

VIASURE MULTIPLEX

H. influenzae, *N. meningitidis* & *S. pneumoniae* Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

Las causas más comunes de meningitis bacteriana en adultos son *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Estos organismos se transmiten de persona a persona por contacto cercano con secreciones respiratorias. Una vez adquiridas, puede colonizar la mucosa de la nasofaringe y la orofaringe, lo que se conoce como transporte faríngeo. Desde allí, pueden cruzar la mucosa y entrar en la sangre. Una vez en la sangre, pueden alcanzar las meninges, causando meningitis, u otros sitios del cuerpo causando otros síndromes. La meningitis bacteriana es una afección potencialmente mortal que requiere reconocimiento y tratamiento oportunos.

Haemophilus influenzae, un cocobacilo gramnegativo pleomórfico. Es un microorganismo comensal común del tracto respiratorio superior. Es un patógeno solo para el ser humano que puede causar enfermedad invasiva grave, como meningitis, neumonía y septicemia. Las cepas de *H. influenzae* se dividen en función de la presencia o ausencia de una cápsula de polisacárido; hay 6 serotipos encapsulados (Hia-Hif) y cepas de *H. influenzae* no encapsuladas y no tipificables (NTHi). Entre ellos, las cepas Hib se consideran las más frecuentes.

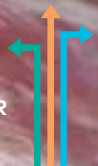
Neisseria meningitidis puede estar encapsulada o no encapsulada. Sin embargo, casi todos los organismos invasivos de *N. meningitidis* están encapsulados o rodeados por una cápsula de polisacárido. Este polisacárido capsular se usa para clasificar *N. meningitidis* en 12 serogrupos. Seis de estos serogrupos causan la gran mayoría de las infecciones en personas: A, B, C, W135, X e Y. Las epidemias de meningitis generalmente son causadas por el serogrupo A, aunque otros brotes también han sido causados por los serogrupos C, W135 y X.

Streptococcus pneumoniae causa infecciones graves

como meningitis, neumonía adquirida en la comunidad (CAP), bacteriemia, bronquitis, sinusitis y otitis media. Hasta la fecha, se han identificado más de 90 serotipos diferentes de *S. pneumoniae* sobre la base de la estructura bioquímica del polisacárido capsular que es un importante factor de virulencia. La distribución de los serotipos puede variar según la edad, la geografía y el tiempo.

El cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR) se considera el método de referencia de diagnóstico para la meningitis bacteriana, y el aislamiento bacteriano es importante para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y la epidemiología molecular. Sin embargo, el cultivo de CSF requiere al menos un día o más, y tiene una sensibilidad limitada. La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) del LCR y de la sangre permite un diagnóstico rápido para la meningitis bacteriana, y la amplificación del DNA de bacterias no viables, podría facilitar el diagnóstico en los casos del cultivo negativo. Usando múltiples enfoques analíticos, encontramos que los ensayos de qPCR en muestras de LCR y de sangre son altamente precisos para el diagnóstico de meningitis por *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*.

VIASURE *H. influenzae*, *N. meningitidis* & *S. pneumoniae* Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de *H. influenzae*, *N. meningitidis* y/o *S. pneumoniae* en muestras clínicas. Tras el aislamiento del DNA, la identificación de *H. influenzae*, *N. meningitidis* y *S. pneumoniae* 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 *hdp* para *Haemophilus influenzae*, *lytA* y *piaA* para *Streptococcus pneumoniae* y *crtA* para *Neisseria meningitidis*.



Sensibilidad analítica

VIASURE *H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae* Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de DNA para *H. influenzae, N. meningitidis* y *S. pneumoniae*. (figuras 1, 2 y 3).

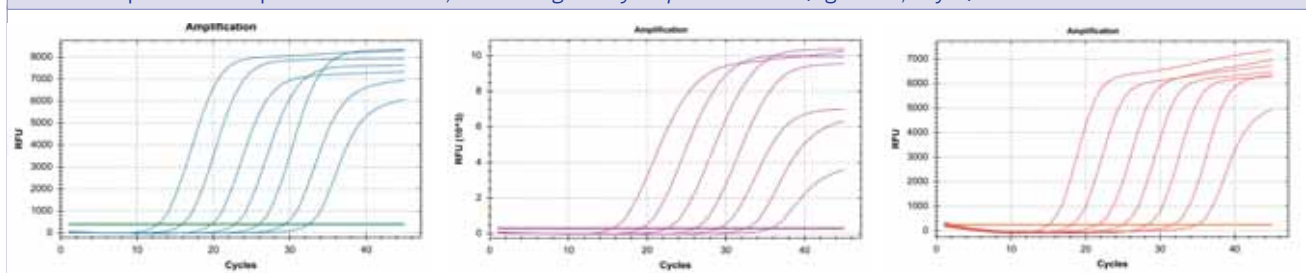


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar *H. influenzae* (10^2 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar *N. meningitidis* (10^2 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal Cy5).

Figura 3. Diluciones seriadas de un estándar *S. pneumoniae* (10^2 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal ROX).

Componentes

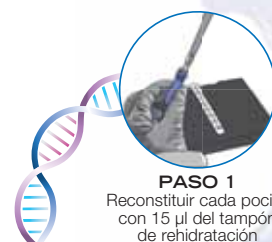
Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
<i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	6/12 tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución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

Referencias

Referencia	Descripción
VS-HNS106L	VIASURE <i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-HNS106H	VIASURE <i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-HNS112L	VIASURE <i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-HNS112H	VIASURE <i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-HNS113L	VIASURE <i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-HNS113H	VIASURE <i>H. influenzae, N. meningitidis & S. pneumoniae</i> Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, high profile

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



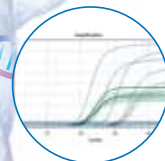
PASO 1
Reconstituir cada pocillo con 15 μ l del tampón de rehidratación



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