

VIASURE MULTIPLEX

Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit

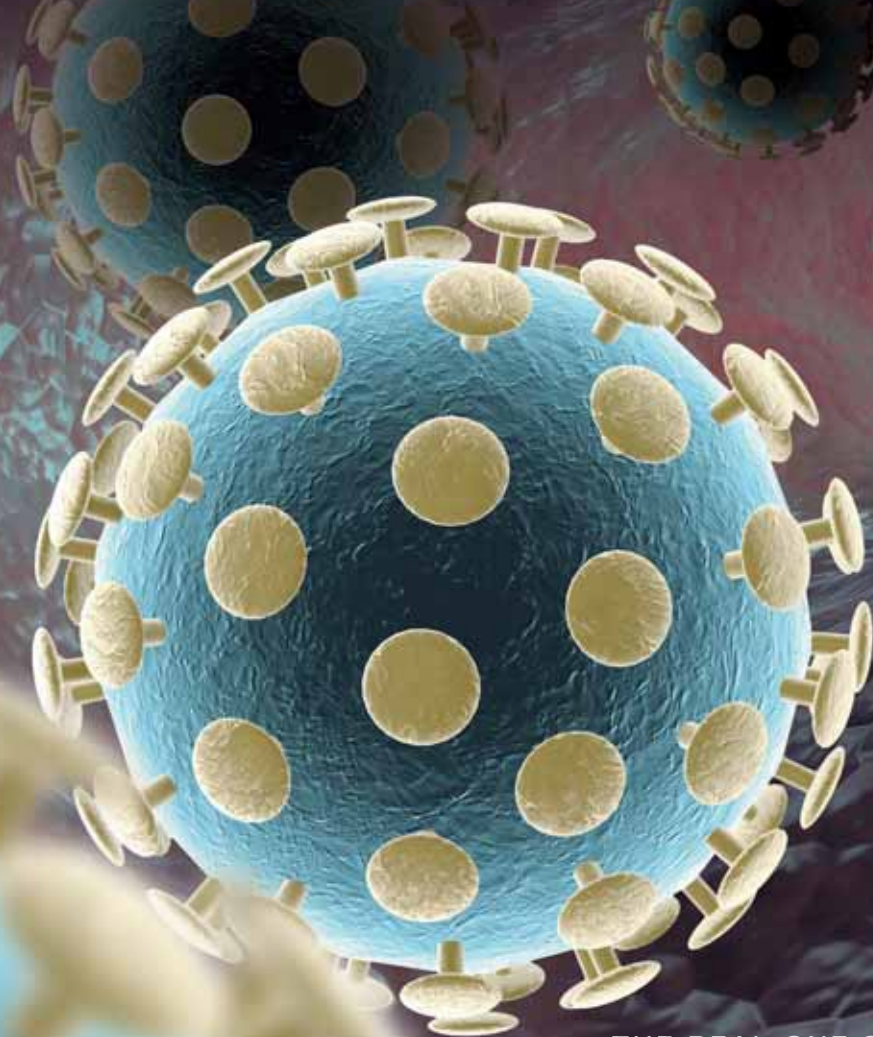
Patógeno. Descripción

Las enfermedades del tracto respiratorio inferior son responsables de, aproximadamente, cuatro millones de muertes anuales a nivel mundial. Una gran cantidad de virus son responsables de esto, entre ellos los Coronavirus, pertenecientes a la familia de los *Coronaviridae*.

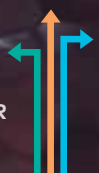
Estos virus se caracterizan por estar directamente relacionados con enfermedades del tracto respiratorio, digestivo, o el sistema nervioso central, siendo los síntomas más comunes fiebre, problemas digestivos, rinitis, faringitis, laringitis, otitis, bronquitis, bronquiolitis, neumonía, o complicaciones más severas como la meningitis. Los Coronavirus que afectan a los humanos de forma más común son las cepas CHoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 y HCoV-HKU1. Aunque sus vías de transmisión no están claramente especificadas, pese a ser un virus ubicuo, se sospecha que el aire puede ser su principal vehículo de transmisión. Los Coronavirus humanos son difíciles de diagnosticar, tanto por las escasas diferencias sintomatológicas entre cepas como por

ser, normalmente, coidentificados con otros virus respiratorios como los virus de la influenza o el virus respiratorio sincitial.

VIASURE *Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit* está diseñado para el diagnóstico y el subtipaje de las cepas Coronavirus 229E, NL63, OC43 y HKU1 en muestras respiratorias. 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. Posteriormente, la identificación de estos virus 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 de la *nucleoproteína* en las cepas 229E, OC43 y NL63 y el gen *replicasa* en el caso de la cepa HKU1.



THE REAL ONE STEP qPCR



Sensibilidad analítica

VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 50 copias de RNA por reacción para Coronavirus NL63, HKU1 y OC43 (Figuras 1, 2 y 3); y ≥ 10 copias de RNA por reacción para Coronavirus 229E (Figura 4).

Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de Coronavirus NL63 (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal ROX).

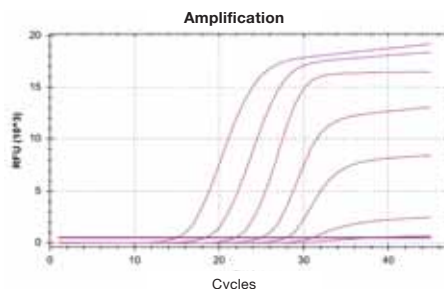
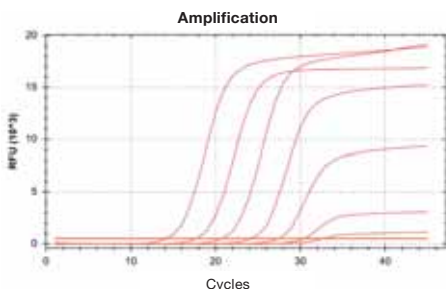


Figura 3. Diluciones seriadas de un estándar de Coronavirus OC43 (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal Cy5).

Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de Coronavirus HKU1 (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal HEX).

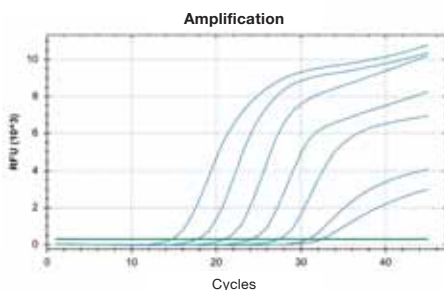
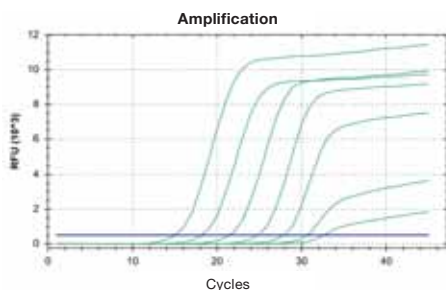


Figura 4. Diluciones seriadas de un estándar de Coronavirus 229E (10^7 – 10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal FAM).

Componentes

Reactivo/Material	Descripción	Color	Cantidad
Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 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
Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 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 RNA extraído



PASO 1

Reconstituir cada pocillo con 15 μ l del tampón de rehidratación



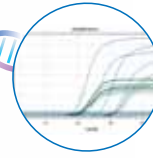
PASO 2

Añadir 5 μ l de la muestra de RNA / control positivo / control negativo



PASO 3

Colocar las tiras en el termociclador e iniciar el protocolo específico



PASO 4

Interpretar los resultados

Referencias

Reference	Description
VS-COR106L	VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-COR106H	VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-COR112L	VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-COR112H	VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-COR113L	VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-COR113H	VIASURE Coronavirus 229E + NL63 + OC43 + HKU1 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

