



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

Evaluación del cobas 4800 CT/NG test para la detección de *Chlamydia trachomatis*

Manuel Parra^{a,*}, José Carlos Palomares^a, Samuel Bernal^a, Nieves Sivianes^a, Luis Pérez^a, Isabel Pueyo^b, Carmen Almeida^c y Estrella Martín-Mazuelos^a

^a Laboratorio de Microbiología Molecular, Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Hospital Universitario Valme, Sevilla, España

^b Centro de Infecciones de Transmisión Sexual, Sevilla, España

^c Bioestadística, Unidad de Investigación, Hospital Universitario de Valme, Sevilla, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 26 de octubre de 2010

Aceptado el 25 de enero de 2011

On-line el 4 de mayo de 2011

Palabras clave:

Chlamydia trachomatis

cobas 4800

Cobas AMPLICOR

Orina

Exudado urogenital

R E S U M E N

Introducción: Se ha evaluado el nuevo sistema automatizado cobas 4800 CT/NG test para la detección de *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) en muestras urogenitales.

Material y métodos: Se analizaron 696 muestras (488 exudados uretrales y cervicales y 208 orinas) para la detección de ADN de *C. trachomatis*. Los resultados del cobas 4800 CT/NG test (c4800) se compararon con los obtenidos por el Cobas AMPLICOR CT/NG test (CAM). Las discordancias se analizaron mediante PCR convencional y electroforesis en gel de agarosa en microchips, MultiNA.

Resultados: Se realizaron dos análisis simultáneos, el primero de ellos fue comparar los resultados obtenidos con los exudados en el c4800 y en CAM. En este caso, la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) fueron del 77,9, el 100, el 100 y 96%, respectivamente. El segundo análisis fue comparar los resultados obtenidos para las muestras de orina con los obtenidos con sus correspondientes exudados en el c4800. Los valores obtenidos para sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fueron: 100, 98,9, 92,9 y 100%, respectivamente. Los valores kappa de estas comparaciones fueron: 0,857 exudados en c4800 y CAM y 0,957 para orina frente a exudados en c4800.

Conclusiones: Los resultados obtenidos con c4800 demuestran que son equiparables con los obtenidos con CAM. Asimismo, observamos una correlación excelente al comparar las muestras de exudados con su correspondiente muestra de orina en c4800, por lo que se puede emplear dicha muestra de forma sistemática en el diagnóstico de estas infecciones tanto en varón como en mujeres.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Evaluation of the cobas 4800 CT/NG test for detecting *Chlamydia trachomatis*

A B S T R A C T

Keywords:

Chlamydia trachomatis

cobas 4800

Cobas AMPLICOR

Urine

Exudado urogenital exudate

Introduction: To evaluate the new automated system cobas 4800 CT/NG test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens.

Material and methods: We analyzed 696 specimens (488 swabs from urethral or cervical specimens, and 208 urines) to detect *C. trachomatis*. The results of the cobas 4800 CT/NG test (c4800) were compared to those obtained with Cobas AMPLICOR CT/NG test (CAM). Discordant results were analyzed with a conventional PCR assay and microchip electrophoresis system in agarose gel, MultiNA.

Results: We made two simultaneous analyses. In the first one, we compared the results obtained with swab specimens using the c4800 system and CAM. In this case, the sensitivity, the specificity, the positive and negative predictive values (PPV and NPV) were: 77.9%, 100%, 100% and 96% respectively. In the second one, we compared the results obtained for urine and its corresponding swab specimens on the c4800. The values obtained were: 100%, 98.9%, 92.9% and 100% respectively. The kappa values of these comparisons were: 0.857 for swab specimens on the c4800 and CAM, and 0.957 for urine versus swab specimens on the c4800.

Conclusions: The results obtained with c4800 system were completely comparable with those obtained with CAM. We also noted an excellent correlation with these results when we compared swab specimens with their urine samples in the c4800 system. Therefore this sample type could be used routinely to diagnose infections in men and women.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: manuel.parra.sanchez@hotmail.com (M. Parra).

Introducción

El interés epidemiológico de las infecciones producidas por *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) ha aumentado en los últimos años ya que se ha convertido en la principal causa de infección de transmisión sexual (ITS)¹, estimándose en 90 millones los casos nuevos que aparecen a nivel mundial². Entre un 50 y un 75% de las infecciones urogenitales por *C. trachomatis* en varones y mujeres son asintomáticas y, si la infección persiste durante meses sin tratamiento, puede desencadenar severos problemas reproductivos como son enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), infertilidad y embarazos ectópicos en mujeres³⁻⁵ y epididimitis, uretritis y prostatitis en varones⁶⁻⁸. Además, algunos estudios han sugerido a *C. trachomatis* como cofactor para el progreso a cáncer cervical entre mujeres infectadas por virus del papiloma humanos (VPH)⁹⁻¹¹.

Actualmente, las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAN) se consideran la técnica patrón para el diagnóstico de las infecciones urogenitales producidas por la detección rutinaria de *C. trachomatis*. Las numerosas ventajas de las TAN, como son la buena sensibilidad y la posibilidad de realizarlas en muestras no invasivas como la orina, las hace ideales para este diagnóstico. Sin embargo, algunas técnicas comerciales¹²⁻¹⁵ presentan problemas en la correcta detección de la denominada variante sueca de *C. trachomatis* (nvCT), detectada en 2007. Dicha variante se caracteriza por presentar una delección de 377 pb en el plásmido críptico de *C. trachomatis*, que es precisamente la diana de amplificación de dichas técnicas. Por ello, las nuevas TAN, como la evaluada en este trabajo (cobas 4800 [c4800], y en general las basadas en PCR a tiempo real) incorporan al menos dos dianas para aumentar la sensibilidad y especificidad y disminuir así los potenciales falsos negativos.

En este estudio, hemos comparado los resultados obtenidos por la técnica c4800 CT/NG (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) para la detección de *C. trachomatis* con los obtenidos por el sistema Cobas AMPLICOR CT/NG (CAM) (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) para la detección de *C. trachomatis* en muestras cervicales y uretrales. Por otro lado, hemos evaluado la utilidad del sistema c4800 para la detección de *C. trachomatis* directamente en muestras de orina empleando como referencia el resultado obtenido en su correspondiente muestra pareada de exudado.

Material y métodos

Muestras clínicas

Para la comparación entre los sistemas c4800 y el CAM se analizaron un total de 495 muestras (280 exudados cervicales y 215 exudados uretrales). Para el segundo estudio se tomaron muestras pareadas de orina y exudados de 208 pacientes (156 exudados cervicales y 52 exudados uretrales frente a 208 orinas). Todas las muestras procedían de pacientes atendidos en el Centro de Infecciones de Transmisión Sexual de Sevilla (CITS) tomadas desde mayo a agosto de 2010. La prevalencia global de esta infección en la población del estudio es 12,3% (60/488 muestras) y específicamente del 11,2% (31/276) en muestras cervicales y un 13,7% (29/212) en muestras uretrales. Esta elevada prevalencia se corresponde a un grupo sesgado (pacientes atendidos en el CITS), y no se refieren a datos de prevalencia de la población general. El estudio incluyó tanto a pacientes sintomáticos (34%) como asintomáticos (grupos control de seguimiento [54%], seguimiento de contactos [8,6%] y control postratamiento [3,4%]).

Preparación de las muestras para cobas 4800 CT/NG test y Cobas AMPLICOR CT/NG test

Los exudados, tanto cervicales como uretrales, se recogieron con el sistema STD Swab Specimen Collection and Transport Set

(Roche Molecular Systems, Mannheim, Alemania). Para su análisis con el c4800 se tomaron 500 µl de la suspensión de la muestra en el medio de transporte y se añadieron al Cobas PCR media contenido en el Swab Sample Kit usado por el sistema c4800 (Roche Molecular Systems, Mannheim, Alemania). Al resto (otros 500 µl) se le añadió 1 ml de reactivo de lisis CT/NG DIL (Cobas AMPLICOR, Roche Molecular Systems, Barcelona, España) y se mantuvieron 24-48 h a temperatura ambiente antes de ser procesadas por el CAM (Roche Diagnostics, España) según las instrucciones del fabricante.

Las muestras de orina (siempre la primera parte de la micción para obtener por arrastre los microorganismos presentes en uretra) fueron preparadas para su procesamiento en el sistema c4800 añadiendo 750 µl de muestra, previamente agitada, al Cobas PCR media contenido en el Urine Sample Kit (Roche Molecular Systems, Barcelona, España).

El CAM realiza una PCR convencional a tiempo final para la detección de CT utilizando los cebadores CP24 y CP27 que definen una región de aproximadamente 207 nucleótidos del plásmido críptico de CT.

Funcionamiento del sistema cobas 4800

El c4800 CT/NG test permite realizar por separado la detección de CT, NG o ambos en el mismo ensayo. En este estudio seleccionamos sólo la detección de CT en todas las muestras analizadas. La prueba c4800 utiliza los cebadores CP102 y CP103 para definir una secuencia de aproximadamente 206 nucleótidos dentro del ADN del plásmido críptico de CT que permite la detección de nvCT. Además, se incluyen los cebadores CTMP101 y CTMP102 para definir una secuencia de aproximadamente 182 nucleótidos del ADN genómico del gen *ompA* de CT.

El sistema se basa en una PCR a tiempo real totalmente automatizada. Las muestras se analizan con sus correspondientes controles y reactivos de extracción y amplificación en el equipo cobas X 480 para la extracción del ADN. A cada muestra se le añade un control interno durante su procesamiento para controlar la correcta extracción, amplificación y posible inhibición de la muestra. El propio sistema carga el ADN extraído de cada muestra, los controles y los reactivos de amplificación en una placa de 96 pocillos. Esta placa se sella manualmente y se coloca en el sistema cobas Z 480 donde se realizará la PCR a tiempo real. Los resultados se describen como positivo, negativo, error (error en la extracción de la muestra) o inválido (el control interno fue negativo) según un algoritmo del *software* de interpretación del c4800 pudiendo además determinarse el valor umbral (Ct) de cada muestra.

Estudio de las muestras discordantes por el sistema MultiNA

Las muestras con resultados discordantes entre ambos sistemas, se conservaron a -20 °C para su posterior análisis por un método de PCR alternativo que consistió en un amplificación mediante PCR convencional con el *kit* comercial STD6 ACE Detection (Seegene Inc, Korea) que puede detectar 6 organismos distintos (*Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Ureaplasma urealyticum*)¹⁶. La diana molecular para CT de este *kit* es el gen codificante para la proteína DnaB del plásmido críptico de CT. El *kit* incluye como control interno (control de la inhibición de la PCR) el gen de la celulosa sintetasas de *Arabidopsis* spp. (CesA3). La posterior detección de amplicones se realizó mediante una electroforesis en gel de agarosa en microchips con el instrumento MultiNA (Shimadzu Biotech, Korea) y el *kit* ADN-1000 (Shimadzu Biotech, Korea).

El resultado obtenido con este último sistema unido a los datos de la historia clínica de los pacientes se usaron para determinar la certeza de los datos obtenidos con los sistemas que se comparan en este estudio.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3401868>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3401868>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)