

Deelnemersdag SKML sectie infectieziekten serologie (IZS)

+ 15-02-2022

De rondzending respiratoire
serologie; interpretatie van
serologie van respiratoire
verwekkers is niet simpel

A.H. Brandenburg

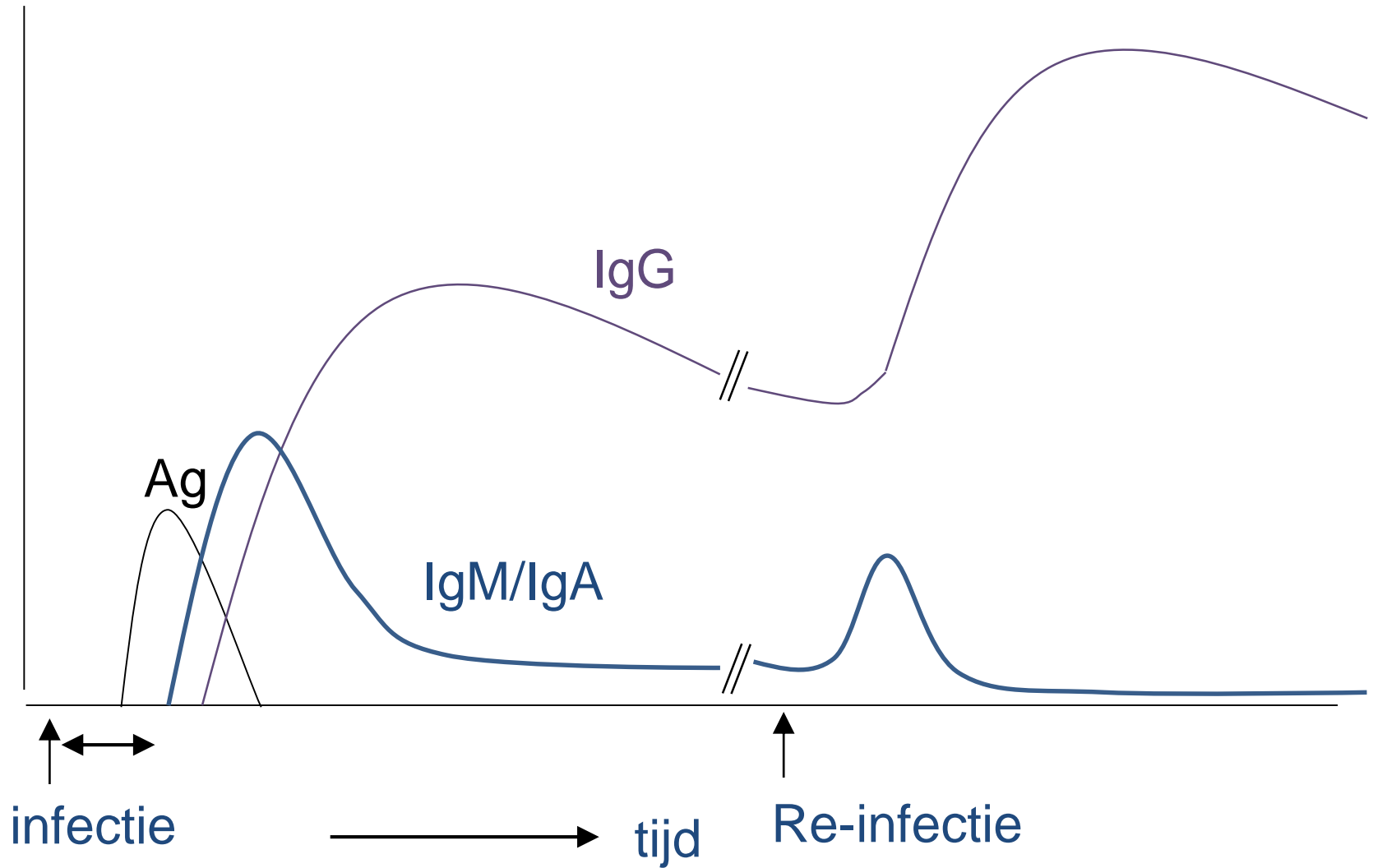
Rondzending respiratoire serologie

- Interpretatieve rondzending
 - 1x per jaar 4 serumparen
 - 9 verschillende verwekkers
- Veranderingen over de jaren:
 - verwekkers: Legionella, Chlamydia
 - methodes: technieken en leveranciers veranderen (CBR van de markt, automatisering)
 - Toepassing: ↓ bij brede beschikbaarheid methodes: DNA/RNA detectie.

Respiratoire serologie

Verwekker	Aantal deelnemers dat serologie naar betreffende verwekker uitvoert						
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Influenza A virus	21	14	14	9	9	9	9
Influenza B virus	21	14	14	9	9	9	9
Adenovirus	21	15	15	9	9	9	9
Parainfluenzavirus	20	14	14	9	9	9	9
RSV	18	14	12	7	6	6	6
Mycoplasma	29	26	27	24	24	24	24
Legionella	19	20	17	17	19	18	19
Q-koorts	25	21	21	19	22	22	21
Chlamydia spp	-	-	-	13	12	16	13

Infectie / antistofrespons



Rondzending respiratoire serologie

- Interpretatie:

- Diagnose met vertraging → serumpaar
- Herinfecties
- rest-titers

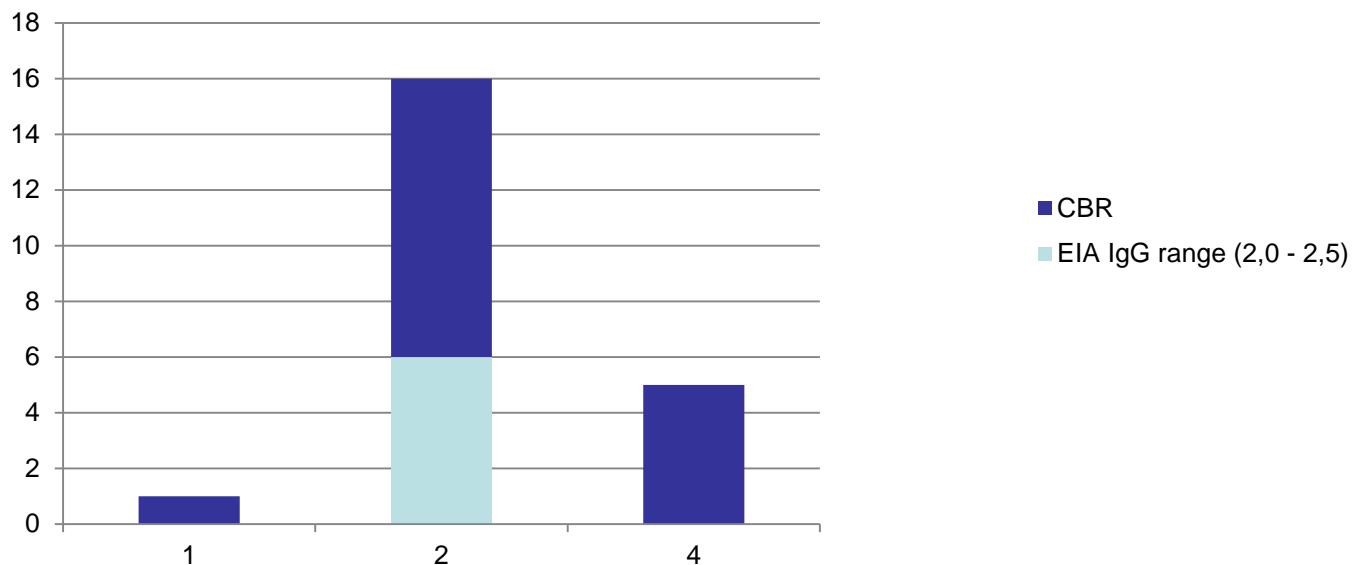
ook IgM en IgA soms langer aantoonbaar

- (Gebrek aan) standaardisatie van testen.

Resp serologie 2013

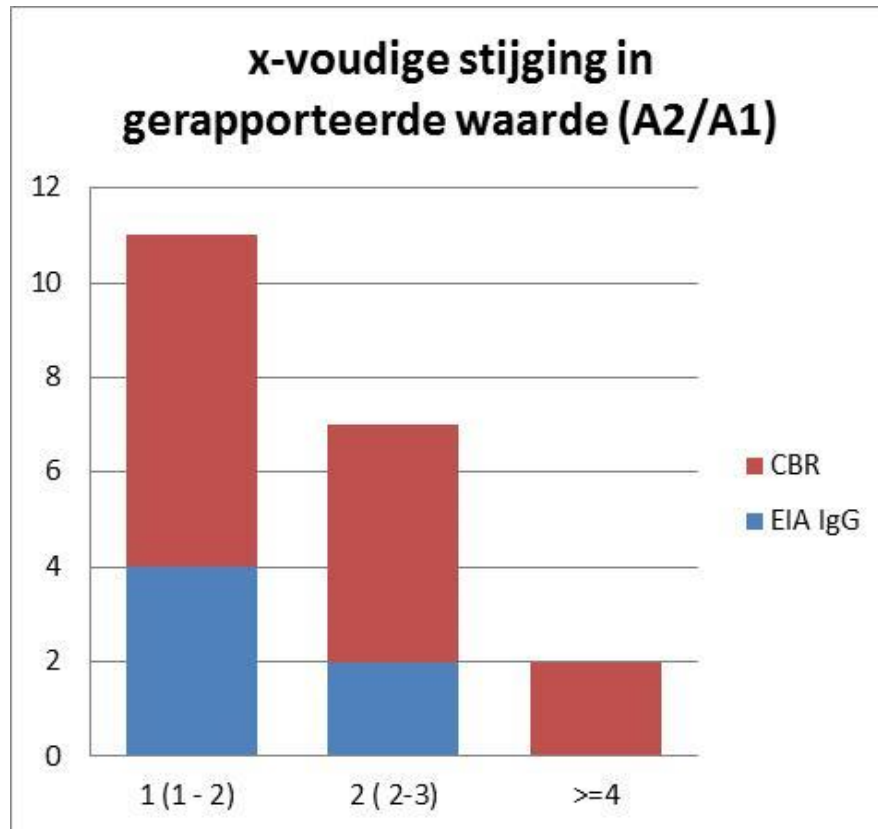
D1/D2 influenza B.

x-voudige stijging in gerapporteerde waarde (D2/D1)



D1/D2 Influenza B serologie	Deelnemers N=	Recente infectie met influenza B	Geen recente infectie met Influenza B	% gevonden infecties
CBR	16	5	11	31%
EIA	7	5	2	71%
Totaal	23	10	13	43%

Resp serologie 2015 A1/A2 influenza A.



Legionella diagnostiek

- Kweek op respiratoir materiaal
- PCR op respiratoir materiaal
- Urine - antigeentest
- Serologie:
 - Technieken: MAT / IFA / EIA
 - Passend bij infectie:
 - Seroconversie
 - Significante titerstijging
 - Enkelvoudig hoge titer afh. Van leeftijd



Table 3. Sensitivity of three serum *L. pneumophila* antibody tests using sera from 45 LD patients

Test criterion	Sensitivity
Fourfold rise in IFAT	61 % (27/44)
Fourfold rise in RMAT	44 % (20/45)
Seroconversion in IgM or IgG ELISA	64 % (28/44)
Combination of the three tests above	67 % (30/45)
Fourfold rise or high standing titres in IFAT	86 % (38/44)
Fourfold rise or high standing titres in RMAT	58 % (26/45)
Seroconversion or high standing titres in IgM or IgG ELISA	75 % (33/44)
Combination of the three tests above	91 % (41/45)

Yzerman et al Journal of Medical Microbiology (2006), 55, 561–566

Sensitivity of three serum antibody tests in a large outbreak of Legionnaires' disease in the Netherlands

Legionella diagnostiek

- Enkelvoudig hoge titer afh. Van leeftijd
(Serion Virion EIA)

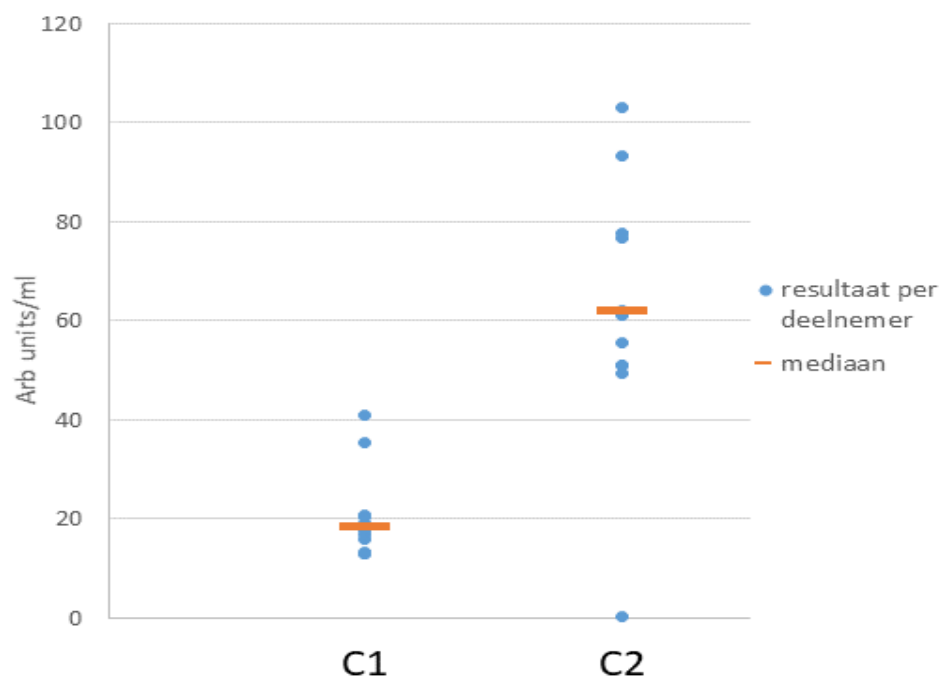
4. Referentieinterval / Grenswaarden

Leeftijd	IgG in U/ml			IgM in U/ml		
	Negatief	Grensgebied	Positief	Negatief	Grensgebied	Positief
<25	<55	55-105	>105	<65	65-115	>115
25-34	<70	70-140	>140	<55	55-95	>95
35-44	<75	75-140	>140	<50	50-85	>85
45-54	<90	90-175	>175	<45	45-80	>80
54-64	<100	100-190	>190	<40	40-65	>65
>64	<50	50-100	>100	<25	25-45	>45

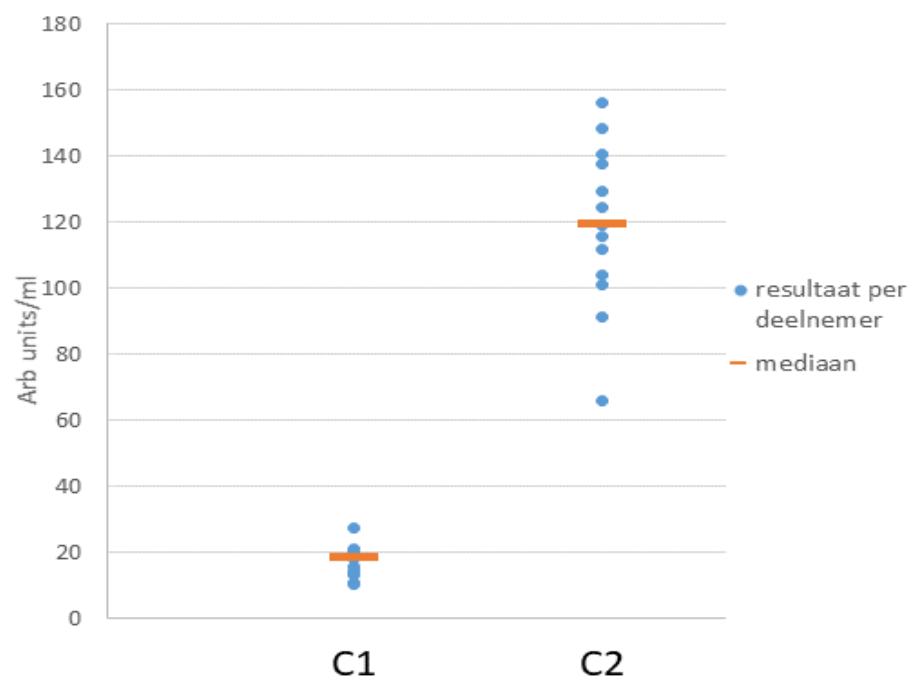
Resp serologie 2020 C1/C2 Legionella.

(semi) kwantitatieve uitslagen legionella serologie van de deelnemers die gebruik maken van de Serion Virion EIA.

Legionella IgG monster C1/C2
SKML respiratoire serologie 2020.1



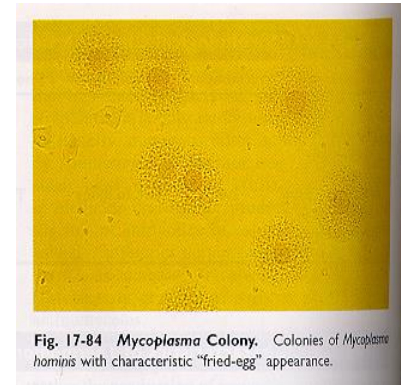
Legionella IgM monster C1/C2
SKML respiratoire serologie 2020.1



Mycoplasma pneumoniae

- Kweek: langzaam en ongevoelig
- koude agglutinininen (50%)
- PCR

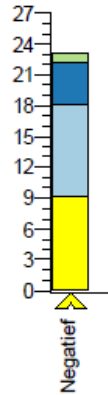
- Serologie: IgM , IgG, IgA
 - Technieken: IFA / Agglutinatatie EIA (veel verschillende commerciële testen, geautomatiseerd)
 - Passend bij infectie:
 - Seroconversie
 - Significante titerstijging
 - Enkelvoudig pos IgM (+ IgG)



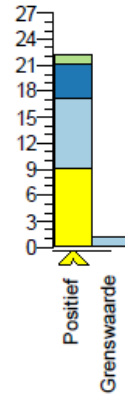
Respiratoire serologie 2021.1

B1/B2 Mycoplasma

2021.1 B1

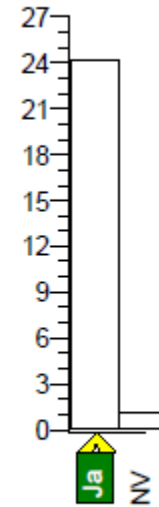


2021.1 B2



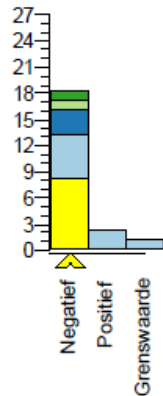
IgM

2021.1 B2

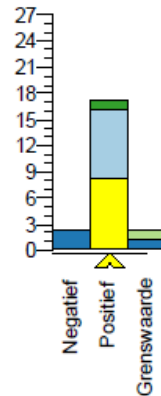


score : **2**

2021.1 B1



2021.1 B2



IgG

Legenda

CLIA Liaison

"Andere" (specificeer bij opmerking)

EIA Virion/Serion

EIA Virotech

Agglutinatie Fujirebio

Mycoplasma serologie algoritmes 2021

Testcombinatie	aantal
IgM + IgG EIA (of CLIA)	17
IgM + IgG + IgA EIA	1
IgM + IgG EIA + complement fixatie test	2
IgM EIA + complement fixatie test	1
alleen agglutinatie test	1
IgM EIA + agglutinatie test	1
alleen IgM CLIA	1

Mycoplasma serologie gebruikte testen 2021

Test	aantal
Afglutinatie Fujirebio	2
Complement fixatie	3
CLIA LIAISON	14
VirClia	2
EIA Serion Virion	4
EIA Demeditec	1
EIA Labsystems	1
EIA Virotec	1

Beersma et al 2005

TABLE 2. Analytical sensitivities, specificities, and predictive values of IgM detection in relation to PCR results^a

Assay	No. (%) of serum specimens		PPV (%)	NPV (%)	% Agreement
	Case sera testing positive (n = 31) ^b	Control sera testing negative (n = 96)			
AniLabsystems	24 (77)	88 (92)	24/32 (75)	88/95 (93)	88.1
Biotest	16 (52)	91 (95)	16/21 (73)	91/106 (86)	84.3
CFT	20 (65)	93 (97)	20/23 (87)	93/104 (89)	89.0
Diagnosys	18 (58)	90 (94)	18/24 (75)	90/103 (87)	85.0
ImmunoCard	12 (48) ^c	76 (79)	12/32 (38)	76/89 (85)	72.7
ImmunoWell	11 (35)	92 (96)	11/15 (73)	92/112 (82)	81.1
Novum	22 (71)	47 (49)	22/71 (31)	47/56 (84)	54.3
Platelia	16 (52)	94 (98)	16/18 (89)	94/109 (86)	86.6
Ridascreen	11 (35)	96 (100)	11/11 (100)	96/116 (83)	84.3
Serion classic	15 (48)	91 (95)	15/20 (75)	91/107 (86)	83.5
SeroMP	22 (71)	84 (88)	22/34 (65)	84/93 (92)	83.5
SerodiaMycoII	20 (65)	84 (88)	20/32 (63)	84/95 (88)	81.9
Virotech	14 (45)	92 (96)	14/18 (78)	92/109 (84)	83.5

^a Equivocal results were considered negative.

^b More than 6 days after disease onset.

^c n = 25.

M. Beersma, K. Dirven, A. van Dam, K. Templeton, E. Claas, H. Goossens
Evaluation of 12 commercial tests and the complement fixation test for *Mycoplasma pneumoniae*-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies, with PCR used as the “Gold Standard”

J Clin Microbiol, 43 (5) (2005), pp. 2277-2285

Busson et. al. 2013

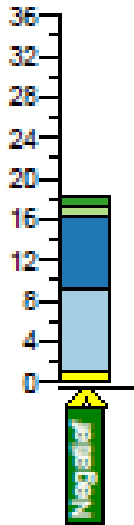
	<u>SeroMP</u> IgM	<u>SeroMP Rec</u> IgM	<u>Liaison</u> IgM	<u>Medac</u> IgM
Sensitivity (%)	100	100	100	100
Specificity (Sp) (%)	75.22	68.93	71.68	80.58
Sp (without non-specific) (%)	92.04	81.48	82.95	91.56
PPV (%)	50.87	47.54	47.54	59.18
NPV (%)	100	100	100	100
	n = 142(n = 117 without non-specific)			

	<u>SeroMP Rec</u> IgA	<u>Medac</u> IgA	<u>SeroMP</u> IgG	<u>SeroMP Rec</u> IgG	<u>Liaison</u> IgG	<u>Medac</u> IgG
Sensitivity (%)	100	100	61.76	97.05	100	100
Specificity (Sp) (%)	98.33	88.13	96.42	100	97.75	100
Sp (without non-specific) (%)						
PPV (%)	90.9	58.82	87.5	100	94.44	100
NPV (%)	100	100	86.17	98.88	100	100
	n = 140		n = 123			

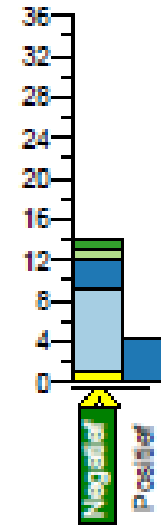
Respiratoire serologie 2013.1 A1/A2

Mycoplasma IgM:

2013.1 A1

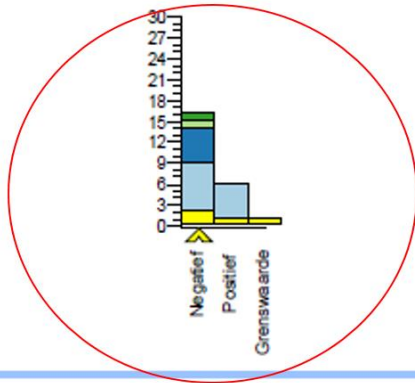


2013.1 A2

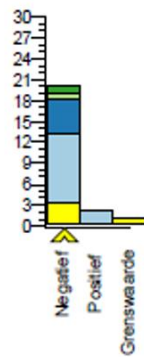


Respiratoire serologie 2016.1

2016.1 D1



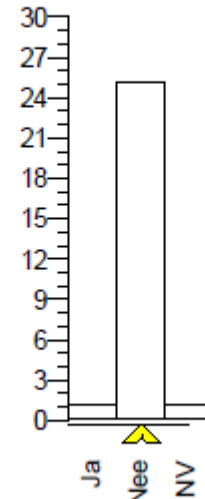
2016.1 D2



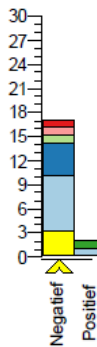
IgM

Mycoplasma

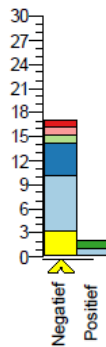
2016.1 D2



2016.1 D1

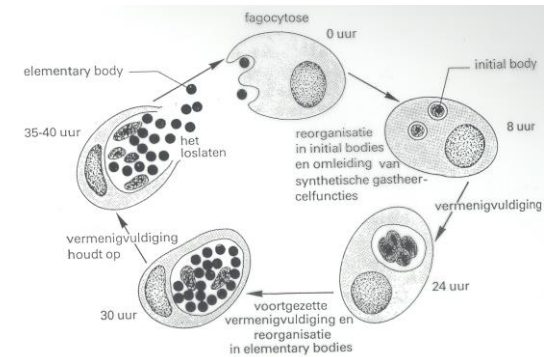


2016.1 D2



IgG

Chlamydia spp.



- Obligaat intracellulaire bacterie
 - Infecties bij de mens:
 - *Chlamydia trachomatis* (SOA, trachoom)
 - *Chlamydia pneumoniae* (TWAR, LWI)
 - *Chlamydia psittacii* (papegaaienziekte)
 - Zoönotische *Chlamydia* Infecties: meldingsplichtig groep C
- Meldingscriteria; passend klinisch ziektebeeld plus:
- PCR positief voor DNA van een *Chlamydia spp.* van dierlijke oorsprong
 - viervoudige titerstijging tegen *Chlamydia spp.* vastgesteld met behulp van CBR of MIF
 - significante stijging of seroconversie in IgM, IgG of 'IgA plus IgG' met behulp van een ELISA.

LCI richtlijn: Psittacose en andere Chlamydia-infecties van dierlijke oorsprong

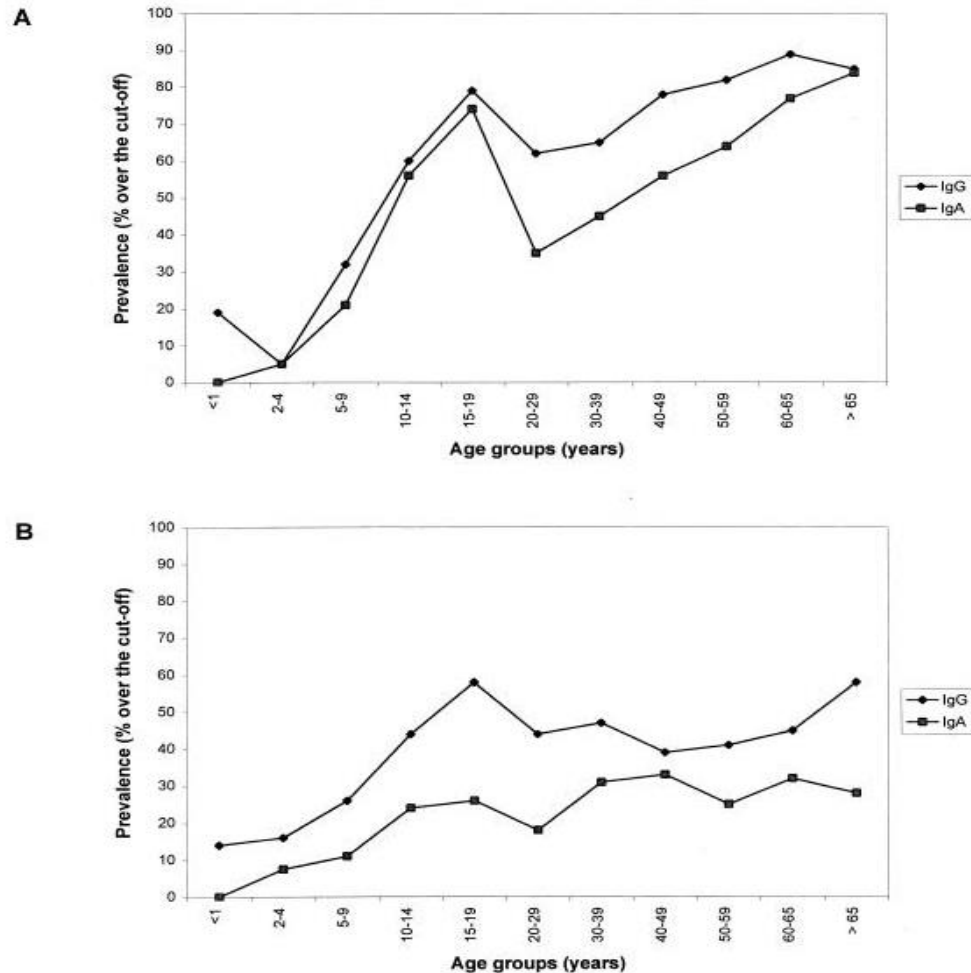
	Pathogeen voor de mens?	Primaire gastheer
<i>C. abortus</i>	Ja	Schapen en geiten
<i>C. avium</i> (Sachse 2014)	Onbekend	Vooral papegaaiachtigen en duiven
<i>C. caviae</i>	Ja (Ramakers 2017)	Cavia's
<i>C. felis</i>	Ja (Browning 2004)	Katten
<i>C. gallinacea</i> (Sac14)	Onbekend	Vooral pluimvee
<i>C. muridarum</i>	Onbekend	Muizen, hamsters
<i>C. pecorum</i>	Mogelijk (Dean 2013)	Herkauwers, koala 's (Polkinghorne 2009)
<i>C. pneumoniae</i>	Ja	Mens
<i>C. psittaci</i>	Ja	Bijna alle soorten vogels
<i>C. suis</i>	Mogelijk (Dean 2013)	Varkens, schapen (Becker 2007, Polkinghorne 2009)
<i>C. trachomatis</i>	Ja	Mens

Tabel 1. Soorten van het geslacht *Chlamydia*

Chlamydia spp. serologie:

- kruisreactie tussen species.
- Hoge prevalentie antistoffen in populatie.
- Eenpuntserologie onbetrouwbaar.
- Technieken: Complement fixatie, EIA (verschillende commerciële kits) . MIF, immunoblot
- Passend bij infectie:
 - Seroconversie:
 - Significante stijging in EIA:
 - ([Persson & Haidl, 2000](#); [Verkooyen 1998](#))
 - 2- voudige stijging in IgM,
 - 3- voudige stijging in IgA of IgG
 - 2-voudige stijging in IgA EN IgG

FIG. 1



Age distribution of the seroprevalence of IgG and IgA antibodies to *C. pneumoniae* (A) and *M. pneumoniae* (B) in a healthy Finnish population.

Tuuminen et al CLIN. DIAGN. LAB. IMMUNOL. 2000;7(5) p. 734–738
Prevalence of Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae
Immunoglobulin G and A Antibodies in a Healthy Finnish
Population as Analyzed by Quantitative Enzyme Immunoassays

Chlamydia serologie algoritmes 2021

Testcombinaties Chlamydia pneumoniae/psittacii	aantal
IgM + IgG + IgA EIA	4
IgM + IgG EIA	2
IgA + IgG EIA	3
IgA + IgG EIA + complement fixatie test	1
alleen complement fixatie test	3
Alleen IgG IFA	1

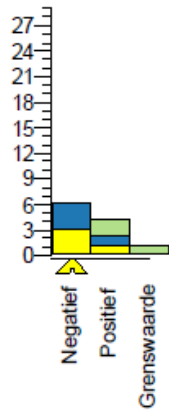
Chlamydia serologie gebruikte testen 2021

Test	Aantal deelnemers
Complement fixatie, antigeen Serion Virion	4
rELISA Medac	1
SERION ELISA classic, Virion/Serion	4
EIA-Allegria	1
recomLine immunoblot Mikrogen	1
Vir Clia	2
VirCell EIA IgG	1
IFA antigeen Euroimmuun	1

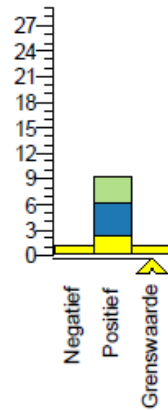
Respiratoire serologie 2018.1

A1/A2 *Chlamydia spp* (PCR pos)

2018.1 A1

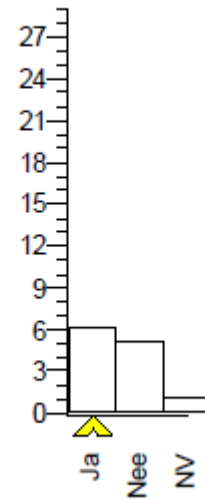


2018.1 A2

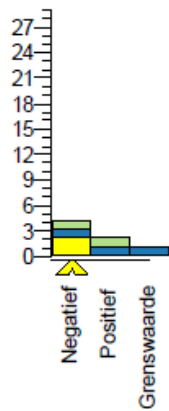


IgA

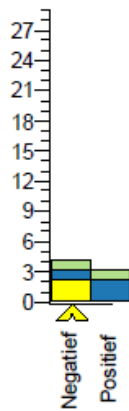
2018.1 A2



2018.1 A1

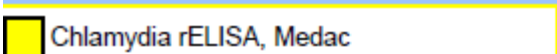
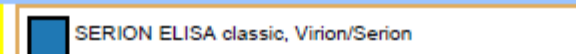



2018.1 A2



IgG

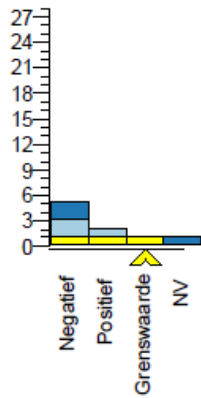
Legenda

	Chlamydia rELISA, Medac
	SERION ELISA classic, Virion/Serion
	Andere EIA (specificeer bij opmerking)

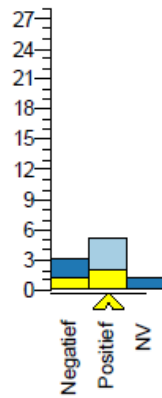
Respiratoire serologie 2020.1

B1/B2 *Chlamydia spp.*

2020.1 B1

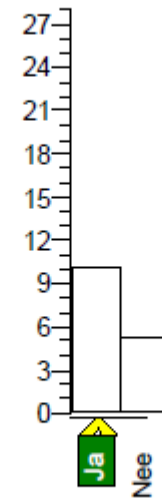


2020.1 B2



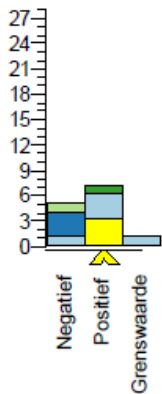
IgA

2020.1 B2

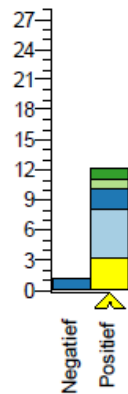


score : **2**

2020.1 B1



2020.1 B2



IgG

Legenda

- Chlamydia rELISA, Medac
- SERION ELISA classic, Virion/Serion
- Andere EIA (specificeer bij opmerking)

Chlamydia spp. serologie

- Variatie in interpretatie op basis van variatie in resultaten in de verschillende testen in de rondzending:

Waarschijnlijk op basis van:

- kruisreactie in serologie tussen species.
- Hoge sero- prevalentie in bevolking (IgG maar ook IgA)
- Her-infectie: niet altijd meetbare serologische respons.
- Onvoldoende standaardisatie van testen

Take home messages

- Serologie respiratoire infecties heeft beperkingen:
 - Herinfecties / rest titers in de populatie.
 - Niet altijd significante respons meetbaar
 - Kans op fout positieve reacties
 - Onvoldoende standaardisatie in testen.
- Gebruik een combinatie van testen per verwekker.
- Interpretatie vooral op serumpaar.
- Rondzending respiratoire serologie blijft op serumparen.
- Diagnostiek van respiratoire infecties in acute fase op basis van moleculaire detectie.



VRAGEN?