



ESQUEMA SIMPLIFICADO DE TODO EL PROCESO

PASO UNO:

Obtención de la muestra



Ver página 4

PASO DOS:

Purificación de ADNc de la muestra



Ver página 4-6

PASO TRES:

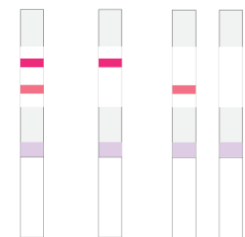
Detección del gen SRY



Ver página 6

PASO CUATRO:

Visualización del resultado



Ver página 7-8



FETALAMP

REF DLSFE01

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

FETALAMP incluye lo necesario para extraer ADN circulante (ADNc) a partir de muestras de biopsia líquida (plasma o suero) usando el kit de purificación MagnetiDNA 'ADN circulante', detectar la presencia del gen SRY y su posterior visualización de los resultados mediante las tiras de Bionet multi.

Introducción

Los cromosomas son unas estructuras que contienen toda la información genética del individuo, en el caso del ser humano son un total de 23 pares, aunque solo un par (XX o XY) será el responsable de definir el sexo durante el desarrollo de su vida intrauterina [1]. El sexo se define al momento de la fecundación pues el espermatozoide contiene el cromosoma que definirá el sexo siendo Y para masculino y X para femenino, ya que el ovulo solo contiene el cromosoma X. El gen SRY (región determinante del sexo del cromosoma Y) está presente únicamente en el cromosoma Y, este tiene la función de activar otro gen conocido como Sox9 el cual es necesario para iniciar y dirigir una serie de expresiones génicas para la diferenciación del aparato reproductor, en otras palabras, se formará un pene si el gen SRY está presente y una vagina cuando está ausente [2], todo este proceso inicia alrededor de los días 41 y 44 post-ovulación [3]. Debido a su esencial importancia es que este gen ha sido utilizado para determinar el sexo del bebé en mujeres embarazadas demostrando una alta fiabilidad desde las semanas 8-12, esto a unido a que es posible encontrar ADN fetal producto de la apoptosis durante el desarrollo embrionario llegando a encontrarlo en la sangre de la madre como ADN circulante (biopsia líquida) hasta en un 10% del total, lo que convierte a este método en uno de los menos invasivos tanto para la madre como para el bebé [4,5,6]. El ADN circulante fetal es posible detectarlo por técnicas de biología molecular como la secuenciación, la PCR en tiempo real o PCR con fundamento isotérmico con una alta sensibilidad y especificidad [6].

Principio

Purificación de ADNc: El kit de purificación MagnetiDNA 'ADN circulante' tiene la función de obtener ADN circulante (ADNc) 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 [7]. 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 facilitar 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 [8].

Detección del gen SRY: El FETALAMP (REF DLSFE01), es un ensayo basado en la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP por sus siglas en inglés) que permite detectar la presencia del gen SRY. La reacción de LAMP se realiza mezclando la muestra (ADNc) en un tubo con reactivo seco, luego se incuba a 65 °C en condiciones isotérmicas, si la muestra de ADNc contiene el gen SRY 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 concluida la detección, se utiliza el producto Bionet multi. 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 contiene el gen SRY 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. Por el contrario, si no se encuentra el gen SRY o está por debajo del límite de detección 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.

REQUISITOS PREVIO A INICIAR

Lea atentamente la siguiente información para obtener resultados óptimos al usar FETALAMP:

- Priorice que la manipulación del producto FETALAMP y ejecución sea realizado por *personal femenino* en todo momento, esto ayudará a reducir la posibilidad de contaminación cruzada.
- Realice la purificación de cada muestra por separado, nunca todas a la vez.
- Limpie todos los materiales (micropipetas, puntas, superficie, gradillas, etc.) con alcohol/cloro que serán utilizados para el ensayo evitando dejar residuos.
- Emplee jabón neutro para limpiar cualquier residuo visible en gradillas o superficies.
- Es altamente recomendable que irradie luz ultravioleta a los materiales limpios.
- Cuando requiera utilizar un equipo de calentamiento, verifique la temperatura requerida para el ensayo como se indica en el inciso K de la sección 'consideraciones adicionales' pág. 10.
- Si abre algún reactivo, ciérrelo por completo inmediatamente después de utilizarlo.
- Dedique un grupo de micropipetas para emplearlas exclusivamente en los procesos de purificación. En caso contrario, limpie/esterilice después de cada uso.
- Evite tocar objetos ajenos al ensayo con los guantes puestos.
- Considere la información de la sección 'consideraciones adicionales' pág. 10.

INSTRUCCIONES DE USO

Paso uno: Obtención de muestra

Para este ensayo se requieren **800 µL** (microlitros) de **plasma o suero**, por lo tanto recolecte por venopunción sangre periférica siguiendo la metodología estandar, puede emplear tubos con anticoagulante (EDTA/heparina) o tubos especiales para obtener ADNc, posteriormente separe por centrifugación a 3500 rpm (revoluciones por minuto) durante 10 minutos y coloque el sobrenadante en un tubo nuevo de 1.5-2 mL (mililitros). Nota: Recolecte al menos 2 mL de sangre para asegurar la obtención de muestra suficiente.

Paso dos: Extracción de ADNc de la muestra

PRECAUCIÓN: Si el ensayo no será realizado inmediatamente después de obtener la muestra (sangre), obtenga el plasma/suero y almacénelo a refrigeración (2-8 °C). No debe exceder las 24 horas para su utilización, de lo contrario los resultados obtenidos

pueden no ser certeros. Almacene en congelador (-20 °C) para su uso a largo plazo y evite varios ciclos de congelación-descongelación.

Nota: Si la muestra (plasma/suero) ha sido congelado durante su almacenamiento será necesario volver a centrifugar la muestra cómo se indicó en el **PASO UNO**.

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.

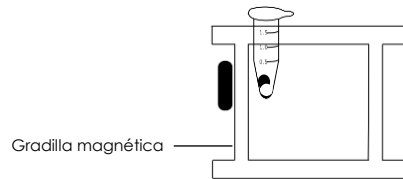
I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el kit de purificación MagnetiDNA 'ADN circulante' y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 9, sección **Contenido**.

II. Tome un tubo eppendorf de 2 mL, coloque **800 µL** de **muestra** (plasma/suero) y **800 µL** de **buffer de lisis**, homogenice por pipeteo o vortex. Deje a temperatura ambiente por 5 minutos en un mezclador de tubos o mezcle por inversión ocasionalmente.

III. Agregue **80 µL** de **perlas magnéticas** al tubo, cierre perfectamente y mezcle por vortex durante 1 minuto. Deje a temperatura ambiente por 5 minutos en un mezclador de tubos o mezcle por inversión ocasionalmente.

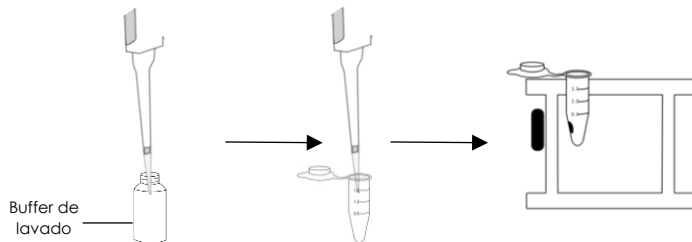
IV. Coloque el tubo en una gradilla magnética, permita que el contenido se aclare (aprox. 5 minutos) luego retire completamente el sobrenadante sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.

Tip: Si visualiza perlas magnéticas en el interior de la tapa, realice inversión un par de veces para arrastrar e incorporar dichas perlas a la solución.



V. Retire el tubo de la gradilla y agregue **600 µL** de **buffer de lisis**, mezcle por vortex durante 30 segundos, regrese el tubo a la gradilla, permita que se aclare y retire el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas. Considere emplear el tip del paso anterior si es necesario.

VI. Retire el tubo de la gradilla y agregue **600 µL** de **buffer de lavado**, mezcle por vortex durante 30 segundos, regrese el tubo a la gradilla, permita que se aclare y retire el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas.



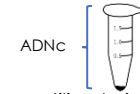
VII. Repita el **paso VI**, pero asegúrese de retirar completamente todo el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas, deje el tubo abierto a temperatura ambiente para

que se evaporen los residuos que no pudieron ser retirados. Finalmente revise que no haya microgotas visibles y cierre perfectamente.

IV. Agregue 50 µL de buffer de elución, resuspenda por pipeteo y luego mezcle por vortex por 1 minuto. Incube el tubo a 60-65 °C por 10 minutos mezclando por vortex ocasionalmente para evitar que se sedimenten las perlas magnéticas.

V. Coloque el tubo en la gradilla magnética y permita que se aclare. Recolecte el sobrenadante (ADNc) y transfíralo a un tubo nuevo de un tamaño de su preferencia, rotúlelo y almacénelo a -20 °C para su posterior uso.

!Felicidades ha obtenido su ADNc!



Paso tres: Detección del gen SRY

PRECAUCIÓN: El ADNc 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 de 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.

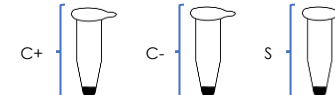
I. Identifique cada uno de los materiales provistos por el producto FETALAMP y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 9, sección **Contenido**.

II. Prepare cada tubo por separado según lo descrito.

ANTES DE CONTINUAR

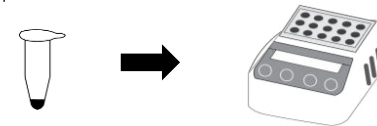
Coloque 50 µL de reactivo diluyente en el control positivo, homogenice por pipeteo y almacene a -20 °C ±5 °C hasta el momento de su uso.

- **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 (ADNc) 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 mineral en cada uno de los tubos, solo sobre su superficie sin mezclar. Posteriormente, 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.



Nota: Es importante que la punta del gotero no toque la superficie de ningún tubo al momento de colocar la gota de aceite mineral.

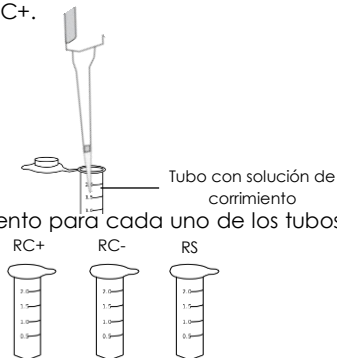
Paso cuatro: Visualización del resultado

PRECAUCIÓN: Cada uno de los tubos generados del **PASO TRES** pueden ser utilizados inmediatamente, en caso contrario deben ser almacenados a 2-8 °C de forma temporal. Recuerde 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, consulte la pág. 9, sección **Contenido**.

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

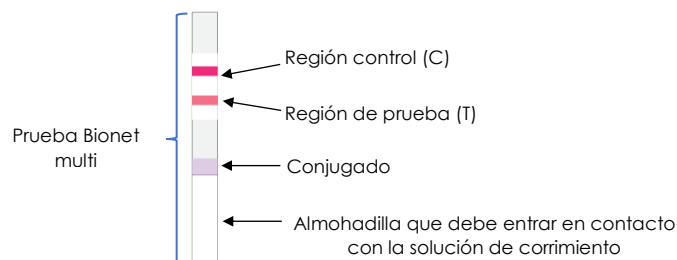


III. Repita este mismo procedimiento para cada uno de los tubos generados restantes según corresponde.

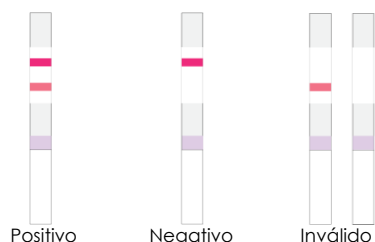
IV. Tome una prueba Bionet multi y rotúlela según el tubo con solución de corrimiento en el que la colocará (tubo elaborado en el paso anterior):

- 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**.

Programe 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 con una toalla desechable el excedente), 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 el gen SRY. 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 el gen SRY.
Inválido	No se visualiza la línea de color en la región control (C).

Limitaciones

- Existe probabilidad de obtener un resultado falso positivo si el ensayo es ejecutado por personal masculino.
- Los resultados deben ser interpretados por personal calificado.
- La prueba FETALAMP es solo para uso profesional *in vitro*. Esta prueba cualitativa no puede determinar el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración del gen SRY.
- La prueba FETALAMP solo proporciona un resultado positivo o negativo a la presencia del gen SRY, por lo que un resultado positivo no necesariamente indica el sexo del bebé más actual, el desempeño de la prueba dependerá del historial de embarazos de la paciente.
- Esta prueba únicamente detecta el gen SRY y solo debe ser usada para dicho fin.
- La tonalidad que adquiera la membrana no interfiere en el resultado, mientras la línea de color en la región control (C) se visualice el resultado es válido.
- Los resultados negativos no descartan un positivo ya que la mayor sensibilidad esperada es a partir de las 12 semanas de embarazo.
- Se han reportado casos en los que el gen SRY puede estar presente de forma indefinida por un embarazo anterior, por lo que, existe una probabilidad de detectar el gen SRY de un bebé con sexo masculino anterior y no del actual [9].
- 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.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

- Almacene cada componente según lo indicado en 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.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

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

Características de presentación

Precisión intra-ensayo

La repetibilidad se determinó empleando un lote de FETALAMP usando solución de corrimiento como muestra 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.

Precisión inter-Ensayo

La reproducibilidad se determinó con tres lotes de FETALAMP empleando solución de corrimiento como muestra 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 FETALAMP con muestras positivas y negativas, no se observó interferencia.

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

Contenido

Esta prueba proporciona los reactivos en las cantidades necesarias para procesar un total de 10 muestras con purificación, detección y visualización de resultados.

En la siguiente tabla se presentan el contenido por separado de los productos.

- | |
|-------------------------------------|
| INCLUIDOS |
| • Kit de extracción de ADNc |
| - Buffer de lisis |
| - Perlas magnéticas |
| - Buffer de lavado |
| - Buffer de elución |
| - Tubos de 1.5-2 mL |
| • FETALAMP |
| - Reactivo seco |
| - Reactivo diluyente |
| - Control negativo (C-) |
| - Control positivo (C+) |
| - Gotero con aceite mineral |
| • Bionet multi |
| - Prueba en tira |
| - Tubos con solución de corrimiento |

- | |
|---|
| REQUERIDOS PERO NO INCLUIDOS |
| - Micropipetas |
| - Agitador |
| - Puntas para micropipetas |
| - Guantes de nitrilo |
| - Vortex |
| - Soporte magnético o imán de alta potencia |
| - Contenedor de RPBI |
| - Termobloque, baño seco o incubadora |
| - Equipo agitador |
| - 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

Beneficios

- **Rapidez:** Mayor ahorro de tiempo con una alta reproducibilidad.
- **Simple:** Fácil operación con procesos cortos y escalable.
- **Eficiencia:** Metodología con purificación, detección y visualización de resultados.
- **Seguridad:** Ningún producto químico de este kit es tóxico.
- **Versatilidad:** El ADNc purificado con este kit también es funcional para: 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.
- 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 luego de usar.
- 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.
- 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.
- 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.

Preguntas más frecuentes

- ¿Puedo utilizar muestras de ADNc 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 ADNc en el paso final en agua grado biología molecular o Tris-HCl 10 mM pH 8 es que será posible usar ese ADNc independientemente del método utilizado.
- ¿Cuánto tiempo es viable si guardo a -20 °C el ADNc purificado con el producto kit de extracción de ADNc? 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 ADNc que se desea extraer, si durante el proceso se llevan dichas perlas causará que el ADNc 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 ADNc? 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 analizo 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 ADNc 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 al final cuando 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. Cruz-Coke R. Fundamentos genéticos del comienzo de la vida humana. Chile.
2. Díaz-Hernández, V., & Merchant-Larios, H. (2017). Consideraciones generales en el establecimiento del sexo en mamíferos.
3. Hanley, N. A., Hagan, D. M., Clement-Jones, M., Ball, S. G., Strachan, T., Salas-Cortes, L., ... & Wilson, D. I. (2000). SRY, SOX9, and DAX1 expression patterns during human sex determination and gonadal development. *Mechanisms of development*, 91(1-2), 403-407.
4. Monfaredan, A., Amiri, S., Tabatabaei, S. (2017). Sex determination using free fetal DNA in early pregnancy: With the approach to sex linked recessive disorders.
5. Carvajal C, Jorge, & Vera P-G, Claudio. (2010). Confiabilidad de la determinación del sexo fetal usando plasma materna. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 75(1), 77-79.
6. Costa JM, Benachi A, Gautier E, Jouvannic JM, Ernault P, Dumez Y. First-trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR. *Prenat Diagn*. 2001 Dec;21(12):1070-4. doi: 10.1002/pd.219. Erratum in: *Prenat Diagn*. 2002 Dec;22(13):1242. PMID: 11746166.
7. 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.
8. 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.
9. Invernizzi, P., Biondi, M. L., Battezzati, P. M., Perego, F., Selmi, C. C., Podda, M. & Simoni, G. (2002). Presence of fetal DNA in maternal plasma decades after pregnancy. *Hum Genet*.

Índice de símbolos

	Consultar el instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 2 – 8 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar