

RAID-Dx qPCR Kit

Irritable Bowel Syndrome Diagnostic qPCR Kit

PROTOCOLO DE INICIO RÁPIDO

El kit de qPCR RAID-Dx (en inglés **RAID-Dx qPCR Kit** - Ref. **DX-02-1014-01-LP** (*low profile*), **DX-02-2024-01-HP** (*high profile*)) es un dispositivo de diagnóstico *in vitro* destinado al uso profesional en laboratorio por personal cualificado.

Finalidad prevista

El **RAID-Dx qPCR Kit** está diseñado para el **diagnóstico del síndrome del intestino irritable** y su diagnóstico diferencial frente a la enfermedad inflamatoria intestinal, mediante la detección de marcadores microbianos en muestras de ADN extraídas de heces humanas.

Conservación y estabilidad

El kit debe ser enviado y almacenado entre **2°C y 40°C** hasta la fecha de caducidad marcada en la etiqueta. Las tiras de microtubos de 8 reacciones deben ser almacenadas dentro de la bolsa de aluminio con el gel de sílice proporcionada hasta su uso.

Información de seguridad

- Producto destinado exclusivamente a **uso profesional**.
- **No utilizar** el kit después de la fecha de caducidad indicada.
- Se debe establecer un **flujo de trabajo unidireccional**, comenzando en el área de extracción y seguidamente hacia las áreas de amplificación y detección. No se deben retornar muestras, reactivos ni equipos al área anterior una vez completado cada paso.
- Es obligatorio seguir las **Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)**:
 - Utilizar ropa de protección, guantes desechables y gafas de seguridad.
 - No comer, beber, ni fumar en el área de trabajo.
 - Lavar las manos al finalizar el análisis.
- Los consumibles y reactivos utilizados en la qPCR deben eliminarse en **contenedores para residuos biológicos**.
- Se recomienda realizar una **descontaminación regular** de los equipos, especialmente micropipetas y superficies de trabajo.

Nota: No existen riesgos determinados para el usuario profesional, salvo las precauciones habituales en un laboratorio de análisis.

Protocolo

Para obtener los resultados del RAID-Dx debe seguirse este protocolo.

La master mix y los cebadores/sondas precargados y los parámetros de amplificación (temperatura de hibridación, número de ciclos y duración de cada fase) han sido optimizados para obtener un rendimiento y especificidad óptimos.

Preparación de controles positivos:

Antes de iniciar el análisis, resuspender cada control positivo con **25 µL de tampón de rehidratación**.

Nota: Para una resuspensión óptima, incubar los tubos a temperatura ambiente durante **1 hora o toda la noche a 4°C**. Una vez resuspendidos, conservarlos a -20°C, protegidos de la luz y en un congelador con temperatura estable (ver apartado *Condiciones de Transporte y Almacenamiento* de las Instrucciones de Uso).

Para cada muestra, deben realizarse 3 análisis de qPCR multiplex:

- GoodGut RAID-Dx Multiplex 1
- GoodGut RAID-Dx Multiplex 2
- GoodGut RAID-Dx Multiplex 3

Para cada uno de estos análisis, seguir los pasos 1 a 4 de forma independiente, utilizando las **tiras de microtubos de 8 reacciones**.

Pasos del protocolo de qPCR:

1. Preparación de tiras de microtubos:

Determinar el número de microtubos necesarios según el número de muestras y controles (control positivo y NTC) para el análisis correspondiente (Multiplex 1, 2 o 3).

Nota: Cada qPCR multiplex requiere su control positivo específico.

2. Rehidratación de pocillos:

Retirar el sellado de aluminio de las tiras con precaución y añadir 18 µL de tampón de rehidratación en cada pocillo.

3. Carga de muestras y controles:

Añadir **2 µL de ADN** en cada pocillo.

Añadir **2 µL del control positivo específico** en el tubo reservado para dicho control (GG1 para Multiplex 1, GG2 para Multiplex 2, GG3 para Multiplex 3).

Dejar un tubo con solo la mix de la reacción, sin ADN, como **control negativo (NTC)**.

Cerrar los tubos con los **taponos ópticos** incluidos, agitar en **vórtex (5 segundos)**, y aplicar un **breve spin** para asegurar que la mezcla se sitúe en el fondo del tubo evitando la formación de gotas y/o burbujas.

4. Repetición del proceso:

Repetir los pasos 1 a 3 para los otros dos análisis multiplex restantes.

5. Carga en el termociclador:

Introducir las tiras en el termociclador compatible (ver compatibilidad en Anexo 2 de las Instrucciones de Uso).

6. Programación del termociclador:

Configurar el equipo según los parámetros indicados en la Tabla 1.

Nota: Seleccionar los canales (dye) de detección adecuados para la adquisición de datos fluorogénicos durante la fase combinada de hibridación/extensión: FAM, HEX y ROX, correspondientes a los tres análisis multiplex del RAID-Dx.

Tabla 1. Protocolo para los análisis de las qPCR multiplex RAID-Dx.

Paso		Tiempo (min:s)	Temperatura (°C)
Activación de la qPCR		01:00	95
40 ciclos	Desnaturalización	00:15	95
	Unión + Elongación	00:30	60

7. Iniciar el run.

Para cada ensayo de qPCR multiplex (Multiplex 1, Multiplex 2 o Multiplex 3), todas las muestras y controles del mismo tipo deben ser analizados **en el mismo run**. Además, se recomienda realizar los 3 análisis multiplex en un único run, para garantizar la consistencia de las condiciones experimentales y facilitar la interpretación de los resultados.

Nota: Si se utilizan distintos termocicladores para los análisis de una misma muestra (por ejemplo, Multiplex 1 en el termociclador 1 y Multiplex 2 en el termociclador 2), es imprescindible que ambos equipos sean del mismo modelo, para garantizar la consistencia de los resultados.

Análisis e interpretación de los resultados:

1. Procesamiento de los datos:

El análisis de las muestras se realiza mediante el software del equipo de qPCR utilizado, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Nota: Antes de iniciar el análisis, deben seleccionarse los **parámetros de análisis preestablecidos** (línea base y valores de threshold) para cada sistema de cebadores y sondas, según las Especificaciones Técnicas del RAID-Dx. Esta información se proporciona con la adquisición del RAID-Dx qPCR Kit y está disponible en el Área Profesional de la web de GoodGut (<https://professionalarea.goodgut.eu/>).

2. Carga de los resultados en la plataforma:

Para obtener el diagnóstico RAID-Dx, los resultados de cada uno de los 3 análisis de qPCR multiplex (incluyendo controles positivos y negativos) deben ser introducidos en la plataforma web **GoodGut-Test™** (<https://goodgut-test.eu/>) siguiendo el **Manual de Usuario**.

Los datos deben subirse en **archivos Excel específicos** para cada multiplex, que deben incluir:

- Identificador de la muestra
- Canal de detección (*dye*)
- Valor de Ct crudo (Cq)

Los modelos de archivo Excel pueden descargarse directamente de la plataforma.

Más información

- **Instrucciones de uso (IFU, del inglés Instructions For Use) del RAID-Dx qPCR kit:** <https://www.goodgut-test.eu/>. Si el acceso al sitio web no está disponible temporalmente y no es posible obtener las IFU, debe solicitar las instrucciones a través del correo electrónico support@goodgut.eu. Estas le serán enviadas en un máximo de 7 días naturales desde la recepción de la solicitud. Este protocolo de inicio rápido no sustituye las instrucciones de uso del producto, por lo que debe consultarlas en la dirección electrónica provista o solicitarla a través de la dirección electrónica indicada.
- **Asistencia técnica:** support@goodgut.eu

Escanee el código QR para acceder a las Instrucciones de Uso.

