

Molekulare Allergiediagnostik

Rekombinante oder native Allergene in der Typ I Allergie-Diagnostik



In der Allergiediagnostik werden zur Bestimmung des spezifischen IgE Allergenextrakte verwendet, die neben den relevanten Haupt- und Nebenallergenen auch nicht-allergene Bestandteile enthalten. Die Allergenextrakte sind für ein Screening der Patienten sehr gut geeignet und erhalten durch die molekulare Allergiediagnostik eine Ergänzung.

Was ist molekulare in-vitro Allergiediagnostik oder CRD (Component Resolved Diagnostics) ?

Mit der molekularen Allergiediagnostik kann die Allergensensibilisierung eines Patienten auf molekularer Ebene bestimmt werden. Dafür werden native, hoch gereinigte und rekombinante Allergene (Allergenkomponenten) anstelle ganzer Allergenextrakte verwendet.

Komponenten sind seit langem bekannt (Milchkomponenten (Casein, Lactoglobulin, Lactalbumin), Insektengifte (Phospholipase A2, Mellitin))

Die Allergie *in-vitro* Diagnostik umfasst die Messung von Allergen-spezifischen IgE Antikörpern im Blut.

- Allergen-spezifisch bedeutet: IgE-Antikörper, die gegen eine bestimmte Allergenkomponente gerichtet sind
- Molekulare Allergiediagnostik bedeutet: Einsatz von Allergenmolekülen im serologischen Test

Die quantitative Bestimmung von spezifischem IgE (sIgE) gegen Allergenkomponenten spezifisches IgE (sIgE) beschreibt die Fraktion von Gesamt IgE im Serum, die spezifisch an die korrespondierende Allergenkomponente bindet.

sIgE zeigt eine Sensibilisierung gegen die korrespondierenden Allergenkomponenten an.

Ob diese Sensibilisierung klinisch relevant ist, muss der Arzt anhand der Vorgeschichte des Patienten entscheiden.

Die molekulare Allergie *in-vitro* Diagnostik kann ihm dabei helfen.

Was sind Allergenmoleküle, Allergenkomponenten?

Allergenkomponenten sind Allergie-auslösende Bestandteile in Allergenextrakten.

Die Allergenkomponenten werden, unabhängig von der Allergenquelle, aufgrund struktureller und biochemischer Ähnlichkeiten in Protein-Familien zusammengefasst.

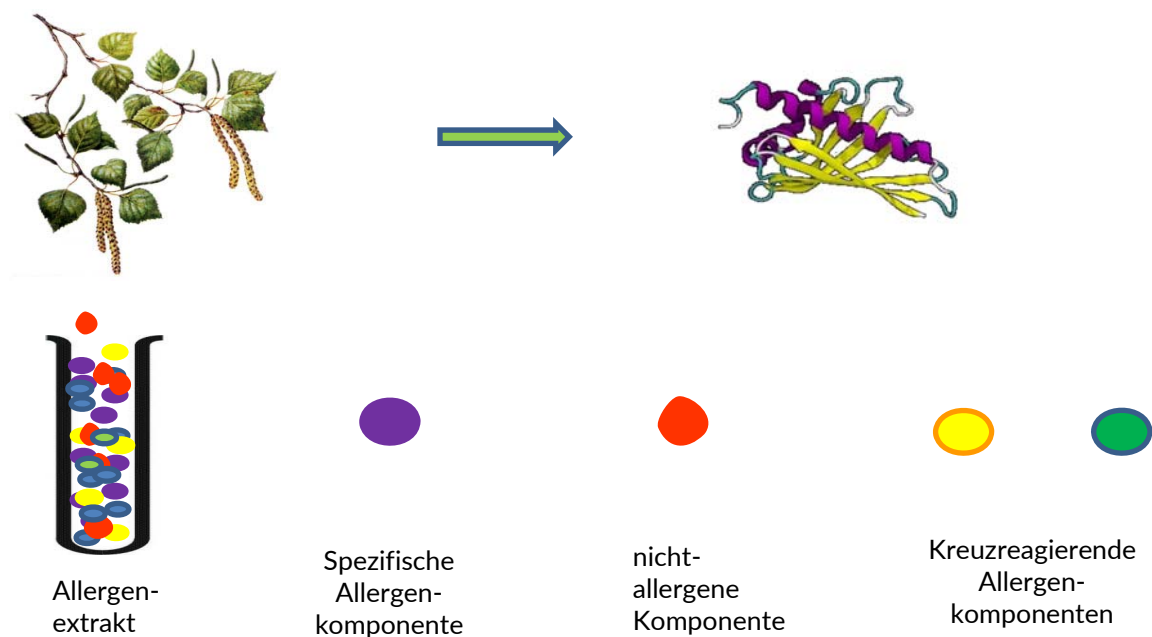
Jede Allergenquelle kann **spezifische und kreuzreaktive** Allergenkomponenten enthalten.

Die Sensibilisierung gegen **spezifische Komponenten** kann auf eine Primärsensibilisierung hinweisen und hat deshalb eine größere Bedeutung, da speziesspezifische IgEs nachgewiesen werden.

Die Zugehörigkeit der Allergene zu bestimmten Protein-Familien und deren Eigenschaften haben Konsequenzen auf die Ausprägung der allergischen Symptome.

Die Strukturen haben gemeinsame IgE-Bindungsepitope, die die Grundlage für **Kreuzreaktivitäten** sind.

Zusammensetzung eines Allergenextrakts – Beispiel Birkenpollen



Welche Komponenten enthält der Extrakt?

- - Bet v 1, Haupt-/ Majorallergen, spezifisch
- - Bet v 2, Nebenallergen, kreuzreaktiv
- - Bet v 4, Nebenallergen, kreuzreaktiv
-
- - Andere, nicht-allergene Substanzen

Rekombinante Allergene werden gentechnisch hergestellt. Die Extraktion der Allergene erfolgt aus natürlich gewonnenen Rohstoffen mit anschließender chromatographischer Anreicherung (Zeitaufwendig, verlustbehaftet, teuer).

Wann wird eine Allergenkomponente als Hauptallergen / Majorallergen bezeichnet?

Wenn mehr als 50% der betroffenen Patienten auf dieses Allergen reagieren.

Reaktionen gegen spezifische Allergenkomponenten zeigen eine primäre Sensibilisierung an: speziesspezifische IgE Antikörper

Lieschgras



Phl p 1
Phl p 5

Biene



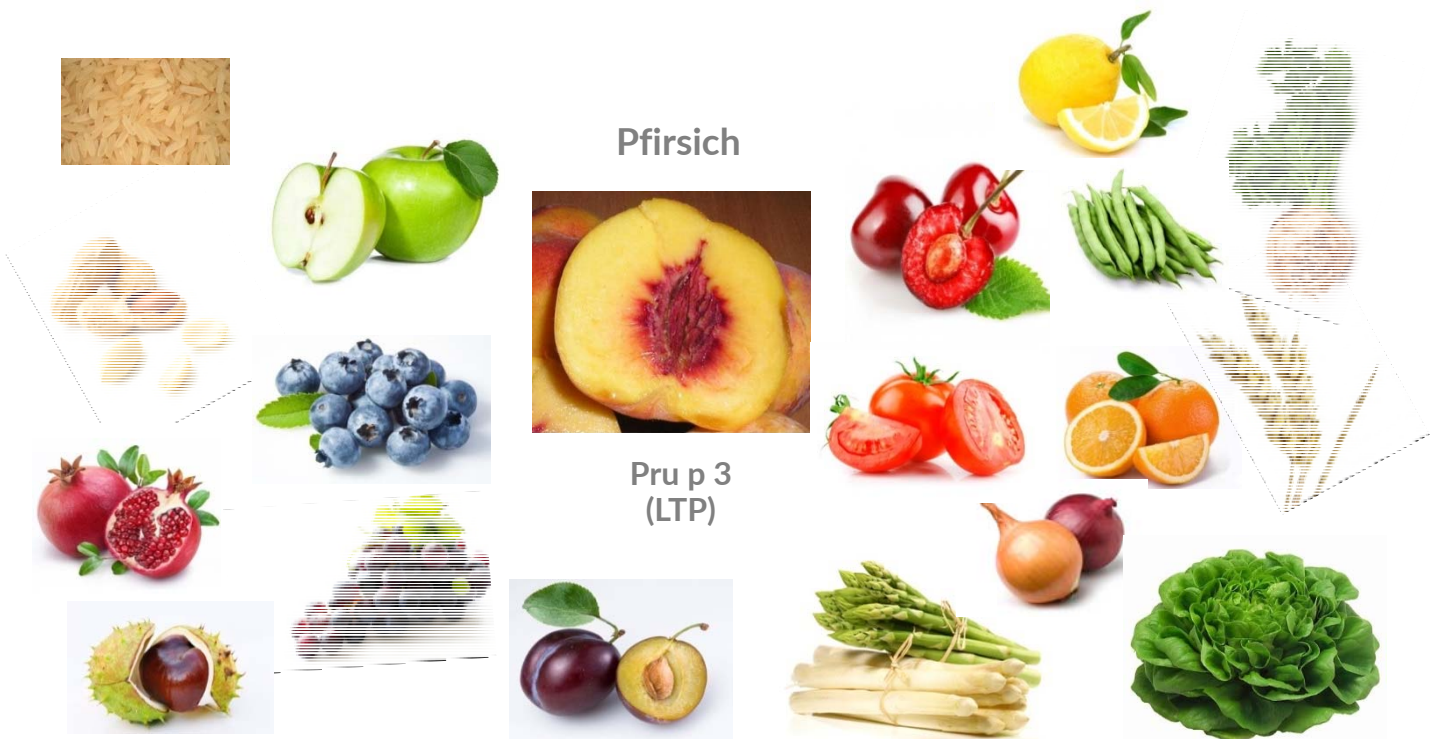
Api m 1

Erdnuss



Ara h 2

Reaktionen gegen kreuzreaktive Allergenkomponenten können Sensibilisierungen gegen unterschiedliche Quellen anzeigen. Z.b.:



Die Strukturen haben gemeinsame IgE-Bindungs Epitope, die die Grundlage für Kreuzreaktivitäten sind

Warum sollten Allergenkomponenten getestet werden? Mit welchen Konsequenzen für den Patienten?

1. Um Primärsensibilisierungen zu erkennen und daraus folgend Therapieempfehlungen geben zu können!

Das Ergebnis der Testung von kompletten Allergenextrakten bei polysensibilisierten Patienten kann zu weiteren Fragen und Testungen führen. Durch die Bestimmung von krankheitsauslösenden Allergenen kann eine Primärsensibilisierung identifiziert werden und eine Auswahl von geeigneten Patienten für eine spezifische Immuntherapie getroffen werden. Dies ist wichtig für ein optimales und kosteneffizientes Patientenmanagement.

Beispiel:

Allergenextrakt T 3 Birke: positiv

Welches ist das relevante Allergen?

Mit welchen Konsequenzen für den Patienten?

Allergenkomponenten im Birkenextrakt:

Bet v1	spezifisches Hauptallergen, gehört zur Protein-Familie PR-10 (Bet v1-Homologe), Familienspezifisches Markerallergen
Bet v2	Nebenallergen, gehört zur Familie der Profiline
Bet v4	Nebenallergen, gehört zur Familie der Polcalcine Kreuzreaktiv mit Gräserallergenen

Mögliches Ergebnis 1:

Bet v 1, spezifisches Hauptallergen:	positiv	Allergie gegen Birkenpollen wahrscheinlich, Immuntherapie empfohlen
Bet v 2, Nebenallergen, kreuzreaktiv:	negativ	
Bet v 4, Nebenallergen, kreuzreaktiv:	negativ	

Mögliches Ergebnis 2:

Bet v 1, spezifisches Hauptallergen:	positiv	Birkenpollenallergie?
Bet v 2, Nebenallergen, kreuzreaktiv:	positiv	Primärsensibilisierung gegen andere kreuzreagierende Allergene der PR-10-Familie? Risiken beachten Immuntherapie?
Bet v 4, Nebenallergen, kreuzreaktiv:	negativ	

Mögliches Ergebnis 3:

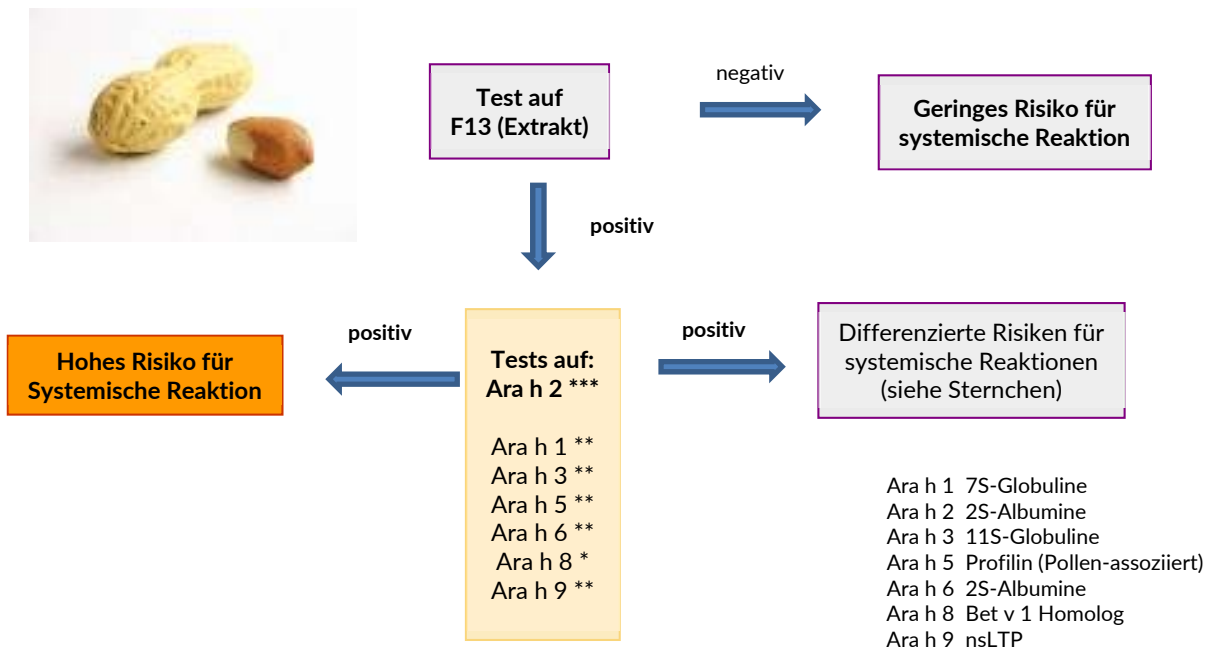
Bet v 1, spezifisches Hauptallergen:	positiv	Birkenpollenallergie
Bet v 2, Nebenallergen, kreuzreaktiv:	negativ	
Bet v 4, Nebenallergen, kreuzreaktiv:	positiv	andere mögliche Kreuzreaktionen mit Gräserpollen

2. Um Risikomarker zu identifizieren

In ausgewählten Fällen ist eine Abgrenzung von Risiken für schwere Reaktionen von Risiken für leichte lokale Reaktionen bei Nahrungsmittelallergien möglich.

Risiko Anaphylaktischer Schock \longrightarrow Schutz des Patienten
 Allergenkomponenten zur Identifizierung von Risikomarkern

Beispiel Erdnussallergene



Beispiel Biene / Wespe



Biene I 1

Extrakt Ergebnis **positiv**

Frage: Doppelsensibilisierung?
Welches ist das relevante Allergen?
Oder CCD?

Allergen-Komponenten der Biene:
Api m 1, Hauptallergen, spezifisch
Api m 2, Hauptallergen,



Wespe I 3

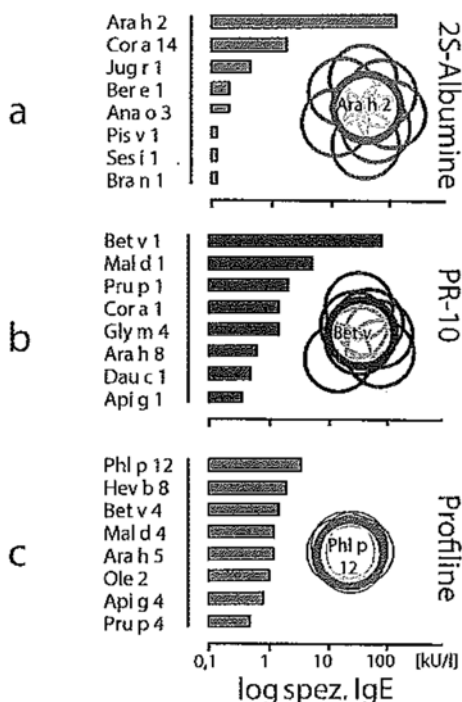
Extrakt Ergebnis **positiv**

Allergen-Komponenten der Wespe:
Ves v 5, Hauptallergen, spezifisch

3. Um Sensibilisierungen zu unterscheiden

Bei polysensibilisierten Patienten kann mit Allergenkomponenten zwischen einer echten Sensibilisierung gegenüber einer Kreuzsensibilisierung unterschieden werden. Dadurch kann das Wissen über krankheitsauslösende Allergene und welche verschiedenen Allergenquellen beachtet werden müssen verbessert werden.

Kreuzreaktionen innerhalb der Allergenfamilie



variable Kreuzreaktionen innerhalb der 2S-Albumine

variable Kreuzreaktionen innerhalb der Bet v 1 - homologen Nahrungsmittelallergene

Ausgeprägte Kreuzreaktionen durch Ähnliche Struktur der Profiline in Pollen, Latex und Nahrungsmitteln

Wichtige Proteinfamilien

Protein Familie	Vorkommen	Empfindlichkeit gegen Hitze & Proteasen	Klinische Reaktionen
PR-10 Proteine (Pathogenesis-related protein family number 10); Bet v 1-Homolog	weit verbreitetes Pflanzenprotein in Baumpollen, Obst, Gemüse und Nüssen	meist empfindlich (Ausnahme: Haselnuss, Sellerie, Soja)	meist OAS, häufig Verträglichkeit von gekochten Nahrungsmitteln; Kreuzreaktivität variiert zwischen den Spezies dieser Familie
Profiline	weit verbreitetes Protein mit ausgeprägten Kreuzreaktionen, Nebenallergen in Pollen und pflanzlichen Nahrungsmitteln	empfindlich	seltenes Auftreten von klinischen Symptomen; OAS bei Zitrusfrüchten, Melone, Banane und Tomate; Kann bei wenigen Patienten Reaktionen verursachen
Speicherproteine	2S Albumine, 7S/11S-Globuline; kommen in Samen und Nüssen vor; Ausgangsmaterial für das Wachstum einer neuen Pflanze	resistent	neben OAS häufig schwere und systemische Reaktionen, auch auf gekochte Nahrungsmittel; geringe Kreuzreaktivität zwischen den Spezies dieser Familie
nsLTP (non-specific Lipid Transfer Protein)	nicht-spezifisches Lipid-Transfer-Protein; kommen in Obst, Gemüse, Nüssen und Pollen vor; Stellvertretend Pru p 3 als Panallergen	resistent	oft neben dem OAS mit systemischen und schweren Reaktionen verbunden; Reaktion auch auf gekochte Nahrungsmittel; Kreuzreaktivität variiert zwischen den Spezies dieser Familie
Parvalbumin	Hauptallergen in Fischen; Marker für Kreuzreaktivität zwischen verschiedenen Fischarten	resistent	Schwere systemischen Reaktionen möglich; Reaktion auch auf gekochte Nahrungsmittel
Tropomyosin	Actin-bindendes Protein; Marker für die Kreuzreaktivität zwischen Schalentieren, Milben und Küchenschaben	resistent	neben OAS häufig schwere und systemische Reaktionen möglich; Reaktion auch auf gekochte Nahrungsmittel
Polcalcine	Kalzium bindende Proteine, Kreuzreaktionen zwischen verschiedene Pollenarten; nicht in pflanzlichen Nahrungsmitteln		kaum klinische Relevanz;
Lipocaline	Allergene in Felltieren	resistent	Kreuzreaktivität zwischen verschiedenen Tierarten variiert

Serumalbumine	Allergene in Tieren; kommen in unterschiedlichen Geweben und biologischen Flüssigkeiten vor	empfindlich	Kreuzreaktionen zwischen unterschiedlichen Säugetierarten, z.B. Katze und Hund, Katze und Schwein
---------------	---	-------------	---

CCD

Cross-Reactive Carbohydrate Determinants - Kreuzreaktive Kohlenhydrat Determinanten

Glykoproteine, die in Pflanzen, pflanzlichen Nahrungsmitteln und wirbellosen Tieren (z.B. Insekten) vorkommen, sie sind hoch immunogen und können zu Antikörperbildung führen, z.B. IgE	Wenn viele positive Ergebnisse bei der Testung vorkommen ist die Untersuchung auf CCD wichtig	selten klinische Symptome, Bedeutung der CCD wird diskutiert ein negativer Hauttest und ein positives spez. IgE-Ergebnis können auf CCD IgE-Antikörper hinweisen
---	---	---

Interpretation zur Frage der klinischen Relevanz

- Negative Testergebnisse mit Allergenmolekülen schließen eine Sensibilisierung aus
- Positive Testergebnisse zeigen eine Sensibilisierung oder Allergiebereitschaft an
- Durch den Einsatz von speziesspezifischen Allergenen können Primärsensibilisierungen erkannt werden
- Durch den Einsatz von Markerallergenen werden mögliche Kreuzallergien erkannt
- Der Arzt entscheidet anhand der klinischen Symptome über die klinische Relevanz

Zusammenfassung

- Die Testung mit kompletten Allergenextrakten ist hervorragend geeignet für eine erste Untersuchung
- Die Testung auf Allergen-Komponenten hilft bei:
 - dem Nachweis der Primärsensibilisierung
 - der Erkennung von Kreuzreaktionen auf weitere sensibilisierende Allergene
 - der Risikoabschätzung, Schutz für den Patienten
 - der Entscheidung für oder gegen eine Immuntherapie
- Ersatz für schwierige Allergenextrakte

Verfügbare rekombinante (r) und native (n) Allergene

REF	Allergen	Allergenquelle	Bedeutung	Weitere Merkmale
Milben				
ND 11	Der p 1	<i>D. pteronyssinus</i>	Hauptallergen	Cystein Protease; kreuzreaktiv mit Der f 1
ND 12	Der p 2	<i>D. pteronyssinus</i>	Hauptallergen	kreuzreaktiv mit Der f 2
ND 21	Der f 1	<i>D. farinae</i>	Hauptallergen	Cystein Protease; kreuzreaktiv mit Der p 1
ND 22	Der f 2	<i>D. farinae</i>	Hauptallergen	kreuzreaktiv mit Der p 2
Tierallergene				
RE 11	Fel d 1	Katze	Hauptallergen	Uteroglobulin; hoch spezifische Allergenkomponente
Nahrungsmittel				
RF 180	Cyp c 1	Karpfen	Hauptallergen	Parvalbumin; kreuzreaktiv mit Allergenkomponenten aus vielen Fischen
NF 24	Tropomyosin	Garnele	Hauptallergen	Tropomyosin; kreuzreaktiv mit Tropomyosinen aus Krustentieren / Milben / Insekten
NFGal	α-Gal	Thyroglobulin		Marker für die „rote-Fleisch-Allergie“
RF 311	Dau c 1	Karotte	Hauptallergen	PR-10-Protein; Bet v 1 Homolog, kreuzreaktiv mit anderen Bet v 1 Homologen
RF 491	Mal d 1	Apfel	Hauptallergen	PR-10-Protein; Bet v 1 Homolog, kreuzreaktiv mit anderen Bet v 1 Homologen
RF 493	Mal d 3	Apfel	Nebenallergen	nsLTP (non-specific Lipid-Transfer-Protein), kreuzreaktiv mit anderen Lipid-Transfer-Proteinen (LTP) wie Pru p 3
RF 441	Fra a 1	Erdbeere	Hauptallergen	PR-10-Protein; Bet v 1 Homolog, kreuzreaktiv mit anderen Bet v 1 Homologen
RF 443	Fra a 3	Erdbeere	Nebenallergen	nsLTP (non-specific Lipid-Transfer-Protein), kreuzreaktiv mit anderen Lipid-Transfer-Proteinen (LTP) wie Pru p 3
NF 131	Ara h 1	Erdnuss	Hauptallergen	Speicherprotein (7S Globulin); Risikomarker für systemische Reaktionen
NF 132	Ara h 2	Erdnuss	Hauptallergen	Speicherprotein (2S-Albumin); Risikomarker für schwere systemische Reaktionen
NF 133	Ara h 3	Erdnuss	Hauptallergen	Speicherprotein (11S Globulin); Risikomarker für systemische Reaktionen
NF 136	Ara h 6	Erdnuss	Hauptallergen	Speicherprotein (2S-Albumin); Risikomarker für systemische Reaktionen
RF 139	Ara h 9	Erdnuss	Nebenallergen	nsLTP (non-specific Lipid-Transfer-Protein); kreuzreaktiv mit anderen Lipid-Transfer-Proteinen (LTP) wie Pru p 3
RF 171	Cor a 1	Haselnuss	Hauptallergen	PR-10-Protein; Bet v 1 Homolog, kreuz-reaktiv mit anderen Bet v 1 Homologen
RF 178	Cor a 8	Haselnuss	Panallergen	nsLTP (non-specific Lipid-Transfer-Protein); Risikomarker für systemische Reaktionen, potentieller Marker für Sensibilisierung gegen LTP
NF 179	Cor a 9	Haselnuss	Hauptallergen	Speicherprotein (11S Globulin); Risikomarker für systemische Reaktionen
RF 531	Pru p 1	Pfirsich	Hauptallergen	PR-10-Protein; Bet v 1 Homolog, kreuzreaktiv mit anderen Bet v 1 Homologen
RF 533	Pru p 3	Pfirsich	Panallergen	nsLTP (non-specific Lipid-Transfer-Protein), Risikomarker für systemische Reaktionen, Marker für Sensibilisierung gegen LTP
RF 534	Pru p 4	Pfirsich	Nebenallergen	Profilin; kreuzreaktiv mit Gräsern/ Bäumen/ Kräutern/ einigen Obstsorten
F 67	Gal d 2	Hühnerei	Hauptallergen	Ovalbumin; kreuzreaktiv mit Ovalbuminen anderer Vogeleier
F 68	Gal d 1	Hühnerei	Hauptallergen	Ovomucoid; Indiz für Reaktionen auf Ei in allen

				Zubereitungsformen (frisch wie gekocht)
NF 103	Gal d 3	Hühnerei	Hauptallergen	Indiz für Reaktionen auf rohes oder nur schwach erhitztes Ei; hitzelabil
F 76	Bos d 4	Kuhmilch	Hauptallergen	Alpha-Lactalbumin; hitzelabil
F 77	Bos d 5	Kuhmilch	Hauptallergen	Beta-Lactoglobulin, hitzelabil
F 78	Bos d 8	Kuhmilch	Hauptallergen	Casein; Indiz für Reaktionen auf Kuhmilch in allen Zubereitungsformen (frisch sowie gekocht und auch in den daraus hergestellten Produkten wie z.B. Käse); kreuzreaktiv mit Caseinen der Milch von Schafen / Büffeln / Ziegen
Gräser- und Getreidepollen				
RG 601	Phl p 1	Lieschgras	Hauptallergen	Beta-Expansin; Entscheidungshilfe für Immuntherapie, kreuzreaktiv mit anderen Gräsern
RG 605	Phl p 5	Lieschgras	Hauptallergen	Entscheidungshilfe für Immuntherapie, kreuzreaktiv mit anderen Gräsern
RG 607	Phl p 7	Lieschgras	Nebenallergen	Polcalcin; kreuzreaktiv mit verschiedenen Pollenarten (Gräser/Kräuter/Bäume)
RG 612	Phl p 12	Lieschgras	Nebenallergen	Profilin; Panallergen, kreuzreaktiv mit verschiedenen Pollenarten (Gräser / Kräuter / Bäume / Latex / Obst)
Insektengifte				
RI 101	Api m 1	Bienengift	Hauptallergen	Phospholipase A2; Entscheidungshilfe für Immuntherapie, kreuzreaktiv mit Allergenkomponenten aus Wespe und Hummel
RI 102	Api m 2	Bienengift	Hauptallergen	Hyaluronidase; kreuzreaktiv mit verschiedenen Insektengiften (Wespe / Hornisse)
RI 305	Ves v 5	Wespengift	Hauptallergen	Antigen 5; Entscheidungshilfe für Immuntherapie, kreuzreaktiv mit verschiedenen Insektengiften (Biene / Hornisse)
Berufsallergene				
RK 825	Hev b 5	Latex	Hauptallergen	spezifische Allergenkomponente
RK 826	Hev b 6	Latex	Hauptallergen	Chitin-bindendes Protein; spezifische Allergenkomponente, kreuzreaktiv mit pflanzlichen Nahrungsmitteln (Obst / Gemüse)
RK 827	Hev b 7	Latex	Hauptallergen	Patatin-ähnliches Protein; assoziiert mit dem Latex-Frucht-Syndrom
RK 828	Hev b 8	Latex	Panallergen	Profilin; kreuzreaktiv mit verschiedenen Pollenarten (Gräser/Kräuter/Bäume/Obst)
Kräuter- und Blumenpollen				
NW 101	Amb a 1	Ambrosia	Hauptallergen	Pektat Lyase; spezifische Allergenkomponente
RW 601	Art v 1	Beifuß	Hauptallergen	Defensin-ähnliches Protein; spezifische Allergenkomponente
Baumpollen				
RT 301	Bet v 1	Birke	Hauptallergen	PR-10 Protein; Entscheidungshilfe für Immuntherapie, kreuzreaktiv mit Bet-v-1 Homologen (in Obst etc.)
RT 302	Bet v 2	Birke	Nebenallergen	Profilin; Panallergen, kreuzreaktiv mit Gräsern / Bäumen / Kräutern / einigen Obstsorten (z.B. Banane / Apfel)
RT 304	Bet v 4	Birke	Nebenallergen	Polcalcin; kreuzreaktiv mit verschiedenen Pollenarten (Gräser / Kräuter / Bäume)
RT 401	Cor a 1	Hasel	Hauptallergen	PR-10-Protein; Bet v 1 Homolog, kreuz-reaktiv mit anderen Bet v 1 Homologen
RT 901	Ole e 1	Olive	Hauptallergen	Common olive group 1; spezifische Allergenkomponente, Marker für Sensibilisierungen auch gegen Esche, Flieder u. Liguster, Entscheidungshilfe für Immuntherapie
CCD				
NF 253	CCD	Meerrettich	Marker	Kreuzreaktionen basierend auf CCD
Allergenmischungen				
RG 620	Phl p 1/ Phl p 5	Lieschgras		Mischung der Hauptallergene, Entscheidungshilfe für Immuntherapie
RG 621	Phl p 7/ Phl p12	Lieschgras		Mischung der Nebenallergene, Entscheidungshilfe für Immuntherapie



Dr. Fooke-Achterrath Laboratorien GmbH

Habichtweg 16

41468 Neuss

Germany

Tel.: +49 2131 29840

Fax: +49 2131 2984184

Email: information@fooke-labs.de

www.fooke-labs.de