

VIASURE MULTIPLEX

E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

E*scherichia coli* (*E. coli*) es un microorganismo gramnegativo que puede ser un residente inocuo del tracto gastrointestinal, pero también tiene la capacidad patogénica de causar enfermedad entérica y enfermedades extraintestinales, como infecciones del tracto urinario (UTIs) y sepsis / meningitis. Las variantes patógenas de *E. coli* (patovares o patotipos) causan mucha morbilidad y mortalidad en todo el mundo, debido a que tienen bajas dosis infecciosas y se transmiten a través de medios ubicuos, como alimentos y agua. De las cepas que causan enfermedades diarreicas, se reconocen seis patotipos: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) y *E. coli* difusamente adherentes (DAEC).

E. coli enterohemorrágica (EHEC) es un subconjunto de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), también llamada *E. coli* productora de verotoxina. Los STEC son un grupo diverso de patógenos transmitidos por los alimentos, que causan un amplio espectro de enfermedades humanas, que van desde la diarrea leve hasta enfermedades humanas graves, incluida la colitis hemorrágica (HC) y una complicación potencialmente mortal del síndrome urémico hemolítico (HUS). Las cepas de STEC y EHEC se pueden transmitir en los humanos mediante el contacto de persona a persona; consumo de carne cruda o poco cocinada, leche cruda y otros productos lácteos; ingestión de otros alimentos o agua potable contaminada con heces de animales; contacto directo con el ganado doméstico y rumiantes que son reconocidos como reservorio principal de las cepas, y agua de baño/recreativa contaminada.

La *E. coli* enteropatogénica (EPEC) también contiene *eae* como EHEC, pero sin toxina tipo shiga. EPEC es una causa importante de diarrea infantil potencialmente

mortal en los países en desarrollo que a menudo se acompaña de fiebre, vómitos y deshidratación en niños menores de 2 años. Se transmite a través de la ruta fecal-oral a través de superficies contaminadas, líquidos de destete y portadores humanos.

Las *E. coli* Enteroinvasivas (EIEC) están bioquímica, genética y patogénicamente relacionadas con *Shigella spp.* Esta infección se caracteriza por fiebre, calambres abdominales y diarrea que contiene sangre y moco. EIEC podría causar una colitis inflamatoria invasiva y, ocasionalmente, disentería, pero en la mayoría de los casos provoca diarrea acuosa que es indistinguible de la provocada por otros patógenos de *E. coli*. La transmisión convencional de EIEC y *Shigella* está mediada a través de la ruta fecal-oral, principalmente a través de alimentos o agua contaminados o de la propagación directa de persona a persona.

VIASURE *E. coli* EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de EHEC, EPEC y/o EIEC/*Shigella* en muestras de heces humanas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de EHEC, EPEC y EIEC/*Shigella* 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 *stx1*, *stx2*, *eae* e *ipaH* para EHEC, EPEC y EIEC/*Shigella*.

VIASURE *E. coli* EHEC + EPEC + EIEC 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 E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA por reacción para los genes *stx1*, *stx2*, *lpaH* y *eae*. (Figuras 1, 2 y 3).

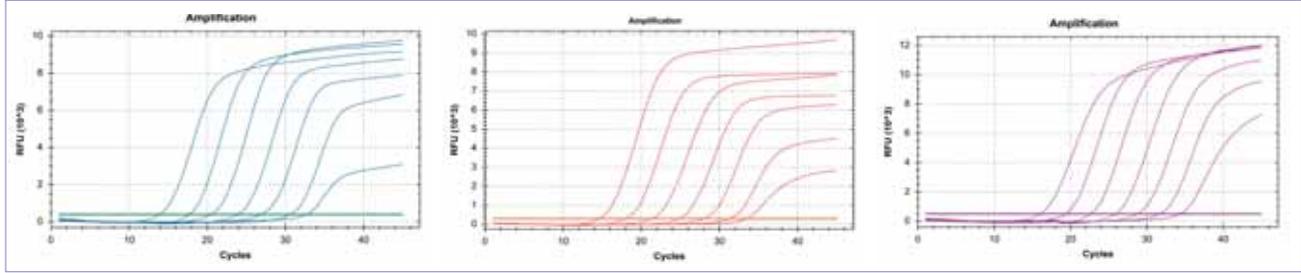


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de los genes *stx1/stx2* (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

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 (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 (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	6/12 tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto estabilizado	Azul	1 vial x 1,8 mL
E. coli EHEC + EPEC + EIEC 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

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



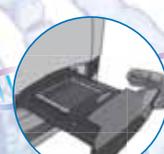
PASO 1

Reconstituir cada pocillo con 15 µl del tampón de rehidratación



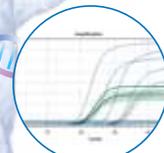
PASO 2

Añadir 5 µl 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-EEE106L	VIASURE E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-EEE106H	VIASURE E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-EEE112L	VIASURE E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-EEE112H	VIASURE E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-EEE113L	VIASURE E. coli EHEC + EPEC + EIEC Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-EEE113H	VIASURE E. coli EHEC + EPEC + EIEC 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

