

## RAID-Dx qPCR Kit

### Irritable Bowel Syndrome Diagnostic qPCR Kit

#### INSTRUCCIONES DE USO

**Número de referencia:** REF

- RAID-Dx qPCR Kit (low profile): DX-02-1024-01-LP
- RAID-Dx qPCR Kit (high profile): DX-02-2024-01-HP

El **Kit de qPCR RAID-Dx** (en inglés *RAID-Dx qPCR Kit*) es un dispositivo de diagnóstico *in vitro* (producto sanitario *in vitro*) de uso profesional de laboratorio (usuario profesional).

#### Finalidad prevista

El Kit qPCR RAID-Dx pretende diagnosticar el síndrome del intestino irritable, así como su diagnóstico diferencial de la enfermedad inflamatoria intestinal, mediante la detección de marcadores microbianos en muestras de ADN extraídas de heces de pacientes.

El test de diagnóstico *in vitro* RAID-Dx qPCR Kit se basa en el análisis por qPCR de un panel de microorganismos fecales indicadores tanto de condiciones favorables como desfavorables de la salud intestinal. El panel está compuesto por 9 biomarcadores representantes de diferentes especies, filogrupos, géneros y otros taxones: *Faecalibacterium prausnitzii*, *F. prausnitzii* filogrupo I y *F. prausnitzii* filogrupo II, *Escherichia coli*, *Akkermansia muciniphila*, *Ruminococcus* sp., *Methanobrevibacter smithii*, Bacteroidetes y Eubacterias. El kit de qPCR permite amplificar y cuantificar los fragmentos génicos característicos de los microorganismos mencionados. Los resultados se proporcionan de forma cualitativa y cuantitativa.

Esta prueba es capaz de diagnosticar el síndrome del intestino irritable y hacer su diagnóstico diferencial con enfermedades inflamatorias intestinales con una sensibilidad y especificidad mayor al 85% (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del Kit qPCR RAID-Dx para su diagnóstico de síndrome del intestino irritable (SII) y su diagnóstico diferencial con enfermedades inflamatorias intestinales (SII vs EII).

	SII	SII vs EII
<b>Sensibilidad (%)</b>	91,0	94,8
<b>Especificidad (%)</b>	86,1	87,6
<b>VPP (%)</b>	80,0	91,0
<b>VPN (%)</b>	94,7	93,6

**El producto no es automatizado. El usuario previsto es un profesional de laboratorio.**

## Principios de la prueba/test

El Kit qPCR RAID-Dx ha sido optimizado mediante el análisis de PCRs multiplex cuantitativas (IVD cuantitativo) utilizando cebadores y sondas fluorescentes en ADN bacteriano de muestras de heces. Se trata de una herramienta de fácil uso que ofrece resultados reproducibles con elevada sensibilidad, especificidad y un rango dinámico amplio. El producto se basa en la actividad 5' exonucleasa de la enzima ADN polimerasa. Durante la amplificación del ADN, esta enzima corta las sondas unidas a la secuencia complementaria del ADN, separando el *quencher* del *reporter*. Esta reacción genera un incremento en la señal de fluorescencia proporcional a la cantidad de secuencia diana que está siendo hidrolizada. Esta fluorescencia puede ser medida en plataformas de PCR a tiempo real.

El Kit qPCR RAID-Dx requiere de tres análisis qPCR para cada muestra para poder obtener un diagnóstico. Así pues, el kit qPCR RAID-Dx incluye 9 (3x3) tiras de microtubos de 8 reacciones cada una, con lo que se puede realizar un total de 24x3 reacciones. La *master mix* se proporciona liofilizada, junto con los cebadores y las sondas, en las tiras de microtubos precargadas en un formato estabilizado, lo que confiere estabilidad a largo plazo y evita la necesidad de cadena de frío. El producto contiene en cada pocillo todos los componentes necesarios para el análisis de la qPCR en un volumen final de 20 µL (incluyendo el ADN molde). Tres controles positivos, uno para cada análisis de qPCR, son incluidos liofilizados en tubos por separado para comprobar la correcta realización de cada análisis de qPCR.

## Requisitos para el análisis del RAID-Dx

El kit qPCR RAID-Dx ha sido optimizado para realizar el análisis del ADN extraído de muestras de heces que cumplen los siguientes requisitos:

### Población destinataria de la prueba:

- Las muestras de heces deben pertenecer a sujetos que presenten dolor abdominal, alteraciones del ritmo deposicional y/o que cumplan con los criterios de Roma III o Roma IV.
- Las muestras de heces deben pertenecer a individuos mayores de 18 años.
- Las muestras de heces deben estar libres de antibióticos durante el mes previo a la deposición.
- Las muestras de heces deben provenir de individuos que no se hayan realizado ninguna colonoscopia el mes anterior.
- Las muestras de heces deben provenir de individuos que no haya sufrido ninguna resección quirúrgica de ninguna parte del tubo digestivo.
- No se aceptan muestras de heces de mujeres embarazadas.
- Las muestras de heces deben ser tratadas dentro de las primeras 48 horas después de su recogida.

**Nota:** a su llegada, la muestra debe ser homogeneizada utilizando una espátula metálica debidamente esterilizada y seguidamente se debe proceder a la extracción del ADN. Si la extracción de ADN no puede realizarse a la llegada de la muestra, esta puede ser congelada a -20°C.

Estos requisitos son necesarios para que los resultados de los análisis se encuentran entre los intervalos de referencia establecidos para el diagnóstico del síndrome del intestino irritable usando el kit qPCR RAID-Dx.

## Contenido del kit

Tabla 2. Componentes incluidos en el Kit qPCR RAID-Dx e información de reactivos.

Reactivo/Material	Descripción	Rango de concentración	Color	Cantidad
<b>Múltiplex 1</b> 8-tiras de microtubos	Lioprotectores y estabilizadores	±6 g/100 mL*	Blanco (Opaco)	3 x 8-tiras de microtubos
	Nucleótidos trifosfato (dNTPs)	±1 mM*		
	3 juegos de Cebadores y Sondas	0.2-1 nMol/μL*		
	Enzimas	10-100 U/rxn*		
<b>Múltiplex 2</b> 8-tiras de microtubos	Lioprotectores y estabilizadores	±6 g/100 mL*	Blanco (Opaco)	3 x 8-tiras de microtubos
	Nucleótidos trifosfato (dNTPs)	±1 mM*		
	3 juegos de Cebadores y Sondas	0.2-1 nMol/μL*		
	Enzimas	10-100 U/rxn*		
<b>Múltiplex 3</b> 8-tiras de microtubos	Lioprotectores y estabilizadores	±6 g/100 mL*	Blanco (Opaco)	3 x 8-tiras de microtubos
	Nucleótidos trifosfato (dNTPs)	±1 mM*		
	2 juegos de Cebadores y Sondas	0.2-1 nMol/μL*		
	Enzimas	10-100 U/rxn*		
<b>Control Positivo GG1</b>	ADN sintético liofilizado	1.9x10 <sup>4</sup> copias/μL*	Rojo	1 vial
<b>Control Positivo GG2</b>	ADN sintético liofilizado	1.9x10 <sup>4</sup> copias/μL*	Rojo	1 vial
<b>Control Positivo GG3</b>	ADN sintético liofilizado	1.9x10 <sup>4</sup> copias/μL*	Rojo	1 vial
<b>Buffer de rehidratación</b>	Mezcla de solución salina	±13 mM	Azul	1 vial x 1.8 mL
	Buffer (TRIS, pH)	±67 mM		
<b>8-tiras de tapones</b>	Tiras desprendibles de 8 tapones	NA	Transparente	9 x 8-tiras de tapones

\* Para el componente en formato estabilizado, el rango de concentración significa después de la rehidratación, NA: No Aplicable

## Reactivos, materiales y equipos no provistos

La siguiente lista incluye los reactivos, materiales y equipos que son necesarios para el análisis del RAID-Dx, pero no están incluidos en el kit qPCR RAID-Dx.

- Espátula metálica
- Kit de extracción de ADN (para verificar la compatibilidad consulte el Anexo 1)
- Termociclador (para verificar la compatibilidad, consulte el Anexo 2)
- *Buffer* Tris-HCl pH 8,1 (para la resuspensión de los controles positivos)
- Tubos de microcentrífuga
- Puntas con filtro
- Vórtex
- Centrífuga para tubos de 1,5 mL
- Centrífuga de spin
- Micropipetas (0,5 – 10  $\mu$ L, 10 – 100  $\mu$ L y 100 – 1000  $\mu$ L)
- Guantes desechables sin polvo

## Condiciones de Transporte y Almacenaje

Los kits qPCR RAID-Dx pueden ser enviados y almacenados a 2-40°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. Se recomienda realizar algunas alícuotas de los controles positivos una vez resuspendidos para evitar realizar más de 3 ciclos de congelación/descongelación y mantenerlas a -20°C. Una vez que el kit está en uso, puede almacenarse a temperatura ambiente (2-40°C) y usarse hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta (a excepción del control positivo resuspendido que debe almacenarse a -20°C). Cabe destacar que, aunque el kit puede almacenarse en el rango de temperatura descrito, recomendamos siempre almacenar a una temperatura media de 25°C  $\pm$  5°C.

## Estabilidad en uso

**Condiciones de almacenamiento:** entre 2°C y 40°C, ver apartado condiciones de transporte y almacenamiento.

**Vida útil después de abrir el envase/envase primario:** lo que indica el envase. Luego de abrir el contenedor primario, las pruebas demuestran la estabilidad óptima del producto (todos sus reactivos en las tiras) hasta la fecha de vencimiento indicada en el empaque.

Los resultados obtenidos mostraron un rendimiento óptimo del producto rehidratado dentro de la jornada laboral (unas 8 horas), sin embargo, recomendamos que las tiras una vez rehidratadas no se almacenen. El experimento debe realizarse inmediatamente.

**Ciclos de congelación y descongelación alícuotas de controles positivos:** ver condiciones de transporte y almacenamiento.

**Master mix y controles positivos:** El mastermix, una vez resuspendido, puede estar mínimo 24 horas a 4°C. Los controles positivos, una vez resuspendidos, se pueden conservar durante al menos 12 meses a -20°C”.



## Información de Seguridad

- Solo para uso profesional (únicamente para usuarios profesionales).
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Diseñar un flujo de trabajo unidireccional. Se debe empezar a trabajar en el Área de Extracción y seguidamente pasar al área de Amplificación y Detección. **No retornar las muestras, equipos y reactivos al área en la que se realizó el paso anterior.**
- Deben seguirse Buenas Prácticas de Laboratorio. Llevar ropa de protección, guantes desechables, gafas protectoras y mascarilla. No comer, beber, ni fumar en el área de trabajo. Una vez finalizado el análisis, lavar las manos.
- Eliminar los consumibles y los reactivos de qPCR en el contenedor para residuos biológicos.
- Se recomienda una descontaminación regular de los equipos con los que se trabaja, especialmente de las micropipetas y las superficies de trabajo.

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



**Precaución:** NO añadir lejía ni soluciones ácidas directamente a los desechos de preparación de muestras.

## Información sobre sustancias interferentes:

Ver sección de requisitos para el análisis del RAID-Dx en la página 2.

## Control de Calidad

De acuerdo con el Sistema de Gestión de Calidad de GoodGut (certificado con la ISO13485), cada lote del Kit qPCR RAID-Dx se prueba bajo unas especificaciones predeterminadas para asegurar la actividad, la eficiencia y la sensibilidad. El certificado de análisis se puede encontrar en el área profesional de la página web de GoodGut: <https://professionalarea.goodgut.eu/>.

## Limitaciones de Uso:

Los reactivos de este kit están diseñados para funcionar en su totalidad con el presente kit de qPCR. **No se recomienda usarlo para otras pruebas.** Estos reactivos son aptos para los siguientes instrumentos, ver anexo 2.

Hasta el momento, no se ha detectado que el producto contenga otros componentes que puedan influir en las mediciones.

## Accesorios del Kit qPCR RAID-Dx

Se debe utilizar la plataforma web GoodGut-Test™ (<https://goodgut-test.eu>) para obtener el diagnóstico de RAID-Dx. El acceso a la plataforma se proporciona por separado cuando se adquiere el producto qPCR RAID-Dx. El manual de usuario se proporciona junto con una DEMO de cómo funciona la plataforma web para usuarios profesionales de laboratorio.

La configuración informática recomendada para el uso de la plataforma web GoodGut-Test™ se detalla en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Configuración informática recomendada para el uso de la plataforma web GoodGut-Test™.

	Para WINDOWS	Para MAC
<b>Escala</b>	125%	125%
<b>Resolución de pantalla</b>	1920 x 1080	1920 x 1080
<b>Orientación de pantalla</b>	Horizontal	Horizontal

Se requiere acceso a Internet para utilizar la plataforma web GoodGut-Test™. Se puede utilizar con los navegadores Google Chrome, Google Edge y Mozilla Firefox.

### Procedimiento de medición de referencia

Para asegurar el correcto rendimiento del kit qPCR RAID-Dx, se incluyen controles positivos de concentración conocida. Los controles positivos deben agregarse en cada ejecución del ensayo de qPCR multiplex (como se detalla en el apartado protocolo del kit qPCR RAID-Dx, página 8). Además, se requiere un control sin ADN molde o control negativo (NTC) para garantizar que la ejecución del ensayo de qPCR multiplex no esté contaminado.

#### Control Positivo

Dado que la metodología utilizada es un ensayo de qPCR multiplex donde se analizan 3 biomarcadores al mismo tiempo, el control positivo también es un conjunto de marcadores objetivo en cada ensayo de qPCR. Para cada lote de control positivo se define un rango de tolerancia específico. Los rangos de tolerancia se obtienen mediante el análisis de 5 ejecuciones distintas de un control positivo de cada lote escogido al azar. Se calcula el rango de tolerancia de cada marcador con el promedio de los resultados  $\pm 10\%$ .

Una vez se lleve a cabo el análisis e interpretación de los resultados, el valor de Ct obtenido para el control positivo debe estar comprendido entre el rango de Ct establecido por lote. Cuando el valor de Ct del control positivo se sitúa fuera del rango aceptado los resultados no son fiables. La plataforma web GoodGut-Test™ informa si los controles positivos se aceptan o se rechazan. Si los controles positivos son rechazados, el análisis de la muestra debe repetirse.

El rango de tolerancias de los controles positivos está disponible para todos los clientes en las especificaciones técnicas del kit RAID-Dx qPCR específicas para cada lote que se proporcionan a todos los clientes en el momento de la compra. Las especificaciones técnicas también se pueden encontrar en el área profesional de la página web de GoodGut: <https://professionalarea.goodgut.eu/>.

#### Control sin ADN molde (NTC)

El control sin ADN molde (NTC) se utiliza para asegurar que la mix de la reacción no está contaminada. Para cada lote de qPCR kit RAID-Dx se define un rango de tolerancia específico. Los rangos de tolerancia se obtienen mediante el análisis de 5 ejecuciones distintas de un kit de cada lote escogido al azar. Se calcula el rango de tolerancia del NTC cada marcador con el promedio de los resultados - 10%.

Una vez se lleve a cabo el análisis e interpretación de los resultados, el valor de Ct obtenido en el NTC debe ser superior al valor límite establecido por lote. Cuando el valor de Ct del NTC se sitúa fuera del rango aceptado los resultados no son fiables. La plataforma web GoodGut-Test™ informa si los NTCs se aceptan o se rechazan. Si los NTCs son rechazados, el análisis de la muestra debe repetirse.

El rango de tolerancia de los NTCs está disponible para todos los clientes en las especificaciones técnicas del kit RAID-Dx qPCR específicas para cada lote que se proporcionan a todos los clientes en el momento de la compra. Las



especificaciones técnicas también se pueden encontrar en el área profesional de la página web de GoodGut: <https://professionalarea.goodgut.eu/>.

## Protocolo del Kit qPCR RAID-Dx

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

- **Tratamiento de la muestra**

Las muestras fecales deben tratarse dentro de las primeras 48 horas después de la recolección de la muestra. A su llegada, la muestra debe ser homogeneizada con una espátula estéril y luego proceder a la extracción de ADN. Si no se puede realizar la extracción de ADN a la llegada, la muestra se puede congelar a -20°C.

Los resultados obtenidos con el Kit qPCR RAID-Dx solo son fiables cuando se utilizan el kit de extracción de ADN y/o el extractor automático compatibles (para comprobar la compatibilidad, consulte el Anexo 1).

La información de la muestra debe introducirse en la plataforma web GoodGut-Test™ (<https://goodgut-test.eu/>) siguiendo el Manual de Usuario que se facilita al usuario una vez adquirido el Kit qPCR RAID-Dx y en el área profesional de la página web de GoodGut (<https://professionalarea.goodgut.eu/>). La información de la muestra incluye los requisitos que deben cumplirse para ser apta para el análisis y un código de muestra para seguir correctamente su trazabilidad.

- **Protocolo qPCR**

La master mix y los cebadores/sondas precargadas, así como los parámetros (temperatura (hibridación), número de ciclos y tiempo de cada fase) han sido optimizados para obtener un rendimiento y una especificidad óptimos del análisis.

Antes de empezar, resuspender los controles positivos con 25 µL de *buffer* Tris-HCl pH 8,1.

**Nota:** para una resuspensión óptima, después de añadir el tampón de rehidratación, incubar los tubos a temperatura ambiente durante 1 hora o toda la noche a 4°C. Una vez resuspendidos deben ser almacenados a -20°C en un congelador que mantenga una temperatura constante y protegidos de la luz (ver condiciones de transporte y almacenaje).

Para obtener el diagnóstico, se deben realizar 3 análisis de qPCR multiplex para cada muestra: GoodGut RAID-Dx Multiplex 1, GoodGut RAID-Dx Multiplex 2 y GoodGut RAID-Dx Multiplex 3. Para cada análisis multiplex (Multiplex 1, Multiplex 2 y Multiplex 3) realizar los pasos 1 – 4 separadamente utilizando las tiras de microtubos de 8 reacciones (los pasos 1 – 4 se repetirán 3 veces, una por cada análisis de qPCR multiplex).

1. Determinar y separar el número de microtubos (de las tiras de microtubos de 8 reacciones) para las reacciones necesarias teniendo en cuenta las muestras y los dos controles indicados para el análisis de qPCR multiplex a realizar (Multiplex 1, Multiplex 2 o Multiplex 3). Un control positivo y un control sin ADN molde (NTC) deben ser incluidos en cada análisis de qPCR. **Nota:** Cada qPCR tiene su propio control positivo.
2. Reconstituir el número de pocillos que sean necesarios. Eliminar el sellado de aluminio de las tiras y añadir 18 µL de tampón de rehidratación en cada pocillo.
3. Añadir 2 µL de muestras de ADN en cada microtubo donde se encuentra la mix de la reacción. Añadir 2 µL del control positivo específico para el análisis qPCR que se esté realizando (control positivo GG1 para la Multiplex 1, control positivo GG2 para la Multiplex 2 o control positivo GG3 para la Multiplex 3) en el tubo reservado para este control, y dejar un tubo solo con la mix, sin ADN molde, como control negativo (NTC). Cerrar los tubos con los tapones ópticos proporcionados con el kit, realizar un vórtex a los tubos (5



segundos), y aplicar un spin para asegurar que la mezcla de la reacción se encuentra en el fondo del tubo sin burbujas.

4. Repetir los pasos 1 – 3 para los otros análisis qPCR multiplex para completar el análisis RAID-Dx.
5. Cargar las tiras de tubos en el termociclador (para comprobar la compatibilidad, consulte el Anexo 2).
6. Programar el termociclador según lo establecido en la Tabla 4.

**Nota:** seleccionar los canales (dye) para que la adquisición de los datos fluorogénicos se pueda realizar durante la fase combinada de hibridación/extensión: FAM, HEX y ROX para los tres análisis de las qPCR multiplex de RAID-Dx.

**Tabla 4.** Protocolo de ciclos térmicos para el análisis de las qPCRs multiplex del RAID-Dx.

Fase		Tiempo (min:s)	Temperatura (°C)
Activación qPCR		01:00	95
40 ciclos	Desnaturalización	00:15	95
	Hibridación + Extensión	00:30	60

7. Iniciar el run.

**Nota:** todas las muestras y los controles del mismo tipo del análisis qPCR (Multiplex 1 o Multiplex 2 o Multiplex 3) deben ser analizados en el mismo run de qPCR. En caso de utilizar más de un termociclador para el análisis de la misma muestra (por ejemplo: análisis de la Multiplex 1 en el termociclador 1 y análisis de la Multiplex 2 en el termociclador 2), asegurarse de utilizar el mismo modelo de termociclador.

## • Análisis e interpretación de los resultados

1. Realizar el análisis de los datos. El análisis de las muestras se realiza mediante el programa del equipo de qPCR utilizado y siguiendo las instrucciones de uso del fabricante.

**Nota:** antes de realizar el análisis de los datos, seleccionar los parámetros de análisis preestablecidos para cada sistema de cebadores + sonda (línea base y valores de threshold) según las 'Especificaciones Técnicas del RAID-Dx' (esta información se proporciona una vez que adquiere el Kit qPCR RAID-Dx y se puede encontrar en el Área Profesional de Sitio web de GoodGut (<https://professionalarea.goodgut.eu/>)).

2. Para obtener el diagnóstico RAID-Dx, los resultados obtenidos en cada uno de los 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 resultados deben subirse a la Plataforma en diferentes archivos en formato Excel específicos de cada multiplex que deben contener el identificador de la muestra, el dye y el valor del Ct crudo (Cq). Los modelos Excel pueden descargarse en la plataforma siguiendo el manual de usuario.
3. La plataforma aplica un algoritmo matemático teniendo en cuenta los intervalos de referencia de las poblaciones con síndrome del intestino irritable y genera un informe de diagnóstico. El informe de diagnóstico tiene una parte:
  - a. **Cualitativa:**
    - i. Síndrome del intestino irritable positivo
    - ii. Síndrome del intestino irritable no compatible.





- b. **Cuantitativa:** Semáforo de colores donde se observan las características de los marcadores analizados:
- i. Verde: el marcador analizado se encuentra dentro del intervalo de referencia considerado como salud intestinal
  - ii. Naranja: el marcador analizado se encuentra al límite del intervalo de referencia
  - iii. Rojo: el marcador analizado se encuentra fuera del intervalo de referencia considerado una desviación.

4. El informe final debe ser interpretado por un especialista.




**Nota:** Las 'Especificaciones Técnicas del RAID-Dx' específicas del lote de su kit y el Manual de Usuario de la plataforma web GoodGut-Test™ se proveerán por separado una vez se adquiera el kit y también pueden encontrarse en el área profesional de la página web de GoodGut <https://professionalarea.goodgut.eu/>.





En caso de producirse un incidente, definido como cualquier avería o problema que se haya producido en este Dispositivo Médico *In Vitro* (Producto Sanitario *In Vitro*), durante su uso o posteriormente, y que pueda tener graves consecuencias para la salud, por favor contactar con el laboratorio de fabricación: GoodGut S.L.U. e-mail: [test@goodgut.eu](mailto:test@goodgut.eu) y/o la autoridad competente donde esté establecido el usuario y/o paciente.

### Descripción de símbolos:

-  Número de referencia o catálogo
-  Cantidad de líquido o reactivo que contiene un vial o frasco
-  Lea las instrucciones.

---

**RAID-Dx qPCR Kit**  
**Irritable Bowel Syndrome Diagnostic qPCR Kit**  
 Basic UDI-DI: 8437023437RAIDDX9Y



GOODGUT, SLU  
 CIF/NIF: B55206916  
 GoodGut SRN: ES-MF-000000229  
 C/Pic de Peguera, 11, 17003 Girona - Cataluña, España.  
 Teléfono: +34 972 18 32 20.  
 E-mail: [info@goodgut.eu](mailto:info@goodgut.eu)  
[www.goodgut.eu](http://www.goodgut.eu)

**Fecha de revisión:**  
 Noviembre 2023  
 IFU-RAID-Dx-001 v6.0

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



## ANEXO 1: Compatibilidad de los kits de extracción y equipamiento automatizado

El Kit de extracción de ADN y los extractores automáticos que se puede utilizar para obtener diagnósticos fiables con RAID-Dx son los siguientes:

### Kit de extracción de ADN DNeasy Powersoil Pro de Qiagen ([extracción manual](#))

- Referencia del Kit: 47014, QIAGEN
- Proceda siguiendo las instrucciones del fabricante.  
**Nota:** en lugar de usar 250-500 mg de suelo en el Paso 1, pese alrededor de 50 mg de heces.

### QIAcube de Qiagen ([extractor automático](#))

- Utilice el kit de extracción de ADN DNeasy Powersoil Pro de Qiagen con el extractor automático QIAcube Connect de Qiagen.
- Proceda siguiendo las instrucciones del fabricante.  
**Nota:** en lugar de usar 250-500 mg de suelo en el Paso 1, pese alrededor de 40 mg de heces.





## ANEXO 2: Compatibilidad del equipo de PCR en tiempo real

Las **tiras de perfil bajo** se pueden utilizar en todos los termocicladores de qPCR equipados con un bloque de perfil bajo que se enumeran a continuación.

### AriaDx (Agilent Technologies)

- El análisis de las muestras se realiza con el software incluido en el equipo de PCR en tiempo real y según las instrucciones de uso del fabricante.
- Antes de realizar el análisis de datos, seleccione la configuración de análisis preestablecida para cada conjunto de *primers + sonda* (p.e., configuración de referencia y valores de *threshold*) de acuerdo con las 'Especificaciones técnicas del kit qPCR RAID-Dx'.

### CFX96 (BioRad)

- El análisis de las muestras se realiza con el software incluido en el equipo de PCR en tiempo real y según las instrucciones de uso del fabricante.
- Especificaciones para analizar los resultados utilizando el software CFX96:
  - Seleccione BR White en tipo de placa.
  - Aplicar la corrección *fluorescence drift*.
- Antes de realizar el análisis de datos, seleccione la configuración de análisis preestablecida para cada conjunto de *primers + sonda* (p.e., configuración de referencia y valores de *threshold*) de acuerdo con las 'Especificaciones técnicas del kit qPCR RAID-Dx'.

Las **tiras de perfil alto** se pueden utilizar en todos los termocicladores de qPCR equipados con un bloque de perfil alto que se enumeran a continuación.

### Quantstudio 5 (Applied Biosystems™)

- El análisis de las muestras se realiza con el software incluido en el equipo de PCR en tiempo real y según las instrucciones de uso del fabricante.
- Antes de realizar el análisis de datos, seleccione la configuración de análisis preestablecida para cada conjunto de *primers + sonda* (p.e., configuración de referencia y valores de *threshold*) de acuerdo con las 'Especificaciones técnicas del kit qPCR RAID-Dx'.

**Nota:** Las 'Especificaciones Técnicas RAID-Dx' específicas por lote se proporcionan por separado al adquirir el kit y también se encuentran en el área Profesional de la página web de GoodGut <https://professionalarea.goodgut.eu/>.