



RIDA[®] GENE CD Toxin A/B

REF PG0825



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Alemania
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDA® GENE CD Toxin A/B es una prueba de PCR en tiempo real para la detección directa y cualitativa de los genes de la toxina A (tcdA) y la toxina B (tcdB) de *Clostridium difficile* en cultivos muestras de heces humanas. La prueba de PCR en tiempo real RIDA® GENE CD Toxin A/B puede usarse como una ayuda para el diagnóstico de la diarrea asociada con *Clostridium difficile* (DACD).

2. Resumen y descripción del ensayo

Clostridium difficile, una bacteria anaerobia grampositiva formadora de esporas, fue descrita por primera vez en 1935 por Hall y O'Toole como un componente de la microflora intestinal de neonatos sanos.¹ Sin embargo, a finales de la década de los 70 se identificó a *Clostridium difficile* como la causa de la diarrea asociada con el uso de antibióticos y la colitis pseudomembranosa.² En la actualidad, *Clostridium difficile* es una de las causas más comunes de diarrea hospitalaria.

Clostridium difficile es responsable del 15 % al 25 % de los casos de diarrea asociada con el uso de antibióticos y de casi todos los casos de colitis pseudomembranosa.³ Los factores de riesgo que predisponen a la DACD son, por ejemplo, la exposición a antibióticos, la edad avanzada, la cantidad de hospitalizaciones y su duración. Sin embargo, también se observa infección por *Clostridium difficile* en un número cada vez mayor de personas no hospitalizadas y no tratadas con antibióticos.

Los síntomas van desde diarrea leve hasta infecciones intestinales de diversa gravedad, incluida la colitis pseudomembranosa, la forma más grave de enfermedad inflamatoria intestinal inducida por antibióticos. Los casos clínicamente sintomáticos son causados por cepas toxigénicas de *Clostridium difficile* que producen toxina A y toxina B. En los últimos años, la incidencia y la gravedad de las infecciones por *Clostridium difficile* han aumentado en todo el mundo.⁴

La PCR en tiempo real permite la detección rápida y con alta sensibilidad y especificidad de la infección por *Clostridium difficile*. Un diagnóstico temprano y confiable de la infección por *Clostridium difficile* permite administrar un tratamiento específico para los pacientes con DACD y también iniciar medidas de higiene para evitar la transmisión hospitalaria.

3. Principio del ensayo

RIDA[®]GENE CD Toxin A/B es una prueba de PCR multiplex en tiempo real para la detección directa y cualitativa de los genes de la toxina A (tcdA) y la toxina B (tcdB) de *Clostridium difficile* en cultivos y muestras de heces humanas.

Después del aislamiento del ADN, se lleva a cabo la amplificación de los fragmentos génicos específicos de las toxinas A y B de *Clostridium difficile* (si están presentes). Las dianas de ADN amplificadas se detectan mediante sondas de hidrólisis, marcadas en un extremo con un extintor de fluorescencia y en el otro con un colorante fluorescente indicador (fluoróforo). En presencia de una diana, las sondas se hibridan a los amplicones. Durante el paso de extensión, la **Taq-Polymerase** rompe la proximidad del indicador-extintor. El indicador emite una señal fluorescente que se detecta en la unidad óptica de un equipo de PCR en tiempo real. La señal fluorescente aumenta en función de la cantidad de amplicones formados. El ensayo RIDA[®]GENE CD Toxin A/B contiene un **Internal Control DNA** (ICD) como control interno del procedimiento de preparación de la muestra o para determinar la posible inhibición de la PCR.

4. Reactivos suministrados

Tabla 1: Reactivos suministrados (los reactivos del kit son suficientes para 100 determinaciones)

Código del kit	Reactivo	Cantidad		Color de la tapa
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	amarilla
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	roja
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	naranja
N	No Template Control	1x	450 µl	blanca
P	Positive Control	1x	200 µl	azul

5. Instrucciones de almacenamiento

- Todos los reactivos deben conservarse protegidos de la luz y a una temperatura de -20 °C. Todos los reactivos pueden utilizarse hasta la fecha de vencimiento. Después de la fecha de vencimiento, la garantía de calidad ya no es válida.
- Descongele con cuidado los reactivos antes de usarlos (p. ej., en un refrigerador a 2 - 8 °C).
- Los reactivos admiten hasta **20 ciclos de congelación/descongelación** sin que esto afecte a la eficacia diagnóstica del ensayo (p. ej., tras la primera descongelación, es conveniente dividir en alícuotas y congelar de inmediato).
- Durante la preparación de la PCR, todos los reactivos deben conservarse en frío de manera adecuada (2 - 8 °C).

6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario

El ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA[®] GENE CD Toxin A/B es adecuado para usarse con las siguientes plataformas de extracción y equipos de PCR en tiempo real:

Tabla 2: Equipamiento necesario

Plataforma de extracción	
R-Biopharm	RIDA [®] Xtract
Promega	Maxwell [®] RSC
bioMérieux	NucliSENS easy [®] MAG [™]
Equipo de PCR en tiempo real:	
Roche	LightCycler [®] 2.0, LightCycler [®] 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96 [™]
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Nota: Utilice únicamente tubos de 0,1 ml en el Rotor-Gene Q (QIAGEN).

Si desea utilizar otras plataformas de extracción o equipos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con R-Biopharm en mdx@r-biopharm.de.

- RIDA[®] GENE Color Compensation Kit II (PG0002) para uso con el LightCycler[®] 2.0

- RIDA[®] GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) para uso con el LightCycler[®] 480II

- Consumibles para PCR en tiempo real (placas, tubos, papel aluminio)

- Centrífuga y rotor para los viales de reacción

- Agitador vórtex

- Pipetas (0.5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)

- Puntas con filtro

- Guantes desechables sin talco

- Agua para PCR (agua de grado BioScience, sin nucleasas)

7. Precauciones para los usuarios

Para el diagnóstico *in vitro*.

Este ensayo solo debe llevarlo a cabo personal de laboratorio capacitado. Respetar las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Seguir las indicaciones del manual de instrucciones para la ejecución de la prueba. No pipetear muestras ni reactivos con la boca. Evitar el contacto con piel herida o mucosas. Durante la manipulación de reactivos o muestras, llevar ropa de seguridad adecuada (guantes apropiados, bata de laboratorio, gafas protectoras) y lavarse las manos al finalizar la ejecución de la prueba. No fumar, comer ni beber en las zonas en las que se estén utilizando las muestras o los reactivos.

- La extracción, la preparación de la PCR y la PCR propiamente dicha deben llevarse a cabo en diferentes salas para evitar la contaminación cruzada.
- Las muestras deben tratarse como potencialmente infecciosas, al igual que todos los reactivos y materiales expuestos a las muestras, y deben manipularse según las normativas nacionales de seguridad.
- No utilizar el kit después de la fecha de vencimiento.

Todos los reactivos y materiales usados se deben eliminar correctamente después del uso. Consultar las normas nacionales pertinentes para la eliminación.

Para obtener más información, consultar la hoja de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

8.1 Preparación de las muestras a partir de muestras de heces

Para el aislamiento del ADN a partir de muestras de heces humanas, use un kit de aislamiento de ADN (como RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) o un sistema de extracción de ADN (p. ej., Maxwell[®] RSC (Promega)) disponibles en el mercado. Extraiga el ADN siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se recomienda diluir las muestras de heces 1:3 con agua antes de la extracción. Agite intensamente en un mezclador vórtex la muestra de heces diluida y centrifúguela a 1000 x g durante 30 segundos. Use el volumen adecuado de sobrenadante según las instrucciones del fabricante.

El ensayo RIDA[®] GENE CD Toxin A/B contiene un Internal Control DNA que detecta la inhibición de la PCR, monitoriza la integridad de los reactivos y confirma que la extracción de ácidos nucleicos haya sido suficiente. El Internal Control DNA puede usarse como control de inhibición de la PCR, o como control de extracción para el procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR.

Si el Internal Control DNA se usa únicamente como control de inhibición de la PCR, se debe agregar 1 µl del Internal Control DNA a la mezcla maestra (consulte la tabla 4).

Si el **Internal Control DNA** se usa como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras **y** como control de inhibición de la PCR, se debe agregar 20 µl de **Internal Control DNA** durante el procedimiento de extracción. El **Internal Control DNA** debe añadirse siempre a la mezcla de búfer de lisado de muestras y **no** directamente a la muestra. También se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control DNA** a la mezcla para PCR del control negativo y del control positivo.

8.2 Preparación de la muestra a partir de cultivos

Para aislar el ADN a partir de un cultivo se recomienda el procedimiento siguiente: Agregue 1 ml de agua para PCR a un tubo de preparación. Coseche las colonias con un asa de inoculación y suspéndalas en el agua para PCR preparada. Corte o rompa el vástago del asa de inoculación. Tape bien el tubo de preparación y agítelo en un mezclador vórtex a alta velocidad durante 60 segundos. Caliente y agite el tubo de preparación a 95 °C durante 10 min en un bloque calefactor. Centrifugue durante 1 min a 13 000 x g y aplique el sobrenadante como muestra.

Nota: Si la muestra está muy turbia, repita el paso de centrifugación (si es necesario).

El ensayo RIDA[®] GENE CD Toxin A/B contiene un **Internal Control DNA** que detecta la inhibición de la PCR, monitoriza la integridad de los reactivos y confirma que la extracción de ácidos nucleicos haya sido suficiente. El **Internal Control DNA** puede usarse como control de inhibición de la PCR, o como control de extracción para el procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR.

Si el **Internal Control DNA** se usa únicamente como control de inhibición de la PCR, se debe agregar 1 µl del **Internal Control DNA** a la mezcla maestra (consulte la tabla 4).

Si el **Internal Control DNA** se utiliza como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras **y** como control de inhibición de la PCR, se debe agregar 20 µl de **Internal Control DNA** durante el procedimiento de extracción. El **Internal Control DNA** debe añadirse siempre a la mezcla de muestra-agua para PCR y **no** directamente a la muestra. También se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control DNA** a la mezcla para PCR del control negativo y del control positivo.

9. Ejecución de la prueba

9.1 Preparación de la mezcla maestra

Calcule el número total de reacciones de PCR necesarias (reacciones de muestra y de control). En cada ensayo debe incluirse un control positivo y un control negativo.

Se recomienda calcular un 10% de volumen adicional para compensar las imprecisiones en el pipeteo (consulte las tablas 3, 4). Descongele, mezcle suavemente y centrifugue brevemente la **Reaction Mix**, la **Taq-Polymerase**, el **Positive Control**, el **No Template Control** y el **Internal Control DNA** antes de utilizarlos. Conserve los reactivos correctamente en frío (2 - 8 °C) durante el paso de trabajo.

Tabla 3: Ejemplo de cálculo y pipeteo para 10 reacciones de la mezcla maestra (ICD como control de extracción y de inhibición de la PCR)

Código del kit	Componentes de la mezcla maestra	Volumen por reacción	10 reacciones (10 % adicional)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	Total	20 µl	220 µl

Mezcle suavemente los componentes de la mezcla maestra y centrifúguelos brevemente.

Tabla 4: Ejemplo de cálculo y pipeteo para 10 reacciones de la mezcla maestra (ICD como control de inhibición de la PCR únicamente)

Código del kit	Componentes de la mezcla maestra	Volumen por reacción	10 reacciones (10 % adicional)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	Total	21,0 µl	231,0 µl

Mezcle suavemente los componentes de la mezcla maestra y centrifúguelos brevemente.

9.2 Preparación de la mezcla para PCR

Pipetee 20 µl de mezcla maestra en cada vial de reacción (tubo o placa).

Control negativo: Añada 5 µl de **No Template Control** a la mezcla maestra prepipeteada.

Nota: Si el **Internal Control DNA** se utiliza como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR, se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control DNA** a la mezcla para PCR del control negativo.

Muestra: Añada 5 µl de extracto de ADN a la mezcla maestra prepipeteada.

Control positivo: Añada 5 µl de **Positive Control** a la mezcla maestra prepipeteada.

Nota: Si el **Internal Control DNA** se utiliza como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR, se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control DNA** a la mezcla para PCR del control positivo.

Tape los tubos o la placa. Centrifúguelos y colóquelos en el equipo de PCR en tiempo real. La reacción de PCR debe iniciarse según la configuración del equipo de PCR (consulte las tablas 5, 6, 7, 8).

9.3 Configuración del equipo de PCR

9.3.1 Perfil de ADN por PCR en tiempo real

Tabla 5: Perfil de ADN por PCR en tiempo real para los equipos serie LightCycler® y Rotor-Gene Q

Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	10 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	15 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura / Velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión se llevan a cabo en el mismo paso.

Tabla 6: Perfil de PCR en tiempo real del ADN para Mx3005P, ABI 7500 y CFX96™

Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	15 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	30 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura / Velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión se llevan a cabo en el mismo paso.

9.3.2 Perfil universal por PCR en tiempo real

Nota: El perfil universal por PCR en tiempo real se debe usar en los ensayos de ADN solo cuando se combinan en una corrida los ensayos de ADN y ARN RIDA®GENE por PCR en tiempo real.

Tabla 7: Perfil universal por PCR en tiempo real en el equipo LightCycler®

<u>Transcripción inversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	10 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	15 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura / Velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión se llevan a cabo en el mismo paso.

Tabla 8: Perfil universal por PCR en tiempo real en el Mx3005P, ABI 7500, Rotor-Gene Q y CFX96™

<u>Transcripción inversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	15 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	30 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura / Velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión se llevan a cabo en el mismo paso.

9.4 Configuración del canal de detección

Tabla 9: Selección de los canales de detección adecuados

Equipo de PCR en tiempo real	Detección	Canal de detección	Nota
Roche LightCycler® 2.0	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	530	Se necesita el RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002)
	ICD	560	
Roche LightCycler® 480II	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	465/510	Se necesita el RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICD	533/580	
ABI 7500	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	Compruebe que la opción de referencia pasiva ROX sea «none» (ninguna)
	ICD	VIC	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	Compruebe que el colorante de referencia sea «none» (ninguno)
	ICD	HEX	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	Verde	La ganancia debe configurarse en 5, según la configuración predeterminada
	ICD	Amarillo	
Bio-Rad CFX96™	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	-
	ICD	VIC	

10. Control de calidad

El software del equipo de PCR en tiempo real utilizado analiza las muestras según las instrucciones del fabricante. Los controles positivo y negativo deben mostrar los resultados correctos (consulte la tabla 10, figura 1) para determinar que un ensayo es válido.

El **Positive Control** de las toxinas A/B de CD tiene una concentración de 10^3 copias/ μ l. En cada ensayo de PCR, se utiliza una cantidad total de 5×10^3 copias.

Tabla 10: Para que un ensayo sea válido, deben cumplirse las siguientes condiciones:

Muestra	Resultado del ensayo	Ct del ICD	Ct de la diana
Control positivo	Positivo	NA ^{*1}	Consulte el certificado de garantía de calidad
Control negativo	Negativo	Ct > 20	0

^{*1} No se requiere un valor de Ct del ICR para determinar que el control positivo es positivo.

Si el control positivo no es positivo en el intervalo de Ct especificado, pero el control negativo es válido, prepare de nuevo todas las reacciones, incluidos los controles.

Si el control negativo no es negativo pero el control positivo es válido, prepare de nuevo todas las reacciones, incluidos los controles.

Si no se cumplen los criterios requeridos, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de vencimiento de los reactivos usados
- Funcionalidad de los equipos utilizados
- Ejecución correcta de la prueba

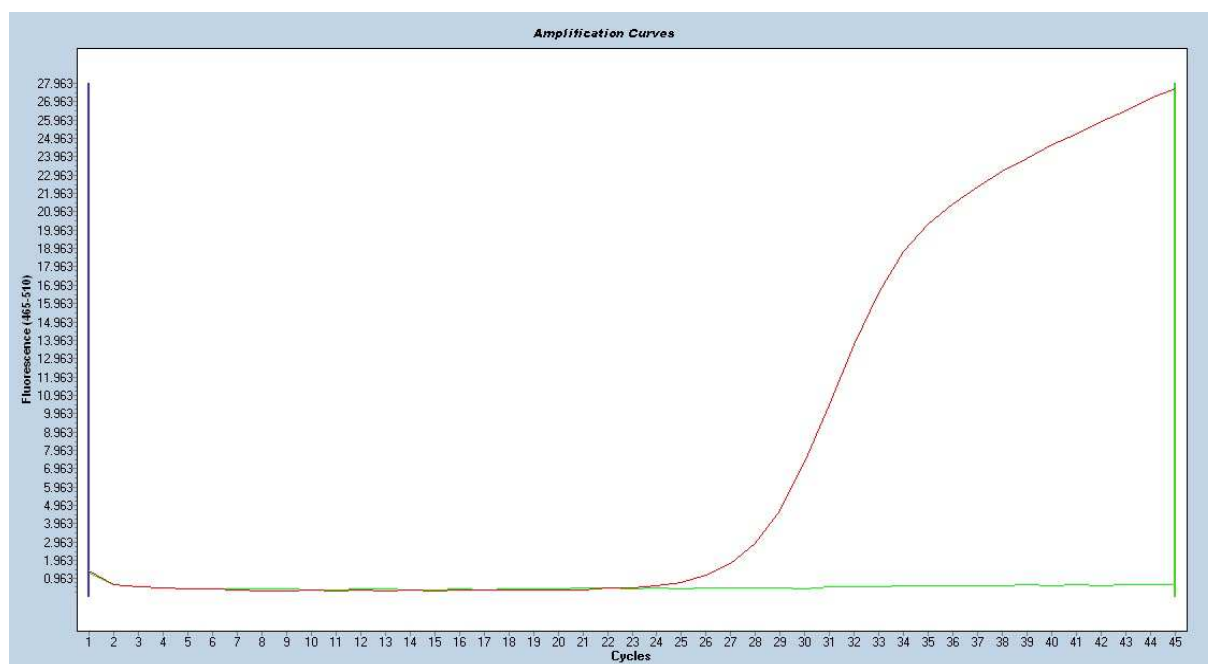


Fig. 1: Procesamiento correcto de los controles positivo y negativo (genes de las toxinas A/B de *C. difficile*) en el LightCycler® 480II

11. Interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados se lleva a cabo según la tabla 11.

Tabla 11: Interpretación de las muestras

Genes diana		
Genes de las toxinas A/B de <i>C. difficile</i>	ICD	Resultado
positivo	positivo/negativo	Genes de las toxinas A/B de <i>C. difficile</i> detectados
negativo	positivo	Genes diana no detectados
negativo	negativo	No válido

Los genes de las toxinas A/B de *C. difficile* se detectan si el ADN de la muestra y el **Internal Control DNA** muestran una señal de amplificación en el sistema de detección.

Los genes de las toxinas A/B de *C. difficile* también se detectan si hay señal de amplificación del ADN de la muestra, pero no del **Internal Control DNA** en el sistema de detección. La detección del control de amplificación interno no es necesaria debido a que las altas concentraciones del amplicón pueden hacer que la señal del **Internal Control DNA** sea débil o esté ausente.

Los genes de las toxinas A/B de *C. difficile* no se detectan si no hay señal de amplificación del ADN de la muestra, pero hay señal de amplificación del **Internal Control DNA** en el sistema de detección. La inhibición de la reacción de PCR se puede excluir por la detección del ADN del **Internal Control DNA**.

La muestra no es válida si no hay señal de amplificación del ADN de la muestra y del **Internal Control DNA** en el sistema de detección. La muestra contiene un inhibidor de la PCR o se produjo un fallo en el procedimiento de extracción. Es necesario diluir aún más la muestra extraída con agua para PCR (1:10) y amplificarla de nuevo, o bien, mejorar el aislamiento y la purificación de la muestra.

12. Limitaciones del método

1. El resultado del análisis molecular no debe dar lugar a un diagnóstico, sino considerarse siempre en el contexto del historial médico y los síntomas del paciente.
2. Este ensayo solo está validado para muestras de heces y cultivos.
3. La obtención, transporte, almacenamiento y procesamiento incorrectos de la muestra, o una carga de patógenos en la muestra inferior a la sensibilidad analítica pueden dar lugar a resultados negativos falsos.
4. La presencia de inhibidores de la PCR puede ocasionar resultados no válidos.
5. Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión del cebador o la sonda pueden afectar a la detección de nuevas variantes, y producir un resultado negativo falso con el ensayo RIDA[®] GENE CD Toxin A/B.
6. Como ocurre con todas las pruebas diagnósticas de PCR *in vitro*, podría detectarse un nivel sumamente bajo de la diana, por debajo del límite de detección (LoD), pero los resultados podrían no ser reproducibles.
7. Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. No obstante, un resultado positivo indica la presencia de los genes de las toxinas A/B de *C. difficile* (tcdA/tcdB).

13. Características de rendimiento

13.1 Sensibilidad analítica

El ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA® GENE CD Toxin A/B tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de ADN por reacción.

En la figura 2, a continuación, se muestra una dilución seriada de los genes de las toxinas A/B de *C. difficile* (en cada caso, $10^5 - 10^1$ copias de ADN por μl) en el LightCycler® 480II.

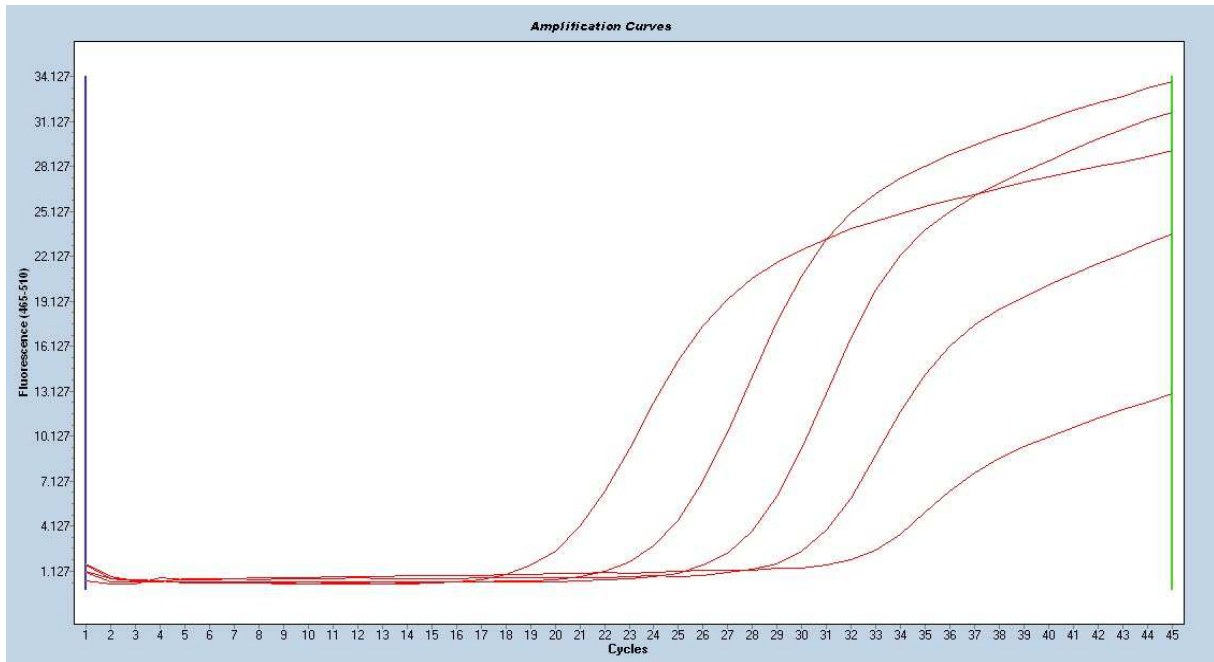


Fig. 2: Dilución seriada de los genes de las toxinas A/B de *C. difficile* ($10^5 - 10^1$ copias de ADN por μl) en el LightCycler® 480II

El límite de detección de todo el procedimiento depende de la matriz de la muestra, la extracción del ADN y la concentración del ADN.

13.2 Especificidad analítica

La prueba de PCR multiplex en tiempo real RIDA® GENE CD Toxin A/B es específica para *Clostridium difficile* en muestras de heces humanas. No se detectaron reacciones cruzadas con las siguientes especies (consulte la tabla 12):

Tabla 12: Pruebas de reactividad cruzada

Adenovirus 1, humano, cepa Adenoid 71	-	<i>Clostridium bifermentans</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-
Adenovirus 7, humano, cepa Gomen	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
Adenovirus 40, humano, cepa Dugan	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	Norovirus GI	-
Adenovirus 41, humano, cepa Tak	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	Norovirus GII	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium sordelli</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Astrovirus	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Rotavirus	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>E.coli</i> (O157:H7)	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E.coli</i> (O26:H-)	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	<i>E.coli</i> (O6)	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland1	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB clon 6	-		

13.3 Sensibilidad analítica

La reactividad del ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA® GENE CD Toxin A/B se evaluó con *Clostridium difficile* (consulte la tabla 13). Todas las cepas de *Clostridium difficile* evaluadas se detectaron con el ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA® GENE CD Toxin A/B o por alineación de secuencias.

Tabla 13: Pruebas de reactividad analítica










<i>Clostridium difficile</i>					
<i>C. difficile</i> ribotipo 001	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 023	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 075	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 002	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 027	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 078	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 012	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 046	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 0126	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 017	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 056	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 0131	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 020	+				
<i>C. difficile</i> toxinotipo 0	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo X	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXI	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo I	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIa	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXII	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo II	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIb	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXIV	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IIIa	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIc	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXV	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IIIb	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XI d	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXVI	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IIIc	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XII	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXVII	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IV	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXVIII	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo V	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIVa	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXIX	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo VI	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIVb	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXX	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo VII	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XVI	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXXI	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo VIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XVII	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXXII	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IXa	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XVIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXXIII	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IXb	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XIX	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XXXIV	+
<i>C. difficile</i> toxinotipo IXc	+	<i>C. difficile</i> toxinotipo XX	+		

14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y designación
29/01/2013	Versión de lanzamiento
22/05/2018	Revisión general
22/05/2018	4. Reactivos suministrados 5. Instrucciones de almacenamiento 6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario 8. Obtención y almacenamiento de muestras 9. Ejecución de la prueba 10. Control de calidad 13. Características de rendimiento 14. Historial de versiones 15. Explicación de los símbolos

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos del ensayo

No aplicable

16. Referencias bibliográficas

1. Hall IC and O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935, 49: 390–402.
2. Bartlett JG, et al. Antibiotica-associated pseudomembranous colitis due to a toxin-producing clostridia. *N Engl J Med*, 1978; 298:531-543.
3. Bartlett JG and Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *CID* 2008, 46: S12-18.
4. Bartlett JG. Narrative Review: The new Epidemic of *Clostridium difficile*-Associated Enteric Disease. *Ann Intern Med* 2006; 145:758-764.