



Die im Vortrag gezeigten Laborbefunde dienen der
Verdeutlichung der fachlichen Inhalte.

Wir weisen ausdrücklich darauf hin, dass entsprechende
Laboranalysen auch von anderen Labors durchgeführt
werden und dass die Indikationsstellung für Labordiagnostik
ausschließlich durch den Behandler
oder das Krankenhaus erfolgt.

Zelluläre Allergiediagnostik

-

Indikation, Durchführung und Interpretation

Dr. rer. nat. Anne Schönbrunn

IMD Berlin MVZ

Was sind zelluläre Allergietests?

- immunologische Reaktionen im „Reagenzglas“
- *In vitro* Provokationstests
- > in vitro Aktivierung bestimmter Zellen mit Allergen:
 - Nachweis Mediatoren
 - Nachweis spezifischer Aktivierungsmarker
 - Nachweis Proliferation

Typen der Hyperempfindlichkeitsreaktionen

Typ I - Sofort-Reaktion (atopisch / anaphylaktisch) -> **IgE** vermittelt

Typ II - Antikörper-abhängig (IgG)

Typ III - Immunkomplexe

Typ IV - Spättyp -> **T-Zell**-vermittelt

Typen der Hyperempfindlichkeitsreaktionen

Typ I - Sofort-Reaktion (atopisch / anaphylaktisch) -> **IgE** vermittelt

Typ II - Antikörper-abhängig (IgG)

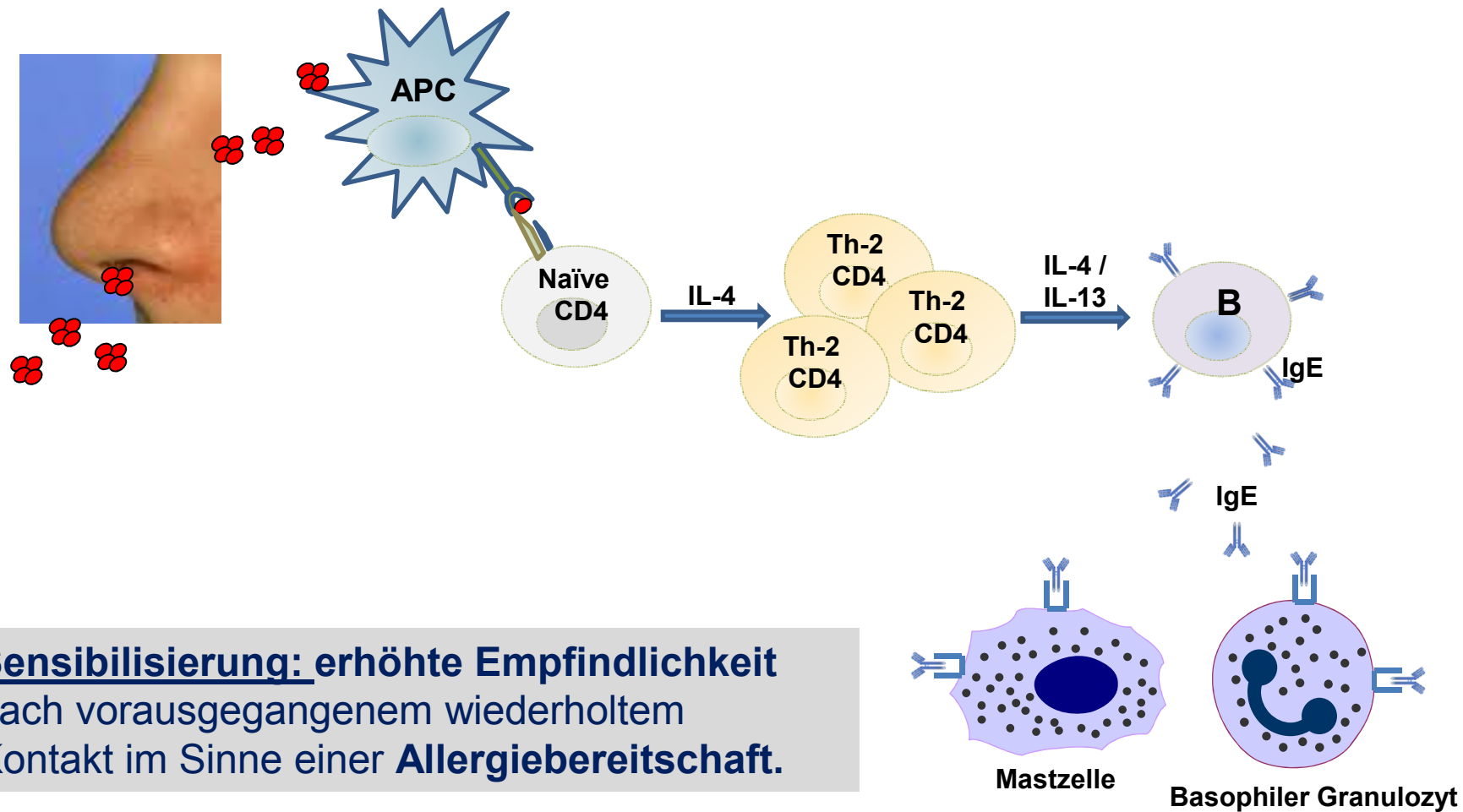
Typ III - Immunkomplexe

Typ IV - Spättyp -> **T-Zell**-vermittelt

Typ I - Allergie

Die Typ I-Allergie wird durch spezifische IgE-Antikörper vermittelt!

1. Sensibilisierungsphase

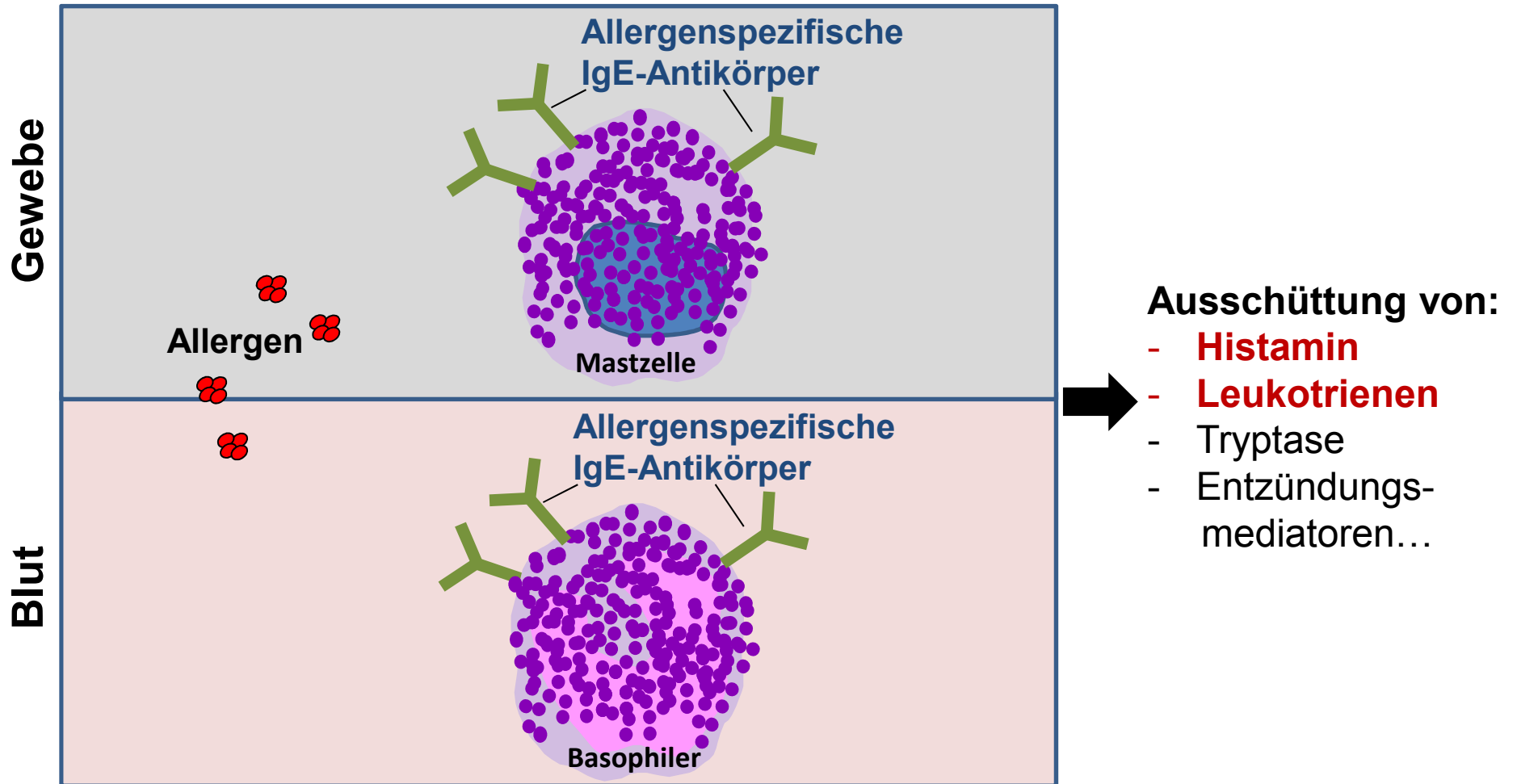


Sensibilisierung: erhöhte Empfindlichkeit nach vorausgegangenem wiederholtem Kontakt im Sinne einer **Allergiebereitschaft**.

Typ I - Allergie

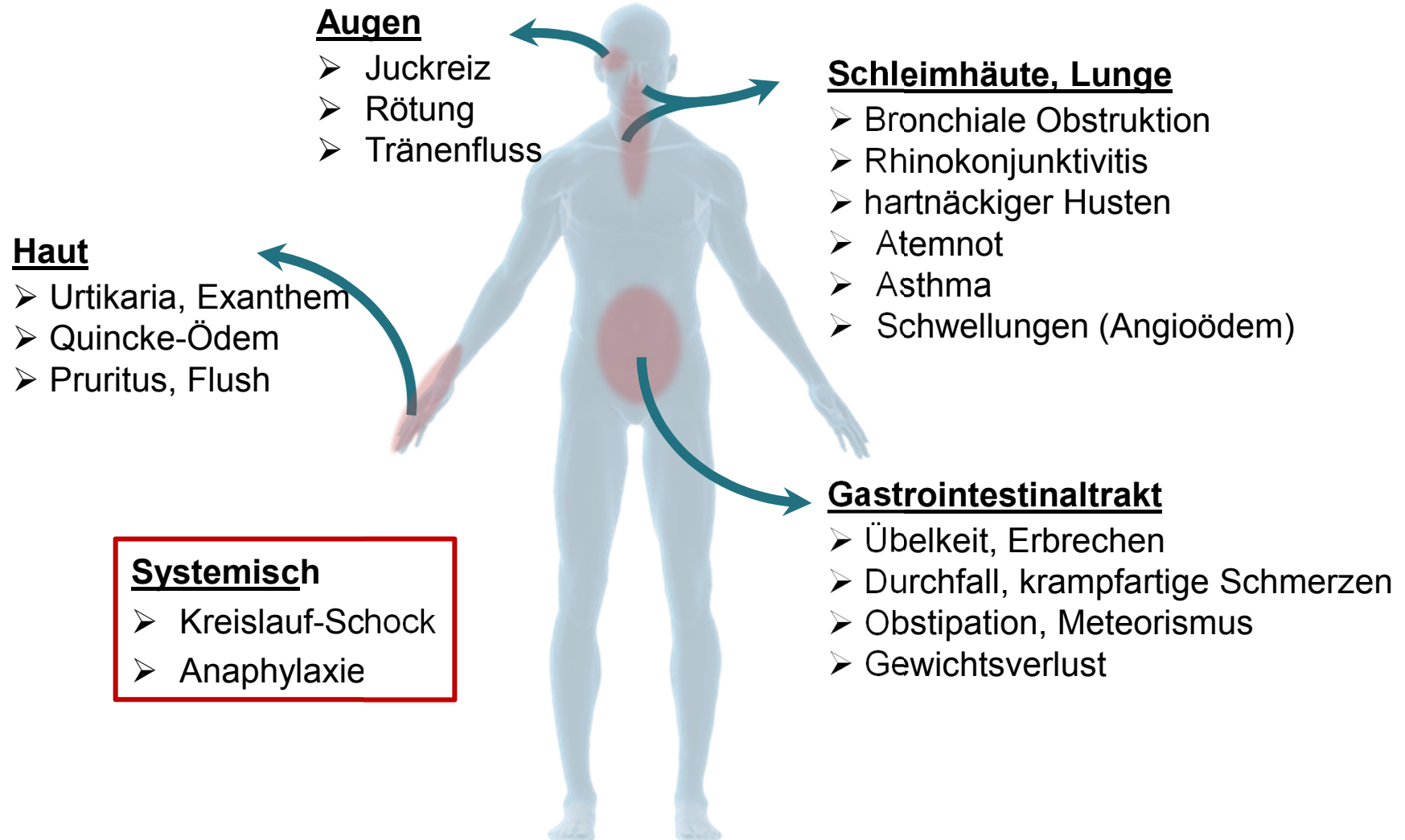
Die Typ I-Allergie wird durch spezifische IgE-Antikörper vermittelt!

2. Reaktionsphase (wiederholter Kontakt)



Typ I – Allergie - Symptome

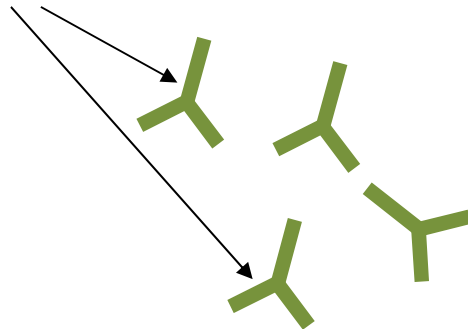
Klinische Symptome: innerhalb von Sekunden bis Minuten!



Typ I – Allergie - Diagnostik

Nachweis von freien IgE –AK
im **CAP-Test** (früher RAST-Test):

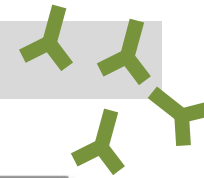
Freie IgE-Antikörper



Messung eines Markers!

Typ I – Allergie - Diagnostik

Nachweis von freien IgE –AK im CAP-Test (früher RAST-Test):



IMD
Labor Berlin

Ärztlicher Befundbericht

Allergenspezifisches IgE i.S.

sx1 Inhalationsscreen	29.40	kU/1	< 0.35
-----------------------	-------	------	--------

CAP-Klasse 4 (SEHR HOCH): 17.51 - 50.00 kU/1
Die Mischung enthält: Lieschgras, Roggen, Birke, Beifuß, Cladosporium herbarum, Hausstaubmilbe, Katzenschuppen, Hundeschuppen

Einzelallergenabklärung sx1

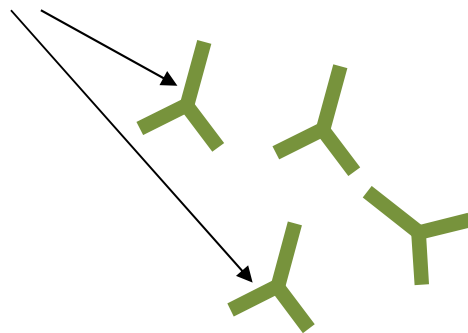
g6 Lieschgras			
CAP-Klasse 3 (HOCH): 3.51 - 17.50			
g12 Roggen (Pollen)			
CAP-Klasse 3 (HOCH): 3.51 - 17.50			
w6			
t3			
m2			
e5			< 0.10
e1	10	kU/1	< 0.10
d1	<0.10	kU/1	< 0.10

Einschränkung:
- bei einigen Gesamtextrakten geringe Sensitivität
- keine Erfassung von nicht-IgE-vermittelten Pseudoallergien
- nur bekannte Allergene verwendbar

Typ I – Allergie - Diagnostik

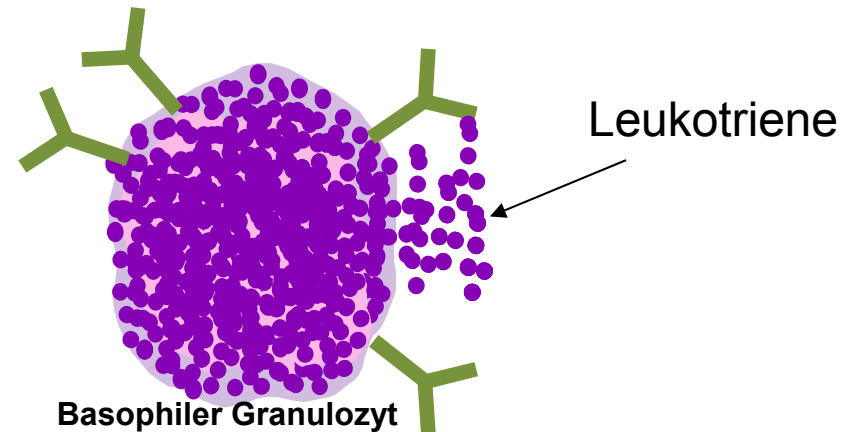
Nachweis von freien IgE –AK
im **CAP-Test** (früher RAST-Test):

Freie IgE-Antikörper



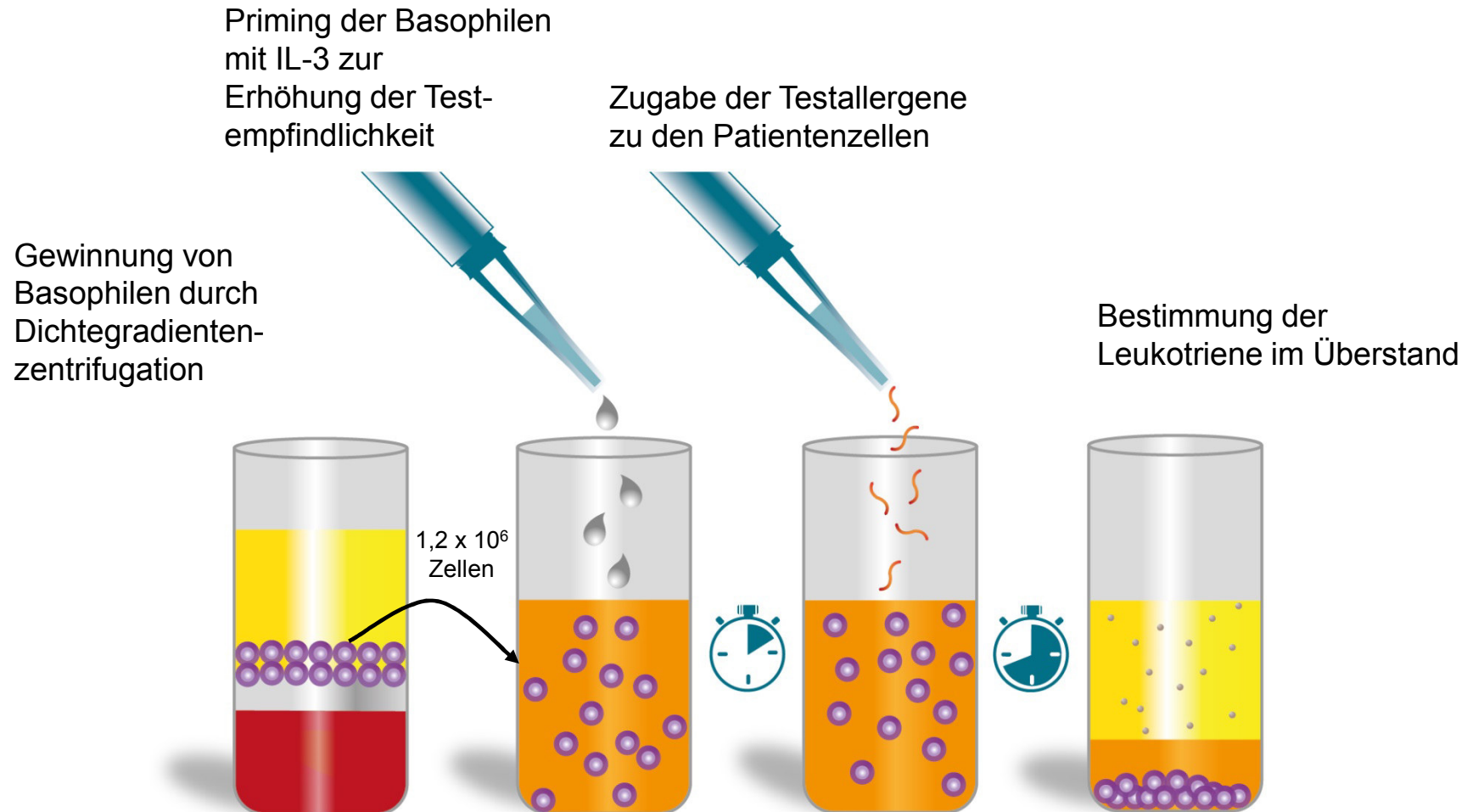
Messung eines Markers!

Nachweis von ausgeschütteten
Mediatoren der Typ I-Allergie im **BDT**
(Basophilen Degranulationstest):



Messung einer Reaktion!
-> funktioneller Test

BDT - Methodik

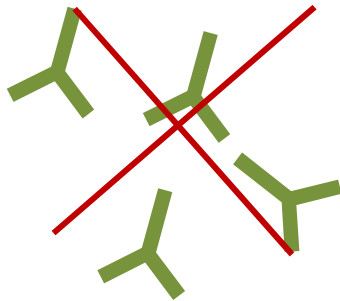


Wann macht der BDT Sinn?

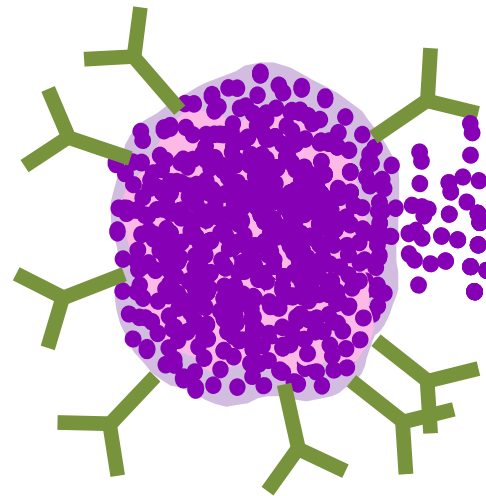
Indikation 1: niedriges freies Gesamt-IgE

Patient hat sehr hoch-affine (bindungsfreudige) IgE-Antikörper die zum überwiegenden Teil auf Zellen (Basophile und Mastzellen) gebunden sind und deshalb im Serum nicht detektierbar sind.

kaum/keine freien IgE-Antikörper



viele gebundene IgE-Antikörper



Indikationen für BDT

Indikation 1: niedriges freies Gesamt-IgE

Patient:

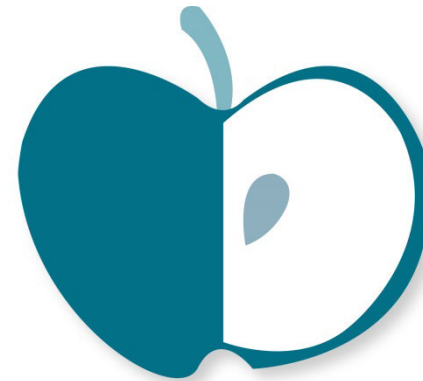
- männlich, 51 Jahre

Beschwerden:

- Brennen und Kribbeln im Mund-Rachenbereich nach Verzehr von frischem Apfel
- bekannte Allergie auf Frühblüher

Anforderung Diagnostik:

- Gesamt-IgE
- spez. IgE auf Apfel (f49)



Indikationen für BDT

Indikation 1: niedriges freies Gesamt-IgE


IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht		
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich	
- Allergiediagnostik - IgE i.S. (FEIA) (3rd WHO)	3.1	kU/l	< 85.0	
Allergenspezifisches IgE i.S. f49 Apfel CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10	

- Kein Nachweis spezifischer IgE- AK für das Extrakt Apfel
- Aber auch niedriges freies Gesamt-IgE!
 - > bei fortbestehendem Verdacht: Empfehlung auf BDT

Indikationen für BDT

Indikation 1: niedriges freies Gesamt-IgE

Zelluläre Allergiediagnostik:

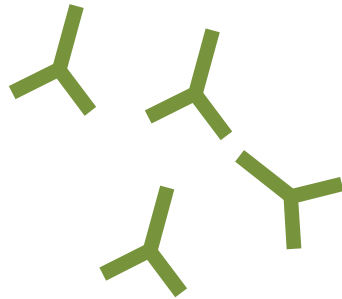
 IMD Labor Berlin	Ärztlicher Befundbericht		
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Basophilen-Degranulationstest (BDT) Die durch das jeweilige Allergen induzierte Leukotrienmenge wird in pg/ml angegeben und kennzeichnet bei Werten > 200 pg/ml eine bestehende Sensibilisierung auf das entsprechende Allergen.			
Allergen 1 Soja	135	pg/ml	< 200
Allergen 2 Apfel	2329	pg/ml	< 200
Zellvitalität	intakt		

Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber dem untersuchten Allergen Apfel

Wann macht der BDT Sinn?

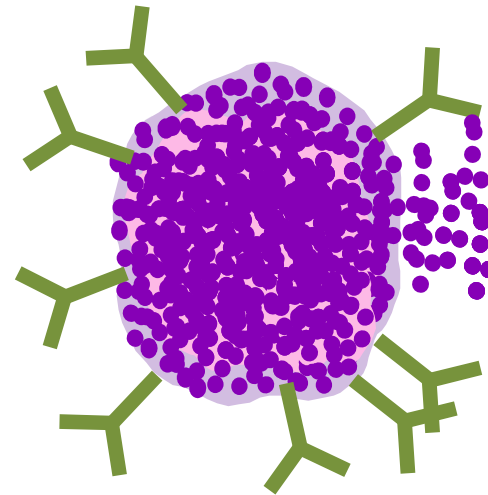
Indikation 2: Abfall freier IgE-AK bei länger zurückliegender Exposition

Halbwertszeit freier IgE Antikörper
im Blut:



2 - 3 Tage

Halbwertszeit gebundener
IgE-Antikörper:



Monate - Jahre

Indikationen für BDT

Indikation 2: Abfall freier IgE-AK bei länger zurückliegender Exposition

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht		
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich	
Allergenspezifisches IgE i.S.				
i1 Bienengift CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10	
i3 Wespengift CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10	

- Kein Nachweis spezifischer IgE- AK für Bienen- und Wespengift
- Insektenstich (und klinische Symptome) > 1 Jahr her
 - > weiterführende Empfehlung: BDT

Indikationen für BDT

Indikation 2: Abfall freier IgE-AK bei länger zurückliegender Exposition

Zelluläre Allergiediagnostik:

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht		
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich	
Basophilen-Degranulationstest (BDT) Die durch das jeweilige Allergen induzierte Leukotrienmenge wird in pg/ml angegeben und kennzeichnet bei Werten > 200 pg/ml eine bestehende Sensibilisierung auf das entsprechende Allergen.				
i1 Bienengift	1066.0	pg/ml	< 200	
i3 Wespengift	55.0	pg/ml	< 200	

Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber Bienengift

Wann macht der BDT Sinn?

Indikation 3: unbekanntes oder seltenes Allergen

Messung spezifischer IgE-Antikörper nur möglich bei standardisierten und bekannten Allergenen !

Indikationen für BDT

Indikation 3: unbekanntes oder seltenes Allergen

Patient:

- männlich, 44 Jahre

Beschwerden:

- Lippen- und Augenschwellung,
- Brennen der Mundschleimhaut
- Dyspnoe nach Genuss eines Schokoladen-umhüllten Marzipanbrotes



Medikation:

- i.v. Antihistaminika
- Glukokortikoiden

-> Rückbildung der Symptomatik

Indikationen für BDT

Indikation 3: unbekanntes oder seltenes Allergen

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Allergenspezifisches IgE			
f13 Erdnuss RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
f17 Haselnuss RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
f20 Mandel RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
f2 Milcheiweiß RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
f247 Honig RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10

- Kein Nachweis spezifischer IgE- AK auf verdächtige Inhaltsstoffe
 - > weiterführende Empfehlung: BDT

Indikationen für BDT

Indikation 3: unbekanntes oder seltenes Allergen

Zelluläre Allergiediagnostik:



Ärztlicher Befundbericht

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Basophilen-Degranulationstest (BDT) Die durch das jeweilige Allergen induzierte Leukotrienmenge wird in pg/ml angegeben und kennzeichnet bei Werten > 200 pg/ml eine bestehende Sensibilisierung auf das entsprechende Allergen.			
Allergen 2 Nativallergen 1:50	1766	pg/ml	< 200
Allergen 3 Nativallergen 1:250	1965	pg/ml	< 200
Allergen 4 Nativallergen 1:1250	311	pg/ml	< 200

Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber dem „Marzipanbrot“

Wann macht der BDT Sinn?

Indikation 4: Medikamente

Für viele Medikamente keine Messung spez. IgE - AK möglich!

-> zelluläre Allergiediagnostik (BDT)

Indikationen für BDT

Indikation 4: Medikamente

Zelluläre Allergiediagnostik:



Ärztlicher Befundbericht

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
--------------	----------	---------	-----------------

Basophilen-Degranulationstest (BDT)

Die durch das jeweilige Allergen induzierte Leukotrienmenge wird in pg/ml angegeben und kennzeichnet bei Werten > 200 pg/ml eine bestehende Sensibilisierung auf das entsprechende Allergen.

Allergen 1 (1) Metoprolol 100 1A	530	pg/ml	< 200
Allergen 2 (2) Metoprolol AL	<50	pg/ml	< 200
Allergen 3 (3) Meto-Henning	122	pg/ml	< 200

Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber dem Präparat „Metoprolol 100 1A“ (hier nicht Wirkstoff, eher „Beistoff“)

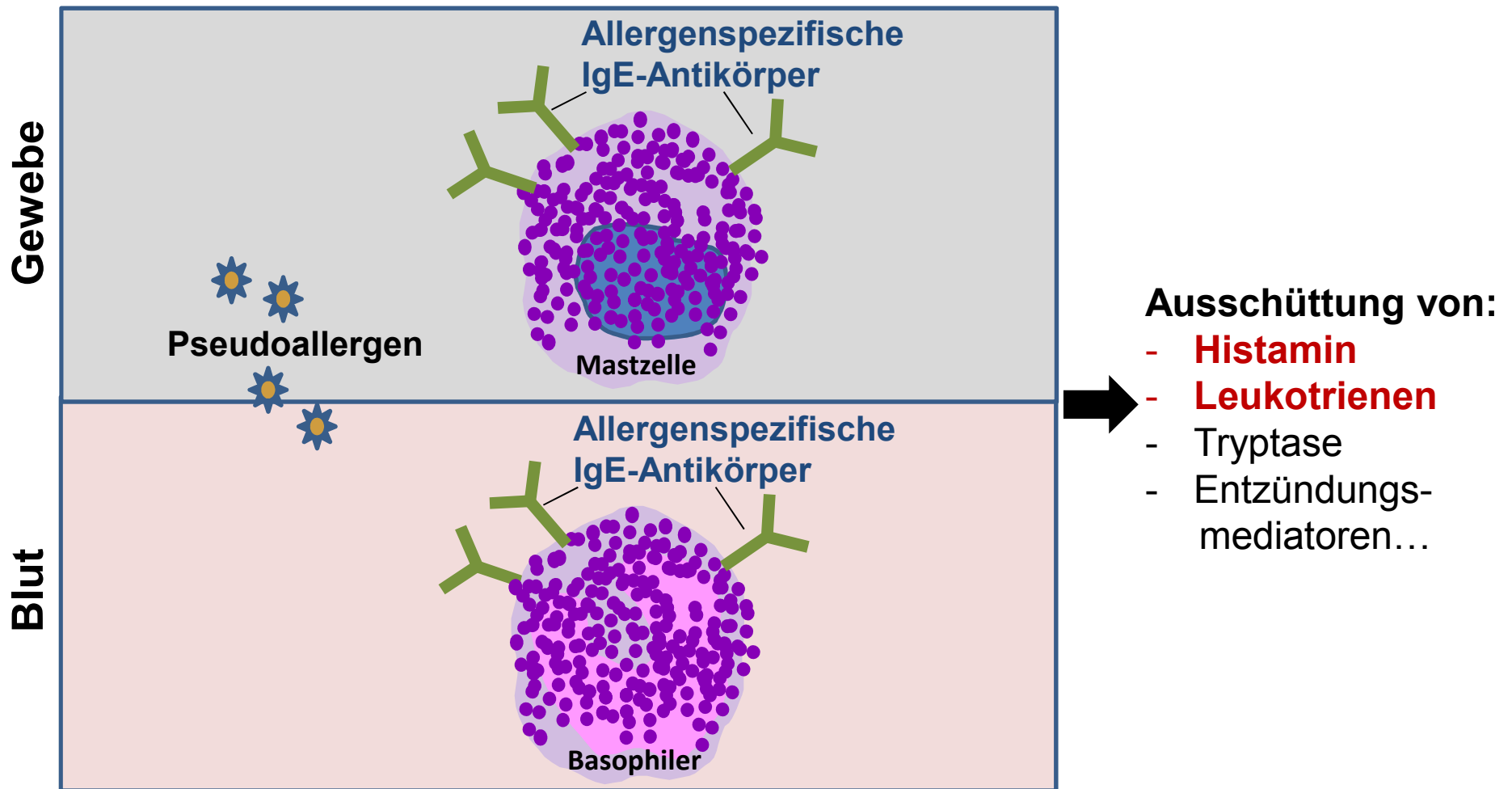
Wann macht der BDT Sinn?

Indikation 5: Pseudoallergie

Pseudoallergien sind IgE-Antikörper unabhängig, zeigen aber die gleiche Klinik!

Typ I – Allergie - Pseudoallergie

Pseudoallergie: IgE-Antikörper unabhängig! -> gleiche Klinik



Bsp für Pseudoanllergene ⚡ : Arzneistoffe, Lebensmittelzusatzstoffe

Nahrungsmittelzusatzstoffe -> oft Pseudoallergien

Farbstoffe

Tartrazin	E 102
Amaranth	E 123
Erythrosin	E 127
Cochenillenrot	E 124
Indigo-Kamin	E 132

weitere: Lactoflavin-5-Phosphat, Chinolingelb, Gelborange S, Azorubin, Patentblau V, Chlorophylle a und b, Curcumin

Symptomatik

Asthma, Urtikaria, Anaphylaxie
Asthma, Dermatitis
Urtikaria
Asthma, Dermatitis
Urtikaria

Konservierungsmittel

Benzoessäure	E 210
Benzoate	E 211-219
Sulfit/Schwefeldioxid	E 220-227

weitere: Sorbinsäure und Verbindungen (Na-Sorbat etc.), pHB-Ester und Verbindungen

Urtikaria, Asthma
Urtikaria, Asthma, Dermatitis
Urtikaria, Asthma, Anaphylaxie

Antioxidantien

Butylhydroxyanisol/BHA	E 320
Butylhydroxytoluol/BHT	E 312

Urtikaria, Dermatitis
Urtikaria

Indikationen für BDT

Indikation 5: Pseudoallergie

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Basophilen-Degranulationstest (BDT) Die durch das jeweilige Allergen induzierte Leukotrienmenge wird in pg/ml angegeben und kennzeichnet bei Werten > 200 pg/ml eine bestehende Sensibilisierung auf das entsprechende Allergen.			
c101 Lebensmittelfarbmischung I Die Mischung enthält: Amaranth (E123, Azorubin (E122), Chinolin-Gelb (E104), Cochinelle-Rot A (E124), Gelb-Orange/Sunset-Yellow (E110)	<50	pg/ml	< 200
c102 Lebensmittelfarbmischung II Die Mischung enthält: Erythrosin (E127), Patent-Blau (E131), Indigocarmin (E132), Brillant-Schwarz (E151)	<50	pg/ml	< 200
c103 Nahrungsmittelzusatzstoffe 1 Die Mischung enthält: Tartrazin, Natrium-Benzoat, Natrium-Nitrit, K-Metabisulfit, Na-Salicylat	<50	pg/ml	< 200
c104 Nahrungsmittelzusatzstoffe 2 Die Mischung enthält: Benzoesäure, Glutamat, Propyl-p-Hydroxybenzoat	822	pg/ml	< 200
Folgeuntersuchung			
Allergen 1 Glutamat	788	pg/ml	< 200

Wann macht der BDT Sinn?

Indikation 6: Risikoabschätzung für *in vivo* Provokationen

Nachweis spez. IgE auf ein Nahrungsmittel

Frage klinische Relevanz?



In vitro Provokation (BDT)



+



~~In vivo Provokation~~



-



In vivo Provokation

Zusammenfassung I

Zelluläre Allergiediagnostik Typ I - Basophilen Degranulationstest (BDT)

- Funktionstest (Messung einer Reaktion) -> in vitro Provokationstest
- keine Standard-Diagnostik, sondern dient der erweiterten Diagnostik
 - niedriges Gesamt-IgE
 - Abklärung klinische Relevanz
 - Risikoabschätzung für *in vivo* Provokation
- Einsatz bei unbekanntem Antigenen (z.B. Medikamente, Dentalersatzmaterialien, Berufsallergene, Schimmelpilze aus dem Umfeld des Patienten)
- bei Verdacht auf Pseudoallergie (IgE-unabhängig)

Achtung: Präanalytik beachten; anspruchsvolle Durchführung und Interpretation -> nur spezialisierte Labors

Typen der Hyperempfindlichkeitsreaktionen

Typ I - Sofort-Reaktion (atopisch / anaphylaktisch) -> **IgE** vermittelt

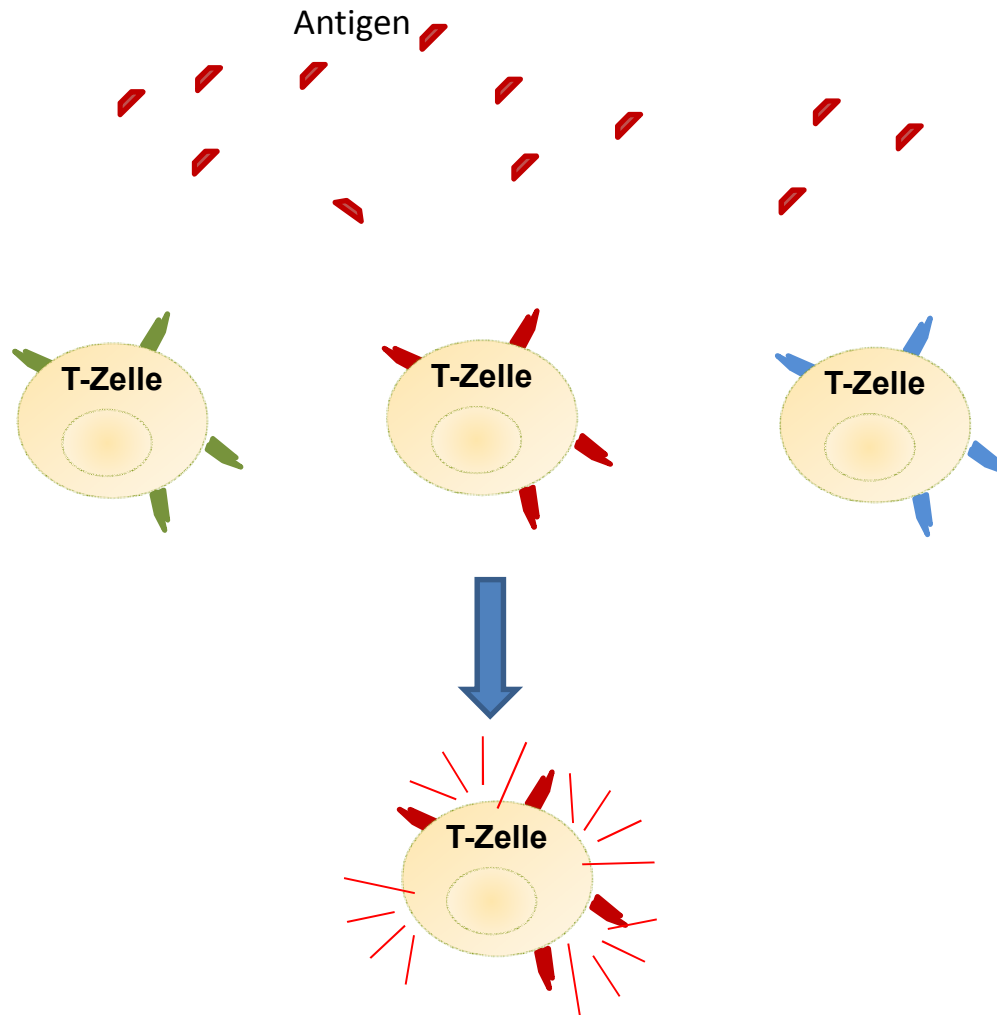
Typ II - Antikörper-abhängig (IgG)

Typ III - Immunkomplexe

Typ IV - Spättyp -> **T-Zell**-vermittelt

T-Lymphozyten – Spezifität

Was bedeutet Spezifität:

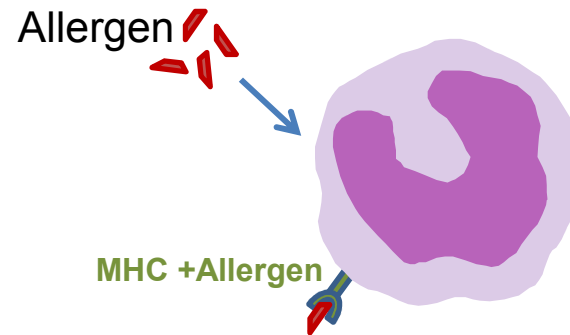


Selektive Erkennung

Selektive Aktivierung

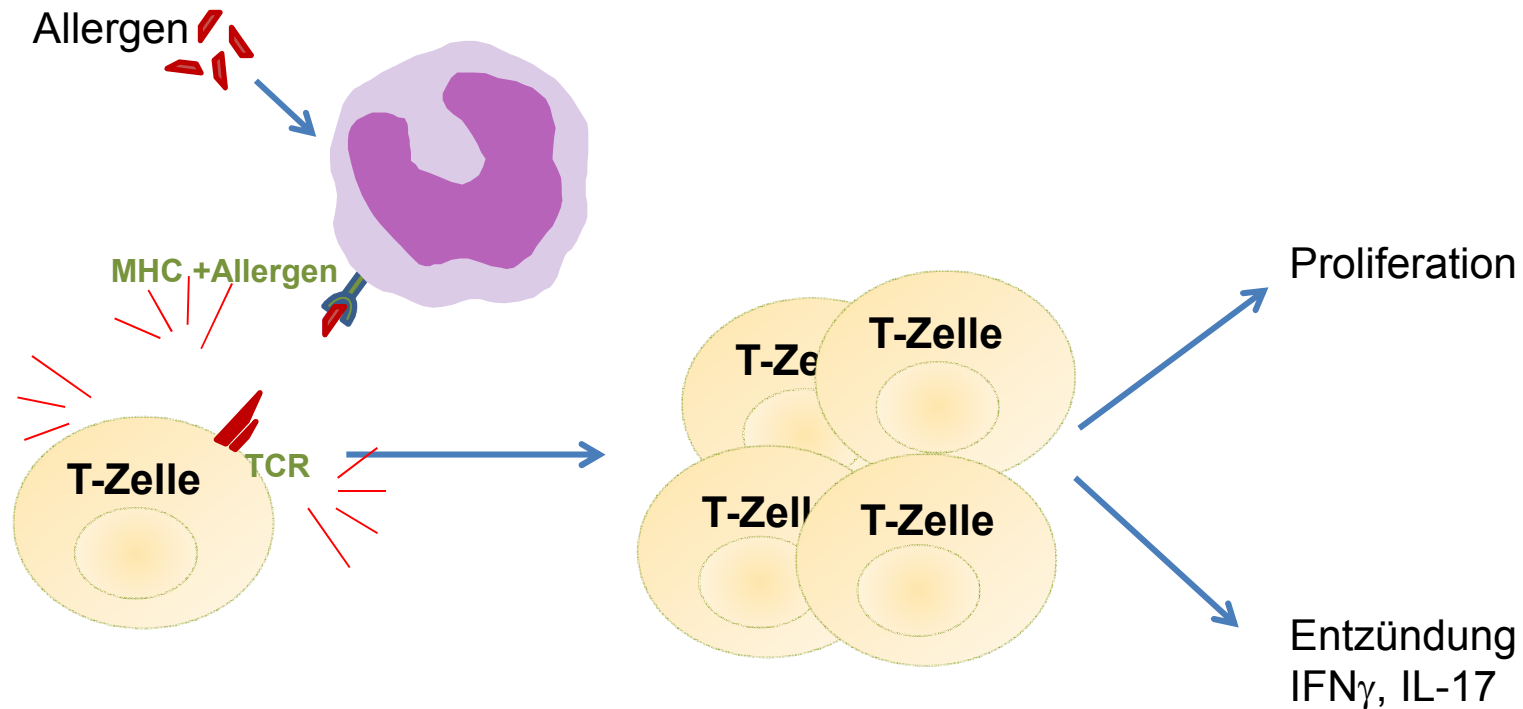
Typ IV-Allergie

Die Typ IV-Allergie wird durch spezifische T-Zellen vermittelt!



Typ IV-Allergie

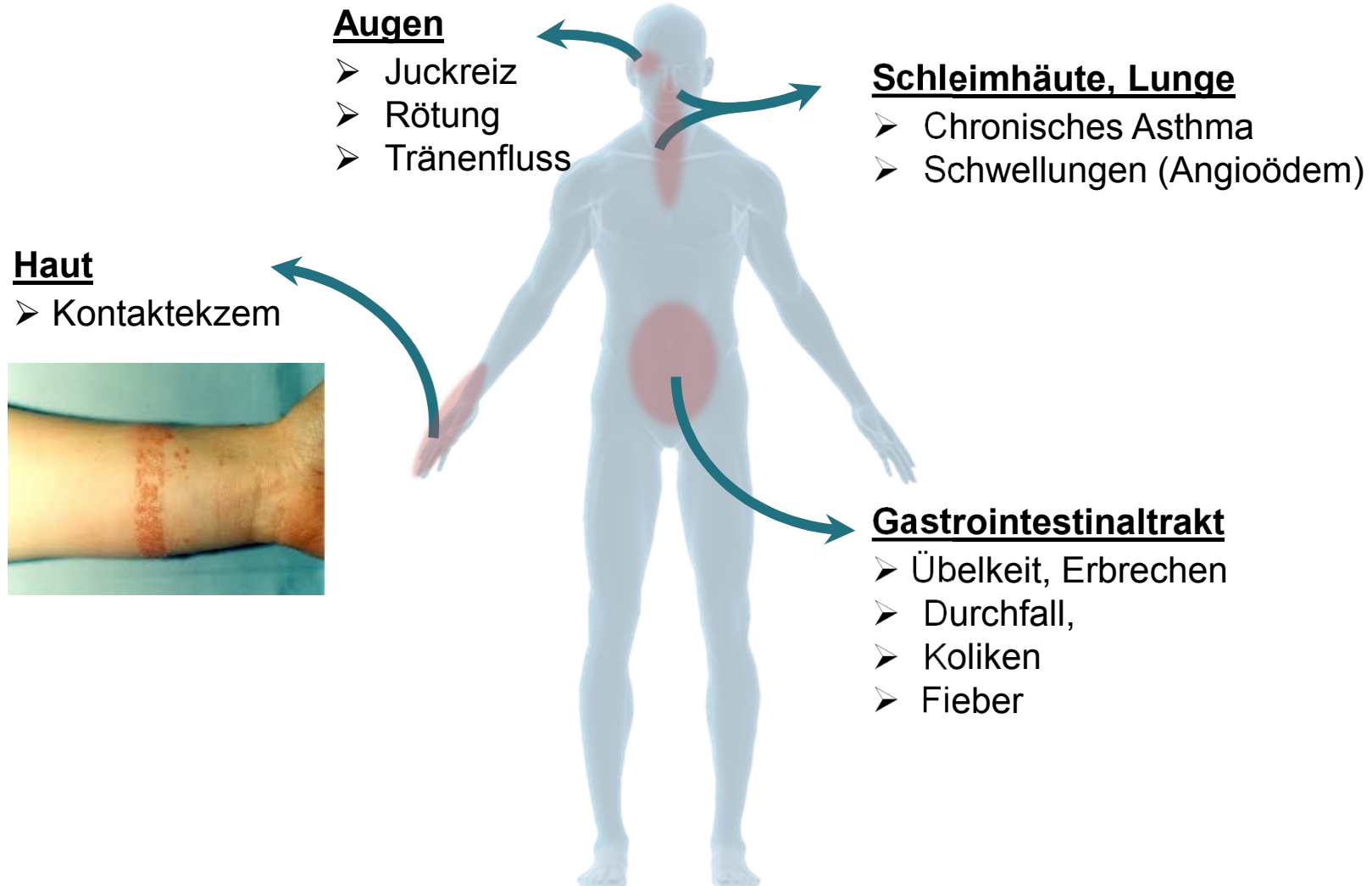
Die Typ IV-Allergie wird durch spezifische T-Zellen vermittelt!



Klinische Symptome: innerhalb von 24 bis 72 h!

Typ IV – Allergie - Symptome

Klinische Symptome: innerhalb von 24 bis 72 h!



Typ IV-Allergie - Diagnostik

Epikutantest (Patch-Test)



Hautmanifestation

Allergenaufnahme über Haut

- Metalle aus Schmuck,
- Berufsallergien (Chrom aus Zement usw.)
- Acrylate (Pflaster, Nagellacke)

LTT (Lymphozyten-Transformationstest)

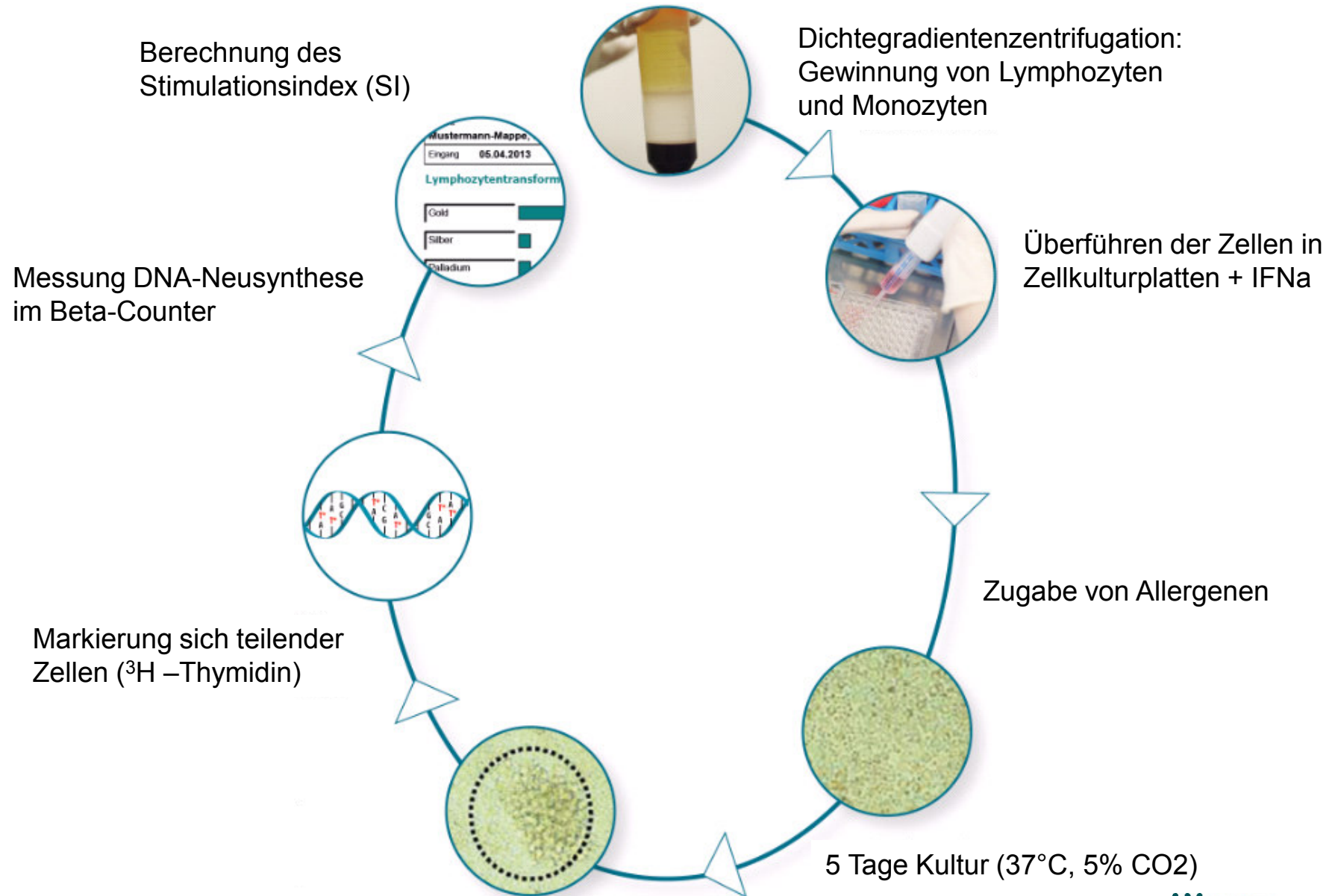


Systemische Manifestation

Allergenaufnahme nicht über Haut:

- über Schleimhäute z.B. Mundschleimhaut, Gastrointestinaltrakt (Medikamente, Dentalmetalle, Kunststoffbestandteile ...)
- durch endogene Exposition (Endoprothesen, Stents, Spiralen, Nägel, Platten, Zemente...)

LTT- Methodik

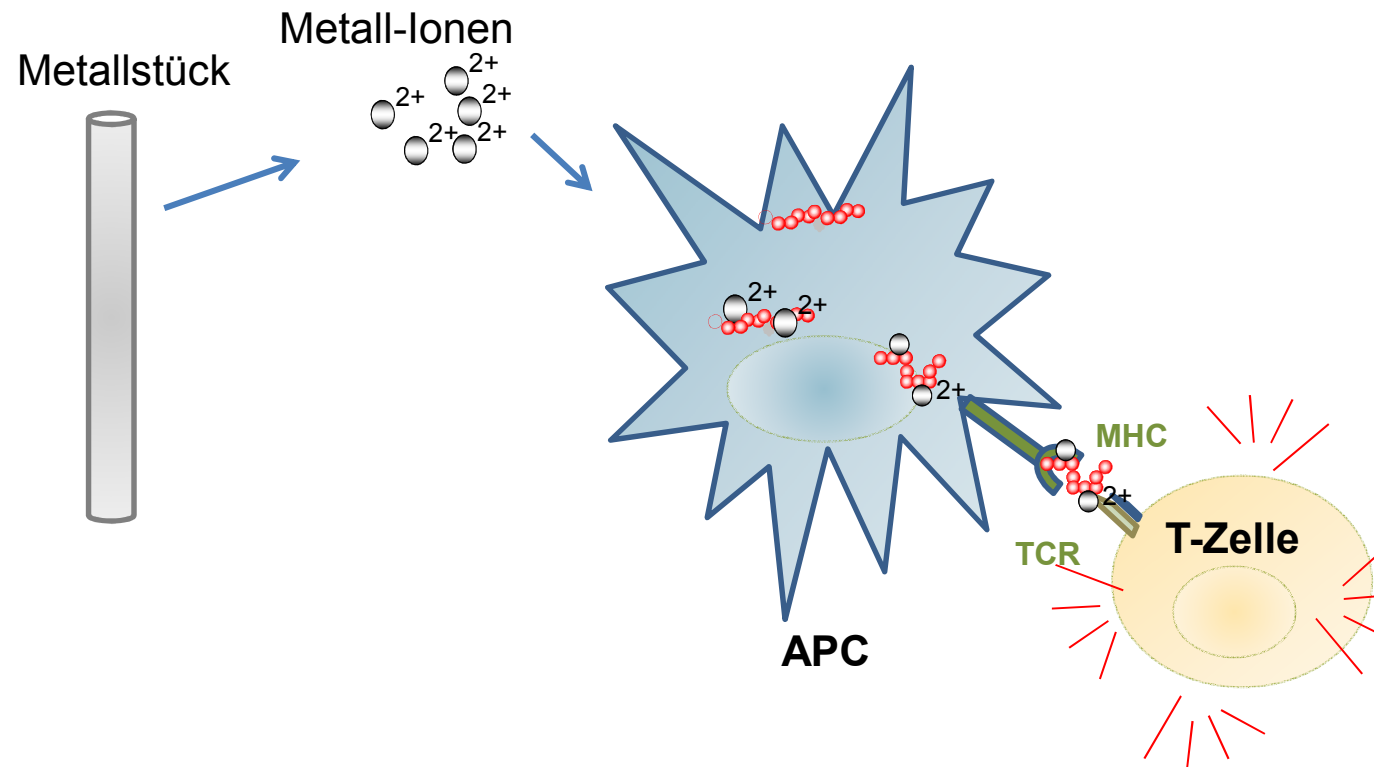


Wichtig:

- Der LTT zeigt eine **Sensibilisierung** auf!
- Eine Sensibilisierung ist eine **Voraussetzung** für eine Typ-IV-Allergie (klinische Symptomatik)
- Aber nicht jede Sensibilisierung hat eine Allergie zur Folge!

Wann macht der LTT in der Allergiediagnostik Sinn?

Indikation 1: Metallallergie



Metalle sind Haptene (Halbantigene)!

APC: Antigen-präsentierende Zelle

Wann macht der LTT in der Allergiediagnostik Sinn?

Indikation 1: Metallallergie

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest Metalle** (Heparinblut)

	SI		SI
Chrom	1,1	Quecksilber	1,2
Kobalt	1,1	Gold	1,0
Palladium	5,4	Nickel	15,9
Silber	1,4	Cadmium	1,0
Aluminium	1,0	Ethylquecksilber	1,0
Zinn	1,3	Molybdän	1,3
Kupfer	1,1	Platin	1,0

Leerwert (Negativkontrolle)	1585	(Normalwert < 4000 cpm)
Positivkontrolle (Antigen)	34573	cpm
Mitogenkontrolle (PWM)	53536	cpm

Hinweis: Die in Amalgam enthaltenen Legierungsmetalle sind Quecksilber, Silber, Kupfer und Zinn. Diese wurden im Profil einzeln getestet (siehe oben).


Wann macht der LTT in der Allergiediagnostik Sinn?

Indikation 2: Medikamentenallergie




Lymphozytentransformationstest Medikamente

Patient



Chloramphenicol

		SI
1:50		9,4
1:250		6,5
1:1000		3,4

Fusidinsäure

1:50		1,2
1:250		1,2
1:1000		1,0

Olopatadin

1:50		1,0
1:250		1,1
1:1000		1,1

Kontrollproband

1:50	1,4
1:250	1,2
1:1000	1,3

1:50	1,1
1:250	1,1
1:1000	1,2

1:50	1,1
1:250	1,3
1:1000	1,1

Basalwert **1775** cpm

Positivkontrolle (Antigen) **13,4** SI

Mitogenkontrolle (PWM) **22,4** SI

Ergebnisse von > 5 bei der Mitogenkontrolle PWM und > 3 bei der Antigenkontrolle (Tetanus/Candida/Influenza) sichern die Auswertbarkeit der Untersuchung.

Wann macht der LTT in der Allergiediagnostik Sinn?

Indikation 3: dentale Werkstoffe

Lymphozytentransformationstest Wurzelfüllmaterial

	SI		SI
Rohguttapercha	6,3	Silber	1,0
Perubalsam	1,1	Paraformaldehyd	1,2
Eugenol	1,4	Triethanolamin	1,2
PDMS	1,2	Kolophonium	4,8
Bisphenol A	1,2	Terpentinöl	1,4
Epichlorydrin	1,1	Silikonöl	1,0
Bismutoxid	1,0	Erdnussöl	1,1

Leerwert (Negativkontrolle)	881	
Positivkontrolle (Antigen)	50857 cpm	57,7
Mitogenkontrolle (PWM)	90921 cpm	103,2

Wann macht der LTT in der Allergiediagnostik Sinn?

Weitere Indikationen

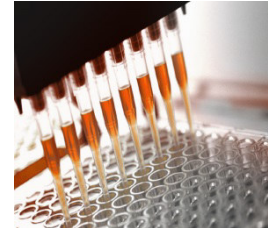
- Allergie auf Werkstoffe der Endoprothetik
- Allergie auf Zahnersatz- und Implantatmaterialien (Metalle, Acrylate, andere Inhaltsstoffe)
- Umweltschadstoffe (Flammschutzmittel, Weichmacher.....)
- unbekannte Allergen (Nativmaterial)
-

LTT versus Epikutantest

Epikutantest



LTT



- ***In vivo*** Test



- ***In vitro*** Test

- Nachweis Kontaktallergie - **lokal**



- Nachweis **systemischer** Sensibilisierung

- Risiko für Patienten:
 - Verstärkung klinischer Symptome
 - Induktion einer Sensibilisierung



- Kein Risiko für Patienten

- Ergebnis von Hautbeschaffenheit abhängig
 - > falsch + oder - Resultate



- Hautbeschaffenheit irrelevant

- Minimierung falsch positiver Ergebnisse durch gewissenhafte Etablierung und Validierung

„Qualitätssicherung beim Lymphozytentransformationstest“ – Addendum zum LTT-Papier der RKI-Kommission
„Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin. 2008, Bundesgesundheitsblatt; 51:1070–1076

Zusammenfassung II

Zelluläre Allergiediagnostik Typ IV – Lymphozytentransformationstest (LTT)

- Funktionstest (Messung einer Reaktion) -> in vitro Provokationstest
- bei Verdacht auf eine allergische Reaktion des Spättyps (Typ IV)
 - Vor allem bei systemischer Exposition (Schleimhaut, Magen-Darm-Trakt...)
- Einzige Labormethode zum Nachweis von Typ IV-Reaktionen
 - Vermeidung von *in vivo* Exposition durch Epikutantest (Risiko für Patient)

Achtung: Präanalytik beachten; anspruchsvolle Durchführung und Interpretation
-> nur spezialisierte Labors