



# PLEX ID

## Универсальная технология биоидентификации

*Другие методы дают ответ на вопрос  
- присутствует ли данный патоген в моем  
образце?*

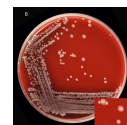
*Plex-ID дает ответ на вопрос  
- какие патогены присутствуют в моем образце!  
(David J. Ecker, разработчик технологии Plex-ID)*

**Plex-ID** – новая платформа **Abbott Molecular**, призванная совершить революцию в методологии идентификации возбудителей инфекционных заболеваний. Уникальное решение, сочетающее избирательный и чувствительный метод ПЦР с точным масс-спектрометрическим анализом ампликонов, не имеет аналогов и позволяет обнаруживать самые разнообразные биологические организмы, включая бактерии, вирусы, грибки и простейшие.

Кроме того, система эффективно используется в судебной медицине для идентификации личности.



Традиционные подходы требуют проведения целого ряда экспериментов по тестированию на наличие микроорганизмов и принадлежность их к конкретному виду. Для проверки наличия других микроорганизмов, необходимо проводить дополнительные испытания. Plex-ID System решает эту проблему!



### Принцип метода **Plex-ID**

Система биоидентификации PLEX-ID объединяет запатентованную систему ПЦР-праймеров широкого покрытия и масс-спектрометрию. При помощи этой технологии можно идентифицировать присутствующие в образце организмы (схемы 1,2).

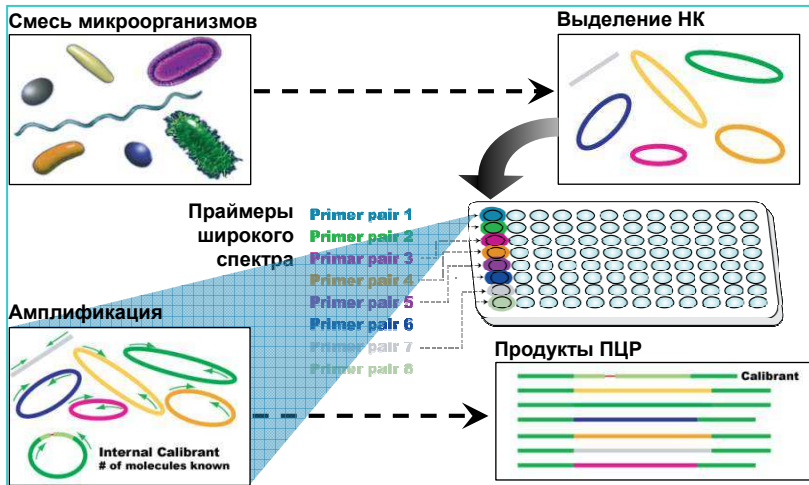


Схема 1.

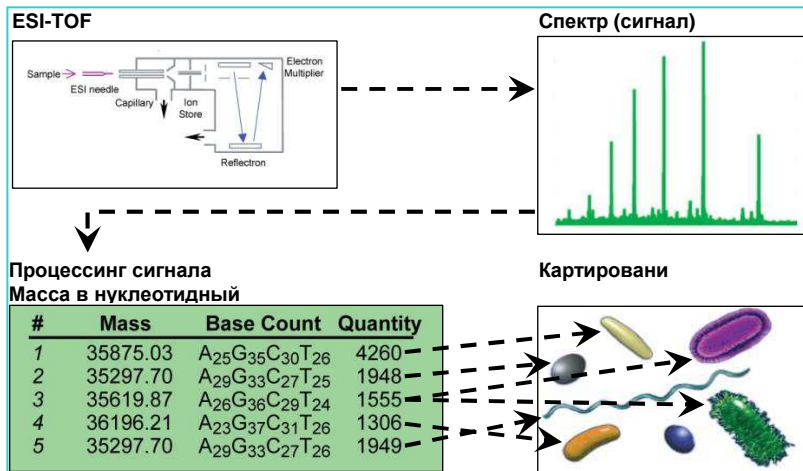
Подготовка ампликонов для анализа ESI-TOF масс-спектрометрией:

- лизис и подготовка пробы
- выделение ДНК и/или РНК
- раскапывание в планшеты
- ПЦР

Схема 2.

МС-анализ и обработка спектра:

- анализ цепей ДНК методом электроспрей-ионизация
- компьютерный расчет нуклеотидного состава
- картирование на известные записи в базе данных



Primer pair	Sequence
E. coli	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Cox. burnetii	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Leg. pneumophila	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Ricket. prowazekii	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Mycob. tuberculosis	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Trep. pallidum	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Bacillus anthracis	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Staph. aureus	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Staph. epidermidis	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Strep. agalactiae	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Strep. mutans	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Strep. pneumoniae	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC
Strep. pyogenes	ACCCGCTAALACGTCGACCTGGTGGTTCGCC-CTGA-GGGTGGCTTCGCGGCTAACGCTATTGTCGAC

Праймеры широкого покрытия амплифицируют фрагменты патогенов, как известных, так и неизвестных, после чего методом масс-спектрометрии устанавливаются их молекулярные веса.

Программное обеспечение системы биоидентификации PLEX-ID автоматически преобразует эти данные в понятные клиницисту результаты. Весь процесс – от взятия образца до получения ответа – занимает менее восьми часов.



Таким образом, система биоидентификации PLEX-ID реализует технологию, позволяющую идентифицировать организм и провести генотипирование штамма в ходе единого рабочего процесса с момента получения образца. Система позволяет автоматически обработать сотни образцов за 24 часа. Полученные результаты существенно повышают эффективность работы в области микробиологии и судебной медицины.

## Интерпретация данных

Ключевым элементом системы биоидентификации PLEX-ID является база данных геномной информации, позволяющая от композиции оснований перейти к уникальной нуклеотидной последовательности. База данных постоянно пополняется благодаря тесному сотрудничеству Ibis Biosciences со своими пользователями и партнерами.

Система биоидентификации PLEX-ID позволяет получить данные о нуклеотидном составе нескольких участков гена путем параллельной амплификации. Организмы, соответствующие обнаруженной композиции оснований, идентифицируются по базе данных ампликонов.

Sample	QC	Organism	Strain	Serotype	Score	Primer Pairs							
						Flu_ALL_PB1 (VIR2798)	FluA_Nuc (VIR1266)	1279	1287	2775	2777	1261	1275
1	✓	Influenza A virus	A/California/04/2009-PA SNP	H1N1	6/6	A40 G31 C23 T34 49208 [-1 +1 +1 -1]	A35 G21 C20 T25 19955 [0 0 0]	A24 G28 C24 T29 16670 [0 0 0]	A35 G26 C27 T24 27810 [0 0 0]	A36 G35 C20 T28 16365 [0 0 0]	A34 G29 C16 T26 10150 [0 0 0]	-	-
2	✓	Influenza A virus	A/California/04/2009		6/6	A40 G31 C23 T34 49506 [-1 +1 +1 -1]	A35 G21 C20 T25 18927 [0 0 0]	A24 G28 C24 T29 25412 [0 0 0]	A36 G25 C27 T24 20808 [0 0 0]	A36 G35 C20 T28 18565 [0 0 0]	A34 G29 C16 T26 11477 [0 0 0]	-	-
3	✓	Influenza A virus	A/California/04/2009		6/6	A40 G31 C23 T34 720 [-1 +1 +1 -1]	A35 G21 C20 T25 1324 [0 0 0]	A24 G28 C24 T29 647 [0 0 0]	A36 G25 C27 T24 840 [0 0 0]	A36 G35 C20 T28 390 [0 0 0]	A34 G29 C16 T26 115 [0 0 0]	-	-

База данных геномной информации постоянно пополняется данными о новых штаммах и микроорганизмах.

### Область применения

- ✚ Система биоидентификации PLEX-ID становится особенно важной при вспышках эпидемий и госпитальных инфекций, так как дает возможность быстро получать критически важную информацию и мгновенно реагировать. Система биоидентификации PLEX-ID позволяет не только идентифицировать возбудителя, но и дифференцировать близкородственные инфекционные агенты.

В настоящее время доступно большое количество тест-систем, которые одновременно и специфически характеризуют самые разнообразные штаммы. Система биоидентификации PLEX-ID применяется в следующих областях:

- ✚ Клинические исследования
- ✚ Эпидемиологические исследования
- ✚ Идентификация возбудителей госпитальных инфекций
- ✚ Судебная медицина

Система биоидентификации PLEX-ID обеспечивает высокопроизводительную, универсальную идентификацию патогенов в самых разнообразных образцах и сложных смесях всего лишь за один анализ. Возможности системы позволяют использовать ее для Поиска и идентификации микроорганизмов; микросателлитного анализ на основе STR-локусов; SNP-анализа; анализ митохондриальной ДНК

**Возможности системы:**

- ✚ Вместимость лотка подачи: 15 96-луночных планшет
- ✚ Автоматическое обессоливание ампликонов
- ✚ Автоматический ввод образцов из 96 -луночных планшет в масс-спектрометр
- ✚ Система ионизации фрагментов и детектирования масс; Метод ионизации: электроспрей; детектор: TOF
- ✚ Возможность загрузки планшет в обычном и экстренном режиме без остановки системы
- ✚ Возможность создания и печати отчетов с принтера в комплекте

**Компоненты прибора Plex-ID:**

- Автоматическая станция обессоливания на основе магнитных частиц
- Рабочая компьютерная станция для обработки данных и управления прибором (Pentium 4 процессор, не менее 2 GHz; Операционная система Windows XP; RAM не менее 1 GB)
- Масс-спектрометр ESI TOF
- Вакуумный насос, компрессор, источник бесперебойного питания
- Сканер штрих-кодов
- Расходные материалы (в зависимости от типа образца и вида анализа)

**Дополнительно в комплект системы входят:**

1. Прибор для механической подготовки бактериальных и грибковых образцов
2. Система для экстракции ДНК и РНК с помощью магнитных частиц
3. Роботизированная система подготовки 96-луночных планшет
4. ПЦР-амплификатор (термоциклер)

**Публикации:**

- Hannis JC, Manalili SM, Hall TA, Ranken R, White N, Sampath R, Blyn LB, Ecker DJ, Mandrell RE, Fagerquist CK, Bates AH, Miller WG, Hofstadler SA. High Resolution Genotyping of *Campylobacter* Using PCR and High-Throughput Mass Spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2008. Feb 13: [Epub ahead of print].
- Blyn LB, Hall TA, Libby B, Ranken R, Sampath R, Rudnick K, Moradi E, Desai A, Metzgar D, Russell KL, Freed NE, Balansay M, Broderick MP, Osuna MA, Hofstadler SA, Ecker DJ. Rapid Detection and Molecular Serotyping of Adenovirus using PCR followed by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2007. Dec 19: [Epub ahead of print].
- Eshoo MW, Whitehouse CA, Zoll ST, Massire C, Pennella TT, Blyn LB, Sampath R, Hall TA, Ecker JA, Desai A, Wasieloski LP, Li F, Turell MJ, Schink A, Rudnick K, Otero G, Weaver SC, Ludwig GV, Hofstadler SA, Ecker DJ. Direct broad-range detection of alphaviruses in mosquito extracts. *Virology.* 2007. Jul 24: [Epub ahead of print].
- Sampath R, Russell KL, Massire C, Eshoo MW, Harpin V, Blyn LB, Melton R, Ivy C, Pennella TT, Li F, Levene H, Hall T, Libby B, Fan N, Walcott DJ, Ranken R, Pear M, Schink A, Gutierrez J, Drader J, Moore D, Metzgar D, Addington L, Rothman R, Gaydos CA, Yang S, St. George K, Fuschino ME, Dean AB, Stallknecht D, Goekjian G, Yingst S, Monteville M, Saad MD, Whitehouse CA, Baldwin C, Rudnick KH, Hofstadler SA, Lemon SM, Ecker DJ. Global Surveillance of Emerging Influenza Virus Genotypes by Mass Spectrometry. *PLoS ONE.* 2007. 2: e489.
- Sampath R, Hall TA, Massire C, Li F, Blyn LB, Eshoo MW, Hofstadler SA, Ecker DJ. Rapid identification of emerging infectious agents using PCR and electrospray ionization mass spectrometry. *Ann N Y Acad Sci.* 2007. 1102: 109-20.
- Jiang Y, Hall TA, Hofstadler SA, Naviaux RK. Mitochondrial DNA Mutation Detection by Electrospray Mass Spectrometry. *Clin Chem.* 2006. 53(2): 195-203. Epub Dec 7.

- Ecker DJ, Drader JJ, Gutierrez J, Gutierrez A, Hannis JC, Schink A, Sampath R, Blyn LB, Eshoo MW, Hall TA, Tobarmosquera M, Jiang Y, Sannes-Lowery KA, Cummins LL, Libby B, Walcott DJ, Massire C, Ranken R, Manalili S, Ivy C, Melton R, Levene H, Harpin V, Li F, White N, Pear M, Ecker JA, Samant V, Knize D, Robbins D, Rudnick K, Hajjar F, Hofstadler SA. *The Ibis T5000 Universal Biosensor: An Automated Platform for Pathogen Identification and Strain Typing*. JALA. 2006. 6(11): 341-351.
  - Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA, Bajaksouzian S, Adams JM, Donskey CJ, Ecker DJ, Massire C, Eshoo MW, Sampath R, Thomson JM, Rather PN, Craft DW, Fishbain JT, Ewell AJ, Jacobs MR, Paterson DL, Bonomo RA. *Multi-drug Resistant Acinetobacter spp. Isolates from Military and Civilian Patients Treated at the Walter Reed Army Medical Center: Analysis of Antibiotic Resistance Genes*. Antimicrob Agents Chemother. 2006. 50(12): 4114-23.
  - Ecker JA, Massire C, Hall TA, Ranken R, Pennella TT, Agasino Ivy C, Blyn LB, Hofstadler SA, Endy TP, Scott PT, Lindler L, Hamilton T, Gaddy C, Snow K, Pe M, Fishbain J, Craft D, Deye G, Riddell S, Milstrey E, Petrucelli B, Brisse S, Harpin V, Schink A, Ecker DJ, Sampath R, Eshoo MW. *Identification of Acinetobacter species and genotyping of Acinetobacter baumannii by multilocus PCR and mass spectrometry*. J Clin Microbiol. 2006. 44(8): 2921-32.
  - Russell KL, Broderick MP, Franklin SE, Blyn LB, Freed NE, Moradi E, Ecker, DJ, Kammerer PE, Osuna MA, Kajon AE, Morn CB, Ryan MA. *Transmission dynamics and prospective environmental sampling of adenovirus in a military recruit setting*. J Infect Dis. 2006. 194(7): 877-85. Epub 2006 Aug 25.
  - Hofstadler SA, Hari KL, Sampath R, Blyn LB, Eshoo MW, Ecker DJ. *Detection of Microbial Agents Using Broad-range PCR with Detection by Mass Spectrometry: The TIGER Concept*. Chapter in Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods. 2006.
  - Hofstadler SA, Drader JJ, Schink A. *Selective Ion Filtering by Digital Thresholding: A Method To Unwind Complex ESI-Mass Spectra and Eliminate Signals from Low Molecular Weight Chemical Noise*. Anal Chem. 2006. 78(2): 372-378.
  - Ecker DJ and Carroll KC. *Investments in High-Payoff Technologies Could Reduce Toll of Infections*. ASM News. 2005. 71(12): 576-581.
  - Hall TA, Budowle B, Jiang Y, Blyn L, Eshoo M, Sannes-Lowery KA, Sampath R, Drader JJ, Hannis JC, Harrell P, Samant V, White N, Ecker DJ, Hofstadler SA *Base composition analysis of human mitochondrial DNA using electrospray ionization mass spectrometry: A novel tool for the identification and differentiation of humans*. Anal Biochem. 2005. 344(1): 53-69.
  - Hofstadler SA, Sampath R, Blyn LB, Eshoo MW, Hall TA, Jiang Y, Drader JJ, Hannis JC, Sannes-Lowery KA, Cummins LL, Libby B, Walcott DJ, Schink A, Massire C, Ranken R, Gutierrez J, Manalili S, Ivy C, Melton R, Levene H, Barrett-Wilt G, Li F, Zapp V, White N, Samant V, McNeil JA, Knize D, Robbins D, Rudnick K, Desai A, Moradi E, Ecker DJ. *TIGER: The Universal Biosensor*. Int J Mass Spectrom. 2005. 242(1): 23-41.
  - Ecker et al. *Rapid identification and strain-typing of respiratory pathogens for epidemic surveillance*. Proc Natl Acad Sci (USA). 2005. 102(22): 8012-17.
  - Sampath R, S.A., Hofstadler SA, Blyn LB, Eshoo MW, Hall TA, Massire C, Levene HM, Hannis JC, Harrell PM, Neuman B, Buchmeier MJ, Jiang Y, Ranken R, Drader JJ, Samant V, Griffey RH, McNeil JA, Crooke ST, Ecker DJ. *Rapid Identification of Emerging Pathogens: Coronavirus*. Emerg Infect Dis. 2005. 11(3): 373-379.
  - Ecker DE, Sampath R, Willett P, Wyatt JR, Samant V, Massire C, Hall TA, Hari KL, McNeil JA, Buchen-Osmond C, Budowle B. *The Microbial Rosetta Stone Database: A compilation of global and emerging infectious microorganisms and bioterrorist threat agents*. BMC Microbiology. 2005. 5(1): 19.
  - Ecker DJ, Sampath R, Willett P, Samant V, Massire C, Hall TA, Hari K, McNeil JA, Buchen-Osmond C, Budowle B. *The Microbial Rosetta Stone Database: A common structure for microbial biosecurity threat agents*. J Forensic Sci. 2005. 50(6): 1380-5.
  - Van Ert MN, Hofstadler SA, Jiang Y, Busch JD, Wagner DM, Drader JJ, Ecker DJ, Hannis JC, Huynh LY, Schupp JM, Simonson TS, Keim P. *Mass spectrometry provides accurate characterization of two genetic marker types in Bacillus anthracis*. Biotechniques. 2004. 37(4): 642-4, 646, 648.
  - Sampath R, Ecker DJ. in *Forum on Microbial Threats: Learning from SARS: Preparing for the Next Disease Outbreak -- Workshop Summary* (ed. Knobler SE, Mahmoud A, Lemon S.) The National Academies Press, Washington, D.C. 2004. 181-185.
- Jiang Y, Hofstadler SA. *A highly efficient and automated method of purifying and desalting PCR products for analysis by electrospray ionization mass spectrometry*. Anal Biochem. 2003. 316: 50-57.