

Evaluation of VERSANT® CT/GC DNA 1.0 Assay in conjunction with VERSANT® kPCR Molecular system

Antonella Marangoni¹, Alessandra Moroni², Antonietta D'Antuono³, Nicoletta Banzola³, Enzo Della Bella¹, Claudio Foschi¹, Paola Nardini¹, Paola Monari², Manuela Donati¹, Roberto Cevenini¹

¹ DESOS, Sez. Microbiologia, Università di Bologna,

² U.O. Microbiologia,

³ U.O. Dermatologia, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

Key words: *Chlamydia trachomatis*, Real-Time PCR, multiplex PCR.

Valutazione del kit VERSANT® CT/GC DNA 1.0 su piattaforma dedicata VERSANT® kPCR

SUMMARY

A total of 463 first void urine specimens were obtained from patients attending the Sexually Transmitted Diseases (STD) Outpatients Clinic of the St. Orsola University Hospital in Bologna, Italy. Samples were tested by the new test VERSANT® CT/GC DNA 1.0 Assay (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.), a multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) assay, for simultaneous detection of *Chlamydia trachomatis* (CT) and *Neisseria gonorrhoeae* (GC). A total of two specimens were collected from each patient, respectively: one urine sample for VERSANT® CT/GC DNA 1.0 Assay testing and one urethral or endocervical swab for the detection of *C. trachomatis* by IDEIA™ PCE Chlamydia (Oxoid). In our population, the prevalence of CT in patients was 11.9%, when studied by VERSANT® CT/GC DNA 1.0 Assay, whereas it was only 5.0%, when samples were analyzed by IDEIA™ PCE Chlamydia.

In conclusion, VERSANT® CT/GC DNA 1.0 Assay demonstrated to be a highly sensitive and specific technique for the detection of CT in patients attending a STD Clinic. Nucleic acid amplification tests are the most sensitive assays available to date for CT and GC in clinical specimens and this new Real-Time PCR assay adds to the group of commercially available assays that are available to laboratories as choices for superior diagnostic performance.

INTRODUZIONE

Il Laboratorio di Microbiologia del Policlinico S. Orsola si occupa di diagnosi di infezioni da *Chlamydia* fin dal 1975. All'epoca il metodo di scelta per la diagnosi era l'isolamento colturale.

Il materiale patologico veniva inoculato in colture cellulari e dopo 48-72h il monostrato cellulare veniva fissato e colorato con Giemsa o Lugol per mettere in evidenza le tipiche inclusioni da *Chlamydia*.

Solo a metà degli anni '80 si diffusero i primi test immunoenzimatici per la ricerca dell'antigene LPS. Nello stesso periodo vennero messi a punto i primi test molecolari, basati sull'uso di sonde di ibridazione. I valori di sensibilità e specificità dei test di ibridazione erano sovrapponibili a quelli osservati con i metodi immunoenzimatici, con sensibilità variabile tra 60-70% e specificità variabile dal 93 al 99%.

Successivamente, nella pratica di laboratorio, tali metodiche molecolari furono sostituite dalle metodiche di amplificazione degli acidi nucleici (LCR e PCR), dotate di una maggiore sensibilità rispetto alle precedenti.

Negli ultimi anni, infine, sono stati sviluppati nuovi metodi in Real-Time PCR per la determinazione contemporanea di DNA di vari agenti patogeni, causa di malattie sessualmente trasmesse. Le Real-Time PCR più utilizzate al momento prevedono la ricerca contemporanea degli acidi nucleici di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*.

MATERIALI E METODI

Gruppo di studio. Nel presente studio sono stati arruolati 463 pazienti. I pazienti si erano recati presso l'ambulatorio MTS del Policlinico S. Orsola-Malpighi di Bologna per uno tra i seguenti motivi: o per la presenza di una sintomatologia specifica (secrezioni uretrali o cervico-vaginali), o perché partner sessuali di pazienti sintomatici, o per effettuare esami di screening. Per tutti i pazienti è stato eseguito prima un tampone (uretrale o cervicale) e in seguito i soggetti sono stati invitati a procedere alla raccolta di un campione di urine. VERSANT® CT/GC DNA 1.0. Il test VERSANT® CT/GC DNA 1.0 (Siemens Healthcare Diagnostics) è basato su una procedura di PCR cinetica (kPCR) per la rilevazione del DNA di *C.*

Corresponding author: Antonella Marangoni

Policlinico S. Orsola, Sezione di Microbiologia

Via Massarenti 9 - 40138 Bologna

Tel.: 051 6364513 - Fax: 051 307397

trachomatis (CT) and *N. gonorrhoeae* (GC) in campioni di urina o secreti genitali ottenuti da individui sia sintomatici che asintomatici. Il test viene eseguito in automazione, su piattaforma dedicata VERSANT kPCR.

IDEIA™ PCE *Chlamydia*. Il test IDEIA™ PCE *Chlamydia* (Oxoid) è un metodo immunoenzimatico per la determinazione di LPS di *C. trachomatis*.

RISULTATI

In questo studio 73 campioni di urina sono risultati positivi con il metodo VERSANT® CT/GC 1.0 per clamidia e/o gonococco.

In particolare, 50 urine sono risultate positive per ricerca DNA di *Chlamydia*, 18 per DNA gonococco e in 5 casi è stata rivelata la doppia presenza di clamidia e gonococco.

La percentuale di positività nel gruppo di studio per clamidia è stata pari a 11.9%.

Nessun campione è risultato negativo in PCR e positivo per IDEIA™ PCE *Chlamydia*.

Viceversa, solo 22 tamponi sono risultati positivi in ELISA per clamidia, con una positività per clamidia nei 463 casi studiati del 5.0%.

CONCLUSIONI

Riguardo alle infezioni da *Chlamydia*, l'Italia, secondo dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ricavati da un'indagine su donne asintomatiche, è tra i Paesi europei con bassa prevalenza dell'infezione a livello di popolazione generale (2.7% negli anni '90).

Negli USA, la percentuale di test positivi varia dal 3% al 20.3%, a seconda dei contesti d'indagine (2); anche in Europa la prevalenza è simile, variando dall'1.7% al 25.1% (2-3).

Nella realtà italiana i dati epidemiologici sulle infezioni da clamidia sono di difficile valutazione per diversi motivi:

- difficoltà a raccogliere dati sui casi incidenti per l'esistenza di numerose infezioni asintomatiche,
- difficoltà, di conseguenza, a distinguere i casi incidenti da quelli prevalenti,
- carenze nella raccolta dei dati, in quanto infezione non soggetta in Italia ad obbligo di notifica,
- numero limitato di diagnosi eseguite, soprattutto

nei soggetti asintomatici,

- mancanza in Italia di programmi di screening.
- In una popolazione a basso rischio le metodiche di laboratorio scelte per la diagnosi di infezione da *C. trachomatis* dovrebbero essere le più specifiche possibili, mantenendo però allo stesso tempo buoni valori di sensibilità.

Attualmente la coltura per *C. trachomatis* non è più considerato il metodo di riferimento, in quanto, anche in laboratori di eccellenza, le sensibilità del metodo colturale non superano valori di 75-85% (1). Le metodiche immunoenzimatiche hanno dimostrato in generale alti valori di specificità (97-99%), ma una sensibilità relativa rispetto alla coltura di 70-85% (2).

Nel presente studio, VERSANT® CT/GC DNA 1.0 Assay ha mostrato una sensibilità più elevata del metodo immunoenzimatico IDEIA™ PCE *Chlamydia*. Tale metodica molecolare sembra dunque particolarmente adatta per uno screening su campioni biologici (urine) che non richiedono interventi invasivi o dolorosi, atto ad identificare con chiarezza i soggetti infetti da sottoporre a trattamento antibiotico.

Inoltre, nel presente studio, il sistema VERSANT®, completamente automatizzato, è risultato di semplice utilizzo per l'operatore. L'automazione permette di ridurre sensibilmente le manipolazioni dei campioni, con un rischio biologico ridotto per l'operatore e basse probabilità di contaminazione di acidi nucleici.

BIBLIOGRAFIA

1. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 160-84.
2. Hogben M, Chesson H, Aral SO. Sexuality education policies and sexually transmitted disease rates in the United States of America. *Int J STD AIDS* 2010; 4: 293-7.
3. Macleod J, Salisbury C, Low N, et al. Coverage and uptake of systematic postal screening for genital *Chlamydia trachomatis* and prevalence of the infection in the United Kingdom general population: cross sectional study. *BMJ* 2005; 330: 940.
4. Wilson JS, Honey E, Templeton A, et al. EU Biomed Concerted Action Group. A systematic review of the prevalence of *Chlamydia trachomatis* among European women. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 385-94.