

VIASURE MULTIPLEX

Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

Los enterococos son organismos comensales comunes que se encuentran en el tracto gastrointestinal y en el aparato genital femenino. Recientemente se les reconoce como patógenos oportunistas que causan infecciones nosocomiales como infecciones del tracto urinario, infecciones de la piel, infecciones respiratorias, endocarditis y sepsis en individuos inmunocomprometidos.

La vancomicina es un antibiótico glucopéptido que inhibe la síntesis de la pared celular y se usa para tratar infecciones graves por bacterias gram-positivas. Los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) se describieron por primera vez en Inglaterra y Francia en 1986, habiéndose extendido en la actualidad a través de los hospitales de todo el mundo.

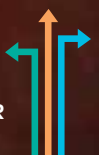
La resistencia a la vancomicina es un proceso complejo y necesita la presencia de diferentes clusters de genes. Principalmente, se pueden dividir en dos tipos en función de los precursores pentapéptidos producidos por genes de resistencia a la vancomicina; el precursor que termina en D-Alanina-D-Serina (VanC-, VanE-, VanG-, VanL- y VanN-type) o el que termina en D-Alanine-D-Lactate (VanA-, VanB-, VanD- y VanM- tipo).

La transmisión de enterococos resistentes a la

vancomicina (ERV) puede ocurrir por contacto directo con fluidos corporales de pacientes colonizados o infectados (sangre, drenaje de heridas, orina, heces, esputo y otros) o por contacto indirecto a través de las manos de los trabajadores de la salud, o a través de equipos de cuidado de pacientes o superficies ambientales contaminadas.

VIASURE *Vancomycin resistance* Real Time PCR Detection Kit está diseñado para la detección y diferenciación de los genes *vanA* y *vanB* asociados con enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) en muestras clínicas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de la resistencia a vancomicina 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 los genes *vanA* y *vanB*.

VIASURE *Vancomycin resistance* Real Time PCR Detection Kit contiene en cada pocillo todos los componentes necesarios para llevar a cabo la PCR a tiempo real (cebadores/sondas específicos, dNTPS, tampón, polimerasa) en formato estabilizado, así como, un control interno para descartar la inhibición de la actividad polimerasa.



Sensibilidad analítica

VIASURE Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción para los genes *vanA* y *vanB* (figuras 1 y 2).

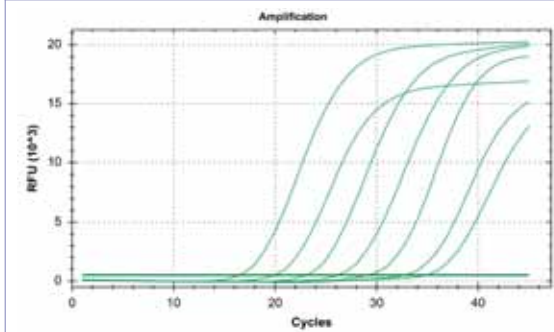


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de gen *vanA* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

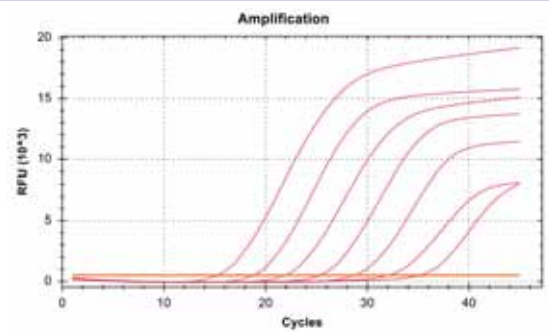


Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de gen *vanB* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal ROX).

Componentes

Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
Vancomycin resistance 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	6/12 tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto estabilizado	Azul	1 vial x 1,8 mL
Vancomycin resistance Positive Control	cDNA sintético liofilizado no infeccioso	Rojo	1 vial
Negative Control	Control negativo	Morado	1 vial x 1 mL
Water RNase/DNase free	Agua libre de RNasa/DNasa	Blanco	1 vial x 1 mL
Tear-off 8-cap strips	Tapones ópticos para sellar los pocillos durante el ciclo térmico	Transparente	6/12 x tiras de 8 tapones

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



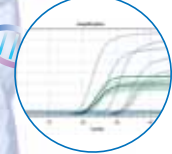
PASO 1
Reconstituir cada pocillo con 15 μ l del tampón de rehidratación



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-VAN106L	Viasure Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-VAN106H	Viasure Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-VAN112L	Viasure Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-VAN112H	Viasure Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-VAN113L	Viasure Vancomycin resistance Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-VAN113H	Viasure Vancomycin resistance 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

