

VIASURE MULTIPLEX

E. coli Typing Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

E*scherichia coli* (*E. coli*) es un microorganismo gram-negativo que puede ser un residente inocuo del tracto gastrointestinal, pero también tiene la capacidad de causar enfermedades entéricas y extraintestinales, como infecciones del tracto urinario (ITUs), sepsis y meningitis. Las cepas patógenas de *E. coli* (patovares o patotipos) causan una gran morbilidad y mortalidad en todo el mundo, debido a que tienen bajas dosis infecciosas y se transmiten a través de medios ubicuos, como los alimentos y el agua. De las cepas infectivas que causan enfermedades diarreicas, se reconocen seis patotipos: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAggEC) y *E. coli* de adhesión difusa (DAEC).

E. coli enterohemorrágica (EHEC) es un subconjunto de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), también llamada *E. coli* productora de verotoxina. STEC son un grupo diverso de patógenos transmitidos por los alimentos, que causan un amplio espectro de enfermedades humanas, que van desde una diarrea leve hasta enfermedades humanas graves. Las cepas de STEC y EHEC se pueden transmitir en humanos mediante: contacto directo persona-persona; consumo de carne cruda o poco cocinada, leche cruda y otros productos lácteos; ingesta de otros alimentos o agua potable contaminada con heces de animales; contacto directo con el ganado doméstico y otros rumiantes que son reconocidos como reservorio principal de estas cepas; y aguas de baño/recreativas contaminadas.

E. coli enteropatógena (EPEC) también porta el gen *eae* como las cepas EHEC, pero no las toxinas tipo Shiga. EPEC es una causa importante de diarrea infantil, potencialmente mortal en los países en desarrollo, y que a menudo se acompaña de fiebre, vómitos y deshidratación en niños menores de 2 años. Se transmite por la vía fecal-oral a través de superficies

contaminadas, leche de fórmula para facilitar el destete y portadores humanos.

E. coli enterotoxigénica (ETEC) es la causa más importante de la diarrea del viajero en todo el mundo y es endémica en la mayoría de los países en vías de desarrollo, con significativas tasas de mortalidad en niños. Las infecciones por ETEC también se transmiten a través de la ruta fecal-oral, cuando una persona ingiere comida o agua contaminada.

Las *E. coli* Enteroinvasivas (EIEC) están bioquímica, genética y patogénicamente relacionados con *Shigella* spp. Esta infección se caracteriza por fiebre, calambres abdominales y diarrea con presencia visible de sangre y moco. La transmisión convencional de EIEC y *Shigella* es a través de la ruta fecal-oral, principalmente a través de alimentos o agua contaminados, o mediante propagación directa persona-persona.

VIASURE *E. coli* Typing Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de *E. coli* EHEC, *E. coli* EPEC, *E. coli* EIEC/*Shigella* y/o *E. coli* ETEC en muestras de heces humanas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de *E. coli* EHEC, *E. coli* EPEC, *E. coli* EIEC/*Shigella* y *E. coli* ETEC se lleva a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y una sonda marcada con fluorescencia que hibrida con una región diana conservada de los genes *stx1*, *stx2*, *eae*, *lt*, *st1a*, *st1b* e *ipaH* para *E. coli* EHEC, *E. coli* EPEC, *E. coli* EIEC/*Shigella* y *E. coli* ETEC.

VIASURE *E. coli* Typing Real Time PCR Detection Kit aprovecha la actividad 5' exonucleasa de la DNA-polimerasa. Durante la amplificación del DNA, esta enzima hidroliza la sonda unida a la secuencia de DNA complementaria, separando el fluoróforo del quencher. Esta reacción genera un aumento en la señal fluorescente proporcional a la cantidad de DNA diana. Esta fluorescencia se puede monitorizar en equipos de PCR a tiempo real.



Sensibilidad analítica

VIASURE E. coli Typing Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción para los genes *stx1*, *stx2*, *eae*, *lpaH*, *lt* y *st*. (Figuras 1, 2, 3, 4, 5 y 6).

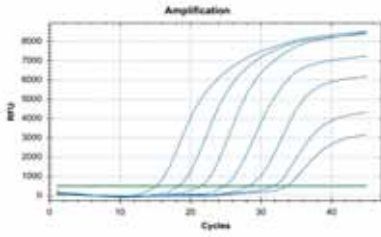


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de los genes *stx1/stx2* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Mezcla de reacción E. coli EHEC, EPEC & EIEC, canal FAM).

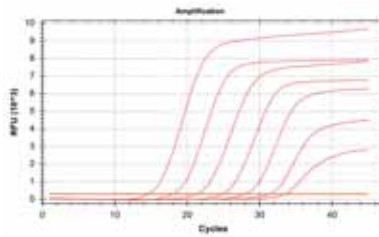


Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar del gen *lpaH* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Mezcla de reacción E. coli EHEC, EPEC & EIEC, canal ROX).

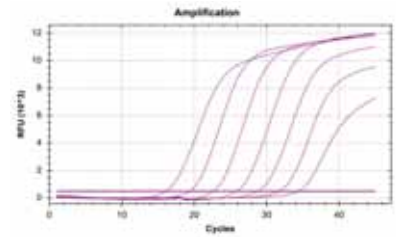


Figura 3. Diluciones seriadas de un estándar del gen *eae* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Mezcla de reacción E. coli EHEC, EPEC & EIEC, canal Cy5).

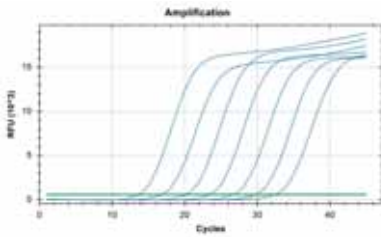


Figura 4. Diluciones seriadas de un estándar gen *lt* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Mezcla de reacción E. coli ETEC + EIEC, canal FAM).

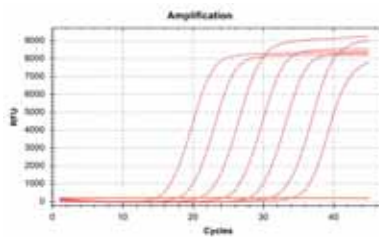


Figura 5. Diluciones seriadas de un estándar gen *lpaH* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Mezcla de reacción E. coli ETEC + EIEC, canal ROX).

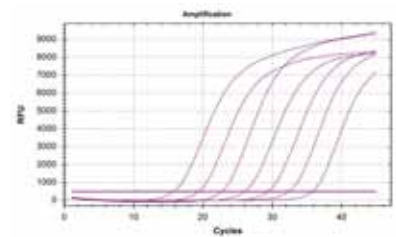


Figura 6. Diluciones seriadas de un estándar gen *st1a/st1b* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Mezcla de reacción E. coli ETEC + EIEC, canal Cy5).

Componentes

Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
E. coli EHEC + EPEC + EIEC 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	3/6 tiras de 8 pocillos
E. coli ETEC + EIEC 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	3/6 tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto estabilizado	Azul	1 vial x 1,8 mL
E. coli Typing 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 tiras de 8 tapones

Referencias

Referencia	Descripción
VS-ECT106L	VIASURE E. coli Typing Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-ECT106H	VIASURE E. coli Typing Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-ECT112L	VIASURE E. coli Typing Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-ECT112H	VIASURE E. coli Typing Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



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

