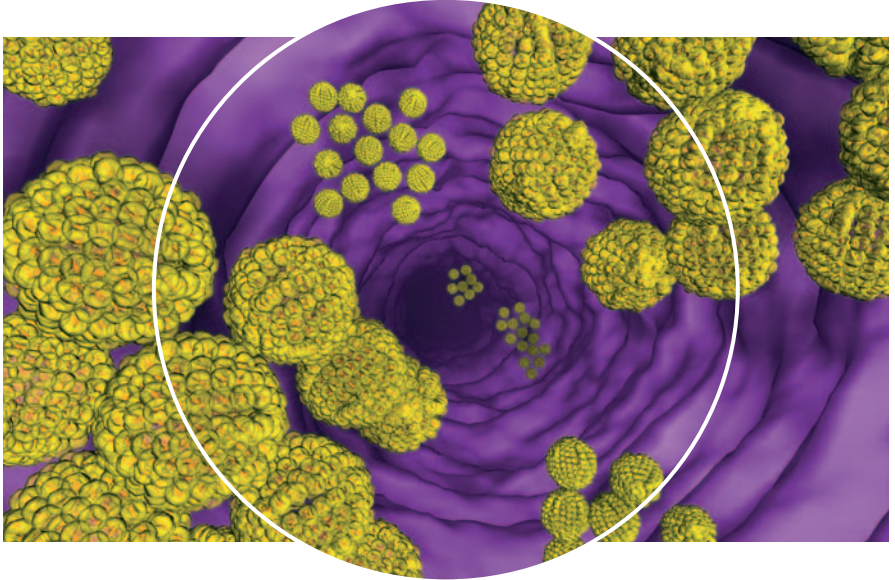


RIDASCREEN® Norovirus ELISA

Neue Japanische Studie belegt Verlässlichkeit des RIDASCREEN® Norovirus ELISA zur eindeutigen Detektion einer Norovirus-Infektion in Stuhlproben



Noroviren zeichnen sich durch eine ausgeprägte Genomvariabilität aus. Dies stellt eine sehr große Herausforderung für den immunologischen Nachweis einer Norovirus-Infektion dar.

Zahlreiche Berichte haben in der Vergangenheit den Genotyp 4 innerhalb der Genogruppe II (GG II/4) als die am häufigsten vorkommende Variante – nicht nur in Deutschland – eindeutig identifiziert.

Auch in Japan wird diese Variante für den überwiegenden Anteil von akuten Durchfallerkrankungen verantwortlich gemacht.

In einer groß angelegten Studie wurden in der Zeit von Juli 2004 bis März 2005 4.505 Proben von Kleinkindern und Kindern bis zu fünf Jahren aus fünf verschiedenen Ballungszentren in Japan untersucht.

Im Labor von Prof. Ushijima, Universität Tokio, konnten allein 61 % der zuvor mittels RT-PCR definierten, 338 Norovirus-positiven Stuhlproben auf die beiden Varianten der GG I/1 und vor allem GG II/4 zurückgeführt werden.

Fünf rekombinant im Baculo-System exprimierte sog. „virus-ähnliche Partikel“ (VLP) der GG I und elf der GG II wurden in dieser Studie mit dem RIDASCREEN® Norovirus ELISA getestet und zeigten eine gute bis sehr starke Reaktivität*.

Diese waren im einzelnen:

GG I: Genotyp 1, 3, 4, 8 und 11

GG II: Genotyp 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 14 und 15

Präsentiert auf: „**Joint Meeting of the 3 Divisions of the International Union of Microbiological Societies 2005** in San Francisco, Kalifornien, USA im Juli 2005.

Die Leistungsmerkmale des RIDASCREEN® Norovirus ELISA wurden in einer Validierung wie folgt ermittelt.

*OKITSU-NEGISHI S, OKAME M, SHIMIZU Y, PHAN GT, USHIJIMA H
Reactivity of several types of virus-like particles with a new norovirus ELISA
(The University of Tokyo, Tokyo, 113-0033, Japan).

RT-multiplex PCR[#]

		+	-	total
	+	73	35 [‡]	108
ELISA	-	26	371	397
	total	99	406	505

Sensitivität: 73,7 %
Spezifität: 91,4 %
Korrelation: 87,9 %

Korrigiert man die Tabelle um die 35 Proben, die im Gegensatz zur RT-multiplex PCR in der monoplex RT-PCR oder in der nested PCR als richtig positiv deklariert wurden, und ebenso um 7 weitere Proben, die in der multiplex-PCR falsch positiv waren, resultiert eine deutlich bessere Leistungscharakteristik:

Sensitivität: 85,8 %
Spezifität: 100,0 %
Korrelation: 96,2 %

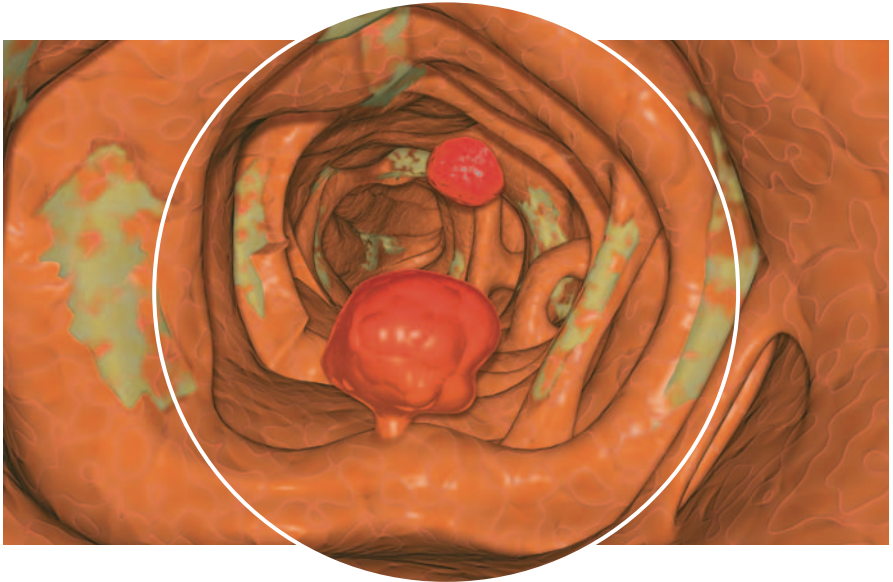
Auch in Zukunft bleibt unser Anspruch eine zuverlässige Diagnostik anzubieten. Zusätzlich bestärkt uns das „feedback“ unserer zahlreichen Kunden in unseren täglichen Bemühungen und Anstrengungen die Qualität auch zukünftig zu optimieren.

Für weitere Informationen und bei Fragen bezüglich der Norovirus-Diagnostik steht Ihnen unser Projektmanager Herr Dr. Georgios Kiourkenidis unter folgender Telefonnummer sehr gerne zur Verfügung +49 6151 8102-96 oder Sie nehmen per E-mail (g.kiourkenidis@r-biopharm.de) Kontakt auf.

[#]Yan H. et al., J. Virol. Methods, 2003. Diese Methode kann simultan sowohl Noroviren der GG I und GG II, als auch Sapoviren und Astroviren detektieren.

[‡]Diese Proben waren in monoplex RT-PCR oder nested PCR positiv

Gastroenterologie **NEU**



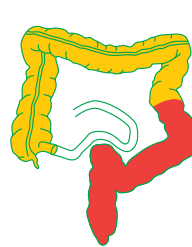
Neue diagnostische Aspekte im Bereich der Gastroenterologie

Die moderne Stuhl Diagnostik bietet die Chance, eine Vielfalt diagnostischer Ergebnisse aus der Matrix Stuhl zu gewinnen und abzusichern.

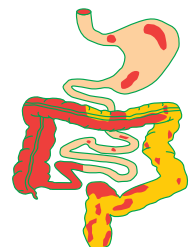
Bisher werden diese Möglichkeiten in der Routine-Diagnostik nicht oder nur unzureichend genutzt.

Betrachtet man nur das Gebiet der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, erkennt man, dass es nahezu unbearbeitet ist. Nach wie vor wird die Bedeutung des Darms als Organ mit der größten physiologisch wirksamen Oberfläche unterschätzt.

Schätzungsweise 0,1 % der deutschen Bevölkerung sind von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) betroffen und jährlich werden ca. 5.000 Neuerkrankungen registriert – mit steigender Tendenz.



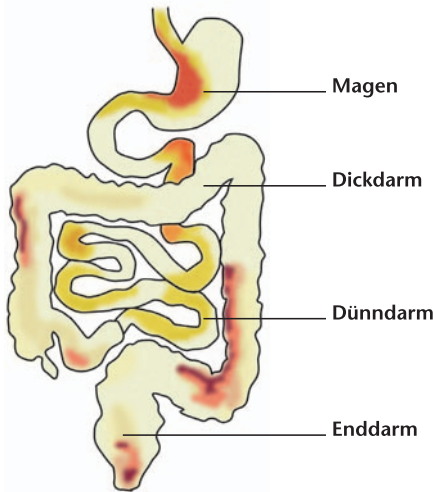
Colitis ulcerosa



Morbus Crohn

Die häufigsten CED sind Colitis ulcerosa und Morbus Crohn

Leider wird die Diagnose oftmals zu spät gestellt. Hinzu kommt, dass sehr kostspielige Therapien zum Teil ohne begleitende, effiziente Verlaufskontrollen durchgeführt werden.



Stuhlmarker ermöglichen die Diagnose unterschiedlich lokalisierter Darmkrankheiten

Neue Entzündungsmarker in der Stuhl Diagnostik können zwar keine endoskopischen Untersuchungen ersetzen, wohl aber dazu dienen, in frühen Krankheitsstadien eine Verdachtsdiagnose zu erhärten und die Patienten einer effizienten, weiterführenden Diagnostik und Therapie zuzuführen. Darüber hinaus wird die Verlaufskontrolle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen mit diesen Parametern optimiert.

Verschiedene organische Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts schädigen die Darmschleimhaut. Diese Schäden können zu einer erhöhten Permeabilität der Schleimhaut bis hin zu Entzündungen oder zur Bildung von Geschwüren führen.

Der Darm enthält viele Bakterien und Mikroorganismen, die toxische oder chemotaktisch wirkende Substanzen freisetzen. Diese Substanzen stimulieren bei Leukozyten, insbesondere polymorph-kernigen Granulozyten (PMN), den Eintritt in das Darmlumen. Dort setzen sie Substanzen wie z.B. Calprotectin frei.

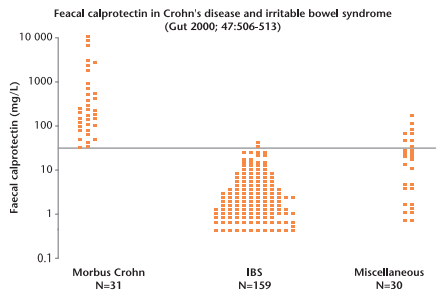
Calprotectin

Calprotectin ist ein Kalzium und Zink bindendes Protein, das von PMN, Monozyten und unter anderem auch von Plattenepithelzellen gebildet wird.

Im Wettstreit um vorhandene Zinkmoleküle kann Calprotectin andere Enzyme (die zinkabhängig sind) hemmen, dadurch Mikroorganismen sowie Zellen abtöten und somit zu verschiedenen Krankheitsbildern führen.

Als Leukozytenmarker ist Calprotectin in der Stuhlprobe äußerst stabil und kann zur Erkennung von entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt werden.

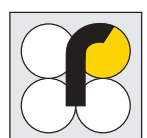
Sowohl Patienten mit einer anfänglichen Entzündung, als auch Patienten mit einer schweren Erkrankung oder einem Rezidiv können diagnostiziert werden.



Calprotectin eignet sich hervorragend zum Monitoring von chronisch erkrankten CED Patienten wie z.B. Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn.

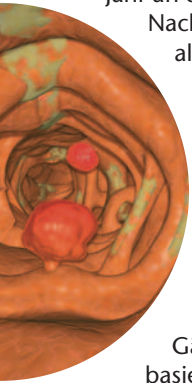
Dieser Marker bietet eine sichere Differenzierung zwischen einer Darmentzündung und einem Reizdarmsyndrom (Colon irritabile). Während Calprotectin bei einer Entzündung hohe Werte anzeigt, ist es bei Reizdarmpatienten unauffällig.

Eine Entzündung im Gastrointestinaltrakt sollte behandelt oder wenigstens beobachtet werden. In einigen Fällen kann es durch chronische oder akute Entzündungen im Darmtrakt zu einer Bildung von Adenomen bzw. Tumoren kommen.



In Deutschland erkranken jährlich ca. 66.000 Menschen neu an Darmkrebs und ca. 30.000 Personen sterben pro Jahr an den Folgen der Erkrankung.

Nach wie vor gilt die Koloskopie als Referenzmethode zum Nachweis von Karzinomen bzw. Adenomen. Eine inzwischen ebenso anerkannte Methode zur Früherkennung von Darmkrebs ist die Bestimmung von okkultem (nicht sichtbarem) Blut in der Stuhlprobe.



Gängige auf Guajak-Farbstoff basierende Tests haben jedoch einige Nachteile.

Bei dieser Methode wird durch die Pseudo-Peroxidase-Aktivität des Porphyrin-Rings (Häm), dem zentralen Bestandteil des Hämoglobins, das farblose Guajak mittels Oxidation in einen blauen Farbstoff umgewandelt. Für diese Reaktion sind nicht die artspezifischen Proteinketten des Hämoglobins verantwortlich, sondern das Häm-Molekül. Dies kann zu falsch positiven Ergebnissen durch tierisches Hämoglobin, Myoglobin aber auch durch Enzyme tierischer und pflanzlicher Herkunft führen.

Falsch negative Ergebnisse hingegen können durch die Aufnahme von Vitamin C oder anderer Antioxidantien auftreten, da es hier zu einer Blockierung oder Reduzierung der Pseudo-Peroxidase-Reaktion kommen kann.

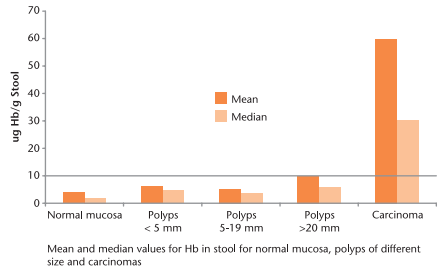
Dieses erklärt die zum Teil schlechte Sensitivität solcher Testverfahren von nur 28 - 40 %. Immunologische Testsysteme hingegen haben deutliche Vorteile.

Hämoglobin und Hämoglobin/Haptoglobin-Komplex

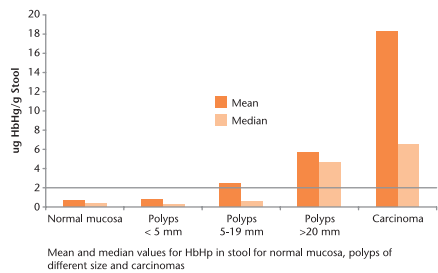
Durch die Verwendung mono- und polyklonaler Antikörper weisen diese Tests ausschließlich humanes Hämoglobin bzw. den humanen Hämoglobin/Haptoglobin-Komplex nach. Falsch negative oder falsch positive Ergebnisse durch vorherige Nahrungsmittelaufnahme sind daher ausgeschlossen. Darüber hinaus wird humanes Hämoglobin in 100fach niedrigerer Konzentration als bei biochemischen Methoden erkannt und ist in der Stuhlprobe haltbar.

Der Hämoglobin/Haptoglobin-Komplex spielt eine wichtige Rolle bei der Rückgewinnung von Hämoglobin aus lysierten Erythrozyten und ist relativ stabil gegenüber Säuren und dem proteolytischen Abbau.

Dies bedeutet, dass der Hämoglobin/Haptoglobin-Komplex auch nach längeren Darmpassagen nachweisbar ist. Somit können auch Blutbeimengungen von größeren Darmpolypen und höher gelegenen Kolonkarzinomen ebenfalls erfasst werden.



Luthgens K, et al.; Clin. Lab. 1998; 44:543-551



Luthgens K, et al.; Clin. Lab. 1998; 44:543-551

Der kombinierte Nachweis von Hämoglobin und des Hämoglobin/Haptoglobin-Komplexes erzielte in Studien die höchste Sensitivität (Kolonkarzinome bis zu 96 %, größere Adenome bis zu 80 %) bezüglich der Früherkennung von Darmkrebs.

	Hb (%)	HbHp (%)	P	Hb + HbHp (%)
Sensitivity for colorectal carcinoma (n=23)	87	83	NS	87
Sensitivity for large adenomas (n=37)	54	73	<0.05	73
Sensitivity	99	96	<0.05	96

Sieg A., et al.; Int J Colorectal Dis 1999; 14:267-271

Da Karzinome und Polypen in einem unterschiedlichen Ausmaß und intermittierend bluten können, ist es auch bei immunologischen Nachweisverfahren ratsam mehrere Stuhlproben zu untersuchen.

Millionen von Menschen leiden nach dem Genuss bestimmter Nahrungsmittel unter Beschwerden wie Magen-Darm-Problemen, Migräne, Reizungen der Nasenschleimhaut, sowie anderen allergieähnlichen Symptomen. Zuviel Histamin im Körper kann für dieses umfangreiche Beschwerdebild verantwortlich sein.

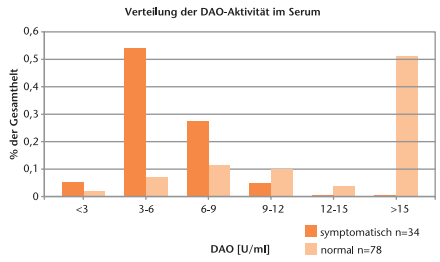
Histamin-Intoleranz, kurz HIT genannt, tritt auf, wenn der Organismus mit der Nahrung aufgenommenes oder aus körpereigenen Zellen freigesetztes Histamin nicht rasch genug abbauen kann. Eine Histamin-Intoleranz betrifft immerhin 3 % der Bevölkerung.

D-HIT (Diaminooxidase)

Die Diaminooxidase (DAO) ist das entscheidende, körpereigene Abbauenzym für Histamin. DAO kommt praktisch im gesamten Körper vor, aber der wichtigste Wirkungsort ist der Darm. Die Enzym-Aktivität der DAO bestimmt die Abbau-geschwindigkeit des Histamins. Liegt ein Enzymmangel vor bzw. kann durch Hemmung der DAO das Histamin nicht in ausreichendem Maße abgebaut werden, treten die Symptome der Histamin-Intoleranz auf.

Eine Bestimmung der DAO-Aktivität in Serum oder Plasma stellt somit den

geeigneten Marker für die Diagnostik der Histamin-Intoleranz und damit assoziierter Krankheitsbilder dar.



In Plasma- und Serumproben von 34 Probanden mit Symptomen der HIT und 78 unauffälligen Probanden wurde die DAO-Aktivität gemessen. Bei allen Personen mit Symptomen der HIT wurde eine DAO-Aktivität von weniger als 10 U/ml gemessen. Ist eine verminderte DAO-Aktivität nachgewiesen, müssen histaminreiche Nahrungsmittel streng gemieden werden.

Ein weiterer interessanter Aspekt ist hier auch die Möglichkeit einer Reduktion der Funktion der DAO durch aktivitätshemmende Substanzen wie Alkohol oder Medikamente (z.B. ACC, Ambroxol, Aminophyllin, Propafenon, Verapamil – Medikamente die bei Migräne-Patienten eingesetzt werden)

Viele neue Anregungen zu einer neuen, umfangreichen und verbesserten Diagnostik. Wir hoffen Ihr Interesse geweckt zu haben.

Bei Interesse an unseren Produkten

fordern Sie bitte das entsprechende Informationsmaterial bei Frau Frost unter der Tel. Nr.: +49 6151 8102-632 an oder senden Sie eine e-mail an: g.frost@r-biopharm.de.

RIDA PentoCheck® IHC

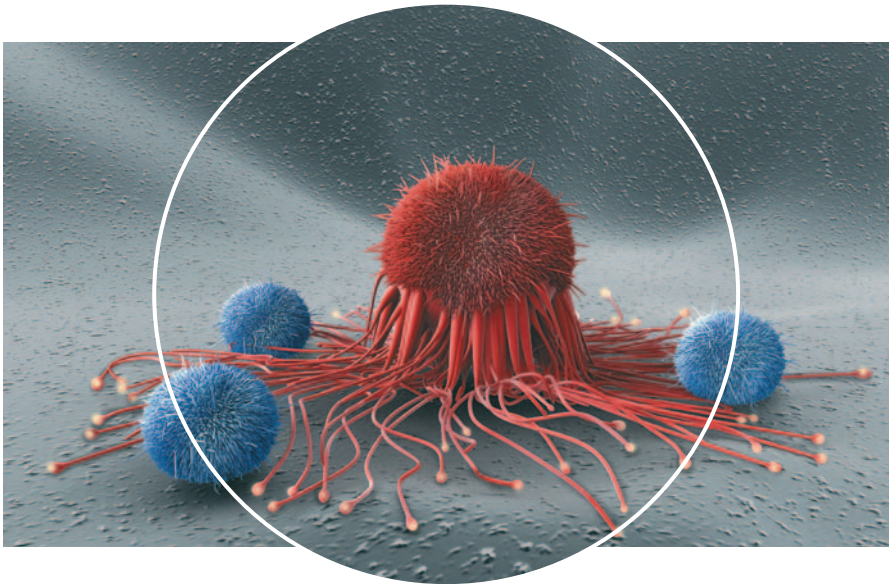
Immunhistochemischer Nachweis von TKTL1 als therapeutisch adressierbarem Tumormarker

Eine neue Generation im Kampf gegen (aggressiven) Krebs

Gegenwärtig wird Krebs als eine Krankheit angesehen, die durch Mutationen in Genen bedingt ist, welche das Wachstum und Absterben von Zellen kontrollieren. Die Fehlfunktion dieser mutierten Gene führt zu unkontrolliertem Wachstum oder fehlendem Absterben nicht mehr erwünschter Zellen. Bemerkenswerterweise sind diese Veränderungen in einer Krebszelle aber nicht ausreichend, um die aggressivste Form des Krebses auszulösen. Diese aggressivste Form von Krebs zeichnet sich durch invasives Wachstum und Metastasenbildung aus. In der Regel stirbt der Krebspatient nicht an den primären Tumoren,

sondern an den metabolischen Folgen ausgelöst durch massive Tumormehrerung (Metastasenbildung). Medizinisch ist es daher von höchster Priorität, diese aggressivste Form des Krebses detektieren und therapieren zu können.

licherweise verwerten die Krebszellen Zucker nicht wie gesunde Zellen (Abbau zu Wasser und CO_2), sondern vergären Glukose zu Milchsäure – auch dann, wenn genügend Sauerstoff vorhanden ist. Dieses Phänomen (Warburg Effekt), das von Otto Warburg zum ersten Mal beschrieben wurde, ist bis heute nicht ursächlich verstanden. Einen Zuckerabbau zu Milchsäure kennt jeder aus seinem eigenen Erfahrungsschatz. Betreibt man Sport, ohne dass die Muskeln ausreichend mit Sauerstoff versorgt sind, führt dies zur Bildung von Milchsäure – Stichwort Muskelkater. Man nahm bisher an, dass die Milchsäurebildung in aggressiven Tumoren über denselben Stoffwechselweg verläuft, der auch zum Muskelkater führt. Die Entdeckung



sondern an den metabolischen Folgen ausgelöst durch massive Tumormehrerung (Metastasenbildung). Medizinisch ist es daher von höchster Priorität, diese aggressivste Form des Krebses detektieren und therapieren zu können.

Neueste Forschungsergebnisse der R-Biopharm AG haben nun die bereits in den 20er Jahren des letzten Jahrhunderts gemachten Entdeckungen des Nobelpreisträgers Otto Warburg bestätigt. Die aggressivste Form von Krebs zeichnet sich dadurch aus, dass diese Krebszellen erheblich (ca. 20-30x) mehr Zucker (Glukose) aufnehmen als vergleichbare gesunde Zellen. Erstaun-

eines bisher unbekanntes Enzym (Transketolase-like-1 = TKTL1), das einen solchen Zuckerabbau zu Milchsäure ohne Sauerstoff ermöglicht, zeigte, dass es einen bisher nicht identifizierten Zuckerstoffwechsel, eben vor allem in aggressiven Krebszellen, gibt. Das Endprodukt dieses neuen Stoffwechselweges und das des bekannten Muskelkater-Stoffwechselweges (Glykolyse oder Embden-Meyerhof-Weg) ist in beiden Fällen Milchsäure (Laktat). In aggressiven Krebszellen wird zwar auch Milchsäure gebildet, der Stoffwechselweg, der zu diesem Endprodukt führt, verläuft aber über andere Zwischenprodukte als der, der zu Muskelkater führt. Dieser neue Glukoseabbau-Weg hat entscheidende

Vorteile für den Tumor, weshalb er letztlich auch so aggressiv ist (z.B. Wachstum auch unter sauerstoffarmen Bedingungen). Die Entdeckung dieses Stoffwechselweges erlaubt es nun zu verstehen, weshalb ein aggressiver Tumor diesen Weg beschreitet und wieso er hiermit so erfolgreich ist.

In klinischen Studien konnte bereits bei Blasen-, Darm- und Eierstock-Krebs gezeigt werden, dass das Vorhandensein des TKTL1-Enzyms im Tumor Krebspatienten identifiziert, die solche aggressive Tumoren haben. Krebspatienten mit TKTL1-positiven Tumoren haben eine hohe Wahrscheinlichkeit, ohne entsprechende zielgerichtete Behandlung, schnell an dem jeweiligen Krebs zu versterben. Der von der R-Biopharm AG angebotene Test für die Immunohistochemie (RIDA PentoCheck® IHC) erlaubt es nun, solche Hochrisiko-Krebspatienten zu identifizieren und gezielt zu behandeln.

Diese neue Sichtweise von Krebs ermöglicht es nun erstmals, die biochemischen Grundlagen der Entwicklung aggressiver Krebsformen zu verstehen und gezielt Gegenstrategien zu entwickeln. Es konnte inzwischen gezeigt werden, dass die aggressivste Form des Krebs, der ja große Mengen Glukose verbraucht, sich gleichzeitig in extreme Abhängigkeit von Glukose begibt. Er verlässt sich sozusagen nur noch auf den Treibstoff Zucker; Fette und Proteine kann er kaum oder überhaupt nicht mehr verwerten. Ernährt sich ein Krebspatient, der einen solchen Zucker-verbrauchenden Tumor hat, mit Zucker- oder Stärke-haltigen Lebensmitteln, so füttert er ständig den Tumor. Gesunde Zellen bekommen hingegen kaum noch genügend Energie, weil der aggressive Tumor fast den gesamten Zucker an sich reißt und aufbraucht. Dies ist der Grund, weshalb Krebspatienten im Endstadium extrem abnehmen und sozusagen verhungern.

Es ist aber möglich, die Ernährung derart umzustellen, dass ein solch aggressiver

Tumor keinen Treibstoff (Zucker) mehr für sein Wachstum bekommt. Durch eine spezifisch, auf den Krebspatienten abgestimmte zucker- und kohlenhydratarme Ernährung (gezielte TKTL1-Diät) ist es möglich, den Krebspatienten zu ernähren und gleichzeitig das TKTL1-Enzym auszuschalten, und dies ohne den Tumor mit Nahrung zu versorgen. Hierdurch entzieht man dem Tumor die Grundlage zum Wachstum.

Umgesetzt werden kann diese neue Art der Krebsbekämpfung, indem bei Krebspatienten eine Gewebeprobe des Tumors daraufhin überprüft wird, ob das TKTL1-Enzym vorhanden ist. Wenn dem so ist, kann eine gezielte Therapie, die das TKTL1-Enzym ausschaltet, angewendet werden. Diese Untersuchung auf TKTL1 ermöglicht also eine auf die individuelle Situation des Krebspatienten ausgerichtete Therapie des Tumors.

Die Therapie wird somit nur angewendet, wenn diese auch wirklich Sinn macht. Unnötige und unwirksame Therapien werden somit vermieden.

Für weitergehende Informationen wenden Sie sich bitte an

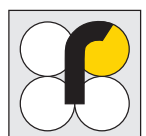
Dr. Jürgen Wilde
Produktmanager Tumordiagnostik
j.wilde@r-biopharm.de
Telefon +49 6151 8102-516 oder
Mobil +49 162 295 7197

Dr. Johannes F. Coy
Leiter Onkologie
j.coy@r-biopharm.de
Telefon +49 6151 8102-991 oder
Mobil +49 171 286 9835

R-Biopharm AG
Landwehrstr. 54, 64293 Darmstadt,
www.r-biopharm.com
Telefon +49 6151 8102-0,
Telefax +49 6151 8102 40



r-biopharm



Clostridium difficile Toxin A/B-Nachweis

Die neue RIDASCREEN® Version

Bereits in der letzten Ausgabe der R-Biopharm News im August diesen Jahres hatten wir die neue ELISA-Version des RIDASCREEN® C. difficile A/B noch für dieses Jahr angekündigt.

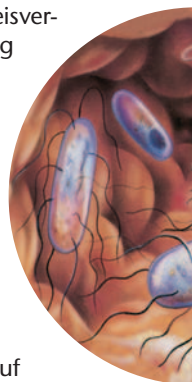
Nun ist es soweit: ab Dezember 2005 ist der neue RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B-Nachweis mit vereinfachter Durchführung erhältlich!

Diagnostik

Die Erkenntnis der differentiellen Toxinbildung hat schon immer die Nachweisteste präferiert, die in der Lage sind, beide Toxine nachzuweisen. Während einige ELISA-Anbieter, die zunächst nur mit Toxin A-Nachweistesten am Markt waren, mittlerweile fachgerecht auf den Nachweis von A und B nachgerüstet haben, hat sich der RIDASCREEN® C. difficile A/B-Test von Anfang an in der richtigen und notwendigen Form präsentiert. Aufgrund seiner diagnostischen Zuverlässigkeit hat er sich seit 1993 zu einem

heute breit akzeptierten Nachweisverfahren etabliert. Die Verwendung zweier Konjugate in einem Biotin-Streptavidin getriggerten System zur Erzielung einer hohen Sensitivität bedingte ein 2,5 Stunden Protokoll, was zunehmend als Handlungsnachteil kritisiert wurde. Hier auf hat R-Biopharm mit der Entwicklung eines neuen, hochsensitiven Toxin A/B-ELISA reagiert. Damit wurde es möglich auf das Biotin-Streptavidin-Verstärkersystem zu verzichten und eine Direktmarkierung der verwendeten Antikörper mit Peroxidase vorzunehmen. Dadurch konnte nicht nur eine Verkürzung der Testdauer um fast eine Stunde erreicht werden, sondern sogar eine deutliche Steigerung der Sensitivität insbesondere gegenüber Toxin B.

**Weitere Info erhalten sie von
Helmut Leidinger
(h.leidinger@r-biopharm.de)**



Messen und Tagungen bis Mai 2006



01.12.2005	12. Klinisch-mikrobiologisch-infektiologisches Symposium Berlin, Deutschland
01. – 03.03.2006	4. Deutscher Chlamydien-Workshop Düsseldorf, Deutschland
16. – 19.03.2006	CACMID Vancouver, Kanada
01. – 04.04.2006	16th ECCMID Nizza, Frankreich
21. – 24.04.2006	MEDEXPO 2006, EAST AFRICA Dar-Es-Salaam, Tanzania
30.04. – 03.05.2006	22nd Annual Clinical Virology Symposium in Clearwater, Florida, USA
23. – 27.05.2006	AACC Chicago, USA

R-Biopharm^{news} herausgegeben von

R-Biopharm AG
Landwehrstraße 54, 64293 Darmstadt
Telefon: +49 6151 8102 - 0
Telefax: +49 6151 8102 - 40

r-biopharm

