

Chlamydia pneumoniae
Chlamydia trachomatis

plus

Einpunkt

Quantifizierung

EinpunktQuantifizierung

C. pneumoniae
IgG- und IgA-ELISA *plus*

C. trachomatis
IgG- und IgA-ELISA *plus*

medac

Chlamydia pneumoniae-Infektionen

C. pneumoniae* ist ein intrazellulärer Schleimhautparasit, der primär das Epithel des Respirationstrakts besiedelt. Über Monozyten kann der Erreger auch in die Blutgefäße, in die Synovia oder ins Zentralnervensystem gelangen. Die Infektion beginnt häufig mit uncharakteristischer Symptomatik wie Pharyngitis, Husten oder Schnupfen. Eine Verwechslung mit einem grippalen Infekt ist nicht selten. Der Krankheitsverlauf kann langwierig sein. Nicht erkannte *C. pneumoniae*-Infektionen führen häufig zu schwerwiegenden Folgeerkrankungen. Die höchste Inzidenz von *C. pneumoniae*-Infektionen liegt bei Kindern zwischen dem 5. und 9. Lebensjahr. Sie beträgt 9%. Wiederholte Reinfektionen sind für die hohe IgG-Prävalenz (50 bis >75%) im Erwachsenenalter verantwortlich.



Infektionen des Respirationstrakts

Atypische Pneumonien werden in 10-15% aller Fälle von *C. pneumoniae* hervorgerufen. 5% aller Bronchitiden und Sinusitisfälle werden ebenfalls auf *C. pneumoniae* zurückgeführt. Mit bisher unbestimmter Häufigkeit ist *C. pneumoniae* auch an der Entstehung einer Otitis media sowie dem infektionsbedingten Asthma beteiligt.



Chlamydieninduzierte Arthritis (CIA)

Die CIA, die klassischerweise durch *C. trachomatis* hervorgerufen wird, ist auch nach broncho-pulmonaler Infektion durch *C. pneumoniae* bereits mehrfach beschrieben worden. In der Synovia konnte der Erreger wiederholt nachgewiesen werden. Vitale Erreger in den Gelenken und persistierende IgG- und IgA-Antikörper gegen den Erreger unterstreichen die mögliche Beteiligung von *C. pneumoniae* an der Genese dieser Arthritisform.

Auch bei der Pathogenese einer Vaskulitis scheint *C. pneumoniae* eine Rolle zu spielen.



Atherosklerose

Vitale anzüchtbare Erreger in den Plaques von Blutgefäßen sowie serologische Befunde weisen auf den Zusammenhang von Infektion und Plaque-Entstehung hin. Eine Makrolid-Behandlung *C. pneumoniae*-positiver Patienten scheint vor der Progression einer arteriellen Verschlusskrankheit nicht ausreichend zu schützen. Welchen Stellenwert *C. pneumoniae* jedoch in der Pathogenese der Atherosklerose tatsächlich besitzt, müssen noch weitere Studien zeigen. Auch bei der Entstehung einer Myo- oder Endokarditis scheint *C. pneumoniae* involviert zu sein.

In Diskussion



Multiple Sklerose

Vieles spricht für eine multifaktorielle Ätiologie der Multiplen Sklerose. Das Zusammenspiel von genetischer Veranlagung und auslösenden Umweltagentien, die ein Autoimmungeschehen in Gang setzen, ist wahrscheinlich. Bei der Entstehung der Multiplen Sklerose wird die Beteiligung von *C. pneumoniae* als externer Auslöser in Erwägung gezogen. Im Liquor cerebrospinalis wurden bereits sowohl Erreger als auch spezifische IgG-Antikörper nachgewiesen.



Alzheimer-Syndrom

Inwiefern *C. pneumoniae* auch als Risikofaktor bei neurologischen Veränderungen vom Alzheimer-Spättyp in Frage kommt, werden weitere Untersuchungen klären müssen. In Einzelfällen wurde in erkrankten Hirnarealen Erregermaterial nachgewiesen. Auch spezifische Antikörper im Liquor wurden detektiert.

Chlamydia trachomatis-Infektionen

Chlamydia trachomatis ist ein intrazellulärer Schleimhautparasit, der primär das Epithel des Urogenitaltrakts bei Mann und Frau besiedelt. Über Monozyten kann der Erreger auch in die Synovia gelangen. Die *C. trachomatis*-Infektion ist in den westlichen Industrieländern die häufigste sexuell übertragbare bakterielle Erkrankung. Nach überwiegend asymptomatisch oder symptomarm verlaufenden Primär- und Reinfektionen manifestieren sich häufig erst nach Jahren schwerwiegende Folgeschäden. Die höchste Prävalenz von frischen *C. trachomatis*-Infektionen liegt mit 6 bis 8% zwischen dem 15. und 25. Lebensjahr. *C. trachomatis*-bedingte Erkrankungen weisen geschlechtsspezifische Besonderheiten auf.

Urethritis, Zervizitis, Endometritis, Adnexitis, Perihepatitis, Periappendizitis etc.

C. trachomatis besiedelt zunächst in unterschiedlicher Dichte die Schleimhaut des unteren Genitales. In 50 bis 60% der Fälle sind sowohl Urethra als auch Zervix infiziert. *C. trachomatis* ist prädestiniert, über die Schleimhaut zu ascendieren. So gelangt der Erreger schließlich über Zervix, Uterus und Tuben bis in den Bauchraum. Auf dem Weg dorthin entstehen wiederholt Entzündungen, die zu den oben genannten klinischen Manifestationen führen können. Häufig sind peripher zu dieser Zeit keine Erreger mehr nachweisbar.



***C. trachomatis*-bedingte Zervizitis einer Schwangeren** führt nicht selten zur Infektion des Neugeborenen unter der Geburt. Innerhalb von weniger als 4 Wochen kann sich daraus eine Einschlusskörperchenkonjunktivitis oder aber auch eine schwere Neugeborenenpneumonie manifestieren.



Kinderlosigkeit

Jede 7. Ehe in Deutschland bleibt heute ungewollt kinderlos. *C. trachomatis* ist die Hauptursache von infektionsbedingten Sterilitäten. Mehr als die Hälfte der sekundären Sterilitäten können auf eine Infektion zurückgeführt werden. *C. trachomatis*-Infektionen führen im Extremfall zu funktionsuntüchtigen Tuben. Durch eine chronische *C. trachomatis*-Infektion steigt das Risiko einer ektopen Schwangerschaft um das 5-fache. Nidationsstörungen und Frühaborte können ebenfalls induziert werden.



Nichtgonorrhöische Urethritis, Prostatitis, Epididymitis

Bis zu 50% der nichtgonorrhöischen Urethritisfälle werden durch *C. trachomatis* verursacht. 1 bis 3 Wochen nach Infektionsbeginn können erste Symptome auftreten. Durch die oftmals schwache und indifferente Symptomatik wird die Infektion häufig zu spät erkannt. Die ascendierten Erreger können in Prostata und Nebenhoden zu chronischen Entzündungen führen, deren Auswirkungen auf die Fertilität des Mannes nicht mit Bestimmtheit feststehen. Mit Sicherheit besteht jedoch eine Infektionsgefahr für den Sexualpartner.



Proktitis

Besonders bei Analverkehr besteht auch die Gefahr einer Chlamydieninfektion des Rektums. Durch diese bakterielle Vorschädigung der Schleimhaut wird das Eindringen von HIV begünstigt.



Chlamydieninduzierte Arthritis (CIA)

Die CIA ist eine reaktive Arthritis, die sich Wochen oder erst Monate nach einer *C. trachomatis*-bedingten Urethritis, Zervizitis oder Bartholinitis entwickelt. Bei der chlamydienbedingten reaktiven Arthritis dominiert mit Ausnahme der klinisch symptomatischen Schübe die latent persistierende Form der Erreger. In den meisten Fällen ist der Erreger an der ursprünglichen Eintrittspforte nicht mehr zu finden.



Diagnostik

C. pneumoniae- und *C. trachomatis*-Diagnostik

Direktnachweis

Nukleinsäure-Amplifikationstechnik

Bei Verdacht auf eine akute, periphere *C. trachomatis*-Infektion werden immer häufiger **Nukleinsäure-Amplifikationstechniken** (NAT) wie z.B. die PCR eingesetzt. Im Gegensatz dazu kommen diese molekularbiologischen Verfahren bei *C. pneumoniae*-Infektionen wesentlich seltener zur Anwendung.

Immunfluoreszenztest/Enzymimmunoassay

Für die Diagnostik beider Chlamydienarten sind weiterhin **Immunfluoreszenztests** (IFT) und **Enzymimmunoassays** (ELISA) im Einsatz, obwohl der Erregernachweis mit diesen Methoden weniger spezifisch und auch weniger sensitiv als die molekularbiologischen Assays ist.

Serologie

Der Nachweis einer Chlamydieninfektion kann auch über chlamydienspezifische Antikörper erfolgen. Insbesondere bei fortgeschrittenen, chronischen Chlamydieninfektionen - in diesen Fällen sind häufig peripher keine Erreger mehr nachweisbar - ist die Serologie die Methode der Wahl.

Mikroimmunfluoreszenztest

Als Goldener Standard in der Chlamydienserologie gilt nach wie vor die **Mikroimmunfluoreszenz** (MIF). Die Qualität der MIF-Ergebnisse leidet unter der subjektiven Bewertung der Ergebnisse. Außerdem differieren die Ergebnisse stark in Abhängigkeit vom Testsystem/-hersteller. Um die Antikörperkonzentration beurteilen zu können, ist die Ermittlung des Endtiters über zahlreiche Verdünnungsschritte erforderlich. Insgesamt kann die MIF die Anforderungen der Routinediagnostik nur bedingt erfüllen.

Enzymimmunoassay

In der Routine haben sich **automatisierbare ELISA** durchgesetzt. Um den Progress einer Erkrankung, bzw. den Therapieerfolg besser beurteilen zu können, ist ein Monitoring von Antikörperverläufen notwendig. Bei chronischen Infektionen ist mit gleichbleibenden Antikörperkonzentrationen zu rechnen. Im Gegensatz dazu steigen diese bei akuten Primärinfektionen und Reinfektionen signifikant an. Echte Konzentrationsveränderungen sind jedoch nur über eine sichere Quantifizierung festzustellen. Ein erster Schritt auf dem Weg zur Quantifizierung der Ergebnisse stellt die semiquantitative Ergebnisauswertung als Cut off-Index dar (z.B. **Chlamydia trachomatis-IgG-** und **IgA-pELISA medac** und **Chlamydia pneumoniae-IgG-, IgA-** und **IgM-sELISA medac**). Ein wesentlicher Fortschritt bei der Quantifizierung der Chlamydienserologie ergibt sich aus der Einpunktkalibrierung/Einpunktquantifizierung, die sowohl im speziesspezifischen **Chlamydia trachomatis-IgG-** und **IgA-ELISA plus medac** als auch im **Chlamydia pneumoniae-IgG-** und **IgA-ELISA plus medac** zur Anwendung kommt.

Die medac-Einpunktquantifizierung

Technische Vorteile

Keine Standardkurve im Test mitzuführen

Messwertkorrektur über Kalibrator

Softwaregestützte Ergebnisauswertung



Hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse
Bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse



Diagnostik "State of the Art"

Medizinische Vorteile

Zuverlässiges Monitoring von Antikörperkonzentrationen
durch bessere Standardisierung

Zuverlässige Antikörperverläufe zum Einschätzen von Krankheitsstadien

Zuverlässige Antikörperverläufe zum Einschätzen des Therapieerfolgs



Klare Aussagen



Akute Erkrankungen (Erstinfektionen, Reinfektionen)
Chronische Erkrankungen

C. pneumoniae- und C. trachomatis-ELISA plus medac

Quantitative Auswertung über Einpunktquantifizierung

Voraussetzung:

Kontrollen

Leerwert
Negative Kontrolle
Positive Kontrolle
Kalibrator

Validitätskriterien

OD < 0,100
OD < 0,100
Definierter AU/ml-Sollbereich*
Unterer OD-Grenzwert*

* chargenspezifisch

Berechnung der Antikörperkonzentration für IgG und IgA

Messwertkorrektur

$$OD_{\text{koriert}} = \frac{\text{OD-Sollwert des Kalibrators}}{\text{OD-Messwert des Kalibrators}} \times OD_{\text{gemessen}}$$

Unit-Berechnung

$$\text{Konzentration [AU/ml]} = b / \left(\frac{a}{OD_{\text{koriert}}} - 1 \right)$$

AU = arbiträre Einheit

Die Kurvenparameter a und b sind chargenabhängig.

Die Quantifizierbarkeit unserer speziesspezifischen Chlamydien-ELISA **Chlamydia pneumoniae-IgG-** und **IgA-ELISA plus medac** und **Chlamydia trachomatis-IgG-** und **IgA-ELISA plus medac** bietet eine gute Voraussetzung für das zuverlässige Monitoring von Antikörperkonzentrationen, wodurch Krankheitsverlauf und Therapieerfolg besser einzuschätzen sind.

Die Einpunktquantifizierung stellt eine anwenderfreundliche und kostengünstige Methode zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen dar. Die medac-Einpunktquantifizierung ist einfach durchzuführen, leicht programmierbar und softwaregestützt schnell auswertbar.

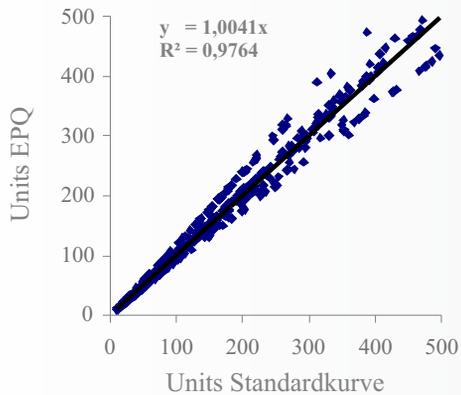
Konzentrationsbestimmung von Antikörpern

Standardkurve versus Kalibrator

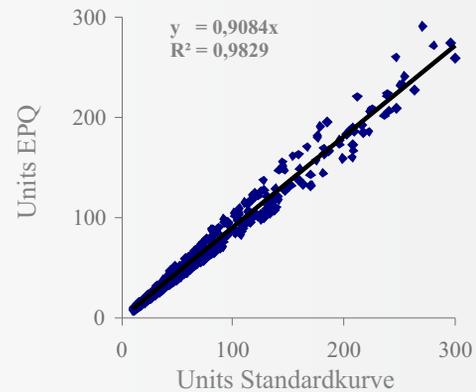
Die Einpunktquantifizierung (EPQ) von medac ist eine hochpräzise Methode, die gleichwertige Ergebnisse wie eine konventionelle Standardkurve liefert (Abb.).

C. pneumoniae

IgG

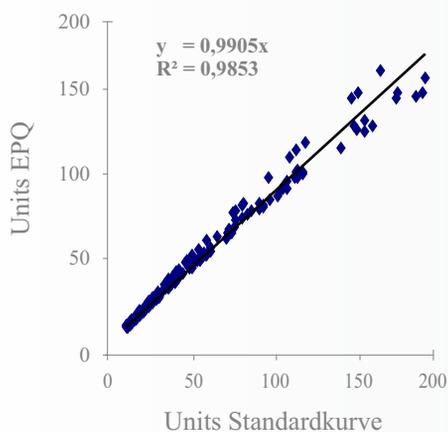


IgA

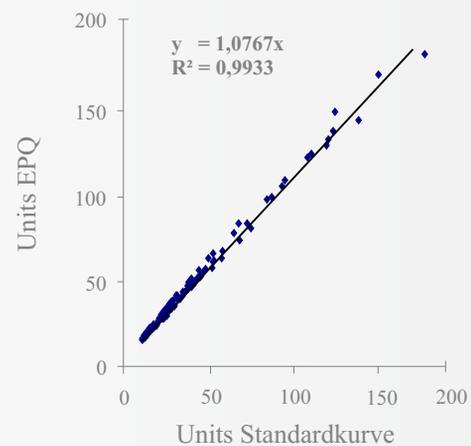


C. trachomatis

IgG



IgA



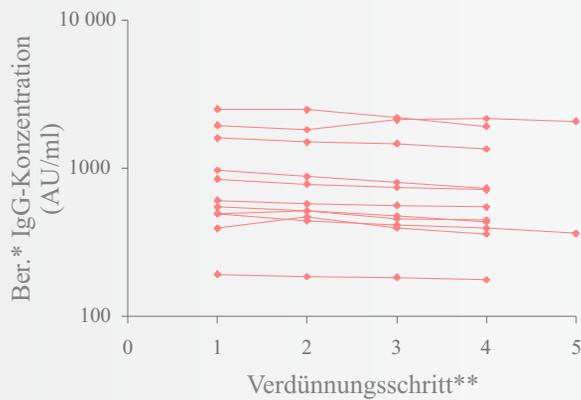
Konzentrationsbestimmung von Antikörpern

Verdünnungslinearität

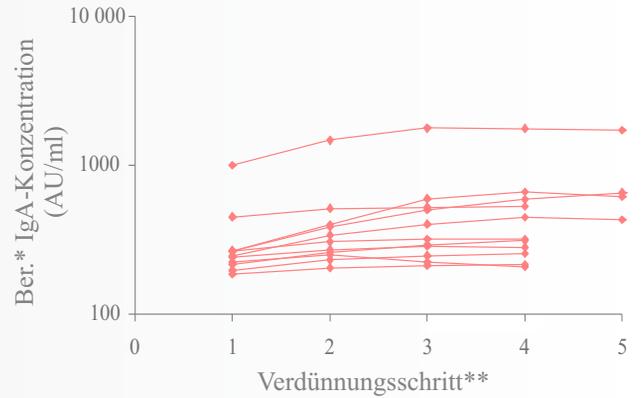
Die Verdünnungsechtheit stellt eine wesentliche Voraussetzung für die Beurteilung hochtitriger Seren im Verlauf dar. Sowohl der *C. pneumoniae*-IgG- und IgA-ELISA *plus medac* als auch der *C. trachomatis*-IgG- und IgA-ELISA *plus medac* erfüllen diese Anforderung sehr gut.

C. pneumoniae

IgG

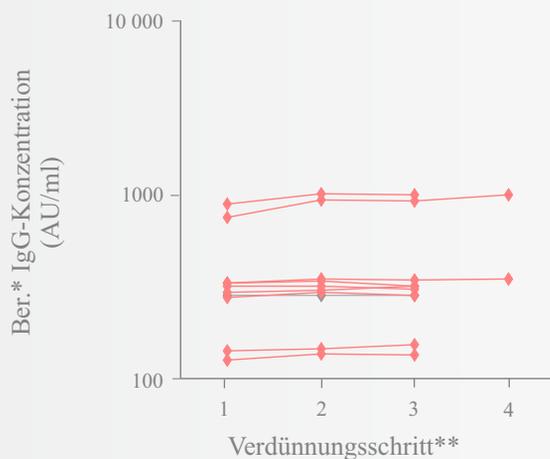


IgA

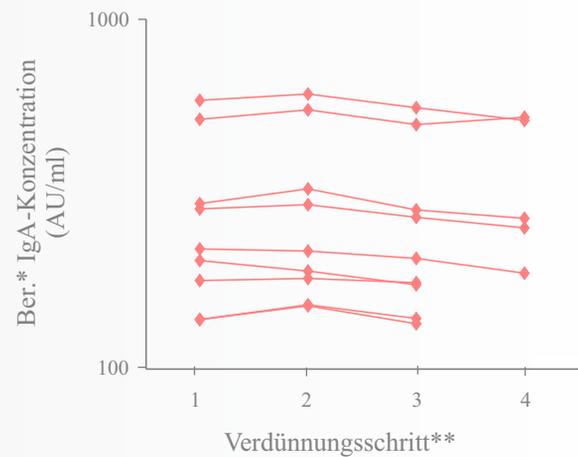


C. trachomatis

IgG



IgA



* Berechnete Antikörperkonzentration
 ** jeweils 1:2

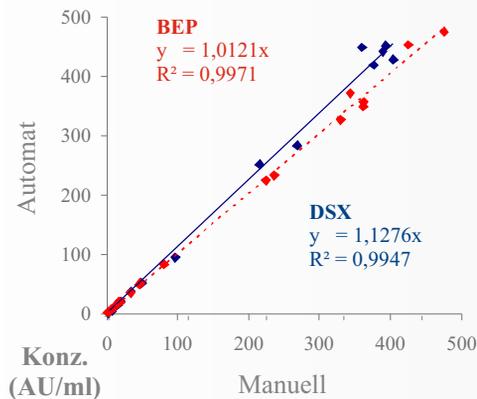
Automatisierbarkeit

Automat versus Handansatz

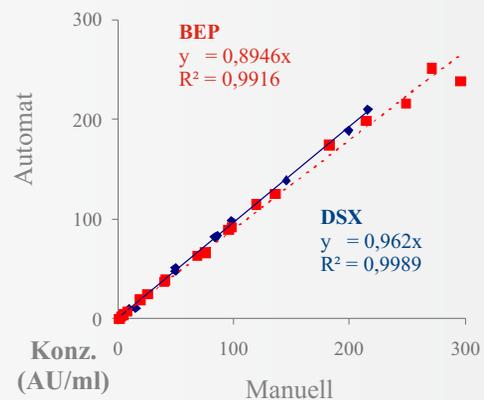
Die Automatisierbarkeit der *Chlamydia pneumoniae*-IgG- und IgA-ELISA *plus medac* und *Chlamydia trachomatis*-IgG- und IgA-ELISA *plus medac* wurde an mehreren offenen Systemen/ELISA-Prozessoren überprüft. Die Übereinstimmung zwischen automatisierter und manueller Testdurchführung zeigt sich in der guten Korrelation der erhaltenen Werte (Abb.).

C. pneumoniae

IgG

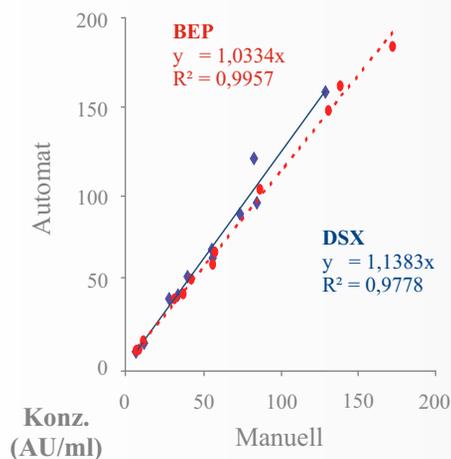


IgA

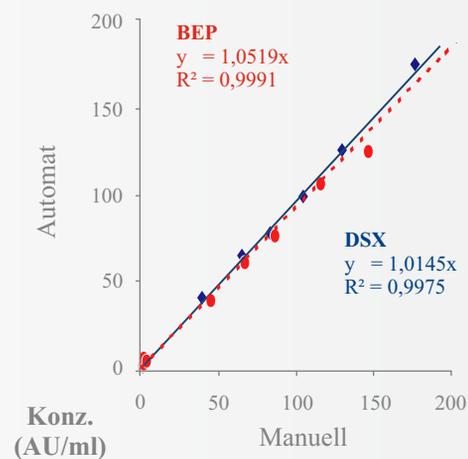


C. trachomatis

IgG



IgA



Präzisionsmessungen

Intra- und Interassayvarianzen

Die Messungen zur Ermittlung der Intra- und Interassay-Varianz wurden mit jeweils fünf unterschiedlich reaktiven Seren durchgeführt (manueller Ansatz).

Zur Bestimmung der Intraassay-Varianz wurden diese Seren jeweils in 21-fach Bestimmung in einem Testlauf untersucht. Zur Feststellung der Interassay-Varianz wurden die Seren jeweils in 11 unabhängigen Testläufen gemessen.

Intraassay-Varianz

C. pneumoniae

Seren	IgG		IgA	
	AU/ml	VK	AU/ml	VK
	61	5%	47	5%
13	4%	31	10%	
55	8%	68	7%	
142	9%	103	8%	
397	10%		7%	

C. trachomatis

Seren	IgG		IgA	
	AU/ml	VK	AU/ml	VK
	5	7%	4	9%
41	2%	58	4%	
51	5%	92	3%	
90	5%	121	5%	
110	5%		6%	

Interassay-Varianz

C. pneumoniae

Seren	IgG		IgA	
	AU/ml	VK	AU/ml	VK
	75	8%	52	4%
13	9%	29	6%	
59	8%	71	5%	
120	7%	148	5%	
432	7%		5%	

C. trachomatis

Seren	IgG		IgA	
	AU/ml	VK	AU/ml	VK
	9	5%	3	11%
32	5%	41	5%	
40	3%	71	5%	
115	7%	96	5%	
151	6%		7%	

Sensitivität und Spezifität

Semiquantitative versus quantitative Auswertung

Zur Ermittlung von Spezifität und Sensitivität für die **C. pneumoniae-IgG-** und **IgA-ELISA *plus medac*** und **C. trachomatis-IgG-** und **IgA-ELISA *plus medac*** wurden jeweils die semiquantitativen, zugelassenen und in der Routine erprobten **C. trachomatis-IgG-** und **IgA-pELISA** bzw. **C. pneumoniae-IgG-** und **IgA-sELISA *medac*** als Referenz herangezogen. Dabei wurden Spezifität und Sensitivität für die ELISA-*plus*-Generation bei einem einheitlichen Cut off für alle ELISA von 25 AU/ml bestimmt.

C. pneumoniae

		C. pneumoniae-sELISA			
		IgG		IgA	
C. pneumoniae <i>plus</i>		-	+	-	+
		-	85	0	119
	+	0	206	0	113
	Spezifität	100%		100%	
	Sensitivität	100%		100%	
	Korrelation	100%		100%	

C. trachomatis

		C. trachomatis-pELISA			
		IgG		IgA	
C. trachomatis <i>plus</i>		-	+	-	+
		-	172	2	243
	+	2	128	3	63
	Spezifität	99%		99%	
	Sensitivität	98%		100%	
	Korrelation	99%		99%	

Literatur

1. Balin BJ, Gérard HC, Arking EJ, Appelt DM, Branigan PJ, Abrams JT, Whittum-Hudson JA, Hudson AP: Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Med Microbiol Immunol* 187, 23 - 42 (1998).
2. Christiansen G, Pedersen L, Clausen JD, Birkelund S: Cell and molecular biology of Chlamydia. In: *Chlamydia Research*. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, September 11-14, pp. 3-6 (1996).
3. Everett KDE, Bush RM, Anderson AA: Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bact* 49, 415 - 440 (1999).
4. Gérard HC, Schumacher HR, El-Gabalawy H, Goldbach-Mansky R, Hudson AP: *Chlamydia pneumoniae* present in the human synovium are viable and metabolically active. *Microb Pathog* 29, 17 - 24 (2000).
5. Grayston JT, Aldous MB, Easton A, Wang SP, Kuo CC, Campbell LA, Altman J: Evidence that *Chlamydia pneumoniae* causes pneumonia and bronchitis. *J Infect Dis* 168, 1231 - 1235 (1993).
6. Grayston JT, Kuo CC, Campbell LA, Wang SP: *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for Chlamydia sp. strain TWAR. *Int Syst Bact* 39, 88-90 (1989).
7. Gupta S, Leatham EW, Carrington D, Mendall MA, Kaski JC, Camm AJ: Elevated *Chlamydia pneumoniae* antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation* 96, 404 - 407 (1997).
8. Gurfinkel E, Bozovich G, Daroca A, Beck E, Mautner B: Randomised trial of roxithromycin in none-Q-wave coronary syndromes: ROXIS Pilot Study. *Lancet* 350, 404 - 407 (1997).
9. Hahn DL, Peeling RW, Dillon E, McDonald R, Saikku P: Serologic markers for *C. pneumoniae* in asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 84, 227 - 233 (2000).
10. Keck C, Gerber-Schäfer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldt M: Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update* 4, 891-903 (1998).
11. Köhler M, Jendro C: Bedeutung der Persistenz von *Chlamydia trachomatis* im Gelenk für die Pathogenese der Chlamydien-induzierten Arthritis unter Berücksichtigung der therapeutischen Implikationen. *Akt Rheumatol* 22, 170-175 (1997).
12. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT: *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 8, 451 - 461 (1995).
13. Laurila AL, von Hertzen L, Saikku P: *Chlamydia pneumoniae* and chronic lung diseases. *Scand J Infect Dis Suppl* 104, 34 - 36 (1997).
14. Maass M, Bartels C, Engel PM, Mamat U, Sievers HH: Endovascular presence of viable *Chlamydia pneumoniae* is a common phenomenon in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 31, 827 - 832 (1998).
15. Martin DH, Nsuami M, Schachter J, Hook EW, Ferrero D, Quinn TC, Gaydos C: Use of multiple nucleic acid amplification tests to define the infected-patient "gold standard" in clinical trials of new diagnostic tests for *Chlamydia trachomatis* infections. *J Clin Microbiol* 42, 4749-4758 (2004).
16. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Thomson MJ, Karagounis LA, Woods ML, Anderson JL: Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 27, 1555 - 1561 (1996).
17. Paavonen J: *Chlamydia trachomatis*: A major cause of mucopurulent cervicitis and pelvic inflammatory disease in women. In: *Sexually Transmitted Diseases. Advances in Diagnosis and Treatment*. Curr. Probl. Dermatol. Elsner. P., Eichmann, A. (eds.). Basel, Karger, 24, 110-122 (1996).
18. Pedersen AS, Christiansen G, Birkelund S: Differential expression of Pmp10 in cell culture infected with *Chlamydia pneumoniae* CWL029. *FEMS Microbiol Lett* 203, 153 - 159 (2001).
19. Petersen EE, Clad A: Genitale Chlamydieninfektionen. *Deutsches Ärzteblatt* 92, A-277-282 (1995).
20. Petersen EE, Clad A, Mendel R, Prillwitz J, Hintz K: Prevalence of chlamydial infections in Germany: Screening of asymptomatic women and men by testing first void urine by ligase chain reaction (LCR). In: *Chlamydia Research*. Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, September 11-14, p. 415 (1996).
21. Rund S, Maas M, Birkelund S, Straube E, Blatz R, Drasbek M, Persson K, Böttcher M, Franke D: Evaluation of sELISA medac for the detection of *Chlamydia pneumoniae*-specific IgG, IgA and IgM in comparison to microimmunofluorescence (MIF). *Clin Microbiol Infect* 8, 191, (2002).
22. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmäki E, Ekman MR, Manninen V, Manttari M, Frick MH, Huttunen JK: Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med* 116, 273 - 278 (1992).
23. Sriram S, Stratton CW, Yao S, Tharp A, Ding L, Bannan JD, Mitchell WM: *Chlamydia pneumoniae* infection in the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 46, 6 - 14 (1999).
24. Wollenhaupt J, Zeidler H: Klinik, Diagnostik und Therapie der Chlamydien-induzierten Arthritis. *Akt Rheumatol* 22, 176-182 (1997).