



Sólo para uso profesional

Kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real

MANUAL DEL USUARIO



"DNA-Technology Research &
Production", LLC

Rusia, 142281, Región de Moscú,

Protvino, calle
Zheleznodorozhnaya 20,

Teléfono/fax: +7(495)980.45.55

+7(4967)31.06.70,

Correo electrónico: [protvino@dna-
technology.ru](mailto:protvino@dna-technology.ru), [mail@dna-
technology.ru](mailto:mail@dna-
technology.ru)

<http://www.dna-technology.ru>



R1-H803-S3/9INT, R1-H803-23/9INT



726.2021.07.01

TABLA DE CONTENIDOS

1. USO PREVISTO	3
2. MÉTODO	3
3. CONTENIDO	4
4. REACTIVOS Y EQUIPOS NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS	4
5. REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN	5
6. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	6
7. MUESTRAS	7
8. PROCEDIMIENTO	8
9. CONTROLES	9
10. ANÁLISIS DE DATOS	9
11. ESPECIFICACIONES	10
12. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS	11
13. CONTROL DE CALIDAD	11
14. GUIA SÍMBOLOS	12
Anexo A	13

1. USO PREVISTO

El Kit de Detección de Género **Fetal por PCR en tiempo real** está destinado a aplicaciones de investigación y diagnóstico. El **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** es un producto basado en la detección *in vitro* de ácido nucleico. El Kit de Detección de Género **Fetal REAL-TIME PCR** está diseñado para detectar ADN fetal libre de células, derivado del fragmento multicopia del cromosoma Y, en la sangre de mujeres embarazadas con la ayuda del método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Las muestras son de sangre periférica.

La aplicación del kit no depende de aspectos poblacionales y demográficos. No hay contraindicaciones para el uso del **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real**.

El **kit de detección de sexo fetal por PCR en tiempo real** puede utilizarse en clínicas y en laboratorios de diagnóstico de instituciones médicas y en la práctica de la investigación.

Usuarios potenciales: personal cualificado en métodos de diagnóstico molecular y en el trabajo con microorganismos patógenos y en trabajo en laboratorios clínicos y de diagnóstico.

Es necesario aplicar el kit sólo como se indica en este manual de usuario.

2. MÉTODO

Método: reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con detección de resultados en tiempo real; análisis cualitativo multiplex.

El método de PCR implementado se basa en la amplificación de una secuencia de ADN objetivo. El proceso de amplificación incluye la repetición de ciclos de desnaturalización térmica del ADN, alineación de los cebadores con secuencias complementarias y su extensión por la Taq-polimerasa.

Para aumentar la sensibilidad y la especificidad de la reacción de amplificación, se usa un arranque en caliente. El arranque en caliente se consigue mediante la preparación de la mezcla de reacción que consiste en dos capas separadas por una capa de parafina. La reacción en cadena de la polimerasa se inicia sólo cuando se funde la parafina. Esto excluye la alineación no específica de los cebadores con el ADN diana en el calentamiento inicial del tubo.

El **kit de detección de género fetal en tiempo real** se basa en la modificación fluorescente del método de PCR. La mezcla de PCR contiene dos sondas específicas de la diana que llevan fluoróforos reporteros (Fam y Hex) y moléculas quencher. Una vez hibridadas con una secuencia diana, las sondas se activan. Como resultado de la activación, la fluorescencia aumenta proporcionalmente a la amplificación de la secuencia diana. La intensidad de la fluorescencia se mide en cada ciclo de reacción con un termociclador de PCR en tiempo real y se analiza con el software suministrado.

El **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** incluye una mezcla de PCR específica para determinar la presencia de un fragmento multicopia del cromosoma Y y del ADN genómico humano (control de admisión de muestras (SIC)). El SIC permite excluir el error preanalítico. Si la cantidad de material recogido es insuficiente para el análisis, es necesario repetir el procedimiento de toma de muestras. El cálculo de los resultados se basa en la evaluación de los valores Cp de los ciclos indicadores de las dianas estudiadas.

La sonda de ADN utilizada para la detección del fragmento multicopia de la amplificación del producto del cromosoma Y incluye el fluoróforo Fam. La sonda de ADN utilizada para la detección de SIC incluye el fluoróforo Hex. La aplicación de dos fluoróforos permite registrar los resultados de diferentes reacciones de amplificación que tienen lugar simultáneamente en un tubo. La Tabla 1 muestra los canales de detección de los productos de amplificación.

Tabla 1. Canales de detección de los productos de amplificación

Fam/Verde	Hex/Amarillo	Rox/Naranja	Cy5/Rojo	Cy5.5/Crimson
Fragmento del cromosoma Y	SIC	-	-	-

El análisis automático está disponible en instrumentos fabricados por "DNA-Technology": Termocicladores DTLite o DTprime REAL-TIME para el **kit de detección PCR REAL-TIME de *Toxoplasma gondii*** (véase el catálogo en www.dna-technology.ru/en para ver las opciones de suministro disponibles).

La versión actual del software está disponible para su descarga en <http://www.dna-technology.ru/eng/support/>

3. CONTENIDO

El contenido del **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** se representa en la Tabla 2.

Tabla 2. Contenido del kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real, paquete S (estándar) para R1-H803-S 3/9EU y R1-H803-23/9EU

Reactivo	Descripción	Volumen total	Cantidad
Mezcla de PCR sellada en parafina	Líquido transparente incoloro bajo fracción blanca cerosa	1920 µL (20 µL por tubo)	96 tubos o 12 tiras de 8 tubos
Taq-polimerasa	Líquido incoloro y transparente	1000 µL (500 µL por tubo)	2 tubos
Aceite mineral	Líquido aceitoso viscoso e incoloro	2 ml (1,0 ml por tubo)	2 tubos
Control positivo	Líquido incoloro y transparente	75 µL	1 tubo

El kit está pensado para un solo uso y diseñado para 48 pruebas para el paquete S.

4. REACTIVOS Y EQUIPOS NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

4.1. Recogida de muestras

Se necesita un equipo de extracción de sangre. Por ejemplo, tubos de tipo Vacuette, que contienen sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o anticoagulante de citrato de sodio.

4.2. Extracción de ADN y PCR

Zona de preparación de muestras y controles previa a la toma de muestras

- Cabina de seguridad biológica clase II;
- Mezclador vortex;
- Nevera;
- Kit de extracción de ácido nucleico (se recomienda el kit de extracción de ADN PREP-NA-FET fabricado por "DNA-Technology");
- Centrífuga de alta velocidad (RCF 16000 x g);
- Baño seco termostático (rango de temperatura 50-98°C);
- Gradilla para tubos de PCR de 1,5 mL;
- Tubos de 1,5 mL;
- Solución salina fisiológica al 0,9% de NaCl (estéril);
- Contenedor para las puntas de pipeta usadas;
- Pipetas monocal (rango de volumen 20-200 µl, 200-1000 µl);
- Puntas de pipeta con filtro libres de RNasa y DNasa (rango de volumen 200 µl, 1000 µl);
- Guantes quirúrgicos sin polvo;
- Solución desinfectante.

Zona de preamplificación y preparación de reactivos

- Cabina de PCR UV;
- Rotor vortex para tiras (utilizando el kit de detección empaquetado en tiras REF R1-H803-S3/9EU);
- Nevera;
- Gradilla para tubos de PCR de 0,2 mL;
- Pipetas monocal (rango de volumen 0,5-10 µl, 5-40 µl, 40-200 µl, 100-1000 µl);
- Puntas de pipeta con filtro libres de RNasa y DNasa (rango de volumen 20 µl, 50 µl, 200 µl, 1000 µl);
- Guantes quirúrgicos sin polvo;
- Solución desinfectante;
- Contenedor para las puntas de pipeta usadas;

Post-Amplificación - Área de detección de la amplificación

- Termociclador de PCR en tiempo real.

Software:

La versión más reciente del software de los termocicladores DT puede descargarse de <http://www.dna-technology.ru/eng/support/>;

Sistema operativo compatible: todas las versiones de Windows a partir de la 7.

5. REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Fecha de caducidad: 12 meses a partir de la fecha de producción.

Todos los componentes del **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** deben almacenarse a temperaturas de 2°C a 8°C. El PCR-mix debe almacenarse a temperaturas de 2°C a 8°C protegida de la luz. La temperatura y la luz excesivas pueden ser perjudiciales para el rendimiento del producto.

El kit puede ser transportado a temperaturas de 2°C a 8°C.

Duración del kit una vez abierto:

- Los componentes del kit deben almacenarse a temperaturas de entre 2°C y 8 °C;
- El PCR-mix para la amplificación debe almacenarse a temperaturas de entre 2°C y 8 °C, protegida de la luz.

No se debe utilizar un **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** caducado.

Se recomienda seguir las instrucciones dadas para obtener resultados precisos y fiables.

La conformidad del **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** con los requisitos técnicos prescritos está sujeta al cumplimiento de las condiciones de almacenamiento, transporte y manipulación recomendadas por el fabricante.

Si se enfrenta a cualquier problema no descrito, póngase en contacto con el departamento de atención al cliente en relación con los problemas de calidad del kit:

Soporte técnico Correo electrónico: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru.

6. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Manipule y elimine todas las muestras biológicas, los reactivos y los materiales utilizados para llevar a cabo el ensayo como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Las muestras deben emplearse exclusivamente para un determinado tipo de análisis. Las muestras deben manipularse bajo una cabina de flujo laminar. Los tubos que contengan diferentes muestras no deben abrirse nunca al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser empleadas exclusivamente para este fin específico. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o utilizarse con puntas de filtro. Las puntas empleadas deben ser estériles, libres de DNAsas y RNAsas, libres de ADN y ARN. Los reactivos deben manipularse en una cabina de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben prepararse de forma que puedan utilizarse en una sola sesión. Evitar el contacto directo con los reactivos de las muestras biológicas y los materiales utilizados para realizar el ensayo. Utilizar guantes quirúrgicos sin polvo. Evitar producir derrames o aerosoles. Todo el material que se exponga a las muestras biológicas debe ser tratado durante al menos 30 minutos con una solución desinfectante o ser autoclavado durante 1 hora a 121°C antes de su eliminación.

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción de ácidos nucleicos, la transcripción inversa, la amplificación y la detección, requieren personal cualificado para evitar el riesgo de resultados erróneos, especialmente debido a la degradación de los ácidos nucleicos contenidos en las muestras o a la contaminación de las mismas por los productos de amplificación.

Todos los componentes de oligonucleótidos son producidos por tecnología de síntesis artificial según el protocolo de control de calidad interno y no contienen sangre ni productos del procesamiento de la sangre.

El control positivo se produce mediante la tecnología de síntesis artificial de ADN. El control positivo no incluye partes de agentes infecciosos.

Todas las soluciones líquidas están diseñadas para un solo uso y no pueden utilizarse más de una vez en reacciones de amplificación. Los tubos de plástico no contienen ftalatos. No inhalar los gases/humos/vapores/spray producidos por los componentes del kit. No comer/beber los componentes del kit. Evitar el contacto con los ojos. Utilizar únicamente los reactivos suministrados en el kit y los recomendados por el fabricante. No mezclar reactivos de diferentes lotes. No utilice reactivos de kits de otros fabricantes. Todo el material de laboratorio, incluidas las pipetas, las gradillas para tubos de ensayo, el material de vidrio de laboratorio, las batas de laboratorio, etc., así como los reactivos, deben estar estrictamente inmóviles. No está permitido trasladarlos de una sala a otra. Equipe zonas separadas para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No introducir nunca un producto de amplificación en la zona destinada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación. Usar batas, guantes y herramientas de laboratorio, que se emplean exclusivamente para la extracción/preparación de la reacción de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No trasladar nunca las batas, guantes y herramientas de laboratorio de la zona destinada a la amplificación/detección de los productos de amplificación a la zona destinada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación. Los productos de amplificación deben manipularse de forma que se reduzca al máximo la dispersión en el entorno, para evitar la posibilidad de contaminación. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben emplearse exclusivamente para este fin específico. Retire los residuos de la PCR únicamente de forma cerrada. No abra los tubos después de la amplificación. Los materiales de desecho se eliminan de acuerdo con las normas locales y nacionales. Todas las superficies del laboratorio (mesas de trabajo, estantes para tubos de ensayo, equipos, etc.) deben tratarse diariamente con una solución desinfectante.

Acciones de emergencia

Inhalación: La inhalación de la mezcla maestra contenida en este kit es poco probable, sin embargo, se debe tener cuidado.

Contacto con los ojos: Si algún componente de este kit entra en contacto con los ojos, lávelos suavemente con agua corriente potable durante 15 minutos o más, asegurándose de mantener los párpados abiertos. Si se produce dolor o irritación, obtenga atención médica.

Contacto con la piel: Si algún componente de este kit entra en contacto con la piel y causa molestias, quítese la ropa contaminada. Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón. Si se produce dolor o irritación, obtenga atención médica.

Ingestión: Si se ingiere cualquier componente de este kit, lavar la boca con agua. Si se produce irritación o malestar, obtenga atención médica.

No utilice el kit:

- Cuando se incumplen las condiciones de transporte y almacenamiento;
- Cuando el aspecto de los reactivos no corresponde con la descripción del kit;
- Cuando el embalaje de los componentes del kit se rompe;
- Después de la fecha de caducidad prevista.

NO se han visto efectos adversos para la salud por el uso rutinario de este kit si se siguen las instrucciones indicadas en el presente manual.

7. MUESTRAS

El kit de detección de *género fetal por PCR en tiempo real* está diseñado para detectar el ADN extraído de la sangre periférica.



El periodo de gestación de la paciente debe ser de al menos 8 semanas embrionarias o 10 obstétricas.

Recogida de muestras

El volumen de sangre requerido es de 4,0-4,5 mL. La toma de muestras de sangre periférica se realiza en tubos de plástico al vacío, por ejemplo tubos Vacuette de 4,5 mL que contienen sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) a una concentración final de 2,0 mg/mL como anticoagulante. Después de tomar el material, es necesario mezclar la sangre con el anticoagulante invirtiendo el tubo 2 - 3 veces.



No está permitido utilizar heparina y citrato de sodio como anticoagulante.

Transporte y almacenamiento de las muestras

Se recomienda iniciar el procesamiento de la sangre en las dos primeras horas después de la toma de la muestra.

Cuando es imposible iniciar el procesamiento de la sangre en las dos primeras horas, se permite almacenar la sangre a temperaturas de -18 °C a -25 °C durante no más de 4-8 horas.

Preparación de la muestra

Centrifugar el tubo con la sangre a 1000-2000 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente de 18 °C a 25 °C.

Marcar el número necesario de tubos de 1,5 ml (dos para cada muestra analizada).

Sin tocar la fracción inferior (celular), tomar 900 ml de la fracción superior (plasma) con un dispensador automático y transferirla a dos tubos marcados.



Sólo se utiliza un tubo de ensayo para la extracción de ADN. El segundo tubo puede congelarse a menos 20 °C o menos y, si es necesario, utilizarse para volver a extraer el ADN.

Antes de iniciar la extracción de ADN, los tubos con plasma pueden almacenarse a temperaturas de 4 °C a 8 °C durante 8 horas.

Si se planea la extracción de fetDNA al día siguiente o más tarde, los tubos con plasma deben ser congelados a menos 20 °C o menos. El plasma congelado no puede conservarse más de 3 meses. Antes de iniciar la extracción, debe descongelarse un tubo de cada muestra a temperatura ambiente.



La descripción detallada de los procedimientos de muestreo y procesamiento de la muestra, así como los requisitos de almacenamiento y transporte de la muestra citados en el manual de usuario del Kit de Extracción de ADN PREP-NA-FET.

8. PROCEDIMIENTO

Extracción de ADN de material biológico.

La extracción de ADN se lleva a cabo según las instrucciones del kit de extracción de ADN PREP-NA-FET.



Si se utilizan juegos para la extracción de ADN de otros fabricantes, pueden obtenerse resultados incorrectos.



Simultáneamente con la extracción de ADN de la sangre periférica, una muestra de control negativo incluida en el Kit de extracción de ADN PREP-NA-FET debe pasar por todas las etapas de extracción de ADN en los volúmenes indicados.

Procedimiento de ensayo para el paquete S:



Debido a la pequeña cantidad de ADN fetal en la sangre de las mujeres embarazadas, el análisis de cada muestra de ADN debe realizarse por duplicado, ya que de lo contrario pueden obtenerse resultados incorrectos.



Los reactivos y los tubos deben mantenerse alejados de la luz solar directa.

1. Marque 2 tubos de tiras (o 2 tubos separados) con PCR-mix para cada muestra de ensayo, 3 para el control negativo (C-) y 1 para el control positivo (C+).

Ejemplo: para probar 2 muestras, marque 4 tubos para las muestras, 3 tubos para "C-" y 1 tubo para "C+". El número de tubos resultante es 8.

2. Vortex a la solución de Taq-polimerasa durante 3-5 segundos, luego centrifugar durante 1-3 segundos.
3. Añadir 10 µl de solución de Taq-polimerasa en cada tubo. Evite que se rompa la capa de parafina.
4. Añadir una gota (~20 µl) de aceite mineral en cada tubo. Cierre los tubos.
5. Agitar los tubos con las muestras de ADN, el control positivo (C+) y los controles negativos (C-) durante 3-5 segundos, y luego centrifugar durante 1-3 segundos.



Abra el tubo de tiras (o el tubo separado), añada la muestra de ADN (o la muestra de control) y, a continuación, cierre las tiras/tubos antes de pasar a la siguiente muestra de ADN para evitar la contaminación. Utilice puntas con filtro.

6. Añada 5 µl de muestra de ADN en los tubos correspondientes. No añada ADN en los tubos "C-", "C+". Evite que se rompa la capa de parafina. Cerrar bien los tubos.
7. Añadir 5 µl de muestra negativa (C-) que haya pasado todo el procedimiento de extracción de ADN en los tubos "C-" y la muestra positiva (C+) en el tubo correspondiente. Evitar que se rompa la capa de parafina. Cerrar bien los tubos.
8. Centrifugue los tubos durante 1-3 segundos.
9. Coloque los tubos en el termociclador de tiempo real.
10. Inicie la aplicación RealTime_PCR en modo "Device operation". Cargue el archivo "Gender.ini" suministrado con el kit antes de la primera ejecución. Consulte el manual de usuario del termociclador DTlite o DTprime para conocer los detalles del trabajo con los archivos .ini. En las ejecuciones posteriores, añada la prueba correspondiente al protocolo, especifique el número y las identificaciones de las muestras, especifique la posición de las tiras en la unidad térmica (p. 9) y ejecute la PCR. Véase la Tabla 3.



Los productos de amplificación pueden almacenarse a temperaturas de entre 2 °C y 8 °C durante un mes o a temperaturas de menos 20 °C durante 12 meses.

Tabla 3. El programa de PCR para los termocicladores DTlite y DTprime

Paso	Temperatura, °C	Min.	Sec.	Número de ciclos	Medición óptica	Tipo de paso
1	80	0	30	1		Ciclo
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Ciclo
	64	0	15		v	
3	94	0	10	45		Ciclo
	64	0	15		v	
4	94	0	5	1		Ciclo
5	10	Holding		Holding

Las pruebas (archivos ini) para los termocicladores DTlite, DTprime y DT96 son proporcionadas por el fabricante del kit

9. CONTROLES

El **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** contiene una muestra de control positivo. El control positivo es una parte clonada del genoma que detecta el kit. Se produce con técnicas de ingeniería genética y se caracteriza por la secuenciación automática del ADN. Para revelar una posible contaminación se requiere un control negativo.



Una muestra de control negativo debe pasar por todas las etapas de la extracción de ADN. Utilice la muestra de control negativo incluida en el kit de extracción de ADN PREP-NA-FET en los volúmenes indicados.

El resultado de la prueba se considera válido cuando se define el sexo del feto.

El resultado de la prueba se considera inválido cuando no se define el sexo del feto.

Si $C_p > 35$ para "C+", es necesario repetir la amplificación de toda la serie.

Si se especifica $C_p \leq 39$ para "C-", toda la prueba del lote actual se considera falsa. Se requiere una descontaminación.

10. ANÁLISIS DE DATOS

En caso de utilizar termocicladores de PCR en tiempo real fabricados por DNA-Technology, el análisis se realiza automáticamente. En otros casos, el análisis se basa en la presencia o ausencia de una señal específica.

Los termocicladores PCR en tiempo real detectan e interpretan los resultados automáticamente. El análisis se realizará mediante la aplicación de PCR en tiempo real. El gráfico resultante mostrará la dependencia de la intensidad de la fluorescencia en el número de ciclos para cada tubo a través de todos los canales de detección utilizados. El ID de la muestra, los ciclos de umbral a través de dos canales (C_p) y el resultado de la prueba en los duplicados se mostrarán en el módulo derecho de la ventana. El operador puede crear, guardar e imprimir un informe.

El resultado de la prueba para cada muestra es determinado automáticamente por el software, teniendo en cuenta los valores de C_p para el canal Fam (un fragmento específico del cromosoma Y) y para el canal Hex (SIC) en total por duplicados para esta muestra (ver Anexo A).

En las muestras pasadas por PCR y que contienen una cantidad suficiente de ADN, para las que se obtienen los valores correctos de Cp, el programa determina el genotipo de la muestra de prueba, que se muestra en la tabla en la columna "Resultado". En este caso, se emite una conclusión basada en los resultados.

En el caso de los embarazos múltiples, el resultado de la prueba "el sexo del feto es femenino" significará que todos los fetos son femeninos, y el resultado de la prueba "el sexo del feto es masculino" significará que al menos un feto es masculino.

En las muestras con una cantidad insuficiente de ADN para el análisis ($C_p > 35,0$ en el canal de detección SIC), valores Cp incorrectos, o si los resultados de los duplicados no coinciden, el programa determina resultados dudosos o no válidos. En la columna "Resultado" se indicará "dudoso" o "no válido" respectivamente. En este caso, es necesario repetir la PCR con la preparación de ADN existente, o repetir la extracción de ADN y el reajuste de la PCR, o repetir la toma del material clínico (realizada secuencialmente).

Para las muestras de control positivas y negativas, los resultados deben corresponder a los de la

Tabla 4. Cuadro 4 - Resultados de la prueba para las muestras de control positivas y negativas

Material introducido	Canal de detección	
	Fam (fragmento del cromosoma Y)	Hex (SIC)
"C+"	$C_p \leq 35$	$C_p \leq 35$
"C-" (3 repeticiones)	Cp no se especifica o > 39	Cp no se especifica o > 39

Si los resultados de la muestra de control negativo difieren de los de la Tabla 4, los resultados de toda la serie se consideran inválidos. En este caso se requiere una descontaminación.

Si los resultados de la muestra de control positivo difieren de los de la Tabla 4, es necesario repetir la amplificación de toda la serie.

11. ESPECIFICACIONES

- a. La **especificidad** analítica del **Kit de Detección de Género Fetal por PCR en tiempo real** se evaluó mediante un análisis bioinformático utilizando las bases de datos en línea disponibles con información genética completa y actualizada. Los oligonucleótidos específicos utilizados en la prueba se cotejaron con las secuencias de la base de datos GenBank. Ninguna de las secuencias mostró una similitud suficiente para la detección inespecífica.

Las muestras de ADN fetal extraídas de la sangre de las mujeres embarazadas y que contienen un fragmento del cromosoma Y deben registrarse como positivas a través de los canales Fam y Hex. En este caso, el sexo del feto es masculino.

Las muestras de ADN fetal extraídas de la sangre de mujeres embarazadas y que no contengan el fragmento del cromosoma Y se registrarán como negativas a través del canal Fam, pero como positivas a través del canal Hex. En este caso, el sexo del feto es femenino.

La interpretación de los resultados de las pruebas se realiza automáticamente mediante el software del aparato (véase el anexo A).

- b. La **sensibilidad analítica** del **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real** utilizando el kit de extracción de ADN PREP- NA-FET es de 150 copias de ADN genómico (el ADN total de la madre y del feto) en 1,0 mL de la muestra de plasma sanguíneo.

La cantidad de ADN total analizado de la madre y del feto debe ser de al menos 0,1 ng por tubo de amplificación, que corresponde aproximadamente a $C_p \leq 35,0$ en el canal de detección SIC (Hex). Cuando se utiliza una menor cantidad de ADN ($C_p > 35,0$ en el canal de detección SIC), se obtendrán resultados poco fiables.

c. Características del diagnóstico

Sensibilidad diagnóstica (100% CI) - 100% (92-100%);

Especificidad diagnóstica (100% CI) - 100% (90-100%).



Reclamaciones en las especificaciones están garantizadas cuando la extracción de ADN se realiza con el Kit de Extracción de ADN PREP-NA- FET.

12. SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Tabla 5. Solución de problemas

	Resultado	Posible causa	Solución
C+	-	Error de funcionamiento Inhibición de la PCR No cumplimiento de los requisitos de almacenamiento y manipulación	Repetir toda la prueba Desechar el lote actual
C-	+	Contaminación	Eliminar el lote actual Realizar procedimientos de descontaminación
IC	Inválido	Inhibición de la PCR	Repetir toda la prueba Volver a muestrear

Si se enfrenta a cualquier problema no descrito, póngase en contacto con nuestro departamento de atención al cliente en relación con los problemas de calidad del kit:

Soporte técnico Correo electrónico: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru.

13. CONTROL DE CALIDAD

"DNA-Technology Research&Production", LLC declara que los productos arriba mencionados cumplen con la disposición de la Directiva del Consejo 98/79/CE para Productos Sanitarios *de Diagnóstico In Vitro*. Los procedimientos de control de calidad realizados de acuerdo con las normas ISO 9001:2015 e ISO 13485:2016:

- observación de la gestión de la calidad en la fabricación de productos IVDD;
- creación de valores para los clientes;
- mantenimiento de la mejor calidad de servicio y gestión de clientes.

Póngase en contacto con nuestro servicio de atención al cliente si tiene problemas de calidad con el **kit de detección de género fetal por PCR en tiempo real**: Soporte técnico Correo electrónico: hotline@dna-technology.ru

Fabricante: "DNA-Technology, Research & Production" LLC
Rusia, 142281, Región de Moscú,
Protvino, calle Zheleznodorozhnaya 20,
Teléfono/fax: +7(495) 640.17.71

Correo electrónico: info@dna-technology.com

<http://www.dna-technology.ru>

Vendedor: "DNA-

Technology" LLC Rusia,

117587, Moscú

125g, Varshavskoe sh., bld. 6, piso 5, sala 14

Teléfono/fax: +7(495) 640.17.71

Correo electrónico: mail@dna-technology.ru

14. GUIA SÍMBOLOS

	Dispositivo médico de diagnóstico invitro		Fecha de fabricación
	Temperatura limite		Consultar las instrucciones de uso
	Suficiente para	REF	Número de catálogo
	Uso por		Fabricante
LOT	Código de lote		Manténgase alejado de la luz solar
	Precaución	VER	Versión
CONTROL -	Control negativo	CONTROL +	Control positivo
	No estéril		No reutilizar

Principios de cálculo e interpretación de resultados

La detección y el análisis de los datos se realizan mediante un software de forma automática. Los principios de cálculo de los resultados expuestos en este anexo son informativos y no están destinados a que los usuarios realicen cálculos independientes.

El cálculo de los resultados se basa en la evaluación de los valores Cp de los ciclos indicadores de los objetivos estudiados.

Principios de interpretación de los resultados

Valor Cp en Fam canal	Resultado en Fam canal	Valor Cp en Hex canal	Resultado en Hex canal	Interpretación
Cp \leq 35	+	Cp \leq 35	+	El sexo del feto es hombre.
Cp no se especifica o $>$ 37	-	Cp \leq 35	+	El sexo del feto es femenino.



Los resultados en los duplicados de cada muestra deben coincidir cualitativamente (presencia o ausencia de señal de fluorescencia en los intervalos Cp indicados en la tabla).

REF

R1-H803-S3/9INT, R1-H803-23/9INT

VER

726.2021.07.01