



# 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<sup>a,\*</sup>, José Carlos Palomares<sup>a</sup>, Samuel Bernal<sup>a</sup>, Nieves Sivianes<sup>a</sup>, Luis Pérez<sup>a</sup>, Isabel Pueyo<sup>b</sup>, Carmen Almeida<sup>c</sup> y Estrella Martín-Mazuelos<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Microbiología Molecular, Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, Hospital Universitario Valme, Sevilla, España

<sup>b</sup> Centro de Infecciones de Transmisión Sexual, Sevilla, España

<sup>c</sup> 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)<sup>1</sup>, estimándose en 90 millones los casos nuevos que aparecen a nivel mundial<sup>2</sup>. 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 mujeres<sup>3–5</sup> y epididimitis, uretritis y prostatitis en varones<sup>6–8</sup>. 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)<sup>9–11</sup>.

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 comerciales<sup>12–15</sup> 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*)<sup>16</sup>. 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.

**Tabla 1**

Comparación de resultados obtenidos para la detección de CT por el sistema Cobas AMPLICOR y cobas 4800 en exudados. Se muestran los resultados globales (cervical y uretral) y cada uno por separado

	Cobas AMPLICOR		Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
	Positivo	Negativo				
<b>cobas 4800</b>						
<i>Global</i>						
Positivo	60	0	77,9	100	100	96
Negativo	17	411				
<i>Cervicales</i>						
Positivo	31	0	79,5	100	100	96,7
Negativo	8	237				
<i>Uretrales</i>						
Positivo	29	0	76,3	100	100	95,1
Negativo	9	174				

VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico de este estudio se realizó con el programa SPSS Statistics v18 (IBM, España). Los valores de concordancia se obtuvieron determinando el valor kappa ( $\kappa$ ) y unos intervalos de confianza del 95%. Los valores de kappa se interpretan como: menor o igual al 20%, escasa concordancia; 21–40% ligera concordancia; 41–60% concordancia moderada; 61–80% buena concordancia, y superior al 80% presenta una excelente concordancia. La extrapolación de los datos se realizó con la prueba no paramétrica de la  $\chi^2$  de McNemar para determinar que la proporción de muestras clasificadas como positiva por un método y negativa por otro, es igual a la proporción de muestras clasificadas como negativa por un sistema y positivo por el otro.

### Resultados

Los resultados obtenidos por el ensayo c4800 y CAM se muestran en las tablas 1 y 2. De las 495 muestras de exudados analizados, hubo 7 muestras que en el c4800 se interpretaron como error (presencia de coágulo) o inválido (control interno inhibido). Dichas muestras se excluyeron de los análisis. En total se compararon 488 muestras, de las que 60 fueron positivas para CT por ambos métodos (31 cervicales y 30 uretrales, el rango del valor umbral de los ciclos fue de 27 a 41, con una media de 35 ciclos y mediana de 36 ciclos) y 411 fueron negativas por ambos sistemas.

Los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN se calcularon tomando como referencia los resultados del CAM: 77,9%, 100%, 100% y 96%, respectivamente. Los valores de kappa o grado de concordancia entre ambos sistemas evaluados fue 0,857. Encontramos 17 discordancias (8 cervicales y 9 uretrales), todas correspondientes a muestras positivas por el sistema CAM y negativas por c4800.

En 208 pacientes analizamos en paralelo la muestra de orina y su correspondiente exudado (cervical en mujeres, uretral en varones), de las cuales 26 fueron positivas para CT en ambas muestras (16 cervicales y 10 uretrales, el rango del valor umbral de los ciclos de las orinas fue de 25 a 36, con una media de 31 ciclos y mediana de 33 ciclos) y en 180 pacientes; las dos muestras fueron negativas, con una concordancia del 99% (206/208 muestras). Obtuvimos

2 muestras discordantes correspondientes a 2 muestras de exudados cervicales que fueron positivas y la orina fue negativa. Para esta comparación, el valor de kappa fue 0,957.

El valor de Ct calculado para los exudados uretrales por el sistema c4800 tenía una media de 33 ciclos (rango 27–40) mientras que los cervicales tenían una media de 36 ciclos (rango 30–41). El valor de Ct calculado para las orinas de pacientes varones tuvieron una media de 29 ciclos (rango 25–31). Las orinas de mujeres presentaban una media de 33 ciclos (rango 27–36).

Las discordancias de ambos estudios, se comprobaron con el sistema MultiNA y todas las muestras fueron negativas, coincidiendo con los resultados obtenidos con el c4800 por lo que podríamos considerarlos como falsos positivos del sistema CAM. Además, al consultar los datos de la historia clínica de estos pacientes, ninguno presentaba sospecha clínica de infección en el momento de la toma de muestras.

### Discusión

En este estudio, la técnica c4800 CT/NG ha demostrado ser una buena técnica de detección de ADN de *C. trachomatis* y su sistema automatizado permite realizar de 3 a 4 tandas de 22 o 94 muestras por una única persona durante su jornada laboral. Además, los resultados obtenidos por c4800 con respecto al CAM han mostrado una concordancia con valores de 96,5% (471/488 muestras), 97,1% (268/276 muestras) y 95,8% (203/212 muestras) en resultados globales, exudados cervicales y uretrales respectivamente, considerando a CAM como método de referencia en este estudio ya que es el método actualmente utilizado en nuestro laboratorio en la rutina diaria. Al examinar las muestras discordantes con el sistema MultiNA todas fueron negativas, lo que sumado a la ausencia de sospecha clínica de infección en el momento de la toma de muestra, corroboraría que se tratase de falsos positivos del CAM. Si consideramos esta premisa, al recalcular la sensibilidad entre ambos métodos obtendríamos un valor de 100%, ajustándose al hecho de que c4800 presenta una doble diana frente a *C. trachomatis* (gen *ompA* y plásmido críptico) que aumenta la sensibilidad y la especificidad de la técnica en comparación con CAM que solo tiene una diana. Este método de detección de CT se ha utilizado

**Tabla 2**

Comparación de resultados obtenidos para la detección de CT por el cobas 4800 en las muestras de exudados y orinas

	cobas 4800: orinas		Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
	Positivo	Negativo				
<i>cobas 4800: exudados</i>						
POS	26	2	100	98,9	92,9	100
NEG	0	180				

VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

como método alternativo a los dos anteriores por poseer una región diana diferente de CAM y c4800 (no como método de referencia ya que existen pocos datos disponibles sobre su sensibilidad y especificidad).

Destacamos los valores de sensibilidad y especificidad, el 100 y el 98,9% respectivamente, en la comparación de los exudados con su correspondiente orina en el c4800, por lo que podemos considerar que las orinas, al ser una muestra no invasiva y por sus buenos resultados, son una muestra ideal para la detección de *C. trachomatis*, tanto en varones como mujeres. También destacamos los valores de especificidad y VPP del 100% al comparar los resultados de los exudados analizados por el c4800 y CAM. Estos resultados son similares a los obtenidos en estudios recientes en cuanto a concordancia entre sistemas utilizados, tipo de muestras e índice kappa obtenidos<sup>17,18</sup>.

Se necesitan más estudios que evalúen la técnica c4800 en otro tipo de muestras como pueden ser exudados rectales y faríngeos para comprobar completamente su utilidad general, ya que para este tipo de muestras el cultivo sigue siendo la técnica más específica (100%) pero presenta una baja sensibilidad (70-85%). Se utilizan habitualmente células McCoy, HeLa229 y BGMK, y generalmente en *shell vial*. Las inclusiones citoplasmáticas se pueden observar a las 48 o 72 h de incubación, tras tinción de las preparaciones con lugol o Giemsa, o con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína<sup>19</sup>. Además, la revisión 5.0 de 10/2004 y la 2.0 de los *inserts* de CAM y c4800, respectivamente, especifican que estas técnicas no están dirigidas para este tipo de muestras (solo recomiendan el uso de orinas y exudados urogenitales). Otras técnicas comerciales, como son Aptima Combo 2 (Gen-Probe Inc, San Diego, CA) o ProbeTec (Becton Dickinson Co, Sparks, MD), han obtenido buenos resultados de sensibilidad y especificidad con exudados rectales comparados con otras técnicas comerciales y el cultivo<sup>20</sup>.

En conclusión, nuestros resultados muestran que el nuevo c4800 en cuanto a sensibilidad, especificidad, VPP y VPN en muestras urogenitales y en orinas son equiparables al método usado rutinariamente en nuestro laboratorio, el CAM. Además, al ser una PCR a tiempo real, la obtención de resultados es más rápido (al menos 48 h) que con el sistema CAM. Esto, junto con la comentada presencia de la doble diana de detección hace que el sistema c4800 sea un instrumento eficaz en la práctica rutinaria para el diagnóstico de estas infecciones en varones y mujeres.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por Roche Diagnostics, Barcelona, España.

### Bibliografía

- Amato-Gauci A, Ammon A. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. Report on the status of communicable diseases in the EU and EEA/EFTA countries. European Centre for Disease Prevention and Control 2007 [consultado 25/9/2010]. Disponible en: [http://www.ecdc.europa.eu/pdf/Epi\\_report\\_2007.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/pdf/Epi_report_2007.pdf).
- Xiong L, Zhang YX, Watkins G, Caldwell HD. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect Immun*. 2006;74:1040-9.
- Westrom L, Joesoef R, Reynolds G, Hagdu A, Thompson SE. Pelvic inflammatory disease and fertility. A cohort study of 1,844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results. *Sex Transm Dis*. 1992;19:185-92.
- Peipert JF. Clinical practice. Genital chlamydial infections. *N Engl J Med*. 2003;349:2424-30.
- Hillis SD, Owens LM, Marchbanks PA, Amsterdam LF, MacKenzie WF. Recurrent chlamydial infections increase the risks of hospitalization for ectopic pregnancy and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;176:103-7.
- Berger RE, Alexander ER, Monda GD, Ansell J, McCormick G, Holmes KK. *Chlamydia trachomatis* as a cause of acute «idiopathic» epididymitis. *N Engl J Med*. 1978;298:301-4.
- Harryman L, Horner P. *Chlamydia trachomatis* and non-gonococcal urethritis. *Medicine*. 2010;38:249-54.
- Mazzoli S, Cai T, Addonizio P, Bechi A, Mondaini N, Bartoletti R. *Chlamydia trachomatis* infection is related to poor semen quality in young prostatitis patients. *Eur Urol*. 2010;57:708-14.
- Madeleine MM, Anttila T, Schwartz SM, Saikku P, Leinonen M, Carter JJ, et al. Risk of cervical cancer associated with *Chlamydia trachomatis* antibodies by histology, HPV type and HPV cofactors. *Int J Cancer*. 2007;120:650-5.
- Silins I, Ryd W, Strand A, Wadell G, Tornberg S, Hansson BG, et al. *Chlamydia trachomatis* infection and persistence of human papillomavirus. *Int J Cancer*. 2005;116:110-5.
- Smith JS, Bosetti C, Munoz N, Herrero R, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. *Chlamydia trachomatis* and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int J Cancer*. 2004;111:431-9.
- Herrmann B. A new genetic variant of *Chlamydia trachomatis*. *Sex Transm Infect*. 2007;83:253-4.
- Unemo M, Olcén P, Agné-Stadling I. Experiences with the new genetic variant of *Chlamydia trachomatis* in Örebro county, Sweden -proportion, characteristics and effective diagnostic solution in an emergent situation. *Euro Surveill*. 2007;12:E5-6.
- Whiley DM, Lambert SB, Bialasiewicz S. False-negative results in nucleic acid amplification tests -do we need to routinely use two genetic targets in all assays to overcome problems caused by sequence variation? *Crit Rev Microbiol*. 2008;34:71-6.
- Unemo M, Seth-Smith HM, Cutcliffe LT, Skilton RJ, Barlow D, Goulding D, et al. The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis*: genome sequence, morphology, cell tropism and phenotypic characterization. *Microbiology*. 2010;156:1394-404.
- Horii T, Ohtsuka H, Osaki M, Ohkuni H. Use of a dual priming oligonucleotide system to detect multiple sexually transmitted pathogens in clinical specimens. *Lett Appl Microbiol*. 2009;49:46-52.
- Tyrrell G, Kalan K, Yung G, Fuller J. Performance evaluation of the Roche prototype cobas 4800 CT/NG Test compared to Cobas AMPLICOR Test. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;34:196.
- Rockett R, Goire N, Limnios A, Turra M, Higgins G, Lambert SB, et al. Evaluation of the cobas 4800 CT/NG test for detecting *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Sex Transm Infect*. 2010;86:470-3.
- Aznar J, Blanco MA, Lepe J, Otero L, Vázquez F. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales [consultado 15/1/2011]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;24:1-60. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap24.asp>.
- Moncada J, Schachter J, Liska S, Shayevich C, Klausner D. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1657-62.