

VIASURE MULTIPLEX

S. agalactiae, *L. monocytogenes* & *E. coli* Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

La meningitis bacteriana es un tipo de infección bacteriana grave (SBI) en recién nacidos (de 0 a 28 días) y bebés pequeños (de 29 a 90 días). El organismo causal más común es el estreptococo del grupo B, seguido de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*.

Streptococcus agalactiae, o *Streptococcus* del grupo B (GBS), es un patógeno importante que causa infecciones invasivas en recién nacidos y bebés. Las infecciones de GBS en bebés pequeños generalmente se dividen en enfermedad de inicio temprano (EOD, 0-6 días de vida) y enfermedad de inicio tardío (LOD, 7-89 días de vida).

Listeria monocytogenes es un patógeno ubicuo e intracelular responsable de la listeriosis, una enfermedad mortal que presenta los síntomas de aborto, muerte neonatal, septicemia y meningitis. La infección con *Listeria monocytogenes* durante el embarazo se asocia con abortos espontáneos, partos prematuros y complicaciones neonatales, que incluyen sepsis y meningitis.

Escherichia coli causa frecuentemente septicemia y meningitis. Sin embargo, en la actualidad, la patogénesis de la meningitis causada por *E. coli* solo se entiende parcialmente por dos motivos: i) esta enfermedad infecciosa es un proceso complejo formado por múltiples interacciones bacteria-huésped, y ii) la alta diversidad genética de los patotipos entre las cepas de *E. coli* (NMEC) de la meningitis neonatal.

VIASURE *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* & *E. coli* Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* y/o *E. coli* en muestras clínicas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* y *E. coli* se realiza mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y una sonda marcada con fluorescencia que hibridan en una región conservada de los genes *cfb* para *Streptococcus agalactiae*, *hlyA* para *Listeria monocytogenes* y 16S rRNA para *Escherichia coli*.



Sensibilidad analítica

VIASURE *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* & *E. coli* Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción para *S. agalactiae* y *L. monocytogenes* y 2.500 copias de DNA para *E. coli*. (figuras 1, 2 y 3).

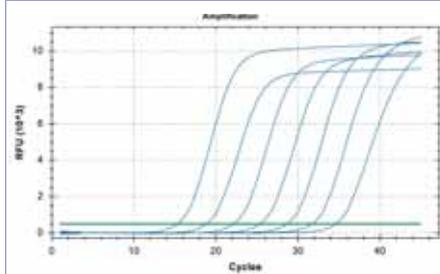


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar *S. agalactiae* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

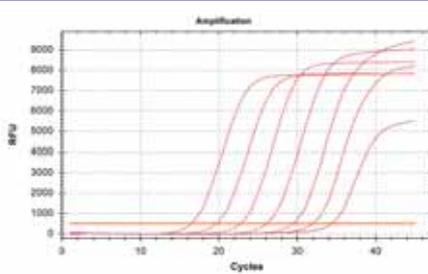


Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar *L. monocytogenes* (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal ROX).

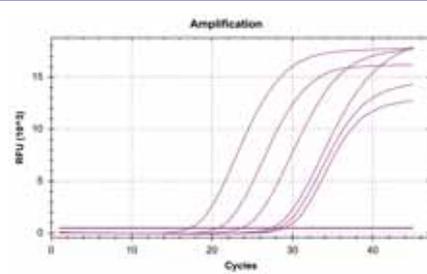


Figura 3. Diluciones seriadas de un estándar *E. coli* (10^7 – 10^4 , 5.000 y 2.500 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal Cy5).

Componentes

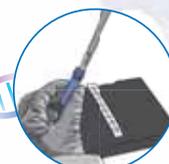
Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
<i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	6/12 tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto estabilizado	Azul	1 vial x 1,8 mL
<i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> 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	Taponés ópticos para sellar los pocillos durante el ciclo térmico	Transparente	6/12 tiras de 8 taponés

Referencias

Referencia	Descripción
VS-SLE106L	VIASURE <i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-SLE106H	VIASURE <i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-SLE112L	VIASURE <i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-SLE112H	VIASURE <i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-SLE113L	VIASURE <i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-SLE113H	VIASURE <i>S. agalactiae</i> , <i>L. monocytogenes</i> & <i>E. coli</i> Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, high profile

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



PASO 1

Reconstituir cada pocillo con 15 μ l del tampón de rehidratación



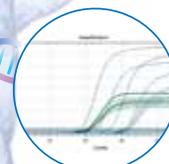
PASO 2

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