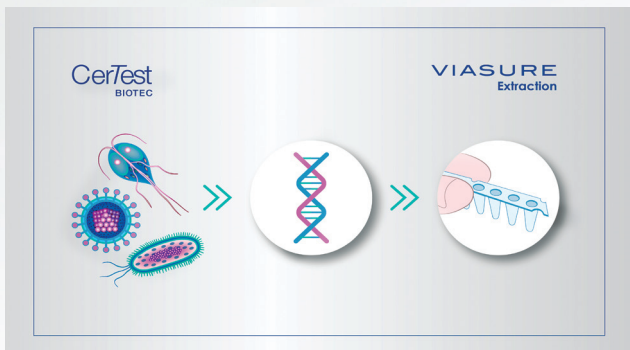


Extracción rápida, una herramienta para simplificar el diagnóstico molecular

María Martínez-Santolaria. CerTest Biotec, S.L.



“Con los avances en la biología molecular se han desarrollado múltiples equipos que realizan la extracción de los ácidos nucleicos de forma totalmente automatizada en un corto periodo de tiempo”

El uso de técnicas basadas en la biología molecular para el diagnóstico de enfermedades infecciosas ha crecido de forma muy notable en los últimos años. Estas técnicas permiten establecer el diagnóstico de forma mucho más precoz y fiable, a la vez que permiten la monitorización de la enfermedad, establecer su pronóstico y aumentar la supervivencia.

El diagnóstico molecular requiere de un paso previo de extracción de los ácidos nucleicos desde la muestra del paciente. La elección del método de extracción más adecuado es crucial y hay que considerar los requisitos técnicos, la eficiencia en el tiempo, la efectividad en el coste y el material genético de los especímenes que se van a extraer.

Existen distintos métodos de extracción de ácidos nucleicos comúnmente extendidos en el diagnóstico clínico, desde manuales hasta automáticos. Todos ellos se caracterizan por la lisis celular, la inactivación de las enzimas nucleasas celulares y la separación de los ácidos nucleicos de los demás restos celulares. Además, algunos de ellos constan de etapas de lavado para purificar todavía más el producto obtenido.

De los procedimientos manuales destacan los basados en la adsorción del ácido nucleico en columnas de sílice con su posterior elución. Este sistema consta de numerosas etapas que, como no han sido automatizadas, no sólo ralentizan el proceso y por tanto el diagnóstico, sino que implican mucha manipulación por parte del usuario para su correcta ejecución.

Con los avances en la biología molecular se han desarrollado múltiples equipos que realizan la extracción de los ácidos nucleicos de forma totalmente automatizada en un corto periodo de tiempo, lo cual, en un principio, supone una gran ventaja en este primer paso del proceso.

No obstante, la preparación inicial requerida implica la intervención de personal y la inversión de un tiempo casi igual o incluso superior a lo que el equipo tarda en obtener el ácido nucleico. Además, requieren de bastante espacio para instalar las plataformas, usan materiales y reactivos específicos no intercambiables que pueden sufrir rupturas de stock, y son económicamente costosos, lo que limita su acceso a centros sanitarios con menos recursos.

Para poder ofrecer a los usuarios finales nuevas opciones que mejoren los procedimientos empleados hoy en día, sin disminuir la calidad del ácido nucleico, CerTest Biotec está desarrollando un método alternativo de extracción de los ácidos nucleicos.

Este procedimiento no es una extracción al uso. Mientras que las extracciones convencionales constan de numerosas etapas, las “extracciones rápidas” se centran en la lisis de los patógenos y la liberación de los ácidos nucleicos. De hecho, su principal objetivo es simplificar el proceso lo máximo posible manteniendo su compatibilidad con las técnicas moleculares. Para conseguirlo, se utiliza una combinación de tratamientos químicos, térmicos e incluso mecánicos. La muestra clínica se combina con una mezcla de reactivos químicos (proteasas, inhibidores de RNasas/DNasas, detergentes, quelantes, soluciones tampón, etc.) y se somete a un tratamiento térmico. Finalmente, el producto se emplea directamente en las técnicas moleculares.

Conseguir un buen producto de “extracción rápida” requiere, especialmente, evitar la degradación de los ácidos nucleicos, mantener la eficiencia de la técnica diagnóstica y lograr que sea lo más universal posible. Para ello, uno de los puntos clave en la investigación son los compuestos que eliminan o captan inhibidores, y la incorporación de potenciadores que puedan mejorar la eficiencia de la técnica diagnóstica. De esa forma, el producto es más flexible y puede ser utilizado en distintas matrices con diferentes composiciones. Otro aspecto importante es encontrar reactivos que permitan estabilizar el RNA. En los métodos de extracción tradicionales se utilizan las denominadas sales de guanidinio, que son agentes caotrópicos que degradan eficazmente las RNasas y DNasas. Sin embargo, las concentraciones que se necesitan hacen que su uso no sea compatible directamente con las técnicas moleculares empleadas, y se requiera, al igual que ocurre con otros inhibidores, de las etapas de lavado para eliminarlas. Todo ello, aumenta el número de etapas en los protocolos y el tiempo necesario para aislar los ácidos nucleicos.

Así, la investigación de compuestos alternativos a los tradicionales en estos métodos de “extracción rápida” nos permite simplificar las etapas de aislamiento, manteniendo su compatibilidad con las técnicas moleculares, y reduciendo la manipulación, los reactivos utilizados y el tiempo empleado. Con todo ello, CerTest Biotec quiere conseguir, y ofrecer al sistema sanitario, un procedimiento de aislamiento de ácidos nucleicos rápido, sencillo, seguro, económico y eficiente.