

VIASURE MULTIPLEX

Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit

Patógeno. Descripción

Norovirus (NoV) pertenece a la familia de *Caliciviridae* y se considera la principal causa de gastroenteritis aguda no bacteriana en todos los grupos de edad en todo el mundo. NoVs se clasifican en seis genogrupos distintos (GI-GVI) basados en diferencias en VP1. En particular, los genogrupos GI, GII y GIV infectan a los seres humanos. Además, los genogrupos se dividen en genotipos definidos en base a las secuencias de la RNA polimerasa y/o de la proteína de la cápside VP1. Hasta la fecha, en base al análisis filogenético de la secuencia de la cápside se han reconocido nueve genotipos en el genogrupo GI y veintidós en el GII, y solamente se han detectado tres genotipos del GII (GII.11, GII.18 y GII.19) en cerdos. Entre ellos, GII.4 es responsable de la mayoría de los brotes de norovirus en todo el mundo.

Tras un período de incubación de 12 a 48 h, la enfermedad causada por Norovirus se caracteriza por vómitos en proyectil, diarrea sin sangre, náuseas, calambres abdominales y fiebre de bajo grado. Los Norovirus pueden infectar a los humanos a través de múltiples vías, incluyendo la vía oral, transmitida a través del contacto con la materia fecal o por aerosolización de los vómitos de las personas infectadas, así como las superficies contaminadas, los alimentos o el agua.

El genoma de Norovirus consiste en un RNA

monocatenario de sentido positivo que contiene tres open reading frames (ORFs). El ORF1 codifica un polipéptido de seis proteínas no estructurales, incluyendo la RNA-polimerasa dependiente de RNA (RdRp), el ORF2 codifica la proteína principal de la cápside, VP1, mientras que el ORF3 codifica la proteína estructural menor de la cápside, VP2. La mayoría de los ensayos de RT-PCR en tiempo real para Norovirus GI y GII van dirigidos a región de unión de la RNA polimerasa y la cápside (ORF1-ORF2 junction), que es la región del genoma de Norovirus más altamente conservada.

VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit está diseñado para el diagnóstico de Norovirus GI y/o Norovirus GII en muestras de heces humanas. La detección de Norovirus GI y GII 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 se lleva a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando oligonucleótidos específicos y una sonda marcada con fluorescencia que hibrida con una región diana conservada de la zona de unión ORF1-ORF2 para Norovirus GI y GII.



Sensibilidad analítica

VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de RNA por reacción para Norovirus GI y Norovirus GII (Figura 1 y 2).

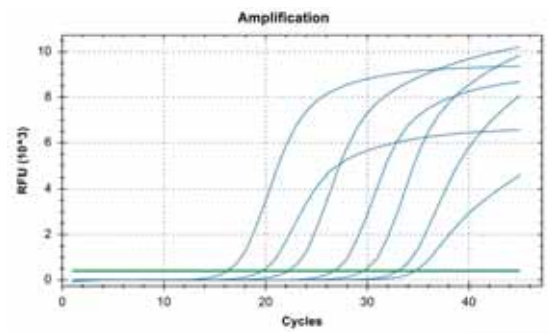
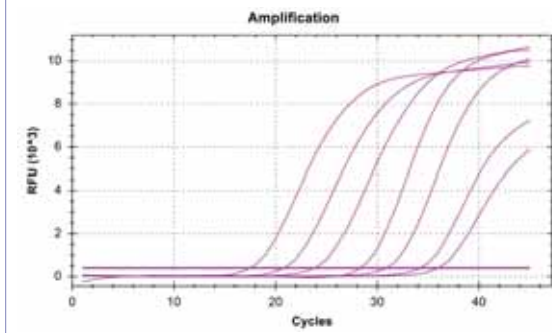


Figura 1. Diluciones seriadas de un estándar de Norovirus GI (10^7-10^1 copias/reacción). Experimento realizado en el equipo Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (canal Cy5).

Figura 2. Diluciones seriadas de un estándar de Norovirus GII (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
Norovirus GI + GII 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
Norovirus Positive Control	cDNA sintético liofilizado no infeccioso	Rojo	1 vial
Extraction Control	Ácido Nucleico liofilizado no infeccioso	Verde	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 x tiras de 8 tapones

Metodología

Rehidratación de los pocillos y adición del DNA extraído



Referencias

Referencia	Descripción
VS-NOR106LE	VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, low profile
VS-NOR106HE	VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit 6 x 8-well strips, high profile
VS-NOR112LE	VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, low profile
VS-NOR112HE	VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit 12 x 8-well strips, high profile
VS-NOR113LE	VIASURE Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection Kit 96-well plate, low profile
VS-NOR113HE	VIASURE Norovirus GI + GII 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

