

LegioTyper - schnelle kulturunabhängige Serotypisierung von *Legionella pneumophila* in Wasser und Urin

Kober, C.,¹ Gründel, A.,² Bemetz, J.,¹ Petzold, M.,² Zamfir, M.,³ Heese, C.,⁴ Herr, C.,³ Lück, C.,² Niessner, R.,¹ Seidel, M.¹

¹ Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie & Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie, Technische Universität München, Marchioninistraße 17, 81377 München, Deutschland

² Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Institut für Virologie, Medizinische Fakultät "C. G. Carus", Technische Universität Dresden, Fiedlerstraße 42, 01307 Dresden, Deutschland

³ Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Pfarrstraße 3, 80538 München, Deutschland

⁴ GWK Präzisionstechnik München GmbH, Gollierstr. 70, 80339 München, Deutschland

Motivation

- *Legionella* spp. kommen in natürlichen Gewässern und technischen wasserführenden Anlagen vor.
- Infektion durch Bioaerosole, welche meistens die Spezies *Legionella pneumophila* (*L.p.*) enthalten.
- Großes Problem: Technische Anlagen mit erhöhter Wassertemperatur und hohem Potential zur Aerosolbildung.
- Kulturmethode benötigt 10 Tage für ein Ergebnis.
- Für eine schnellere Risikobewertung im Ausbruchfall wird eine kultur-unabhängige Serotypisierung von *L.p.* benötigt, um Patientenproben mit Wasser- oder Aerosolproben zu vergleichen.

Zusammenfassung

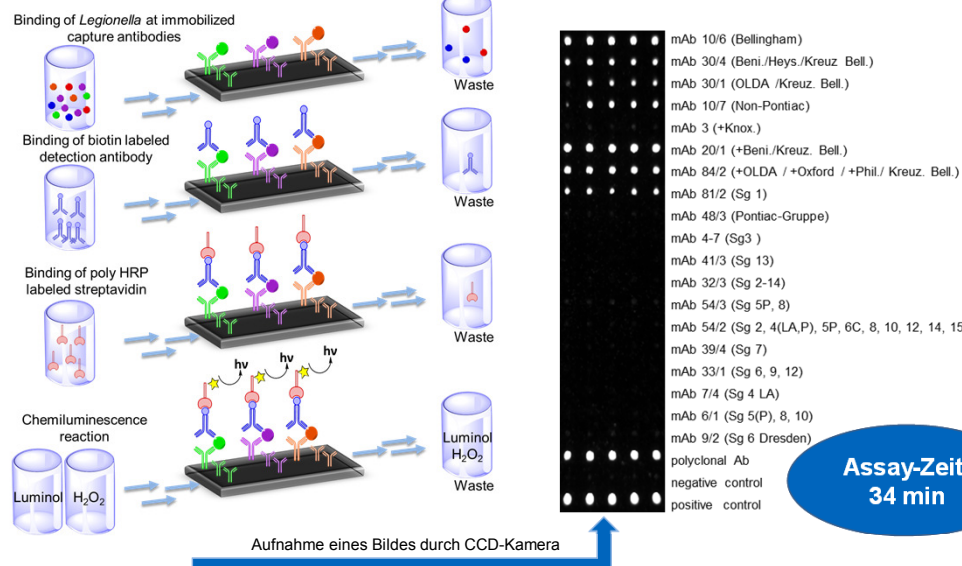
- Etablierung einer kultur-unabhängigen Serotypisierungsmethode für hochinfektöse *L. p.* Sg 1-15.
- Serotypisierung über Mikroarrays mit Hilfe eines Panels mit 19 monoklonalen Antikörpern innerhalb von 34 Minuten.
- Einführung eines neuen LegioTyper -Demonstrator-Gerätes (MCR-R) und einem Folien-basierten Mikroarray-Chip.
- Erfolgreiche Messung von realen Wasserproben, Patientenurinen und Legionellen im VBNC-Status.

Ausblick

- Bestimmung eines Schwellwertes für die automatisierte Analyse der Ergebnisse über Mustererkennung in einer Software.
- Anwendung der neuen Methode in der klinischen Diagnostik und bei der Risikobewertung in der Umwelthygiene im Ausbruchfall.
- Maßnahmenkatalog für den Ausbruchfall und Überführung in eine VDI/DIN-Richtlinie.

Analysen-Plattform MCR-R, CL-SMIA-Prinzip und das Antikörper-Panel

- Automatisiertes Messsystem für flussbasierten Sandwich-Mikroarray-Immunoassays (SMIA),
- Mikroarray-Auslesung durch Enzym-katalysierte Chemilumineszenz (CL),
- Mikrofluidische Polycarbonat-basierte Einweg-Antikörper-Mikroarrays,
- 600-µL-Probeschleife für eine definierte Probeninjektion,
- Temperaturgeführte Ladeinheit für erhöhte Sensitivität.



Überführung in binären Code

Binärer Code:

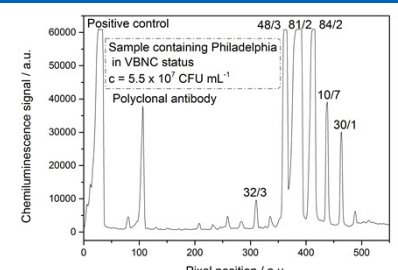
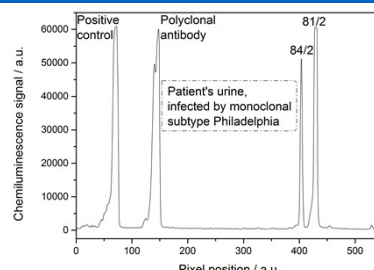
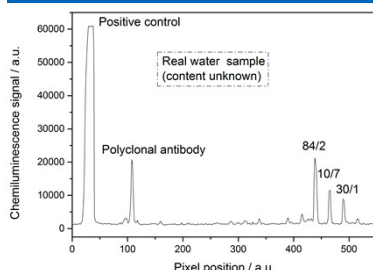
1-1-1-1-0-1-1-1-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-1-0-1

Übersetzung in:
L. pneumophila

Sg 1, Stamm Bellingham-1

Direkter Vergleich von
Patientenurinen und
Wasserproben

Bisherige Ergebnisse



- Wasserprobe von bekanntem Wasserversorgungssystem
- *L. pneumophila* Sg 1 OLDA wurde in geringer Konzentration gefunden

- Urin eines an Legionärkrankheit erkrankten Patienten
- Enthält Antigene der monoklonalen Subgruppe Philadelphia

- VBNC-Zellen können über die Kulturmethode nicht detektiert werden
- Detektion der VBNC-Antigene über den CL-SMIA