

VIASURE MULTIPLEX

Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

C*lostridium difficile* es un bacilo, gram positivo, productor de esporas y anaerobio que pertenece a la familia *Clostridiaceae*. Inicialmente, *C. difficile* fue descrito como parte de la microbiota comensal de los neonatos. Sin embargo, más tarde se identificó como un agente causal de diarrea asociada con antibióticos (DAA) y su infección está asociada con una alta morbilidad y mortalidad en edades avanzadas.

Los principales factores de riesgo para el desarrollo de infecciones por *C. difficile* son la exposición a antibióticos de amplio espectro, la hospitalización y una edad avanzada. La gravedad de esta infección va desde una diarrea leve y colitis pseudomembranosa hasta megacolon tóxico, perforaciones del colon y, ocasionalmente, sepsis e incluso la muerte. Las principales rutas de transmisión son la vía feco-oral o los aerosoles. De hecho, personas infectadas que presentan diarrea aguda pueden excretar esporas, dando lugar a una gran contaminación del ambiente, las

cuales pueden persistir en polvo o en superficies durante meses y transmitirse nuevamente a otros pacientes hospitalizados, o al personal sanitario.

Cepas toxigénicas de *C. difficile* pueden colonizar el intestino, replicarse y producir la enterotoxina A y citotoxina B, codificadas por los genes *tcdA* y *tcdB*. El diagnóstico basado en la PCR a tiempo real sido descrito como un test sensible para la detección y diferenciación de la toxina A y/o B de *Clostridium difficile*.

VIASURE *Clostridium difficile* toxins A+B Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de gastroenteritis causada por *Clostridium difficile* en muestras de heces humanas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de Toxina A y B de *Clostridium difficile* se lleva a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y sondas marcadas con fluorescencia, que hibridan con una región diana conservada del gen *tcdA* y *tcdB*.



Sensibilidad analítica

VIASURE Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción (figuras 1 y 2).

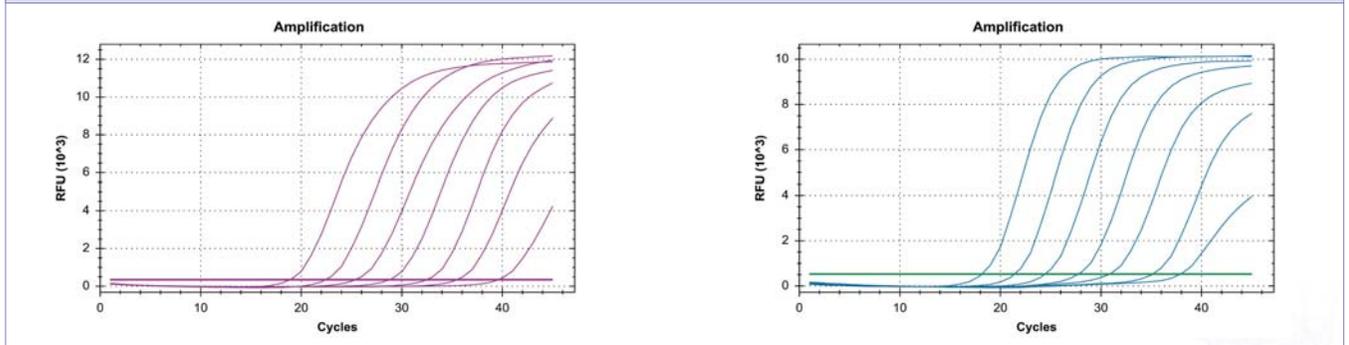


Figura 1. Diluciones seriadas de Clostridium difficile Toxin A (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System.

Figura 2. Diluciones seriadas de Clostridium difficile Toxin B (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System.

Componentes

Reactivo/Material	Descripción	Cantidad
Clostridium difficile toxins A+B 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
Clostridium difficile toxins A+B 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
Clostridium difficile toxins A+B 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 μ l del tampón de rehidratación



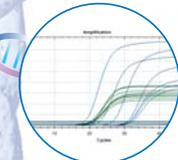
PASO 2

Añadir 5 μ l 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-CDA106L	Viasure Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-CDA106H	Viasure Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-CDA112L	Viasure Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-CDA112H	Viasure Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-CDA113L	Viasure Clostridium difficile toxins A+B Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-CDA113H	Viasure Clostridium difficile toxins A+B 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

