

Molekularbiologie.....	1-2
Geräte.....	2-3
Immunologie.....	3-4
Zellkultur und Laborbedarf.....	5
Diagnostik.....	5-7
Veranstaltungen.....	8
Aktion BIO-TEK.....	8

## MOLEKULARBIOLOGIE

### Message Amp™ II aRNA Amplification Kit

Der Message Amp™ II aRNA Amplification Kit basiert auf einem RNA Amplifizierungsprotokoll, das im Labor von Dr. James Eberwine Anfang der 90er Jahre entwickelt worden ist (1). Die Methode beinhaltet im Wesentlichen eine reverse Transkription mit T7-Oligo(dT)-Primern und eine *in vitro* Transkription der resultierenden cDNA mittels T7 RNA Polymerase, um mehrere hundert bis tausend Kopien an antisense RNA (aRNA) herzustellen.

Mittlerweile ist das verwendete Protokoll eine Standardmethode für die Herstellung von RNA-Proben bei Array Experimenten geworden, was für die Firma **AMBION** ausschlaggebend war, den bereits erfolgreichen Kit weiter zu verbessern.

- Amplifizierung von weniger als 100 ng Input RNA in einer einzigen Runde für GeneChip® Analyse
- Maximale Ausbeute an intakter (full-length) cDNA durch eine verbesserte Reverse Transkriptase, ArrayScript™ M-MLV
- cRNA Synthese mittels MEGAscript®

Mittels Gene Array Experimenten wurde es möglich, in einem einzigen Experiment das Expressionsmuster von mehreren tausend Genen zu untersuchen. Für die Array Hybridisierung werden mitunter große Mengen an RNA-Proben benötigt, die das Experiment in der Durchführung limitieren können.

Biopsien, mRNA-defiziente Zellen, Primärzellen oder Laser Capture mikrodisektierte Zellen können in vielen Fällen nicht genügend Ausgangsmaterial zur Verfügung stellen, sodass man bei solchen Fällen auf die oben genannte Eberwine-Methode zurückgreift.

Der erste kommerziell erhältliche Kit, der eine aRNA Amplifizierung bewerkstelligt hat, war der sogenannte Message Amp™-Kit der Firma **AMBION**.

An diesem Kit wurden Verbesserungen vorgenommen, sodass kürzlich der **Message Amp™ II aRNA Amplification Kit** von **AMBION** relaunched wurde.

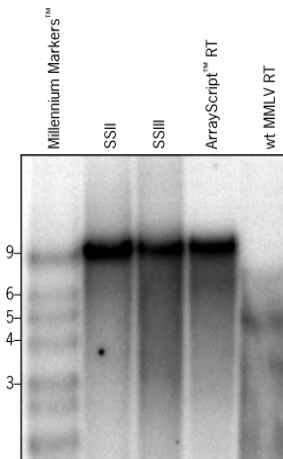
Neu bei diesem Kit ist ein weiter dynamischer Bereich für die Zugabe an RNA (100 pg- 5 µg). Ein einziger Amplifizierungsschritt von Proben (100ng) kann mit Message Amp™ II durchgeführt werden, der genügend cRNAs für die GeneChip Analyse produziert.

#### Message Amp II: Was hat sich geändert?

Bei Entwicklung von Message Amp II wurde schon sehr früh erkannt, dass die reverse Transkription und die second strand cDNA-Synthese die entscheidenden Schritte bei der Herstellung von großen Mengen an markierten cRNA Proben sind. Für diesen Zweck wurde eine neue reverse Transkriptase, Array Script™ (modifizierte M-MLV RT), entwickelt, um die Zweitstrang cDNA-Synthese Reaktion zu optimieren.

#### Array Script™: modifizierte M-MLV RT für höhere Ausbeuten an full-length cDNA

Die wild-type M-MLV Transkriptase wurde von **AMBION** modifiziert und produziert im Vergleich zu anderen Enzymen gleiche bzw. höhere Mengen an intakten cDNAs (Abb.1).



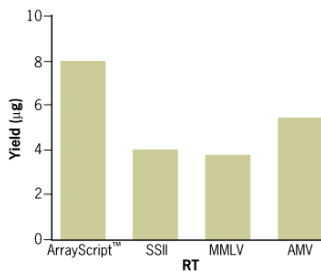
**Abb.1: ArrayScript™ Reverse Transkriptase synthetisiert intakte cDNA Fragmente mit 9kb Länge**

cDNA Synthese wurde mit ArrayScript™ RT, SuperScript™ II (SSII), SuperScript™ III (SSIII), bzw. wild-type (wt) MMLV RT in 20µl Reaktionsvolumen, das ein synthetisches poly(A)-tailed 9kb Transkript (1µg) enthält, 1xRT Puffer, 0,5 µM Oligo dT Primer, 0,5 mM dNTPs, 40 U RNase Inhibitor und 0,1 µl alpha-<sup>32</sup>P-dATP durchgeführt.

Die Reaktionsansätze wurden 1 Stunde bei 42°C inkubiert und mit EDTA gestoppt. cDNA Produkte wurden auf ein 1% denaturierendes Agarose Gel aufgetragen. Das Bild wurde mit einem STORM Phosphorimager aufgenommen.

Zusätzlich wurde in Experimenten gezeigt, dass bei Einsatz geringer „total RNA-Mengen“ (900 ng) im Vergleich mit Wildtyp M-MLV-, Wildtyp AMV- oder anderen modifizierten M-MLV Transkriptasen höhere Ausbeuten an cRNAs erreicht werden können, wenn die „first-strand-cDNA-Synthese“ mit der Array Script durchgeführt wird (Abb. 2).

Schlussendlich ist aufgrund der höheren Ausbeute kein zweiter Amplifizierungsschritt notwendig, was zu Kosten- und Zeitersparnis führt.



**Abb. 2: ArrayScript™ Reverse Transkriptase produziert bis zu doppelt so viel an aRNA.**

Ein Vergleich der Array Script, Super Script, der Wildtyp MMLV-RT und der Wildtyp AMV-RT unter „Message Amp II Bedingungen“ unterstreicht die überaus gute Performance der Array-Script. 90 ng HeLa-S3 total RNA (28S/18S = 1,7) wurde hitzedenaturiert und in Gegenwart von T7-Oligo Primern bei 70°C 10 Minuten lang inkubiert. Reverse Transkription wurde durch das RT Enzym initiiert und bei 42°C für 2 Stunden inkubiert. Die Ausbeute an aRNA wurde durch Absorption bei 260 nm quantifiziert.

### Ein optimierter Kit für cRNA Amplifizierung

Die Verwendung von Array Script gemeinsam mit optimierten Reagenzien für die Synthese von second-strand cDNA, ergibt eine ausgezeichnete Konvertierung von mRNAs in intakte (full-length) Doppelstrang cDNA-Templates. Die in-vitro Transkription mit Hilfe der MEGAscript®-Technologie von **AMBION** erlaubt kürzere Inkubationszeiten, wodurch verlässliche Expressionsinformationen aus RNA Proben (<1 µg) gewonnen werden können. Die Optimierung des neuen Kits ermöglicht auch die Amplifizierung von RNA Proben, 100 pg, in einer Zwei-Runden-Reaktion.

Der Message Amp™ II aRNA Amplification Kit reicht für 20 Reaktionen und enthält alle notwendigen Reagenzien für first-strand cDNA Synthese, RNase H Verdau, second-strand Synthese, cDNA Reinigung, *in vitro* Transkription und aRNA Reinigung.

### Literatur:

1. Van Gelder, R.N., von Zastrow, M.E., Yool, A., Dement, W.C., Barchas, J.D. and Eberwine, J.H. (1990) Amplified RNA synthesized from limited quantities of heterogeneous cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 1663-1667.

**AMBION Produktnummer: AMB1751**

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Mag. Norbert Wahler  
Tel.: 01/4893961-55  
n.wahler@szabo-scandic.com

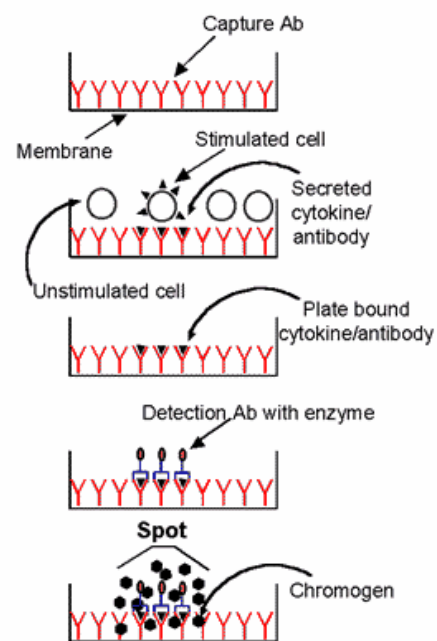
## GERÄTE

### Eli.Scan – kostengünstige Lösung für die Auswertung von Elispots

Ein Beleg für das steigende Interesse am Elispot Verfahren ist die seit der Vorstellung im Jahre 1983 stetige Zunahme an Publikationen zu diesem Thema. Diese Tatsache war für die Firma **A.EL.VIS** unter anderem ein Grund, die Produktpalette zu erweitern und eine kostengünstige Lösung für Labors, die nur einen geringen Plattendurchsatz haben, zu entwickeln.

Die Elispot Technologie misst die Aktivität von Immunzellen, welche charakteristische Proteine (z.B. Zytokine und Immunglobuline) freisetzen. Unter Verwendung von Antikörpern (Abb. 1), welche zuvor an der Oberfläche der Wellmembranen von Elispot-Platten immobilisiert werden, können die sezernierten Proteine abgefangen und mittels einer Farb-reaktion sichtbar gemacht werden.

### ELISA SPOT ASSAY\*



H.H. Radtke '99

**Abb. 1:** Die Membran wird zuerst mit einem spezifischen Antikörper inkubiert. Anschließend werden Zellen in den EliSpot-Plattenböden inkubiert und die ausgeschiedenen Proteine werden durch den spezifischen Antikörper festgehalten. Ein zweiter Antikörper, der mit einem Chromogen gekoppelt ist, detektiert das abgefangene Protein. Durch eine Farb-reaktion wird das Protein als winziger Spot sichtbar.

Der Erfolg der Elispot Technologie ist nicht zuletzt in der Verfügbarkeit von automatischen Auswertesystemen begründet. Ohne entsprechender Auswertesoftware ist der routinemäßige Einsatz kaum vorstellbar, da die einzelnen Spots manuell unter dem Mikroskop, d.h. Personalkosten intensiv, ausgezählt werden müssten.

Speziell für die Auswertung von Membranen oder ausgestanzten Wellböden wurde Eli.Scan entwickelt. Die einzelnen Wellböden werden auf eine Plastikfolie übertragen und eingescannt. Die Spezialfolie hat nur an den Wellflächen Klebepunkte, so dass sie sich sehr einfach und komfortabel handhaben lässt. Die einzelnen Wellbilder können nach dem Scan Vorgang auf Festplatte, CD-ROM oder einem Netzlaufwerk gespeichert werden.

Die Auswertung der Elispots erfolgt schlussendlich mittels Eli.Analyse, der leistungsstarken A.EL.VIS Elispot Analyse Software.

Die wichtigsten Eigenschaften von Eli.Analyse sind:

- *Spoterkennung basierend auf Kantensuchalgorithmen*
- *Automatische Hintergrundkorrektur*
- *Trennung von verbundenen Spots*
- *Berechnung von Spotgröße, -Intensität, -form und -farbe*
- *Dual-Color Analyse*
- *Erkennung von Verunreinigungen und überentwickelten Bereichen*
- *Erneute Auswertung von bereits gespeicherten Versuchen*
- *Batchmode z.B. für Auswertung über Nacht*
- *Individuelle Pipettierpläne inkl. Replikaten*
- *Testprotokolle zum Speichern und Zurückladen der Auswerteparameter*
- *Statistische Auswertung von Replikaten*
- *Berechnung der Spotgrößen und Intensitätsverteilung*
- *Benutzermanagementsystem mit Vergabe von Zugriffsrechten*
- *Integriertes Datenmanagementsystem*
- *Datenaustausch mit externen Programmen*
- *Online Hilfe in Deutsch oder Englisch*

Das Gerät wird als schlüsselfertiges System ausgeliefert und beinhaltet die Aufnahmeeinheit (Pixelauflösung 11 µm), den Auswerte-PC mit Windows Betriebssystem sowie ELISPOT Analysis Software, TFT Monitor und Farbdrucker.

Optional bietet A.EL.VIS auch ein Werkzeug für das Ausstanzen der Wellböden von 96-Well Millipore® MultiScreen Platten (Typen MAIP, MAHA, MHAB).

Die Wellmembranen werden automatisch auf eine Folie geklebt und lassen sich dann mit dem ELISPOT Scanner einlesen.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Mag. Norbert Wahler  
Tel.: 01/4893961-55  
n.wahler@szabo-scandic.com

## Der Trend in Richtung Multi-Detection Reader...

**Synergy HT** ist mit einem einzigartigen optischen Design ausgestattet. Eine Xenon-Flash-Lampe in Verbindung mit einem Monochromator übt die Funktionen eines Spektralphotometers aus, wogegen die Halogenlampe für Fluoreszenzmessungen eingesetzt wird. Vor allem überzeugt das Gerät durch seine Flexibilität im Laboralltag. Ohne Einschränkung der Performance können mit einem einzigen Gerät Absorptions-, Fluoreszenz und Lumineszenzmessungen durchgeführt werden.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

DI Danut Laes  
Tel.: 01/4893961-43  
d.laes@szabo-scandic.com

## IMMUNOLOGIE

### CISH Technologie

#### ***SPOT-Light NF2 Deletion Probe (Kat.Nr. ZYM84-2400)***

Das NF2 Gen ist ein Tumor Suppressor Gen (TSG), dessen Deletion zur Neurofibromatosis führt. Mit Hilfe dieser Probe kann die Zerstörung des NF2 Gens und die damit verbundene Tumorbildung festgestellt werden.

#### ***- 30% AKTION für Produkte im Bereich der CISH Technologie***

**SZABO-SCANDIC** stellt Ihnen alle Produkte im Zusammenhang mit der CISH Technologie mit einer Preisreduktion von 30% zur Verfügung. Diese Aktion gilt bis 31. Jänner 2005 !

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an:

Dr. Farzaneh Adhami  
Tel. 01/489 3961-30  
f.adhami@szabo-scandic.com

## Neurologie - Alzheimer Krankheit

### Neue Produkte von ZYMED Laboratories

Das Enzyme  $\gamma$ -Secretase ist ein Multiproteinkomplex bestehend aus Aph-1, Presenilin, Nicastrin und Pen-2. Die proteolytische Aktivität dieses Enzyms führt zum Abbau von vielen Proteinen inklusive dem *Amyloid Vorläufer Protein (APP)* und *Notch* in Peptiden, die spezifisch in Alzheimer Patienten vorkommen. Somit ist dieses Enzym ein wichtiger Indikator zur Untersuchung der Alzheimer Krankheit.

Zusätzlich zu den Antikörpern, die gegen die Bestandteile von  $\gamma$ -Secretase gerichtet sind, hat die Firma **ZYMED** eine Reihe von Antikörpern spezifisch für die Erforschung der Alzheimer Krankheit entwickelt.

Antikörper	Kat.Nr.	Anwendung	Reaktiv.
Rb x Aph-1a	38-3600	WB,IP	Hu, Ms
Rb x Nicastrin	34-9200	WB	Hu, Ms
Rb x Pen-2	36-7100	WB,IP,IHC	Hu, Ms
Rb x Presenilin-1 (N-term)	71-1300	WB	Hu
Rb x Presenilin-1 (Loop)	51-4200	WB	Hu
Rb x Presenilin-1 (N-term)	34-4600	WB	Hu, Rt
Rb x Presenilin-2 (N-term)	34-4500	WB,IP	Hu, Rt
Rb x Presenilin-2 (Loop)	34-4400	WB,IP	Hu, Rt
Mouse x Nitrated alpha-Synuclein	35-8300	IHC (FFPE), IF,WB	Ms, Hu
Mouse x Nitrated alpha/beta-Synuclein	35-8400	IHC,WB	Hu

WB	Western Blotting
IP	Immunpräzipitation
IHC	Immunhistochemie
FFPE	Formalin Fixed Paraffin Embedded
IF	Immunfluoreszenz

## Krebsforschung

### Max Array™ Human Multi-Tumor Tissue Microarray Slides (Kat.Nr. ZYM75-4053)

Diese Microarray Slides ermöglichen eine rasche Analyse der Expression von Genen und Proteinen in verschiedenen Tumoren.

Jedes Slide (Superfrost Plus Microscope Slide) enthält 60 maligne Tumorgewebeschnitte aus mehr als 30 verschiedenen Tumortypen.

Diese Microarray Slides können in verschiedenen Applikationen verwendet werden:

- Immunhistochemie
- In Situ Hybridisierung
- Chromogene In Situ Hybridisierung
- Fluoreszenz In Situ Hybridisierung

### Monoklonaler Antikörper gegen Paxillin (Kat.Nr. ZYM18-0407)

Paxillin, ein 68 kDa Protein ist eine Komponente von Focal Adhesion Plaques und in die Regulation der Gentranskription involviert.

Neue Studien zeigen eine hohe Expression von Paxillin in einer Subgruppe von HER2 positiven Brustkrebs Patienten und eine signifikante Reaktion dieser Patienten auf Doctaxel/Herceptin Chemotherapie.

Als Resultat dieser Beobachtungen erhält Paxillin eine Schlüsselrolle zur Identifizierung von Brustkrebs.

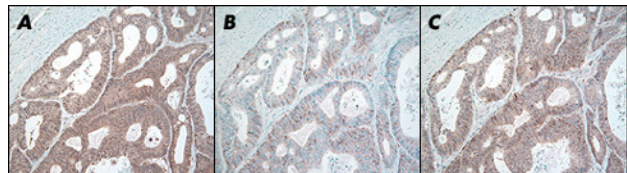
Dieser Antikörper von **ZYMED** wurde für Paraffinschnitte entwickelt, und färbt sowohl Zytoplasma als auch Membranen.

### Thymidylat Synthase Antikörper Cocktail (ZYM18-0405)

Die Beobachtung, dass kolorektale Tumore mit einer hohen Expression von Thymidylate Synthase eine geringere Überlebensrate zeigen, macht das Enzym zu einem wichtigen Indikator bei der Diagnose dieser Tumore.

Aufgrund der Tatsache, dass monoklonale Antikörper nur Single Epitope erkennen, ist eine geringe Sensitivität zu beobachten. Aus diesem Grund entwickelte **ZYMED** spezifisch für kolorektale Krebsforschung eine Mischung aus 2 monoklonalen Antikörpern (Klone TS106/4H4B1) mit einer höheren Sensitivität zur Detektion von Thymidylat Synthase in immunhistochemischen Applikationen.

**Abb. 2:** Immunhistochemische Färbung von kolorektalem Krebsgewebe unter Verwendung von Thymidylate Synthase Antikörpern



A) Klon TS106 B) Klon 4H4B1 C) TS106+ 4H4B1

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an:

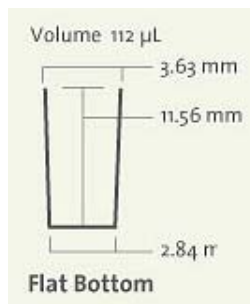
Dr. Farzaneh Adhami  
Tel. 01/489 3961-30  
f.adhami@szabo-scandic.com

## ZELLKULTUR UND LABORBEDARF

### NEU: Corning® Optical Imaging 384 Well Platte, schwarz mit Klarboden:

Mit diesem neuen Produkt schließt **CORNING** eine bisher bestehende Lücke im Mikrotiterplatten-Segment. Für das Screening im (sub-)zellularen Bereich unter Zuhilfenahme von Konfokal-Mikroskopen sind Platten mit ultraflachem Boden notwendig. Diese Platte (Kat. Nr. 3985) ist zellkulturbehandelt, um Zellanheftung und Wachstum zu erleichtern. Gefertigt aus schwarzem Polystyrol wird Well-to-Well Crosstalk verhindert und der Hintergrund für Fluoreszenz Assays deutlich herabgesetzt.

Die Platte wurde zur Verwendung in Geräten wie dem Amersham® InCell™ 3000 Analyzer optimiert.



Das Gesamtvolumen beträgt 112  $\mu\text{L}$ , das empfohlene Arbeitvolumen liegt zwischen 20  $\mu\text{L}$  und 80  $\mu\text{L}$ .



Abschließend sei noch erwähnt, dass die Platte bezüglich ihrer Abmessungen dem Industrie Standard entsprechend gefertigt wird.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Dr. Andreas Bergmann  
Tel.: 01/489 3961-40  
a.bergmann@szabo-scandic.com

## DIAGNOSTIK

### Aktuelle virale Darminfektionen: Erreger, Klinik, Diagnostik

Virale Darminfektionen sind weltweit zu finden, ihre Inzidenz (Anzahl der Neuerkrankungen / Jahr) ist in den Entwicklungsländern am höchsten. Die höchste Prävalenz (Anzahl der Erkrankten / 105 Personen) haben Rotaviren (25 %) gefolgt von Norwalk-like-Viren (20 bis 22 %). Dabei zeigen Rotavirusinfektionen besonders schwere Verläufe. Ihre hohe Morbidität und Mortalität in Kombination mit einer hohen Hospitalisierungsrate waren Anlass, einen Rotavirusimpfstoff zu entwickeln.

Im Sinne „klassischer Darminfektionserreger“ sind die Rotaviren, Adenoviren, Norwalk-like-Viren und die Astroviren zu nennen. Enteroviren, deren Bezeichnung sich vom lateinischen Begriff Darm (enterus) herleitet, verursachen milde Durchfälle, die häufig auch asymptomatisch oder inapparent (unmerklich) verlaufen, sind aber deshalb von Bedeutung, weil sie gefürchtete Spätkomplikationen, wie die aseptische Meningitis hervorrufen können. Als so genannte „Neue Darminfektionserreger“ sind hauptsächlich die zu der Familie der Caliciviridae gehörenden Norwalk-like-Viren zu nennen.

Alle klassischen viralen Darminfektionserreger sind nichtumhüllte Viren, die sich durch besondere Widerstandsfähigkeit, wie Resistenz gegenüber Hitze, Säure, Chlor und Umwelt auszeichnen. Dies hat für die weitere Diagnostik zum Vorteil, dass Viren, die mit dem durchfälligen Stuhl ausgeschieden werden, für etwa 48 Stunden bei 4°C (also Kühlschranktemperatur) haltbar sind.

#### ROTAVIREN

Rotaviren gehören zum Genus Rotavirus der Familie der Reoviridae. Man unterscheidet zusätzlich die Serogruppen A, B, C, D, E und F, wobei A-C human- und D-F tierpathogen sind. Rotaviren der Gruppe A sind die Hauptursache von Gastroenteritiden beim Menschen.

#### ADENOVIREN

Adenoviren gehören zum Genus Mastadenovirus der Familie Adenoviridae. Man unterscheidet inzwischen 51 serologisch unterschiedliche Typen (Serotypen), die in verschiedene Subgenera (A, B, C, D, E) als Spezies klassifiziert werden. Von diesen 51 Serotypen sind aber nur etwa 50 % pathogen. So enthält das Subgenus E die enterisch wichtigen Serotypen 40 und 41. Neben enterischen Adenoviren (Viren die den Darm befallen) unterscheidet man noch zusätzlich respiratorische Adenoviren (Viren, die Erkrankungen der oberen Atemwege hervorrufen).

**ASTROVIREN**

Astroviren gehören zum Genus Human astrovirus der Familie der Astroviridae. Inzwischen unterscheidet man 8 humanpathogene Serotypen.

**ENTEROVIREN**

Enteroviren gehören zu dem Genus Enterovirus der Familie der Picornaviridae (picorna = kleine RNA Viren), welche auch die Coxsackieviren der Gruppe A, Coxsackieviren der Gruppe B, ECHO Viren (entric cytopathogenic human orphan) und die Enteroviren 68-70 umfassen. Inzwischen sind 68 unterschiedliche Typen von Enteroviren bekannt.

**NORWALK-LIKE VIREN**

Die Norwalk-like-Viren (NLV) gehören in zwei Genera der Familie der Caliciviridae, das Genus Norwalk-like-Virus (NLV) und das Genus Sapporo-like-Virus (SLV) an.

Die Prävalenz viraler Darminfektionserkrankungen ist für Rotavirus ca. 25 %, gefolgt von NLV (20-22 %), Adenovirus (3-10 %) und Astrovirus (2-6 %). Für Enteroviren sind bestenfalls Prävalenzen für die Enterovirus-assoziierten Meningitisfälle bekannt. Während Rota- und Astroviren eine Wintersaisonalität zeigen, treten Infektionen mit NLV und Adenoviren eher ganzjährig auf. Aseptische Meningitis- bzw. Meningoenzephalitisfälle bedingt durch Enteroviren sind häufig während der Sommermonate zu finden und seit Einführung der Mumpsvirusimpfung Hauptursache dieser Erkrankung.

Sämtliche Darminfektionserreger werden über den fäkaloralen Weg übertragen, d.h. sie werden mit dem Stuhl ausgeschieden und über kontaminierte Gegenstände, Lebensmittel, Wasser oder auch Aerosole aufgenommen.

Die Zeit zwischen dem Erstkontakt mit dem Virus und dem Auftreten einer Symptomatik heißt Inkubationszeit. Die Inkubationszeiten „klassischer“ enteropathogener Viren sind eher kurz (0,5–4 Tage), während eine Adenovirusinfektion erst nach 3–10 Tagen und eine Enterovirusinfektion erst nach 2–14 Tagen eine Symptomatik verursacht. Mit etwa 12 Stunden Inkubationszeit sind die NLV sehr schnell krankmachend. Entscheidend für die Inkubationszeiten sind neben dem Inokulum (Menge an Viren die aufgenommen werden), das Alter der Personen und die Immunitätslage. Da das Immunsystem von Säuglingen und Kleinkindern noch nicht den „Wirkungsgrad“ eines Erwachsenen haben kann, ist diese Personengruppe, ebenso wie die Gruppe immunsupprimierter Erwachsener besonders gefährdet, infiziert zu werden. Eine generalisierte Adenovirusinfektion kann z.B. bei einem immunsupprimierten Kind oder einem AIDS-Patienten bisweilen tödlich verlaufen.

Virale Darminfektionen sind durch massive Durchfälle, begleitet von Magenkrämpfen bis hin zum Erbrechen gekennzeichnet. Gelegentlich tritt auch Fieber auf. Rotavirusinfektionen zeigen den höchsten Schweregrad.

Eine Studie, die im Epidemiologischen Bulletin vom 1. Juni 2001 veröffentlicht wurde, zeigt deutlich, dass auch die Häufigkeit der Virusmeningoenzephalitisfälle (zumindest im untersuchten Freistaat Sachsen) für das Jahr 2000 dreimal größer war als im Vorjahr. Die Gründe hierfür sind unbekannt. Von 102 registrierten Erkrankungsfällen waren 95 (93,1%) auf Enteroviren zurückzuführen, 5 Fälle auf Herpesviren (4,9%) und je ein Fall auf Varizella-Zoster-Virus und auf FSMEV (Frühsommermeningoenzephalitisvirus).

Die altersspezifischen Inzidenzraten (Anzahl Erkrankter / 100.000) zeigen, dass von den Erkrankten 48% jünger als 5 Jahre, 21,2% jünger als 15 Jahre und 7,1% älter als 15 Jahre alt waren. Valide epidemiologische Daten zu weiteren Enterovirus-assoziierten Erkrankungen zu erhalten ist schwierig, weil die Routineenterovirusdiagnostik unterdiagnostiziert ist. Hinzu kommt, dass in Zeckendemiegebieten möglicherweise die Aufmerksamkeit der Enterovirusdiagnostik bei Meningoenzephalitis zugunsten der Borrelia burgdorferi- und/oder FSMEV-Diagnostik gerichtet ist. Sowohl Borrelia burgdorferi als auch FSMEV werden von Zecken übertragen und können Ursache einer Meningitis sein.

Die Ausscheidung infektiöser Viren mit dem Stuhl bietet die Grundlage für die Diagnostik. Je früher eine Stuhlprobe für die Virusdiagnostik gewonnen wird, desto größer sind die Chancen, Viren aus Stuhl zu erfassen. Während bei Adenoviren bis zu  $10^{11}$  Virionen/g Stuhl gefunden werden, findet man bei einer Rotavirusinfektion bis zu  $10^{10}$  Virionen/g Stuhl, bei einer Astrovirusinfektion bis zu  $10^8$  Virionen/g Stuhl und bei einer Calicivirus (NLV)- oder Enterovirusinfektion bis zu  $10^7$  Virionen/g Stuhl. Nach durchgemachter Infektion werden die Viren unterschiedlich lange mit dem Stuhl ausgeschieden (shedding): NLV etwa 1-3 Tage, Rotavirus etwa 3-7 Tage, Astrovirus wenige Tage und Enterovirus bis zu 3 Monaten. Der Virusnachweis kann über eine elektronenmikroskopische Darstellung geführt werden, über eine Amplifikation der virusspezifischen Nukleinsäure, über die Virusanzucht/Isolierung auf bestimmten für die Viren empfänglichen (suszeptiblen) Zelllinien oder aber bequemer und schneller über Virusantigen-ELISA. Die Auflösungs-grenze bzw. Sensitivität handelsüblicher ELISA liegt etwa bei  $1-5 \times 10^4$  Virionen/g Stuhl und somit 3-7 Logstufen über der Maximalvirusausscheidung.

Für die Enterovirus-assoziierte Meningoenzephalitis ist der Nachweis des Virus durch RT-PCR zu führen.

Die baldige Verfügbarkeit unseres **NOVITEC® Enterovirus-antigen ELISA** (für einen schnellen und einfachen Virusnachweis aus Stuhl) gepaart mit der Tatsache, dass auch eine Enterovirusinfektion chemotherapeutisch behandelbar sein wird (Pleconaril™ oder Picovir™ in klinischer Phase III in den USA) hat zur Folge, dass die Diagnose „Enterovirus-assoziierte Infektionen“ nicht nur differentialdiagnostisch wertvoll, sondern auch therapieentscheidend sein wird.

Auch unsere **Enterovirus-spezifischen IgM- und IgG-ELISA (NOVITEC® Enterovirus IgM bzw. IgG)** helfen diese Infektionserkrankung im Vergleich zur KBR, spezifischer und sensitiver zu diagnostizieren.

Welche Methode letztendlich den Vorzug bekommt, hängt im Wesentlichen von den Eigenschaften der Viren, den Labormöglichkeiten, etc. ab. Der Einsatz elektronenmikroskopischer Diagnostik bleibt speziellen Laboreinrichtungen, die hauptsächlich an Universitäten zu finden sind, vorbehalten. Während die ELISA-Technologie mittlerweile eine sehr hohe Akzeptanz gefunden hat (> 90%), wird die Immunfluoreszenztechnik (IFT) künftig in geringerem Umfang eingesetzt werden, obwohl es diagnostische Fragestellungen gibt, die ausschließlich mittels IFT zu beantworten sind.

Die PCR wird künftig stärker Einzug halten, während die Chiptechnologie noch weitere Jahre benötigt, bis eine rationale Adaptation selektierter, abrechenbarer Analyte (Parameter) gefunden wird. Traditionell wird die Virusanzucht nur von einigen speziellen Labors und Universitätseinrichtungen eingesetzt.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Michael Zelisko  
01/4893961-37  
m.zelisko@szabo-scandic.com

### **Noch mehr Infos gewünscht ?**

Bei **SZABO-SCANDIC** erhältlich:

Eine ausführliche Broschüre zum Thema  
**„AKTUELLE VIRALE DARMINFEKTIONEN“**  
mit detaillierten Daten zu Epidemiologie,  
Klinik und Diagnostik!

Anzufordern unter: [mail@szabo-scandic.com](mailto:mail@szabo-scandic.com)

## Serie „Autoimmundiagnostik“

Thema dieser Ausgabe:

# ANCA

Nachdem 1982 von Davies et al. das Vorkommen von gegen Granulozytenantigene gerichteten Antikörper bei Patienten mit nekrotisierender Glomerulonephritis publiziert wurde, gelang 1985 zum ersten Mal der Nachweis krankheitsspezifischer Autoantikörper bei der Wegenerschen Granulomatose. Diese Antikörper reagieren mit cytoplasmatischen Bestandteilen der neutrophilen Granulozyten und werden deshalb „anti-neutrophile cytoplasmatische antibodies“ (ANCA) genannt.

Mit der indirekten Immunfluoreszenz (IFT) auf ethanolfixierten, humanen neutrophilen Granulozyten, lassen sich grundsätzlich zwei Arten der Fluoreszenzmuster unterscheiden:

### **c-ANCA und p-ANCA**

Beim c-ANCA erkennt man eine cytoplasmatische Anfärbung und beim p-ANCA liegt eine perinukleäre Anfärbung vor. Für beide ANCA Typen wurden mehrere Zielantigene beschrieben. Der Großteil der p-ANCA Sera hat die Myeloperoxidase (MPO) als Zielantigen und bei den c-ANCA Sera wurde als häufigstes Zielantigen die Proteinase 3 (PR3) nachgewiesen. Azurozidin, Lactoferrin, Elastase, Cathepsin G, Lysozym und BPI (bakterizides, permeabilitätssteigerndes Protein) sind weitere derzeit uns bekannte Zielantigene.

Neben den ethanolfixierten, humanen Granulozyten sind auch formalin und methanolfixierte humane Granulozyten im Handel. Formalinfixierte Granulozyten dienen als ANA Ausschlussstest, da ANA positive Sera keine Fluoreszenz auf den formalinfixierten Granulozyten erkennen lassen. Methanolfixierungen werden zum Hinweis auf eine Colitis ulcerosa verwendet.

ANCA wird bei Krankheiten wie zum Beispiel rapid-progressiver und idiopathischer Glomerulonephritis, bei Polyarteriitis nodosa, mikroskopischer Polyarteriitis, Churg-Strauss-Syndrom, SLE, Reumatoide Arthritis, Morbus Crohn, PBC, Colitis ulcerosa, etc. diagnostiziert.

**SZABO-SCANDIC** bietet Ihnen neben ELISA Kits auch die gesamte Palette für die Bestimmung der ANCA mit Hilfe der IFT an.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

Dr. Eva Wanzenböck  
01/4893961-32 oder 0676/4893932  
e.wanzenböck@szabo-scandic.com

## SZABO-SCANDIC UNTERSTÜTZT FOLGENDE VERANSTALTUNGEN



### GLP-Seminarreihe

Ein gut organisiertes Qualitätsmanagement ist Grundlage und damit auch Garant für dauerhafte und langfristige Erfolge. GLP – das Qualitätssicherungssystem der „Guten Labor-praxis“ ermöglicht die Sicherstellung von Qualitätsstandards in der präklinischen Arzneimittelforschung.

JSW-Research verfügt über ein breites Methodenspektrum aus der Biochemie, Zellbiologie und Molekularbiologie zur Identifizierung und Bewertung potentieller Wirksubstanzen. An unserem Standort in Graz bieten wir in unserer seit 1999 GLP-zertifizierten Einrichtung maßgeschneiderte Forschungsprogramme in Zellkultur- und Tiermodellen sowie klinische Forschungsdienstleistungen für einen internationalen Kundstamm an.

#### **GLP-advanced, 21.10.2004**

GLP-advanced gibt grundlegende Informationen über den Aufbau einer Organisationsstruktur sowie eines QS-Programms. Anforderungen zur Durchführung einer GLP-Prüfung werden klar und deutlich in Theorie und Praxis vermittelt. Den Teilnehmern wird auch ein Einblick in einen GLP-Labor-Alltag an Hand von praktischen Beispielen geboten. GLP-advanced richtet sich an Prüfstellenleiter, Prüfleiter, QS- und technisches Personal.

#### **GLP-safe, 25.11.2004**

GLP-safe informiert über die gesetzlichen Bestimmungen zur Sicherheit in einem Betrieb, zeigt den richtigen Umgang mit Chemikalien und Giften, deren Lagerung bzw. ordnungsgemäße Entsorgung, sowie diverse Evaluierungen auf. GLP-safe richtet sich an Sicherheitsvertrauenspersonen, Chemikalien- und Giftbeauftragte, QS- und technisches Personal.

#### Ort der Veranstaltungen:

JSW-Research  
Rankengasse 28, 8020 Graz

#### Ansprechperson:

Marta Amer, Tel.: 0316/76 51 14-23,  
Email: mamer@jswresearch.com

Anmeldung unter: [www.jswresearch.com](http://www.jswresearch.com)

#### Weitere Seminare:

GLP-basic, GLP-professional, GLP-total, e-GLP

---

### 12. Kongress über Alternativen zu Tierversuchen

15.–17. Oktober 2004  
Linz

---

### Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI)

2.-4. Dezember 2004  
Wien

---

## BIO-TEK AKTION VERLÄNGERT

Aufgrund der regen Nachfrage haben wir weiterhin für Sie folgende Geräte zu Sonderpreisen zur Verfügung:

Gerät	Listenpreis (EUR)	Rabatt
Microplate Washer ELx405R™ Komplettsystem	10.400,-	25%
Auto Strip Washer ELx50/8™	4.900,-	25%
Microplate Reagent Dispenser µFill™-AF 1000A	8.400,-	25%
Microplate Reader ELx808IU™ mit KC Junior Software (340, 405, 450, 490 und 630nm Filter)	8.000,-	25%
Microplate Reader EL800PC™ mit KC Junior Software (405, 450, 490, 630 nm)	5.250,-	25%

#### Für ALLE Geräte gilt:

1 Jahr Garantie, 2 Jahre mit Wartungsvertrag.  
Verfügbarkeit solange der Vorrat reicht.

Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an

DI Danut Laes  
Tel.: 01/4893961-43  
[d.laes@szabo-scandic.com](mailto:d.laes@szabo-scandic.com)