

**VALUTAZIONE DEL SISTEMA XPERT (CEPHEID) PER LA DIAGNOSI RAPIDA DI INFEZIONI AD ALTA INCIDENZA**

S. Ferraro<sup>1</sup>, G. Roncarati<sup>1</sup>, S. Galli<sup>1</sup>, S. Venturoli<sup>1</sup>, A. Moroni<sup>1</sup>, G. Furlini<sup>1</sup>, M.C. Re<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O. Microbiologia Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Bologna

**INTRODUZIONE**

Negli ultimi decenni le tecniche di biologia molecolare hanno rivoluzionato l'approccio diagnostico e l'assetto organizzativo dei laboratori. La tecnica di amplificazione degli acidi nucleici (NAT, nucleic acid-based test) più largamente usata a partire dal 1986 è la Polymerase Chain Reaction (PCR). La diagnostica molecolare consente anche di monitorare il decorso clinico e terapeutico di infezioni croniche come il virus dell'epatite C (HCV).

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare la performance del sistema Cepheid nella diagnosi differenziale delle infezioni sostenute da *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (NG), la rilevazione di HPV ad alto rischio e la quantificazione del RNA di HCV.

**METODI**

Sono stati analizzati 3 kit: Xpert® CT/NG, Xpert® HPV e Xpert® HCV Viral Load. Il volume richiesto per ogni analisi è 1 mL di campione. Le fasi di estrazione ed amplificazione avvengono entrambe all'interno della cartuccia. I primer e le sonde nel saggio Xpert CT/NG rilevano sequenze cromosomiche, in particolare per NG vengono utilizzati due target differenti. Per quanto riguarda invece il test qualitativo per la diagnosi di HPV, vengono identificati/rilevati 14 ceppi ad alto rischio: mentre per i ceppi 16 e 18/45 è possibile un'identificazione specifica, tutti gli altri 11 ceppi non vengono differenziati. Il limite inferiore di quantificazione (LLOQ) del saggio Xpert® HCV Viral Load è 10 IU/mL con un range lineare del dosaggio da 10 a 108 IU/mL. I dati sono stati confrontati con le metodiche attualmente in uso e analizzati mediante la regressione lineare e il diagramma di differenza di Bland-Altman.

**RISULTATI**

Sono stati analizzati 50 campioni: 20 CT/NG, 20 HPV e 10 HCV. Per quanto riguarda i dati relativi a HCV è emersa una concordanza con il sistema CAP/CTM (Roche) del 94,4%. Per gli altri 2 test qualitativi 36 campioni concordavano con i risultati ottenuti con le metodiche di riferimento, nello specifico 85% per il test CT/NG e 95% per HPV. 2 campioni positivi per NG al test VERSANT® CT/ GC DNA 1.0 Assay (kPCR) non sono stati rilevati con il saggio in esame, entrambi mostravano un ciclo soglia superiore a 30. Per 2 campioni il test Xpert® HPV è risultato positivo sia per HPV18/45 che per HPV Alto Rischio (-AR) mentre il test di routine (RealTime HR-HPV Assay) aveva rivelato la presenza di HPV-AR.

**CONCLUSIONI**

Il primo test NAT approvato dalla Food and Drug Administration nel 1988 permetteva la diagnosi differenziale di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Da allora le metodiche molecolari hanno trovato ampio impiego all'interno dei laboratori di diagnostica.

Il sistema da noi analizzato permette di ottenere risultati performanti in tempi brevi (88 minuti per CT/NG, 56 min per HPV e 108 min per la quantificazione di HCV). Dai dati analizzati è emersa una concordanza del 90% per quanto riguarda i test qualitativi e del 94,4% dei test quantitativi, da sottolineare però la scarsa numerosità del campione.

User-friendly del saggio ne permette la sua collocazione all'interno dei laboratori diagnostici.