



ESQUEMA SIMPLIFICADO DE TODO EL PROCESO

Paso Uno:

Obtención de la muestra



Ver página 4

Paso Dos:

Extracción de ARN viral de la muestra



Ver página 4-6

Paso Tres:

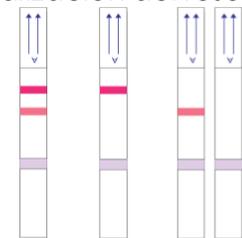
Detección de ARN de VIH



Ver página 6

Paso Cuatro:

Visualización del resultado



Ver página 7-8



VIHLAMP-NET

REF DLVIH01

Versión 3.2

Almacene según su etiqueta individual

***Almacene los controles incluidos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ***



Uso deseado

VIHLAMP-NET incluye lo necesario para extraer ARN del plasma (biopsia líquida) obtenido de muestras de sangre total usando el producto VirusFAST, detectar la presencia de ARN del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y la visualización de los resultados mediante las tiras de Bionet multi.

Introducción

El virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 y tipo 2 (VIH-1 y VIH-2) son retrovirus que poseen un genoma del tipo ARN, el cual codifica genes esenciales para su autorregulación en la expresión por células infectadas [1]. Se contagia mediante tres principales vías: sexual, sanguínea y perinatal, aunque solo el hecho de entrar en contacto con fluidos que contengan este patógeno ya supone un gran riesgo de contagio [2]. Una vez infectado, el VIH se dirige a los glóbulos blancos del cuerpo, lo que con el tiempo debilita el sistema inmunológico progresivamente y eventualmente facilitará la aparición de enfermedades provocadas por microorganismos oportunistas e inclusive algunos tipos de cáncer, durante este proceso se suelen presentar síntomas como: fiebre, dolor de cabeza, erupción cutánea, dolor de garganta, inflamación de los ganglios linfáticos, pérdida de peso y diarrea. Si no se dispone de tratamiento se concluirá con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), la etapa más avanzada y grave [3]. Hoy en día el VIH sigue siendo un importante problema de salud pública global, ya que ha cobrado más de 40 millones de vidas a nivel mundial, solo en México se registraron 4,662 decesos relacionados con el VIH en el año 2021 [4].

Hasta la fecha no existe una cura para esta enfermedad y los tratamientos se basan en la administración de antirretrovirales que impiden que el sistema inmunitario se debilite rápidamente. Debido al aumento de personas infectadas por el VIH y los avances recientes en las estrategias de su tratamiento, la evaluación de laboratorio y el seguimiento de los pacientes con infección por el VIH se han vuelto cada vez más importantes [5]. Existen diversos métodos para la detección de la infección por VIH como los cultivos o la amplificación de ácidos nucleicos, aunque estos toman un tiempo considerable y no siempre son accesibles para la toda la población. Por otro lado, están los métodos serológicos que detectan anticuerpos anti-VIH o el antígeno p24. Actualmente se dispone de métodos moleculares que emplean temperatura constante y han demostrado tener una alta sensibilidad y especificidad en la detección del VIH sin la necesidad de equipos especializados, siendo rápido y preciso. Esto facilita un mejor diagnóstico además de ayudar en la prevención e inicio de tratamiento si se requiere.

Principio

Extracción de ARN viral: El producto VirusFAST (REF BMPUR02) tiene la función de obtener ARN viral 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 [6]. 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 [7].

Detección del virus: VIHLAMP-NET (REF DLVIH01), es un ensayo basado en la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP por sus siglas en inglés) que permite detectar la presencia de ARN del VIH. La reacción de LAMP se realiza mezclando la muestra (ARN) en un tubo con reactivo seco, luego se incuba a 60 °C en condiciones isotérmicas, si la muestra de ARN contiene ARN del VIH 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 solución 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 ARN del VIH 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 detectado ARN del VIH. Por el contrario, si no había ARN del VIH 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

I. Recolecte aproximadamente **4 mL** (mililitros) de **sangre total** por venopunción siguiendo la metodología estándar empleando un tubo con anticoagulante (EDTA/heparina).

II. Posteriormente, centrifugue la muestra a **600 rpm** (revoluciones por minuto) durante cinco minutos hasta obtener plasma, recolecte **300 µL** de **plasma** y colóquelo en un tubo (nuevo) de 2 mL.

Nota: En caso de no obtener suficiente plasma, puede centrifugar dos minutos más como máximo la misma muestra y obtener el plasma faltante. Puede almacenar el resto del plasma respetando las indicaciones que se describen a continuación.



ANTES DE CONTINUAR

Es necesario que asegure la temperatura requerida en cada ensayo antes de emplear el termobloque, baño seco o incubadora, para ello consulte el **inciso m** de la sección 'Consideraciones adicionales' pág. 10.

PASO DOS: EXTRACCIÓN DE ARN VIRAL DE LA MUESTRA

PRECAUCIÓN: Previo a la realización de este procedimiento es fundamental que la muestra (plasma) **NO** haya sido almacenada por más de 5 días a 4 °C o más de 2 semanas a -20 °C. Si desea un tiempo de hasta 6 meses debe almacenar la muestra a -70 °C. Cualquier almacenamiento fuera de las especificaciones descritas anteriormente proporcionarán resultados imprecisos.

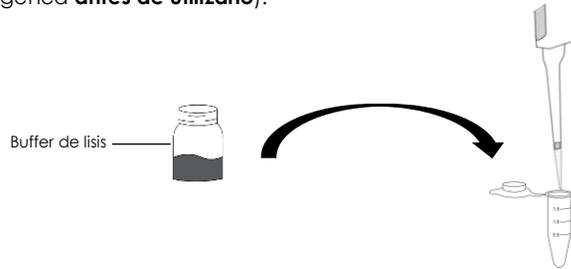
Nota: Solo almacene plasma y no sangre, así mismo evite que la muestra experimente varios ciclos de congelación y descongelación para evitar la degradación de los ácidos nucleicos.

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.

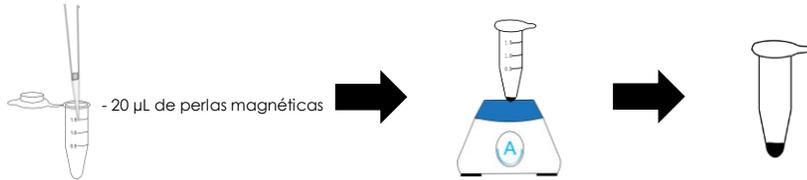
I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el producto VirusFAST y asegúrese de contar con todo lo necesario, para ello consulte la pág. 8 en la sección de **Contenido**.

Nota: Permita que el buffer de lisis y de lavado alcancen temperatura ambiente, recuerde mezclar suavemente cada reactivo previo a su uso a excepción de las perlas magnéticas ya que estas requieren de una agitación vigorosa.

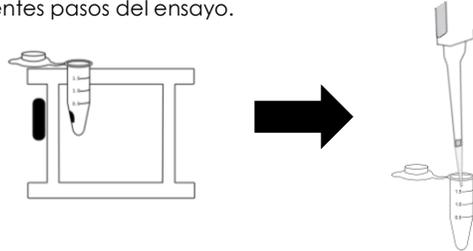
- II. Con ayuda de una micropipeta agregue **580 µL** (microlitros) de **buffer de lisis** al tubo de 2 mL con la muestra y mezcle por pipeteo hasta homogenizar.
 Nota: Agite suavemente el contenedor del buffer hasta obtener una apariencia homogénea **antes de utilizarlo**.



- III. Tome y agite el contenedor de **perlas magnéticas** de forma vertical por 10 segundos o hasta que su contenido sea homogéneo, tome **20 µL** de estas y agréguelas al tubo con la muestra, luego mezcle por vortex durante 1 minuto y déjelo reposar por 10 minutos a 37 °C, mezcle ocasionalmente para evitar que las perlas se sedimenten en el fondo.



- IV. Coloque el tubo en una gradilla magnética, déjelo en esa posición hasta que la mezcla se aclare (aproximadamente 1-2 minutos), posteriormente retire **completamente** el sobrenadante sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.
 Nota: Si no se remueve el buffer de lisis en su totalidad podría causar interferencias en los siguientes pasos del ensayo.



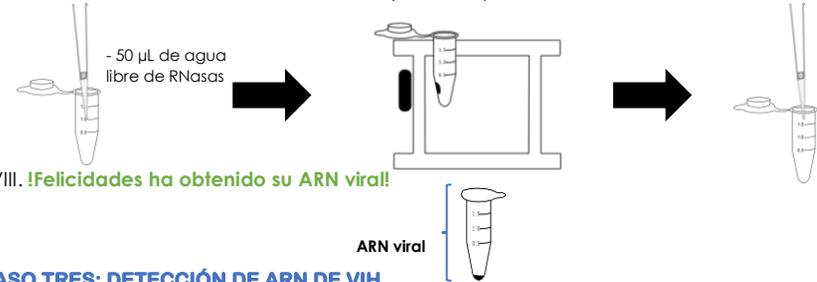
- V. Agregue **600 µL** de **buffer de lavado 1** y mezcle por vortex, al finalizar repita el paso anterior (IV).

- VI. Agregue **600 µL** de **buffer de lavado 2**, mezcle por vortex y repita el paso IV. Por último, realice este paso otra vez (VI), es decir se realizarán un total de dos lavados con el buffer de lavado 2.
 Nota: Asegúrese de retirar por completo el buffer y deje secar las perlas magnéticas por 5 minutos o más dependiendo las condiciones del ambiente, para ello puede dejar la tapa del tubo abierta como se muestra en la siguiente imagen:



PRECAUCIÓN: Si no se remueve por completo el buffer de lavado 2 puede inhibir las reacciones posteriores.

- VII. Agregue **50 µL** de **agua libre de RNAsas**, deje reposar el tubo por 10 minutos a 37 °C, luego coloque el tubo a la gradilla magnética y espere al menos 1 minuto para que se aglomeren las perlas magnéticas, proceda a recolectar toda el agua libre de RNAsas y transféralo a un nuevo tubo de 2 mL y rotúlelo para identificarlo.



VIII. **¡Felicidades ha obtenido su ARN viral!**

PASO TRES: DETECCIÓN DE ARN DE VIH

PRECAUCIÓN: El ARN viral purificado puede ser utilizado inmediatamente luego de su obtención, en caso contrario debe ser almacenado a -20 °C y luego permitir 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 VIHAMP-NET y asegúrese de contar con todo lo necesario, para ello consulte la pág. 8 en la sección de **Contenido**.

ANTES DE CONTINUAR

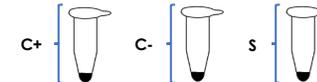
Coloque 50 µL de reactivo diluyente en el control positivo, homogenice por pipeteo y almacene a -20 °C ±5 °C hasta el momento de su uso.

- II. Prepare cada tubo por separado según lo descrito.

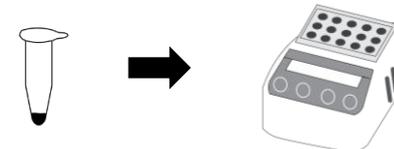
- **Control positivo (C+) del ensayo:** Tome un tubo con **reactivo seco** y agregue **20 µL** de **reactivo diluyente**, **5 µL** de **control positivo** y mezcle por pipeteo hasta obtener una consistencia homogénea. Al finalizar cierre el tubo y rotule con C+.
- **Control negativo (C-) del ensayo:**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

ANTES DE CONTINUAR: Visualice que cada uno de los tubos haya sido correctamente homogeneizado, es decir que no se vean zonas secas en el interior de los tubos



- III. Con ayuda del gotero con aceite mineral, coloque una gota de aceite en el interior de cada uno de los tubos, solo sobre su superficie sin mezclar. Coloque cada uno de los tubos generados (C+, C- y S) a **60 °C** por **30 minutos** en alguno de los siguientes equipos: termobloque, baño seco o incubador. Al finalizar saque los tubos del equipo. Antes de que finalice el tiempo, prepare un recipiente con hielo triturado para que cuando termine el tiempo, saque los tubos del equipo y los coloque en dicho recipiente.



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 utilizarlos.

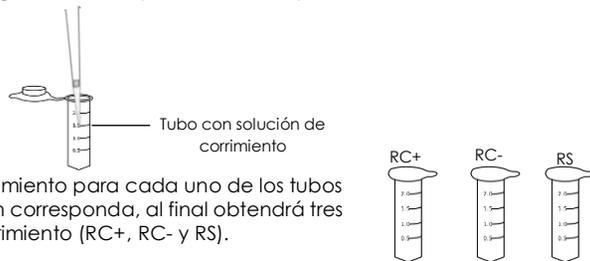
A continuación, siga cada uno de los pasos que se describen, recuerde no modificar y/o alterar ninguno de los pasos o cantidades que se indican.

I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el producto Bionet multi y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 8, sección **Contenido**.

II. Tome los tubos con solución de corrimiento y asegure que toda la solución quede en el fondo, realizando movimientos fuertes al tubo.



III. Recolecte **10 µL** del tubo **C+** después transfíralos a un tubo con solución de corrimiento y mezcle por vortex por 5 segundos, cierre perfectamente y rotule nuevamente con RC+.



IV. Repita este mismo procedimiento para cada uno de los tubos generados restantes según corresponda, al final obtendrá tres tubos con solución de corrimiento (RC+, RC- y RS).

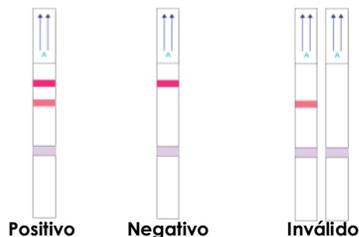
V. Tome una prueba Bionet multi y rotúlela según el tubo con solución de corrimiento en el que la colocará (tubo elaborado en el paso anterior):

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

Programa un temporizador por **3 minutos**.



VI. Una vez hayan pasado **3 minutos**, saque la prueba del tubo y colóquela sobre una superficie plana y limpia (limpie el excedente con una toalla desechable) e 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 ARN del VIH en la muestra. 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 no se detectó ARN del VIH en la muestra.
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

- **VirusFAST**
 - Agua libre de RNAsas
 - Buffer de lavado 1
 - Buffer de lavado 2
 - Buffer de lisis
 - Perlas magnéticas
 - Tubos de 1.5-2 mL
- **VIHLAMP-NET**
 - Control negativo (C-)
 - Control positivo (C+)
 - Reactivo diluyente
 - Reactivo seco
 - Gotero con aceite mineral

- **Bionet multi**
Reg. Sanitario 0037R2024 SSA
 - Prueba en tira
 - Tubos con solución de corrimiento

REQUERIDOS PERO NO INCLUIDOS

- Micropipetas
- Puntas para micropipetas
- Guantes de nitrilo
- Vortex
- Soporte magnético o imán de alta potencia
- Contenedor de RPBI
- Termobloque, baño seco o incubadora
- Material para toma de muestra

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 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 ARN del VIH.
- La prueba VIH-LAMP-NET solo proporciona un resultado cualitativo y no expresa el número de copias en la muestra positiva.
- La tonalidad que adquiere la membrana no interfiere en el resultado, mientras la línea en la región control (C) se visualice el resultado es válido.
- Los resultados negativos no descartan la presencia del VIH ya que la prueba solo está dirigida a una determinada región del genoma del VIH.
- El desempeño de la prueba se ha evaluado bajo las condiciones y características mencionadas en este instructivo. 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 VIH-LAMP-NET empleando reactivo de corrimiento con diferentes concentraciones de un control positivo al genoma del VIH, 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 VIH-LAMP-NET empleando reactivo de corrimiento como con diferentes concentraciones de un control positivo al genoma del VIH, 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 VIH-LAMP-NET con muestras positivas y negativas al genoma del VIH sin observarse interferencia.

- Acetaminofén (20 mg/dL)
- Cafeína (20 mg/dL)
- Hemoglobina (1000 mg/dL)
- Bilirubina (1000 mg/dL)
- Ácido acetilsalicílico (20 mg/dL)
- Albúmina 10,500 (10,500 mg/dL)
- Colesterol (800 mg/dL)
- Ácido oxálico (600 mg/dL)
- Creatina (200 mg/dL)
- Triglicéridos (1,600 mg/dL)
- Ácido gentísico (20 mg/dL)
- Urea (103 mg/dL)

Desempeño

Se utilizó la prueba VIH-LAMP-NET para procesar un total de 430 muestras de las cuales solo 208 provenían de personas con VIH y el resto (222) pertenecían a individuos sanos. Los resultados obtenidos por la prueba VIH-LAMP-NET fueron comparados con una prueba comercial líder de WB (Western Blot).

MÉTODO	Western Blot			
	Resultados	Positivo	Negativo	Total
VPH-NET	Positivo	203	8	211
	Negativo	5	214	219
	Total	208	222	430

Sensibilidad Relativa: 97.60% (95% IC: 95.67% - 98.68%)
Especificidad Relativa: 96.40% (95% IC: 94.18% - 97.79%)
Exactitud relativa: 96.98% (95% IC: 94.90% - 98.22%)

*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 ARN viral 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 ARN 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 estériles. 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.
- Coloque un tubo de 1.5-2 mL con 1 mL de agua destilada en el termobloque, baño seco o incubadora con la temperatura deseada a usar, espere 10 minutos y coloque un termómetro en el interior del tubo, si el termómetro indica la temperatura deseada a utilizar proceda a emplearlo para su ensayo. En caso contrario ajuste, espere y vuelva a medir hasta alcanzar la temperatura deseada.

Dudas, preguntas y consejos

- **¿Puedo utilizar muestras de ARN viral 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 ARN viral en el paso final en agua grado biología molecular o o Tris-HCl 10 mM pH 8 es que será posible usar ese ARN viral independientemente del método utilizado.
- **¿Cuánto tiempo es viable si guardo a -20°C el ARN viral purificado con el producto VirusFAST? 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 ARN viral que se desea extraer, si durante el proceso se llevan dichas perlas causará que el ARN viral 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 ARN viral? 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 ARN viral 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. Santana, Alfredo, Domínguez, Casimira, Lemes, Angelines, Molero, Teresa, & Salido, Eduardo. (2003). Biología celular y molecular del virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Revista de Diagnóstico Biológico, 52(1), 07-18.
2. Ministerio de sanidad, Consumo y bienestar social- Enfermedades Transmisibles -SIDA.
3. Organización Mundial de la Salud (2023). VIH y sida.
4. INEGI- Noviembre del 2022. *Estadísticas a propósito del día mundial de la lucha contra el VIH/SIDA* [Comunicado de prensa]. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_VIH_Nal22.pdf
5. Yilmaz G. (2001). Diagnosis of HIV infection and laboratory monitoring of its therapy. Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 21(3), 187–196. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(01\)00165-2](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(01)00165-2).
6. Sambrook J., E. F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, EE.UU.
7. Dundass N., N. K. Leos, M. Mitui, P. Revell y B. B. Rogers. 2008. Comparison of automated nucleic acid extraction methods with manual extraction. Journal of Molecular Diagnostics 10: 311-316.

Índice de símbolos

	Consultar el instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar de 2 a 8 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar

