

VIASURE MULTIPLEX

MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

El primer caso de síndrome respiratorio de Oriente Medio (Middle East respiratory syndrome, MERS), se dio en Arabia Saudí en 2012. Desde entonces, todos los casos de MERS se han relacionado con viajar a o vivir en los países de la Península Arábiga y alrededores, incluyendo el gran brote que tuvo lugar en la República de Corea en 2015. La enfermedad está causada por un nuevo coronavirus llamado MERS-CoV.

Los coronavirus son virus encapsulados con una única gran hebra de RNA de sentido positivo que se clasifican como una familia dentro del orden *Nidovirales*. Se han identificado cuatro géneros de coronavirus: alfa, beta, gamma y delta. Todos los coronavirus humanos pertenecen a los géneros alfa y beta, y el MERS-CoV pertenece a los beta-coronavirus de linaje C.

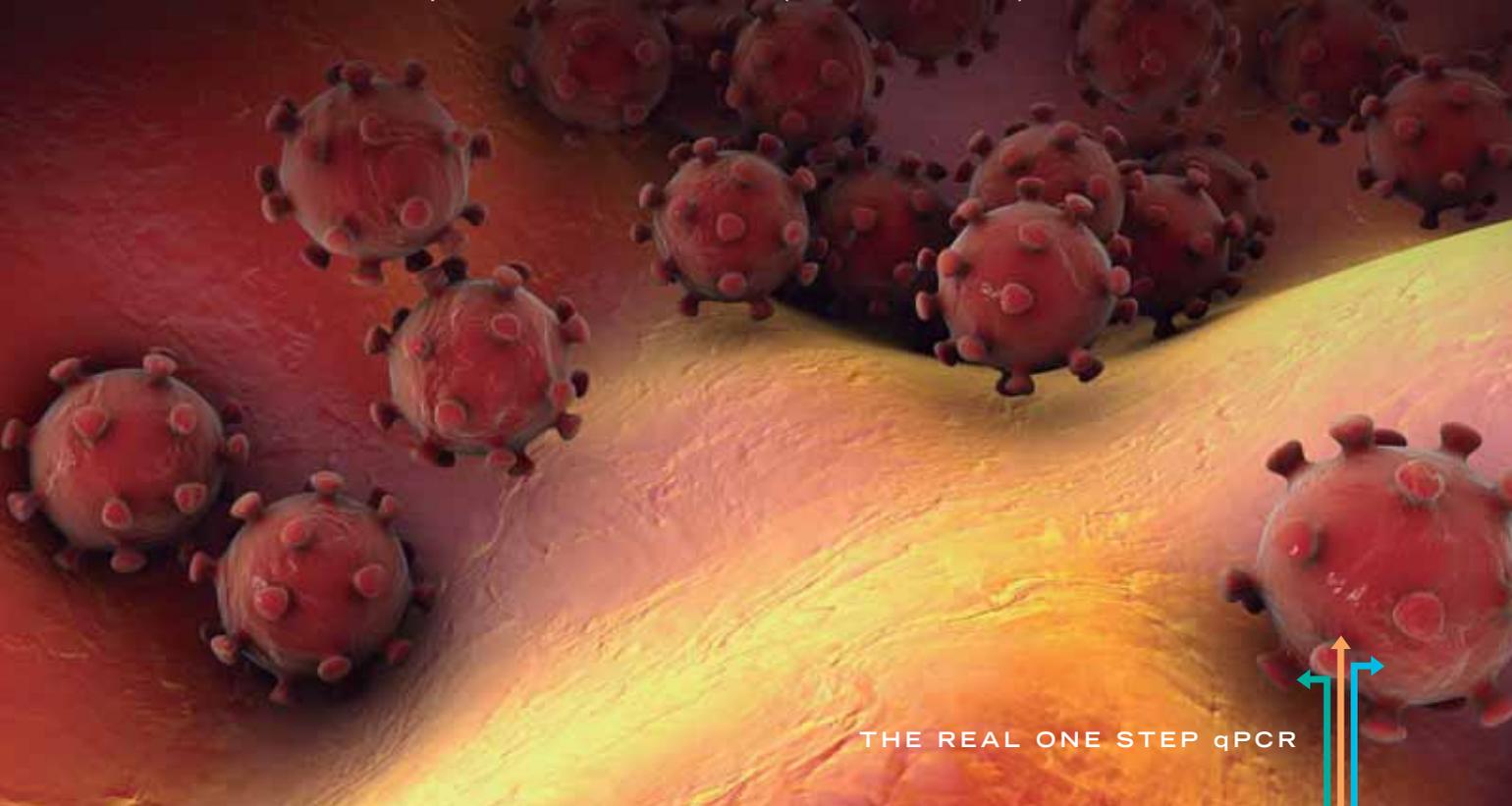
El MERS se considera una infección zoonótica. Se cree que el virus se originó en murciélagos gracias al aislamiento de otros beta-coronavirus de linaje C muy próximos filogenéticamente. Sin embargo, se piensa que los camellos son el principal reservorio huésped y la fuente de infección para los humanos, ya que portan cepas de MERS-CoV idénticas a las humanas. La transmisión entre humanos se produce por contacto próximo, probablemente a través de las secreciones respiratorias de las personas infectadas.

Los síntomas clínicos de la infección por MERS-CoV van desde asintomáticos o síntomas respiratorios leves a enfermedad respiratoria aguda y fallecimiento de casi un 40% de los pacientes infectados. La

presentación típica de la enfermedad incluye fiebre, tos y falta de aire. También se dan frecuentemente neumonía y problemas gastrointestinales.

El diagnóstico de MERS-CoV puede hacerse con herramientas de detección de anticuerpos como ensayos de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) o ensayos de inmunofluorescencia (IFA), pero estos métodos tienen que ser siempre confirmados por ensayos de neutralización. También se han desarrollado tests diagnósticos basados en PCR. Un diagnóstico adecuado debería incluir dos ensayos diferentes: un ensayo de screening dirigido a una zona sensible de RNA *upstream* del gen E (*upE*), y un ensayo de confirmación dirigido a los *open reading frames* 1b (*ORF 1b*) o preferiblemente 1a (*ORF 1a*).

VIASURE MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de MERS Coronavirus en muestras clínicas. La detección se realiza a través de la retrotranscripción en un solo paso y posterior amplificación a tiempo real de la secuencia diana, produciéndose ambas reacciones en el mismo pocillo. Tras el aislamiento del RNA, se sintetiza el DNA complementario a la secuencia diana gracias a la retrotranscriptasa o transcriptasa inversa. Posteriormente la identificación del MERS Coronavirus 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 *upstream* del gen E (*upE*) (MERS Coronavirus 1), y el *open reading frame* 1a (*ORF 1a*) (MERS Coronavirus 2).



Sensibilidad analítica

VIASURE MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de RNA por reacción (Figura 1 y 2).

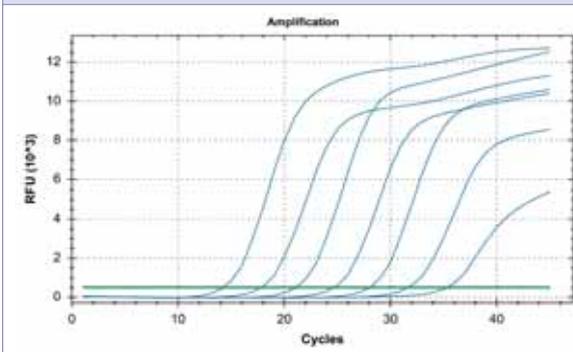


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de MERS Coronavirus 1 (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

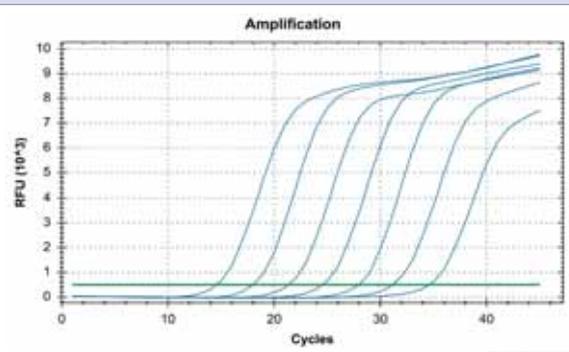


Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de MERS Coronavirus 2 (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

Componentes

Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
MERS Coronavirus 1 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	6/12 x tiras de 8 pocillos
MERS Coronavirus 2 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	6/12 x tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstitución del producto estabilizado	Azul	1 vial x 1,8 mL
MERS Coronavirus 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 x tiras de 8 taponés

Referencias

Referencia	Descripción
VS-MER106L	VIASURE MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-MER106H	VIASURE MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-MER112L	VIASURE MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-MER112H	VIASURE MERS Coronavirus Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



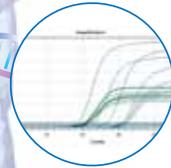
PASO 1
Reconstituir cada pocillo con 15 μ l del tampón de rehidratación



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



CERTEST BIOTEC, S.L.
Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (ESPAÑA)
www.certest.es

