

Lymphogranuloma venereum

Zeitlicher Shift von Chlamydia-trachomatis-Genovariante L2b zu L2 nicht bestätigt

Kürzlich wurden in Zusammenarbeit mit mehreren internationalen Forschungsgruppen wichtige epidemiologische Daten zum Lymphogranuloma venereum publiziert. Der vorliegende Beitrag fasst die Ergebnisse zusammen und gibt einen Überblick über die aktuelle Datenlage dieser bei uns im Jahr 2003 wieder neu aufgetretenen Krankheit.

PD Dr. sc. nat. Daniel Goldenberger^a, Prof. Dr. med. Dr. phil. Adrian Egli^{a,b}, Dr. phil. Helena Seth-Smith^{a,b}

^a Klinische Bakteriologie/Mykologie, Labormedizin, Universitätsspital Basel, Basel; ^b Applied Microbiology Research, Department Biomedizin, Universität Basel, Basel

Hintergrund

Die Infektionskrankheit Lymphogranuloma venereum (LGV) tritt seit dem epidemischen Auftreten im Jahre 2003 ganz überwiegend bei Männern, die Sex mit Männern haben, (MSM) auf. Im Vordergrund steht die hämorrhagische Proktitis/Proktokolitis mit eitrigem anorektalem Ausfluss, rektalen Schmerzen und Tenesmen [1–3]. Die klassische Präsentation mit einem Ulkus im Primärstadium und der schmerzhaften Lymphadenopathie als Sekundärmanifestation ist heute selten anzutreffen. Die Infektion tritt seit ihrem Neuauftreten im Jahre 2003 weiterhin gehäuft bei Männern mit einer Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) und sexuellem Risikoverhalten auf. Neuere Daten zeigen jedoch, dass immer mehr Männer ohne eine HIV-Infektion LGV erwerben [1, 4, 5]. Die Diagnose LGV ist in der Schweiz wie auch in den meisten anderen Ländern nicht meldepflichtig, daher werden epidemiologische Daten nicht systematisch erfasst. Vor allem aufgrund von Publikationen aus mehreren europäischen Ländern geht man aber in den letzten Jahren von einer klaren Zunahme der LGV-Fälle aus. Die Dunkelziffer ist erheblich, da zusätzlich, wie bei den mukokutanen Chlamydiosen, bei LGV mit bis zu 25% asymptomatischen Patienten zu rechnen ist [1, 4–8].

Zielsetzung und Hypothese

Nach dem Wiederauftreten von LGV im Jahre 2003 wurde *Chlamydia-(C.)trachomatis*-Genovariante L2b als ursächlicher Keim der Erkrankung identifiziert. Für diese Analyse wurde das *Outer-membrane-protein-A-(ompA)*-Gen mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und Sequenzierung direkt aus klinischen Proben charakterisiert. Die Genovariante L2b unterscheidet sich nur durch eine einzige Basenmutation von L2 innerhalb des etwa 1200 Basenpaare langen *ompA*-Gens [9]. In den letzten Jahren wurde nun von verschiedenen Forschungsgruppen ein klarer Shift von L2b zu L2 als Agens der laufenden LGV-Epidemie festgestellt [10–12]. Unterschiede von L2 und L2b bezüglich beispielsweise der Pathogenität oder der Übertragbarkeit konnten jedoch nicht beobachtet werden.

Eine Alternative zur Bestimmung der Genovariante L2b ist die Ausnutzung einer L2b-typischen Deletion von 9 Basenpaaren innerhalb des *polymorphic-protein-H-(pmpH)*-Gens von *C. trachomatis*. Eine von unserer Arbeitsgruppe daraus entwickelte L2b-spezifische PCR konnte aber dieses Phänomen des Shifts von L2b zu L2 in unseren Proben nicht bestätigen [13]. Alle unsere LGV-positiven Proben zeigten die Genovariante L2b. Da wir vermuteten, dass dieser L2b-L2-Shift mit dem *ompA*-Gen zu-

sammenhängen könnte, haben wir nachträglich unsere gesammelten Proben *ompA*-sequenziert. Dabei konnten wir eine sehr ähnliche Entwicklung von L2b zu L2 in den letzten Jahren auch in unseren Proben nachweisen (Abb. 1).

Methodik

Um die Ursache dieser Diskrepanz zwischen Genotyp L2 im *ompA*-Gen und Genovariante L2b im *pmpH*-Gen aufzuklären, haben wir in Zusammenarbeit mit *Chlamydia*-Forschungsgruppen aus weiteren acht Ländern (Spanien, Frankreich, Niederlande, Schweden, Ungarn, Tschechien, Slovenien und Australien) eine grosse Anzahl an LGV-positiven Proben in unserem Labor untersucht. Bei allen Proben wurden die *ompA*-Gensequenzierung und die L2b-spezifische Real-time-PCR durchgeführt. Anschliessend wurde bei ausgewählten Proben das ganze Genom mit einer speziellen Sequenzierungstechnologie (SureSelect target capture) ohne kulturellen Zwischenschritt direkt aus dem klinischen Material charakterisiert. Die Resultate konnten kürzlich im renommierten Fachjournal «Microbial Genomics» publiziert werden [14].

Ergebnisse

Die Charakterisierung des *ompA*-Gens zeigte bei 180 dieser Studienproben Genotyp L2, bei 83 die Genovariante L2b, bei 52 weitere Geno-

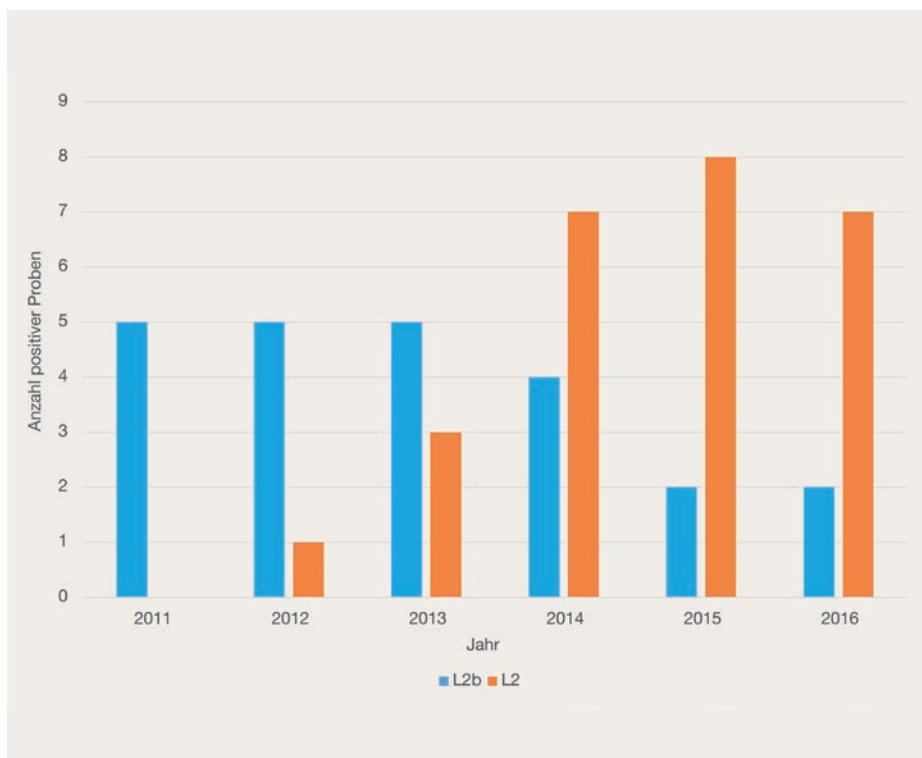


Abbildung 1: Vermeintlicher Shift von Genotyp L2b zu L2.

Verteilung der Lymphogranuloma-venereum-(LGV-)Genotypen L2 und L2b von 2011 bis 2016 mithilfe der Outer-membrane-protein-A-(ompA-)Sequenzierung (n = 49). All diese Proben zeigten mit der Polymorphic-protein-H-(pmpH-)basierenden Polymerase-Kettenreaktion (PCR) Chlamydia-trachomatis-Genovariante L2b. Die Proben stammten von einsendenden Labors aus der ganzen Schweiz sowie vom Universitätsspital Basel.

varianten und bei 6 gemischte Varianten. Die L2b-spezifische PCR, basierend auf dem *pmpH*-Gen, aber war bei allen untersuchten Proben positiv (n = 321).

Bei 42 der Proben wurde das gesamte bakterielle Genom sequenziert. Dabei zeigte sich, dass alle 42 Genomsequenzen mit dem L2b-Referenzgenom zu einem sehr hohen Anteil übereinstimmten, dass aber innerhalb des *ompA*-Gens, verglichen mit anderen Genen, sehr häufig Mutationen feststellbar waren. Diese Mutationen führten bei einer grossen Anzahl der Fälle zu einem nicht korrekt identifizierten Genotyp L2.

Es handelt sich aufgrund unserer Resultate bei diesen vermeintlichen L2-LGV-Chlamydien um im *ompA*-Gen mutierte L2b-Genovarianten, die in den letzten Jahren die ursprüngliche Genovariante L2b wahrscheinlich aufgrund eines Selektionsvorteils zurückgedrängt haben. Signifikante Unterschiede nach Länderherkunft scheint es bei der Verteilung der verschiedenen L2b-Genovarianten nicht zu geben.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Es ist davon auszugehen, dass heute nach wie vor *C. trachomatis*-Genovariante L2b das Agens der allermeisten LGV-Infektionen in der westlichen Welt darstellt. Mutationen innerhalb dieser Genovariante sind vor allem im *ompA*-

Gen aufgrund des Selektionsdrucks bei diesem Oberflächenprotein zu finden. Die heute noch international anerkannte Genotypisierung des *ompA*-Gens zur Bestimmung des *C. trachomatis*-Genotyps führt entsprechend zu nicht korrekten Ergebnissen (L2 anstelle von L2b). Eine alternative genombasierende Methode zur Bestimmung der *C. trachomatis*-Genotypen A bis L sollte daher unbedingt ins Auge gefasst werden [14, 15]. Die *pmpH*-basierte Typisierung mithilfe der Real-time-PCR, die in unserem Labor routinemässig durchgeführt wird, liefert jedoch aufgrund dieser Forschungsergebnisse nach wie vor eine verlässliche Identifikation von Genovariante L2b.

Korrespondenz

PD Dr. sc. nat. Daniel Goldenberger
Klinische Bakteriologie/Mykologie
Universitätsspital Basel
Petersgraben 4
CH-4031 Basel
daniel.goldenberger[at]usb.ch

Verdankung

Wir bedanken uns bei Dr. Fabrizio Dutly, Analytica Medizinische Laboratorien AG, Zürich, und Dr. med. vet. Vladimira Hinić, Universitätsspital Basel, für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Disclosure Statement

Der Ko-Autor des Originalartikels [14], Juan Carlos Galán, wurde durch das «Instituto de Salud Carlos III» (Plan Esta-

tal de I+D+i 2013–2016), Grant PI16-01242, unterstützt. Die Autoren der vorliegenden Publikation haben deklariert, keine potentiellen Interessenskonflikte zu haben.

Literatur

- De Vries HJC. Lymphogranuloma venereum in the Western world, 15 years after its re-emergence: new perspectives and research priorities. *Curr Opin Infect Dis.* 2019;32(1):43–50.
- Bundesamt für Gesundheit (BAG). Lymphogranuloma venereum (LGV) – Wiederauftreten einer alten Krankheit in veränderter Form? Fakten und Wissenslücken in der Schweiz. *BAG-Bulletin.* 2011;11:238–42.
- Stoner BP, Cohen SE. Lymphogranuloma venereum 2015: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis.* 2015;61(Suppl 8):S865–73.
- De Baetselier I, Tsoumanis A, Verbrugge R, De Deken B, Smet H, Abdellati S, et al. Lymphogranuloma venereum is on the rise in Belgium among HIV negative men who have sex with men: surveillance data from 2011 until the end of June 2017. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):689.
- Van Aar F, Kroone MM, de Vries HJ, Götz HM, van Benthem BH. Increasing trends of lymphogranuloma venereum among HIV-negative and asymptomatic men who have sex with men, the Netherlands, 2011 to 2017. *Euro Surveill.* 2020;25(14):1900377.
- Childs T, Simms I, Alexander S, Eastick K, Hughes G, Field N. Rapid increase in lymphogranuloma venereum in men who have sex with men, United Kingdom, 2003 to September 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(48):30076.
- Rob F, Jůzlová K, Krutáková H, Zákoucká H, Vaňousová D, Kružicová Z, et al. Steady increase of lymphogranuloma venereum cases, Czech Republic, 2010 to 2015. *Euro Surveill.* 2016;21(11):30165.
- Cole MJ, Field N, Pitt R, Amato-Gauci AJ, Begovac J, French PD, et al. Substantial underdiagnosis of lymphogranuloma venereum in men who have sex with men in Europe: preliminary findings from a multicentre surveillance pilot. *Sex Transm Infect.* 2020;96(2):137–42.
- Spaargaren J, Fennema HS, Morré SA, de Vries HJ, Coutinho RA. New lymphogranuloma venereum Chlamydia trachomatis variant, Amsterdam. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(7):1090–2.
- Peuchant O, Touati A, Sperandio C, Hénin N, Laurier-Nadalié C, Bébér C, de Barbeyrac B. Changing pattern of Chlamydia trachomatis strains in lymphogranuloma venereum outbreak, France, 2010–2015. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(11):1945–7.
- Rodríguez-Domínguez M, Puerta T, Menéndez B, González-Alba JM, Rodríguez C, Hellín T, et al. Clinical and epidemiological characterization of a lymphogranuloma venereum outbreak in Madrid, Spain: co-circulation of two variants. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(3):219–25.
- Touati A, Peuchant O, Hénin N, Bébér C, de Barbeyrac B. The L2b real-time PCR targeting the pmpH gene of Chlamydia trachomatis used for the diagnosis of lymphogranuloma venereum is not specific to L2b strains. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(6):574.e7–9.
- Verweij SP, Catsburg A, Ouburg S, Lombardi A, Heijmans R, Dutly F, et al. Lymphogranuloma venereum variant L2b-specific polymerase chain reaction: insertion used to close an epidemiological gap. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(11):1727–30.
- Seth-Smith HMB, Bénard A, Bruisten SM, Versteeg B, Herrmann B, Kok J, et al. Ongoing evolution of Chlamydia trachomatis lymphogranuloma venereum: exploring the genomic diversity of circulating strains. *Microb Genom.* 2021;7(6):000599.
- Seth-Smith HM, Galán JC, Goldenberger D, Lewis DA, Peuchant O, Bébér C, et al. Concern regarding the alleged spread of hypervirulent lymphogranuloma venereum Chlamydia trachomatis strain in Europe. *Euro Surveill.* 2017;22(15):30511.



PD Dr. sc. nat. Daniel Goldenberger
Klinische Bakteriologie/Mykologie,
Labormedizin, Universitätsspital Basel,
Basel