de muestra (ADN purificado) y mezcle por pipeteo hasta obtener una consistencia homogénea. Al finalizar cierre el tubo y rotule de tal forma que pueda identificarla.

Nota: se recomienda realizar duplicados por cada muestra a analizar.

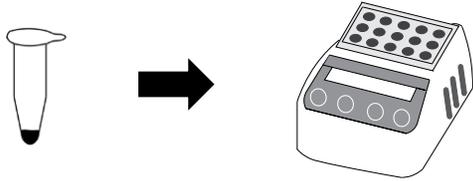
• **Control positivo (C+) del ensayo:** Tome un tubo con reactivo seco y agregue 20 μL de reactivo diluyente, 5 μL de control positivo y mezcle por pipeteo hasta obtener una consistencia homogénea. Al finalizar cierre el tubo y rotule con C+.

• **Control negativo (C-) del ensayo:** Tome un tubo con reactivo seco y agregue 20 μL de reactivo diluyente, 5 μL de control negativo y mezcle por pipeteo hasta obtener una consistencia homogénea. Al finalizar cierre el tubo y rotule con C-.



6

III. Coloque cada uno de los tubos generados (C+, C- y S) a 65 °C por 30 minutos en alguno de los siguientes equipos: termobloque, baño seco o incubador. Al finalizar saque los tubos del equipo.

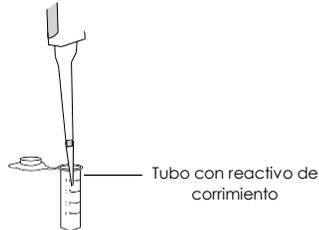


PASO CUATRO: VISUALIZACIÓN DEL RESULTADO

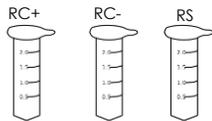
PRECAUCIÓN: Cada uno de los tubos generados del **paso tres** pueden ser utilizados inmediatamente, en caso contrario deben ser almacenados a -20 °C y luego permitir que alcance temperatura ambiente antes de utilizarlos.

A continuación, siga cada uno de los pasos que se describen, recuerde no modificar y/o alterar ninguno de los pasos o cantidades que se indican.

- I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el producto Bionet multi y asegúrese de contar con todo lo necesario.
- II. Recolecte 10 µL del tubo C+ y transféralos a un tubo con reactivo de corrimiento, mezcle vortex por 5 segundos, cierre perfectamente y rotule nuevamente con RC+.



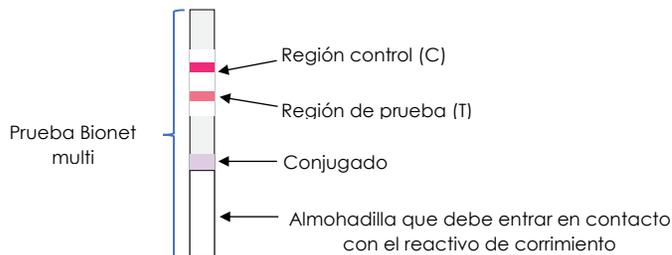
III. Repita este mismo procedimiento para cada uno de los tubos generados restantes según corresponde.



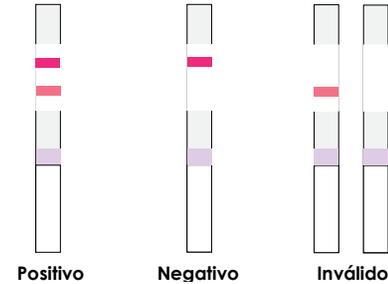
IV. Tome una prueba Bionet multi y rotúlela según el tubo con reactivo de corrimiento en el que la colocará (tubo elaborado en el paso anterior):

- Tira **S** para el tubo con reactivo de corrimiento que tiene la **muestra**.
- Tira **C+** para el tubo con reactivo de corrimiento que tiene el **control positivo**.
- Tira **C-** para el tubo con reactivo de corrimiento que tiene el **control negativo**.

Programa un temporizador por 3 minutos.



V. Una vez hayan pasado los 3 minutos, saque la prueba del tubo y colóquela sobre una superficie plana y limpia (limpie el excedente si es necesario), interprete los resultados.



Resultados

Control positivo (C+)	Resultado: Se visualiza una línea de color en la región de control (C) y otra línea de color en la región de prueba (T). Un resultado positivo indica que se siguió de manera correcta el procedimiento.
Control negativo (C-)	Resultado: Únicamente se visualiza una línea de color en la región de control (C). Un resultado negativo indica que se siguió de manera correcta el procedimiento.
Muestra	Positivo: Se visualiza una línea de color en la región de control (C) y otra línea de color en la región de prueba (T). Este resultado indica que se detectó ADN de <i>Salmonella spp.</i> Negativo: Se visualiza una línea de color en la región de control (C). No se observa ninguna línea de color en la región de prueba (T). Este resultado indica que se detectó ADN de <i>Salmonella spp.</i>
Inválido	No se visualiza la línea de color en la región control (C).

Contenido

Esta prueba proporciona los reactivos en las cantidades necesarias para procesar un total de 10 muestras con extracción, reacción y revelado. A continuación, se presenta el contenido por separado de los productos:

INCLUIDOS	REQUERIDOS PERO NO INCLUIDOS
<ul style="list-style-type: none"> • MagnetiDNA - Buffer de lisis - Perlas magnéticas - Buffer de lavado - Buffer de elución - Tubos de 2 mL • SALMONET-ADN - Reactivo seco - Reactivo diluyente - Control negativo (C-) - Control positivo (C+) - Agua libre de nucleasas • Bionet multi - Prueba en tira - Tubos con reactivo de corrimiento 	<ul style="list-style-type: none"> - Micropipetas - Puntas para micropipetas - Guantes de nitrilo - Vortex - Soporte magnético o imán de alta potencia - Tubos de 1.5-2 mL - Tubos de 200 µL - Contenedor de RPBI - Termobloque, baño seco o incubadora

NOTA: Algunos de los reactivos/equipos pueden ser adquiridos en conjunto o por separado, para ello visite www.amunet.com.mx

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

- Almacene cada componente según lo indicado su etiqueta impresa.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.

Control de calidad

Un control interno está incluido en cada prueba de Bionet multi. Una línea de color aparece en la región control (C), este es el control interno del procedimiento, su función es confirmar que hubo suficiente cantidad de muestra y el procedimiento fue correcto. Esta prueba incluye controles, por lo que, se recomienda emplearlos en cada análisis de muestra como buena práctica de laboratorio.

Limitaciones

- Los resultados deben ser interpretados por personal calificado.
- La prueba SALMONET-ADN es solo para uso profesional *in vitro*. Esta prueba cualitativa no puede determinar el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de ADN de *Salmonella spp.*
- Esta prueba ha sido evaluada para la detección de ADN de *Salmonella spp.* y no debe ser utilizada para otros patógenos.
- Como con todas las pruebas de tamizaje, los resultados deben considerarse con toda información clínica disponible para el médico o personal calificado.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos como las pruebas de cultivo, los resultados deben ser interpretados por un médico.
- La tonalidad que adquiera la membrana no interfiere en el resultado, mientras la línea en la región control se visualice, el resultado es válido.
- Las pruebas no están autorizadas para vigilancia epidemiológica.
- El desempeño de la prueba se ha evaluado bajo las condiciones y características mencionadas en este manual. Se recomienda seguir las instrucciones para asegurar la precisión de los resultados.

Características de presentación

Precisión Intra-ensayo

La repetibilidad se determinó empleando un lote de SALMONET-ADN empleando reactivo de corrimiento con diferentes concentraciones de un control positivo, se realizaron 20 réplicas por cada concentración preparada, las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad se determinó con tres lotes de SALMONET-ADN empleando reactivo de corrimiento con diferentes concentraciones de un control positivo, se realizaron 20 réplicas en dos días diferentes por cada concentración, las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Sustancias interferentes

Los siguientes compuestos han sido probados usando SALMONET-ADN con muestras positivas y negativas de la siguiente tabla sin observarse interferencia.

- Ácido ascórbico
- Ácido úrico
- Glucosa
- Ácido oxálico
- Bilirrubina
- Urea
- Cafeína
- Omeprazol
- Albúmina
- Aspirina

Existen sustancias que pueden interferir durante la detección debido a una disminución de la carga bacteriana en las muestras dando lugar a resultados falsos negativos como el uso de medios de transporte con antibióticos como: ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol, estreptomina, ciprofloxacino, gentamicina, detergentes, ácido cítrico, contaminantes ambientales entre otros.

Reactividad cruzada

SALMONET-ADN fue empleada con los microorganismos de la siguiente tabla, no se presentó reactividad cruzada positiva.

- *Acinetobacter baumannii*
- *Aeromonas hydrophila*
- *Arcobacter butzleri*
- *Bacillus cereus*
- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter jejuni*
- *Campylobacter lari*
- *Citrobacter freundii*
- *Cronobacter sakazakii*
- *Edwardsiella tarda*
- *Enterobacter aerogenes*
- *Enterobacter cloacae*
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Hafnia alvei*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Escherichia coli*
- *O26:H11*
- *O45:H2*
- *O55:H7*
- *O103:H2*
- *O111:NM*
- *O121:H19*
- *O145:H28*
- *O157:H7*
- *Lactobacillus brevis*
- *Listeria grayi*
- *Listeria innocua*
- *Listeria ivanovii*
- *Listeria monocytogenes*
- *Listeria seeligeri*
- *Listeria welshimeri*
- *Listonella anguillarum*
- *Morganella morganii*
- *Proteus Hauseri*
- *Proteus mirabilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Pseudomonas fluorescens*
- *Serratia marcescens*
- *Shigella Dysenteriae*
- *Shigella Flexneri*
- *Shigella Sonnei*
- *Streptococcus bovis*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Vibrio aestuarianus*
- *Vibrio cholerae*
- *Vibrio harveyi*
- *Vibrio mimicus*
- *Vibrio parahaemolyticus*
- *Vibrio vulnificus*
- *Yersinia enterocolitica*

Desempeño

Se empleó SALMONET-ADN para evaluar un total de 425 muestras procedentes de alimentos de consumo humano y para animales además de muestras de origen ambiental, estos fueron clasificados como positivos o negativos de acuerdo a una prueba de PCR en tiempo real (qPCR), a continuación se presentan los resultados de comparar ambos métodos:

MÉTODO	qPCR			Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
SALMONET-ADN	Positivo	154	2	156
	Negativo	1	268	269
	Total	155	270	425

Sensibilidad Relativa: 99.35% (95% IC: 98.04% - 99.79%)

Especificidad Relativa: 99.26% (95% IC: 97.89% - 99.74%)

Exactitud relativa: 99.29% (95% IC: 97.95% - 99.76%)

IC: Intervalo de confianza

Beneficios

- **Rapidez:** Mayor ahorro de tiempo con una alta reproducibilidad.
- **Simple:** Fácil operación con procesos cortos y escalable.
- **Eficiencia:** Una sola metodología que engloba el procesamiento, detección y visualización de los resultados.
- **Seguridad:** Ningún producto químico de este kit es tóxico.
- **Versatilidad:** El ADN purificado con este kit es funcional no solo para su propio ensayo (LAMP) sino también para una gran variedad de aplicaciones como: PCR convencional y variantes, RPA, NGS, secuenciación con bisulfito entre otros.

Consideraciones adicionales

- Asegúrese de utilizar la cantidad indicada de muestra para la prueba, ya que demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
- Es necesaria la purificación de ADN previo al análisis para obtener mejores resultados.
- No intercambie reactivos de diferentes lotes ni use reactivos de otras pruebas disponibles comercialmente. Los componentes de esta prueba se combinan con precisión para un rendimiento óptimo.
- Las micropipetas y consumibles deben ser nuevas. Se recomienda irradiar con luz UV por 15 minutos antes de su uso, las micropipetas previamente limpiadas con cloro y etanol asegúrese de no dejar residuos.
- Se recomienda el uso de equipo de protección al trabajar muestras.
- PRECAUCIÓN: Permita que los reactivos y las muestras se descongelen completamente antes de su uso. Mezcle el reactivo suavemente antes de usar teniendo la precaución de no generar espuma. Regrese a su temperatura de almacenamiento después de su uso.
- PRECAUCIÓN: No deje abierto el contenedor de las pruebas Bionet multi, solo ábrala hasta su uso, la presencia de humedad puede afectar el desempeño de la prueba.
- Evite interrupciones prolongadas de los pasos del ensayo. Asegure las mismas condiciones de trabajo para todos los tubos.
- Calibre las micropipetas con frecuencia para asegurar la precisión de la distribución de muestras/reactivos. Use puntas diferentes de micropipeta en cada muestra y reactivo para evitar contaminación cruzada.
- La prueba podría verse afectada por el polvo, reactivos químicos y/o sustancias como hipoclorito de sodio, ácidos, álcalis, etanol, etc. No realice el ensayo en presencia de estas sustancias y utilice puntas nuevas de preferencia con filtro.
- Todas las muestras de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosas. El cumplimiento estricto de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) puede garantizar la seguridad del personal.
- Todos los productos de desecho generados por esta prueba deben disponerse de acuerdo a la NOM-087 vigente sobre el manejo de Residuos Biológico infecciosos.

Dudas, preguntas y consejos

- **¿Puedo utilizar muestras de ADN purificado con otros kits? R:** No, el ensayo LAMP puede verse inhibido por determinadas sustancias presentes en algunos buffers de elución incluidos en dichos kits, solo si puede eluir el ADN en el paso final en agua grado biología molecular o o Tris-HCl 10 mM pH 8 es que será posible usar ese ADN independientemente del método utilizado.
- **¿Cuánto tiempo es viable si guardo a -20°C el ADN purificado con el producto MagnetiDNA? R:** Puede ser viable hasta dos años como máximo, si desea que sea viable por tiempo indefinido debe almacenarlo a -80°C. Evite realizar muchos ciclos de congelamiento y descongelamiento.
- **¿Por qué no debo llevarme las perlas magnéticas? R:** Las perlas magnéticas mantienen la unión de forma directa con el ADN que se desea extraer, si durante el proceso se llevan dichas perlas causará que el ADN obtenido sea muy poco y puede no ser funcional para el ensayo.
- **¿Cuándo puedo retirar el tubo de la gradilla magnética durante el proceso de extracción de ADN? R:** El imán de la gradilla magnética tiene la función de aglomerar todas las perlas magnéticas para hacer más sencilla la tarea de retirar el sobrenadante en cada uno de los pasos, por lo tanto, puede retirar el tubo una vez que haya retirado el sobrenadante indicado para agregar el siguiente reactivo.
- **¿Debo incluir controles cada vez que analizó una muestra? R:** Sí, los controles aseguran que el proceso llevado a cabo fue el correcto. Es por ello que puede esperar hasta obtener más muestras e ir extrayendo su ADN para su posterior uso en el ensayo LAMP.
- **¿Cómo puedo ser más eficiente al momento de realizar los ensayos? R:** Puede colocar los reactivos que comparten todos en vez de uno por uno como sucede con el

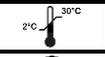
reactivo diluyente del **paso tres**, pero no mezcle ya que eso lo hará cuando al final coloque la muestra o control con su respectivo cambio de punta de micropipeta para evitar reactividad cruzada.

- **¿Qué pasa si dejo mis tubos por más tiempo o temperatura indicada en el termobloque, baño seco o incubador? R:** El ensayo LAMP es sensible, en caso de que esto ocurra, los resultados obtenidos pueden verse afectados y será necesario repetir el ensayo y descartar esos tubos.

Referencias

1. WHO. Salmonella (Non-Typhoidal) Fact Sheet. 2017.
2. Domesle KJ, Yang Q, Hammack TS, Ge B. Validation of a Salmonella loop-mediated isothermal amplification assay in animal food. Int J Food Microbiol. 2018; 264:63-76
3. Ge Beilei., y cols. 2019. Multi-Laboratory Validation of a Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Screening Salmonella in Animal Food. Frontiers in Microbiology 10.
4. NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.
5. Kelly J. Domesle, Qianru Yang, Thomas S. Hammack, Beilei Ge. (2018). Validation of a Salmonella loop-mediated isothermal amplification assay in animal food. International Journal of Food Microbiology, 264, 63-76.

Índice de símbolos

	Consultar el instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 2 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar