

SERION ELISA *classic* Chlamydia pneumoniae IgA/IgG/IgM
SERION ELISA *classic* Chlamydia trachomatis IgA/IgG/IgM

Май 2018 г.

Хламидите са грам-отрицателни, облигатни вътреклетъчни бактерии. По време на техния жизнен цикъл, хламидиите се редуват между две различни морфологични и функционални форми. Екстрацелуларните и метаболитно инертни елементарни тела са способни да заразят клетките на гостоприемника, където те се трансформират в неинфекциозни ретикуларни тела. Те се размножават и възстановяват в елементарните тела, за да излязат от клетката-гостоприемник и да инициират друг цикъл на инфекция.

Инфекциите с хламидии (хламидиоза) са най-честата бактериална причина за заболяване и засягат предимно лигавиците на очите, дихателните пътища или гениталиите.

Chlamydia (C.) trachomatis (CTR) е един от най-често срещаните полово предавани патогени в световен мащаб. Инфекциите могат да доведат до извънматочна бременност, безплодие или артрит. Хроничните инфекции по време на детството могат да доведат до трахома или слепота, предизвикани от по-късна реинфекция или бактериална суперинфекция. Освен това рискът от преждевременно раждане при заразени бременни жени също се увеличава.

Инфекциите с *C. pneumoniae (CPN)* често са асимптоматични или придружени от леки симптоми като фарингит, дрезгавост, бронхит и кашлица. Честотата на серологично разпространение се увеличава бързо в предучилищна възраст и достига > 50% (жени), съответно -> 70% (мъже) над 60-годишна възраст. Понякога патологията може да претърпи хроничен ход и могат да възникнат имунопатологични синдроми, като синдром на Гилен-Баре или миалгия.

Серологичните тестове за определяне на активността на антителата са мощен инструмент за диагностично изследване на инфекции, причинени от *C. pneumoniae* и *C. trachomatis.* За разлика от най-чувствителния тест за амплификация на нуклеинова киселина, е възможно да се направи разлика между остри и персистиращи инфекции чрез използване на серологичен анализ.

За подпомагане на диагностиката на хламидиозата, Institut Virion\Serion GmbH предлага SERION ELISA класически тестове за *C. trachomatis* и *C. pneumoniae*. Бихме искали да Ви информираме за характеристиките на нашите имуноанализи, чрез предоставяне на данни от сравнително проучване на референтната лаборатория за инфекции с хламидия в Университетската болница в Йена.

В това проучване активността на антителата от 173 серумни проби срещу *C. pneumoniae* и *C. trachomatis* се оценява чрез използване на IgA-, IgG- и IgM-тестове (ELISA, CLIA, MIF, Immunoblot) от осем различни производители. Като справка се използва съответната ELISA от Medac.

Добре характеризираният серумен панел (MIF, Immunoblot) се състои от 74 проби от пациенти с остра или хронична инфекция (IgA-положителна), 88 проби от пациенти с минала инфекция (IgG-положителни) и 11 проби от наскоро заразени пациенти (IgM-положителни).
Извършва се оценка на изпълнението на следните серологични анализи:

- Diasorin, CLIA, IgA и IgG срещу *C. trachomatis*
- Euroimmun, ELISA, IgM срещу *C. trachomatis*
- Euroimmun, ELISA, IgA, IgG и IgM срещу *C. trachomatis*
- Euroimmun, ELISA, IgA, IgG и IgM срещу *C. pneumoniae*
- Euroimmun, MIF срещу *C. trachomatis, C. pneumoniae* и *C. psitacci*
- Euroimmun, Immunoblot, IgA и IgG срещу *C. trachomatis*
- Focus, MIF срещу *C. trachomatis, C. pneumoniae* и *C. psitacci*
- IBL, ELISA, IgA и IgG срещу *C. trachomatis*
- IBL, ELISA, IgA, IgG и IgM срещу *C. pneumoniae*
- Medac, ELISA, IgA, IgG и IgM срещу *C. pneumoniae* (референтен тест)
- Medac, ELISA, IgA и IgG срещу *C. trachomatis* (референтен тест)
- Mikrogen, Immunoblot, IgA, IgG и IgM срещу *C. trachomatis, C. pneumoniae* и *C. psittaci*
- Virotech, ELISA, IgA, IgG и IgM срещу *C. pneumoniae*
- Virotech, ELISA, IgA и IgG срещу *C. trachomatis*
- Virion\Serion, ELISA, IgA, IgG и IgM срещу *C. pneumoniae*
- Virion\Serion, ELISA, IgA и IgG срещу *C. trachomatis*

Първоначално се определя чувствителността и специфичността на имуноанализите, свързани с тестовете от Medac (виж фигура I, стр. 4):

Тест/производител	CLP IgA		CLP IgG		CLP IgM		CTR IgA		CTR IgG	
	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.
Virion\Serion, ELISA	99%	73%	92%	97%	100%	82%	62%	91%	62%	94%
Virotech, ELISA	93%	58%	89%	78%	88%	92%	71%	88%	53%	96%
Euroimmun, ELISA	79%	81%	95%	97%	50%	98%	51%	86%	35%	82%
IBL, ELISA	48%	83%	91%	58%	38%	96%	40%	95%	31%	93%
Euroimmun, MIF	77%	87%	83%	81%	50%	98%	31%	96%	54%	89%
Focus, MIF	76%	93%	67%	97%	29%	96%	11%	99%	18%	96%
Mikrogen, Immunoblot	54%	84%	61%	92%	38%	96%	42%	95%	61%	85%
Euroimmun, Immunoblot	—	—	—	—	—	—	56%	90%	69%	85%
Diasorin, CLIA	—	—	—	—	—	—	38%	99%	50%	95%

Всички положителни и отрицателни резултати, в сравнение с референтните тестове от Medac, показват висока съгласуваност с тестовете SERION ELISA classic (виж фигура II, стр. 4):

- SERION ELISA classic C. pneumoniae IgA: 85.5%
- SERION ELISA classic C. pneumoniae IgG: 93.1%
- SERION ELISA classic C. pneumoniae IgM: 82.7%
- SERION ELISA classic C. trachomatis IgA: 83.3%
- SERION ELISA classic C. trachomatis IgG: 80.3%

Освен това се изследва кръстосаната реактивност на IgG- и IgA-антителата между *C. pneumoniae* и *C. trachomatis* (виж фигура III, стр. 4). Може да се покаже, че в случая на IgA 8 от 173 серума (4.6%) и при IgG 22 от 172 серуми (12.8%) са оценени като положителни за *C. pneumoniae* и *C. trachomatis* при SERION ELISA класическите тестове. В сравнение със съответния референтен ELISA от Medac (IgA 6.9%, IgG 27.7%), кръстосаната реактивност е по-ниска.

В обобщение, изследването на референтната лаборатория за *Chlamydia* инфекции в Йена демонстрира висока степен на корелация между IgE/IgG на IgG/IgG на IgG/IgG и IgG/IgM на SERION ELISA classic, както и на съответната референтна ELISA от Medac.

Ще се радваме да отговорим на всички допълнителни въпроси относно нашите имунологични тестове SERION ELISA classic или съответните положителни контроли.

С най-добри пожелания от Вюрцбург,
Institut Virion\Serion GmbH

Consistency in Chlamydia antibody detection in assays from 8 different providers

Katharina Sobotta[1], Katrin Dobschal[1], Kerstin Drexler[1], Claudia Helgert[1], Beate Haschke[1], Bettina Löffler[1], Michael Baier[1]

[1] Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Jena

Introduction and Aim of Study

Reliable proof of Chlamydia infections in clinical cases is based on the direct pathogen detection by nucleic acid amplification tests (NAATs). NAATs are the most sensitive assays with specificity similar to cell culture [1]. The direct proof that distinguishes between acute and persistent infections by NAATs is still not possible. Analysis of the specific antibody response represents an widely used indirect approach in cases of suspected Chlamydia infection. Serological assays, like ELISA, CLIA and Immunoblots, are easy to perform, lower of costs and more suitable for automation. However, commercially available serological tests show a wide heterogeneity in their performance and, as a result, significant differences in interpretation of the patient's sero status [2-4]

In this study we tested the serum antibody status of 173 clinical serum samples with antibody reactivity against *C. pneumoniae* (CPN) and *C. trachomatis* (CTR) with IgG-, IgA- and IgM-assays (ELISA, CLIA, MIF, Immunoblot) from 8 different providers. To demonstrate the degree of consistency, a test provider was randomly selected as reference (MD).

Summary and Conclusion

We observed in different assays a significant number of disconcordant results in comparison to the ELISA reference test (MD). The best matches were found in the following test systems:

- ❖ **CPN** **IgG: EU (ELISA), VS (ELISA), VT (ELISA)**
  IgA: VS (ELISA), FC (MIF), EU (MIF)
  IgM: EU (ELISA), EU (MIF), IBL (ELISA)
- ❖ **CTR** **IgG: VS (ELISA), EU (Blot), VT (ELISA)**
  IgA: VS (ELISA), VT (ELISA), DS (CLIA)

Disadvantage of the current study is the unknown clinical status of the patients to establish true correlations between antibody response and clinical disease. Positive and negative serological test results should be regarded with caution and critically reviewed in consideration of the clinical situation of the patient.

Results

I. Sensitivity and specificity of the test systems (reference standard: MD)

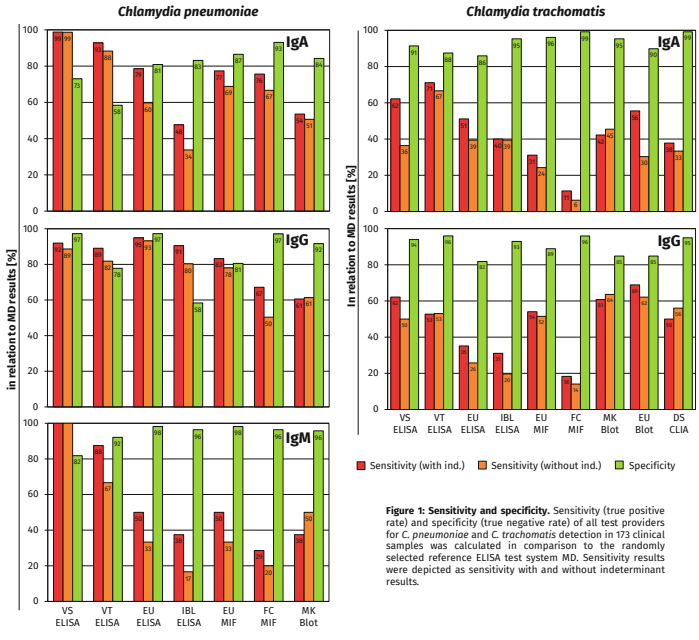


Figure 1: Sensitivity and specificity. Sensitivity (true positive rate) and specificity (true negative rate) of all test providers for *C. pneumoniae* and *C. trachomatis* detection in 173 clinical samples was calculated in comparison to the randomly selected reference ELISA test system MD. Sensitivity results were depicted as sensitivity with and without indeterminant results.

II. Concordance of the test systems (reference standard: MD)

Table 1: Concordance. The agreement of all test systems was calculated as percentage of all positive and negative results correctly reproduced by the control assay (MD), indeterminant results were considered as positive. The results were listed by order of the highest concordance.

CPN	test system	% concordance (ind. = positive)
IgA	VS, ELISA	85.5
	FC, MIF	84.6
	EU, MIF	82.1
	EU, ELISA	79.8
	VT, ELISA	75.1
	MK, Blot	69.4
	IBL, ELISA	65.9
IgG	EU, ELISA	95.4
	VS, ELISA	93.1
	VT, ELISA	86.7
	IBL, ELISA	83.8
	EU, MIF	82.7
	FC, MIF	73.4
	MK, Blot	67.1
IgM	EU, ELISA	96.0
	EU, MIF	96.0
	IBL, ELISA	93.6
	FC, MIF	93.6
	MK, Blot	93.0
	VT, ELISA	91.9
	VS, ELISA	82.7

CTR	test system	% concordance (ind = positive)
IgA	VS, ELISA	83.8
	VT, ELISA	83.2
	DS, CLIA	83.2
	MK, Blot	81.5
	IBL, ELISA	80.9
	EU, Blot	80.9
	EU, MIF	79.2
	EU, ELISA	76.9
	FC, MIF	76.3
IgG	VS, ELISA	80.3
	EU, Blot	78.0
	VT, ELISA	77.5
	DS, CLIA	75.7
	MK, Blot	74.6
	EU, MIF	74.0
	IBL, ELISA	66.5
	FC, MIF	63.3
	EU, ELISA	61.8

III. Antibody cross reactivity

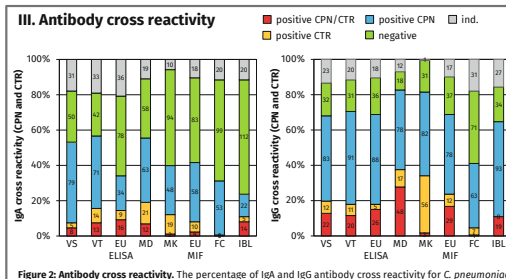


Figure 2: Antibody cross reactivity. The percentage of IgA and IgG antibody cross reactivity for *C. pneumoniae* (CPN) and *C. trachomatis* (CTR) of 173 clinical samples was calculated for 8 different serological test providers.

Materials and Methods

Table 2: Composition of the used clinical samples (n=173)

categories	parameter	plan	selection	status	final panel
past infection	CPN	each 25	CPN-G+	CPN-G+	35
	CTR		CTR-G+	CTR-G+	35
	CPS		CPS-G+	CPS-G+	18
acute/active	CPN	each 25	CPN-(G+)A+	CPN-G+A+	35
	CPN			CPN-A+	10
(chronic)	CTR		CTR-(G+)A+	CTR-G+A+	21
infection	CPS		CPS-(G+)A+	CPS-A+	8
current infection	CPN	each 10	CPN-M+	CPN-M+	10
	CTR		CTR-M+		
	CPS		CPS-M+	CPS-M+	1
total	*180*				***173***

Table 3: Composition of the performed IgA-, IgG and IgM-assays

Test system	parameter	company	code	IgA	IgG	IgM
ELISA/CLIA	CTR	Euroimmun	EU	x	x	
		IBL	IBL	x	x	
		Medac	MD	x	x	
		Virion/Serion	VS	x	x	
		Virotech	VT	x	x	
	CPN	Euroimmun	EU	x	x	x
		IBL	IBL	x	x	x
		Medac	MD	x	x	x
		Virion/Serion	VS	x	x	x
		Virotech	VT	x	x	x
CLIA	CTR	DiaSorin	DS	x	x	
MIF	CPN, CTR	Euroimmun	EU	x	x	x
		Focus	FC	x	x	x
Immunoblot	CPN, CTR	Mikrogen	MK	x	x	x
	CTR	Euroimmun	EU	x	x	

Table 4: Antigen composition of the performed IgA-, IgG and IgM-assays

company code	test	species	Ig-class	**Antigen** (according to kit inserts)
DS	CLIA	CTR	A, G	4 biotynilated peptides
EU	ELISA	CTR	M	rec. MOMP
	ELISA	CTR	M	MOMP (Serotype K, BGM-culture)
	ELISA	CTR	A, G	MOMP (Serotype K, BGM-culture)
	ELISA	CPN	A, G, M	CWL-029 (purified lysed HL-cells)
	MIF	CPN/CTR/CPS		EB of CPN (TWAR), CTR (K), CPS (DCS)
	WB	CTR	A, G	purified antigens, LPS, rec. MOMP
FC	MIF	CPN/CTR/CPS		EB of CPN, CTR (D-K), CPS (2 strains)
IBL	ELISA	CTR	A, G	specific antigens
		CPN	A, G, M	specific antigens
MD	ELISA	CPN	A, G, M	highly purified, specific antigen
	ELISA	CTR	A, G	synth. peptide (MOMP)
MK	WB	CPN/CTR/CPS	A, G, M	MOMP, OMP2, CPAF, TARP, YwbM
VT	ELISA	CPN	A, G, M	species specific antigene
	ELISA	CTR	A, G	synth. peptide (MOMP)
VS	ELISA	CPN	A, G, M	Chlamydia Outer Membrane Complexes
	ELISA	CTR	A, G	species MOMP domain

References

[1] Meyer, T; Dignostic procedures to detect Chlamydia trachomatis infections; 2016; Microorganisms; 4(3):25
[2] Herman, C; Graf, K; Groh, A; Straube, E; Hartung, T; Comparison of eleven commercial tests for Chlamydia pneumoniae-specific immunoglobulin G in asymptomatic healthy individuals; 2002; J Clin Microbiol.; 40(5):1603-9
[3]Land, JA; Gijsen, AP; Kessels, AG; Slobbe, ME; Bruggeman, CA; Performance of five serological chlamydia antibody tests in subfertile women; 2003; Hum Reprod.; 18(12):2621-7
[4] Saadouni, A; Tbai, N; Takourt, B; Comparison of two techniques for serological diagnosis of chlamydia infections: MIF and immunoblotting; 2013; AnnBioClin.; 71(6):633-6

Acknowledgements

We thank K. Dobschal, K. Drexler, C. Helgert and B. Haschke for their excellent technical assistance and we thank for providing test systems from the different suppliers.

Contact

OA Dr. Michael Baier
Medizinische Mikrobiologie, Uniklinikum Jena
Am Klinikum 1
07747 Jena
Phone: +49 3641 9393500
Email: michael.baier@med.uni-jena.de