

58. Jahrestagung der deutschen STD-Gesellschaft

17.-19. September 2009 Bochum

Neues zur Chlamydien Diagnostik

T. Meyer

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

th.meyer@uke.de



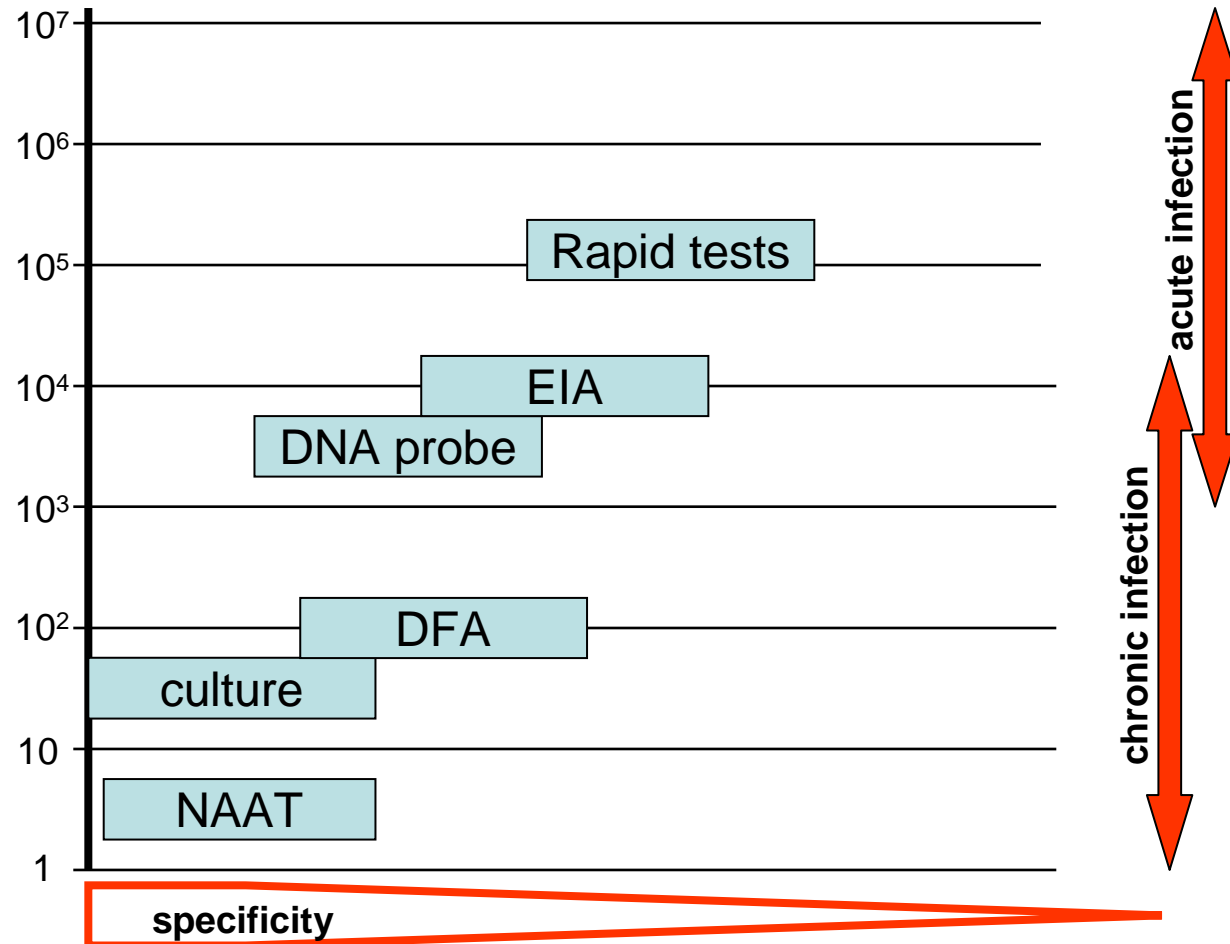
Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Nachweisverfahren für *Chlamydia trachomatis*

Zytologie	Giemsa Färbung	Abstrich
Gewebekultur	Mc Coy Zellen, HeLa Zellen	Abstrich (Biopsie)
Antigen Nachweis	DFA	Abstrich
	EIA	Abstrich (Urin)
	Schnelltests	Abstrich
Nukleinsäure Nachweis	Hybridisierung	Abstrich, Urin, Biopsie, Sperma
	Amplifikationsverfahren (NAT)	Abstrich, Urin, Biopsie, Sperma
Antikörper Tests	KBR, EIA, MIFT, Westernblot, Line Assays	Serum

Sensitivität und Spezifität der Chlamydien Nachweisverfahren

number
of bacteria



Amplifikationstests für *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae*

Hersteller/Test	Methode	Zielsequenz		Inhibitionskontrolle
		<i>C. trachomatis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>	
Roche, Cobas Amplicor; TaqMan	PCR	pCCT1	Cytosine DNA methyltransferase	intern (beta Globin)
Abbott RealTime CT/NG	PCR	pCCT1	Opa	intern (HPR)
Abbott LCx	LCR	pCCT1	Opa	keine
GenProbe: AmpCT, APTIMA	TMA	16S-rRNA	16S-rRNA	keine
Becton Dickinson: ProbeTec-ET	SDA	pCCT1	pilin gene-inverting protein homologue	extern (spiking)
Digene/Qiagen HC-II CT/NG	Hybrid Capture	pCCT1 genom. DNA	plasmid und genom. DNA	keine

Übereinstimmung der Ergebnisse der C. trachomatis NATs

Specimen	1st test	n	Abbott m2000 (% concordance)		
			positive	negative	overall
Swab	ProbeTec	496	99.1% (325/328)	98.2% (165/168)	98.8% (490/496)
	Amplicor	67	96.3% (26/27)	100% (40/40)	98.5% (66/67)
	LCx	64	100% (32/32)	100% (32/32)	100% (64/64)
Urine	APTIMA	496	93.7% (59/63)	99.3% (430/433)	98.6% (489/496)
	ProbeTec	156	96.8% (60/62)	98.9% (93/94)	98.6% (153/156)

Marshall et al. JCM 2007

Ursachen unterschiedlicher Sensitivität und Spezifität der NATs in klinischen Studien

- **Analytische Sensitivität**
- **Varianten**
- **Untersuchungsmaterial**
- **Extraktionsmethode, Inhibitoren**

Inhibitionsrate in *Chlamydia trachomatis* Amplifikationsassays

Untersuchungs- material	Anzahl inhibitorischer Proben		
	Aptima AC2	Probe Tec	Amplicor
Vaginalabstrich (n=298)	4 (1.3%)	6 (2.0%)	31 (10.4%)
Zervikalabstrich (n=298)	5 (1.7%)	6 (2.0%)	38 (12.8%)
Erststrahlurin (n=298)	1 (0.3%)	81 (27.2%)	36 (12.1%)

Chernesky et al. 2006

Hochdurchsatzsysteme für die molekulare Infektionsdiagnostik



**GenProbe
Tigris DTS System**

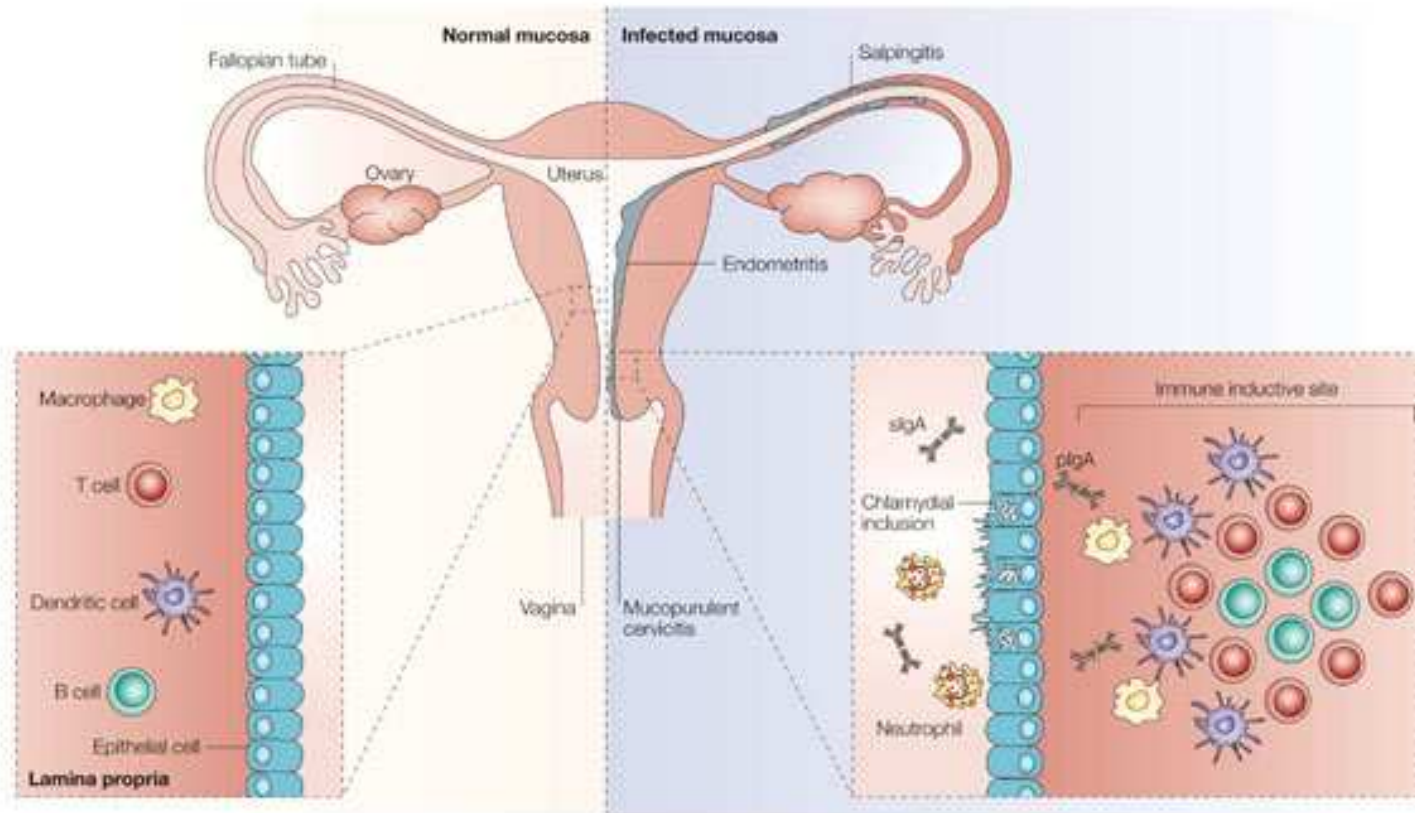
- Vollautomatisierte (walk-away) Extraktion, Amplifikation und Detektion
- kontinuierliche Beladung
500 Proben in 8 h



**Becton Dickinson
ProbeTec CTQ Viper XTR**

- Vollautomatisierte (walk-away) Extraktion, Amplifikation und Detektion
- Extraktions- und Inhibitionskontrolle
- kontinuierliche Beladung
> 700 Proben in 8 h

Chronische Chlamydien Infektion und Folgeerkrankungen



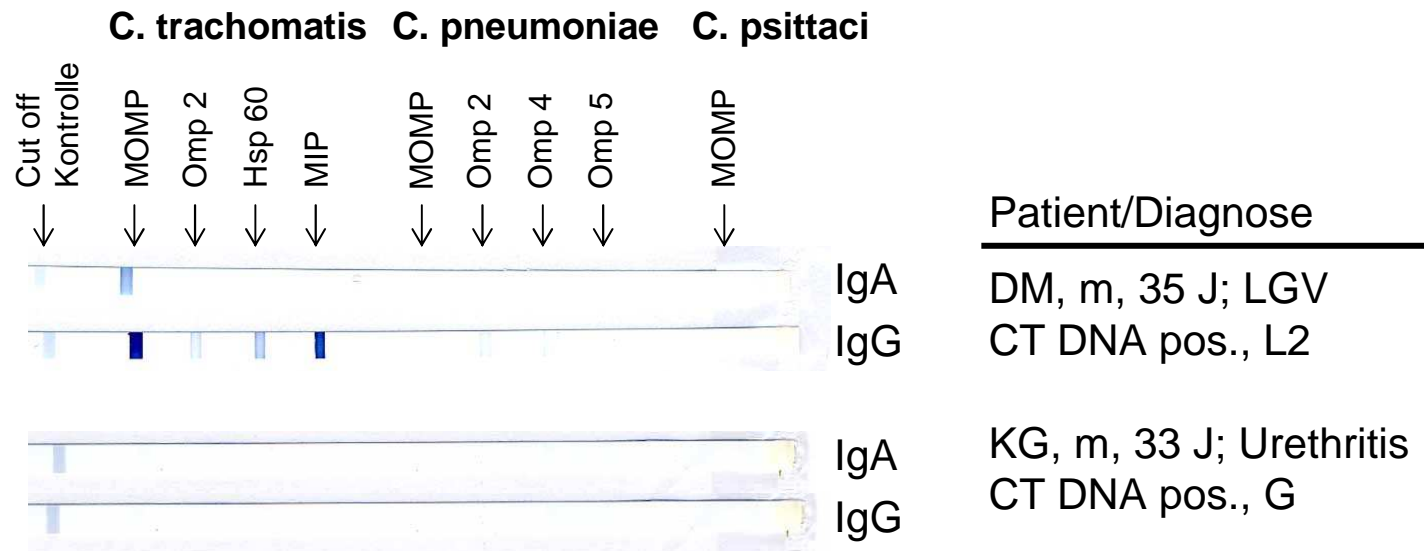
Nature Reviews | Immunology

Serologische Verfahren

Testformat	Antigene
KBR	LPS
EIA	LPS, Momp (Omp1), Hsp60
MIFT	formalin-fixierte EBs (Momp/Omp1)
Westernblot	verschiedene
Line assay	verschiedene

- Bei oberflächlichen epithelialen Infektion der Urethra und des unteren Genitaltrakts nicht immer oder erst verspätet AK-Reaktion im peripheren Blut nachweisbar
- Bei chronisch-invasiven Infektionen in der Regel deutliche AK-Antwort nachweisbar
- Differenzierung Spezies-spezifischer Antikörperreaktionen schwierig

Chlamydien Antikörper Bestimmung mittels Line-Assay



recomLine Chlamydia IgG/IgA; Mikrogen GmbH; Neuried

Neue Antigene für die serologische Chlamydien Diagnostik

Antigen	Sensitivität	Spezifität
MOMP (Omp1)	87% (53/64)	100% (0/125)
Omp2	92% (59/64)	100% (0/125)
CPAF	84% (54/64)	98% (2/125)
TARP	73% (47/64)	90% (12/125)
PmpD	70% (45/64)	82% (23/125)
cHsp60 (GroEL)	61% (39/64)	90% (12/125)
HP17	45% (29/64)	94% (8/125)
RpsA	22% (14/64)	100% (0/125)
TSAP	38% (24/64)	99% (1/125)



64 CT-pos. Patienten
(PCR-bestätigt)



125 Kontrollpersonen
Blutspender, Gesunde

Zusammenfassung

Neues in der Chlamydien Diagnostik

NATs

Methode der Wahl für den direkten Erregernachweis

Hohe Sensitivität und Spezifität

Weniger inhibitorische Proben durch verbesserte DNA-Extraktion

Vollautomatisierte Extraktion und Amplifikation

- Hochdurchsatzanalysen
- geringe Anfälligkeit für Kontaminationen
- ungeeignet für Proben-pooling

Serologie

Diagnostik aufsteigender/invasiver *C. trachomatis* Infektionen

Charakterisierung neuer immunogener Antigene

- Differenzierung (*C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*)
- serologischer Marker für chronisch-invasive Infektionen