

VIASURE MULTIPLEX

Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

Las enfermedades transmitidas por garrapatas comprenden un grupo de infecciones transmitidas a humanos a través de garrapatas infectadas con bacterias, virus o parásitos. Las enfermedades transmitidas por garrapatas que afectan a humanos son: enfermedad de Lyme, fiebre recurrente, babesiosis, anaplasmosis, ehrlichiosis, fiebre Q, encefalitis por Tick Borne y fiebre manchada, entre otros.

La enfermedad de Lyme (o borreliosis de Lyme) es la enfermedad transmitida por garrapatas más común en todo el mundo. Está causada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* y se transmite a los humanos a través de la picadura de garrapatas de patas negras infectadas del género *Ixodes*. Los síntomas típicos de la enfermedad de Lyme son fiebre, dolor de cabeza, fatiga y una erupción cutánea característica llamada eritema migratorio. Si no se trata, la infección puede extenderse a las articulaciones, el corazón y el sistema nervioso.

Borrelia miyamotoi y *B. hermsii* son especies de bacterias en forma de espiral que están relacionadas con las bacterias que causan fiebre recurrente transmitida por garrapatas (TBRF). Identificadas por primera vez en 1995 en garrapatas de Japón, *B. miyamotoi* también se ha detectado en diferentes especies de garrapatas *Ixodes*, mientras que la espiroqueta *Borrelia hermsii* se transmite por su vector garrapata argásida, *Ornithodoros hermsi*. Los pacientes con esta infección tienen más probabilidades de tener fiebre, escalofríos y dolor de cabeza. Otros síntomas comunes son dolor y fatiga corporal y articular.

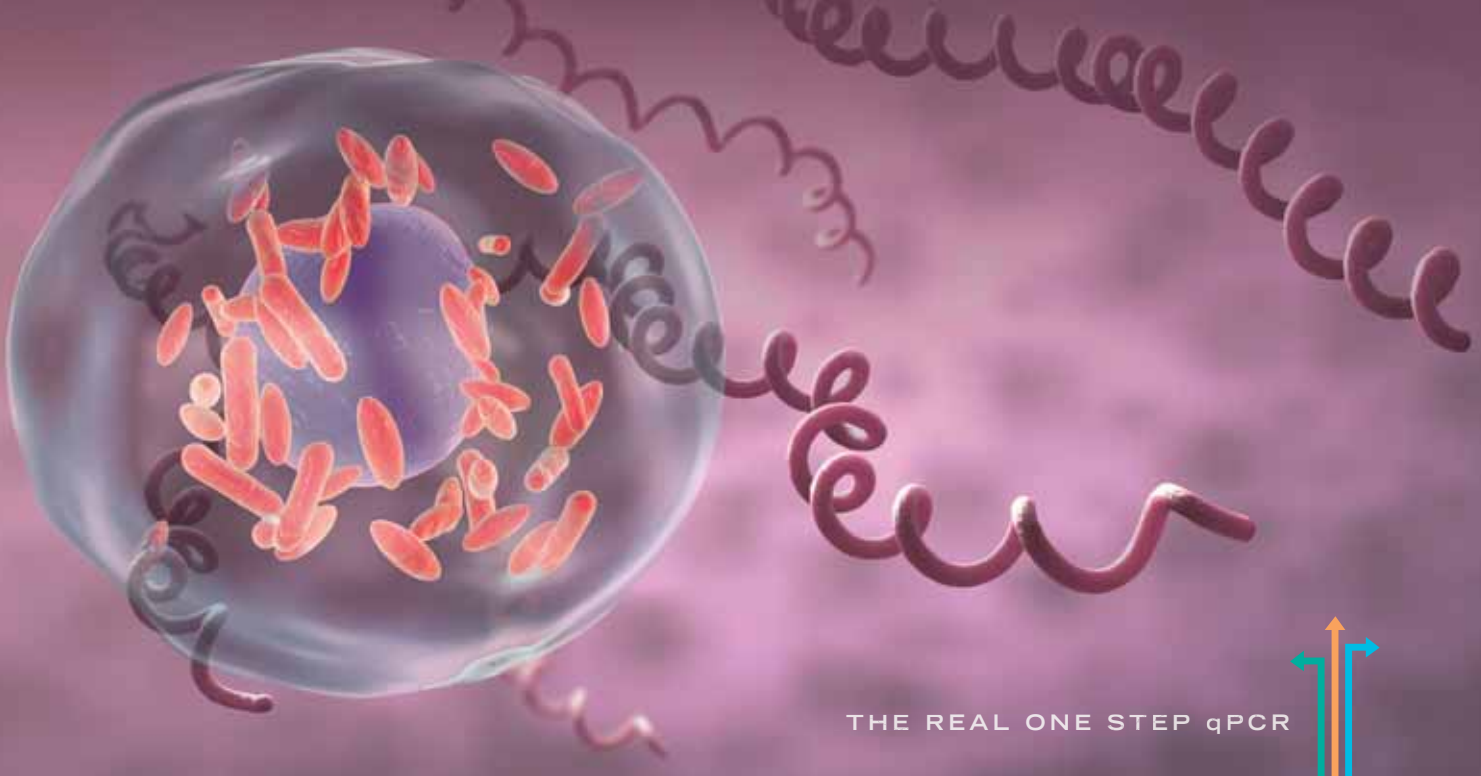
La anaplasmosis está causada por la bacteria *Anaplasma phagocytophilum* y se transmite a humanos a través de garrapatas del género *Ixodes*. La anaplasmosis muestra una gran variabilidad clínica, con síntomas como dolor de cabeza, fiebre, escalofríos, malestar general, dolor muscular, náuseas, tos, confusión y erupción. Si no se

trata correctamente, la anaplasmosis puede evolucionar a manifestaciones clínicas graves e incluso la muerte en <1% de los casos.

La fiebre Q es una zoonosis causada por la bacteria *Coxiella burnetii*. Vacas, ovejas y cabras son el reservorio primario de *Coxiella burnetii*, y su transmisión a humanos tiene lugar principalmente a través de la inhalación de aerosoles procedentes de residuos de animales, aunque también puede transmitirse por picaduras de garrapata. Sólo en torno un 50% de las personas infectadas muestran sintomatología, con síntomas gripales como dolor de cabeza, fiebre, escalofríos, fatiga, dolores musculares, náusea, tos, dolor de pecho y pérdida de peso. En casos graves se puede desarrollar neumonía o hepatitis.

Dado que la mayoría de las enfermedades transmitidas por garrapatas muestran síntomas comunes, el diagnóstico puede ser problemático. La PCR a Tiempo Real es una de las herramientas diagnósticas más sensibles y específicas para la detección del agente causal de estas enfermedades.

VIASURE *Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit* está diseñado para el diagnóstico de *Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.)*, *Borrelia miyamotoi* y/o *B. hermsii*, *Anaplasma phagocytophilum* y/o *Coxiella burnetii* en muestras clínicas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de *Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.)*, *Borrelia miyamotoi* y *B. hermsii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Coxiella burnetii* 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 del gen *B31* (*Borrelia burgdorferi s.l.*, *Borrelia miyamotoi* y *B. hermsii*), el gen *msp2* (*Anaplasma phagocytophilum*) y el gen *IS111* (*Coxiella burnetii*).



Sensibilidad analítica

VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción (Figuras 1, 2 y 3).

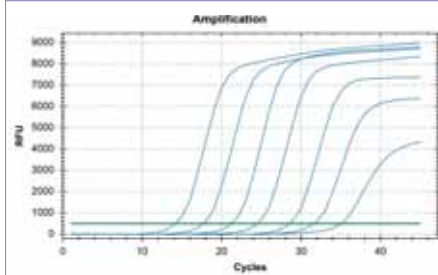


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de *Borrelia burgdorferi*/*Borrelia miyamotoi*/*B. hermsii* (10^7 - 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

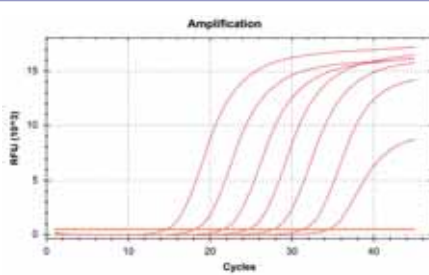


Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de *Anaplasma phagocitophilum* (10^7 - 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal ROX).

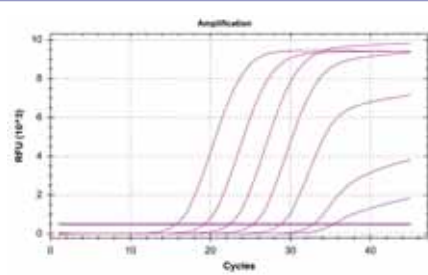


Figura 3. Diluciones seriadas de un estándar de *Coxiella burnetii* (10^7 - 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal Cy5).

Componentes

| Reactivo/Material | Descripción | Color | Cantidad |
|---|---|--------------|--------------------------|
| Borrelia, Anaplasma & Coxiella 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 reconstrucción del producto estabilizado | Azul | 1 vial x 1,8 mL |
| Borrelia, Anaplasma & Coxiella 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-BAC106L | VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile |
| VS-BAC106H | VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile |
| VS-BAC112L | VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile |
| VS-BAC112H | VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile |
| VS-BAC113L | VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile |
| VS-BAC113H | VIASURE Borrelia, Anaplasma & Coxiella 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



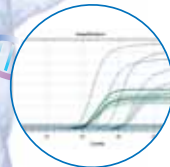
PASO 2

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