

# VIASURE MULTIPLEX

## Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit

### Patógeno. Descripción

Los rinovirus humanos (RVH) y los enterovirus humanos (EVH) son la causa más común de infecciones en personas de todo el mundo. Son miembros del género *Enterovirus* de la familia de virus *Picornaviridae*. Son virus pequeños (30 nm de diámetro) con un genoma de RNA monocatenario de 7.000 a 7.500 nucleótidos encerrados en una cápside icosaédrica. Los RVH incluyen 153 tipos conocidos actualmente divididos en tres especies (A, B y C), mientras que los EVH consisten en 104 tipos que pertenecen a cuatro especies (A, B, C y D). Tradicionalmente, los enterovirus humanos se clasifican en poliovirus y no enterovirus (coxsackievirus, echovirus y enterovirus numerados).

Los RVH son la causa habitual del resfriado común, pero también se encuentran con frecuencia en infecciones de otitis media, sinusitis, bronquitis, neumonía y en las exacerbaciones del asma. Por lo tanto, debido a que están muy localizados en el tracto respiratorio, el modo de transmisión es principalmente a través de aerosoles de gotitas respiratorias y de fómites (superficies contaminadas), incluido el contacto directo de persona a persona. Actualmente no existe un tratamiento antiviral específico para la infección por rinovirus.

A diferencia de los RVH, la replicación de EVH no está restringida al tracto respiratorio sino que también puede tener lugar en el intestino delgado y diseminarse a varios órganos diana. Se transmiten fácilmente de persona a persona a través del aire y / o vía fecal-oral, o incluso a través de objetos contaminados. La mayoría de las infecciones por EVH son asintomáticas o manifiestan síntomas comunes similares a los del resfriado. Sin embargo, las infecciones por EVH pueden ser más graves, causando poliomielitis, meningitis, encefalitis, miocarditis, exantema, conjuntivitis hemorrágica aguda e infecciones generalizadas graves en recién

nacidos. Por lo tanto, la recolección de muestras para el diagnóstico de EVH debe realizarse de acuerdo con las manifestaciones clínicas. El líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre, muestras respiratorias y muestras de heces se usan comúnmente.

El diagnóstico diferencial de las infecciones por RVH y EVH es epidemiológicamente importante. La identificación específica de estos virus tiene implicaciones para el tratamiento de los pacientes y será más significativa cuando haya disponibilidad de medicamentos antivirales específicos. Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos han reemplazado el aislamiento de virus en cultivos celulares como el método de elección para la detección de picornavirus, en parte debido a la notable sensibilidad, especificidad y rapidez de tales técnicas. Los RVH de la especie C, recientemente identificados, no se pueden cultivar en líneas celulares estándar, pero se pueden amplificar mediante PCR de transcripción reversa (RT). Tanto los RVH como los EVH conservan regiones 5' no codificantes (NCR) y algunos motivos de secuencia casi idénticos, lo que permite el diseño de cebadores universales para su amplificación en RT-qPCR. Se ha demostrado que la RT-PCR es mucho más sensible que el cultivo celular para la detección de estos virus.

VIASURE *Rhinovirus + Enterovirus* Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de *Rhinovirus* y/o *Enterovirus* 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 de *Rhinovirus* y *Enterovirus* 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 del gen 5'UTR.



## Sensibilidad analítica

VIASURE Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de  $\geq 10$  copias de RNA por reacción para Rhinovirus y Enterovirus (figuras 1 y 2).

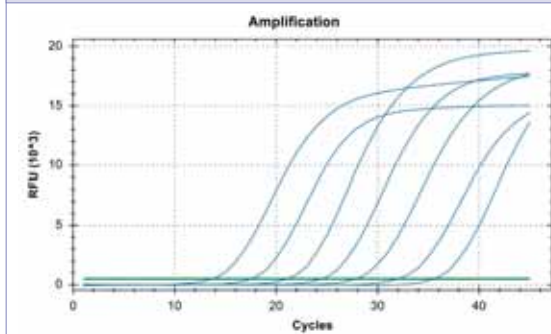


Figura 1. Diluciones seriadas de Rhinovirus ( $10^7$ - $10^1$  copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

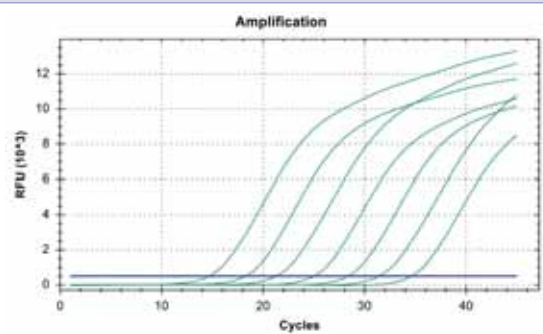


Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de Enterovirus ( $10^7$ - $10^1$  copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System (canal HEX).

## Componentes

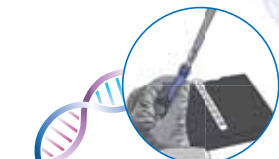
Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
Rhinovirus + Enterovirus 8-well strips	Una mezcla de enzimas, cebadores-sondas, tampón, dNTPs, estabilizadores y Control interno en formato estabilizado	Blanco	6/12 tiras de 8 pocillos
Rehydration Buffer	Solución para la reconstrucción del producto estabilizado	Azul	1 vial x 1,8 mL
Rhinovirus + Enterovirus 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	Taponos ópticos para sellar los pocillos durante el ciclo térmico	Transparente	6/12 x tiras de 8 taponos

## Referencias

Referencia	Descripción
VS-RHE106L	Viasure Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-RHE106H	Viasure Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-RHE112L	Viasure Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-RHE112H	Viasure Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-RHE113L	Viasure Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-RHE113H	Viasure Rhinovirus + Enterovirus Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, high profile

## Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



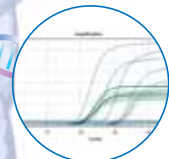
**PASO 1**  
Reconstituir cada pocillo con 15 µl del tampón de rehidratación



**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