

Molekulaarse kompleksdiagnostika olulisus suguteede infektsioonide diagnoosimisel

Paul Naaber^{1,2}, Kaspar Ratnik^{2,3}, Kristi Raud², Epp Sepp¹, Airi Põder⁴

Eesti Arst 2014;
93(8):450–455

Saabunud toimetusse:
30.08.2013
Avaldamiseks vastu võetud:
03.06.2014
Avaldatud internetis:
31.09.2014

¹ TÜ mikrobioloogia
instituut,
² Quattromed HTI Laborid
OU,
³ TÜ molekulaar- ja
rakubioloogia instituut,
⁴ TÜ Kliinikumi nahakliinik

Kirjavahetajaautor:
paul.naaber@quattromed.ee

Võtmesõnad:
molekulaarne
kompleksdiagnostika,
suguteede infektsioonid,
suguhaigused, Luminex
xMAP, diagnostika kvaliteet

Taust. Molekulaarne kompleksdiagnostika võimaldab kliinilisest materjalist määrata palju erinevaid haigust tekitavaid mikroorganisme korraga.

Eesmärk. Selgitada senist suguteede infektsioonide diagnoosimise praktikat, kompleksuuringu mõju selle kvaliteedile.

Metoodika. Quattromed HTI laborisse ühe kuu jooksul saabunud suguteedest võetud proove (n = 4985) uuriti sõltumata arsti tellimusest Luminexi xMAP-paneeliga suguteede infektsioonide selliste võimalike tekitajate suhtes nagu *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *C. trachomatis LGV*, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*.

Tulemused. Enamasti tellis arst uuringu ühe (31%), kahe (22%) või kolme (20%) obligaatse või oportunistliku patogeeni suhtes. Enim telliti *C. trachomatis*'e uuringut (91% proovidest). Uuritud proovidest leiti *N. gonorrhoeae* 0,2%-l, *C. trachomatis* 3,5%-l, *T. vaginalis* 0,5%-l, *M. genitalium* 1,2%-l, *M. hominis* 7,9%-l, *U. urealyticum* 7,7%-l ja *U. parvum* 32%-l juhtudest. Kasutatud meetodiga tuvastasime uuritud materjalist ka teisi STLI tekitajaid, mille suhtes arst ei olnud uuringut tellinud (sagedamini mitmeid STLI-d tekitavaid mikroorganisme, nt *N. gonorrhoeae* ja *M. genitalium*). Analüüsides proove vaid arsti tellimuse järgi, oleks suguhaigusi põhjustavatest patogeenidest jäänud avastamata 40% *N. gonorrhoeae*, 0,6% *C. trachomatis*'e, 88% *T. vaginalis*'e ja 48% *M. genitalium*'i esinemisest.

Järeldused. Kompleksdiagnostika kasutamine võimaldaks mitmete sugulisel teel levivate mikroorganismide (eelkõige *N. gonorrhoeae* ja *T. vaginalis*'e) paremat avastamist ning võiks seeläbi parandada suguhaiguste ravi ja diagnoosimise kvaliteeti.

Molekulaarse kompleksdiagnostikaga määratakse ühest uuritavast materjalist korraga palju erinevaid molekulaarseid markereid, näiteks mikroobi liigile või genotüübile spetsiifilised markerid, toksiinide või muude virulentsusfaktorite geenid jm. Nimetatud diagnostikameetodid on leidnud üha enam rakendust mitmete erinevate haigustekitajate rühmade kindlakstegemisel nii teadusuuringutes kui ka igapäevases kliinilises praktikas (1–5).

Suguteede infektsioonide diagnoosimiseks kasutatakse molekulaarseid diagnostikapaneele, mis hõlmavad nii sagedamini esinevaid ja kindlalt seksuaalsel teel levivate infektsioonide (STLI) tekitajaid (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*) kui

ka potentsiaalseid ainult teatud juhtudel või teatud piirkonnas esinevaid infektsioonide tekitajaid (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*) (6–14).

Võrreldes klassikaliste diagnoosimismeetoditega on kompleksdiagnostikal mitmeid eeliseid. Molekulaardiagnostika suurele tundlikkusele ja spetsiifilisusele lisandub võimalus määrata tekitajaid kiiresti ja mitut korraga. Üksikute haigustekitajate välistamistaktikat kasutades võib diagnoosini jõudmine võtta kauem aega, olla tülikam patsiendile ning kokkuvõttes ka kallim. Kompleksdiagnostika võimaldab ka kiiremini ning täpsemalt diagnoosida segainfektsioone. Paljude haigusseisundite puhul on ammu teada, et põletikutekitajate osalevad mitmed eri mikroorganismid

samal ajal (nt intraabdominaalsed infektsioonid, kroonilised haavandid). Molekulaarse kompleksdiagnostika abil on leitud palju segainfektsioone ka selliste haigusseisundite korral, mida varem peeti eelkõige monoinfektsioonideks (nt kõhulahtisus, hingamisteede haigused) (1, 15, 16). Ka suguteede infektsioonide puhul on kompleksuuringud näidanud segainfektsioonide suuremat osakaalu, kui varem arvati (7–9, 11, 12). Kasutades diagnoosimist üksikute haigustekitajate kaupa (nende olemasolu kas kinnitades või välistades), jäävad sellised segainfektsioonid märkamata, kuna pärast esimest positiivset leidu rohkem uuringuid enamasti ei tehta. Samuti võivad avastamata jääda harvem esinevad või muudel põhjustel uurimisel esmavalikusse mittekuuluvad mikroorganismid. Näiteks on suguhaiguste diagnostilistesse paneelidesse lisatud harva esinevaid STLI-de tekitajate nagu pehme šankeri tekitaja *Haemophilus ducreyi* ja veneerilist granuloomi põhjustava *Chlamydia trachomatis*'e serotüübid L1-3 (*Lymphogranuloma venereum*, LGV). Eespool nimetatud haigusi peetakse eelkõige arengumaade probleemideks, kuid samas on kirjeldatud mitmeid juhtumeid ja haiguspuhanguid ka arenenud maades ning nende juhtude avastamise sagedus sõltub oluliselt diagnoosimisvõimalustest (17).

Eestis on molekulaarne kompleksdiagnostika kättesaadav olnud juba aastaid, kuid pole teada, kui võrd arstid seda võimalust kasutavad ning kuidas selle laiem rakendamine võiks mõjutada STLI-de diagnoosimist.

Uuringu eesmärk oli selgitada järgmist: 1) milline on suguteede infektsioonide kompleksdiagnostika tellimise senine praktika arstide seas; 2) kuidas molekulaarse kompleksuuringu kasutamine võrreldes arsti tellitud üksiktestidega võiks mõjutada diagnoosimise kvaliteeti ning 3) kui sagedane on suguteedes erinevate haigus-tekitajate koosinemine.

MATERJAL JA MEETODID

Uuringusse kaasati kõik suguteedest võetud proovimaterjalid, mis olid saadetud Quattromed HTI Laborid OÜsse (QHL) 2013. aasta jaanuaris uuringuks ühe või mitme suguteede infektsioonide tekitaja suhtes. Kokku uuriti 4985 proovimaterjali (83% moodustas emakakaela kanali kaabe, 8% esmasjoa uriin, 5% ureetra kaabe, 2% sperma, 1% tupekaabe, 1% täpsustamata

materjal). Uuritavatest olid 85% naised ja 15% mehed.

Kõikides materjalides määrati sõltumata arsti tellimusest järgmised obligatsed ja oportunistlikud patogeenid: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia trachomatis* LGV, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*. Uurimisel kasutati Luminexi xMAP®-metoodikat, mis põhineb polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR, *polymerase chain reaction*) meetodil paljundatud geneetilise materjali tuvastamisel patogeenispetsiifiliste hübridisatsiooniproovide kaudu. Patogeenispetsiifilised hübridisatsiooniproovid on seotud spektraalselt kodeeritud mikrokerakestega, iga mikroorganismi spetsiifiline proov kindla regiooniga. Koos vastava aparatuuri ning tarkvaraga on võimalik tuvastada vastavad mikrokerakesed ja nendega spetsiifiliselt seondunud paljundatud DNA järjestused (18). Luminexi xMAP®-metoodikal põhinev uurimismeetod on QHLis suguteede infektsioone põhjustavate mikroorganismide uurimiseks akrediteeritud.

Arsti tellitud uuringutele saadeti vastused rutiinse korra kohaselt, mittetellitud uuringute tulemused salvestusid analüsaatoris anonüümselt. Andmetöötluses kasutati isikustamata andmeid, mis sisaldasid tellimuse sisu (milliste mikroorganismide suhtes telliti uuring) ning uuringu tulemusi.

Uuring on kooskõlastatud Tallinna meditsiiniuuringute eetikakomitees (18.04.2013. a otsus nr 248).

TULEMUSED

Uuringute tellimine

Analüüsides tellimusi STLI-de patogeenide suhtes, leidsime, et enim telliti uuringut *C. trachomatis*'e suhtes (91% proovides), järgnesid *N. gonorrhoeae* ja *M. genitalium*, mida telliti ligi pooltest proovidest (vt tabel 1).

Vaadates, kui palju telliti kombineeritud ja üksikuuringuid, leidsime, et sageli tellis arst uuringu vaid ühe haigustekitaja suhtes (31% proovidest). Tellimused kahe mikroorganismi uurimiseks moodustasid 22% juhtudest, kolme jaoks 20% ning nelja või enama uurimiseks 27%. Vaid 5% proovide korral oli arst tellinud täieliku kompleksdiagnostika kõigi 7 võimaliku STLI-tekitaja suhtes. Sagedamini telliti uuring *N. gonorrhoeae*

kui *C. trachomatis*'e suhtes samas proovis (14% proovidest).

Uuritavate mikroorganismide esinemine proovides

STLI-tekitajaid leiti järgmiselt: *N. gonorrhoeae* 0,2%-s, *C. trachomatis* 3,5%-s, *T. vaginalis* 0,5%-s ja *M. genitalium* 1,2%-s proovidest. *C. trachomatis*'e LGV tüüpi ei leitud ühestki proovist. Potentsiaalselt patogeensetest mikroobidest leiti *M. hominis* 7,9%-s, *U. urealyticum* 7,7%-s ja *U. parvum* 32%-s proovidest.

Enamasti oli uuritavate STLI-de patogeene esinemissagedus sarnane proovides, millest arst oli vastava uuringu tellinud, ja nendes, millest uuringut tellitud ei olnud (vt tabel 1). Erandiks oli *C. trachomatis*, mida leiti sagedamini nendes proovides, millest arst oli nimetatud mikroorganismi uuringu tellinud, kui nendest, millest seda polnud tellitud.

Kui võrdlesime positiivsete tulemuste arve proovides, millest vastav uuring oli tellitud, ning kõigis proovides kokku (tellitud ja mittetellitud uuringud), siis STLI-de kindlatest tekitajatest oleks kuu jooksul jäänud avastamata 4 *N. gonorrhoeae*, 1 *C. trachomatis*'e, 21 *T. vaginalis*'e ja 28 *M. genitalium*'i esinemise juhtumit, kuna arst polnud vastavat uuringut tellinud (vt tabel 1).

Uuritavate mikroorganismide koosinemine

Analüüsid esinevate patogeene koosinemise sagedust, sõltus tulemus sellest, kas materjali uuriti ainult kindlate STLI-tekitajate või ka suguteede põletike potentsiaalsete tekitajate suhtes. Arvestades ainult kindlaid tekitajaid, esines lisaks muu uuritava mikroorganismi leid sagedamini *N. gonorrhoeae* ja *M. genitalium*'i leiu korral. Arvestades ka potentsiaalseid haigustekitajaid, oli erinevate mikroorganismide koosinemine tunduvalt sagedasem (vt tabel 2). Kindlate STLI-tekitajate sagedasemad koosinemise kombinatsioonid olid *C. trachomatis* koos *M. genitalium*'i (7 juhtumit) või *N. gonorrhoeae*'ga (4 juhtumit). Potentsiaalsete tekitajate kombinatsioonid olid *M. hominis* koos *U. parvum*'i (214 juhtumit) või *U. urealyticum*'iga (114 juhtumit).

ARUTELU JA JÄRELDUSED

Töö tõi esile meie raviarstide eelistused suguteede infektsioonide tekitajate uurimisel: enamasti telliti uuring *C. trachomatis*'e suhtes ning harvem uuriti patsienti mingi muu haigustekitaja suhtes. Umbes kolmandikul juhtudes esitati tellimus vaid ühe mikroobi uuringuks. Saadud tulemus erineb oluliselt meie 2002. aastal tehtud uuringust, kus *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*'e ja *T. vaginalis*'e analüüse tehti enam-vähem võrdsel hulgal (19). Kuigi meie töösse oli kaasatud vaid üks labor, annab see tulemus ettekujutuse üldisest Eesti praktikast, kuna Quattromed HTI laborite klientuur hõlmab üle Eesti erinevaid raviasutusi (haiglad ja eriarsti ambulatoorsed vastuvõttud, erameditsiini asutused). Uuringus ei olnud võimalik eristada eri näidustustel võetud proove (nt kontaktsete või muude patsiendirühmade skriining, sümptomaatilised patsiendid), kus tellimuste eesmärgid võivad teatud määral erineda.

Teise olulise tulemusena leidsime, et meie kasutatud meetodiga tuvastasime uurimismaterjalis ka STLI-tekitajaid, mille suhtes arst uuringut ei olnud tellinud (välja arvatud *C. trachomatis*). Kompleksdiagnostika rakendamise ühe vastuargumendina on esitatud seisukoht, et enamasti saab arst kliinilise pildi alusel otsustada, millise haigustekitaja(te) suhtes peaks uuringu tellima. Meie uuringu tulemused seda seisukohta ei toeta ja pigem oleks mõnele patsiendirühmale mõttekas teha kompleksuuringuid mitmete kliiniliselt

Tabel 1. Uuringute tellimine, STLI-tekitajate esinemine proovides (tellitud ja mittetellitud uuringutes) ning uuringu mittetellimisest tingitud diagnoosimata jäänud juhud

Mikroorganism	Tellitud uuringute osakaal (%) kõigist proovidest	Konkreetsed STLI-tekitaja leid: % ja (positiivne leid / analüüsitud kokku)		Potentsiaalselt diagnoosimata jäänud STLI-juhud: % ja juhud kokku
		tellitud uuringutes	mittetellitud uuringutes	
<i>N. gonorrhoeae</i>	49	0,25 (6/2426)	0,16 (4/2559)	40 (4/10)
<i>C. trachomatis</i>	91	3,8* (172/4549)	0,2* (1/436)	0,6 (1/173)
<i>T. vaginalis</i>	19	0,32 (3/942)	0,52 (21/4043)	88 (21/24)
<i>M. genitalium</i>	46	1,4 (31/2279)	1 (28/2706)	48 (28/59)

* p < 0,001

Tabel 2. Erinevate mikroorganismide koosinemine suguteedest võetud proovides

Leitud patogeen	Kaasuva tekitaja leid (%) positiivsetes proovides	
	Kaasuv kindel STLI-tekitaja	Kaasuv kindel ja/või potentsiaalne tekitaja
<i>N. gonorrhoeae</i>	33	88
<i>C. trachomatis</i>	7	61
<i>T. vaginalis</i>	4	71
<i>M. genitalium</i>	12	58

oluliste mikroorganismide suhtes, mille kliinilised pildid kattuvad oluliselt või kui skriinitakse riskirühma patsiente. Samalaadseid järeldusi on esitatud ka teistes uuringutes nii STLI-ide kui ka muude infektsioonigruppide korral (20, 21).

Meie tööst järeldub, et kompleksdiagnostika kasutamine võimaldaks oluliselt rohkem avastada teatud suguhaiguste juhtumeid. Märkimisväärne on trihhomoniaasi ja gonorröa aladiagnoosimine praeguse praktika korral. Nimetatud infektsioonide tekitajad võivad mitte alluda STLI-de empiirilisele ravile ning põhjustada edasisi komplikatsioone. Kuigi ühes kuus on ühes laboris avastamata juhtude absoluutarvud väiksed, on nende juhtude protsentuaalne suhe potentsiaalselt diagnoositavatesse juhtudes märkimisväärne. Ka hiljutises Ameerika diagnostikajuhendis on rõhutatud *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*'e, *T. vaginalis*'e rutiinse koosmääramise olulisust, et vältida just trihhomoniaasi aladiagnoosimist (23).

Uuringu tulemusel selgus ka asjaolu, et avastatud STLI-tekitajate protsent oli saadatud proovides väike. See lubab oletada, et enamik proove saadetakse skriininguks STLI kahtluse välistamiseks ja vähem kindla sümptomaatika korral. Kuna arstid üldjuhul ei registreeri saatekirjas uuringu põhjust või patsiendi diagnoosi, ei olnud võimalik analüüsida uuringutele saatmise näidustusi. Samas viitab positiivsete tulemuste väike sagedus vajadusele STLI-de uuringute näidustused üle vaadata ning neid täpsustada.

Eestis on teatamine suguhaiguste juhtudest olnud viimase 20 aasta jooksul kõikuv, selle põhjuseks võivad osalt olla ka muutunud diagnoosimeetodid. Laboratoorse diagnostika ebaoptimaalsus (kättesaadavus, kasutamine, metoodika valik) võib oluliselt mõjutada ametlikku STLI-statistikat ning raskendab objektiivsete trendide analüüsi (19, 24, 25).

Vaadates suguteede infektsioonide erinevate tekitajate koosinemist, oli sagedasim see gonorröa korral. Kolmandikul gonorröajuhtudest esines lisaks mingi muu STLI-tekitaja. Sarnast haigustekitajate sagedast koosinemist on leitud ka teistes uuringutes ning ka asümptomaatilistel patsientidel (10).

Kuigi ühtegi *C. trachomatis*'e LGV juhtu me oma uuringu patsientidel ei tuvastanud, ei saa täielikult väita nimetatud serotüübi esinemise puudumist, kuna arvatavasti oli

enamik rutiinselt STLI-uuringuteks saadatud materjalidest ebaoptimaalsed LGV diagnoosimiseks. Samas valitseb Euroopa Haiguste Preventsiooni ja Kontrolli Keskuse (ECDC, *European Centre for Disease Prevention and Control*) hinnangu kohaselt Euroopas nimetatud mikroorganismi aladiagnoosimine ning on reaalne võimalus sellest tingitud puhanguteks väljaspool arengumaid ja ka heteroseksuaalide hulgas.

Enim vaidlust on tekitanud suguteede põletike potentsiaalsete tekitajate (nagu *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, adenoviirus, *H. influenzae* jt) lisamine diagnostikapaneelidesse (isiklikud vestlused suguteede põletikke diagnoosivate spetsialistidega). Nimetatud oportunistlike patogeeni kliinilise olulisuse ning ravi vajalikkuse suhtes on nii teadlaste kui ka praktiseerivate arstide seas erinevaid seisukohti. Nende tekitajate olulisuse tõlgendamisel tuleb kindlasti arvestada nii patsiendiga seotud tegureid kui ka kaasuvaid mikrobioloogilisi leide.

Üheks oluliseks aspektiks suguteede põletike potentsiaalsete tekitajate rolli hindamisel on järjest täpsem alatüüpide ja virulentsusfaktorite eristamine ning nende seos haigusseisunditega. Näiteks jagati erineva virulentsusega *U. urealyticum* ja *U. parvum* eri liikidesse alles hiljuti, kuid nüüd on leitud, et ka *U. parvum* koosneb erineva virulentsusega alarühmadest, millest osa on seotud infektsiooniga ning teised esinevad sagedamini normaalses mikrobiotas (26). Erinevalt klassikalistest meetoditest võimaldaks molekulaarne kompleksdiagnostika potentsiaalselt eristada ja määrata selliseid suure infektsiooniriskiga alatüüpe (sarnaselt näiteks papilloomiviirusega), mis eeldab aga nii molekulaarse diagnostika edasiarendamist kui ka vastavaid kliinilisi uuringuid.

Ühelt poolt on sündroomipõhises kompleksdiagnostikas (kus paneeli koondatakse mingi sündroomi võimalikud põhjustajad) oluline kaasata paneeli võimalikult palju erinevaid haigustekitajaid (sh potentsiaalselt patogeenseid), et saada võimalikult palju infot. Teiselt poolt muudab suurem infohulk keerulisemaks tulemuse tõlgendamise (nii STLI-de kui ka muude infektsioonide korral). Nagu mis tahes laboratoorse uuringu puhul peab ka siin leidu arst alati tõlgendama ja positiivne tulemus ei tähenda automaatselt ägedat haigust, mida peaks alati ravima. Kuna aga kompleksdiagnostika annab

rohkem teavet, võib tulemuste hindamine olla keerulisem ning vajalik on labori ja klinitsisti senisest tihedam koostöö. Selles on Eesti laboritel veel hulgaliselt arenguruumi konsultatsiooniteenuse parandamisel ja uuringutulemuste täiendava laborisisese hindamise juurutamisel, nii nagu see toimib Skandinaavia riikides ja mujal Euroopas.

Olulise küsimusena on kompleksdiagnostika puhul esilekerkinud kulutuluse ja kulutõhususe aspekt. Kahjuks on vähe uuringuid, kus oleks võrreldud molekulaarsete üksiktestide, kompleksdiagnostika ja klassikaliste meetodite kulusid ning saadavat kasu. Üksikud publikatsioonid siiski on, mis viitavad näiteks hingamisteede infektsioonide korral molekulaarse kompleksdiagnostika suuremale kulutõhususele võrreldes klassikaliste meetoditega (27, 28). STLI-de kohta sellised uuringud puuduvad ning oleks kindlasti vajalikud. Erinevate diagnostikameetodite kulutõhususe hindamisel tuleb arvesse võtta ka kiiremast ja täpsemast diagnoosimisest tulenevaid kaudseid mõjusid, näiteks täiendavat kokkuvõtet muude uuringute pealt, täpsemat ja kiiremat ravi, mõju hospitaliseerimise kestusele, hilisemate tüsistuste esinemist ja nende ravikuludid ning mõju ühiskonnale (näiteks viljatus) ja ravimiresistentsuse levikule. On näiteks näidatud, kuidas kiirem ja täpsem (kuid laboratoorse testi hinnalt kallim) molekulaarne diagnostika mõjutab infektsioonide ja haigustekitajate ülekande riski ning võib kokkuvõttes vähendada summaarselt patsiendi diagnostika ja ravi kulusid (29, 30).

Teoreetiliselt võiks molekulaarne kompleksdiagnostika vähendada ka kulusid ebavajaliku antibiootikumravi vältimise kaudu. Näiteks võiks kiire ja täpne viirusliku etioloogia diagnoosimine hingamisteede infektsioonide puhul vältida ambulatoorses praktikas tavalist igaks juhaks antibiootikumide kasutamist (2, 3). Haigekassa auditi põhjal on antibiootikumide ülekasutamine tavaline ka Eesti ambulatoorses praktikas (31). Seega oleks vaja põhjalikke molekulaarse kompleksdiagnostika kulutõhususe ja kulutuluse uuringuid erinevates valdkondades, sh suguteede infektsioonide diagnostiliste paneelide kohta. Parema ja täpsema diagnostika rakendamise tulemitest hindamine on ülimalt oluline, sest kuigi hinnanguliselt kulutatakse mikrobioloogilistele uuringutele vaid minimaalne protsent kõigist tervishoiukuludest, on sellel mõju

60–70%-le terviseiga seotud otsustest (32). **Kokkuvõtteks** võiks STLI-de molekulaarne kompleksdiagnostika teatud juhtudel parandada suguhaiguste diagnoosimist ning seega võiks luua eeldused adekvaatsemaks raviks ja suguhaiguste esinemise kohta statistiliste andmete saamiseks. Samas esitab kompleksdiagnostika uued väljakutsed raviarsti ja labori koostööle tulemuste tõlgendamisel ning nõuab täiendavaid kliinilisi uuringuid, samuti arendustegevust laboritelt.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Uuringut on rahastanud Quattromed HTI Laborid OÜ.

SUMMARY

Relevance of molecular complex diagnostics for genital tract infections

Paul Naaber^{1,2}, Kaspar Ratnik^{2,3}, Kristi Raud², Epp Sepp¹, Airi Pöder⁴

Background. Molecular complex diagnostics enables to detect several disease associated microorganisms together from one sample. Usage of molecular complex diagnostics has been shown to improve the sensitivity of testing and to detect more co-infections as compared to traditional methods.

Aim. The aim of our study was to evaluate (1) the current usage of molecular tests for diagnosis of genital tract infections and (2) the influence of molecular complex diagnostics on the quality of diagnosis and on the statistics of sexually transmitted infections.

Methods. All genital tract samples sent to Quattromed HTI Laboratories for testing of any sexually transmitted infection in January 2013 were included. These samples (n = 4985) were investigated by the Luminex xMAP panel for *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *C. trachomatis* LGV, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* and *U. parvum*.

Results. Usually, genital samples were sent for detection of one (31%), two (22%) or three (20%) different obligate or opportunistic pathogens. Detection of *C. trachomatis* (91% of the samples) was ordered most frequently. The prevalence of the inves-

¹Department of Microbiology, University of Tartu, Tartu, Estonia, ²Quattromed HTI Laboratories,

³Department of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Tartu, Estonia,

⁴Dermatology Clinic, Tartu University Hospital, Tartu, Estonia

Corresponding author: paul.naaber@quattromed.ee

Keywords: molecular complex diagnostics, genital tract infections, sexually transmitted infections, Luminex xMAP, quality of diagnostics

tigated microorganisms in our samples was the following: *N. gonorrhoeae* 0.2%, *C. trachomatis* 3.5%, *T. vaginalis* 0.5%, *M. genitalium* 1.2%, *M. hominis* 7.9%, *U. urealyticum* 7.7% and *U. parvum* 32%. The prevalence of a particular microorganism was commonly similar in samples sent for detection of a particular organism and in samples sent for detection of some other organism. The only exception was *C. Trachomatis*, which we found significantly more frequently in samples sent for investigation of this pathogen. If we do not apply the multiplex diagnostics panel for all genital samples and test only ordered microorganisms, 40% of *N. gonorrhoeae*, 0.6% of *C. trachomatis*, 88% of *T. vaginalis*, and 48% of *M. genitalium* caused STLI cases will remain undiagnosed, according to our sample set.

Conclusions. Positivity percentages of particular disease associated microorganisms were not related to physician suspicion and order (except in the case of *C. trachomatis*) in the genital samples of patients suspected for genital tract infections. Usage of multiplex diagnostic panels increases significantly the detection rate of some important sexually transmitted microorganisms, especially *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae*. Thus, it can improve the quality of management and the accuracy of statistics of several sexually transmitted infections.

KIRJANDUS/REFERENCES

- Higgins RR, Beniprashad M, Cardona M, Masney S, Low DE, Gubbay JB. Evaluation and verification of the Seeplex Diarrhea-V ACE assay for simultaneous detection of adenovirus, rotavirus, and norovirus genogroups I and II in clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2011;49:3154-62.
- Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, Westin J, Anderson LM, Lindh M. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2008;41:53-6.
- Brittain-Long R, Westin J, Olofsson S, Lindh M, Andersson LM. Prospective evaluation of a novel multiplex real-time PCR assay for detection of fifteen respiratory pathogens-duration of symptoms significantly affects detection rate. *J Clin Virol* 2010;47:263-7.
- Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, et al. Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses. *J Virol Methods* 2005;126:53-63.
- Liu J, Gratz J, Maro A, et al. Simultaneous detection of six diarrhea-causing bacterial pathogens with an in-house PCR-luminex assay. *J Clin Microbiol* 2012;50:98-103.
- Spizz G, Young L, Yasmin R, et al. Rheonix CARD(®) Technology: An innovative and fully automated molecular diagnostic device. *Point Care* 2012;11:42-51.
- Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. Evaluation of Seeplex® STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infections. *J Infect Chemother* 2012;18:494-500.
- McKechnie ML, Hillman R, Couldwell D, et al. Simultaneous identification of 14 genital microorganisms in urine by use of a multiplex PCR-based reverse line blot assay. *J Clin Microbiol* 2009;47:1871-7.
- McKechnie ML, Hillman RJ, Jones R, et al. The prevalence of urogenital micro-organisms detected by a multiplex PCR-reverse line blot assay in women attending three sexual health clinics in Sydney, Australia. *J Med Microbiol* 2011;60:1010-6.
- Kim SJ, Lee DS, Lee SJ. The prevalence and clinical significance of urethritis and cervicitis in asymptomatic people by use of multiplex polymerase chain reaction. *Korean J Urol* 2011;52:703-8.
- Samra Z, Rosenberg S, Madar-Shapiro L. Direct simultaneous detection of 6 sexually transmitted pathogens from clinical specimens by multiplex polymerase chain reaction and auto-capillary electrophoresis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;70:17-21.
- Diaz N, Dessi D, Dessole S, Fiori PL, Rappelli P. Rapid detection of coinfections by *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* by a new multiplex polymerase chain reaction. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67:30-6.
- Muvunyi CM, Dhont N, Verhelst R, et al. Evaluation of a new multiplex polymerase chain reaction assay STDFinder for the simultaneous detection of 7 sexually transmitted disease pathogens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;71:29-37.
- Ginocchio CC, Chapin K, Smith JS, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* and coinfection with *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in the United States as determined by the Aptima *Trichomonas vaginalis* nucleic acid amplification assay. *J Clin Microbiol* 2012;50:2601-8.
- Amar CF, East CL, Gray J, Iturriza-Gomara M, Maclure EA, McLauchlin J. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26:311-23.
- Huguenin A, Moutte L, Renois F, et al. Broad respiratory virus detection in infants hospitalized for bronchiolitis by use of a multiplex RT-PCR DNA microarray system. *J Med Virol* 2012;84:979-85.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Sexually transmitted infections in Europe, 1990-2009. Stockholm: ECDC; 2011.
- Smith PL, WalkerPeach CR, Fulton RJ, DuBois DB. A rapid, sensitive, multiplexed assay for detection of viral nucleic acids using the FlowMetrix system. *Clin Chem* 1998;44:2054-6.
- Naaber P, Uusküla A, Naaber J, et al. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections in Estonia in 2001-2002: shortcomings with impact on diagnostic quality and surveillance. *Sex Transm Dis* 2005;32:759-64.
- Sakem B, Michel R, Nydegger UE, et al. Diagnostic relevance of simultaneous testing for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Infection* 2011;39:231-7.
- Alcalá L, Martín A, Marín M et al. The undiagnosed cases of *Clostridium difficile* infection in a whole nation: where is the problem? *Clin Microbiol Infect* 2012;18:E204-E213.
- van den Brandhof WE, Bartelds AI, Koopmans MP, van Duynhoven YT. General practitioner practices in requesting laboratory tests for patients with gastroenteritis in the Netherlands, 2001-2002. *BMC Fam Pract* 2006;7:56.
- Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. Guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the infectious diseases society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57:e22-e121.
- Naaber P, Naaber J, Pöder A. Suguhaiguste laboratoorne diagnostika Eestis. *Hippokrates* 2003;5:442-3.
- Naaber P, Naaber J, Pöder A, Hjelm E, Hallén A, Domeika M. Assessment of laboratory diagnostics of sexually transmitted infections in Estonia. Proceedings of the 8th STI/AIDS- 40th IUSTI. Mediamond S.r.l. 2004:67-72.
- De Francesco MA, Negrini R, Pinsi G, Peroni L, Manca N. Detection of *Ureaplasma* biovars and polymerase chain reaction-based subtyping of *Ureaplasma parvum* in women with or without symptoms of genital infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:641-6.
- Dundas NE, Ziadie MS, Revell PA, et al. A lean laboratory: operational simplicity and cost effectiveness of the Luminex xTAG™ respiratory viral panel. *J Mol Diagn* 2011;13:175-9.
- Mahony JB, Blackhouse G, Babwah J, et al. Cost analysis of multiplex PCR testing for diagnosing respiratory virus infections. *J Clin Microbiol* 2009;47:2812-7.
- Stürenburg E. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost considerations. *Ger Med Sci* 2009;7:Doc06 doi: 10.3205/000065.
- Polisena J, Chen S, Cimon K, McGill S, Forward K, Gardam M. Clinical effectiveness of rapid tests for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized patients: a systematic review. *BMC Infect Dis* 2011;11:336.
- Naaber P, Naaber J. Laia toimespektriga antibiootikumide kasutamise põhjendatus perearstipraktises. *Perearst* 2005;5:16-9.
- Okeke IN, Peeling RW, Goossens H, et al. Diagnostics as essential tools for containing antibacterial resistance. *Drug Resist Update* 2011;14:95-106.