

VALUTAZIONE DI SISTEMI IN MULTIPLEX PCR NELLA DIAGNOSTICA DI AGENTI DI MST.

M. Screm¹, A. Arzese², E. Cogoi¹, S. Demontis¹, A. Borghetto¹, C. Scarparo¹

¹SOC Microbiologia, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata S.M. Misericordia di Udine, UD.

²SOC Microbiologia, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata S.M. Misericordia di Udine, UD. Dipartimento di Ricerche Mediche Sperimentali e Cliniche, Università di Udine, UD

INTRODUZIONE

Alcuni sistemi su base molecolare in multiplex PCR ora disponibili in commercio consentono l'identificazione da unico campione in singola seduta analitica dei principali patogeni responsabili di MST. In questa esperienza, è stata valutata l'applicabilità del sistema automatizzato in multiplex tandem PCR (Sistema High Plex, Nuclear Laser Medicine), in grado di evidenziare contemporaneamente le specie microbiche responsabili di MST (AU27115-NLM: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*) e quattro specie di micoplasmi (*M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* e *U. parvum*). Il sistema in analisi è stato valutato in parallelo con metodologie standard e confrontato con analogo sistema molecolare già validato da studi precedenti ed introdotto in routine diagnostica (STI7-Seegene).

METODI

Sono stati saggiati 421 campioni (417 campioni clinici, 4 controlli di qualità extra-laboratorio, previa analisi routinaria con il kit Artus CTplus (Qiagen), conservati a - 20°C. 160 campioni sono stati analizzati in multiplex tandem PCR con il kit (AU27115-NLM) dopo estrazione automatizzata degli acidi nucleici (Magna2, Roche, MI); 91 campioni sono stati prelevati dal back-up a - 20°C, risospesi in tampone di prelievo (BU9022/200-NLM) direttamente utilizzato per l'allestimento della prima master-mix.

I rimanenti 210 campioni sono stati processati secondo il protocollo di estrazione, amplificazione e rilevazione previsto dal sistema STI7-Seegene.

RISULTATI

C. trachomatis: 76/84 (90.5%) campioni sono risultati positivi con il test multiplex STI7 vs Artus CTplus; 34/39 (87.2 %) con AU27115-NLM con estrazione degli acidi nucleici vs Artus CTplus e 47/50 (94%) con AU27115-NLM senza estrazione degli acidi nucleici. Tutti i campioni negativi allo standard sono risultati negativi ai test multiplex (concordanza 100%). *N.gonorrhoeae* e *T.vaginalis*: tutti i campioni positivi al colturale (14 per *N.gonorrhoeae* e 6 per *T.vaginalis*) sono risultati positivi anche al test molecolare in valutazione. Micoplasmi urogenitali: solo 5/36 campioni positivi al test colturale per micoplasmi urogenitali erano *M.genitalium* per la metodica AU27115-NLM con estrazione, 5/18 per la metodica AU27115-NLM senza estrazione e 3/13 per la metodica Seegene; la maggior parte degli *U. urealyticum* corrispondeva in realtà a *U.parvum* (47/58 AU27115-NLM con estrazione, 30/43 AU27115-NLM senza estrazione e 57/74 Seegene)

CONCLUSIONI

A parità di performance diagnostica, il sistema automatizzato in multiplex tandem PCR AU27115 -NLM), appare più agevole nell'utilizzo per modi e tempi di lavoro rispetto al STI7 Seegene. Entrambi i sistemi multiplex dimostrano una sensibilità inferiore al sistema monotarget di riferimento, che correla molto con una bassa carica microbica. Inoltre, l'applicabilità del Sistema High Plex + AU27115 -NLM, senza estrazione degli acidi nucleici, risulta un elemento a vantaggio del TAT diagnostico. La possibilità di discriminare a livello specifico evidenziando l'unica specie patogena (*M. genitalium*) dalle altre, valutabili in un contesto clinico essendo associate a commensalismo, costituisce un vantaggio diagnostico e riduce i trattamenti antibiotici impropri.