Protocolo

Para obtener los resultados del TestUrGut debe seguirse este protocolo.

Las reacciones de qPCR de las 6 qPCR multiplex han sido optimizadas para obtener un rendimiento y una especificidad óptimos del análisis. Para cada ensayo multiplex se dispone de un tubo con la **Megamix**, solución compuesta por la mezcla de reactivos necesarios para llevar a cabo la reacción qPCR (oligonucleótidos + master mix + agua libre de RNasa).

Para cada muestra, deben realizarse 6 análisis de qPCRs multiplex:

- Multiplex TUG_1
- Multiplex TUG_2
- Multiplex TUG_3
- Multiplex TUG_4
- Multiplex TUG_5
- Multiplex TUG_6

Pasos del protocolo de qPCR:

1. **Preparación de tiras de microtubos:**
   Determinar el número de microtubos y tapas según el número de muestras y controles (control positivo y NTC) (material no incluido en el kit). Un control positivo y un control negativo sin ADN molde (NTC del inglés *No Template Control*) deben ser incluidos para cada multiplex.
   Nota: Cada qPCR Multiplex tiene su propio control positivo.
2. **Preparación inicial reactivos:**
   Descongelar los tubos de Megamix y los controles positivos incluidos en el kit de qPCR.

Para cada análisis de qPCR multiplex, seguir los pasos del punto 3 de forma independiente.

3. **Carga de Megamix, muestras y controles:**

Mezclar el tubo de la Megamix vigorosamente durante unos segundos. Dispensar **18 µL de Megamix** en las tiras de tubos qPCR recomendados por el fabricante del termociclador que se utilice.

Añadir **2 µL de ADN** en cada pocillo con Megamix precargada.

Añadir **2 µL del control positivo** específico en el tubo reservado para dicho control (TUG_1 Positive Control para Multiplex TUG_1, TUG_2 Positive Control para Multiplex TUG_2, TUG_3 Positive Control para Multiplex TUG_3, TUG_4 Positive Control para Multiplex TUG_4, TUG_5 Positive Control para Multiplex TUG_5 y TUG_6 Positive Control para Multiplex TUG_6.

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

Cerrar los tubos con **tapones ópticos**, 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 cinco 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/elongación: **FAM, HEX y ROX** para las Multiplex TUG_1, Multiplex TUG_2 y Multiplex TUG_3; FAM y HEX para la Multiplex TUG_4 y Multiplex TUG_5; y por último FAM y ROX para la Multiplex TUG_6.

Tabla 1. Protocolo para los análisis de las qPCR multiplex TestUrGut.

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

7. **Inicio del análisis (run):**

Para cada ensayo de qPCR multiplex (TUG_1, TUG_2, TUG_3, TUG_4, TUG_5 y TUG_6), todas las muestras y controles del mismo tipo deben ser analizados **en el mismo *run***. Además, si el número de muestras lo permite, **se recomienda realizar los 6 análisis multiplex en un único *run***.

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 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 TestUrGut. Esta información se proporciona con la adquisición del TestUrGut qPCR kit y está disponible en el Área Profesional de la web de GoodGut (https://professionalarea.goodgut.eu/).

TestUrGut qPCR Kit

Intestinal Dysbiosis qPCR Kit

PROTOCOLO DE INICIO RÁPIDO

El kit de qPCR TestUrGut (en inglés **TestUrGut qPCR kit** - Ref. **TUG-01-1024**) es un dispositivo de diagnóstico *in vitro* destinado al uso profesional en el laboratorio por personal cualificado (usuario profesional).

Finalidad prevista

El **TestUrGut qPCR kit** está diseñado para **diagnosticar la disbiosis microbiana** mediante la detección por qPCR de marcadores microbianos específicos en muestras de ADN extraídas de heces humanas.

Conservación y estabilidad

El kit debe almacenarse inmediatamente después de su llegada entre **-15ºC y -30ºC** en un congelador de temperatura constante y protegido de la luz. Los reactivos incluidos en el kit pueden mantenerse un máximo de **24 horas entre 2-8ºC durante su uso**.

Información de seguridad

- Producto destinado exclusivamente a **uso profesional**.
- **No utilizar** el kit después de la fecha de caducidad.
- Se debe establecer un **flujo de trabajo unidireccional**, comenzando en el área de extracción y siguiendo hacia las áreas de amplificación y detección. No se deben retornar las 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, gafas protectoras y mascarilla.
  - 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.

Precaución: *Las megamixes contienen **1,2,4-triazol**, una **sustancia peligrosa**. Puede perjudicar la fertilidad o causar daños al feto. También puede suponer riesgos para los niños alimentados con leche materna. Deben obtenerse instrucciones especiales antes del uso. No manipule el kit hasta haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad. Debe cumplir las buenas prácticas de laboratorio. En caso de exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.*

2. **Carga de resultados en la plataforma:**
   Para obtener el diagnóstico del TestUrGut, los resultados de cada uno de los 6 análisis de qPCR multiplex (incluyendo controles positivos y negativos) deben ser introducidos en la plataforma web **GoodGut-Test™** (https://www.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 del 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 TestUrGut 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.

GOODGUT
Enhancing digestive health

GOODGUT S.L.U.
CIF/NIF: B55206916 | GoodGut SRN: ES-MF-000002229
C/ Pic de Peguera, 11, 17003 Girona - Catalunia, España
Teléfono: +34 972 18 32 20 | E-mail: info@goodgut.eu| www.goodgut.eu

Fecha de revisión:
November 2025
QG-TUG-001-es

La información provista en este documento puede variar debido a las continuas actualizaciones tecnológicas del producto.