

VIASURE MULTIPLEX

Bordetella Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

El género *Bordetella* se compone de 8 especies, 4 de las cuales se sabe que infectan a humanos; *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. holmesii* y *B. bronchiseptica*. Si bien, la causa más importante de tosferina (pertussis) es *B. pertussis*, seguida de *B. parapertussis*. *Bordetella holmesii* se ha aislado en pacientes con una enfermedad grave subyacente, mientras que *B. bronchiseptica* normalmente está restringida a animales aunque en algunas ocasiones se ha aislado de pacientes inmunocomprometidos.

La tosferina es una enfermedad muy contagiosa que, por lo general, se transmite de persona a persona al toser o estornudar, o al pasar mucho tiempo en contacto cercano con los pacientes compartiendo el espacio donde respiran. La evolución clínica de la enfermedad se divide en tres etapas, las cuales incluyen el siguiente cuadro clínico: catarral (coriza, fiebre baja, tos leve y ocasional), paroxismal (paroxismos –accesos- de tos rápida, cianosis, vómitos y agotamiento) y convaleciente (recuperación gradual y tos paroxística menos persistente).

A pesar de la vacunación, la tosferina sigue siendo endémica en muchas zonas del mundo. Se requiere un

diagnóstico fiable para comenzar el tratamiento y la profilaxis de contacto apropiados, y resulta necesario en el caso de la exposición de niños no vacunados contra la tosferina, en los que podría presentarse como una enfermedad mortal. Los ensayos de amplificación de ácidos nucleicos, incluyendo PCR y más recientemente PCR a tiempo real superan algunas de las limitaciones del cultivo y de los métodos serológicos empleados para el diagnóstico de infección por *Bordetella*.

VIASURE *Bordetella* Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y/o *Bordetella holmesii* en muestras clínicas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de *Bordetella pertussis/holmesii* se lleva a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y una sonda marcada con fluorescencia que hibridan con una región diana conservada de la secuencia de inserción IS481. Para *Bordetella holmesii*, con una región diana conservada de la secuencia de inserción hIS1001 y para *Bordetella parapertussis* con una región diana conservada de la secuencia de inserción pIS1001.



Sensibilidad analítica

VIASURE Bordetella Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción para *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* (Figuras 1, 2 y 3).

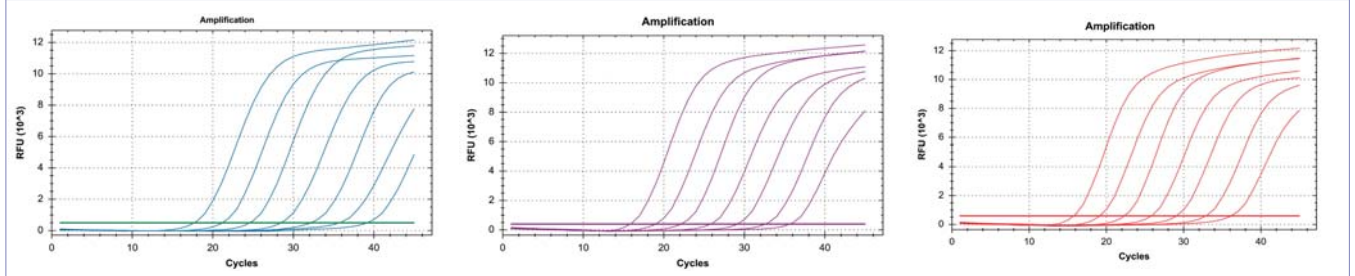


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de *Bordetella pertussis/holmesii* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de *Bordetella holmesii* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal ROX).

Figura 3. Diluciones seriadas de un estándar de *Bordetella parapertussis* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal Cy5).

Componentes

Reactivo/Material	Descripción	Cantidad
<i>Bordetella</i> 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	6/12 x tiras de 8 pocillos
<i>Bordetella</i> 96-well plate	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	1 placa
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto estabilizado	1 vial x 1,8 mL
<i>Bordetella</i> Positive Control	cDNA sintético liofilizado no infeccioso	1 vial
Negative Control	Control negativo	1 vial x 1 mL
Water RNase/DNase free	Agua libre de RNAsa/DNasa	1 vial x 1 mL
Tear-off 8-cap strips	Tapones ópticos para sellar los pocillos durante el ciclo térmico	6/12 x tiras de 8 tapones
Shell Frame Grid	Adaptador de la placa	1 ó 2

Metodología

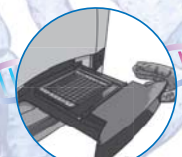
Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



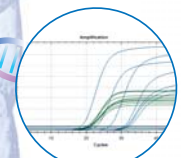
PASO 1
Reconstituir cada pocillo con 15 µl del tampón de rehidratación



PASO 2
Añadir 5 µl de la muestra de DNA / control positivo / control negativo



PASO 3
Colocar las tiras en el termociclador e iniciar el protocolo específico



PASO 4
Interpretar los resultados

Referencias

Referencia	Descripción
VS-BDT106L	Viasure <i>Bordetella</i> Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-BDT106H	Viasure <i>Bordetella</i> Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-BDT112L	Viasure <i>Bordetella</i> Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-BDT112H	Viasure <i>Bordetella</i> Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-BDT113L	Viasure <i>Bordetella</i> Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-BDT113H	Viasure <i>Bordetella</i> Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, high profile



CERTEST BIOTEC, S.L.
Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (ESPAÑA)
www.certest.es

