

Diagnostik von berufsbedingten Typ-I-Allergien – Vergleich von Haut-Pricktestlösungen verschiedener Hersteller für ausgewählte Berufsallergene

Diagnostics of Occupational Type I Allergies – Comparison of Skin Prick Test Solutions from Different Manufacturers for Selected Occupational Allergens

Autoren

V. van Kampen, M. Raulf-Heimsoth, I. Sander, R. Merget und die Stad 1-Gruppe

Institut

Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, Institut der Ruhr-Universität Bochum (IPA) (Direktor: T. Brüning)

eingereicht 16.11.2009
akzeptiert 28.1.2010

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1243972>
Pneumologie 2010; 64: 271–277 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0934-8387

Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Vera van Kampen
IPA (vormals BGFA)
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
44789 Bochum
kampen@ipa-dguv.de

Zusammenfassung



Hintergrund: Das Ergebnis des Haut-Pricktests (HT) hängt von der Qualität der HT-Lösung ab. Ziel der Untersuchung war der Vergleich von HT-Lösungen verschiedener Hersteller für ausgewählte Berufsallergene.

Patienten: Alle Patienten klagten über arbeitsplatzbezogene allergische Beschwerden wie Rhinitis, Konjunktivitis oder asthmatische Beschwerden.

Methoden: 125 Bäcker bzw. 21 Naturgummilatem-Exponierte wurden im HT mit vier Mehl- bzw. zwei Naturgummilatem-HT-Lösungen untersucht. Anhand der maximalen Testeffizienz (Gold-Standard: spezifisches IgE) wurde der optimale Cut-off ermittelt. Bei diesem Cut-off wurden Sensitivität und Spezifität der Mehl- und Naturgummilatem-HT-Lösungen bestimmt. Zusätzlich wurden fünf HT-Lösungen für *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) bei zwei Landwirten getestet. Sämtliche HT-Lösungen wurden *in vitro* bzgl. Protein- und Antigengehalt analysiert.

Ergebnisse: Die *In-vitro*-Analyse ergab für alle HT-Lösungen herstellerabhängige Unterschiede. Der optimale Cut-off für die Mehl- und Naturgummilatem-HT-Lösungen lag bei einer Quaddelgröße $\geq 1,5$ mm. Die Sensitivitäten der Mehl-HT-Lösungen betragen 38–95%, die Spezifitäten 77–98%. Beide Naturgummilatem-HT-Lösungen ergaben eine Sensitivität von 100% bei einer Spezifität von 92%. Die verschiedenen Tp-HT-Lösungen lieferten diskrepante HT-Ergebnisse.

Schlussfolgerung: Während die beiden Naturgummilatem-HT-Lösungen eine gleich gute Qualität aufwiesen, zeigten die Mehl- und Tp-HT-Lösungen deutliche Unterschiede. HT-Lösungen mit höheren Protein- bzw. Antigengehalten wiesen in der Regel eine bessere Qualität auf.

Abstract



Background: Reactivity in the skin prick test (SPT) is related to the potency of the SPT solution used. The aim of this study was to compare SPT solutions from different manufacturers for selected occupational allergens.

Patients: All patients suffered from work-related allergic complaints like rhinitis, conjunctivitis or asthmatic complaints.

Methods: 125 bakers and 21 subjects exposed to natural rubber latex (NRL) were examined with four flour SPT solutions and two NRL SPT solutions, respectively. By means of the maximum test efficiency (gold standard: specific IgE), the optimal cut-off was determined. Using this cut-off, sensitivities and specificities of the flour and NRL SPT solutions were calculated. Additionally, five SPT solutions for *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) were tested in two farmers. All SPT solutions were analysed *in-vitro* for protein and antigen content.

Results: *In-vitro* analyses resulted in differences for all SPT solutions depending on the manufacturer. The optimal cut-off for the flour and NRL SPT solutions was a wheal ≥ 1.5 mm. Sensitivities of flour SPT solutions ranged from 38% to 95%, specificities from 77% to 98%. Both NRL SPT solutions reached a sensitivity of 100% and a specificity of 92%. SPT results with the different Tp SPT solutions were variable.

Conclusion: While both NRL SPT solutions exhibited a fairly good quality, the flour and Tp SPT solutions showed differences between manufacturers. As a rule solutions with higher protein and antigen contents gave better results.

Einleitung

Die eindeutige Diagnostik von berufsbedingten IgE-vermittelten Allergien ist sowohl bei Berufskrankheiten(BK)-Feststellungsverfahren als auch für Untersuchungen im Rahmen von betrieblichen Präventionsmaßnahmen sowie für wissenschaftliche Studien von großer Bedeutung. Vor allem der Haut-Pricktest (HT) ist ein schnelles, preisgünstiges und – bei standardisiertem methodischen Vorgehen mit validierten und standardisierten Extrakten – auch ein sensitives Verfahren zum Nachweis von Sensibilisierungen vom Soforttyp.

Allerdings konnte schon in einer früheren Arbeit gezeigt werden, dass die für die Diagnostik des Bäckerasthmas unverzichtbaren kommerziellen Mehl-HT-Lösungen in Abhängigkeit vom Hersteller in ihrer Qualität stark divergieren [1]. Dies ist umso erstaunlicher, als das Bäckerasthma in Deutschland keine seltene Erkrankung darstellt. Von 587 im Jahr 2008 bestätigten Fällen einer berufsbedingten obstruktiven allergischen Atemwegserkrankung (BK 4301) waren 372 (63%) auf Mehle und Mehlprodukte zurückzuführen [2]. Ein weiteres relevantes Berufsallergen stellt das Naturgummilatex (im Folgenden nur noch als Latex bezeichnet) dar. Nachdem die Zahl der dadurch hervorgerufenen allergischen Berufskrankheiten vor allem in den 1990er-Jahren im Gesundheitswesen im Rahmen der HIV-Epidemie sehr stark angestiegen war, sank sie ab 1998 aufgrund von Präventionsmaßnahmen wieder deutlich ab. Im Jahr 2008 waren noch 18 (3%) bestätigte BK 4301-Fälle in Deutschland auf Latex zurückzuführen [2]. Da es sich jedoch bei Latex um ein sehr potentes Allergen handelt, das bei entsprechend Sensibilisierten häufig zu schweren allergischen Reaktionen führt, ist eine zuverlässige Allergiediagnostik bei gegenüber Latex exponierten Personen mit allergischen Symptomen weiterhin von Bedeutung.

Ziel der Studie war es daher, die Qualität weiterer, z. T. selbst hergestellter Mehl-HT-Lösungen sowie verschiedener kommerzieller Latex-HT-Lösungen durch vergleichende Pricktestung und durch verschiedene In-vitro-Methoden zu bewerten. Darüber hinaus sollte beispielhaft für die Vorratsmilbe *Tyrophagus putrescentiae* überprüft werden, ob auch bei anderen Berufsallergenen mit Unterschieden in der Qualität der HT-Lösungen zu rechnen ist. Vorratsmilben spielen als berufliche Allergene insbesondere im landwirtschaftlichen Bereich und dort vor allem bei der Getreidelagerung eine Rolle [3].

Methoden

Studiendesign

Um verschiedene HT-Lösungen für Mehle und Latex in möglichst großen Kollektiven zu überprüfen, haben sich sieben allergologisch gutachterlich tätige Zentren (6 deutsche, 1 polnisches) zu einem Verbund (Stad 1: Standardallergiediagnostik Typ 1) zusammengeschlossen. Gemeinsam einigten sich alle Beteiligten unter Berücksichtigung der europäischen Positionspapiere [4,5] auf einen Standard-Pricktest. Zudem wurden ein einheitlicher Fragebogen und ein Erfassungsbogen für ggf. vorliegende Provokationstestergebnisse entwickelt. Die Verbundpartner erhielten definierte HT-Lösungen zur Diagnose der sogenannten Bäckerbeziehungsweise Latexallergie, mit denen die Patienten im Rahmen von Begutachtungen getestet wurden.

Zusätzlich wurden im IPA verschiedene HT-Lösungen für die Vorratsmilbe *Tyrophagus putrescentiae* im titrierten Pricktest bei zwei sensibilisierten Probanden eingesetzt.

Alle im Rahmen der Studie verwendeten HT-Lösungen wurden *in vitro* hinsichtlich Protein- und Antigengehalt analysiert.

Patienten

Alle untersuchten Probanden klagten über arbeitsplatzbezogene allergische Beschwerden wie Rhinitis, Konjunktivitis oder asthmatische Beschwerden. Sämtliche Untersuchungen wurden im Rahmen von Begutachtungen durchgeführt. Für die Studie lag ein positives Votum der Ethik-Kommission der Ruhr-Universität Bochum vor und alle Patienten haben vor der Pricktestung ihr Einverständnis schriftlich bestätigt.

Bäcker

88 Bäcker (70%) gaben asthmatische Beschwerden an, 80 davon in Kombination mit Rhinitis. 32 Bäcker (26%) klagten über Rhinitis, jedoch ohne asthmatische Symptome. Das mittlere Alter lag bei 41 ± 13 Jahren, 44 (35%) rauchten aktuell, 20 (16%) waren Exraucher. Nach den Ergebnissen des HT mit ubiquitären Allergenen waren 61 Patienten (49%) atopisch. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren noch 44 Bäcker (35%) in ihrem Beruf tätig. Die mittlere Zeit seit Tätigkeitsaufgabe lag bei $4,3 \pm 3,8$ Jahren.

Latex-Exponierte

Von den 21 gegenüber Latex exponierten Personen kamen ursprünglich 19 (91%) aus dem Gesundheitswesen. Eine Person war in der Vulkanisierung, eine weitere in der kunststoffverarbeitenden Industrie tätig. Insgesamt 14 Personen (67%) klagten über asthmatische Beschwerden, 12 davon in Kombination mit Rhinitis. In 2 Fällen wurde Rhinitis (10%) ohne asthmatische Symptome angegeben. Das mittlere Alter lag bei 43 ± 9 Jahren, jeweils 4 Personen (19%) waren Raucher bzw. Exraucher. Bei zehn Patienten (48%) handelte es sich um Atopiker. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren noch 9 Latex-Exponierte (43%) in ihrem Beruf tätig. Die mittlere Zeit seit Tätigkeitsaufgabe betrug $3,1 \pm 3,3$ Jahre.

Landwirte

Beide Landwirte (43 bzw. 56 Jahre) klagten über berufsbezogene asthmatische Beschwerden und waren zum Zeitpunkt der Untersuchung noch aktuell tätig.

Spezifische IgE-Antikörper (sIgE)

Die Quantifizierung der spezifischen IgE-Antikörper (sIgE) im Serum der Patienten erfolgte zentral im IPA mittels CAP-FEIA (Phadia, Freiburg). CAP-Werte $\geq 0,35$ kU/L (CAP-Klasse ≥ 1) galten als positiv.

Haut-Pricktest (HT)

Die vergleichenden HT-Untersuchungen im Rahmen des Stad 1-Verbundprojektes wurden bei 125 Bäckern bzw. 21 Latex-Exponierten mit Weizen- und Roggenmehl-HT-Lösungen der Firmen Allergopharma (Reinbek), Bencard (München) und Hal (Düsseldorf) bzw. mit Latex-HT-Lösungen der Firmen Allergopharma und Stallergènes (Kamp-Lintfort) durchgeführt. Das IPA lieferte zusätzlich selbst hergestellte HT-Lösungen mit bekanntem Allergenprofil für Weizen- und Roggenmehl [6]. Um Aussagen über den Atopiestatus des jeweiligen Patienten treffen zu können, wurden zusätzlich vier kommerzielle Umweltallergene in das Testpanel aufgenommen: Graspollenmischung, Birke, Katzenepithelien und Hausstaubmilbe (*Dermatophagoides pteronyssinus*; alle Allergopharma). Als Atopiker galten die Personen, die mit

mindestens einem der ubiquitären Allergene im HT mit einer Quaddel von 3 mm oder größer reagierten.

Nicht im Rahmen des Verbundprojektes, sondern nur in einem Zentrum (IPA), wurden fünf kommerzielle HT-Lösungen für die Vorratsmilbe *Tyrophagus putrescentiae* (Allerbio (über Themocare) Mönchengladbach; Allergopharma; ALK-Abelló, Wedel; Lofarma, Mailand, Italien; Stallergènes) in fünf verschiedenen Verdünnungen (jeweils 1 : 4; unverdünnt bis 1 : 1024) bei zwei Landwirten mit entsprechenden berufsbedingten allergischen Beschwerden eingesetzt.

Sämtliche HTs wurden ausschließlich im Rahmen von Begutachtungen nach einem exakt festgelegten Schema durchgeführt. Die HT-Lösungen wurden zunächst in Doppelbestimmung gegenläufig auf beide unbehandelte Unterarme aufgebracht, bevor die Haut mittels einer Stahllanzette (ALK-Abelló) durchstochen wurde. Histamin (10 mg/ml) bzw. Kochsalzlösung dienten als Positiv- bzw. Negativkontrolle. Nach 15 Minuten wurden die HT-Lösungen mit Alkohol abgewischt, die Quaddelumrisse mit Kugelschreiber umfahren und mit Hilfe von durchsichtigem Klebeband auf ein weißes Blatt Papier übertragen. Die Ausmessung der Quaddelgrößen (Mittelwert aus längstem und mittig dazu senkrecht stehendem Quaddeldurchmesser in Millimeter) und Bewertung aller HTs erfolgten zentral im IPA.

Für die Auswertung im Rahmen des Stad 1-Verbundprojektes (Mehl- und Latex-HT-Lösungen) wurde jeweils die Gesamtzahl aller Tests berücksichtigt, d. h. zwei Tests pro Proband und Allergen. Der jeweils optimale Cut-off-Wert wurde anhand der maximalen Testeffizienz ermittelt.

Spezifischer Provokationstest

Entsprechend der Anamnese und der Entscheidung des jeweiligen Gutachters wurde bei einigen Patienten ein Provokationstest durchgeführt. Von 125 Bäckern unterzogen sich 95 einem spezifischen Provokationstest mit Roggenmehl (bronchial mittels kommerziellem wässrigen Allergenextrakt: n = 24; nasal mittels kommerziellem wässrigen Allergenextrakt: n = 8; arbeitsplatzbezogener Inhalationstest mit nativem Mehl: n = 63) [7]. Zehn der 21 Latex-Exponierten wurden mit Latex (Tragetest mit latexallergenhaltigem Handschuh) und beide Landwirte bronchial mit *Tyrophagus putrescentiae* (vernebelter wässriger Extrakt, ALK-Abelló) provoziert.

Allergen-induzierte Veränderungen der Lungenfunktion wurden mittels Bodyplethysmografie gemessen. Als positiv galten eine Verdopplung des Atemwegswiderstandes (sRt) bei gleichzeitigem Anstieg auf ≥ 2.0 kPa*s und ein Abfall der Einsekundenkapazität (FEV₁) um $\geq 20\%$.

Der nasale Atemwegswiderstand wurde mittels anteriorer Rhinomanometrie bestimmt. Bei einer Zunahme des nasalen Widerstandes und bei Abnahme des nasalen Flusses um 40% oder bei anhaltendem Fließschnupfen galt die Testung als positiv.

Protein- und Antigenbestimmungen

Die Bestimmung des Proteingehaltes der HT-Lösungen erfolgte mittels Bradford-Test unter Verwendung von Rinderserumalbumin als Standard [8].

Der Antigengehalt der HT-Lösungen für Weizenmehl [9], Roggenmehl [10] bzw. für *Tyrophagus putrescentiae* [11] wurde mittels spezifischer Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA), wie beschrieben, quantifiziert. Alle drei Sandwich ELISAs basieren auf polyklonalen Antikörpern gegen das gesamte lösliche Antigenespektrum der jeweiligen Ausgangssubstanz.

Der Gesamt-Latexallergengehalt beider Latex-HT-Lösungen wurde mittels CAP-Inhibitionstest ermittelt [12].

Natriumdodecylsulfat (SDS)-Gelelektrophorese

10 µL jeder HT-Lösung wurden in Fertiggelen (NuPAGE® Bis-Tris gel, Invitrogen, Groningen, Niederlande) elektrophoretisch aufgetrennt, welche anschließend einer Silberfärbung unterzogen wurden.

Statistische Auswertung

Um die im Stad 1-Verbund eingesetzten Mehl- bzw. Latex-HT-Lösungen exakt beurteilen zu können, wurden die Daten statistisch ausgewertet. Die Pricktestung bei 125 Bäckern bzw. 21 Beschäftigten im Gesundheitswesen resultierte in 250 bzw. 42 Tests pro Allergen, die in die Auswertung eingingen. Als Gold-Standard diente zunächst die sIgE-Bestimmung, da diese Daten für jeden Probanden verfügbar waren.

Mit Hilfe von Vierfeldertafeln wurden Testeffizienz $[(rp + rn)/(rp + fp + rn + fn)]$, Sensitivität $[rp/(rp + fn)]$, Spezifität $[rn/(rn + fp)]$, positiver (PPV) $[rp/(rp + fp)]$ und negativer [NPV] $[rn/(rn + fn)]$ prädiktiver Wert (NPV) bestimmt. Richtig Positive (rp) sind Personen mit positivem sIgE und positivem HT; richtig Negative (rn) sind Personen mit negativem sIgE und negativem HT; falsch Positive (fp) sind Personen mit negativem sIgE und positivem HT; falsch Negative (fn) sind Personen mit positivem sIgE und negativem HT. Da in einigen Fällen das Ergebnis eines spezifischen Provokationstests vorlag, erfolgte die Bewertung der Mehl- und Latex-HT-Lösungen anschließend auch bezogen auf diesen Test als Gold-Standard.

Die statistische Analyse erfolgte unter Verwendung der SAS/STAT software, version 9.1 (Cary, N.C., U.S.; SAS, 2005).

Ergebnisse



Ein Teil der Ergebnisse der Bewertungen der Mehl-HT-Lösungen wurde bereits publiziert [10].

Protein- und Antigenbestimmungen, SDS-Gelelektrophorese

Zunächst wurde in vitro in allen vorliegenden HT-Lösungen der Protein- und Antigengehalt (für die Latex-HT-Lösungen der Allergengehalt) gemessen (☉ Tab. 1). Dabei zeigten sich für alle Allergene (Weizen- und Roggenmehl, Latex, *Tyrophagus putrescentiae*) zum Teil deutliche Unterschiede zwischen den HT-Lösungen von verschiedenen Herstellern. Diese Diskrepanzen waren auch in der SDS-Gelelektrophorese erkennbar (☉ Abb. 1).

sIgE

Von 125 Bäckern wiesen 85 (68%) sIgE gegen Weizenmehl (Bereich 0,35 – > 100 kU/L, Median 2,31 kU/L) und 83 (66%) gegen Roggenmehl (Bereich 0,35 – > 100 kU/L, Median 3,24 kU/L) auf. Bei acht der 21 Latex-Exponierten waren latexspezifische IgE-Antikörper nachweisbar (Range 0,35 – 25,7 kU/L, Median 0,23 kU/L). Beide Landwirte wiesen sIgE gegen *Tyrophagus putrescentiae* auf (8,47 bzw. 2,08 kU/L).

Haut-Pricktest

Mehl und Latex

Bei der Bewertung der HT-Lösungen für Mehle und Latex, die im Rahmen des Verbundprojektes Stad 1 an größeren Kollektiven getestet werden konnten, wurde zunächst überprüft, bei wel-

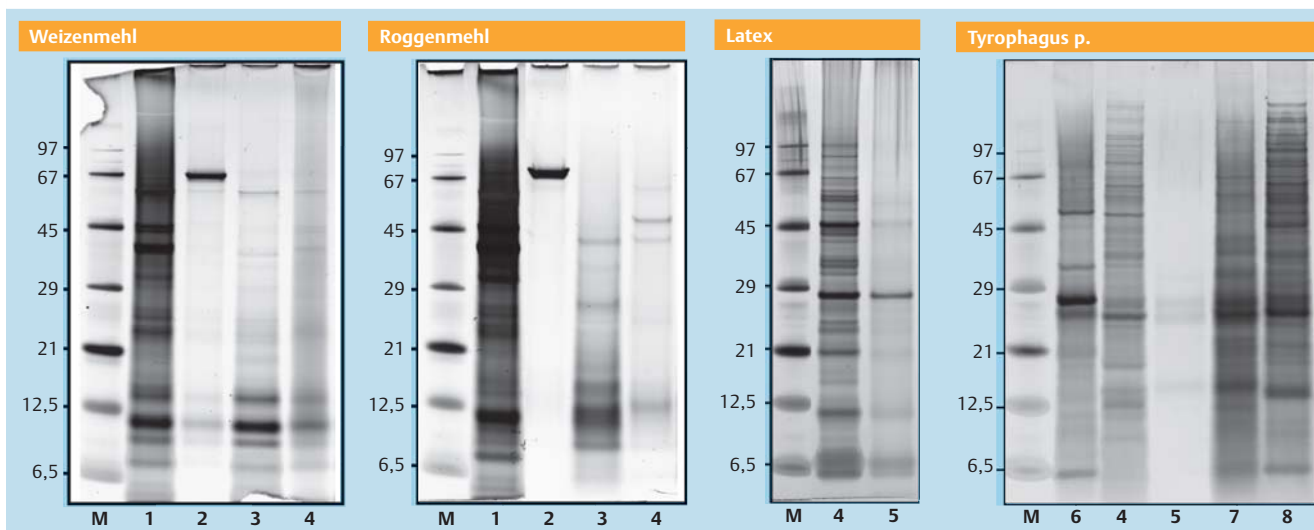


Abb. 1 Gleiche Volumina der verschiedenen HT-Lösungen mit Silber anfärbt nach Auftrennung im SDS-Gel (Hersteller: 1 IPA, 2 Hal, 3 Bencard, 4 Allergopharma, 5 Stallergènes, 6 Allerbio, 7 Lofarma, 8 ALK-Abelló).

Tab. 1 Protein- und Antigen-(Allergen-)gehalte verschiedener HT-Lösungen für drei ausgewählte Berufsallergene.

HT-Lösung	Protein (mg/ml)	Antigen (U/ml) bzw. Latexallergen (µg/ml)
Mehle		
WM Hal	237	49
WM Allergopharma	191	158
WM Bencard	451	501
WM IPA	1827	945
RM Hal	223	11
RM Allergopharma	183	23
RM Bencard	402	248
RM IPA	2176	4766
Tyrophagus putrescentiae		
Allerbio	117	103
Allergopharma	103	14
Stallergènes	u. N.	31
Lofarma	282	7
ALK-Abelló	355	787
Latex		
Allergopharma	215	163
Stallergènes	u. N.	16

WM Weizenmehl, RM Roggenmehl.

chem Cut-off-Wert (als positiv definierte Quaddelgröße), bezogen auf den Gold-Standard sIgE, die höchste Testeffizienz erreicht wurde. Es zeigte sich, dass dies für alle getesteten Mehl- und Latex-HT-Lösungen bereits bei einer Quaddelgröße $\geq 1,5$ mm der Fall war (● **Tab. 2**). Dabei lagen die Testeffizienzen der Mehl-HT-Lösungen zwischen 55% und 89%, die der beiden Latex-HT-Lösungen jeweils bei 95%. Alle weiteren Auswertungen wurden mit dem optimalen Cut-off ($\geq 1,5$ mm) durchgeführt.

Mit den verschiedenen Mehl-HT-Lösungen ergaben sich divergente Anzahlen positiver HT-Ergebnisse im Bäckerkollektiv (● **Tab. 3**). Bei 61–91% der Doppelbestimmungen mit einem positiven Ergebnis war auch der zweite Test positiv. Im Gegensatz dazu führten die beiden Latex-HT-Lösungen im Kollektiv der Latex-Exponierten zu einer identischen Anzahl positiver HTs und zu einer 100%igen Übereinstimmung der Ergebnisse im Rahmen der Doppelbestimmungen (● **Tab. 3**).

Tab. 2 Testeffizienz der verschiedenen HT-Lösungen für Weizenmehl (WM) und Roggenmehl (RM) bzw. Latex bei 125 Bäckern bzw. 21 Latex-Exponierten, bezogen auf den Gold-Standard sIgE in Abhängigkeit vom Cut-off.

HT-Lösung	Testeffizienz bei Cut-off		
	$\geq 1,5$ mm	$\geq 2,0$ mm	$\geq 2,5$ mm
Mehle			
WM Hal	56,4%	55,6%	54,4%
WM Allergopharma	70,0%	67,2%	65,6%
WM Bencard	80,0%	77,6%	75,2%
WM IPA	86,8%	86,0%	82,8%
RM Hal	55,2%	54,4%	51,6%
RM Allergopharma	70,4%	69,2%	64,8%
RM Bencard	75,2%	74,0%	73,6%
RM IPA	89,2%	88,4%	85,6%
Latex			
Allergopharma	95,2%	95,2%	95,2%
Stallergènes	95,2%	95,2%	90,5%

Tab. 3 Übereinstimmung der Doppelbestimmungen mit verschiedenen HT-Lösungen für Weizenmehl (WM) und Roggenmehl (RM) bzw. Latex bei 125 Bäckern bzw. 21 Latex-Exponierten (Cut-off $\geq 1,5$ mm).

HT-Lösung	Mind. eine Quaddel positiv (n)	Beide Quaddeln positiv (n)	Übereinstimmung
Mehle			
WM Hal	42	26	62%
WM Allergopharma	61	48	79%
WM Bencard	78	64	82%
WM IPA	87	76	87%
RM Hal	36	22	61%
RM Allergopharma	64	39	61%
RM Bencard	70	58	83%
RM IPA	93	85	91%
Latex			
Allergopharma	9	9	100%
Stallergènes	9	9	100%

Tab. 4 Bewertung der verschiedenen HT-Lösungen für Weizenmehl (WM) und Roggenmehl (RM) bzw. Latex bei 125 Bäckern bzw. 21 Latex-Exponierten (Cut-off $\geq 1,5$ mm), bezogen auf den Gold-Standard slgE.

HT-Lösung	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
Mehle				
WM Hal	38%	95%	94%	42%
WM Allergopharma	60%	91%	94%	52%
WM Bencard	77%	86%	92%	64%
WM IPA	88%	84%	92%	77%
RM Hal	34%	98%	97%	43%
RM Allergopharma	58%	94%	95%	53%
RM Bencard	70%	86%	91%	59%
RM IPA	95%	77%	89%	89%
Latex				
Allergopharma	100%	92%	88%	100%
Stallergènes	100%	92%	88%	100%

Ebenfalls beim optimalen Cut-off-Wert und wiederum bezogen auf den Gold-Standard slgE wurden neben der Testeffizienz (▶ Tab. 2), Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Mehl- und Latex-HT-Lösungen ermittelt (▶ Tab. 4). Während für die beiden Latex-HT-Lösungen alle Werte identisch waren, variierten bei den verschiedenen Mehl-HT-Lösungen insbesondere Sensitivität und NPV sehr stark. Dabei sind die Unterschiede zwischen Weizen- und Roggenmehl klein, die zwischen den verschiedenen Herstellern jedoch groß. Von 95 Bäckern, die sich einem spezifischen Provokationstest mit Roggenmehl unterzogen hatten, reagierten 63 (66%) positiv. Eine vergleichende Bewertung der Mehl-HT-Lösungen in diesem Subkollektiv (n = 95), zum einen bezogen auf den Gold-Standard slgE und zum anderen bezogen auf den Gold-Standard Provokation, ergab nur unwesentliche Unterschiede [10]. Von den zehn Latex-Exponierten, die sich einem Handschuhtragetest unterzogen hatten, zeigten sechs (60%) eine positive Reaktion in diesem Test. Auch hier unterscheidet sich die Bewertung der HT-Lösungen je nach Gold-Standard nur in geringem Maße (▶ Abb. 2).

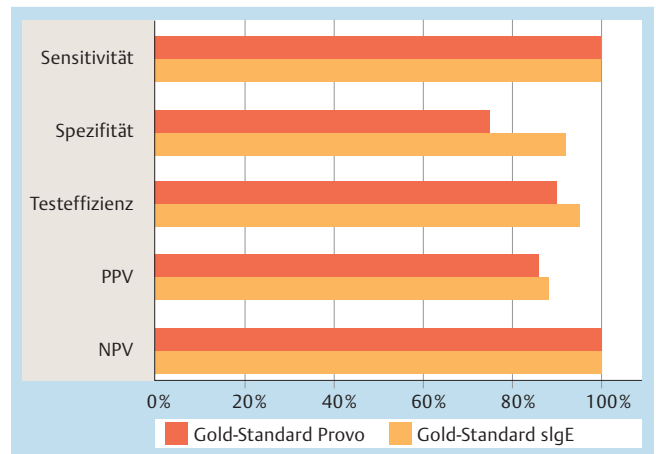


Abb. 2 Sensitivität, Spezifität, Testeffizienz sowie positiver (PPV) und negativer prädiktiver Wert (NPV) der Latex-HT-Lösungen beim optimalen Cut-off von $\geq 1,5$ mm, bezogen auf den Gold-Standard „Latex-slgE“ bzw. „spezifischer Provokationstest“ (n = 10). Beide Latex-HT-Lösungen lieferten identische Werte.

Tyrophagus putrescentiae

Da die verschiedenen HT-Lösungen für die Vorratsmilbe *Tyrophagus putrescentiae* nicht im Rahmen des Verbundprojektes Stad 1 eingesetzt worden waren, wurden bisher erst zwei symptomatische Landwirte mit slgE gegen diese Vorratsmilbe im titrierten Pricktest untersucht. Dabei war das Ergebnis von der verwendeten HT-Lösung sowie vom Sensibilisierungsgrad (slgE-Titer) der Patienten abhängig (▶ Abb. 3). Bei beiden Landwirten verlief der spezifische Provokationstest mit *Tyrophagus putrescentiae* positiv.

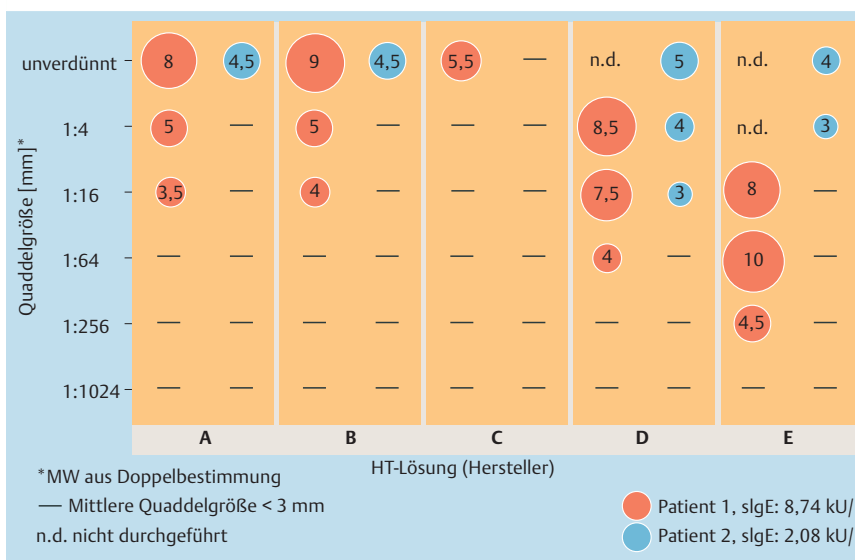


Abb. 3 Mittlere Quaddelgrößen nach HT mit fünf kommerziellen *Tyrophagus putrescentiae*-HT-Lösungen in jeweils sechs Konzentrationen bei zwei Landwirten mit Verdacht auf Vorratsmilbenallergie (Hersteller: A Allerbio, B Allergopharma, C Stallergènes, D Lofarma, E ALK-Abelló).

Diskussion

Bei der Diagnostik von Typ-I-Allergien gilt der HT als einer der zentralen Bausteine. Er ist wenig invasiv, relativ leicht zu quantifizieren und korreliert in der Regel gut mit entsprechenden Organprovokationen [13]. Hinzu kommt, dass der HT finanziell günstiger ist als viele andere diagnostische Tests [14] und das Ergebnis unmittelbar zur Verfügung steht. Auch für die Beurteilung berufsbedingter Sensibilisierungen ist der HT wichtig; so hat er eine große Relevanz für die Begutachtung und die damit verbundenen sozioökonomischen Konsequenzen. Aus diesem Grunde wurde die Qualität von HT-Lösungen für ausgewählte Berufsallergene zunächst *in vitro* und dann *in vivo* verglichen und beurteilt.

Für alle untersuchten Berufsallergene (Mehle, Latex, Vorratsmilbe) zeigten die HT-Lösungen in der SDS-Gelelektrophorese in Abhängigkeit vom Hersteller zum Teil große Unterschiede hinsichtlich Anzahl und Intensität der Proteinbanden. Auch die Ergebnisse der Protein- und Antigen-(Allergen-)Quantifizierungen variierten teilweise stark.

Trotz dieser Unterschiede ergaben beide Latex-HT-Lösungen in der parallelen Hauttestung übereinstimmend eine maximale Sensitivität bei guter Spezifität (92%). Dies ist vermutlich dadurch zu erklären, dass trotz der unterschiedlichen Mengen an Gesamtprotein und -allergen in beiden untersuchten Latex-HT-Lösungen die für die Diagnostik relevanten Hauptallergene in ausreichender Menge vorhanden sind. Für Beschäftigte im Gesundheitswesen sind dies in der Regel die Allergene Hev b 2, 5, 6.01 und 13 [15].

Vergleichende Bewertungen von HT-Lösungen verschiedener Hersteller, insbesondere für Berufsallergene, sind in der Literatur bisher relativ selten beschrieben. In einer Studie wurden Latex-HT-Lösungen von drei verschiedenen Herstellern getestet, allerdings in einem Kollektiv von 46 Kindern mit Verdacht auf eine Latexallergie. Der ebenfalls im Rahmen der vorliegenden Publikation getestete Extrakt (Stallergenès) erreichte dabei eine relativ gute Sensitivität (80%) bei einer Spezifität von 88%, die Extrakte der anderen beiden Hersteller Sensitivitäten von 65% bzw. 96% bei einer Spezifität von 94% [16]. Bei dem Vergleich der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass die Tests in der beschriebenen Studie nicht an beruflich sensibilisierten Erwachsenen, sondern an Kindern durchgeführt wurden, die die Latexallergie in der Regel durch häufige Operationen erworben hatten und für deren Sensibilisierung in der Regel andere Allergene (Hev b 1 und 3 [15]) bedeutsam sind.

Im Gegensatz zu den Latex-HT-Lösungen, ergab die *In-vivo*-Testung der verschiedenen Mehl-HT-Lösungen deutliche Unterschiede, insbesondere hinsichtlich Sensitivität, Testeffizienz und NPV. Dabei zeigten in der Regel Mehl-HT-Lösungen mit höherem Protein- und Antigengehalt bzw. einer höheren Anzahl von Proteinbanden im SDS-Gel höhere Werte.

Auch Unterschiede in der Qualität von Mehl-HT-Lösungen anderer Hersteller wurden in einem kleineren Kollektiv bereits früher beschrieben [1].

Die statistische Auswertung der HT-Ergebnisse mit Mehlen und Latex ermöglichte die Ermittlung der Quaddelgröße, bei der die maximale Testeffizienz der HT-Lösungen erreicht wurde (optimaler Cut-off). In allen Fällen war dies bereits bei sehr kleinen Quaddelgrößen ($\geq 1,5$ mm) der Fall. Während in der medizinischen Routine in den meisten Fällen Quaddeln ≥ 3 mm als positiv gelten, ergab die Testung mit HT-Lösungen für Hausstaubmilbe, Katze, Lieschgras und Cladosporium in einer Studie mit mehr als

11 000 Probanden, dass in epidemiologischen Studien ein Positivkriterium einer Quaddel >0 mm am besten geeignet ist, um allergische Sensibilisierungen zu erfassen [17].

Da zudem die Diagnostik in der arbeitsmedizinischen Begutachtung in der Regel mehrstufig verläuft (Anamnese, Pricktest, sIgE-Bestimmung, Provokationstestung), erscheint eine hohe Sensitivität der diagnostischen Tests von großer Bedeutung.

In diesem Zusammenhang muss auch berücksichtigt werden, dass die Übereinstimmung der HT-Doppelbestimmungen bei Bäckern mit mindestens einem positiven Test von der jeweiligen Mehl-HT-Lösung abhängig war. Da die Reproduzierbarkeit der HT-Ergebnisse nicht immer optimal war, sind beim HT Mehrfach-, mindestens jedoch Doppelbestimmungen sinnvoll. Dies wird auch von anderen Autoren gefordert [4]. Insbesondere bei schwach sensibilisierten Patienten besteht die Gefahr, dass der HT falsch negativ verläuft, weil z.B. die Haut nicht ausreichend eingeritzt wird und somit nicht genügend Allergen eindringt.

Mit beiden Gold-Standards (sIgE oder spezifischer Provokationstest) ergaben sich sowohl für die Beurteilung der Mehl- [10] als auch der Latex-Hauttestlösungen ähnliche Werte.

Da die Testungen mit *Tyrophagus putrescentiae* bisher nur in zwei Probanden durchgeführt wurden, konnte der optimale Cut-off bisher nicht ermittelt werden; deshalb wurden Quaddeln von 3 mm oder mehr als positiv angesehen. Dies scheint angemessen vor dem Hintergrund, dass Kanceljak-Macan u. Mitarb. [18] nach Pricktestung mit HT-Lösungen für *Tyrophagus putrescentiae* (ALK-Abeló) in 457 Personen schlussfolgern, dass für die klinische Beurteilung des Tests ein Cut-off-Wert von 4,5 mm aufgrund der niedrigen Spezifität zu bevorzugen ist.

In vivo ergaben die verschiedenen HT-Lösungen für *Tyrophagus putrescentiae* unterschiedliche Ergebnisse. So führte die HT-Lösung mit dem geringsten Proteingehalt bei einem der Landwirte, der über arbeitsplatzbezogene Beschwerden klagte und sowohl im IgE- als auch im bronchialen Provokationstest auf *Tyrophagus putrescentiae* positiv reagierte, zu einem falsch-negativen Ergebnis.

Die *In-vitro*- und *In-vivo*-Testung von HT-Lösungen für ausgewählte Berufsallergene zeigte für Mehle und *Tyrophagus putrescentiae* deutliche Unterschiede zwischen den HT-Lösungen verschiedener Hersteller. Vor allem die detaillierte Bewertung der HT-Ergebnisse bei 125 Bäckern mit verschiedenen Weizen- und Roggenmehl-HT-Lösungen ergab, dass die Qualität einzelner HT-Lösungen für eine zuverlässige Diagnostik nicht ausreichend war. Erste Untersuchungen mit HT-Lösungen für *Tyrophagus putrescentiae* verschiedener Hersteller wiesen ebenfalls auf qualitative Unterschiede in den verschiedenen kommerziellen Lösungen hin. Dabei wiesen HT-Lösungen mit höheren Protein- bzw. Antigengehalten eine bessere Sensitivität auf.

Um zu klären, wie die Qualität von HT-Lösungen für andere Berufsallergene zu beurteilen ist, werden derzeit in einer europäischen Multicenterstudie HT-Lösungen für weitere Mehle, Mehlschädlinge, Enzyme, Latex und kreuzreagierende Nahrungsmittel, Getreidestäube, Vorratsmilben, Schimmelpilze, Nutztiere sowie Labortiere in möglichst großen Kollektiven im vergleichenden HT bei entsprechend exponierten symptomatischen Personen getestet. Durch die anschließende Bewertung, welche HT-Lösungen für die Diagnostik der entsprechenden beruflichen Sensibilisierungen geeignet sind, soll vermieden werden, dass die Ergebnisse des Pricktests durch HT-Lösungen mit einer mangelhaften Qualität limitiert werden.

Danksagung



Unser Dank gilt den Mitgliedern des Stad 1-Verbundes (H.-C. Broding, damals Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin Erlangen; C. Keller, Pneumologische Praxis, Frankfurt/Main; H. Muesken, Pneumologische Praxis Bad Lippspringe; A. Overlack, Pneumologische Praxis Bonn; G. Schultze-Werninghaus, Berufsgenossenschaftliches Universitätsklinikum Bergmannsheil Bochum, J. Walusiak, Nofer Institute of Occupational Medicine Lodz, Polen) für die Untersuchung von Patienten im Rahmen des Verbundprojektes. Wir danken S. Rabstein für die Unterstützung bei der Auswertung der Daten sowie E. Zahradnik, C. Fleischer und U. Meurer für die ausgezeichneten Laborarbeiten.

Interessenkonflikte



Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- 1 Sander I, Merget R, Degens PO et al. Comparison of wheat and rye flour skin prick test solutions for diagnosis of baker's asthma. *Allergy* 2004; 59: 95–98
- 2 Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV), ed. Geschäfts- und Rechnungsergebnisse der gewerblichen Berufsgenossenschaften 2008. Sankt Augustin: 2009
- 3 Müsken H, Franz JT, Wahl R et al. Sensitization to different mite species in German farmers: in vitro analyses. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2003; 13: 26–35
- 4 Dreborg S. Methods for skin testing. EAACI Position paper. *Allergy* 1989; 44 (Suppl. 10): 22–30
- 5 Dreborg S, Frew A. Allergen standardization and skin tests. EAACI Position paper. *Allergy* 1993; 48 (Suppl. 14): 49–82
- 6 Sander I, Kespohl S, Merget R et al. A new method to bind allergens for the measurement of specific IgE antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136: 39–44
- 7 van Kampen V, Rabstein S, Sander I et al. Prediction of challenge test results by flour-specific IgE and skin prick test in symptomatic bakers. *Allergy* 2008; 63: 897–902
- 8 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72 : 48–254
- 9 Bogdanovic J, Wouters IM, Sander I et al. Airborne exposure to wheat allergens: measurement by human immunoglobulin G4 and rabbit immunoglobulin G immunoassays. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 1168–1175
- 10 vanKampen V, Merget R, Rabstein S et al. Comparison of wheat and rye flour solutions for skin prick testing: a multi-centre study (Stad 1). *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1896–1902
- 11 Zahradnik E, Sander I, Fleischer C et al. Entwicklung von Enzymimmunoassays zur Quantifizierung von Vorratsmilbenantigenen in arbeitsplatzbezogenen Staubproben. *Gefahrstoffe- Reinhaltung der Luft* 2009; 9: 369–375
- 12 Baur X, Chen Z, Raulf-Heimsoth M et al. Protein and allergen content of various natural latex articles. *Allergy* 1997; 52: 661–664
- 13 Oppenheimer J, Nelson HS. Skin testing. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96 (Suppl. 1): 6–12
- 14 Borghesan F, Bernardi D, Plebani M. In vivo and in vitro allergy diagnostics: it's time to re-appraise the costs. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 391–395
- 15 Raulf-Heimsoth M, Rihs HP, Rozynek P et al. Quantitative analysis of immunoglobulin E reactivity profiles in patients allergic or sensitized to natural rubber latex (*Hevea brasiliensis*). *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 1657–1667
- 16 Bernardini R, Pucci N, Azzari C et al. Sensitivity and specificity of different skin prick tests with latex extracts in pediatric patients with suspected natural rubber latex allergy—a cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2008; 19: 315–318
- 17 Bousquet PJ, Chatzi L, Jarvis D et al. Assessing skin prick tests reliability in ECRHS-I. *Allergy* 2008; 63: 341–346
- 18 Kanceljak-Macan B, Macan J, Plavec D et al. The 3 mm skin prick test (SPT) threshold criterion is not reliable for *Tyrophagus putrescentiae*: the re-evaluation of SPT criterion to dust mites. *Allergy* 2002; 57: 187–1190