

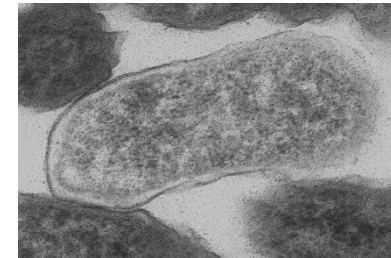
Entwicklung eines infektions- serologischen Diagnostikums *Bartonella henselae* ELISA - BartoLISA

Markus Jost, Andreas Latz, Volkhard Kempf



Bartonella henselae

- Gram negatives Stäbchen
- fakultativ intrazellulär
- Anspruchsvoll und schwer zu kultivieren
- Langsames Wachstum
- Weltweite Verbreitung
- Primärer Wirt: Katze
- Verursacht beim Menschen
 - Katzenkratzkrankheit (immunkompetent)
 - Bazilläre Angiomatose (immunkomprimiert)



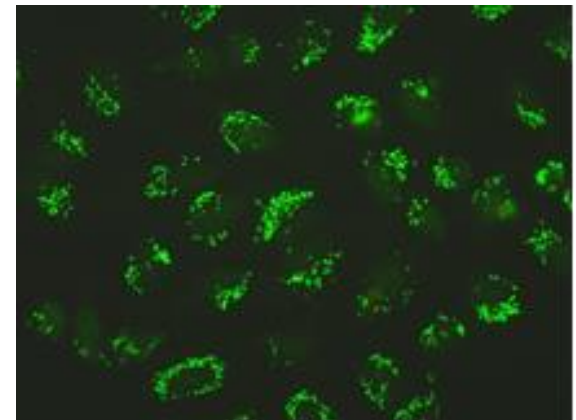
Ausgangslage

- Infektionen des Menschen mit *B. henselae*-Bakterien sind häufige Erkrankungen.
- Bei ca. 5-10 % der Bevölkerung in Deutschland sind *Bartonella*-spezifische Antikörper nachweisbar.
- 13% der unklaren Lymphknotenschwellungen im Hals-Kopf-Bereich (klin. Verdacht: Tumor) sind durch *Bartonella*-Infektionen bedingt.



Ausgangslage

- Molekulare Erregernachweise sind aufwändig, zudem muss immer eine Gewebeprobe („Biopsat“) mittels eines operativen Eingriffs vorab gewonnen werden.
- Obwohl das IFT-Verfahren bei *B. henselae*-Infektionen gut validiert ist, hat es doch gravierende Schwächen:
 - Interpretation der Resultate
 - personalaufwändige Abarbeitung
 - komplexe Herstellung



Förderung der Entwicklung eines ELISA basierten Testsystems
HA-Projekt-Nr.: 490/16-02

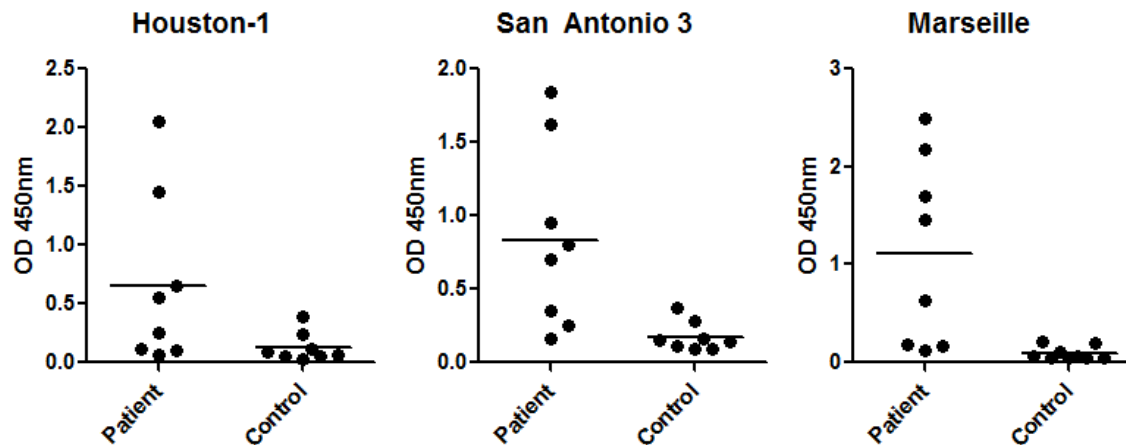
Gründe für einen ELISA

Vergleich IFT und ELISA		
Test	IFT	ELISA
Personalaufwand	hoch	gering
Zeitlicher Aufwand	hoch	gering
Vorbereitung	Verdünnungsreihen	eine Verdünnung
Automatisierbarkeit	nein	ja
Auswertung	Fluoreszenzmikroskop	Plattenphotometer
Ergebnis	subjektive Interpretation	objektives Ergebnis
Testherstellung	komplex	standardisiert

Warum gibt es noch keinen ELISA?

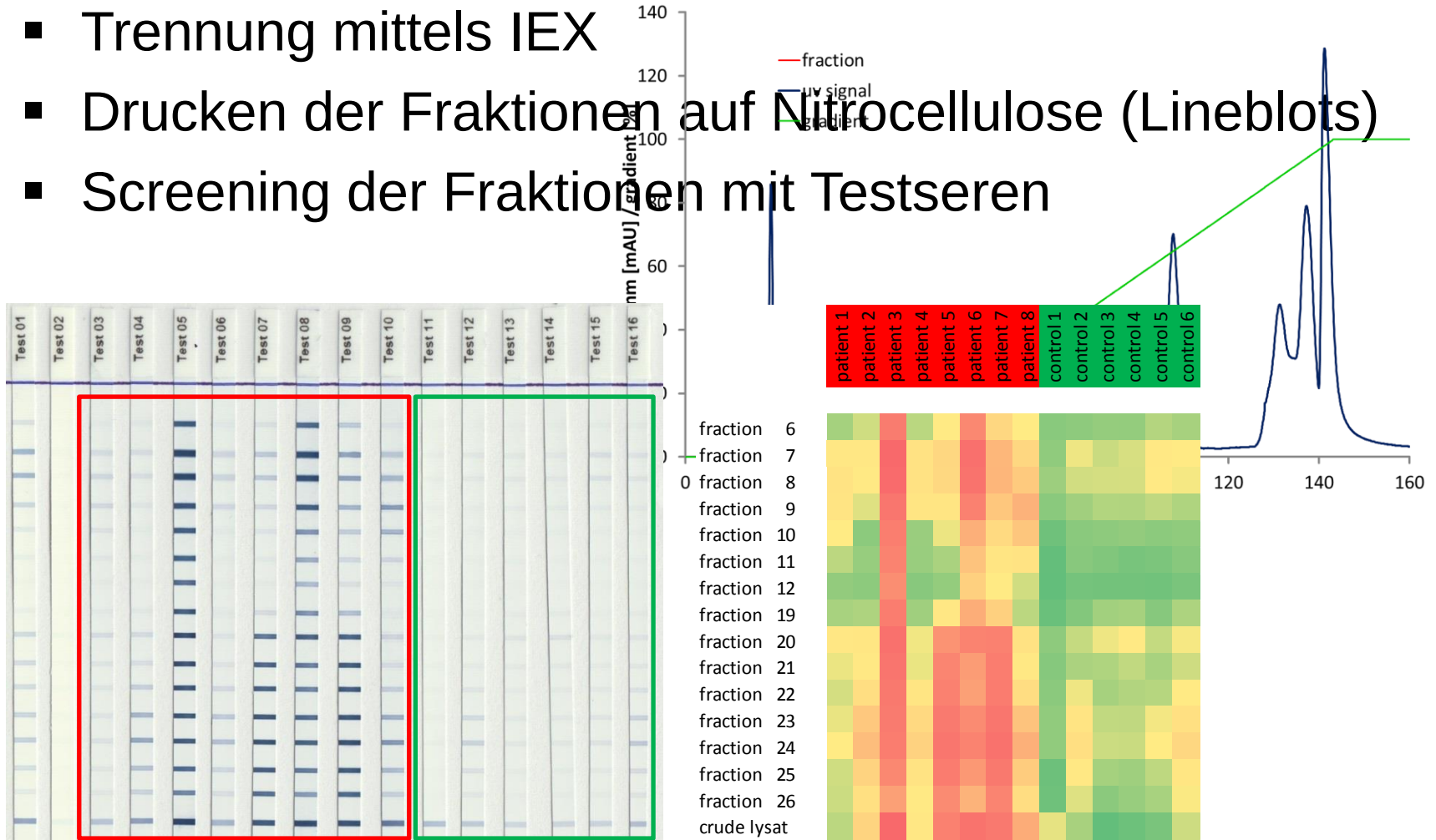
Es ist kompliziert...

- Sensitivität/Spezifität ist zu gering
 - unaufgereinigtes Antigen nicht sensitiv genug
 - einzelnes/rekombinantes Antigen erkennt nicht alle anti-Bartonella-Antikörper



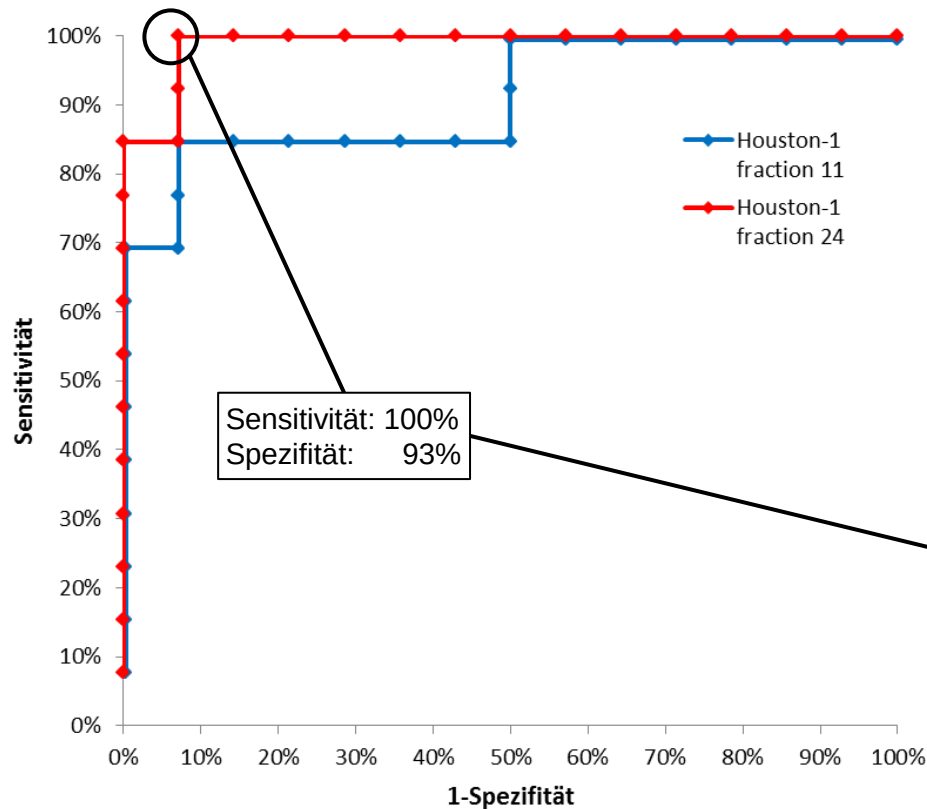
Suche nach den „guten“ Antigenen

- Trennung mittels IEX
- Drucken der Fraktionen auf Nitrocellulose (Lineblots)
- Screening der Fraktionen mit Testseren



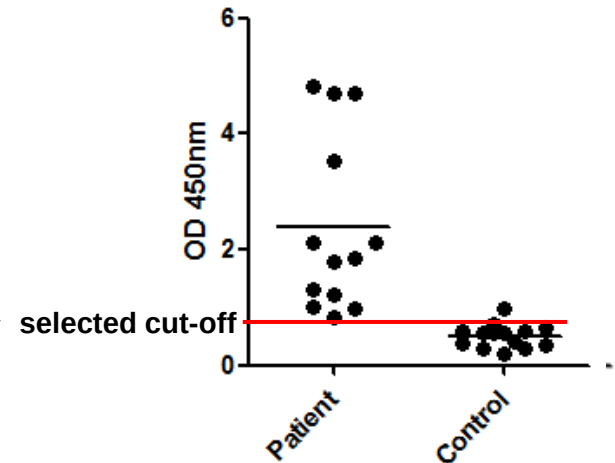
Verbesserung nach IEX

Die besten Ergebnisse wurden mit PBS unlöslichen Fraktionen von *B. henselae* Houston-1 erzielt.

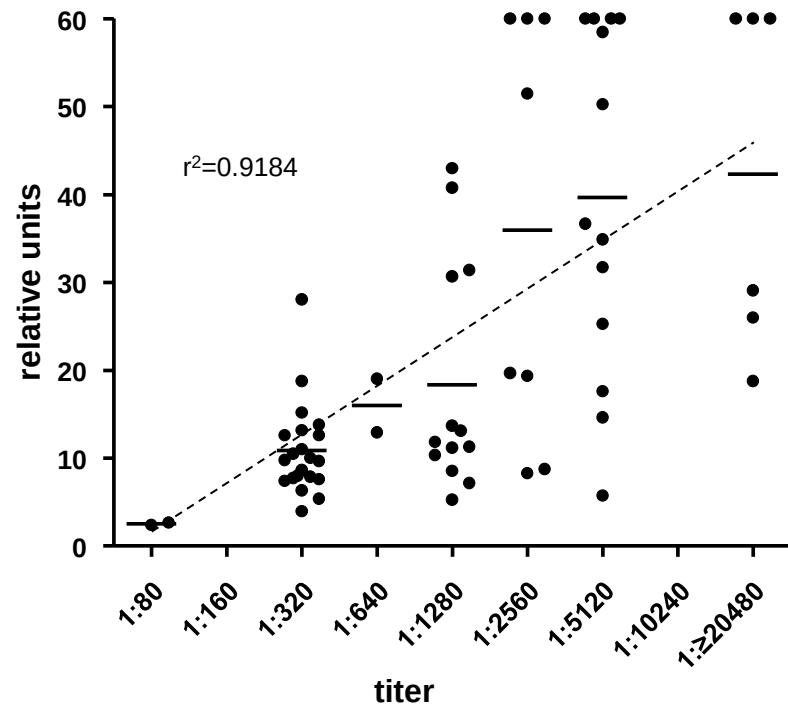
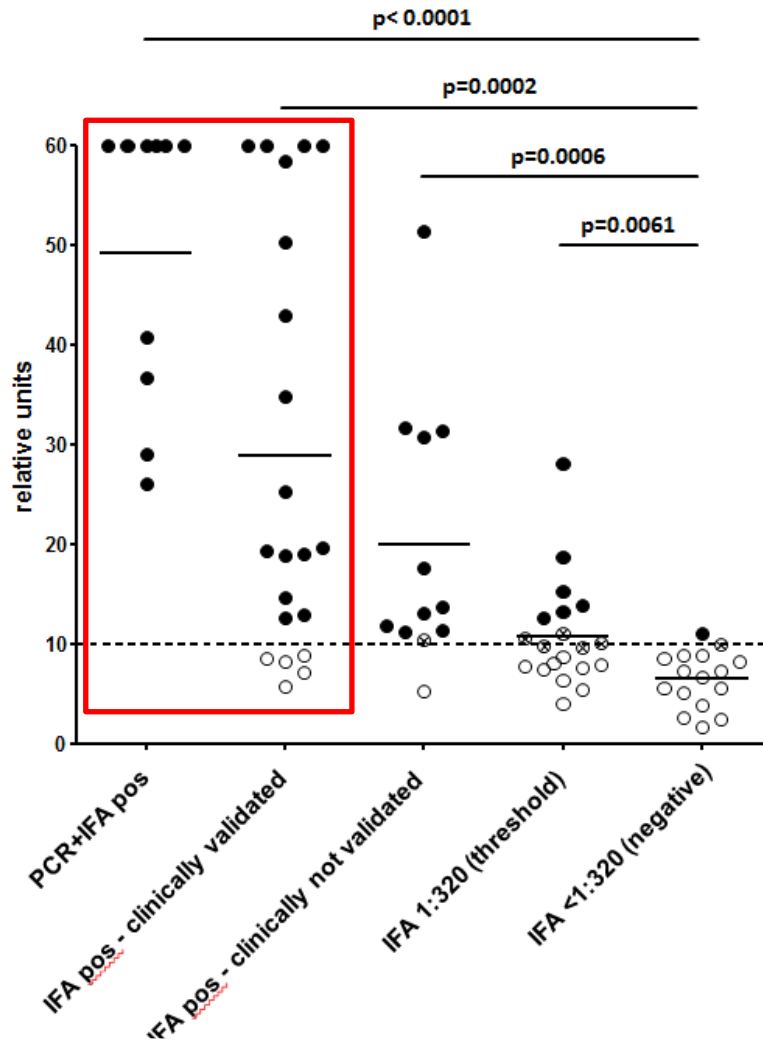


nach IEX

Houston-1 fraction 24
extended collective



Leistungsdaten des *BartoLISA*



- PCR-bestätigte Proben: Sensitivität 100%
- Klinisch auffällige Proben: Sensitivität 76%
- Leistungsdaten homolog zu IFT



Development of a Specific and Sensitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay as an *In Vitro* Diagnostic Tool for Detection of *Bartonella henselae* Antibodies in Human Serum

Markus Jost,^{a,b} Andreas Latz,^c Wibke Ballhorn,^{a,b} Volkhard A. J. Kempf^{a,b}

^aUniversity Hospital, Goethe-University, Institute for Medical Microbiology and Infection Control, Frankfurt am Main, Germany

^bGerman National Consiliary Laboratory for *Bartonella* Infections, Frankfurt am Main, Germany

^cNovaTec Immundiagnostica GmbH, Dietzenbach, Germany

ABSTRACT *Bartonella henselae* causes cat scratch disease and several other clinical entities. Infections with *B. henselae* are frequently occurring; however, the infection is only rarely diagnosed, mainly due to a lack of knowledge in the medical community. Microscopic immunofluorescence assays (IFA) are widely used for the serodiagnosis of *B. henselae* infections but are laborious and time-consuming, and interpretation is subjective. An easy and reliable method for the serological diagnosis of *B. henselae* infections is needed to overcome the shortcomings of the current IFA. Here, we report the development of an ELISA detecting human anti-*B. henselae* antibodies from serum samples. By separating the water-insoluble fraction of *B. henselae* Houston-1 via ion-exchange chromatography, 16 subfractions were generated and tested for immunoreactivity via line blotting. One particular fraction (fraction 24) was selected and spotted on ELISA plates using an industrial production platform. By use of well-characterized human sera from the strictly quality-controlled serum library of the German National Consiliary Laboratory for *Bartonella* infections, the sensitivity of this ELISA was 100% for PCR-proven infections and 76% for clinically suspected infections at a specificity of 93%. This ELISA is therefore a reliable high-throughput method allowing the serodiagnosis of *B. henselae* infections.

KEYWORDS *Bartonella henselae*, serology, IFA, ELISA, development, human, serodiagnostics

December 2018 Volume 56 Issue 12 e01329-18

Abschlussevaluierung



HA-Projekt-Nr.:	490/16-02
Antragsteller:	NovaTec Immundiagnostica GmbH, Dietzenbach
Projektpartner:	Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene Prof. Dr. Volkhard Kempf
Projektlaufzeit:	01.08.2016 – 31.07.2018

Das Projekt

BartoLISA: Entwicklung eines automatisierbaren Verfahrens zur serologischen Labordiagnose von *B. henselae* Infektionen

hat bei der Evaluierung am 24.10.2018
ein **sehr gutes** Ergebnis erzielt.

Dieses Projekt wurde im Rahmen von Hessen Modellprojekte aus Mitteln der LOEWE – Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz, Förderlinie 3: KMU-Verbundvorhaben gefördert.



Wiesbaden, den 30. Oktober 2018
HA Hessen Agentur GmbH

C. Männicke
i. V. Dr. Claudia Männicke
Leiterin Hessen Modellprojekte

N. Osorio Villazan
i. A. Nadine Osorio Villazan
Hessen Modellprojekte

www.innovationsfoerderung-hessen.de

Projekträger  **HessenAgentur**
HA Hessen Agentur GmbH

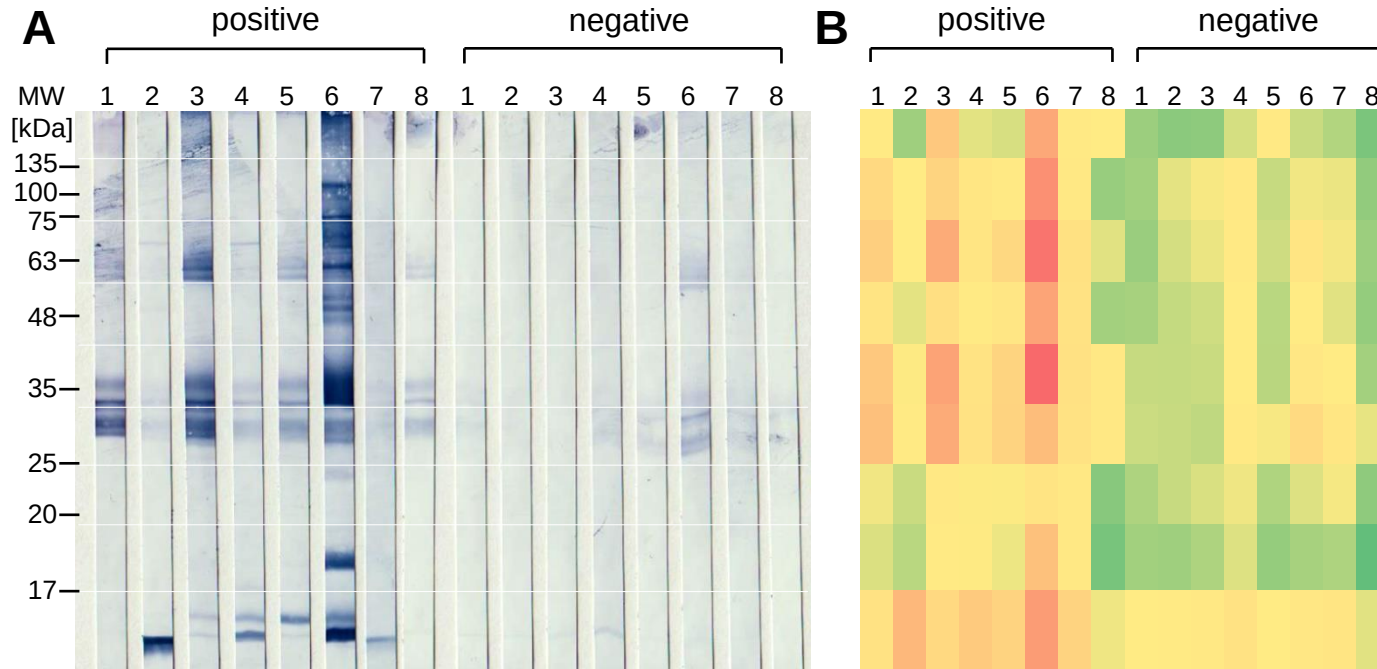
CE Zertifizierung Januar 2019

Transfer des humanen Testsystems in die veterinärmedizinische Diagnostik

- Die humane Plattform der *Bartonella* ELISAs wurde verwendet, um eine veterinärmedizinische Variante des Testsystems zu entwickeln.
- Die veterinäre Variante wurde mit Proben von Hunden und Katzen auf die Funktionsfähigkeit überprüft.



Wissenschaftliche Effekte



Hierbei wurden prominente Antigene bei 17 kDa, 35 kDa und 60 kDa identifiziert.

Aktuell laufen Massenspektrometrie Analysen an der Lund Universität (Schweden; Dr. Lotta Happonen) um die Antigenkomponenten identifizieren zu können

Wissenschaftliche Effekte



Nachfolge-Projekt LOEWE-Zentrum DRUID (Novel Drug Targets against Poverty-related and Neglected Tropical Infectious Diseases):

Ein Projekt aus dem Bereich *Bartonella* (hier: *Bartonella bacilliformis*) wurde eingeworben, dazu wurde im Bereich eines Projektes mit dem Erreger *Borrelia recurrentis* eine Einbeziehung der Fa. NovaTec in dieses Forschungsprojekt erreicht. Damit ist das LOEWE-III Projekt „BartoLISA“ in einem **LOEWE-Zentrum** aufgegangen und wird hier wissenschaftlich weitergeführt.



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

