



## Los Arrays y el desafío del diagnóstico de múltiples agentes etiológicos

 11 min.



BioMérieux nos presenta en este artículo un menú de diversos KITS con tecnología CLART® (Clinical Array Technology) desarrollada por Genómica SAU, una metodología simple que puede implementarse en cualquier laboratorio de biología molecular, que permite la identificación de múltiples patógenos. Este sistema presenta varias ventajas entre las que podemos destacar la obtención de un perfil completo de patógenos, alta confiabilidad y la obtención de resultados rápidos.



Paula Beluardi  
Molecular Biology and ImmunoAssay Product Manager  
BioMérieux Argentina



E-mail:  
paula.beluardi@biomerieux.com



*Las necesidades actuales de diagnóstico rápido y certeza en los resultados llevan al laboratorio de hoy a buscar alternativas novedosas para aplicarse en el diagnóstico de rutina. bioMérieux presenta en este artículo un menú diverso de KITS que posibilitan la identificación de múltiples patógenos a partir de diversos tipos de muestras en pocas horas, cumpliendo con la premisa de resultados rápidos para la resolución favorable de los pacientes.*

Los profesionales de la salud, aquí y en el resto del mundo, se enfrentan diariamente a desafíos que acompañan cambios progresivos cotidianos. La evolución del

estilo de vida, la aparición de nuevos microorganismos patógenos, la necesidad de reducción de costos sanitarios, el relevancia clínica del diagnóstico *in vitro*, son sólo algunos ejemplos de esto. El laboratorio no es ajeno a estos cambios y debe acompañar al resto de los profesionales y a la sociedad en general en este proceso. Hoy, el diagnóstico de las enfermedades se ve como un todo y los resultados emitidos por el laboratorio (diagnóstico *in vitro*) son una de las piezas importantes del rompecabezas que ayuda al abordaje completo y preciso del paciente.

Hace ya muchos años que la Biología Molecular está siendo utilizada como metodología diagnóstica, las ventajas de la biología molecular son numerosas y cada vez son más los profesionales que eligen esta metodología como opción a la hora de informar un resultado. Hoy, los médicos demandan soluciones más complejas, sobre todo si se trata de enfermedades infecciosas, soluciones que involucran el diagnóstico o exclusión de más de un patógeno. Dentro de la Biología Molecular hay muchas técnicas que pueden utilizarse para el diagnóstico *in vitro*. Dentro de estas patologías donde la definición del agente causal es crucial, la tecnología Array es una de ellas.

La tecnología CLART® (Clinical Array Technology), desarrollada por Genómica SAU, permite la realización de análisis de rutina en laboratorios de Biología Molecular, utilizando una plataforma tecnológica que consiste en imprimir micro-Arrays de baja densidad en el fondo de un micro-well. El área del microarray incluye 120 puntos que son hibridados con secuencias específicas (sondas) que se pegan al material genético (previamente amplificado)

proveniente de la muestra., se revelan y luego el análisis de los Arrays es llevado a cabo por el CAR® (Clinical Array Reader).

El CAR® posee las siguientes características:

- Analiza y realiza en forma automática el informe de los resultados.
- Puede leer y analizar de 1 hasta 96 muestras por corrida.
- Tiene pantalla táctil (touch screen).
- Puede ser conectado a un LIS.
- Permite imprimir/exportar los resultados.
- Realizar "back up" y tres reportes complementarios por muestra.

Todos los Kits diagnósticos CLART® comparten 4 simples pasos para su realización y en menos de 6 horas se pueden detectar múltiples targets patógenos presentes en una misma muestra.

- 1) Extracción: la extracción de los ácidos nucleicos de la muestra a analizar debe ser una extracción genérica, ósea, la misma debe ser tanto de ADN como de ARN para permitir la amplificación de virus a ADN y a ARN.
- 2) Amplificación: los kits de CLART® Genómica vienen con tubos de amplificación de 0,2 ml con reactivos listos para usar.
- 3) Hibridización: consta básicamente de un paso de pegado de los productos de amplificación a las sondas que se encuentran en el Array, lavados y revelado.
- 4) Visualización: este paso se realiza en el CAR®, donde los arrays son fotografiados y los patrones obtenidos son analizados por el software que mediante algoritmos determina si una muestra es positiva o negativa. Posteriormente se emite el resultado (figura 1).



Figura 1. Informe de resultados.

RESULTS		
<b>PneumoVir</b>		Analysis code: 04002
Test reference:	1	Export
AT code:	1186104304507	Print
Analysis type:	End point detection	
Date and time:	2007-01-03 16:33	

  

Virus	VIRUS	
	Result	Controls
Respiratory Syncytial Vir A	Negative	Passed
Respiratory Syncytial Vir B	<b>POSITIVE</b>	Passed
Rhinovirus	Negative	Passed
Influenza A	<b>POSITIVE</b>	Passed
Influenza B	Negative	Passed
Influenza C	Negative	Present

Archive Image Raw data Results

2007-01-03 16:38:46

CLART® está diseñada específicamente para su uso en diagnóstico in vitro, adaptada para el flujo de trabajo diario en el laboratorio. La variedad de los kits diagnósticos permite el abordaje de distintas patologías con la posibilidad de informar resultados individualizados.

En Argentina, actualmente, están disponibles para su comercialización los

siguientes kits diagnósticos con tecnología CLART®.

CLART® ENTHERPEX detecta la presencia en muestras clínicas (torundas, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo y biopsias) de los 8 virus herpes humanos: HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV, HHV-6, HHV-7 y HHV-8; y de los tres virus más importantes desde el punto de vista clínico humano de la familia de Enterovirus, pero sin diferenciarlos entre ellos: Poliovirus, Echovirus y Coxsackievirus.

Las principales ventajas de este kit son:

- Detección simultánea de aquellos virus que causan un gran espectro de enfermedades e infecciones, ya que pueden detectarse coinfecciones.
- Obtención de un perfil completo y amplio de infecciones virales.
- Lectura e interpretación de los resultados automática.
- Alta sensibilidad y especificidad.
- Fácil manejo de los resultados.
- Cada target es identificado en cuadruplicado con el objeto de eliminar uniones inespe-

cíficas.

- Reporte individual de cada uno de los virus.
- Dos controles de calidad incluidos por muestra. Control de amplificación: elimina los resultados falso negativos. Marcadores de Biotina: chequea el apropiado desarrollo de los reactivos del Kit.

CLART® PneumoVir es capaz de detectar y caracterizar la presencia de los 19 tipos y subtipos más frecuentes de virus humanos que causan infecciones respiratorias en las muestras clínicas más comunes, incluida la detección específica del subtipo de Influenza A causante de la Nueva Gripe A (H1N1/2009). Bocavirus; Coronavirus; Enterovirus (Echovirus); Influenza virus A (subtipos H3N2 humano, H1N1 humano, B, C y H1N1/2009); Metapneumovirus (subtipos A y B); Parainfluenza virus 1, 2, 3, y 4 (subtipos A y B); Rhinovirus; Virus Sincitial Respiratorio tipo A (VSR-A); Virus Sincitial Respiratorio tipo B (VSR-B). Basado en la amplificación de fragmentos específicos del genoma del virus y la posterior detección mediante la hibridación con sondas de captura

**Iris**<sup>®</sup>  
Diagnostics Division

## Sistema Automatizado de Urinalysis



**BIODIAGNOSTICO**

Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" C1107APB - Buenos Aires Argentina Tel./Fax: +54 11 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar

específicas de cada virus, lo que conlleva una serie de ventajas:

- Alta sensibilidad permitiendo la detección de cantidades mínimas de ADN. Esto supone una gran ventaja en muestras clínicas en las que la cantidad de moléculas de virus son escasas.
- Detección simultánea de múltiples virus presentes en una misma muestra.
- Elevada especificidad, al utilizar una secuencia correspondiente a una región altamente conservada dentro del genoma vírico y sondas de captura específicas para cada tipo de virus respiratorio.
- Fácil de estandarizar en un laboratorio hospitalario.
- Detección temprana y obtención de un perfil completo
- Fácil interpretación de los resultados.
- Cada target es identificado en triplicado con el objeto de eliminar uniones inespecíficas.
- Reporte individual de cada uno de los virus.
- Dos controles de calidad incluidos por muestra. Control de amplificación: elimina los resultados falso negativos. Marcadores

de Biotina: chequea el apropiado desarrollo de los reactivos del Kit.

CLART® HPV 2 detecta la presencia de los 35 virus de HPV (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 85 y 89) con mayor importancia clínica en distintos tipos de muestras humanas (frotis, suspensiones celulares y tejido fijado en formol e incluido en parafina). Detecta infecciones y coinfecciones de hasta 35 genotipos en un único tubo, lo que conlleva un amplio número de ventajas:

- Su alta sensibilidad permite la detección de cantidades mínimas de ADN vírico
- La elevada especificidad, al utilizar una secuencia correspondiente a una región altamente conservada dentro del genoma vírico y sondas de captura específicas para cada tipo de PVH.
- Fácil de estandarizar en un laboratorio hospitalario.
- Pueden detectarse coinfecciones de distintos genotipos de HPV.
- Detección temprana de presencia de HPV.
- Fácil manejo de los resultados.

- Cada target es identificado en triplicado con el objeto de eliminar uniones inespecíficas.

- Reporte individual de cada uno de los virus.
- Tres controles de calidad incluidos por muestra. Control de ADN Genómico: chequea la correcta extracción y adición de muestra al test. Control de Amplificación: elimina resultados falso negativos. Marcadores de Biotina: chequea el apropiado desarrollo de los reactivos del Kit.

CLART® MetaMone es un test que analiza genes involucrados en desórdenes del metabolismo óseo. Informa los genotipos de varios polimorfismos presentes en el gen de Receptor de Calcitonina, Receptor de Estrógenos, Colágeno 1 A1 y el receptor de Vitamina D. La información provista por los genes target de CLART® MetaBone pueden ser esenciales para la reducción del riesgo a desórdenes del metabolismo óseo y ayuda a la decisión terapéutica para tratamientos específicos. Este nuevo concepto de análisis de polimorfismos en estos genes ayudaría al éxito de las terapias

Analizadores para la medición de pH, gases en sangre, electrolitos,  $SO_2$ , Hb y glucosa.

**OPTI® R / OPTI® CCA-TS / OPTI® LION**

 **OPTIMedical**

[www.optimedical.com](http://www.optimedical.com)

**OPTI® R** Analizador de gases en sangre con cassettes reusables.

**OPTI® CCA-TS** Analizador portátil de gases en sangre.

**OPTI® LION** Analizador de electrolitos.



**OPTI® R**



**OPTI® CCA-TS**



**OPTI® LION**



  
**BG Analizadores**

**BG ANALIZADORES S.A.**  
Aráoz 86 | C1414DPB | C. A. B. A. | Argentina  
Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876  
Fax: 54-11 4856-5652  
[www.bganalizadores.com.ar](http://www.bganalizadores.com.ar)  
[bga@bganalizadores.com.ar](mailto:bga@bganalizadores.com.ar)

a través de la medicina personalizada.

El análisis con CLART MetaBone es útil en los siguientes casos:

- Historia familiar de osteoporosis
- Problemas Hormonales
- Ingesta prolongada de esteroides o anti-convulsivos.
- Evaluación de patología del metabolismo ósea antes de un trasplante.
- Prevención de patología del metabolismo óseo antes de un trasplante.

Próximamente estarán disponibles en Argentina los siguientes productos CLART®:

- CLART® SeptiBac: detección de bacterias, levaduras, hongos y genes resistencia a partir de hemocultivos.
- CLART® EnteroBac: detección de enterobacterias a partir de materia fecal.
- CLART® CMA (Cáncer Mutation Array): detección cualitativa de SNPs en KRAS, BRAF y PI3K, tres de los oncogenes asociados a cáncer colonrectal.

Como conclusión, la metodología

CLART® de Genómica:

- Permite la obtención de resultados rápidos: en 6-8 hs.
- Permite obtener el perfil completo de patógenos presentes en una muestra.
- Tiene alta sensibilidad y especificidad, asegurando la calidad de los resultados.
- Tiene controles internos en cada muestra, que documentan la validez de los resultados.
- Posee alta confiabilidad, por la amplificación y posterior hibridación en el Array.
- Es una metodología simple que puede implementarse en cualquier laboratorio de biología Molecular.

#### Bibliografía

1. "Clinical Performance of the CLART® Human Papillomavirus 2 Assay Compared With the Hybrid Capture 2 Test". Angela Pista, Nuno Verdasca and Ana Oliveira. Journal of Medical Virology 2011 83:272-276 (2011).
2. "External quality assessment for molecular detection of human papillomaviruses". Elizabeth J.Fagana, Catherine Mooreb, Claire Jenkins, c. Anneline Rossouw, Heather A. Cubie, Vivienne L.A. James, Journal of Clinical Virology 48(2010) 251-254.
3. "HPV DNA genotyping vs. cytology in a population of 50.000 women as a part of cervical cancer prevention program". Doménech G.1, De los Ríos R., González M.J., Acitores C.1, Tamames S., Salazar O., Villahermosa M. L., Cospedal R. and Castrodeza Sanz J.J. Presented on the 26th IPC, Montreal 2010.
4. "High frequency of multiple HPV types in cervical specimens from Danish women". Nina Mejhlhede, Jesper Bonde, Anders Fomsgaard. APMIS 2009, 117: 108-114.
5. "Prevalence of HPV Infection among females in the United States". Eileen F.

- Dunne; Elizabeth R. Unger; Maya Sternberg; et al. JAMA. 2007; 297(8):813-81.
6. "Rapid Detection of Respiratory Tract Viral Infections and Coinfections in Patients with Influenza-like Illnesses by Use of RT-PCR DNA Microarray Systems". Fanny Renois, Deborah Talmud, Antoine Huguenin, Lauriane Moutte, Christophe Strady, Joel Cousson, Nicolas Léviqve and Laurent Andréoletti\*. J. Clin. Microbiol. doi:10.1128/JCM.00733-10.
7. "Characterization of viruses causing Human Respiratory Infections via Genomic Identification for in vitro diagnosis. CLINICAL ARRAYS/CLART PneumoVir". Aleman A., Marcos MA, Pena MJ, Muir P, Vipond B, Macias A, Villahermosa ML. Poster Session at ECCMID 2008, Barcelona.
8. "An Innovative Low density Array for the Multiple Detection of Respiratory Viruses". J. Maslin, P. Bigot, T. Gaillard, C. Martinaud, G. Menard, P. Brisou. Presented at: 15 th International Symposium on HIV and Emerging Infectious Diseases, May 2008, Toulon, France.
9. "LHHV7: co-facteur des infections méningées à entérovirus ?". Adrien Van Haecke, Amélie Sandré, Lauriane Moutte, Antoine Huguenin, Fanny Renois, Christophe De Champ, Véronique Brodard, Laurent Andréoletti, Nicolas Léviqve. Presented at RICAL 2009.
10. "Evaluation of a new commercial PCR-DNA microarray for rapid and simultaneous detection of viruses responsible for central nervous system infections". Nicolas Leveque, Adrien Van Haecke, Fanny Renois, Laurent Andréoletti.
11. "Combining Multiplex Reverse Transcription-PCR and a Diagnostic Microarray to Detect and Differentiate Enterovirus 71 and Cocksackievirus A16". Tsan-Chi Chen, Guang-Wu Chen, Chao Agnes Hsiung, Jyh-Yuan Yang, Shin-Ru Shih, Yiu-Kay Lai, Jyh-Lyh Juang. Journal of Clinical Microbiology. 44(6), 2212-2219 (2006).
12. "DNA microarrays for virus detection in cases of central nervous system infection". Boriskin YS, Rice PS, Stabler RA, Hinds J, Al-Ghusein H, Vass K, Butcher PD. Journal of Clinical Microbiology. 42(12), 5811-5818 (2004).
13. "The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene 1 associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women". Coleman et al. Journal of Bone and Mineral Research (1996) 11, 12, 1850-1855.
14. "Meta-Analysis of Col1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture". Mann V., Ralston SH. Bone (2003). 32 (6):711-717.
15. "Early postmenopausal bone loss is associated with PvuII estrogen receptor gene polymorphism in Finnish women: effect of hormone replacement therapy". Journal of Bone and Mineral Research, Salmen et al. 15 (2000) (2): 315-321.
16. "Association of CTR and col1A1 alleles with BMD values in peri and post-menopausal women". Calcif Tissue Int. Braga et al. (2000) 67, 361-366.



**LABORATORIO DE MEDICINA**  
ANÁLISIS CLÍNICOS | Dr. Raul Gutman



ACREDITADOS BAJO LA NORMA  
NM ISO 15189:2008  
Consulte el alcance acreditación en: [www.oaa.org.ar](http://www.oaa.org.ar)

## MAS DE 30 AÑOS DE TRAYECTORIA REFERENTES NACIONALES EN CALIDAD Y SERVICIO

- Provisión de insumos para garantizar la etapa pre-analítica
- Recolección diaria de muestras con logística propia
- Consulta de resultados on-line
- Asesoramiento bioquímico especializado en cada área

