

Allergologische in-vitro-Diagnostik

Rationales Testspektrum für die Primärdiagnostik

Die **Allergiediagnostik** beinhaltet vier Schritte, die aufeinander aufbauen und sich gegenseitig ergänzen:

- Anamnese
- Hauttests
- Labortests
- Provokationstests

Ziel ist es, Beschwerden einem klinischen Krankheitsbild zuzuordnen und den Auslöser (Allergen) zu ermitteln.

Grundlegend und unverzichtbar ist eine sorgfältige Anamnese. Hinweisende Symptome führen zu einer Verdachtsdiagnose, aus der sich dann die Wahl der Testverfahren ergibt. Bei der Interpretation von Hauttests oder Laborbefunden ist eine Abgrenzung krankheitsrelevanter von klinisch nicht bedeutsamen Befunden wichtig. Blindes Screening von nicht erkrankten Menschen ist nicht sinnvoll und kann zu ungerechtfertigten Konsequenzen führen.

In-vitro-Diagnostik

Labortests sind ein **wichtiger Bestandteil der allergologischen Diagnostik**. Im Unterschied zu klinischen Testverfahren bieten sie den Vorteil einer genaueren Kontrolle von Sensitivität und Spezifität, belasten Patienten weniger und vermeiden bei hochgradiger Sensibilisierung deren Gefährdung. Labortests analysieren nur einen Teilbereich der allergischen Reaktionskaskade und erlauben keine zuverlässige Aussage über die Aktualität einer Sensibilisierung. Die klinische Relevanz von Testergebnissen kann nur unter Berücksichtigung der Anamnese und evtl. weiterer diagnostischer Ergebnisse beurteilt werden.

Die klinisch wichtigste in-vitro Untersuchung ist die Bestimmung von **allergen-spezifischen IgE-Antikörpern** im Blut. IgE-Antikörper sind Immunglobuline, die gegen bestimmte Antigene gerichtet sind und vor allem bei der Auslösung von Sofortreaktionen, aber auch bei anderen Entzündungsreaktionen eine Rolle spielen.

Eine Untersuchung auf Gesamt-IgE oder spezifische IgE-Antikörper ist als Suchtest zum "Atopiescreening" ungeeignet. Die Auswahl der Allergene sollte gezielt entsprechend der Anamnese erfolgen. Das **Gesamt-IgE** kann als zusätzlicher Parameter zur Beurteilung der spezifischen IgE-Werte dienen, kann jedoch eine spezifische Sensibilisierung weder ausschließen noch nachweisen.

Außerhalb der Allergologie besitzt das Gesamt-IgE vor allem bei der Diagnostik von Parasitosen und Immundefekten eine Bedeutung.

Der überwiegende Teil allergischer Erkrankungen lässt sich mit einem Grundspektrum von nur wenigen, häufigen Allergenen abklären. Entsprechend haben wir verschiedene Anforderungscheine zur in-vitro-Allergiediagnostik zusammengestellt (s. u.)



Gräserpollen

Gräser (und Getreide) sind phylogenetisch eng untereinander verwandt, ihre Pollen weisen ein nahezu identisches Allergenspektrum auf. Der Hauptpollenflug erfolgt zwischen Mai und August, kann jedoch je nach örtlichen Gegebenheiten und Temperaturentwicklung schwanken.

Bei einer vermuteten Gräserpollenallergie (saisonale Rhinokonjunktivitis und auch Asthma) genügt es daher auf ein Gräserpollengemisch oder ein einzelnes Gras, z. B. Lieschgras, zu testen.

Liegt eine Polysensibilisierung vor und ist eine spezifische Immuntherapie geplant, sollte zusätzlich auf Allergenkomponenten getestet werden. Eine Sensibilisierung gegen die spezies-spezifischen Allergenkomponenten rPhl p 1 und rPhl p 5 b ist für die Immuntherapie relevant. Liegt lediglich eine Sensibilisierung gegen kreuzreaktive Panallergene wie z. B. Profilin oder kreuzreaktive Kohlenhydratdeterminanten (CCD) vor, ist eine Immuntherapie nicht sinnvoll.



Baumpollen

In Nord- und Mitteleuropa sind Birkenpollen das bedeutendste Allergen und Hauptverursacher einer Sensibilisierung, die mit allergischer Rhinokonjunktivitis und auch Asthma einhergeht. Der Hauptpollenflug, örtlich und temperaturabhängig schwankend, ist von Februar bis April.

Nahezu alle Birkenpollenallergiker sind gegen das Hauptallergen Bet v 1 sensibilisiert. Häufig findet man Sensibilisierungen gegen Pollen von Bäumen, die mit der Birke eng verwandt sind wie z. B. Erle, Hasel und Hainbuche, die sehr ähnliche Bet v 1-homologe Allergene tragen. Homologe Proteine zu Bet v 1 sind im Pflanzenreich weit verbreitet, z. B. in anderen Baumpollen, Früchten, Gemüsen, Nüssen und Leguminosen. Dies erklärt die Kreuzreaktivität über botanische Grenzen hinweg.

Über 50 % aller Birkenpollenallergiker haben eine Pollenassoziierte-Nahrungsmittelallergie (Kern- und Steinobst, Nüsse u. a.). Klinisch äußert sich dies meist als orales Allergiesyndrom (OAS), schwere systemische Reaktionen können jedoch vorkommen. Da Bet v 1-Homologe in der Regel hitze- und verdauungs-labile Allergene sind, werden erhitzte Zubereitungen meist vertragen.



Kräuterpollen

Allergologisch am bedeutsamsten ist Beifuß. Beifußpollen gehören mit zu den Pollinosis-auslösenden Allergenen. Darüber hinaus sind Beifußpollen ein wichtiges Leitallergen für nutritive Allergien gegen Gewürze (Beifuß-Sellerie-Karotten-Gewürz-Syndrom). Die Symptome der Beifußassoziierten Nahrungsmittelallergie sind sehr variabel und häufiger mit schweren anaphylaktischen Reaktionen verbunden.

Zunehmend an Bedeutung gewinnt das ursprünglich in Nordamerika heimische Traubenkraut (=Ambrosie/Ragweed). Ragweedpollen sind in den USA die häufigsten Auslöser inhalativer Allergien. Auch in Europa und Deutschland breitet sich das Unkraut immer mehr aus.



Hausstaubmilben

Hausstaub ist ein wenig definiertes Gemisch, dessen Zusammensetzung je nach Haushalt erheblich variieren kann. Die wichtigsten krankmachenden Allergene sind die Hausstaubmilben, in Deutschland vorwiegend die Gattung *Dermatophagoides*. Hausstaubmilben sind natürlicher Bestandteil fast jeden Hausstaubes. Sie entwickeln sich am besten bei hoher Luftfeuchtigkeit (65-80 %) und Temperaturen von 20-30 °C, also vor allem in Betten, dichten Teppichen, Polstern, Stofftieren oder Liegeplätzen von Haustieren.

Eine Hausstaubmilbenallergie äußert sich meist in perennialen, während der Heizperiode verstärkten Beschwerden wie Rhinokonjunktivitis, Asthma und Exazerbation einer atopischen Dermatitis. Das Hauptallergen, eine Cystein-Protease, ist in den Kotbällchen der Milben enthalten. Zwischen den Hausstaubmilben besteht eine hohe Kreuzreaktivität, ebenso zu Vorratsmilben. Eine Sensibilisierung gegen das hitzestabile Tropomyosin der Milben (Der p 10) ist aufgrund der Proteinhomologie ein wichtiges kreuzsensibilisierendes Panallergen der Wirbellosen und verantwortlich für die Kreuzreaktivität zwischen Hausstaubmilben, Krustentieren, Insekten und Weichtieren.



Insektengift

Durch Stiche von unterschiedlichen Insektenarten können gesteigerte örtliche oder systemische Überempfindlichkeitsreaktionen ausgelöst werden. Die häufigsten systemischen Reaktionen werden durch Bienen- oder Wespenstiche verursacht.

Die Diagnostik umfasst die Anamnese mit Bewertung des Schweregrades der systemischen Reaktion (I-IV), den Prick- und Intrakutantest mit ansteigenden Hymenopterenkonzentrationen zur Bestimmung der Reaktionsschwelle und den Nachweis spezifischer IgE-Antikörper möglichst in der ersten Woche und mehrere Wochen nach dem Stichereignis.

Liegt eine Doppelsensibilisierung vor, ist eine weitere Abklärung durch Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper gegen rekombinante spezie-spezifische Allergenkomponenten (rApi m 1 und rVes v 5) möglich. Bei unklaren oder diskrepanten Befunden kann als Zusatztest der Basophilen-Stimulationstest (CAST®) hilfreich sein.

In jedem Fall sollte in ausreichendem zeitlichem Abstand nach einer systemischen Reaktion die basale Tryptasekonzentration im Serum zur Abklärung einer evtl. noch undiagnostizierten Mastozytose bestimmt werden. Bei Vorliegen einer Mastozytose wird eine lebenslange Immuntherapie empfohlen.



Tierepithelien

Tierallergien sind häufig. Der Allergenkontakt erfolgt entweder über direkten Hautkontakt oder über Inhalation von Partikeln, denen die Allergene anhaften. Im privaten Umfeld sind es vor allem Allergien gegen Haustiere (Hund, Katze, Pferd, Meerschweinchen etc.), im beruflichen Umfeld gegen Nutztiere (Kühe, Schweine etc.) oder evtl. Labortiere.

Das zu testende Spektrum richtet sich nach dem anamnestisch eruierten Tierkontakt. Da Tierallergene aber auch an der Kleidung der Tierbesitzer haften, können sie an andere Orte transportiert werden und Symptome

bei Allergikern auslösen, die selbst keine Tiere halten. Es ist auch zu beachten, dass es über Kleidungsstücke und Einrichtungsgegenstände zu allergischen Symptomen kommen kann, z. B. Rosshaarmatratze, Kleidungsstücke oder Teppiche aus Tierfell. Serumalbumin ist ein wichtiges Allergen, welches für Kreuzreaktivitäten von entfernt verwandten Tierarten verantwortlich sein kann. Es gibt jedoch auch Sensibilisierungen gegen ein individuelles Tier bzw. auch rassenspezifische Sensibilisierungen.



Schimmelpilze

Bei Verdacht auf Schimmelpilzallergien liefert die in-vivo- wie auch die in-vitro-Diagnostik oft unbefriedigende Ergebnisse. Im Rahmen des diagnostischen Grundspektrums stehen ubiquitäre Schimmelpilzallergene von *Alternaria*-, *Cladosporium*-, *Penicillium*- und *Aspergillus*-Spezies im Vordergrund. Weitere Pilzsporenallergene sind meist an bestimmte Örtlichkeiten oder Tätigkeiten (Beruf/Hobby) gebunden.

Schimmelpilzallergien können sich klinisch in unterschiedlichen Symptomen äußern, wobei *Aspergillus*- und *Alternaria*-Spezies die größte Bedeutung zukommt. Typ I-Allergien äußern sich vorwiegend als allergische Rhinitis oder Asthma. Nutritive Typ I-Allergien können durch Kontamination von Nahrungsmitteln mit Schimmelpilzen ausgelöst werden aber auch durch Schimmelpilzkomponenten wie z. B. Enzyme, die bei der Nahrungsmittelverarbeitung eingesetzt werden.



Nahrungsmittel

Als Nahrungsmittelallergien bezeichnet man Unverträglichkeiten gegenüber Nahrungsmitteln auf immunologischer Basis. Bei Nahrungsmittelintoleranzen und Pseudoallergien fehlen immunologische Ursachen und sie werden häufiger durch Nahrungsmittelzusatzstoffe ausgelöst. Die Diagnostik kann schwierig sein, da Nahrungsmittel in rohem oder gekochtem Zustand unterschiedlich allergen sein können, Kreuzreaktionen vorkommen und Nahrungsmittel häufig nicht in nativem Zustand gegessen werden. Symptome einer Nahrungsmittelallergie können unterschiedlich sein. Es kann zum Oralen-Allergie-Syndrom, Hautreaktionen, gastrointestinalen Symptomen, Rhinitis und Asthma oder zu anaphylaktischen Reaktionen kommen. Bei Kindern sind Kuhmilch, Hühnereiweiß, Erdnüsse, Weizen, Soja, Nüsse und Fisch die wichtigsten Allergene. Etwa ¾ der Kinder verlieren ihre Allergie bis zum Schulalter wieder. Bei Erwachsenen, deren Nahrungsmittelallergien meist lebenslang bestehen

Schimmelpilze, besonders *Aspergillus fumigatus*, können darüber hinaus Typ III(-IV) Allergien auslösen wie die exogene allergische Alveolitis (EAA). Die in-vitro-Diagnostik erfolgt bei der EAA über die Bestimmung allergen-spezifischer IgG-Antikörper.

Eine besondere Form ist die allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA), eine kombinierte allergische Typ I und Typ III-IV Reaktion auf *Aspergillus fumigatus*. Diese besondere Form kommt v. a. als Sekundärerkrankung bei Mukoviszidose vor oder auch bei langjährigem steroidpflichtigem Asthma bronchiale. Bei der ABPA findet man ein deutlich erhöhtes Gesamt IgE und spezifische IgE- und IgG-Antikörper gegen *Aspergillus fumigatus*. Fast alle Patienten mit ABPA haben spezifische IgE-Antikörper gegen mindestens eines der rekombinanten Aspergillusantigene rAsp f 2, f 4, f 6 (Spezifität 100 %). Die Höhe dieser Antikörper korreliert mit der Krankheitsaktivität und eignet sich daher für Verlaufskontrollen.

bleiben, sind Allergien gegen Hühnereiweiß, Kuhmilch, Fisch, Krustentiere, Erdnüsse, Nüsse und Ölsaaten und die pollenassoziierten Nahrungsmittelallergien am häufigsten. In vielen pflanzlichen Nahrungsmitteln finden sich Allergene, die den Allergenen in Birken- und Gräserpollen ähnlich sind. Bei der Diagnostik von Nahrungsmittelallergien stehen die Anamnese und das Führen eines Nahrungsmitteltagebuches an erster Stelle. Weitere Hinweise können sich aus Hauttests, Prick-zu-Prick Tests und durch Nachweis spezifischer IgE-Antikörper auch gegen definierte Allergenkomponenten ergeben. Häufig führt jedoch erst die kontrollierte Provokation nach einer Ausschlussdiät zur Klärung.

IgG-Antikörper gegen Nahrungsmittel sind nach aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen nicht als Indikator für krank machende Vorgänge geeignet und zur Abklärung von Nahrungsmittelallergien abzulehnen (Positionspapier der EAACI 2009).



Arzneimittel

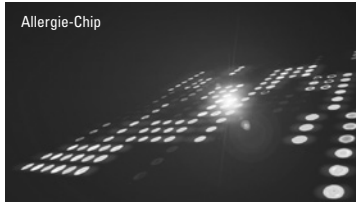
Arzneimittel sind neben Nahrungsmitteln und Insektenstichen die häufigste Ursache anaphylaktischer Reaktionen. Überempfindlichkeitsreaktionen auf Arzneimittel sind individuelle, nicht durch die pharmakologische Wirkung alleine zu erklärende Unverträglichkeitsreaktionen. Sie können auf einer spezifischen immunologischen Sensibilisierung beruhen oder nicht-immunologisch ausgelöst sein. Beruht die Überempfindlichkeitsreaktion auf einer immunologischen Reaktion, wird der Begriff Allergie verwendet.

Zur Erkennung der Auslöser von Überempfindlichkeitsreaktionen stehen Anamnese, Haut-, Provokations- und in-vitro-Tests zur Verfügung. Geeigneter Zeitpunkt für in-vitro-Tests sind 4 Wochen bis 6 Monate nach einem Ereignis. Validierte Tests zum Nachweis spezifischer IgE-Antikörper stehen nur für wenige

Arzneistoffe (vor allem β -Laktam Antibiotika) zur Verfügung. Andere immunologische Verfahren wie der Basophilen-Aktivierungstest sind in ausgewählten Fällen für die klinische Diagnostik anwendbar.

Die Interpretation der Ergebnisse von in-vitro-Tests ist nur in Zusammenhang mit Anamnese und in-vivo-Tests möglich. Ein sicherer Nachweis oder Ausschluss einer Arzneimittel-überempfindlichkeit alleine auf der Basis von in-vitro-Tests ist nicht möglich. Das klinische Spektrum von Arzneimittelreaktionen ist vielfältig z. B. Anaphylaxie, Urtikaria, Angioödem oder exanthematische Spätreaktionen. In ausreichendem zeitlichen Abstand nach einer anaphylaktischen Reaktion ist zusätzlich die Bestimmung der Tryptase im Serum sinnvoll, um eine bisher nicht bekannte Mastozytose auszuschließen.

Komponenten-basierte und molekulare Allergiediagnostik



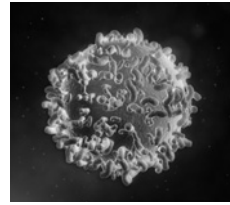
Neben den aus natürlichen Allergenquellen hergestellten Extrakten werden seit wenigen Jahren auch hoch aufgereinigte oder rekombinant d.h. mittels biotechnologischer Verfahren hergestellte **Allergenkomponenten** für die in-vitro-Diagnostik eingesetzt. Die Komponenten-basierte Allergiediagnostik kann besonders bei polysensibilisierten Patienten wertvolle Zusatzinformationen liefern und ermöglicht die Differenzierung einer tatsächlichen Sensibilisierung von einer Reaktion auf kreuzreaktive Komponenten. Diese verfeinerte Diagnostik ist jedoch nur sinnvoll, wenn sich daraus Konsequenzen für die Beratung und Therapie ergeben und z. B. eine spezifische Immuntherapie (SIT) in Erwägung gezogen wird.

Bei der Abklärung einer Insektengiftallergie mit Doppelsensibilisierung verbessert der Einsatz von rekombinanten Allergenen die Diagnostik. Der Nachweis spezie-spezifischer Sensibilisierungen auf Bienen- und Wespen-gift erlaubt eine bessere Abgrenzung von echter Doppelsensibilisierung gegenüber Kreuzreaktivität.

Beim Testen auf IgE-Antikörper gegen verschiedene Pollen und pflanzliche Nahrungsmittel wird deutlich, dass das Vorhandensein einer „Polysensibilisierung“ häufig auf wenige definierte kreuzreagierende Allergenkomponenten (Panallergene) zurückzuführen ist und nicht auf viele verschiedene Pollenarten und Nahrungsmittel. Die wichtigste Aufgabe bei der Abklärung von Nahrungsmittelallergien ist die Identifizierung jener Patienten, die ein hohes Risiko für systemische Reaktionen aufweisen.

Eine besondere Form der Komponenten-basierten Allergiediagnostik ist der **Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC®)**. Es handelt sich um eine miniaturisierte Immunoassay-Plattform auf der Grundlage moderner Biochip-Technologie.

Diese Technologie arbeitet ausschließlich mit hoch aufgereinigten nativen und rekombinanten Allergenkomponenten und ermöglicht die Multiplexmessung von spezifischen IgE-Antikörpern gegen 103 Allergenkomponenten. Der Chip umfasst relevante Allergenkomponenten von Nahrungsmitteln, Pollen, Tieren, Insektengiften etc. Die Detektion erfolgt mit einem Biochip-Scanner, die Auswertung mithilfe einer Mikroarray-Image-Analyse-Software. Der Test erfordert nur geringe Blutmengen und ist hilfreich bei der Erfassung komplexer Sensibilisierungsmuster bei polyvalenter Sensibilisierung.



Zelluläre Allergiediagnostik

Bei Verdacht auf eine IgE-vermittelte Allergie, unklaren diagnostischen Vorbefunden und möglicher Gefährdung von Patienten durch eine Provokation kann der Leukotrien-Freisetzungstest (**CAST®**, Cellular-Antigen-Stimulations-Test) die in-vitro-Allergiediagnostik als weiterer Baustein ergänzen. Bei diesem Test werden Leukozyten mit Interleukin 3 vorbehandelt und dann mit definierten Allergenen stimuliert. Kommt es Allergen-induziert zu einer de-novo-Synthese von Sulfidoleukotrienen in basophilen Granulozyten, können die freigesetzten Sulfidoleukotriene in einem ELISA nachgewiesen und quantifiziert werden.

Das Testverfahren ist sehr komplex und nicht zur Routinediagnostik geeignet. Mögliche Indikationen sind die Abklärung z. B. schwerer allergischer Reaktionen auf Insektenstiche oder schwerer allergischer Reaktionen auf β -Laktam-Antibiotika und anderer Arzneimittel, die mit anderen allergologischen Methoden nicht ausreichend abgeklärt werden konnten. Die Interpretation der Ergebnisse muss sehr kritisch und unter Berücksichtigung der Anamnese und evtl. vorhandener Vorbefunde erfolgen.

Anforderung von Allergiediagnostik

Zum Anfordern von Allergiediagnostik haben wir spezielle Ankreuzbelege zusammengestellt, die Sie über unseren Customer-Service Tel. 0751-502 40 bestellen können.

1. Allergie-Basisdiagnostik Kinder
2. Allergie-Basisdiagnostik Allgemein
3. Allergie-Basisdiagnostik Symptom-orientiert
4. Allergiediagnostik Komponenten-basiert

Weitere Informationen, insbesondere zu CAST® und ISAC®, mit einem Allergiefragebogen finden Sie auf unserer Homepage www.labor-gaertner.com

Untersuchungsmaterial und Abrechnung

Gesamt-IgE, spezifische IgE-Antikörper und Einzelallergenkomponenten:

1 ml Serum, Testdurchführung täglich von Mo-Fr.

EBM-Höchstwertregel vom 01.10.2009:

Der Höchstwert für die Untersuchungen 32426 (Ges.-IgE) und 32427 (spez. IgE im Einzelansatz) beträgt im Behandlungsfall (=Quartal) 65,00 € (≈ 8 Allergene).

Der Höchstwert für die Untersuchungen 32426 und 32427 beträgt in begründeten Einzelfällen bei Säuglingen, Kleinkindern und Kindern bis zum vollendeten 6. Lebensjahr im Behandlungsfall (=Quartal) 111,00 € (≈ 15 Allergene).

GOÄ: 3891 Allergenspezifisches Immunglobulin, Einzelallergentest, bis zu 10 Einzelallergene.

ISAC: 100 µl Serum, Testdurchführung alle 2-3 Wochen je nach Probenaufkommen, keine Kassenleistung.

CAST: 2 ml tagesfrisches EDTA-Blut, wegen der kritischen Präanalytik kann der Test nur nach telefonischer Rücksprache durchgeführt werden!

Literatur

Kleine-Tebbe, J. et al. In-vitro-Diagnostik und molekulare Grundlagen von IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), des Ärzteverbandes deutscher Allergologen (ÄDA), der Gesellschaft für pädiatrische Allergologie und Umweltmedizin (GPA), der Österreichischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) und der Schweizerischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (SGAI). Allergo J 2009; 18: 132-46.

Ring, J. (DAAU), Bachert, C. (DGAKI), Bauer, C.P. (GPA), Czech, W. (ÄDA). Weißbuch Allergie in Deutschland 2009, SpringerMedizin

AWMF S1-Leitlinie In-vitro-Allergiediagnostik. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 061-017, 2009

AWMF S1-Leitlinie Nahrungsmittelallergien durch immunologische Kreuzreaktionen. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 061-019, 2004. Zur Überarbeitung angemeldet.

AWMF S1-Leitlinie Insektengiftallergie. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 061-020, 2003. Zur Überarbeitung angemeldet.

AWMF S1-Leitlinie Allergologische Diagnostik von Überempfindlichkeitsreaktionen auf Arzneimittel. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 061-021, 2007

AWMF S1-Leitlinie Keine Empfehlung für IgG- und IgG4-Bestimmungen gegen Nahrungsmittel. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 061-028, 2009

Für Rückfragen stehen wir gerne zur Verfügung.

Dr. Ursula Weber

Fachärztin für Laboratoriumsmedizin

Fachärztin für Kinderheilkunde, Allergologie

Telefon (0 75 1) 502-210