

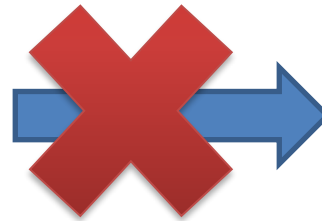
Determinación	<i>Vibrio cholerae</i> por PCR
<p><b>Aplicación Clínica</b></p>	<p>El cólera es una epidemia mundial y es la enfermedad infecciosa más antigua conocida. Desde 1817, se han descrito siete pandemias. Las primeras seis fueron causadas por el biotipo clásico del serogrupo O1 de <i>Vibrio cholerae</i>, y la última fue causada por el biotipo El Tor del serogrupo O1 de <i>V. cholerae</i> (Clemens, Nair, Ahmed, Qadri, &amp; Holmgren, 2017). El serogrupo O139 de <i>V. cholerae</i> se encontró en Bangladesh en 1992 y desde entonces ha sido responsable de algunos brotes, pero nunca se ha identificado fuera de Asia (World Health Organization, 2022). Clínicamente no se han registrado diferencias en la enfermedad causada por ambos serogrupos debido a la expresión de los mismos factores de virulencia, principalmente la toxina del cólera (TC) (World Health Organization, 2022). En los últimos años, se han incrementado los reportes de cepas de serogrupos no O1/no O139 de <i>V. cholerae</i> que producen la TC o que portan el gen de la TC (<i>ctx</i>) (Takahashi et al., 2021), debido a que la patogenicidad y el daño potencial son dignos de atención.</p> <p>En la actualidad, existen tres tipos principales de métodos de detección de <i>V. cholerae</i>:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) Las pruebas basadas en el cultivo. Estas, son consideradas de referencia (“<i>Gold Standard</i>”) para el diagnóstico, a pesar de que se distinguen por la elevada laboriosidad, el tiempo de respuesta prolongado (48 a 72) h y la sensibilidad variable y limitada (Yan et al., 2022).</li> <li>(2) La identificación por espectrometría de masas de tiempo de vuelo (MALDI-TOF): puede analizar perfiles proteicos específicos de bacterias en poco tiempo, en tan solo 10 min, pero requiere del aislamiento mediante cultivo. Solo se puede alcanzar una identificación al nivel de especie de <i>V. cholerae</i> y no se pueden identificar el serogrupo ni la toxigenicidad (Yan et al., 2022).</li> <li>(3) Los métodos basados en la amplificación de ácidos nucleicos, como la PCR en tiempo real. Estos últimos, pueden acortar el tiempo de detección de <i>V. cholerae</i> de días a horas (típicamente no más de 3 h (Greig et al., 2018)). Se destacan, además, por la simplicidad, la objetividad del análisis y la interpretación de los resultados y la elevada sensibilidad, especificidad y eficiencia. Por ello, las pruebas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos son las que mejor satisfacen las necesidades de prevención y el control del cólera (Yan et al., 2022).</li> </ol>
<p><b>Uso previsto</b></p>	<p>Facilitar el diagnóstico, la prevención y el control del cólera, mediante la detección por PCR en tiempo real, de cuatro marcadores genéticos que ofrecen criterios para definir:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ La infección por <i>V. cholerae</i>.</li> <li>○ La tipificación mediante la detección de marcadores específicos de los serogrupos O1 y O139 de <i>V. cholerae</i>.</li> <li>○ La toxigenicidad mediante la detección de uno de los genes de la toxina (<i>ctxA</i>) de <i>V. cholerae</i>.</li> </ul>

**Tipos de Muestras**

1. Heces fecales frescas estabilizadas en medio **Cary-Blair líquido**. A continuación, se representan ejemplos de los medios válidos.



**ATENCIÓN: No se aceptarán muestras de heces fecales colectadas en medios Cary-Blair sólidos.**



**NO SE ACEPTARÁ**

2. Heces fecales frescas **sin estabilizar, preferentemente en frasco de orina estéril** (solo en caso de que no esté disponible el medio Cary-Blair líquido).



<b>Flebotomistas</b>	<p><b>Preparación del paciente:</b> El paciente no requiere preparación previa.</p> <p><b>Colección de la muestra de HECES FECALES:</b> El paciente deberá aportar un frasco o recipiente limpio con una muestra de deposiciones frescas (colectadas en un periodo no mayor de 24 horas).</p> <p><u>Preparación o procesamiento de la muestra:</u> Si está disponible, las muestras de heces fecales deberán estabilizarse en el medio de conservación y transporte <b>Cary-Blair líquido</b>. Siga las instrucciones del fabricante.</p>											
<b>Condiciones de estabilidad, conservación y transporte de la muestra</b>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2" style="background-color: #cccccc;">Tipo de muestra</th> <th colspan="2" style="background-color: #cccccc;">Condiciones</th> </tr> <tr> <th style="background-color: #cccccc;">Temperatura</th> <th style="background-color: #cccccc;">Estabilidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">Heces fecales</td> <td style="text-align: center;">(2 a 8) °C</td> <td style="text-align: center;">24 horas</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Heces fecales en medio Cary-Blair líquido</td> <td style="text-align: center;">(2 a 8) °C ≤ -20 °C</td> <td style="text-align: center;">4 días 1 mes</td> </tr> </tbody> </table> <p><i>Los tiempos de estabilidad comprenden al tiempo que media desde la toma de la muestra hasta la ejecución de la prueba.</i></p>	Tipo de muestra	Condiciones		Temperatura	Estabilidad	Heces fecales	(2 a 8) °C	24 horas	Heces fecales en medio Cary-Blair líquido	(2 a 8) °C ≤ -20 °C	4 días 1 mes
Tipo de muestra	Condiciones											
	Temperatura	Estabilidad										
Heces fecales	(2 a 8) °C	24 horas										
Heces fecales en medio Cary-Blair líquido	(2 a 8) °C ≤ -20 °C	4 días 1 mes										
<b>Departamento que procesa</b>	<b>BIOLOGÍA MOLECULAR</b> Sede Central											
<b>Días de procesamiento y entrega de resultados</b>	<p><b>Días de procesamiento:</b> Lunes a viernes: a partir de las 3:00 pm (hora de procesamiento de las muestras). Sábado: a partir de las 10:00 am.</p> <p><b>NOTA:</b> Las muestras que no se reciban antes de la hora indicada, deberán esperar el próximo día de procesamiento.</p> <p><b>Tiempo de entrega de los resultados:</b> Antes de completarse las 28 horas, a contar desde que la muestra sea recibida en el departamento de procesamiento.</p>											

### Anexos

<b>Tipo de Cambio:</b>	X	Modificado	X	Añadido		Sustituido
------------------------	---	------------	---	---------	--	------------

- Se incluye en la sección: Tipos de Muestras, fotos del medio a usar y recipientes para la toma de muestras