

Schimmelpilzallergien

-

Pathogenese und Labordiagnostik

Dr. med. Volker von Baehr



Wirkungen von Schimmelpilzen auf den Menschen

- **Allergische (immunologische) Reaktionen**

Typ I **IgE-vermittelte Soforttypallergien**

Typ III **IgG-vermittelte Exogen-allergische Alveolitis**

Typ IV **durch T-Lymphozyten vermittelte systemische Sensibilisierung**

- **Schimmelpilz-induzierte (unspezifische) Entzündung**

Makrophagen-vermittelt (v.a. gastrointestinal bei *leaky gut*)

- **Toxische Wirkungen**

Immunsuppressive und toxische Effekte von aufgenommenen Mykotoxinen

- **Infektionen/Besiedlungen**

Mykosen – Aspergillosen (Lunge), Haut- und Nagelpilze, Darm



Saisonale Allergene

Baumpollen (April, Mai)
Gräserallergene (Mai – August)
Beifuss, Ambrosia (Juli-September)

Perenniale Allergene

Hausstaubmilben(kot)
Haustierallergene
Berufsallergene

Schimmelpilzallergene

Pilze in der Außenluft

Sommer >> Winter

Cladosporium herbarum
Alternaria alternata
Epicoccum nigrum
Botrytis cinerea

Herbst ↑

Aspergillus spez. (Kompostpilz)

Innenraum-Schimmelpilze

Ganzjährige Belastung

häufig im Winter sogar erhöht
wegen verminderter Lüftung

Stachybotris chartarum
Aspergillus versicolor
Penicillium spez.



Expositionsquellen verschiedener Schimmelpilze

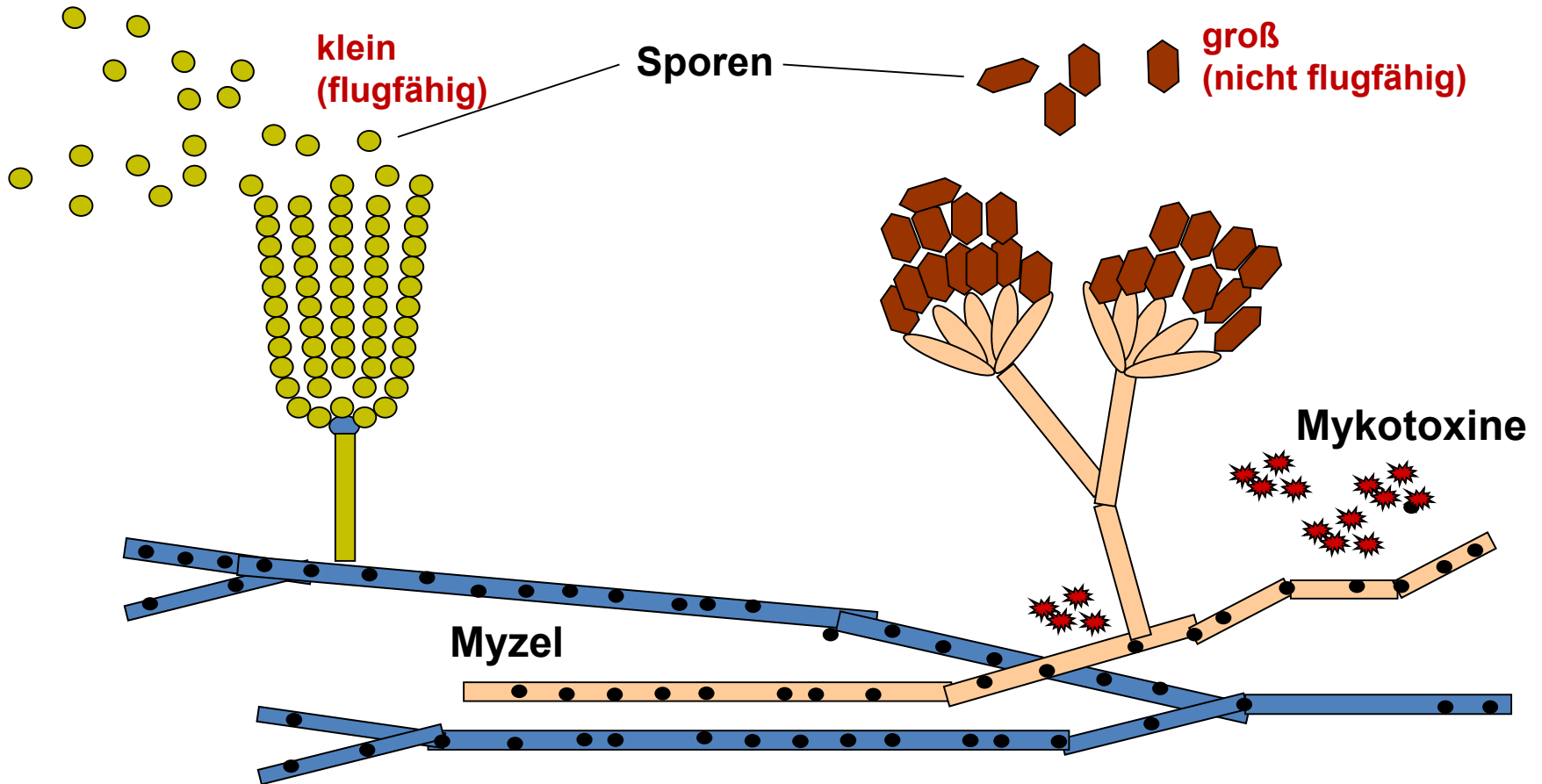
- *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*
⇒ Vegetation (Außenluft)
- *Aspergillus fumigatus*
⇒ Kompostierung, Verrottung von Pflanzenmaterial, Vogelkäfige, Nahrungsmittel
- *Penicillium* spezie
⇒ verderbende Lebensmittel, Hausstaub, Abfälle, Bioabfälle, Feuchteschäden
- *Stachybotris chartarum*, *Aspergillus versicolor*
⇒ sehr feuchte zellulosehaltige Baumaterialien (z.B. Gipskarton), Sauna
- *Aspergillus* spezie, *Wallemia sebi*
⇒ zellulosehaltige Materialien mit leichter Feuchte, Kindersandkästen
- *Eurotium* spp.
⇒ feuchtes Leder (Schuhe u.a), Tierhaltung
- *Wallemia sebi*, *Eurotium* spp.
⇒ Käfighaltung mit Einstreu



Pilzsporen und Myzelfragmente sind die Allergene

Penicillium chrysogenum

Stachybotris chartarum



	Typ I-Allergie	Typ IV-Allergie	Typ III-Allergie
	Soforttypallergie	systemische Sensibilisierung	Immunkomplex- Erkrankung
Mechanismus	IgE	spezifische T-Lymphozyten	IgG
Exposition	inhalativ > intestinal	Intestinal > inhalativ	inhalativ
Klinik	<u>Frühphase:</u> Rhinitis Asthma Urtikaria <u>Spätphase:</u> Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen- entzündungen	Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen- entzündungen <i>leaky gut</i> Immundefizite Verstärkung von Entzündungs- symptomen	Exogen-allergische Alveolitis - akut - subakut - chronisch !!!



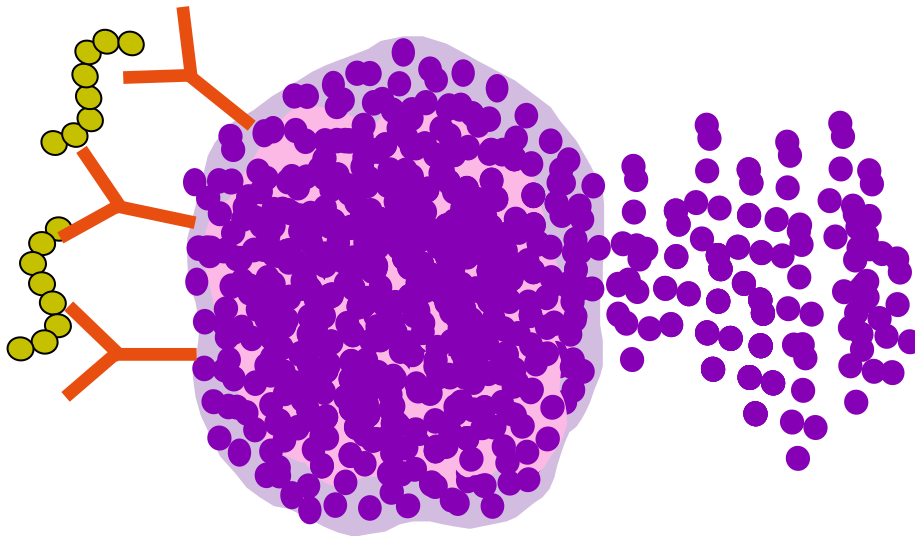
	Typ I-Allergie	Typ IV-Allergie	Typ III-Allergie
Mechanismus	Soforttypallergie IgE	systemische Sensibilisierung spezifische T-Lymphozyten	Immunkomplex- Erkrankung IgG
Exposition	inhalativ > intestinal	intestinal / endogen > inhalativ	inhalativ
Klinik	<u>Frühphase:</u> Rhinitis Asthma Urtikaria <u>Spätphase:</u> Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen- entzündungen	Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen- entzündungen <i>leaky gut</i> Immundefizite Verstärkung von Entzündungs- symptomen	Exogen-allergische Alveolitis - akut - subakut - chronisch !!!



Früh-(Akut)phase der IgE-vermittelten Typ-I-Allergie

Ausschüttung vasoaktiver Mediatoren innerhalb von Sekunden bis Minuten nach Kreuzvernetzung Mastzellgebundener IgE-Antikörper durch das Allergen

Schimmelpilze



Allergenspezifische
IgE-Antikörper

Histamin

Vasodilation

⇒ Ödeme, Flush

⇒ Rhinitis

Aktivierung von
Nervenfasern

⇒ Juckreiz, Schmerz

β 1-Aktivierung der
Bronchien

⇒ Asthma

.....

Chemotaxis

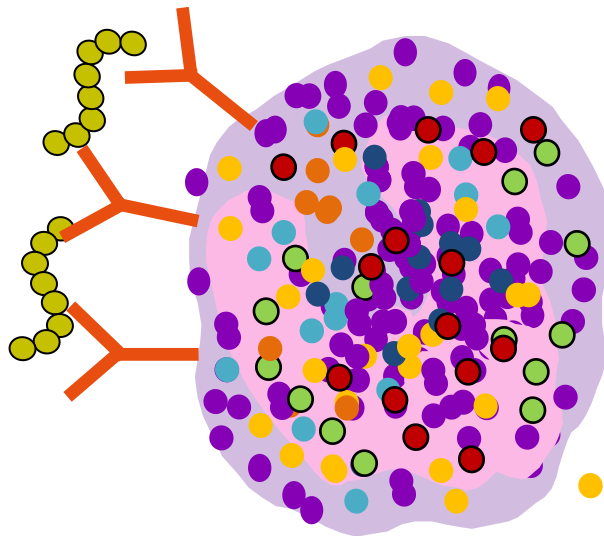
⇒ Entzündung



Spätphase der IgE-vermittelte Typ-I-Sensibilisierung

Nach 4-6 h beginnen aktivierte Mastzellen mit der Freisetzung von über 60 weiteren Entzündungsmediatoren

Schimmelpilze



Allergenspezifische
IgE-Antikörper

IL-1, IL-2,
IL-3, IL-4,
IL-5, IL-6,
IL-8, IL-10,
IL-13, TNF- α ,
MIPs
GM-CSF
Histamin
TGF- β
bFGF
VPF/VEGF,
PGD₂, LTB₄,
LTC₄, PAF,
Serotonin
ECP
Heparin
Chymase
Tryptase
Cathepsin G

**Chronische
Typ I-allergische
Entzündung**



Die Klinik bei Schimmelpilzallergien vom Typ I

Sofortreaktion

- Husten, Niesreiz, Fließschnupfen oder verstopfte Nase
- Verschleimte Atemwege, Asthma, Husten
- Gerötete, juckende bis tränende Augen

→ **Histamin**

Spätmanifestation der Typ I-Allergie

- Juckreiz, Hautekzeme
- vermehrte Müdigkeit, Antriebsarmut,
- Nasen-Nebenhöhlenentzündungen
- Darmentzündung (Durchfälle, Reizdarm)

→ **Leukotriene, Prostaglandine, Neuropeptide, Zytokine, ECP, Heparine u.v.a.**



Der Nachweis einer Typ I-Sensibilisierung erfolgt üblicherweise über das spezifische IgE im Serum im CAP-Test

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Allergiediagnostik			
IgE i.S. (3rd WHO) (FEIA)	83.5	kU/l	< 85.0
Allergenspez. IgE-Ak Schimmelpilze			
m6 Alternaria alternata CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m3 Aspergillus fumigatus CAP-Klasse 4 (SEHR HOCH): 17.51 - 50.00 kU/l	23.56	kU/l	< 0.10
m7 Botrytis cinerea CAP-Klasse 1 (GERING): 0.35 - 0.70 kU/l	0.43	kU/l	< 0.10
m2 Cladosporium herbarum CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m4 Mucor racemosus CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m1 Penicillium chrysogenum CAP-Klasse 4 (SEHR HOCH): 17.51 - 50.00 kU/l	21.54	kU/l	< 0.10

Laboranforderung lautet: IgE-Profil Schimmelpilze

Durch die starke Kreuzreaktivität der Spezies werden mit diesem Profil die üblichen Schimmelpilze weitestgehend abgedeckt.

Das Gesamt-IgE ist kein guter Screeningmarker für Typ I-Allergien !!!!



Das IgE-Testportfolio am IMD

Schimmelpilze & Mikroorganismen

- ⊕ Schimmelpilze (IgG)
Penicillium chrys, Cladosporium herb.,
Aspergillus fum., Alternaria alter., Botrytis cin.,
Stachybotrys atra

- ⊕ Schimmelpilze (IgE)
Penicillium chrys, Cladosporium herb.,
Aspergillus fum., Alternaria alter., Botrytis
cin., Mucor race.

- ⊕ Abklärung ABPA
Gesamt-IgE, sIgG und sIgE Aspergillus fum.
(inkl. sIgE Asp f2, Asp f4, Asp f6)

Mischungen

- falls Mischung positiv: Einzelabklärung
- MX4 Aspergillismischung
Asp. fumigatus, Asp. terreus, Asp. niger, Asp. flavus
- MX1 Schimmelpilzmischung
Penicillium chrysogenum, Cladosporium herbarum,
Aspergillus fumigatus, Alternaria alternata

Extrakte und Komponenten

- m6 Alternaria alternata ←
- m229 rAlt a1
- m228 Aspergillus flavus
- m3 Aspergillus fumigatus ←
- m218 rAsp f1
- m219 rAsp f2
- m220 rAsp f3
- m221 rAsp f4
- m222 rAsp f6
- m207 Aspergillus niger
- m36 Aspergillus terreus
- m12 Aureobasidium pullulans
- m7 Botrytis cinerea ←
- m5 Candida albicans
- m2 Cladosporium herbarum ←
- m16 Curvularia lunata
- m14 Epicoccum purpurascens
- m227 Malassezia spp.
- m4 Mucor racemosus ←
- m1 Penicillium chrysogenum ←
- m209 Penicillium glabrum
- m11 Rhizopus nigricans
- m80 Staphylococcus Enterotoxin A
- m81 Staphylococcus Enterotoxin B
- m223 Staphylococcus Enterotoxin C
- m226 Staphylococcus Enterotoxin TSST
- m15 Trichoderma viride



Falsch negative Befunde sind im CAP-IgE-Test möglich.

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Allergiediagnostik			
IgE i.S. (3rd WHO) (FEIA)	23.44	kU/l	< 85.0
Allergenspez. IgE-Ak Schimmelpilze			
m6 Alternaria alternata CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m3 Aspergillus fumigatus CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m7 Botrytis cinerea CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m2 Cladosporium herbarum CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m4 Mucor racemosus CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m1 Penicillium chrysogenum CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10

Warum?

Folgt später



.... deshalb ist es sinnvoll, (zusätzlich) funktionelle Allergietest's einzusetzen

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

Allergiediagnostik

Allergenspezifisches IgE i.S.

Methode: FEIA (ImmunoCAP, ThermoFisher - Phadia)

m6 Alternaria alternata CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m3 Aspergillus fumigatus CAP-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.10	kU/l	< 0.10
m1 Penicillium chrysogenum CAP-Klasse 0 (GRENZWERTIG): 0.10 - 0.34 kU/l	0.25	kU/l	< 0.10

Basophilenaktivierungstest (BAT)

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.

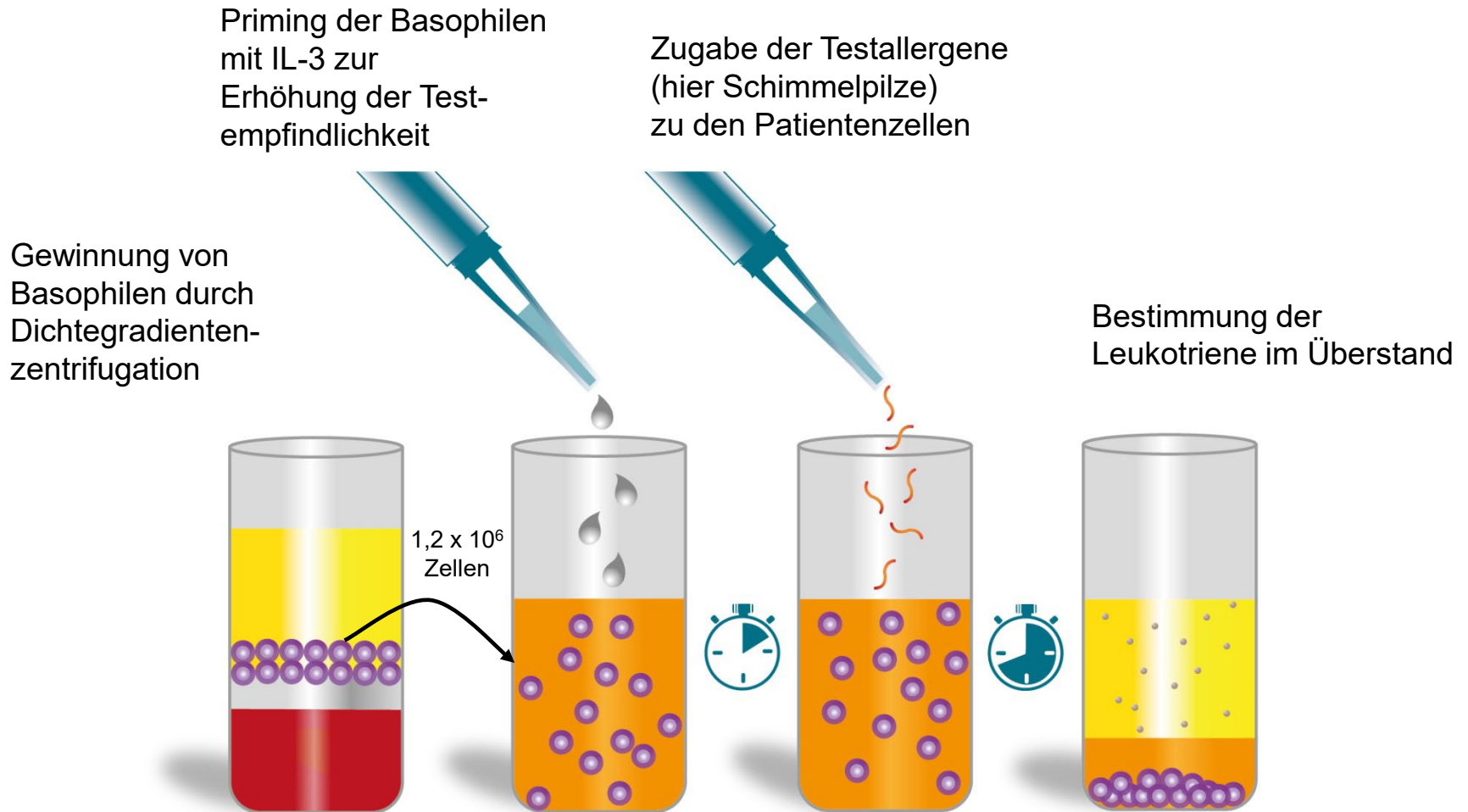
m1 Penicillium chrysogenum	1270	pg/ml	< 200
m3 Aspergillus fumigatus	35.5	pg/ml	< 200
m6 Alternaria alternata	912	pg/ml	< 200

Interpretation

Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber den beiden markierten Allergen.



Der Basophilen-Aktivierungstest (BAT) ist der Funktionelle Allergietest für die Typ I-Allergie



Warum können sich beide Test's unterscheiden ?

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

Allergiediagnostik

Allergenspezifisches IgE i.S.

Methode: FEIA (ImmunoCAP, ThermoFisher - Phadia)

m6	Alternaria alternata	<0.10	kU/l	< 0.10
	CAP-Klasse 0 (NEGATIV)			
m3	Aspergillus fumigatus	<0.10	kU/l	< 0.10
	CAP-Klasse 0 (NEGATIV)			
m1	Penicillium chrysogenum	0.25	kU/l	< 0.10
	CAP-Klasse 0 (GRENZWERTIG): 0.10 - 0.34 kU/l			

Basophilenaktivierungstest (BAT)

.
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.

m1	Penicillium chrysogenum	1270	pg/ml	< 200
m3	Aspergillus fumigatus	35.5	pg/ml	< 200
m6	Alternaria alternata	912	pg/ml	< 200

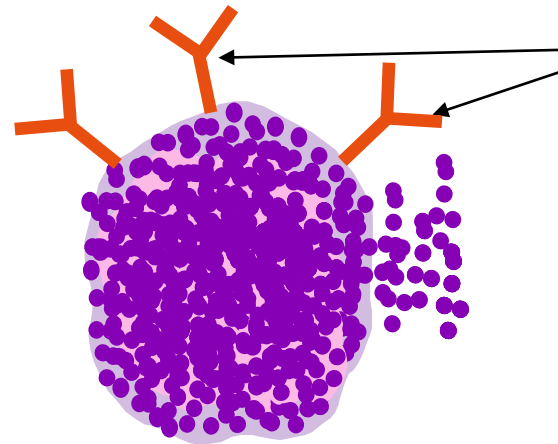
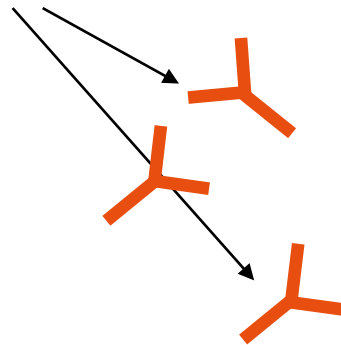
Interpretation

Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber den beiden markierten Allergen.

1.

Manche Patienten haben sehr hoch-affine (bindungsfreudige) IgE Antikörper die zum überwiegenden Teil auf Zellen (Basophilen und Mastzellen) gebunden sind und deshalb im Serum nicht messbar sind.

Freie IgE-Antikörper,
klinisch ohne Bedeutung aber
im CAP-Test nachweisbar

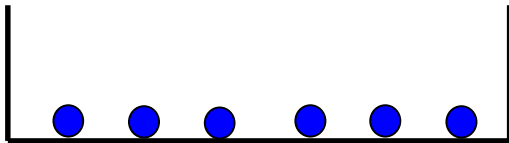


Fc ϵ -zellgebundene
IgE-Antikörper,
klinisch entscheidend,
aber nicht im CAP-Test
nachweisbar
(nur im BAT oder über
Provokationsteste)

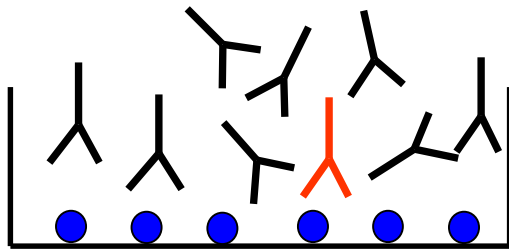


2.

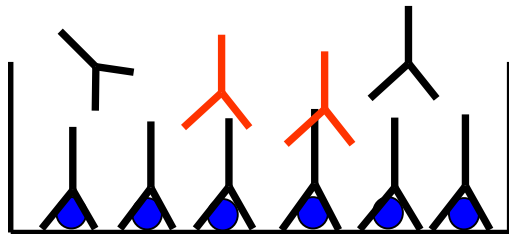
Manche Patienten haben hohe IgG-Titer auf die Schimmelpilze, welche die IgE-CAP-Analyse kompetitiv stören.



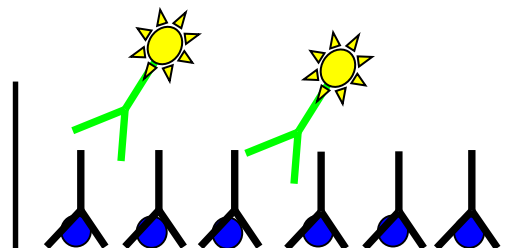
Schimmelpilzproteine,
am Boden der ELISA-Testplatte



Zugabe von Patientenserum mit
IgG- und **IgE**-Antikörpern



Bei hohen IgG-Titern
Beladung der Schimmelpilzproteine,
damit Blockade der IgE-Bindung



Sekundär Anti-IgE (Fc)-Antikörper
bindet nicht an IgG
Folge: negatives Signal → (falsch) negativer Test

Nachweis der IgG-Antikörper gegen Schimmelpilze

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Allergiediagnostik			
Allergenspez. IgG-Ak Schimmelpilze			
m6 IgG Alternaria alternata	8.8	mg/l	< 12
m3 IgG Aspergillus fumigatus	84.5	mg/l	< 39
m2 IgG Cladosporium herbarum	38.5	mg/l	< 37
m1 IgG Penicillium chrysogenum	43.5	mg/l	< 27
m7 IgG Botrytis cinerea	23.6	mg/l	< 115
m24 IgG Stachybotrys atra	77.3	mg/l	< 11

Erhöhte IgG-Titer gegen Schimmelpilze sind nicht gleichzusetzen mit einer allergischen Sensibilisierung sondern können auf eine andauernde Exposition hinweisen.

Es wird allerdings immer die Beurteilung im Verlauf empfohlen (Kontrolle der Expositionsvermeidung).

Laboranforderung lautet: IgG-Profil Schimmelpilze

IgG-Analyse dient in der Umweltmedizin als Expositionshinweis, v.a. zur Beurteilung der Expositionsvermeidung

Empfehlung zum Nachweis von Typ I-Allergien

1. IgE-Nachweis im Serum (CAP-Test)
2. Bei negativem Ergebnis Durchführung des Basophilen-Aktivierungstest (BAT)
3. ggf. IgG-Nachweis im Serum als Expositionsmarker

Damit nicht zu klärende Frage bei undifferenzierten Symptomen:

Reagiert der sensibilisierte Patient auf die Schimmelpilze aus seinem Wohn- oder Arbeitsumfeld ?



Aufstellen von Sabouraud-Agar Platten im Wohn- oder Arbeitsumfeld des Patienten für 24 h, dann Anzucht bei Raumtemperatur und Testung auf Nativallergene im Labor im Falle eines Bewuchses.



Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Allergiediagnostik			
Basophilenaktivierungstest (BAT)			
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 Platte Arbeitsplatz 1	87	pg/ml	< 200
Allergen 2 Platte Arbeitsplatz 2	<50	pg/ml	< 200
Allergen 3 Platte Hobbyraum	833	pg/ml	< 200
Allergen 4 Platte Bad	1923	pg/ml	< 200
Interpretation			
Nachweis einer Sensibilisierung vom Typ I gegenüber den angezüchteten Schimmelpilzkulturen der Platten Hobbyraum und Bad.			



	Typ I-Allergie	Typ IV-Allergie	Typ III-Allergie
	Soforttypallergie	systemische Sensibilisierung	Immunkomplex- Erkrankung
Mechanismus	IgE	spezifische T-Lymphozyten	IgG
Exposition	inhalativ > intestinal	intestinal / endogen > inhalativ	inhalativ
Klinik	<u>Frühphase:</u> Rhinitis Asthma Urtikaria <u>Spätphase:</u> Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen- entzündungen	Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen- entzündungen <i>leaky gut</i> Immundefizite Verstärkung von Entzündungs- symptomen	Exogen-allergische Alveolitis - akut - subakut - chronisch !!!



Die Klinik bei Schimmelpilzallergien Typ I vs. Typ IV

Typ I-Allergie (Sofortreaktion)

- Husten, Niesreiz, Schnupfen oder verstopfte Nase
- Verschleimte Atemwege, akute Atemnot
- Gerötete, juckende bis tränende Augen

Spätmanifestation der Typ I-Allergie

- Juckreiz, Hautekzeme
- vermehrte Müdigkeit, Antriebsarmut,
- Nasen-Nebenhöhlenentzündungen

Typ IV-Allergie

- Hautekzeme, Entzündung der Schleimhäute
- chronische Nebenhöhlenentzündungen
- Kopfschmerzen, vermehrte Müdigkeit, Antriebsarmut,
- verminderte Konzentrationsfähigkeit
- diffuse Schmerzen in Gelenken und Weichteilen
- Förderung von Typ I-Allergieentwicklung

Histamin

**Leukotriene
Prostaglandine
u.a.**

Interferon- γ

IL-17

IL-2

IL-4



Expositionswege bei Typ IV-Allergien

- Inhalative Aufnahme hat geringe Bedeutung

- **Endogene Exposition**

Kontakt zu im Körper persistierenden Schimmelpilzallergenen über endogene Expositionsquellen (Nasen-Neben-Höhle, Zahnherde, Darm...)

- **Intestinale Aufnahme (Darm)**

Aufnahme der Allergene über den Gastrointestinaltrakt (Nahrungsmittel, inhalativ aufgenommene und verschluckte Antigene)



Intestinale Exposition ist über Lebensmittel möglich

Schimmelpilzart	Lebensmittel
Aspergillus flavus	Nüsse, Nussmehle, Pistazien, Gewürze
Aspergillus niger	Trockenfrüchte, Gewürze, Zwiebeln
Aspergillus penicillioides	Gewürze, Trockenfrüchte, Nüsse, Backzutaten
Aureobasidium pullulans	Weizen, Gerste, Hafer, Früchte, Tomaten, Fruchtsaftgetränke
Botrytis cinerea, Rhizopus spp., Mucor spp.	Weiche Früchte (Trauben, Erdbeeren etc.)
Eurotium herbariorum	Getrocknete Lebensmittel (Brot, Reis, Fleischprodukte, Gewürze usw.)
Fusarium spp.	Getreide, Kartoffeln
Geotrichum candidum	Milchprodukte
Penicillium camemberti	Käse
Penicillium citrinum, Penicillium digitatum, Penicillium italicum	Zitrusfrüchte, Orangensaft
Penicillium commune	Käse
Penicillium expansum	Äpfel, Kernfrüchte
Penicillium funiculosum	Getreide, Zitrusfrüchte
Penicillium olsonii	Tomaten, Salami, Bohnen
Penicillium roquefortii	Roggenbrot, Käse
Scopulariopsis brevicaulis	Weizen, Äpfel, Sojabohnen, Nüsse, Fleisch, Milch und Milchprodukte
Trichoderma spp.	Weizen, Nüsse, Tomaten, Kartoffeln, Zitrusfrüchte, Margarine



Die Schimmelaufnahme über den Darm nimmt zu, wenn die Darmwand entzündet und die Permeabilität erhöht ist.

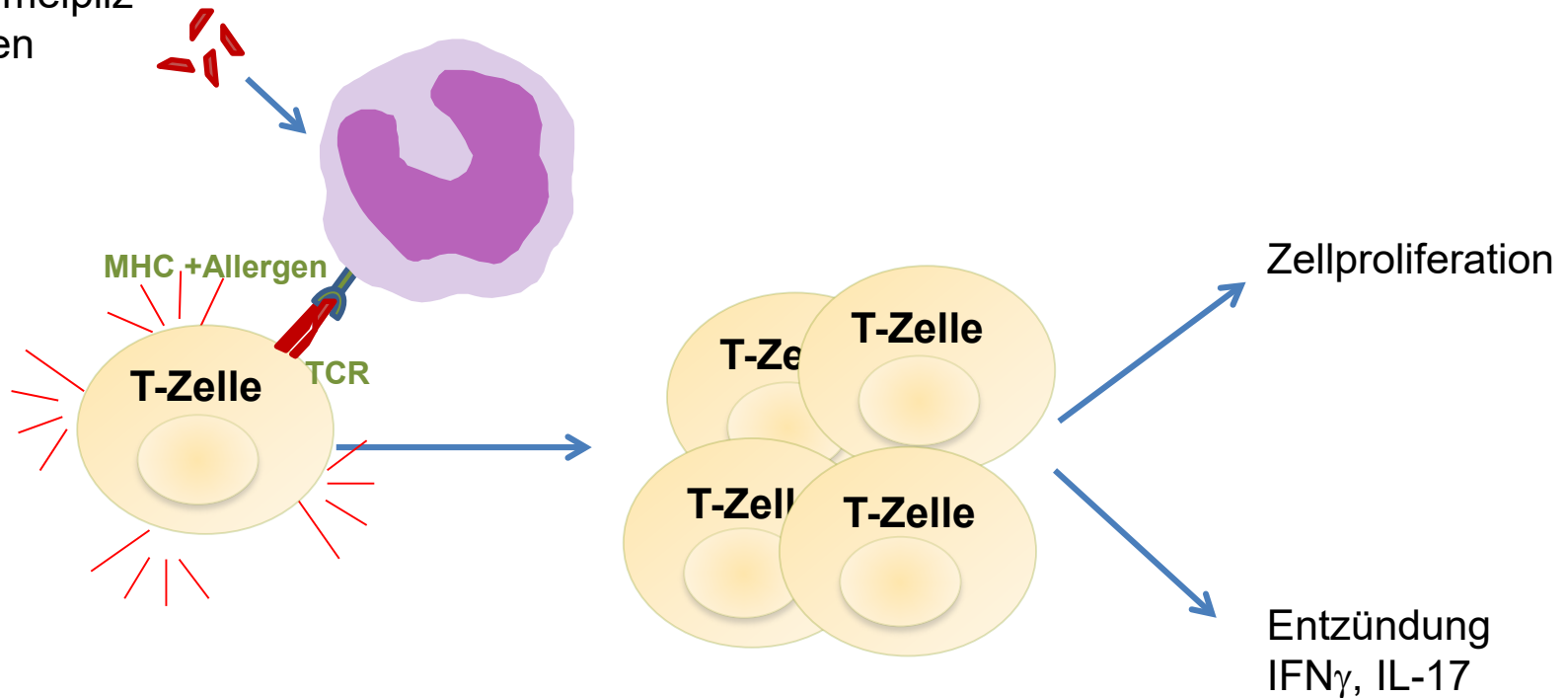
IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht	
Untersuchung	Wert	Referenzbereich	
Funktionelles Mikrobiotaprofil (PCR + Kultur)			
Dysbiose-Index	2	1	
bakterielle Diversität	1,8	> 2,5	
Butyratbildung	normal	normal	
Mukosaprotektion	vermindert	normal	
Kolonisationsresistenz	vermindert	normal	
Proinflammatorische Bakterien	erhöht	normal	
Histaminbildner	normal	normal	
Candida-Pilze	normal	normal	
pH-Messung	7,5	5,5 - 6,5	

Butyratbildung (PCR)		
Anaerobutyricum hallii	normal	
Eubacterium rectale	vermindert	
Faecalibacterium prausnitzii	normal	
Mukosaprotektion (PCR)		
Akkermansia muciniphila	vermindert	
Faecalibacterium prausnitzii	normal	
Lactobacillus spp.	normal	
Kolonisationsresistenz (PCR)		
Bacteroides spp.	vermindert	
Bacteroides spp. & Prevotella spp.	normal	
Bifidobacterium spp.	vermindert	
Lactobacillus spp.	normal	
Immunmodulierende Bakterien (Kultur)		
Enterococcus spp.	8x10 ⁴	KBE/g
Escherichia coli	8x10 ⁸	KBE/g
Proinflammatorische Bakterien (Kultur)		
Enterobacteriaceae	< 1x10 ⁶	KBE/g
E.coli Biovare	< 1x10 ⁶	KBE/g
Citrobacter spp.	> 1x10 ⁸	KBE/g
Enterobacter spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g
Klebsiella spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g
Serratia spp.	< 1x10 ⁶	KBE/g

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht	
Untersuchung	Wert	Referenzbereich	
Zytokinprofil im Stuhl (ECLIA)			
IL-1b im Stuhl	91,6	pg/g < 61	
IL-6 im Stuhl	24,3	pg/g < 67	
TNF alpha im Stuhl	89,0	pg/g < 58	
IL-8 im Stuhl	110,4	pg/g < 162	
IFN gamma im Stuhl	533,1	pg/g < 253	
IL-4 im Stuhl	2,8	pg/g < 7	
IL-10 im Stuhl	4,7	pg/g 8 - 30	
Calprotectin im Stuhl (ELISA)			
Calprotectin im Stuhl (ELISA)	20	µg/g < 50	
EPX (EDN) (ELISA)			
EPX (EDN) (ELISA)	818	ng/g < 1358	
Lysozym (ELISA)			
Lysozym (ELISA)	371	ng/g < 600	
sekretorisches IgA (ELISA)			
sekretorisches IgA (ELISA)	2330	µg/g 510 - 2040	
Alpha-1-Antitrypsin (ELISA)			
Alpha-1-Antitrypsin (ELISA)	292	µg/g < 268	
Zonulin im Stuhl (ELISA)			
Zonulin im Stuhl (ELISA)	78	ng/g < 145	

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

Schimmelpilz-
allergen



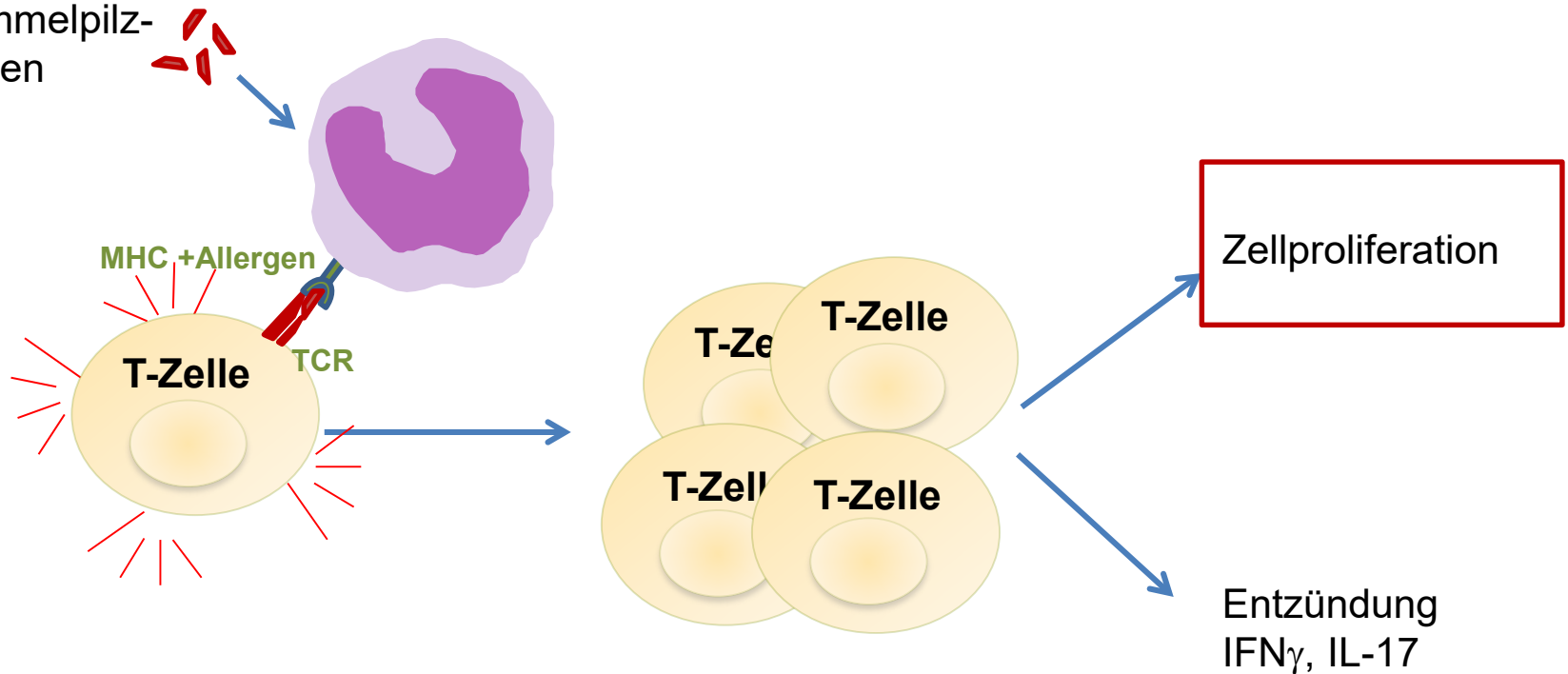
Klinische Symptome: innerhalb von 24 bis 72 h!

Der LTT ist eine Labormethode zum Nachweis Antigen-spezifischer T-Zellen im Blut des Patienten

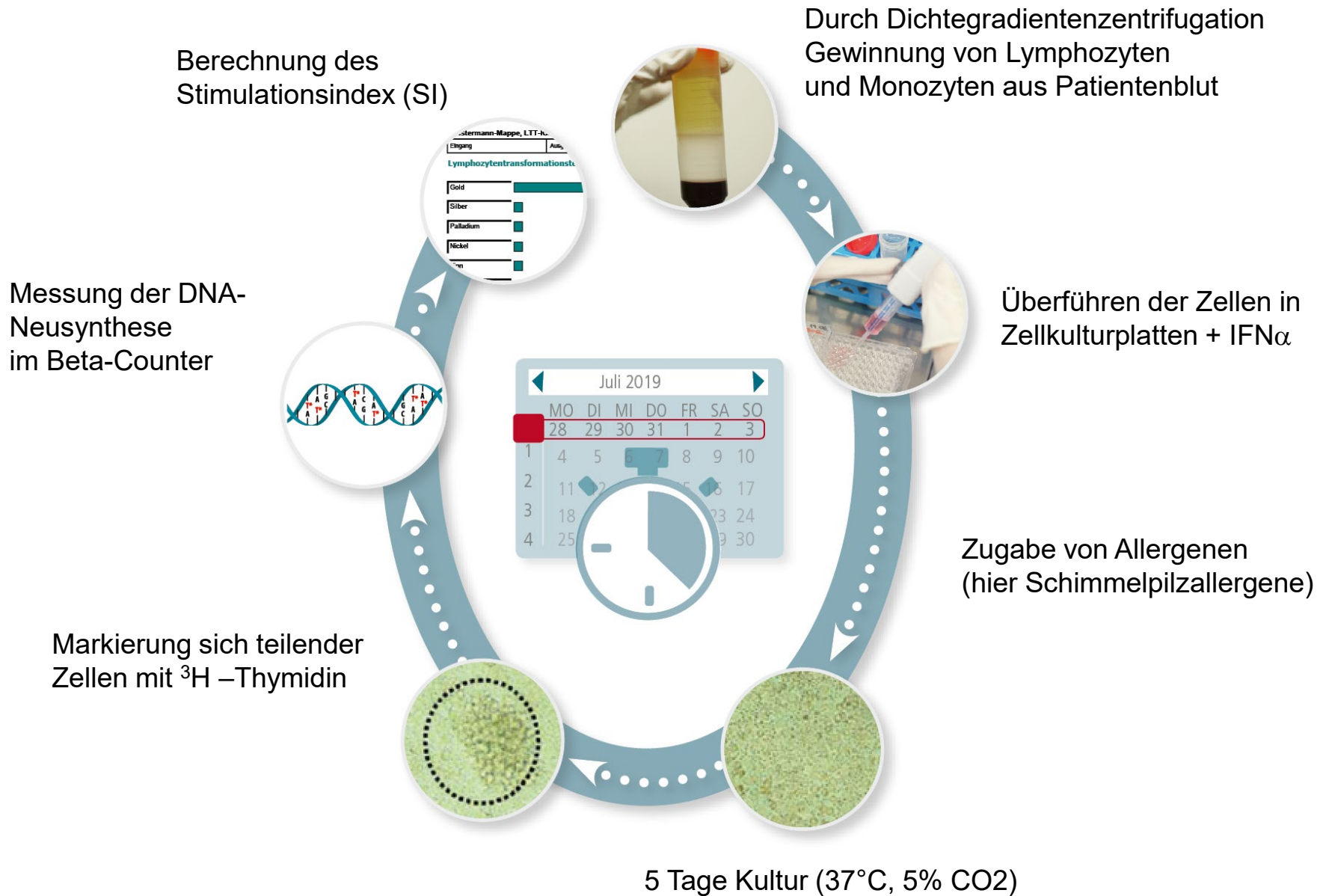
Testprinzip des LTT:

Nachweis der in vitro-induzierten Aktivierung von Lymphozyten → Zellproliferation

Schimmelpilz-
allergen



LTT- Methodik



Diagnostik der Typ-IV-Sensibilisierung mit dem LTT

Lymphozytentransformationstest Schimmelpilze

Eingang 07.01.2025	Ausgang 13.01.2025	Tagesnummer	IMD Berlin MVZ Nicolaistraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Telefon: +49 30 77001-220, Fax: +49 30 77001-236
Patient	Geburtsdatum	Versicherung	Kennz. OI/II/III

	SI		SI
Alternaria	11,3	Trichophyton	1,8
Cladosporium	3,4	Botrytis	1,6
Rhizopus	1,1	Verwendet wurden gefriergetrocknete Standardlyophilisate (Allergopharma, Reinbeck) 1. Alternaria alternata, 2. Cladosporium herbarum, 3. Rhizopus nigricans, 4. Penicillium chrysogenum, 5. Mucor mucedo, 6. Stachybotris spp., 7. Aspergillus fumigatus, 8. Trichophyton mentagrophytes, 9. Botrytis cinerea	
Penicillium	1,5		
Mucor	1,2	Candida	17,3
Stachybotris	1,5	Positivkontrolle (Antigen)	22,3
Aspergillus	11,3	Eine zumindest mäßiggradige Sensibilisierung gegenüber Candida albicans ist auf Grund des stattgefundenen Kontaktes normal.	
Leerwert (Negativkontrolle)	1337		
Positivkontrolle (Antigen)	29815 cpm	22,3	
Mitogenkontrolle (PWM)	69300 cpm	51,8	

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

Die angegebenen Werte sind die Stimulationsindizes (SI) für das jeweilige Schimmelpilzantigen (Mittelwert aus Dreifachansätzen). Dieser ist der Quotient aus der Antigen-induzierten- und der unstimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert). Ein SI > 3 bedeutet eine mehr als dreifache Aktivierung im Vergleich zum Leerwert und beweist die Existenz von zirkulierenden Antigen-spezifischen T-Zellen im Patientenblut (positives Ergebnis). Die Interpretation des Candida Befundes erfolgt auch in Relation zu der darunter dargestellten Antigen Kontrolle, da bei Candida eine moderate T-Zell Gedächtnisantwort als Zeichen einer abgelaufenen Infektion normal ist.

Im LTT Nachweis einer zellulären Sensibilisierung vom Typ IV gegenüber den Schimmelpilzantigenen Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus und Cladosporium herbarum. Gegenüber LTT-positiven Allergenen sollte eine Exposition vermieden werden. Zur Hilfestellung verweisen wir auf die beiliegende Patienteninformation.



... oder auf Nativmaterial aus der Patientenumgebung

Lymphozytentransformationstest Nativmaterial

Eingang	17.12.2024	Ausgang	23.12.2024	Tagesnummer	IMD Berlin MVZ Nicolaistraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Telefon: +49 30 77001-220, Fax: +49 30 77001-236
Patient	Geburtsdatum			Versicherung	Kennz. OI/II/III

Schimmelprobe Wohnzimmer

Ansatz	SI
Ansatz 1	10,4
Ansatz 2	10,5

Schimmelprobe Schlaf/ Treppen

Ansatz	SI
Ansatz 1	1,2
Ansatz 2	1,3

Schimmelprobe Bad klein

Ansatz	SI
Ansatz 1	1,4
Ansatz 2	1,7

Schimmelproben Arbeitszimmer 2 Boden

Ansatz	SI
Ansatz 1	3,6
Ansatz 2	5,5

Leerwert (Negativkontrolle)	1448	
Positivkontrolle (Antigen)	48916 cpm	33,8
Mitogenkontrolle (PWM)	36693 cpm	25,3

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

Die angegebenen Werte neben den Balken sind die Stimulationsindizes (SI) für das jeweilige Material (Mittelwert von 3 Parallelansätzen). Der Stimulationsindex ist der Quotient aus der Material-induzierten- und der unstimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert in cpm). Ein SI > 3 bedeutet eine mehr als dreifache Aktivierung im Vergleich zum Leerwert und beweist die Existenz von zirkulierenden allergenspezifischen T-Zellen im Patientenblut (positives Ergebnis, zelluläre Sensibilisierung). Ein SI < 2 gilt als sicher negativ. Ergebnisse zwischen 2 und 3 sind als grenzwertig anzusehen (schwache bzw. fragliche Sensibilisierung), die ggf. kontrolliert werden sollten.

Nachweis einer zellulären Sensibilisierung vom Typ IV gegenüber den getesteten Nativmaterialproben "Wohnzimmer" und "Arbeitszimmer 2 Boden".



	Typ I-Allergie	Typ IV-Allergie	Typ III-Allergie
	Soforttypallergie	systemische Sensibilisierung	Immunkomplex-Erkrankung
Mechanismus	IgE	spezifische T-Lymphozyten	IgG
Exposition	inhalativ > intestinal	intestinal / endogen > inhalativ	inhalativ
Klinik	<u>Frühphase:</u> Rhinitis Asthma Urtikaria <u>Spätphase:</u> Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen-entzündungen	Ekzeme Fatigue Nebenhöhlen-entzündungen <i>leaky gut</i> Immundefizite Verstärkung von Entzündungs-symptomen	Exogen-allergische Alveolitis - akut - subakut - chronisch !!!

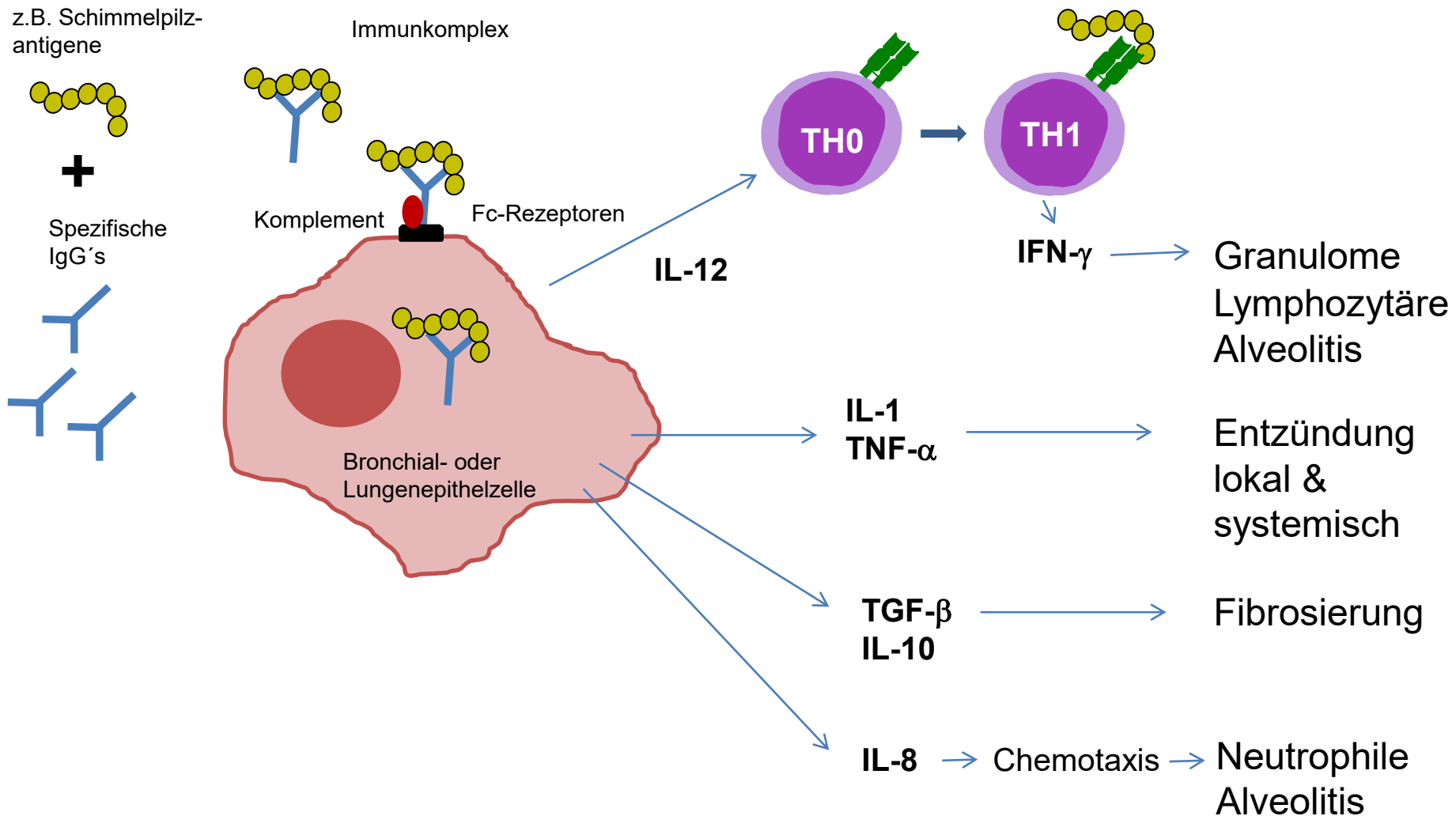


Die Typ III-Allergie auf Schimmelpilze äußert sich Immer mit „Lungensymptomatik“

- Exogen allergische Alveolitis (EAA)
im amerikanischen Sprachraum: hypersensitivity pneumonitis, HP [Reed 1965]
- Prävalenz: Vogelhalterlunge 1-10% der Vogelhalter
 Farmerlunge: 0,5 – 3% der Landwirte
 Isozyanat-Alveolitis ca. 5% der exponierten Arbeiter
 Innenraumalveolitis ???
- Altersgipfel an Neuerkrankungen 30.-60.Lj.
- Männer > Frauen, da berufliche Exposition höher
- Raucher erkranken seltener an einer EAA als Nichtraucher



Pathomechanismus der Exogen allergische Alveolitis



Symptome der EAA

Bei akuter EAA beginnen Symptome klassischerweise 4-8 h nach Antigenkontakt.

	Häufigkeit
Dyspnoe	97%
Husten	98%
Gewichtsverlust	42%
Thorakale Enge/Schmerzen	35%
Schüttelfrost	34%
Ganzkörperschmerzen	24%

Bei chronischer EAA

Müdigkeit, Appetitlosigkeit, subfebrile Temperaturen, Schwitzneigung, chronischer Husten, Laryngitis, Pharyngitis oft vorherrschend

Lacasse 2003, Lacasse 2006, Sennekamp 2007



EAA-Antigene und Krankheitsbilder

	Expositionsquelle	Antigen
Vogelhalterlunge	Exkreme und Federn von Tauben, Hühnern und Sittichen	Vogelserumproteine (Federn, Kot, Milben), Schimmelpilze
Farmerlunge „Drescherkrankheit“	Schimmeliges „graues“ Heu, Getreide usw.	Thermoactinomyces vulgaris, Schimmelpilze (Aspergillus spp, Micropolyspora faeni)
Innenraumalveolitis	Arbeits-, Versammlungsräume, Wohnräume (Holz, Topfblumen)	Schimmelpilze Aspergillus, Serpula spp., Thermoaktinomyces vulgaris, Thermopolyspora
Befeuchterlunge	kontaminiertes Wasser in Luftbefeuchtern	Thermoactinomyces vulgaris Aspergillus spp.
Whirlpool-Lunge		Mykobakterien (M. immunogen.)
Chemie-Alveolitis	Berufliche Exposition	Isocyanate, Anhydride, Acrylate, Enzyme
arzneimittel-induzierte Alveolitis	Berufliche Exposition	Amiadoron, MTX, Zytostatika, Penicillin



Diagnosekriterien der EAA

Empfehlungen zur Diagnostik der EAA, Sennekamp et al. 2006

1. Antigen-Exposition
2. Expositions- und/oder zeitabhängige Symptome
3. Spezifische IgG-Antikörper im Serum
4. Sklerophonie (Knisterrasseln)
5. Röntgenzeichen der EAA, ggf. nur in HR-CT
6. pO_2 in Ruhe und/oder bei Belastung erniedrigt

Sind insgesamt 6 Kriterien erfüllt, liegt eine EAA vor.

Fehlt eines der oben genannten Kriterien, so kann dieses durch eines der folgenden ersetzt werden:

- Positive inhalative Expositions- oder Provokationstestung
- Positiver Karentztest
- Mit EAA zu vereinbarender histopathologischer Befund der Lunge
- Lymphozytose in der BAL



Diagnostik bei Verdacht auf EAA (Typ III-Allergie)

Nachweis der IgG-Antikörper mittels CAP (RAST)

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Allergiediagnostik			
Allergenspez. IgG-Ak Schimmelpilze			
m6 IgG Alternaria alternata	87.3	mg/l	< 12
m3 IgG Aspergillus fumigatus	21.4	mg/l	< 39
m2 IgG Cladosporium herbarum	45.5	mg/l	< 37
m1 IgG Penicillium chrysogenum	122.3	mg/l	< 27
m7 IgG Botrytis cinerea	12.4	mg/l	< 115
m24 IgG Stachybotrys atra	66.9	mg/l	< 11
Nachweis deutlich erhöhter IgG-Titer gegen die untersuchten 6 Schimmelpilze.			

Der frühere Begriff „präzipitierende Antikörper“ stammt aus der Zeit als der Nachweis der IgG´s noch mit dem weniger sensitiven Ouchterlony-Test (Agar-Gel-Diffusionstest) durchgeführt wurde.



Wirkungen von Schimmelpilzen auf den Menschen

- **Allergische (immunologische) Reaktionen**

Typ I **IgE-vermittelte Soforttypallergien**

Typ III **IgG-vermittelte Exogen-allergische Alveolitis**

Typ IV **durch T-Lymphozyten vermittelte systemische Sensibilisierung**

- **Schimmelpilz-induzierte (unspezifische) Entzündung**

Makrophagen-vermittelt (v.a. gastrointestinal bei *leaky gut*)

- **Toxische Wirkungen**

Immunsuppressive und toxische Effekte von aufgenommenen Mykotoxinen

- **Infektionen/Besiedlungen**

Mykosen – Aspergillosen (Lunge), Haut- und Nagelpilze, Darm



Abgrenzung zur Mykotoxinbelastung über Urinanalyse

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Toxikologie			
Mykotoxine im Urin (FACS)			
Messung von freien (ungebundenen) Mykotoxinen. ($<$ NWG = unter Nachweisgrenze)			
Aflatoxin (AFL)	0.23	$\mu\text{g/l}$	
Aflatoxin/Kreatinin	1.55	$\mu\text{g/g Krea}$	< 0.28
Hauptproduzenten: Aspergillus; v.a. A. flavus, A. nomius und A. parasiticus			
Toxische Wirkung: zählt zu den stärksten Naturgiften, ist u.a. stark genotoxisch, lebertoxisch und -karzinogen, Störung des Proteinstoffwechsels, Mitochondriopathie, sowie Beeinträchtigung des Immunsystems und der Mikronährstoffnutzung.			
Häufige Quellen: Erdnüsse, Nüsse, Getreide, Milchprodukte, Ölsaaten (z.B. Soja), Obst, rohe pflanzliche Öle, Kakao, Gewürze, verrottete Vegetation, Heu, feuchtigkeitgeschädigte Gebäude/Innenräume			
Deoxynivalenol (DON)	5.80	$\mu\text{g/l}$	
Deoxynivalenol/Kreatinin	38.67	$\mu\text{g/g Krea}$	< 4.85
Hauptproduzenten: Fusarium; v.a. F. graminearum und F. culmorum			
Toxische Wirkung: kann die DNA- und RNA-Synthese inhibieren und somit u.a. Einwirkung auf die Protein-Synthese haben. Andauernde Exposition kann zur Schwächung des Immunsystems führen. Akut kann es zu Übelkeit und Erbrechen kommen.			
Häufige Quellen: Getreide (v.a. Weizen und Mais); auch klassische "Frühstückscerealien" (Müsli); Teigwaren (Brot, Gebäck, Nudeln), Popcorn, feuchtigkeitgeschädigte Gebäude/Innenräume			
Fumonisine (FUM)	4.27	$\mu\text{g/l}$	
Fumonisine/Kreatinin	28.45	$\mu\text{g/g Krea}$	< 3.17



Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Ochratoxin (OTA)	0.19	µg/l	
Ochratoxin/Kreatinin	1.29	µg/g Krea	< 0.40
<p>Hauptproduzenten: Aspergillus und Penicillium: v.a. A. ochraceus, A. niger und A. carbonarius. P. verrucosum und P. nordicum</p> <p>Toxische Wirkung: u.a. nieren- und lebertoxisch, neurotoxisch sowie karzinogen, Proteinsynthese-Hemmung, oxidativer Stress, mitochondriale Dysfunktion, genotoxisch (DNA-Adduktbildung, Strangbrüche), Beeinträchtigung des Immunsystems.</p> <p>Häufige Quellen: Getreide, Wein, Kaffee, Hülsenfrüchte, Bier, Traubensaft, Trockenfrüchte, Gewürze, Fleischkonserven, feuchtigkeitsgeschädigte Gebäude/Innenräume</p>			
T2 (Trichothecene)	1.96	µg/l	
T2/Kreatinin	13.05	µg/g Krea	< 0.41
Zearalenon (ZEA)	0.50	µg/l	
Zearalenon/Kreatinin	3.34	µg/g Krea	< 0.65

Es konnten folgende Mykotoxine im Urin nachgewiesen werden: Aflatoxin, Deoxynivalenol, Ochratoxin A, T2, Fumonisine und Zearalenon.

Aflatoxine werden hauptsächlich von einigen Schimmelpilzen der Gattung Aspergillus, aber auch Penicillium produziert. Sie zählen zu den stärksten Naturgiften und sind u.a. stark genotoxisch, lebertoxisch und karzinogen. Quellen: Laub, Heu, Topfpflanzen, verrottete Vegetation, Nüsse, Obst, Soja, Getreide, Schokolade, Milchprodukte, wassergeschädigte Gebäude, Matratzen, Polstermöbel, Tapeten.

Deoxynivalenol wird von einigen Fusarien-Arten produziert. Es kann die DNA- und RNA-Synthese inhibieren und somit u.a. Einwirkung auf die Protein-Synthese haben.

Andauernde Exposition kann zur Schwächung des Immunsystems



Zusammenfassung Labordiagnostik

Schimmelpilzallergien können vom Typ I, -III oder -IV sein.

Die Symptome aller 3 Typen können atypisch sein

Typ I: Cave: chronische Phase !

Typ IV: auch Darm-assoziierte Beschwerden möglich

Typ III: Innenraumalveolitis mit chronischer Verlaufsform

Labordiagnostik:

Typ I: SP-spezifische IgE's, BAT (ggf. auf Nativmaterial), (Haut-Pricktest)

Typ IV: SP-spezifische T-Lymphozyten im LTT (ggf. auf Nativmaterial)

Typ III: SP-spezifische IgG's

Vor allem bei der Typ I-Allergie zeigen sich erklärbare Diskrepanzen zwischen dem spezifischen IgE im CAP-Test und dem funktionellen Basophilen-Aktivierungstest (BAT)

Nativmaterialtestungen können bei Typ I- und -IV hilfreich sein

Symptome durch **Mykotoxinbelastungen** kann man nicht mit Allergietests abklären sondern man muss die Mykotoxine im Urin untersuchen

