

Ringversuche in der Allergie in vitro Diagnostik und Ansätze für eine Standardisierung

Zielstellung

Nachweis spezifischer IgE - Antikörper in der Allergiediagnostik

- ⇒ **Bedeutung für den Nachweis einer Sensibilisierung des Immunsystems gegen die entsprechenden Allergene**

Situation

Vielzahl von Tests unterschiedlicher Hersteller mit unterschiedlichen Allergenqualitäten

- ⇒ **Ergebnisse der Laboratorien und Arztpraxen nur bedingt untereinander vergleichbar**

Sicherung der Laborwerte

⇒ **Qualitätskontrolle der Allergie in vitro Diagnostik**

➤ **Externe QS-Maßnahmen in Form von Ringversuchen**

➤ **Interne Qualitätssicherungsmaßnahmen**

Ziel

Verbesserung der Vergleichbarkeit von Werten aus unterschiedlichen Laboratorien

⇒ **als wichtige Voraussetzung für die Diagnosefindung**

⇒ **für Longitudinalbewertung.**

Durchführung

Teilnehmer erhalten pro RV 2 Proben unterschiedlicher Konzentrationen
Vorgabe der zu bestimmenden spez. IgE – AK

Aufgabe

- ⇒ Bestimmung der spez. IgE – AK (Angabe der Allergen-Klasse)
- ⇒ Bestimmung der Spez. IgE – AK (Angabe in U/I)

Prüfmaterialien

- lyophilisierte Seren (speziell hergestellt für jeden RV)
 - ⇒ Eignungstestung mit verschiedenen Systemen
 - ⇒ Molekulargewichtsbestimmung mittels Westernblot
 - ⇒ nach Herstellung noch einmal Überprüfung von Stichproben

Bewertung

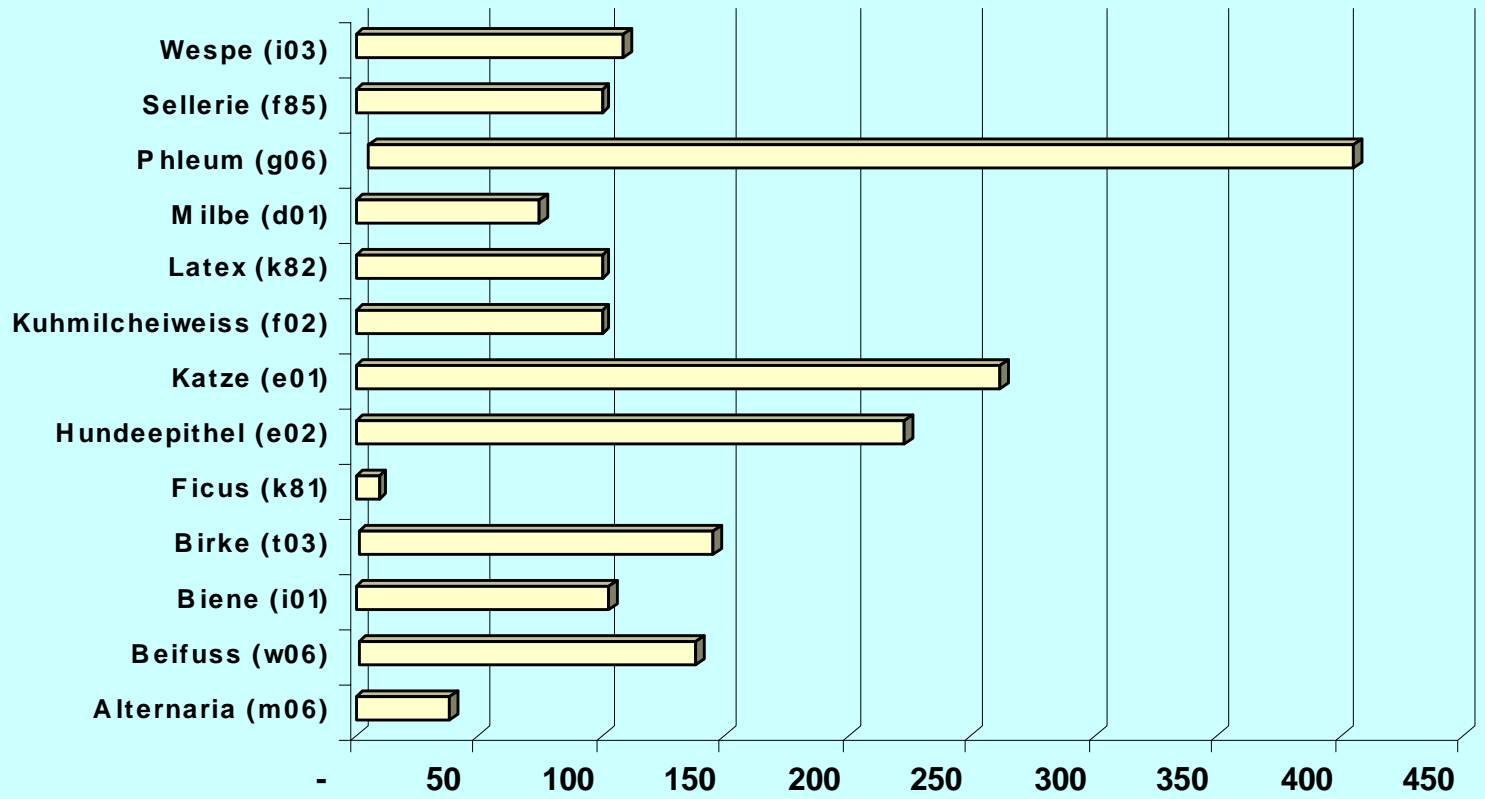
- **Auswertung als Firmen-Kollektive** (gleiche Analysensysteme)
- **Für die quantitative Bestimmung (U/I) wird vom jeweiligen Teilnehmerkollektiv der Median berechnet, als Bewertungsbereich werden 25% vorgegeben.**
- **Für die Auswertung nach RAST-Klassen werden im wesentlichen die Ergebnisse aller Teilnehmer zugrunde gelegt.**
Berücksichtigt werden jedoch in wenigen Fällen Abweichungen, bei denen sich das gesamte Teilnehmerkollektiv in einem anderen Wertebereich befindet.

Teilnehmer erhalten

- ⇒ **Auswertung der laboreigenen Ergebnisse für die einzelnen IgE- spezifischen Antikörper (Ergebnisausdruck)**
- ⇒ **Gesamtübersicht in Form einer Tabelle in der die Ergebnisse aller Teilnehmer dargestellt sind**
- ⇒ **Zertifikat.**

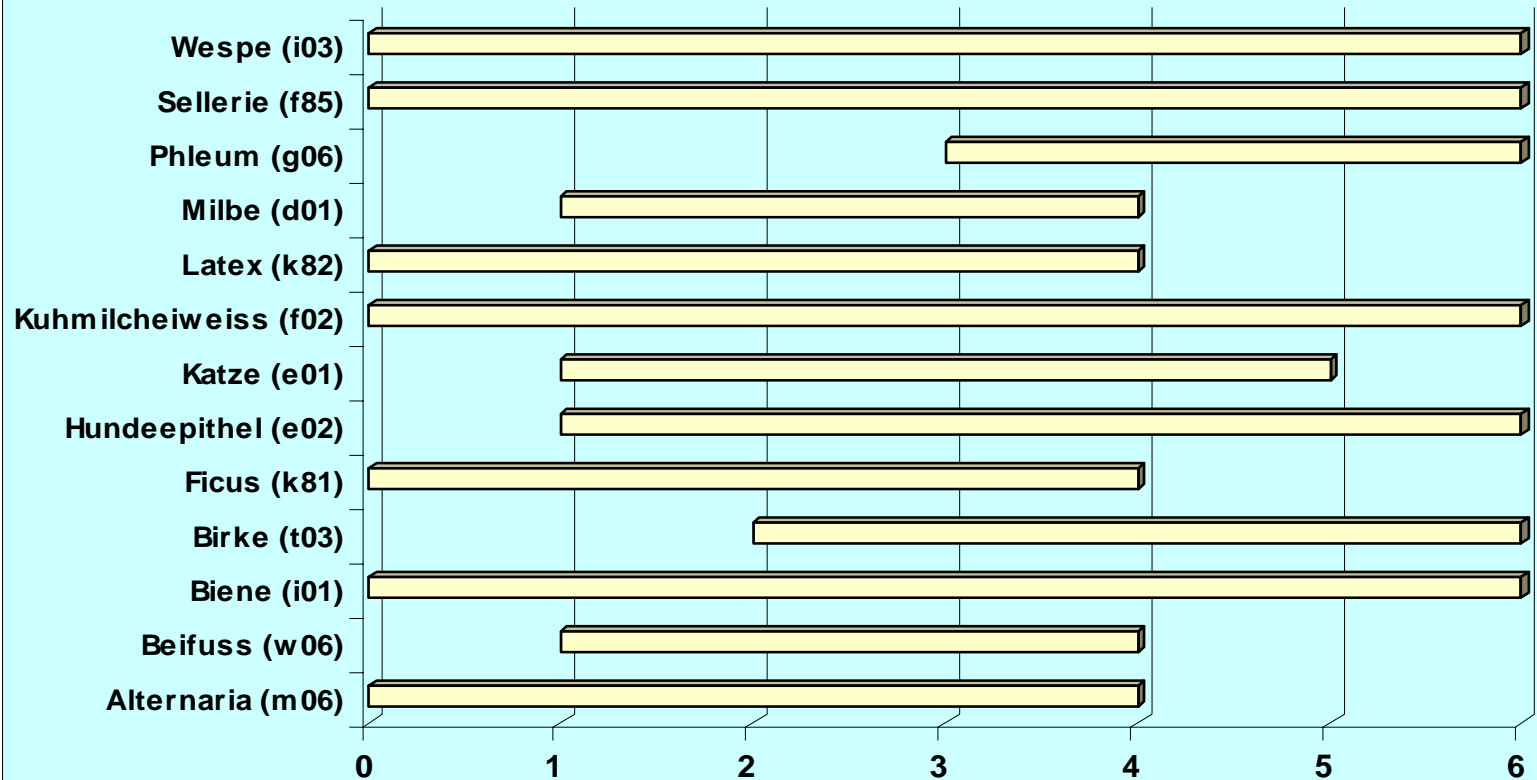
Ergebnisse

RV 2-08 [kU/l] - high level



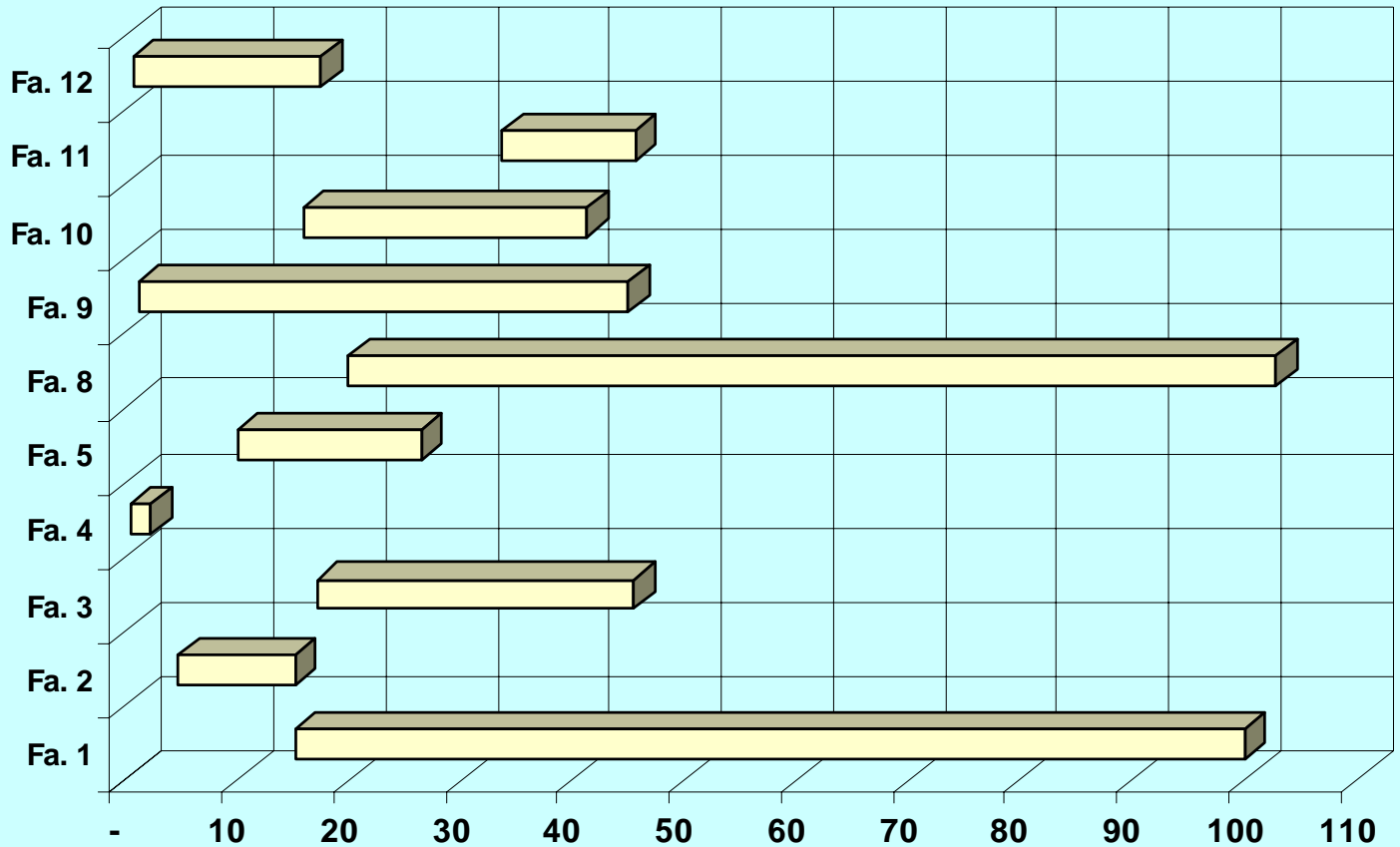
Ergebnisse

RV 2-08 RAST-classes - high level



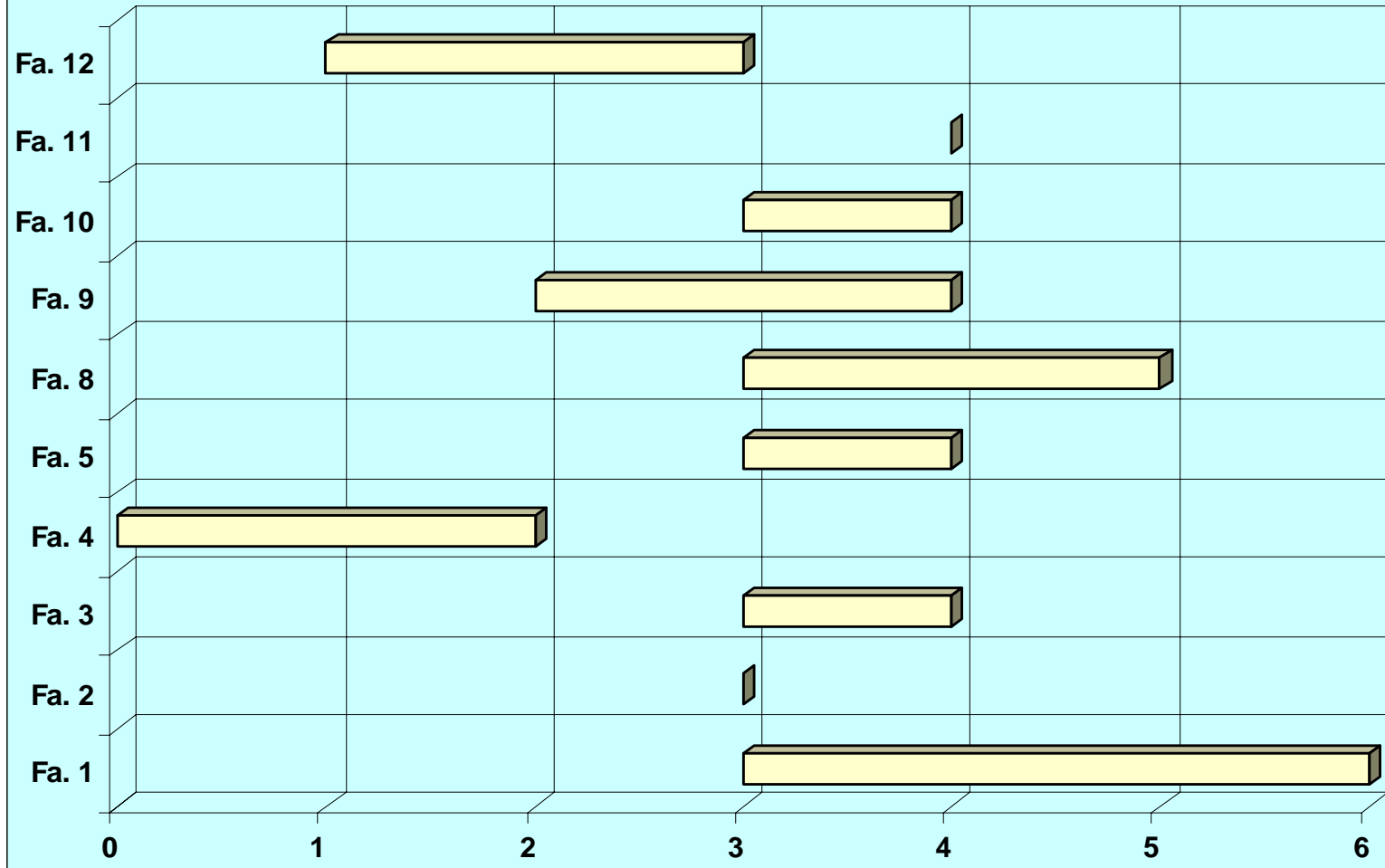
Ergebnisse

**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [kU/l] - high level**



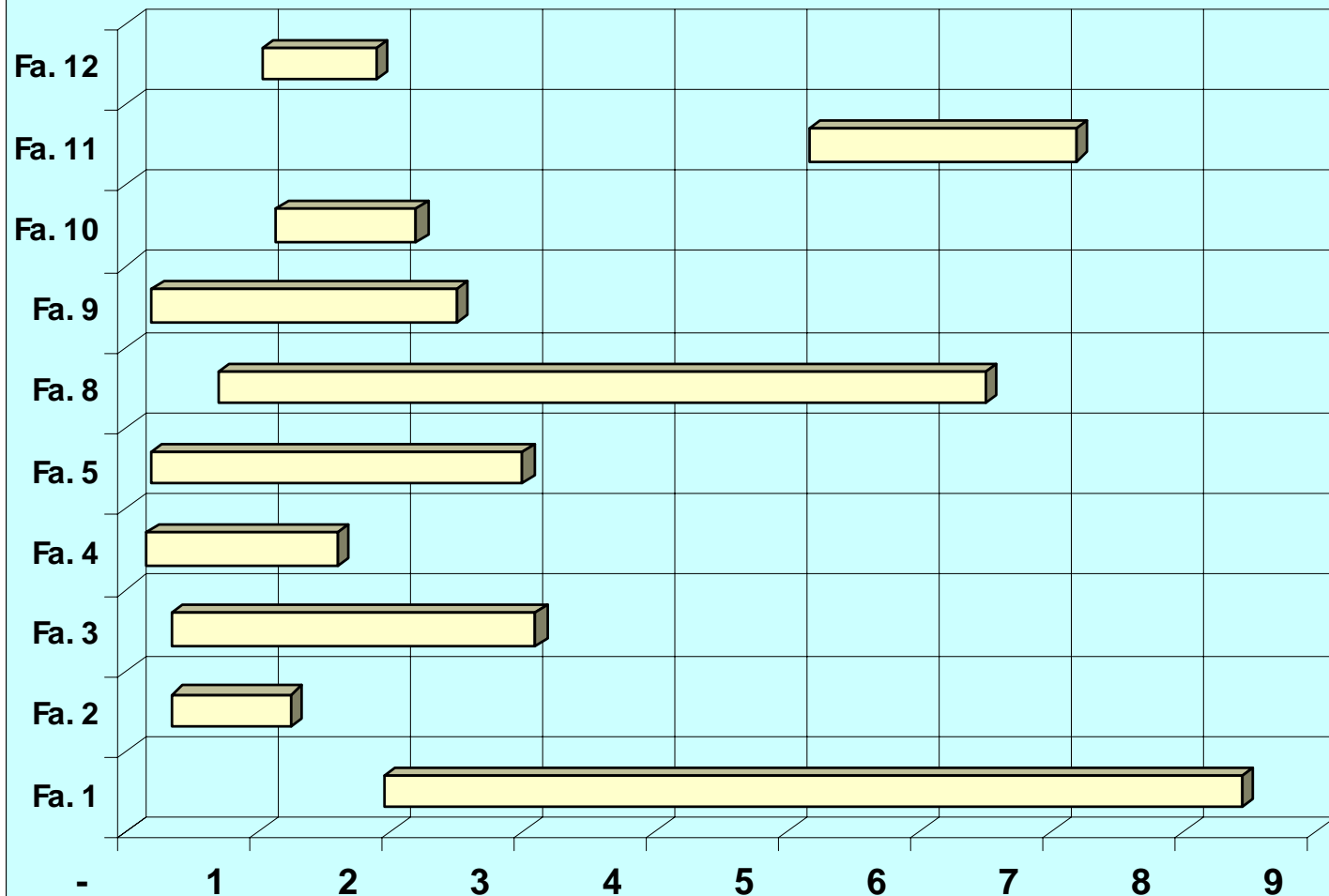
Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [RAST-classes] - high level



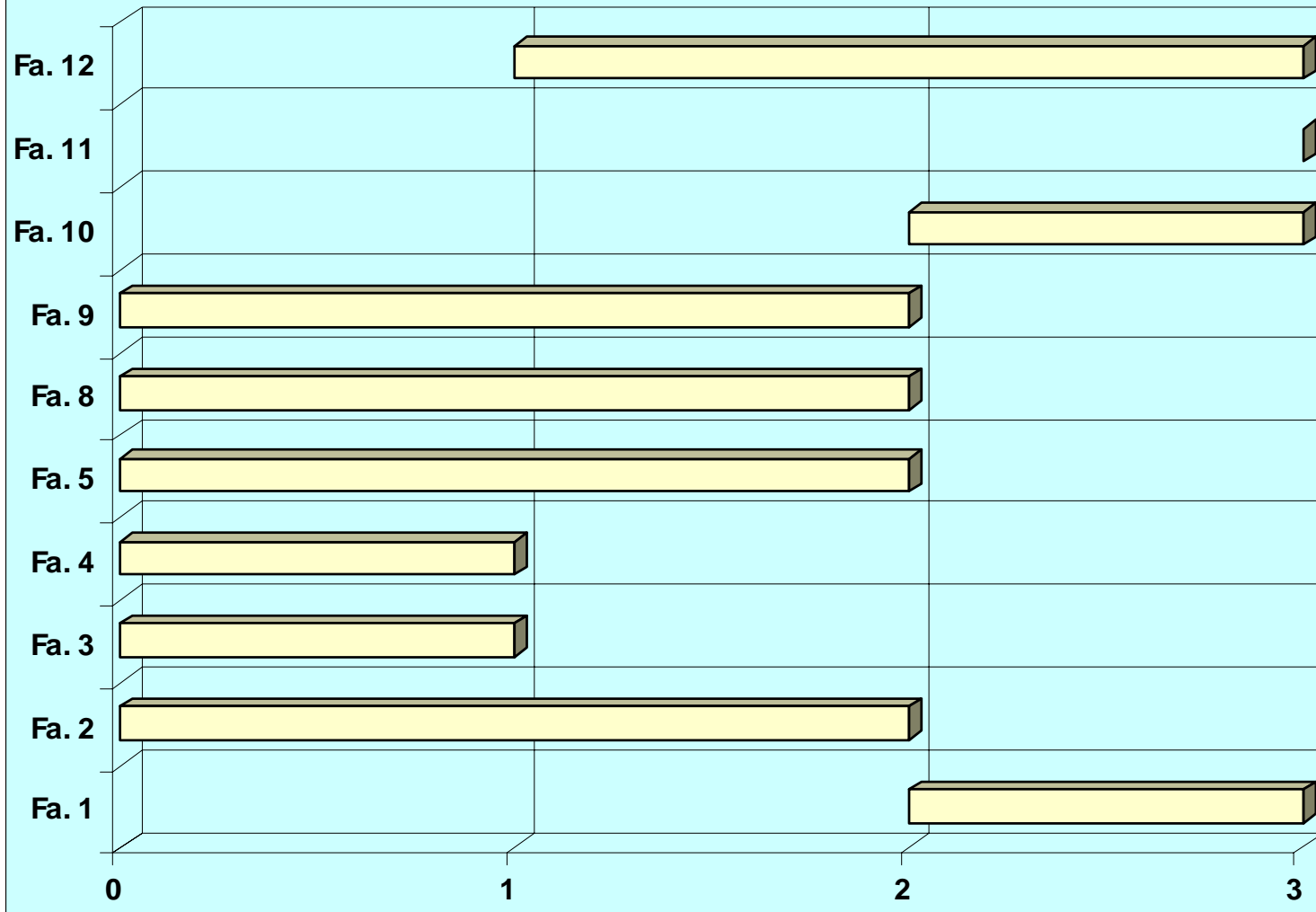
Ergebnisse

**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [kU/l] - low level**



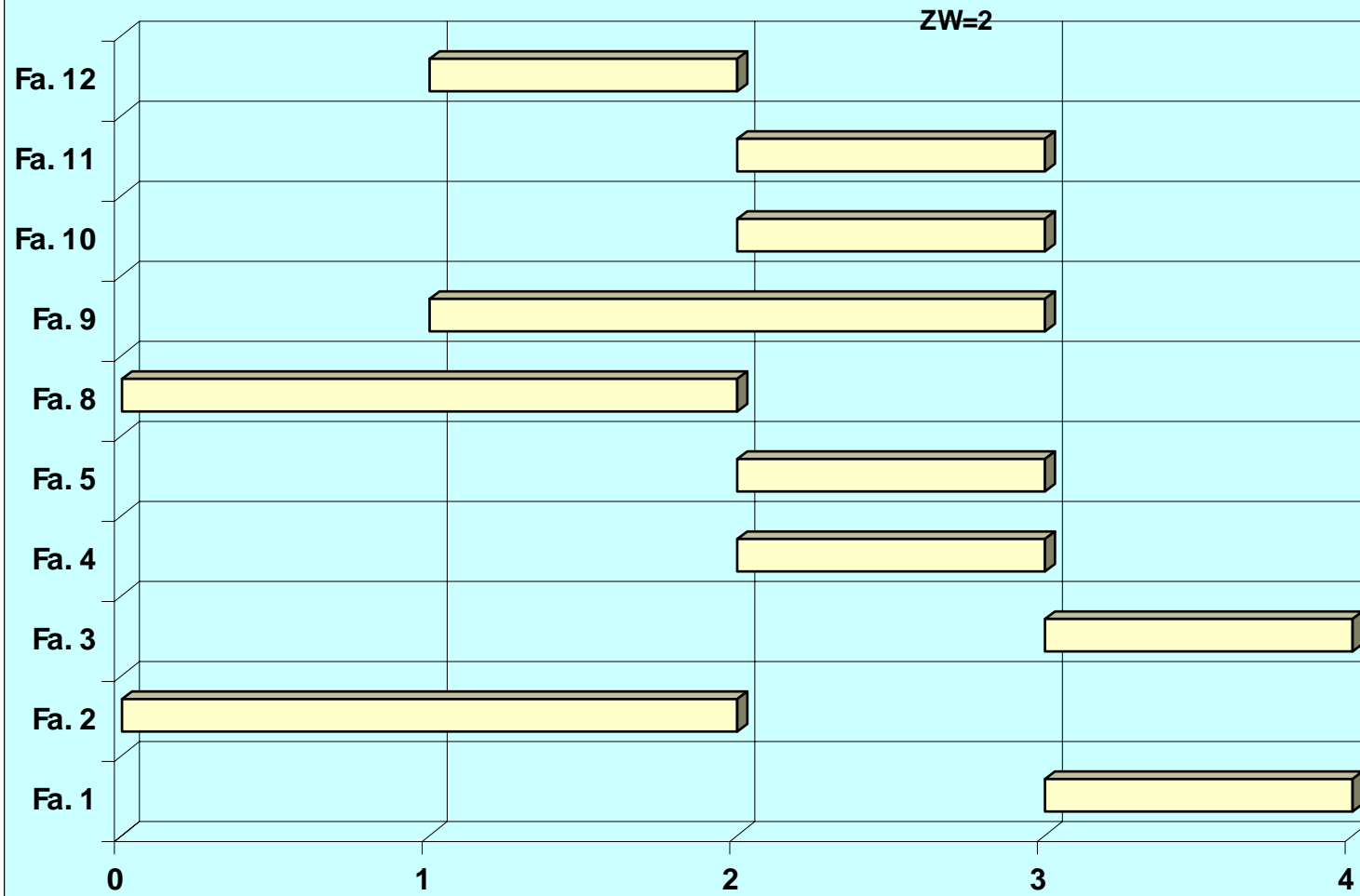
Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [RAST-Klassen] - low level



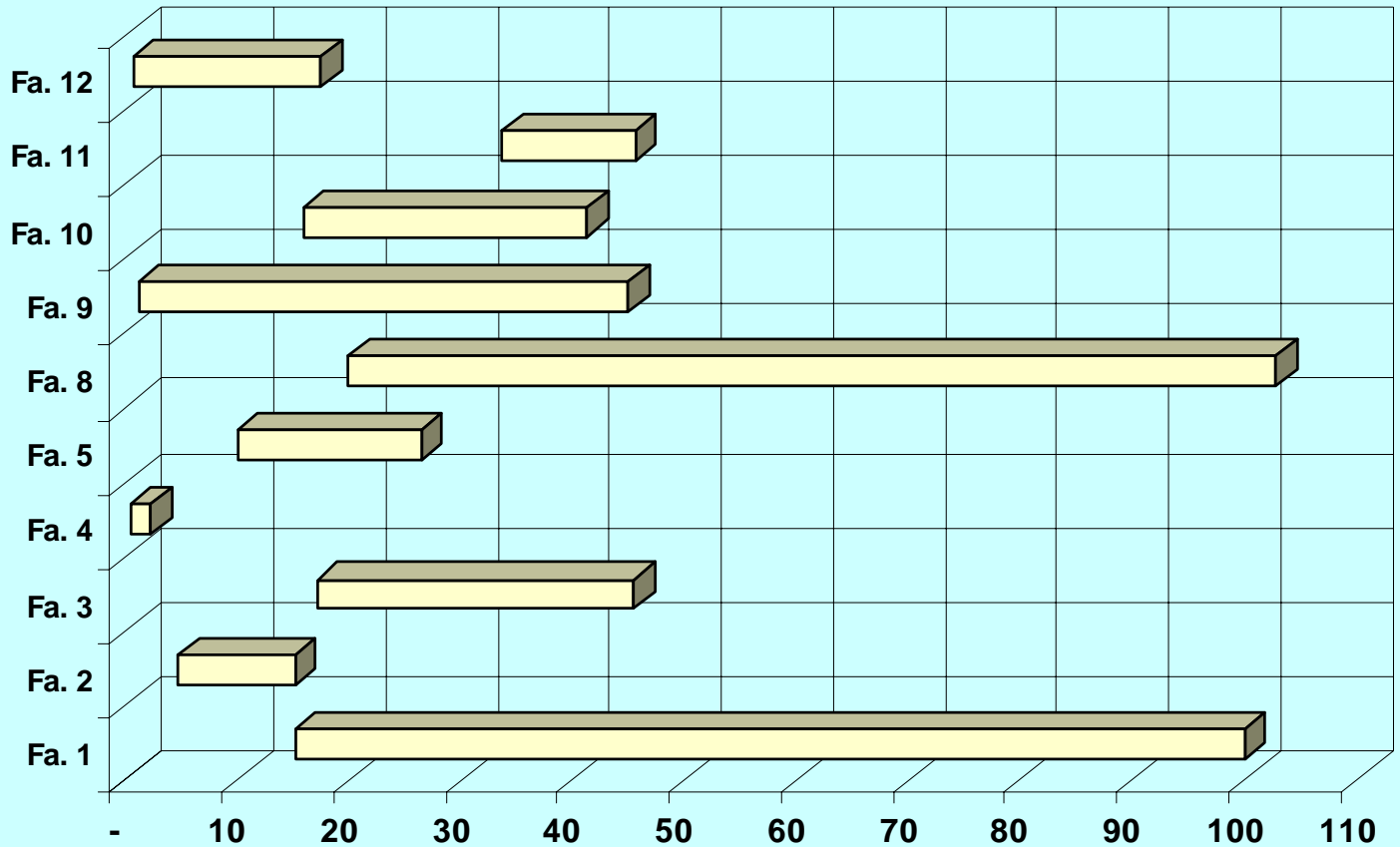
Ergebnisse

RV 2-08 data of companies
mite (d01) [Rast-classes] - low level



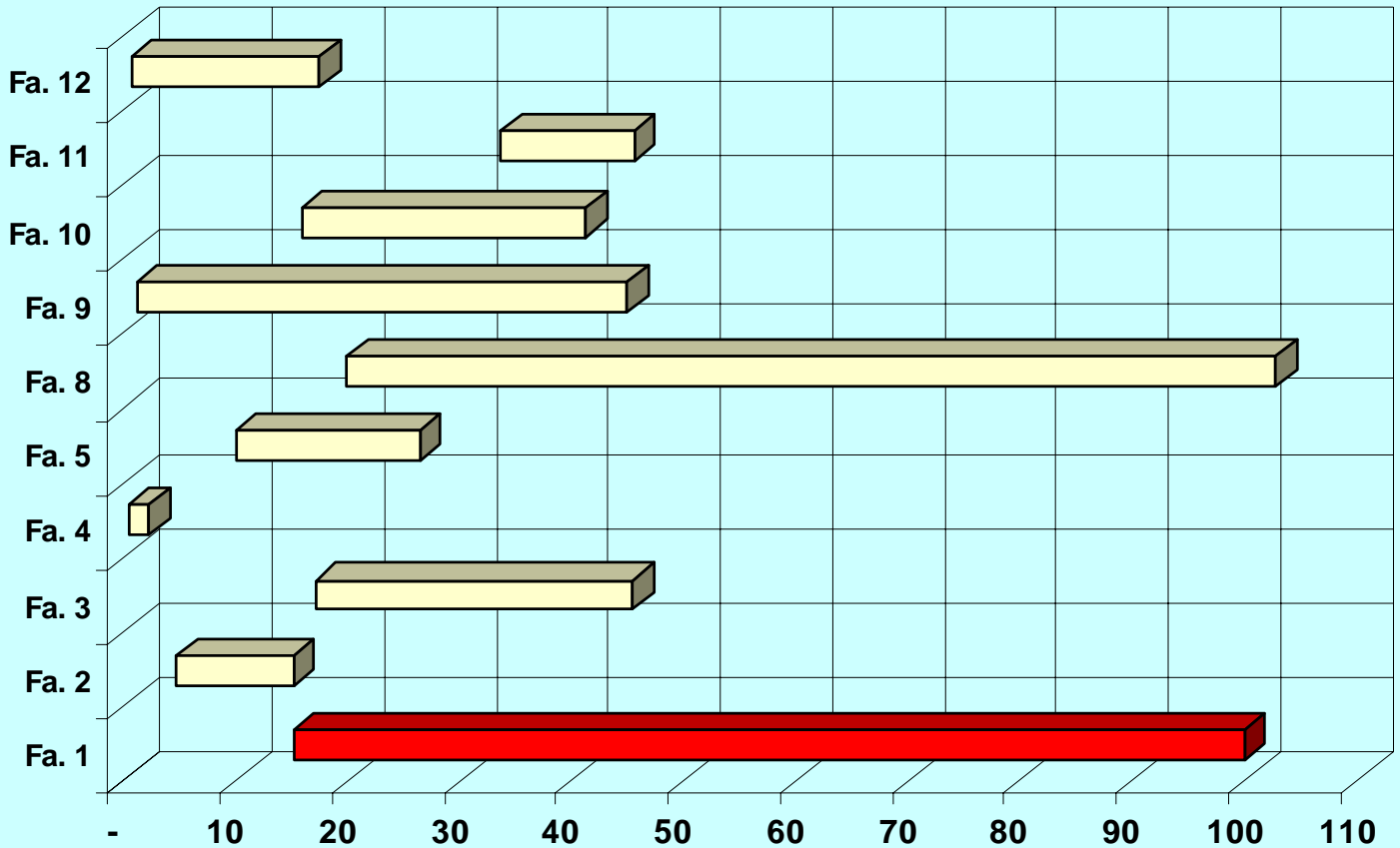
Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [kU/l] - high level

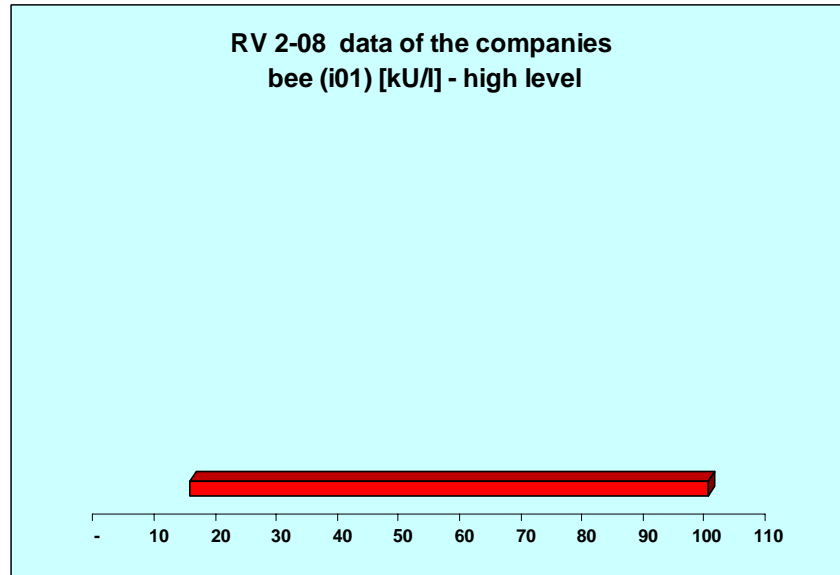


Ergebnisse

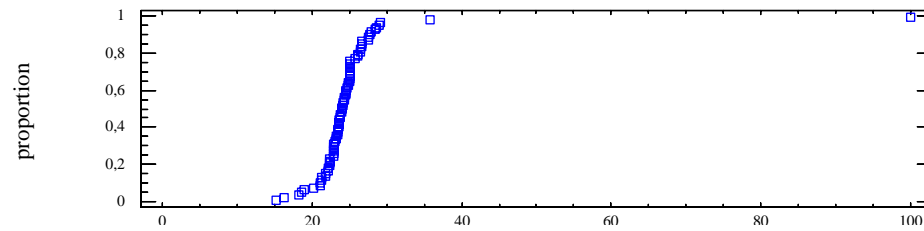
RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [kU/l] - high level



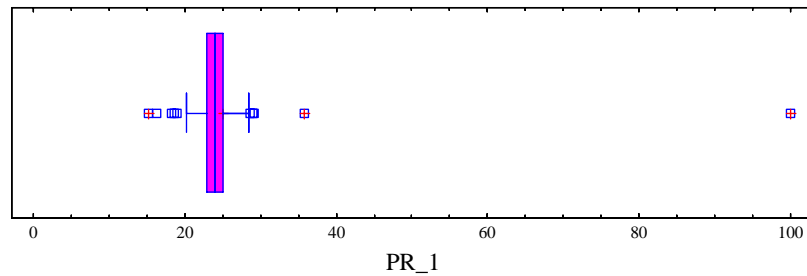
Ergebnisse - Fa. 1



Quantile Plot for PR_1

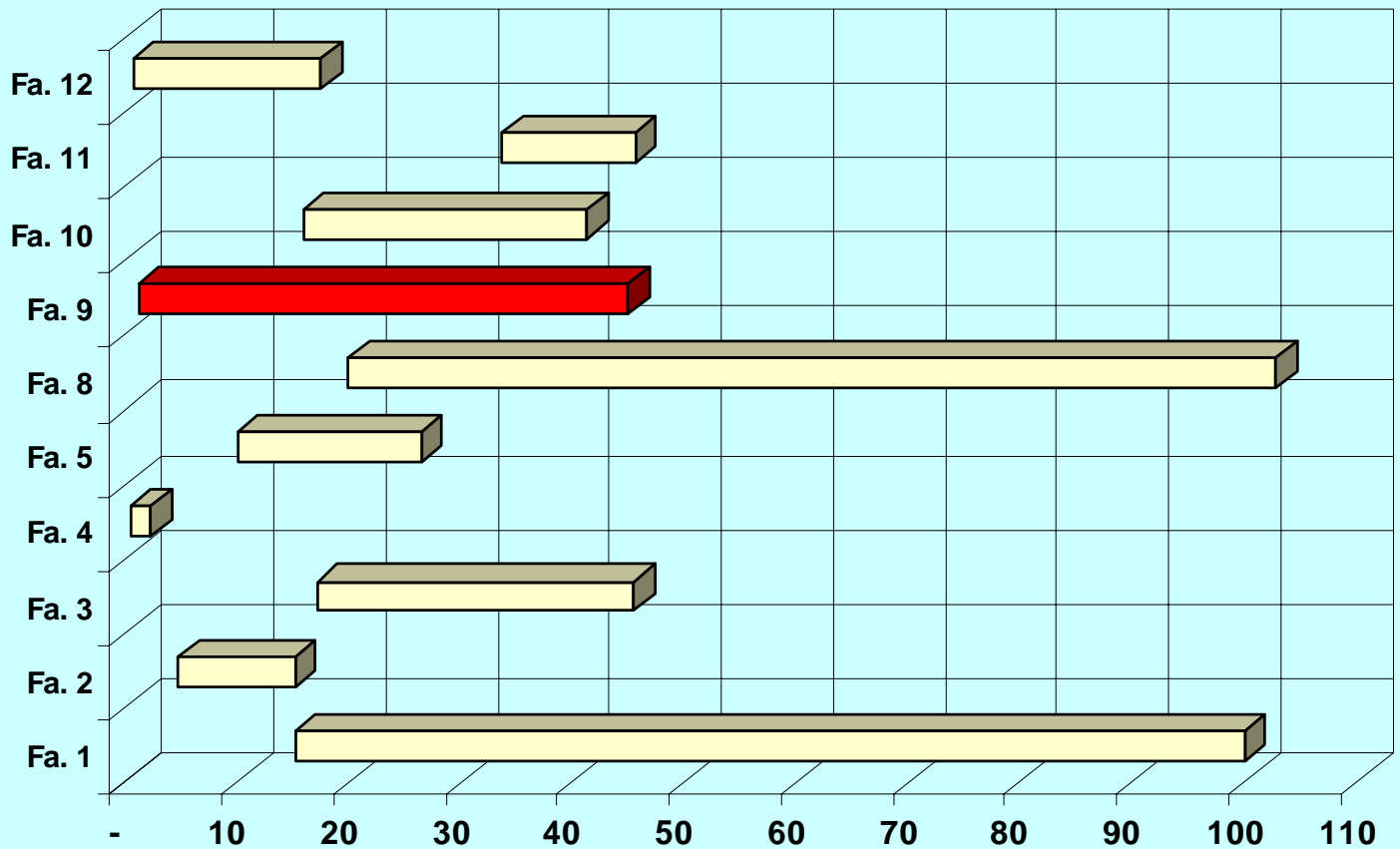


Box-and-Whisker Plot

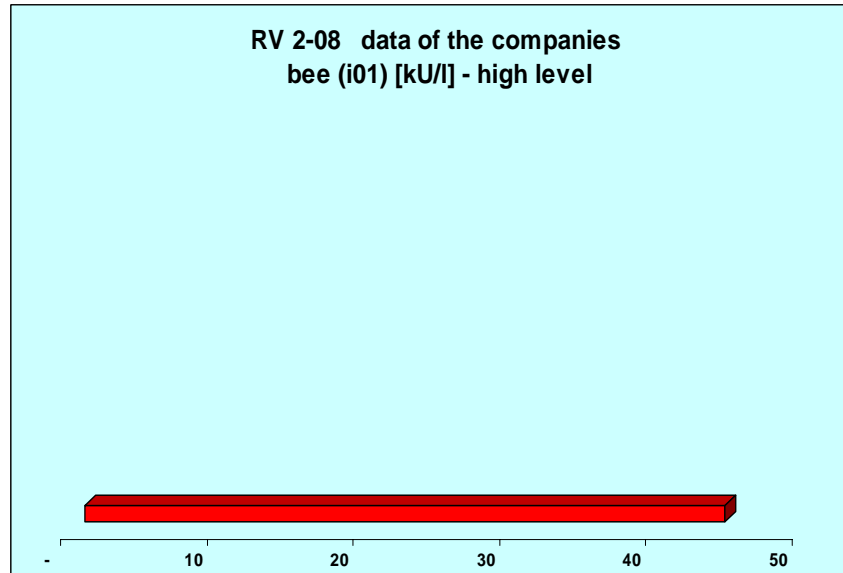


Ergebnisse

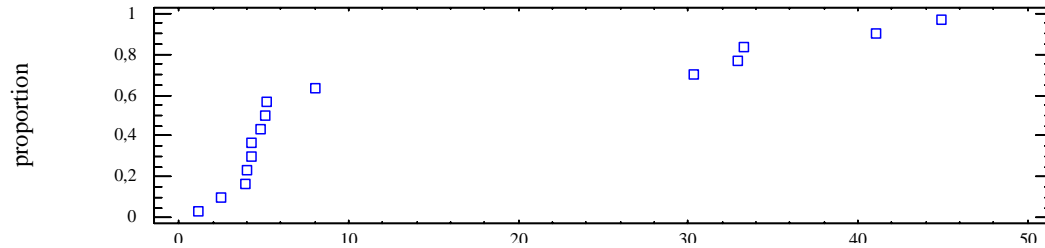
**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [kU/l] - high level**



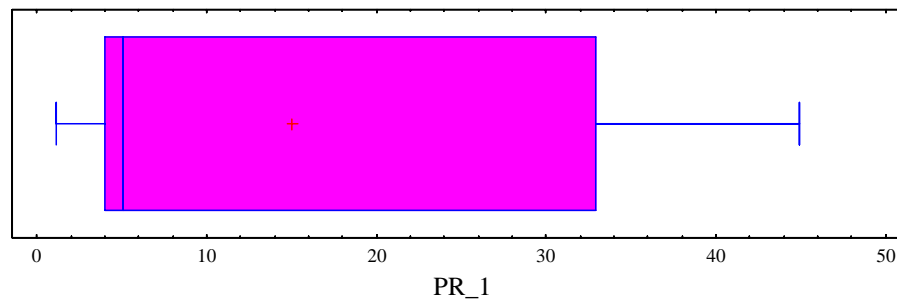
Ergebnisse – Fa. 9



Quantile Plot for PR_1

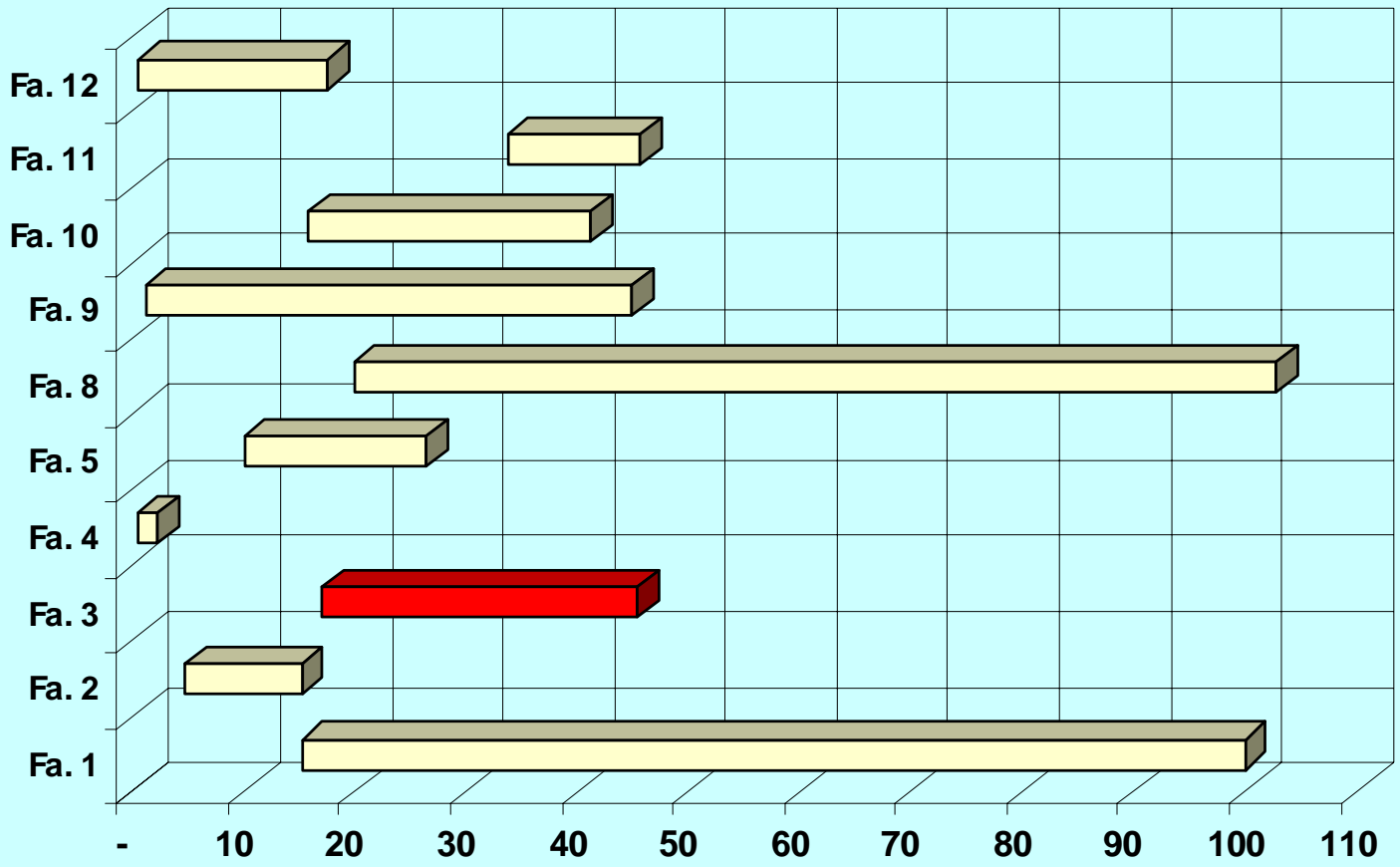


Box-and-Whisker Plot

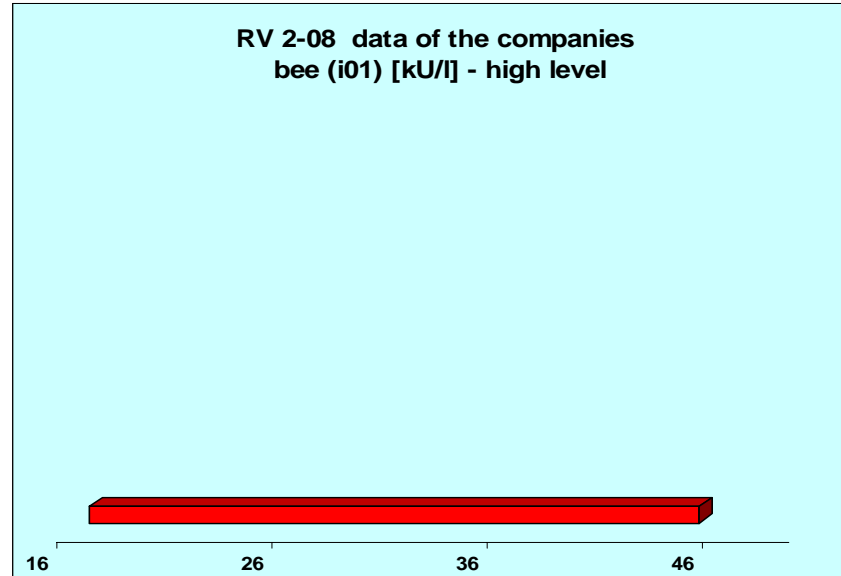


Ergebnisse

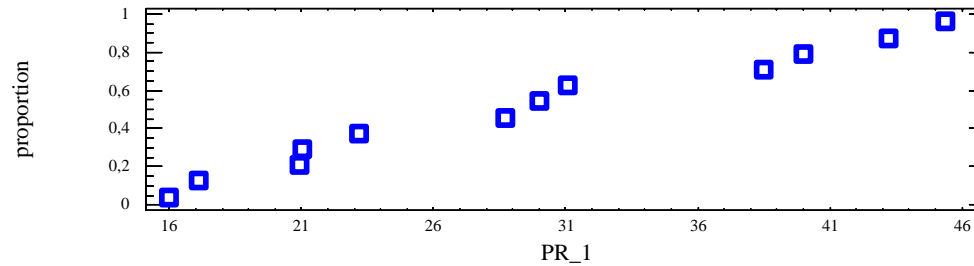
**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [kU/l] - high level**



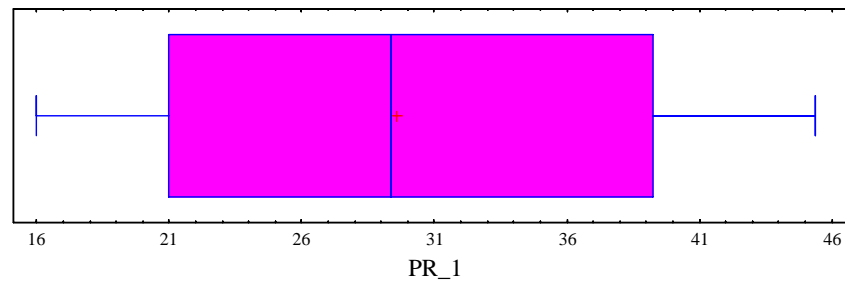
Ergebnisse – Fa. 3



Quantile Plot for PR_1

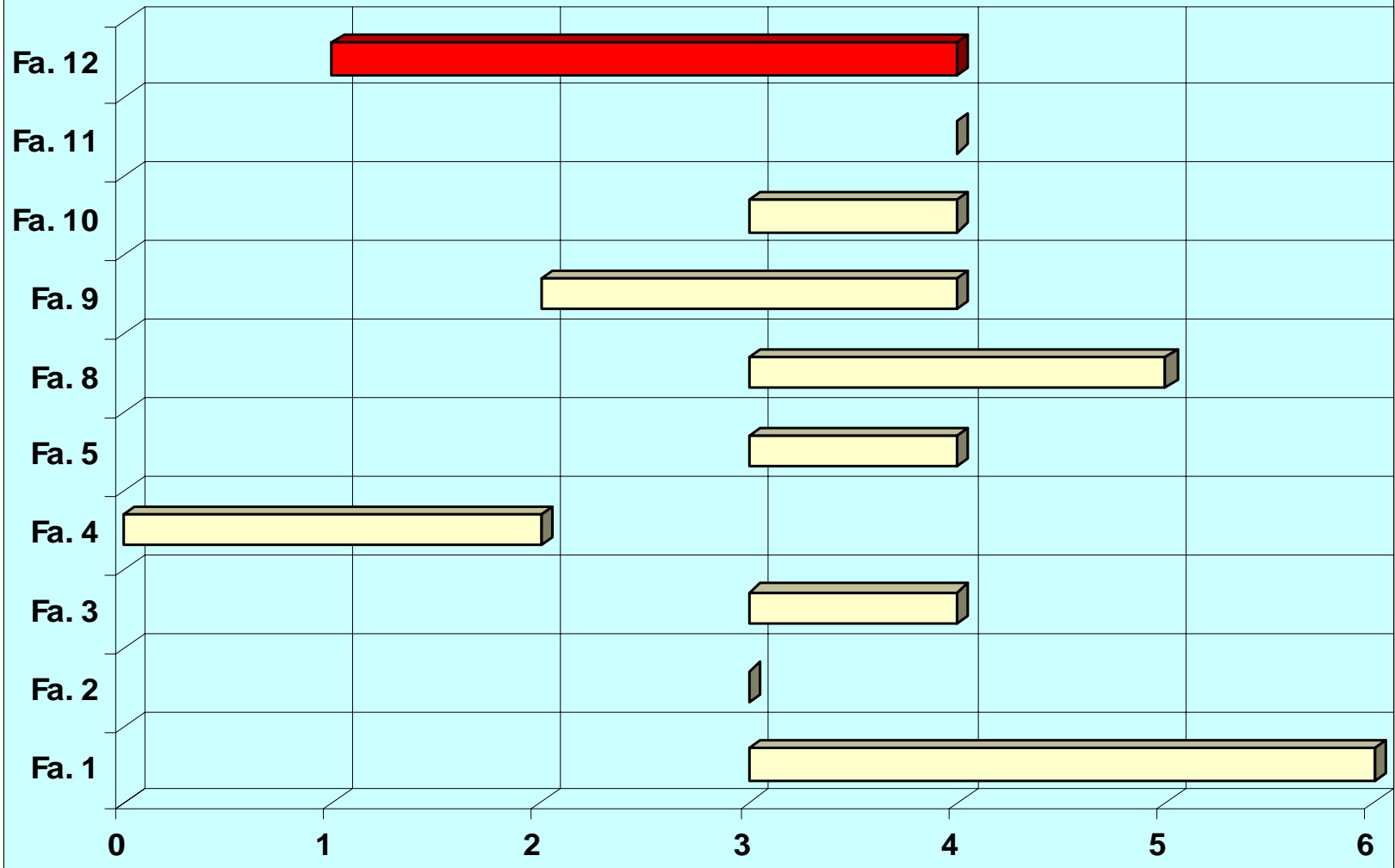


Box-and-Whisker Plot



Ergebnisse

**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [RAST-classes] - high level**

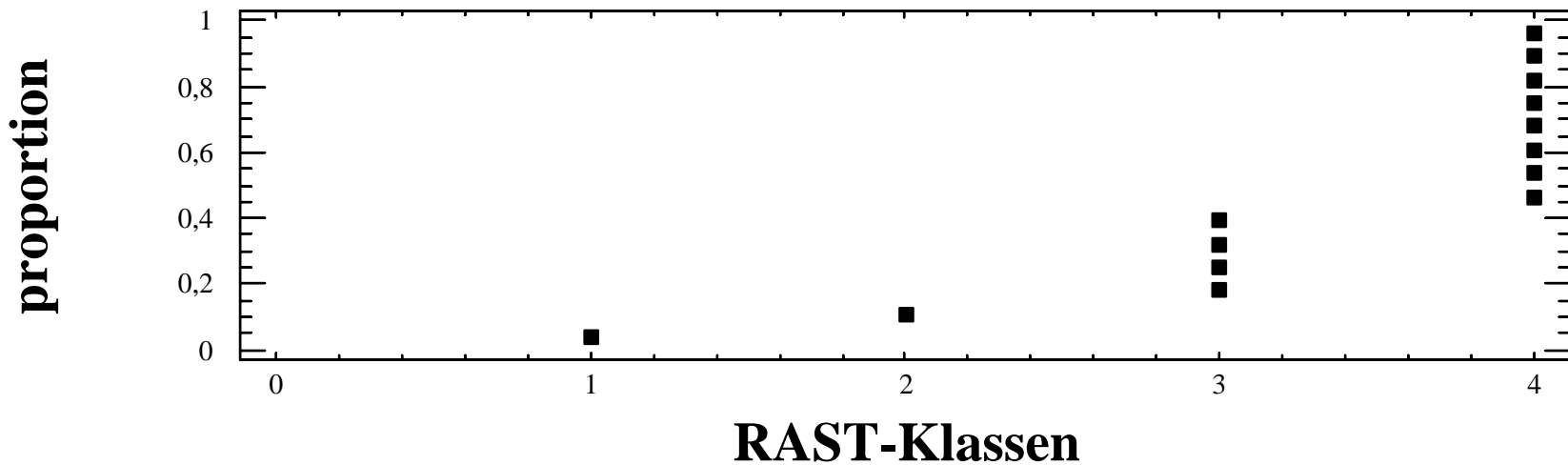


Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies

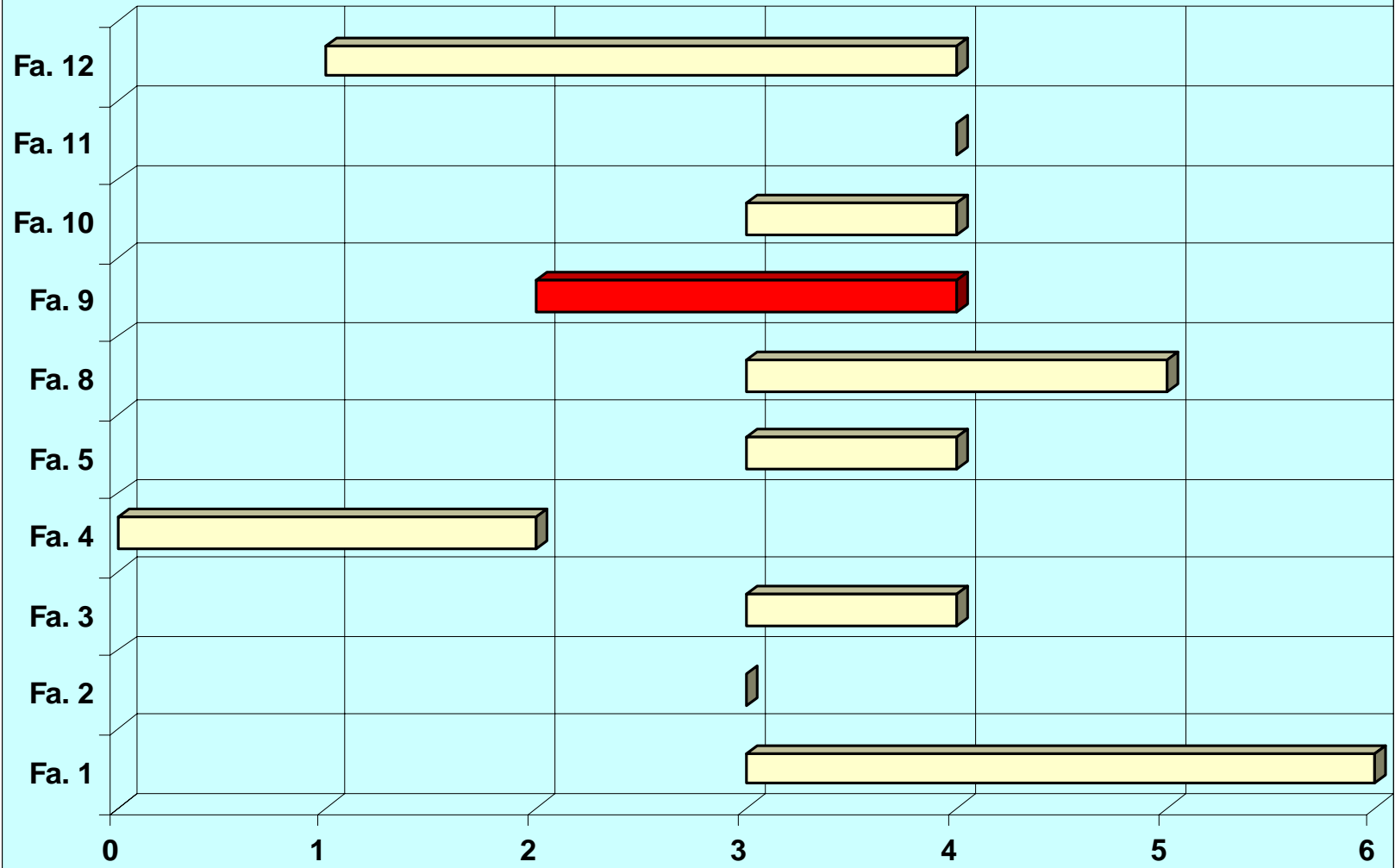
bee (i01) [RAST-classes] - high level

Quantile Plot für Fa. 12 - spez. IgE gegen Biene (i01) [RAST-Klassen]



Ergebnisse

**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [RAST-classes] - high level**

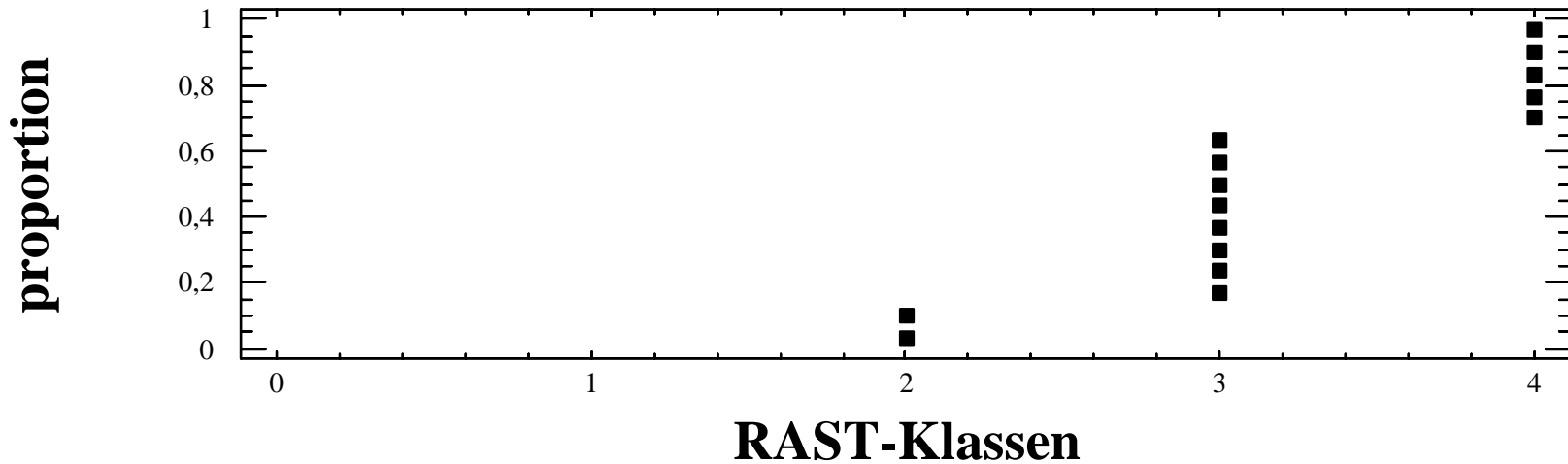


Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies

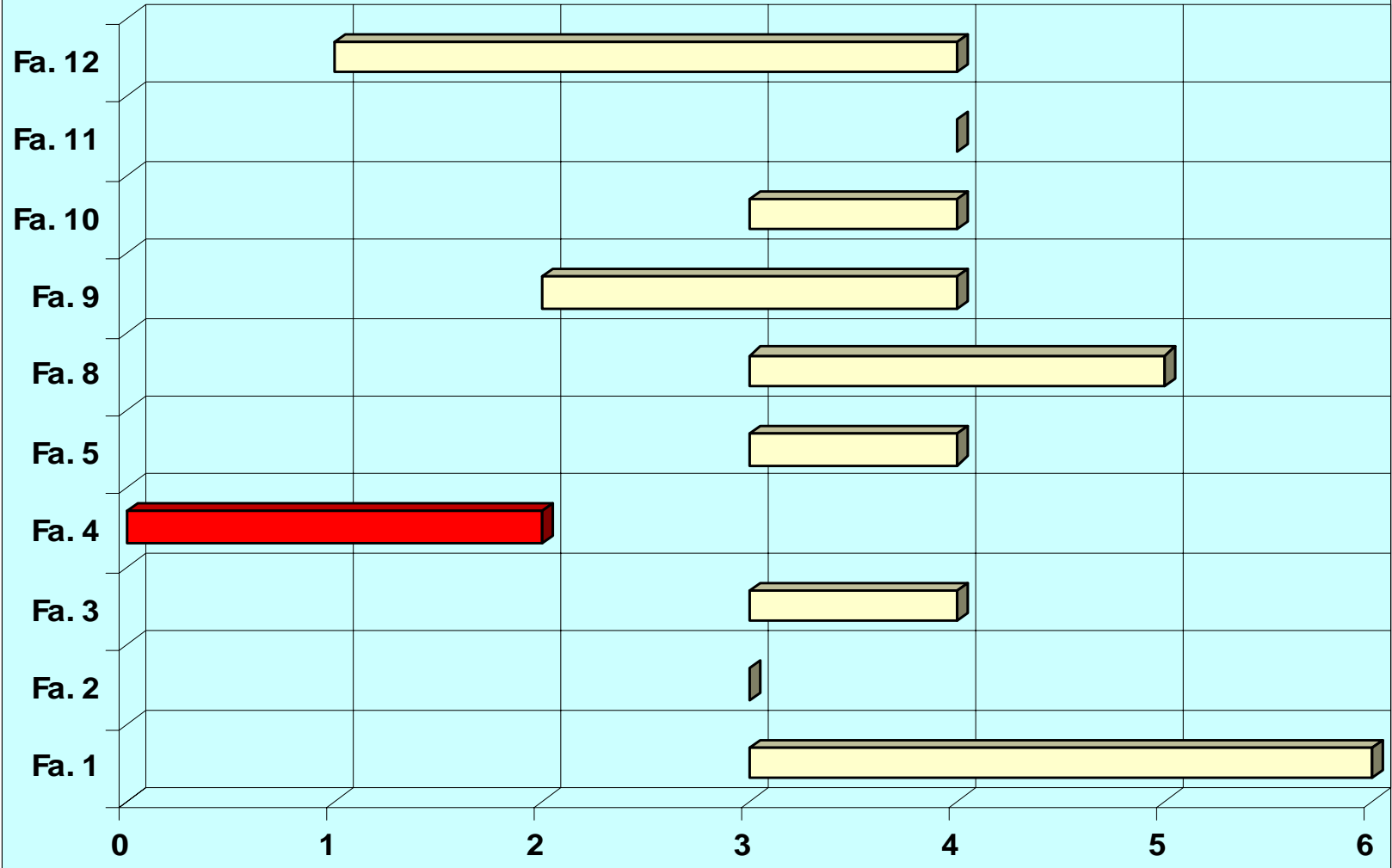
bee (i01) [RAST-classes] - high level

Quantile Plot für Fa. 9 - spez. IgE gegen Biene (i01) [RAST-Klassen]



Ergebnisse

**RV 2-08 data of the companies
bee (i01) [RAST-classes] - high level**

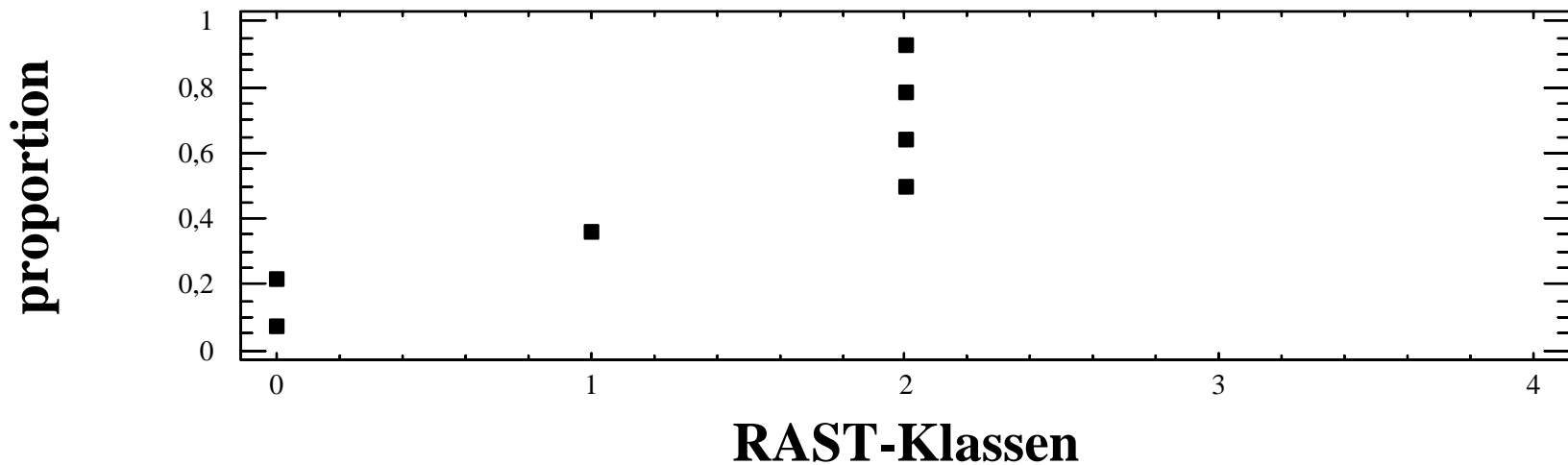


Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies

bee (i01) [RAST-classes] - high level

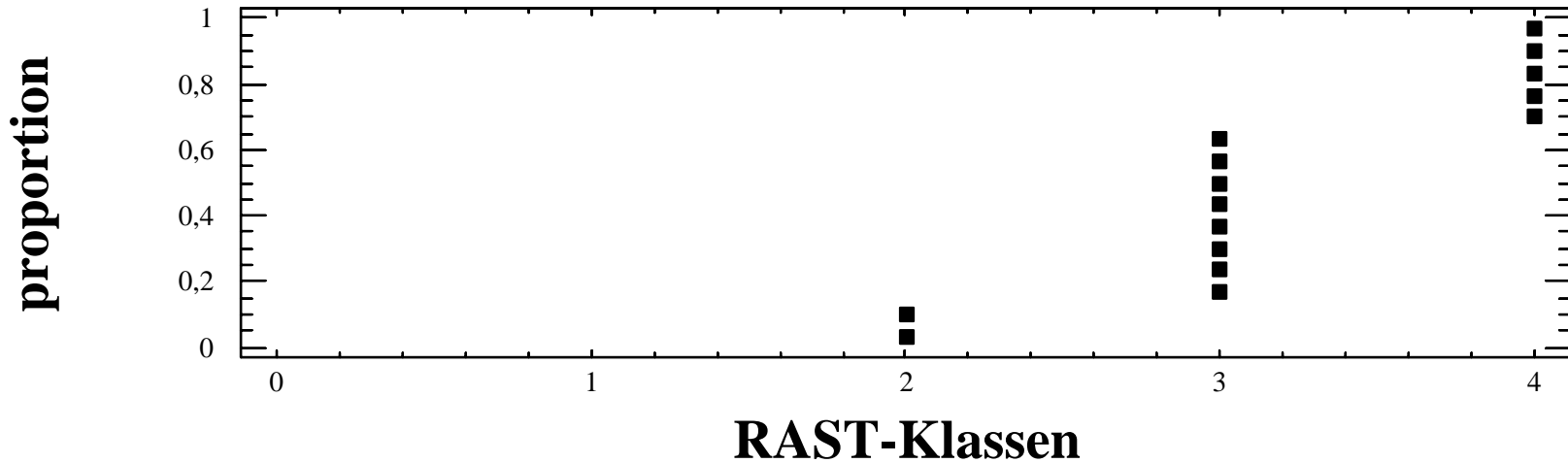
Quantile Plot für Fa. 4 - spez. IgE gegen Biene (i01) [RAST-Klassen]



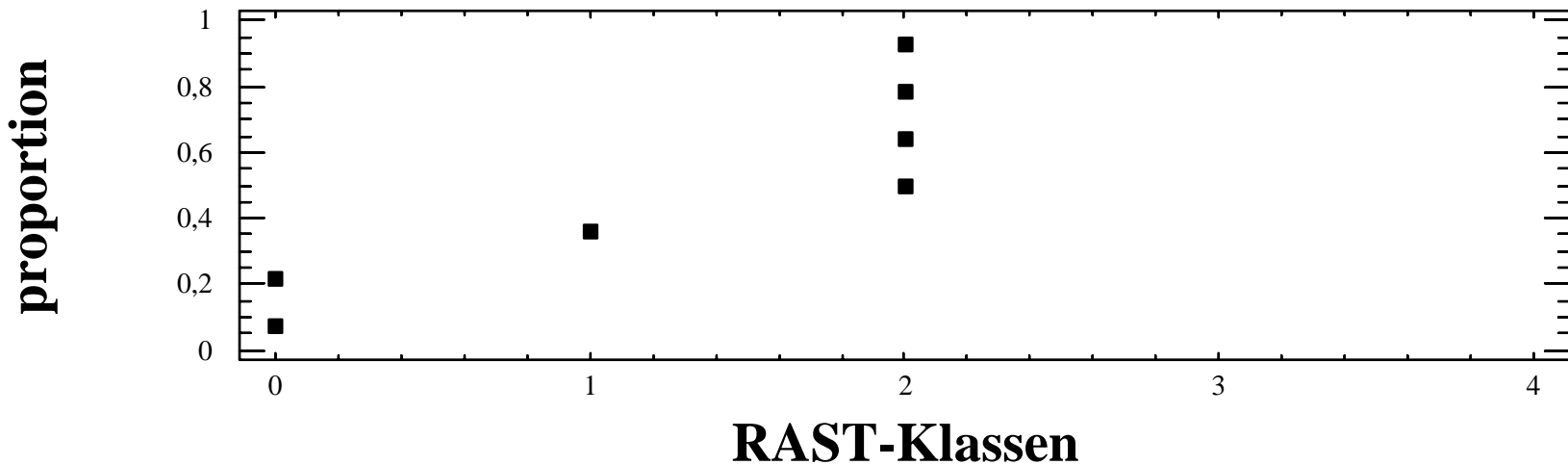
Ergebnisse

RV 2-08 data of the companies - bee (i01) [RAST-classes] - high level

Quantile Plot für Fa. 9 - spez. IgE gegen Biene (i01) [RAST-Klassen]

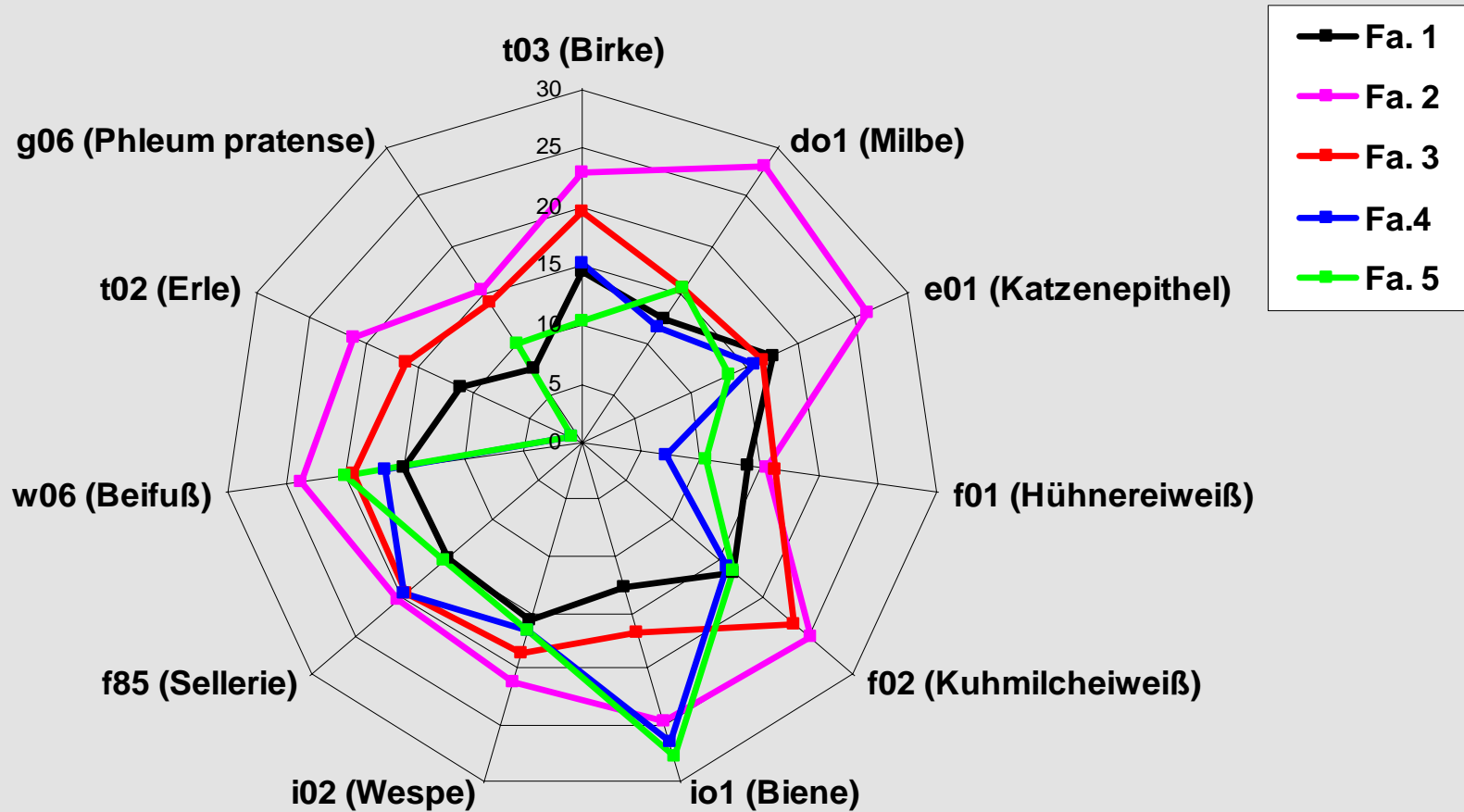


Quantile Plot für Fa. 4 - spez. IgE gegen Biene (i01) [RAST-Klassen]



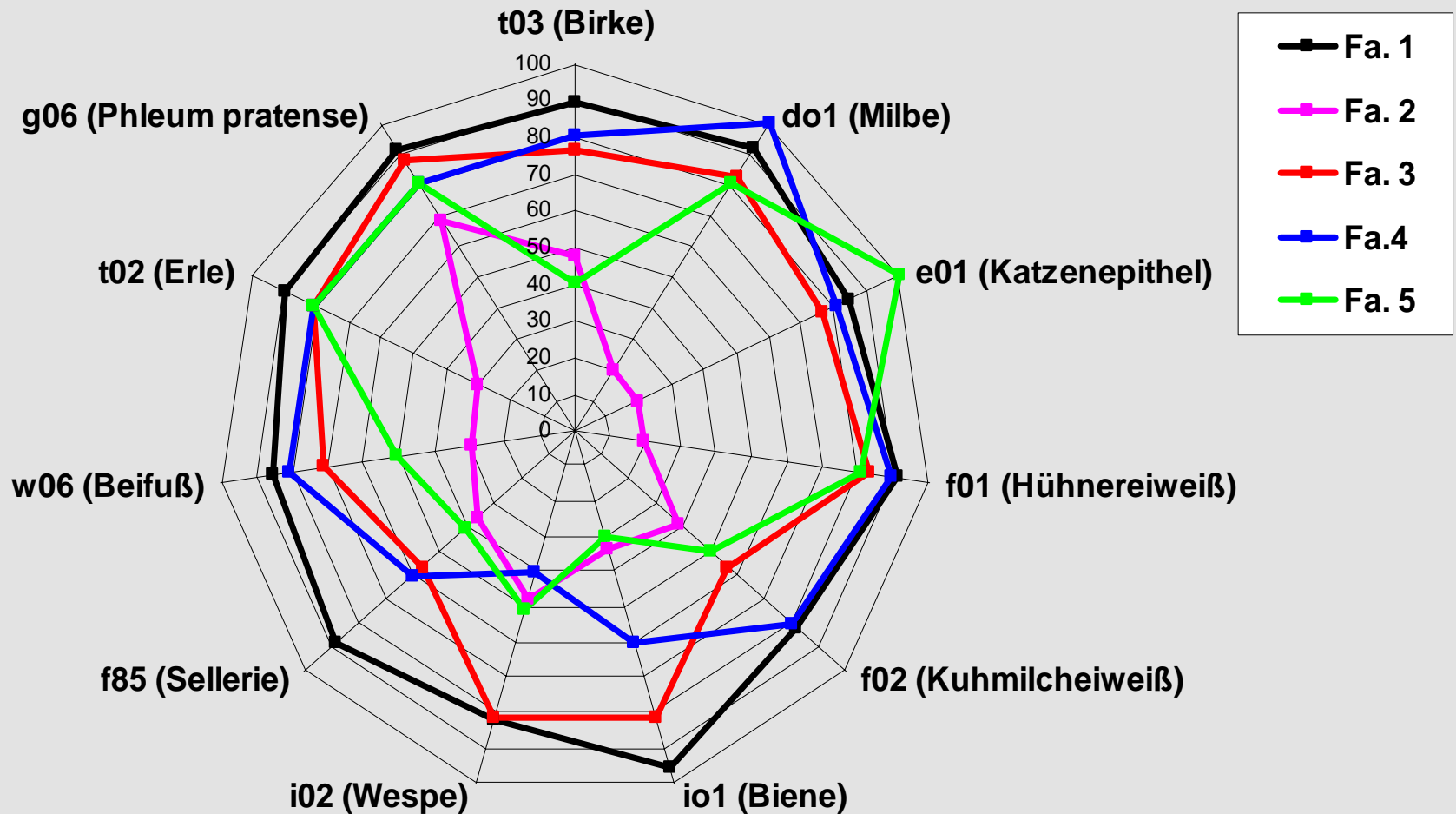
Ergebnisse

RV Allergie 2-08 - spez. IgE (kU/l) - Vergleich der Variationskoeffizienten



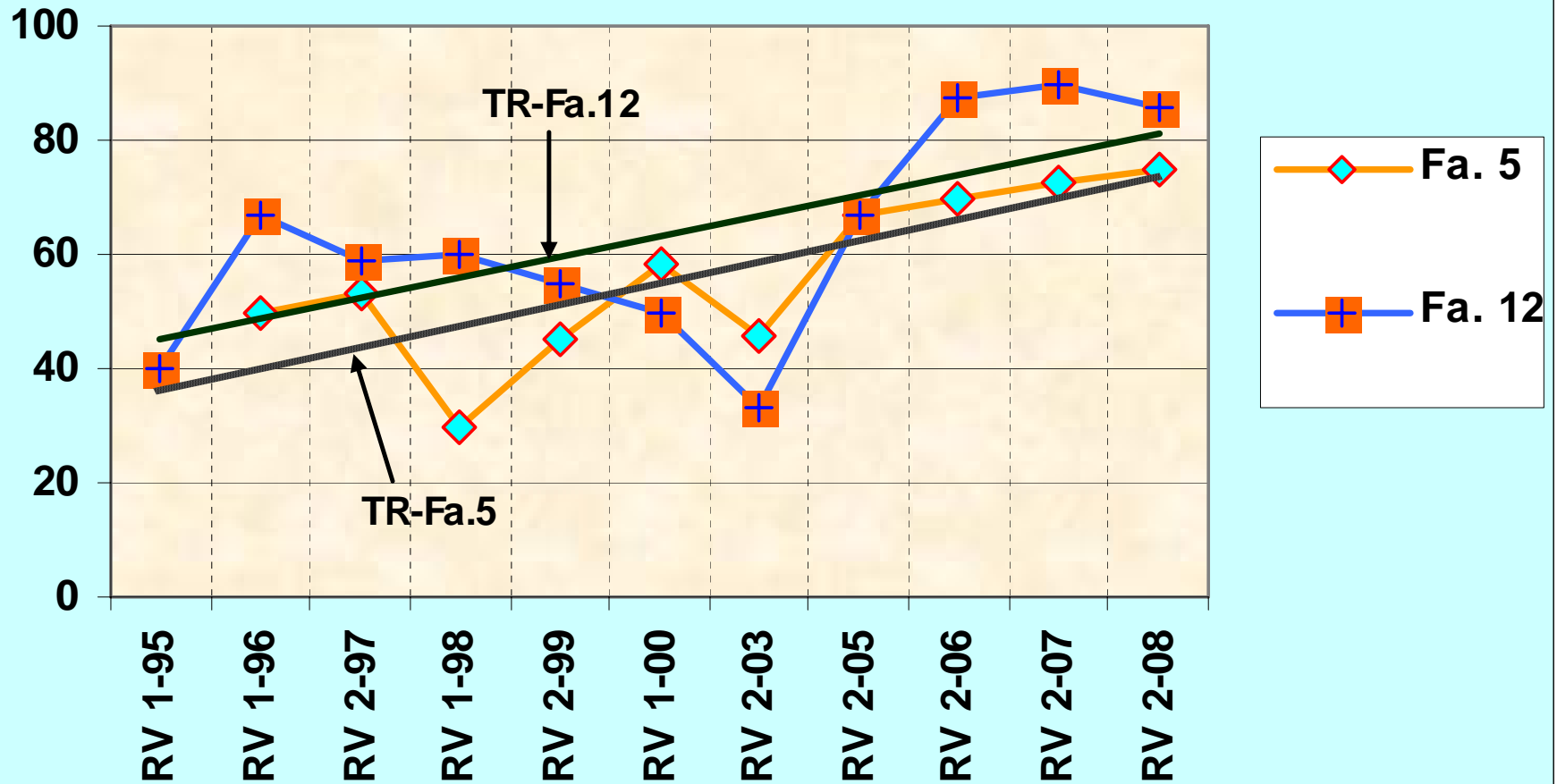
Ergebnisse

RV Allergie 2-08 - spez. IgE (kU/l) - % akz. Werte



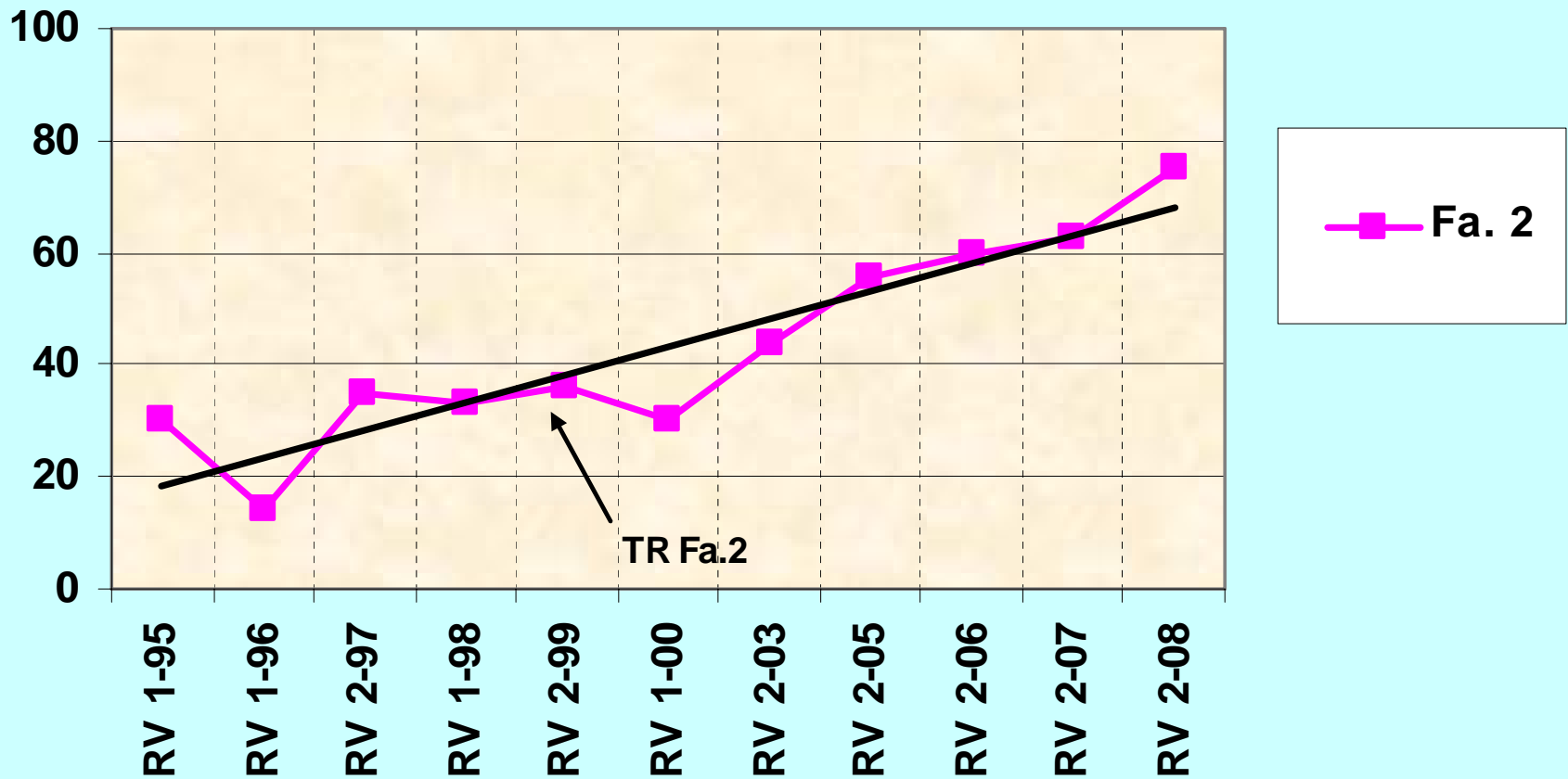
Ergebnisse

% - acceptable data- bee (i01) - high level



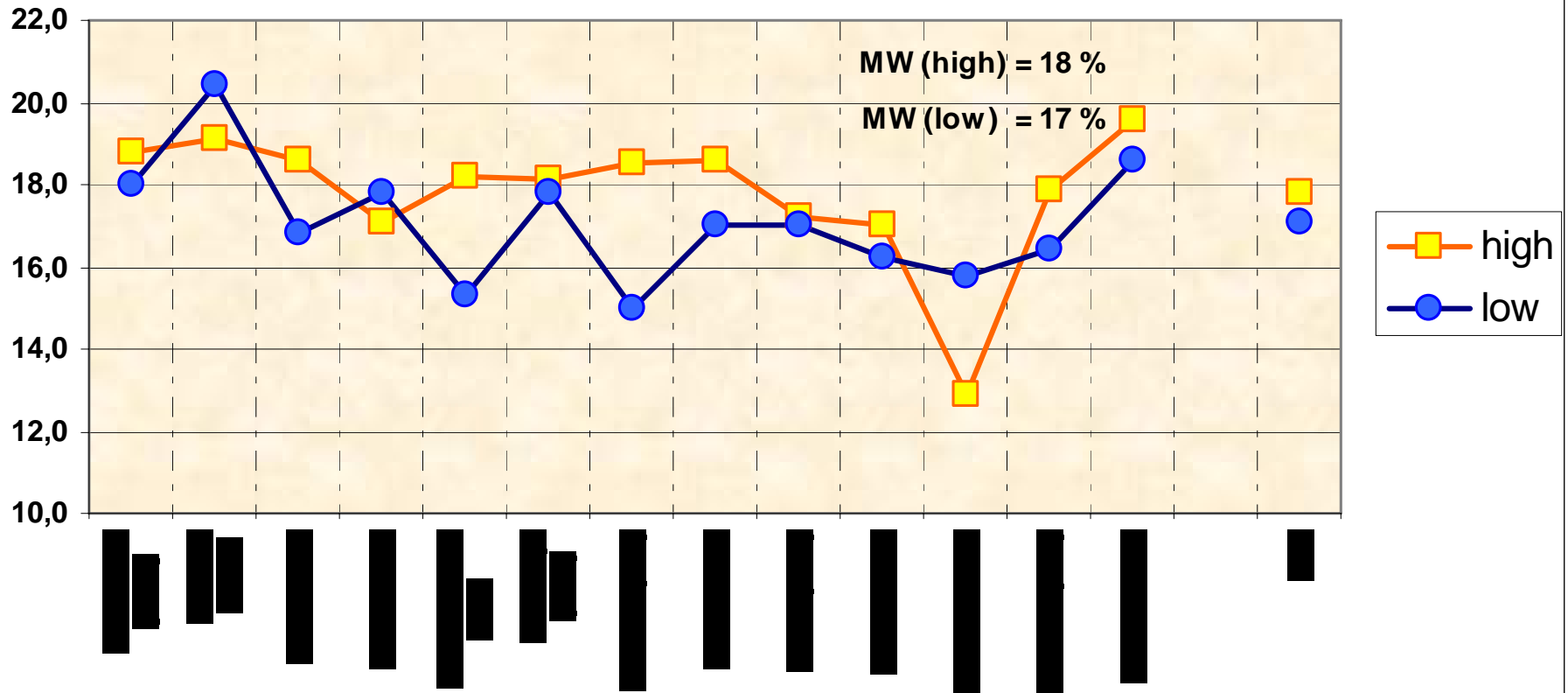
Ergebnisse

% - acceptable data- bee (i01) - high level



Ergebnisse

Gesamt-VK (MW) - Vergleich 1/95 - 3/08



	VK=12%	VK=15%	VK=18%	VK=20%		
MW= 0,5 kU/l	0,06	0,075	0,09	0,1		RAST-Klasse 1
plus	0,56	0,58	0,59	0,6		(0,35 -0,7 kU/l)
minus	0,44	0,43	0,41	0,4		
MW= 2 kU/l	0,24	0,3	0,36	0,4		RAST-Klasse 2
plus	2,24	2,3	2,36	2,4		(0,7 -3,5 kU/l)
minus	1,76	1,7	1,64	1,6		
MW= 13 kU/l	1,56	1,95	2,34	2,6		RAST-Klasse 2
plus	14,56	14,95	15,34	15,6		(3,5 - 17,5 kU/l)
minus	11,44	11,05	10,66	10,4		
MW= 15 kU/l	1,8	2,25	2,7	3		RAST-Klasse 2
plus	16,8	17,25	17,7	18		(3,5 - 17,5 kU/l)
minus	13,2	12,75	12,3	12		

Schlußfolgerungen/ Konsequenzen

1. Die Ergebnisse der Ringversuche zeigen deutlich, dass eine Qualitätsverbesserung auf zwei Ebenen stattfinden muss:

- **Verbesserung der Qualität der Methodendurchführung in den Laboratorien und Arztpraxen**

Ziel: Verbesserung der Vergleichbarkeit innerhalb der Firmenkollektive und damit Verbesserung der Zuverlässigkeit bei der Bestimmung IgE-spezifischer Antikörper

Weg: verpflichtende QK - intern und extern

- **Verbesserung der Vergleichbarkeit der Reagenzien- und –Gerätesysteme der Hersteller.**

Schlußfolgerungen/ Konsequenzen

Die unterschiedlichen Wertelagen der spezifischen IgE-Bestimmungen bei verschiedenen Herstellern werden u.a. auch bestimmt durch

Kalibration der Firmen - eigenen Standards
am IgE – WHO - Standard

bei der Erstellung der Firmen - eigenen Referenzsysteme.

Ein Einsatz von am IgE-WHO-Standard kalibrierten firmeneigenen Referenzsystemen kann eine Angleichung der Ergebnisse, die mit verschiedenen Analysensystemen (Reagenzien und Geräte) erzielt werden, besser ermöglichen.

Schlußfolgerungen/ Konsequenzen

Auch bei Kalibrierung der firmeneigenen Standards am WHO - Standard durch alle Firmen wird eine generelle Vergleichbarkeit auch dann nur bedingt möglich sein.

Wesentliche Gründe dafür vor allem:

Schlußfolgerungen/ Konsequenzen

- die zur Herstellung verwendeten unterschiedlichen Rohstoffe
- die firmenabhängige unterschiedliche Allergenextraktherstellung
- die unterschiedliche Standardisierung der Allergenextrakte
- der Einfluss unterschiedlicher Kopplungen der Allergene (adsorptiv, kovalent) an die Allergenträger
- der Einsatz von unterschiedlichen Allergenträgern (chemisch aktivierte Papierscheibe, Mikrotiterplatte, CAP)
- die Verwendung von Flüssigallergenen
- der Einsatz unterschiedlicher Detektionsmöglichkeiten (FEIA, ELISA, RIA).

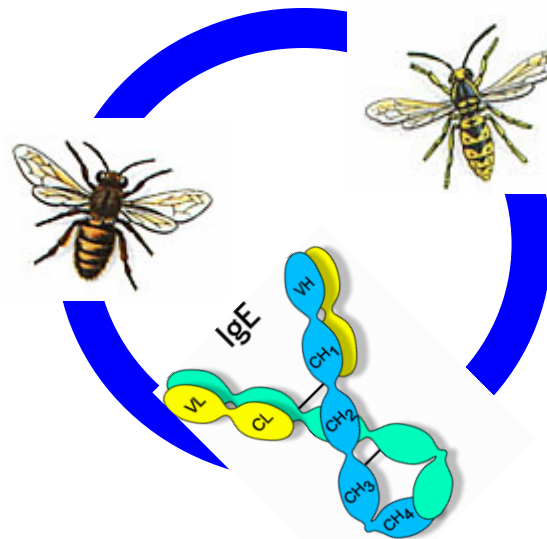
Schlußfolgerungen/ Konsequenzen

Verbesserung der Qualität der *in vitro* Allergiediagnostik durch Herstellung rekombinanter Allergene und Antikörper

„Standardisierung der *in vitro*-Allergie-Diagnostik“

Herstellung von IgE - Antikörpern bzw. IgE - Antikörperkonstrukten zur Standardisierung der Allergie-Diagnostik

HS Anhalt (IBAS)
INSTAND e.V.



Universität Hamburg
Universität München
PLS Design GmbH

„Standardisierung der *in vitro*-Allergie-Diagnostik“

Zielsetzung:

**Herstellung standardisierter humaner Seren,
die definierte Konzentrationen
Allergen-spezifischer IgE- bzw. IgG4 - Antikörper
enthalten.**

Herstellung und Produktion rekombinanter IgE – AK

- Immunisierung eines Organismus
- Klassische Hybridoma-Erstellung
- Selektion der monoklonalen Antikörper
- Klonierung der Antikörpergene
- Rekombinante Expression als chimäre humane IgE-Antikörper
- Testung in unterschiedlichen Assay-Formaten

Die Verfügbarkeit definierter und reproduzierbarer Standardseren wird eine grundlegende Verbesserung der Qualitätssicherung der Allergie *in vitro* - Diagnostik erlauben.

Danke für Ihre Aufmerksamkeit