

Die zweite Generation des RIDASCREEN® Norwalk-like Virus Enzymimmunoassay.



Die Zunahme schwerer nicht bakteriell oder parasitär verursachter Durchfallerkrankungen, sondern durch Noroviren induzierte Gastroenteritisausbrüche in der Vergangenheit (2000-2003) – inklusive der berühmten Ausbrüche auf Kreuzfahrtschiffen – haben die Notwendigkeit standardisierter Methoden für die Diagnose dieser der Familie der Caliciviridae zugeordneten Viren, zu Tage gebracht.



Aufgrund der Tatsache, dass erst Ende der Neunziger ein kommerzieller Enzymimmunoassay erhältlich war, hat die PCR in der Vergangenheit eine übergeordnete Rolle in der Diagnostik eingenommen, jedoch fehlt es bis heute weltweit an standardisierten Testprotokollen. In einer von der EU geförderten europaweiten Untersuchung zeigte sich nicht nur die Schwierigkeit mit den heute unterschiedlich verwendbaren Primerpaaren, sondern auch die Problematik der Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse sehr deutlich. In fünf dieser zehn Referenzzentren wurden Proben aus vorab positiv definierten Einzelproben untersucht, die überwiegend aus England, Finnland, Holland und Deutschland stammen. Dabei verwendete jedes Institut seine eigene favorisierte Kombination an Primern. Lediglich 84 % dieser Proben konnten mindestens in einem der fünf Institute erfasst werden. Die Sensitivität variierte allgemein von 52 bis 73 % und speziell von 54 bis 100 % für Genogruppe (GG) I und 58 bis 85 % für GG II.

Hier genau scheint das Problem der nicht gegebenen Vergleichbarkeit von Ergebnissen zu liegen. Ohne standardisierte und allgemein eingehaltene Methoden zur Asservierung der Proben, Probenlagerung/-aufbewahrung, RNA-Isolierung und Zeitpunkt der Untersuchungen/Lagerungsdauer, werden auch in Zukunft in verschiedenen Instituten diskrepante und wissenschaftlich gesehen nicht vergleichbare Ergebnisse resultieren. Darüber hinaus ist aufgrund der heute schon bekannten und für RNA-Viren typischen genomischen Variabilität eine ständige Anpassung der eingesetzten Primer erforderlich, um die diagnostische Sensitivität der Methode auch in Zukunft sicher zu stellen.

Auch sorgt die Schwierigkeit in der Bewertung von Proben gesunder Ausscheider hinsichtlich des Hygienemanagements mit einer hochsensitiven Methode wie der PCR für zusätzliche Konfusion.

Dagegen bietet der RIDASCREEN® Norwalk-like Virus ELISA einen guten Kompromiss zwischen der Nachweisgrenze einerseits und der Stabilität der Zielstruktur andererseits. Der wohl wichtigste Vorteil der ELISA liegt darin, dass eine große Probenanzahl in kurzer Zeit kostengünstig analysiert werden kann. Ferner werden Veränderungen in den zu erfassenden Zielantigenen (Kapsid-Protein) eher toleriert, als dies zur Erfassung der Zielstrukturen in der PCR (Basensequenz der Gene) der Fall ist, da einzelne Punktmutationen die Nichtbindung der Primer an ihre definierte Zielsequenz verursachen können. Jedoch führen diese nicht zwingend auch zu nachteiligen Veränderungen in den für die ELISA wichtigen Zielepitopen im Viruskapsid, so dass die hier eingesetzten Antikörper spezifisch das Antigen erfassen, während Veränderungen auf der Genomebene zu falsch-negativen Ergebnissen in der PCR führen können.

Dennoch steht auch für einen modernen Antigen ELISA die Herausforderung – ähnlich wie für die PCR mit der ständigen Anpassung der Primer – dafür zu sorgen, dass möglichst breit alle zirkulierenden Norovirus-Genotypen beider Genogruppen erfasst werden. Dies erfordert eine kontrollierte Adaptation von spezifischen Antikörpern an veränderte Kapsid-Epitope der Noroviren. Der hierfür unerlässliche weltweite Kontakt zu auf diesem Gebiet forschenden Fachleuten ermöglicht es uns neue Norovirus-Typen zu erkennen und als Folge der konsequenten Weiterentwicklung in unserem RIDASCREEN® Norwalk-like Virus ELISA zu integrieren.



Mit diesem ELISA ist eine im Rahmen des derzeit Möglichen und Machbaren zuverlässige Norovirus-Diagnostik möglich. Weitere vielversprechende Kontakte zu verschiedenen Institutionen ermöglichen uns die Qualität unseres RIDASCREEN® Norwalk-like Virus ELISA zu bewahren und gleichzeitig den Erfordernissen der zur Zeit kursierenden Typen von verschiedenen Varianten der Noroviren anzupassen. 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 (06151) 8102-96 oder Sie nehmen per E-mail (g.kiourkenidis@r-biopharm.de) Kontakt auf.

Zu unseren Produkten:

Überzeugende Studienergebnisse unseres RIDASCREEN® Spezifisches IgE und Total IgE Testkit.

Am 7. Dezember 2003 ist die Übergangsfrist für die Umsetzung der IVD Richtlinie 98/79/EG abgelaufen. Diese Richtlinie regelt im harmonisierten Europa Qualitätsstandards, die von allen Herstellern von in-vitro-Diagnostika einzuhalten sind, wenn deren Produkte in Ländern der europäischen Union verkauft werden sollen.



Als äußeres Zeichen für die Konformität der Produkte mit der IVD-Richtlinie werden die Produkte mit dem CE-Kennzeichen versehen. Die IVD-Richtlinie gibt eine Reihe von Maßnahmen vor, die bevor die CE-Kennzeichnung der Produkte erfolgen darf, zu erfüllen sind. Diese Maßnahmen beinhalten neben Risikomanagement, Nachweis der Erfüllung grundlegender Anforderungen an in-vitro-Diagnostika gemäß

Anhang I dieser Richtlinie auch die Leistungsbewertung der Tests. Die Ergebnisse aus der Leistungsbewertung sind dank permanenter Verbesserung unserer Qualität sehr überzeugend. Auch durch unsere konsequente Produktion nach SOPs (Standard Operation Procedure), von der Auswahl der Roh-Allergene bis zur Be-

gunnung der Platten, ist der konstant hohe und gleichbleibende Qualitätsstandard gewährleistet.

Aus den folgenden Tabellen ist die Reproduzierbarkeit unseres Tests für das spezifische und das total IgE, sowohl im Inter-Assay wie auch im Intra-Assay ersichtlich. Jedes der aufgeführten Allergene wurde im Intra-Assay mit mehreren Seren jeweils 32-fach im gleichen Ansatz wiederholt und aus den gemessenen Werten der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet, die als Grundlage für die Berechnung des Variationskoeffizienten VK dienen. Der VK ist ein Maß für die Streuung der gemessenen Werte um den Mittelwert in Prozent. Beim Inter-Assay sind die Allergene in 8 Ansätzen mit jeweils 4 Wiederholungen getestet worden. Die Berechnung erfolgte auf die gleiche Weise.

Spezifisches IgE:

Tab. 1: Spezifisches IgE, Intra-Assay

Intra-Assay getestete Allergene	EAST-Klasse 1-2	EAST-Klasse 3-4	EAST-Klasse 5-6
	G6, T3, W6, D2, E1, M6, F2, F37, F4, F17, K82	G6, T3, W6, D2, E1, I3, M6, F37, F4, F17, F49, F85, SX1, K82	G6, T3, W6, D2, I3, F27, F4, F85, K82
Arithm. Mittel der VKs	12,69 %	3,86 %	3,88%

Tab. 2: Spezifisches IgE, Inter-Assay

Intra-Assay getestete Allergene	EAST-Klasse 1-2	EAST-Klasse 3-4	EAST-Klasse 5-6
	G6, T3, W6, D2, E1, M6	G6, T3, W6, D2, E1, I3, M6, F37, F4, F17, F49, F85, SX1, K82	G6, T3, W6, D2, I3, F27, F4, F85, K82
Arithm. Mittel der VKs	11,7 %	3,44 %	3,65 %

Total IgE:

Tab. 3: Total IgE , Intraassay

Serum	4528 (hoch)	4486 (hoch)	4478 (mittel)	4530 (niedrig)	4484 (niedrig)
	OD IU/ml	OD IU/ml	OD IU/ml	OD IU/ml	OD IU/ml
VK	5,20 12,52	5,03 9,67	5,76 8,23	3,73 8,16	2,87 11,66

Tab. 4: Total IgE, Interassay

Serum	Kitlot	03163 Test 1		04333 Test 2		03433 Test 3		Test 1-3	
		OD	IU/ml	OD	IU/ml	OD	IU/ml	OD	IU/ml
4484 (niedrig)	VK	4,07	25,63	7,66	53,85	10,19	34,79	30,5	31,6
4525 (niedrig)	VK	6,35	20,64	7,22	14,49	8,68	14,98	18,2	26,2
4478 (mittel)	VK	6,70	12,34	7,29	14,56	11,61	18,24	2,6	6,6
4486 (hoch)	VK	3,40	7,86	5,64	14,35	9,56	29,77	4,5	5,9
4571 (hoch)	VK	3,82	14,62	5,83	25,98	4,56	15,61	5,0	23,1

Nach der IVD-Richtlinie sind auch Vergleiche mit am Markt befindlichen Wettbewerbersystemen gefordert. In der Allergiediagnostik ist das UniCap-System der Firma Pharmacia das weitverbreitetste System und damit das System, mit dem wir unsere Tests verglichen haben. Verglichen wurden 1024 Einzeltests. Alle Tests die mit dem System von Pharmacia und R-Biopharm positiv gefunden wurden, wurden als übereinstimmend gewertet, ebenso alle Ergebnisse die in beiden Systemen negativ waren. Somit ergaben sich folgende Vergleichswerte:

Tab. 5: Vergleich mit Pharmacia:

Sensitivität	88,2 %
Spezifität	91,2 %
Korrelation	89,5 %

In ca. 10 Prozent konnte keine Übereinstimmung gefunden werden. Trotz der jedem System innewohnenden Variabilität und der nicht vorhandenen Standards in der Allergie-Diagnostik, ist die Übereinstimmung enorm hoch. Daher ist die Eignung für die Allergie-in-vitro-Diagnostik beider Systeme als gleichwertig anzusehen.

Da wir die Belegung der Mikrotiterplatten mit den Allergenscheiben nach ihren Vorgaben übernehmen, muss die Gefahr einer Verwechslung oder Falschbelegung ausgeschlossen werden. Durch den Einsatz eines

doppelten Lichttisches und eines anschließenden 4-stufigen Kontrollsystems stellen wir sicher, dass alle Scheiben richtig gelegt wurden, keine Kavität doppelt belegt wurde und auch keine Kavität unbelegt bleibt.

Damit haben Sie beim Einsatz unseres RIDASCREEN® Spezifisches IgE Allergiesystems alle Vorteile auf Ihrer Seite:

- Auswahl aus mehr als 700 Allergenen bzw. Allergenmischungen
- kein Verfall seltener Allergene
- keine Beschränkung auf nur 48 Allergene pro Ansatz
- Vergleichbare Qualität zu Pharmacia
- günstiges Preis/Leistungsverhältnis

Haben Sie Fragen zu uns, unseren Produkten oder unserem Qualitätsmanagement, wenden Sie sich bitte an unseren Produktmanager Allergiediagnostik, Herrn Joachim Zehender, telefonisch unter (06151) 8102-45 oder per E-mail: j.zehender@r-biopharm.de



RIDASCREEN® HSV Diagnostik – die Bedeutung des differenzierenden Antikörpernachweises

Die gefährlichste Folge einer Herpes-Simplex-Virus-Infektion ist der Herpes neonatorum bei Neugeborenen. Er kann entstehen, wenn während der Geburt das Virus von der Mutter auf das Kind übertragen wird.

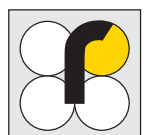


Die Gefahr der Ausbildung eines H. neonatorum ist am größten, wenn die Mutter keine schützenden, spezifischen Antikörper gegen das Virus besitzt, die diaplazentar an den Feten weitergegeben werden. Dies ist der Fall, wenn sich die Mutter erst im Laufe der späten Schwangerschaft infiziert. Wichtig für den Schutz des Neugeborenen sind dabei Typ-spezifische Antikörper. Über 80% der Menschen sind mit HSV-1 infiziert. Antikörper gegen HSV-1 schützen aber nicht vor einer Infektion mit HSV-2, der häufigsten Ursache des Herpes genitalis. Um im Falle eines aktiven Herpes genitalis der Mutter eine Prognose über die Gefährdung des Neugeborenen abgeben zu können und entsprechende Maßnahmen für die Geburt und die Zeit danach einzuleiten, ist die Information über den Immunstatus der Mutter von größter Bedeutung.

Für die Diagnostik ist deshalb ein Test wichtig, der klar zwischen Antikörpern gegen Typ 1 und Typ 2 differenzieren kann. Die zumeist im Serum vorhandenen Antikörper gegen HSV-1 dürfen in einem HSV-2-

Test kein falsch positives Ergebnis verursachen. Dies gelingt nur durch die Verwendung von rekombinantem oder hoch aufgereinigtem Glykoprotein G als Antigen. Um die hohe Spezifität der RIDASCREEN® ELISA auf Basis von Glykoprotein G zu belegen, wurde der Test vom Konsiliarlaboratorium für HSV in Jena validiert. Anhand von definierten Serum-Panels wurde gezeigt, dass die beiden ELISA eine Spezifität von 100% aufweisen und klar zwischen Antikörpern gegen HSV-1 und HSV-2 differenzieren. Die Sensitivität lag in dieser Untersuchung bei 98,3% (HSV-1) bzw. 99,3% (HSV-2). Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass eine häufig vorhandene Kreuzreaktion mit Antikörpern gegen VZV ausgeschlossen werden kann.

Die Ergebnisse sind auf einem Poster anlässlich des Infektiologischen Symposiums im Dezember 2003 in Berlin vorgestellt worden und stießen beim anwesenden Fachpublikum auf großes Interesse. Die Publikation der Ergebnisse im „Clinical Laboratory“ steht in Kürze an.



RIDASCREEN® Campylobacter

Mit diesem neuen Enzymimmunoassay, der den direkten Nachweis von Campylobacter-spezifischem Antigen aus Stuhlproben ermöglicht, ergänzt R-Biopharm sein breites Programm an Nachweismethoden pathogener Durchfallerreger in exzellenter Weise. Campylobacter zählt mittlerweile weltweit neben Salmonellen zum wichtigsten durch Nahrungsmittel übertragenen Erreger bakterieller Durchfallerkrankungen.



Neben der bekannten meist selbst limitierenden Enteritis verursacht Campylobacter aber auch extraintestinale Symptome wie Bakteriämie, Endocarditis, Meningitis, Pankreatitis, hämolytisch-urämisches Syndrom sowie postinfektiöse Spätfolgen wie reaktive Arthritis und das Guillain-Barré-Syndrom. Die am meisten diagnostizierte Spezies ist *C. jejuni* mit weit über 90% Häufigkeit, gefolgt von *C. coli*, *C. fetus* und *C. laridis*.

Der bisherige Nachweis erfolgte im Wesentlichen über die kulturelle Anreicherung des Erregers aus frischen Stuhlproben erkrankter Personen oder aus Lebensmittelproben mit Hilfe geeigneter Nährmedien.

Die 2 - 5 Tage dauernde Isolierung des Erregers gelingt dabei nur, wenn die Transportwege kurz und die Transportbedingungen für den Erreger günstig gestaltet werden können.

Mit dem reinen Antigennachweis kann hier viel Zeit und Aufwand gespart werden und es sind auch keine lebenden und vermehrungsfähigen Organismen nötig. Insofern bietet hier der RIDASCREEN® Campylobacter Antigen-Elisa eine vorteilhafte Alternative. Er ermöglicht innerhalb 2 Stunden den spezifischen Nachweis von *C. jejuni* - und *C. coli* - Antigenen.

Termine, bei denen der neue Test neben allen weiteren Antigen-Elisa von R-Biopharm präsentiert wird, entnehmen Sie bitte der folgenden Rubrik.

Messen und Tagungen

- | | |
|--|---|
| 22. - 24. Juli 2004 | EHEC-Workshop in Wildbad Kreuth
DGHM-Fachgruppe Gastrointestinale Infektionen |
| 25. - 29. Juli 2004 | Annual Meeting and Clinical Lab Exposition (AACC),
Los Angeles, USA.
CA-Exposition July 27. - 29. |
| 19. - 22. August 2004 | II. Latin America Clinical Distributor Meeting/Training,
Venezuela |
| 15. - 19. September 2004 | Gemeinsamer Allergie-Kongress, Aachen 2004,
• 28. Kongress des Ärzteverbands Deutscher Allergologen
• 23. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Allergologie
und Klinische Immunologie
• 7. Jahrestagung für Pädiatrische Allergologie und
Umweltmedizin |
| 16. - 18. September 2004 | 7. Infektiologischer Intensivkurs der DGPI in Greifswald |
| 24. - 29. September 2004 | First MENA Clinical and Food & Feed Distributor Meeting/
Training, Sharm El Sheik, Egypt |
| 26. - 29. September 2004 | 56. Jahrestagung der DGHM in Münster |
| 07. - 10. November 2004 | 72nd Canadian Association for Clinical Microbiology and
Infectious Diseases (CACMID), Delta Regina Hotel, Regina
Saskatchewan, Canada |
| 20. November 2004 | Gastro-Symposium in Köln |
| 24. - 27. November 2004 | MEDICA 2004 in Düsseldorf |
| 28. November 2004
- 02. Dezember 2004 | Zdravochranenije, Russland |

R-Biopharm^{news} herausgegeben von

R-Biopharm AG
Landwehrstraße 54, 64293 Darmstadt
Telefon: (0 61 51) 81 02 - 0
Telefax: (0 61 51) 81 02 - 40

r-biopharm

