

In-vitro-Diagnostik und molekulare Grundlagen von IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien

Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), des Ärzteverbandes Deutscher Allergologen (ÄDA), der Gesellschaft für Pädiatrische Allergologie und Umweltmedizin (GPA), der Österreichischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) und der Schweizerischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (SGAI)

JÖRG KLEINE-TEBBE¹, BARBARA BALLMER-WEBER², KIRSTEN BEYER³, STEPHAN ERDMANN⁴, THOMAS FUCHS⁵, MARGOT HENZGEN⁶, ISIDOR HUTTEGGER⁷, UTA JAPPE⁸, LOTHAR JÄGER⁹, UTE LEPP¹⁰, BODO NIGGEMANN¹¹, MARTIN RAITHEL¹², IMKE REESE¹³, JOACHIM SALOGA¹⁴, ZSOLT SZÉPFALUSI¹⁵, STEFAN VIETHS⁸, MARGITTA WORM¹⁶, TORSTEN ZUBERBIER¹⁶, THOMAS WERFEL¹⁷

¹Allergie- und Asthma-Zentrum Westend, Berlin; ²Dermatologische Klinik, UniversitätsSpital Zürich, Schweiz; ³Klinik für Pädiatrie m. S. Pneumologie und Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin; ⁴Praxis für Dermatologie, Bergisch-Gladbach; ⁵Abteilung Dermatologie und Venerologie, Universitätsmedizin Göttingen; ⁶Pneumologie und Allergologie, Klinik für Innere Medizin I, Friedrich-Schiller-Universität, Jena; ⁷Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Paracelsus Medizinische Privatuniversität, Salzburger Landeskliniken, Salzburg, Österreich; ⁸Abteilung Allergologie, Paul-Ehrlich-Institut, Langen; ⁹Jena; ¹⁰Herz-Lungen-Praxis Stade; ¹¹Pädiatrische Allergologie und Pneumologie, Hedwig-von-Rittberg-Zentrum, DRK-Kliniken Westend, Berlin; ¹²Gastroenterologie, Pneumologie und Endokrinologie, Medizinische Klinik 1, Universität Erlangen; ¹³Ernährungsberatung, München; ¹⁴Universitätsklinik, Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz; ¹⁵Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Medizinische Universität Wien, Österreich; ¹⁶Allergie-Centrum-Charité, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin; ¹⁷Abteilung Immundefektologie und experimentelle Allergologie, Klinik für Dermatologie und Venerologie, Medizinische Hochschule Hannover

Zusammenfassung

Wichtigstes Instrument zur In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien ist die spezifische IgE-Bestimmung, deren Varianten (einzelne Allergenquellen oder -mischungen, Paneltests, Einzelallergene) sich erheblich in ihrer diagnostischen Wertigkeit unterscheiden. Hohe IgE-Werte gegen Hühnerei, Kuhmilch, Erdnuss oder Fisch sind mit erhöhtem Risiko für klinische Reaktionen assoziiert, erlauben aber selten den Verzicht auf eine orale Provokation. Zelluläre Methoden mit basophilen Leukozyten zum indirekten Nachweis IgE-vermittelter Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittel sind nur in Einzelfällen sinnvoll.

In vitro diagnostics and molecular basis of IgE-mediated food allergies

Schlüsselwörter
Nahrungsmittelallergie – In-vitro-Diagnostik – spezifisches IgE – Allergene

Entwicklungsstufe

S1

Stand

10. Februar 2009

Korrespondenzanschrift/Correspondence to

Priv.-Doz. Dr. Jörg Kleine-Tebbe
Allergie- und Asthma-Zentrum Westend,
Spandauer Damm 130, Haus 9
14050 Berlin
E-Mail: kleine-tebbe@allergie-experten.de

Bestimmte Molekülfamilien (z. B. Bet-v-1-Homologe, Lipidtransferproteine und Profilin) enthalten Allergene ähnlicher Sequenz und Struktur, deren gemeinsame IgE-Bindungsstellen die Grundlage der Kreuzreaktionen darstellen. Kreuzreaktive Kohlenhydratepitope (CCD), häufig pflanzlichen Ursprungs, können ebenfalls IgE binden, das selten klinisch relevant ist.

Allergenquellen pflanzlicher (z. B. Nüsse, Früchte, Gemüse) und tierischer Herkunft (Kuhmilch, Hühnerei, Fisch) werden als Extrakte zur Diagnostik eingesetzt, sofern es ihre Qualität erlaubt. Die IgE-Diagnostik mit Einzelallergenen gestattet eine molekülspezifische Diagnostik, deren Bedeutung je nach Allergenquelle und klinischer Charakterisierung der Einzelallergene variiert.

Indikationen zur IgE-Diagnostik bestehen bei begründetem Verdacht einer Nahrungsmittelallergie und fehlender Aussage nach Anamnese und Hauttest, bei Sensibilisierung auf hauttestungeeignete Nahrungsmittel, bei bedrohlicher Reaktion auf Nahrungs-

mittel, bei Bedingungen, die Hauttests bzw. deren Auswertung nicht zulassen, und im Kindesalter.

Die Interpretation hat potenziell falsche Resultate durch unzureichende Reagenzienqualität oder Laborfehler und klinisch irrelevante Ergebnisse durch stark erhöhtes Gesamt-IgE, zu hohe Nachweisempfindlichkeit oder kreuzreagierende Allergene (Interpretationsfehler) zu berücksichtigen. Positive Testergebnisse entsprechen allergenspezi-

fischen Sensibilisierungen, die nur bei korrespondierenden Symptomen relevant sind.

Untauglich zur Diagnostik von Nahrungsmittelallergien sind Bioresonanz, Kinesiologie, Elektroakupunktur, zytotoxischer Lebensmitteltest (Methoden ohne Aussagekraft und/oder Überprüfung), Lymphozytentransformationstest, nahrungsmittelspezifisches IgG und IgG₄ (Methoden mit unzulässiger Interpretation).

Key words

Food allergy – in vitro diagnostic testing – allergen-specific IgE – allergens

Summary

Detection of allergen-specific IgE represents the most important tool for in vitro diagnostic testing of food allergy. Applied methods vary in design (single allergen sources or mixtures, panel tests, single allergen components) and diagnostic efficacy. High specific IgE to hen's egg, cow's milk, peanut and fish is associated with an increased risk for clinical reactions, but rarely supersedes oral challenge tests. Cellular tests with basophil leukocytes, demonstrating IgE-mediated sensitizations indirectly, are useful only in selected cases.

Particular protein families (i. e., Bet v 1 homologs, lipid transfer proteins, and profilins) consist of allergenic molecules with similar sequence and structure. Their shared IgE binding sites form the basis of cross-reactivity. Cross-reactive carbohydrate determinants (CCD), frequently from plant origin, can also bind IgE being rarely clinically relevant.

Allergy to plants (i. e., tree nuts, fruits, legumes) and animals (cow's milk, hen's egg, fish) is diagnosed with extracts, if their quality is sufficient. Detecting IgE to single allergenic components allows molecule-

specific diagnoses; their value varies for each allergen source and single allergen component.

Allergen-specific IgE detections are indicated in case of suspected food-allergic reactions despite uncertain history and skin tests, sensitizations to foods not applicable for skin testing, severe reactions to foods, conditions hampering skin testing or its interpretation, and in children.

Interpreting should consider incorrect results due to inferior reagents or laboratory errors and clinically irrelevant results due to highly elevated total IgE, low assay thresholds or cross-reactive allergens (errors of interpretation). Positive test results indicate allergen-specific sensitizations, being clinically relevant only in case of corresponding symptoms.

The following methods are not useful for diagnosing food allergy: bioresonance, electroakupunktur, kinesiologie, cytotoxic food allergy test (methods without validity and/or evidence), lymphocyte stimulation test, food-specific IgG and IgG₄ (methods with invalid interpretation).

Einleitung

Unter dem Begriff Nahrungsmittelallergie werden immunologisch vermittelte Unverträglichkeitsreaktionen zusammengefasst. Die Diagnostik von Nahrungsmittelallergien beginnt mit einer vollständigen Anamnese, bevor mithilfe von Hauttests spezifische Sensibilisierungen überprüft werden (Abb. 1). Ergänzend werden die Möglichkeiten zur gezielten Labordiagnostik geprüft und unter Berücksichtigung ihres Kosten-Nutzen-Verhältnisses eingesetzt. Die Leitlinie enthält Empfehlungen zur In-vitro-Diagnostik von IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien und berücksichtigt dabei die maßgeblichen Allergenquellen.

Methoden zur In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien

Für die In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien stehen verschiedene Testmethoden zur

Verfügung, von denen die Bestimmung des spezifischen IgE den wichtigsten Stellenwert für die Praxis hat (siehe DGAKI-Leitlinie zur In-vitro-Allergiediagnostik [77]). Neben einer Palette von einzelnen Nahrungsmitteln, den Allergenquellen (bis zu mehrere Hundert pro Hersteller), gibt es zunehmend Tests gegen Einzelallergene (ausgewählte Vertreter in der Liste mit Abkürzungen) [5, 57] bzw. Suchtests mit ausgewählten Nahrungsmittelmischungen. Da im Säuglingsalter nur eine geringe Menge Blut zur Analyse zur Verfügung steht, haben sich Tests mit Nahrungsmittelmischungen in dieser Altersgruppe als Screeningmethode bewährt, da bei negativem Ergebnis eine IgE-vermittelte Sensibilisierung gegenüber den wichtigsten Allergenquellen unwahrscheinlich ist. Die moderne Ernährung mit komplexen Lebensmitteln erfordert bei den betroffenen Nahrungsmittelallergikern häufig eine differenzierte Diagnostik auf potenzielle Allergenquellen. Da

Verwendete Abkürzungen und wichtige Begriffe

Allergen	Molekül (Protein, z. B. Hauptallergen Gad c 1 aus Kabeljau, selten Kohlenhydratanteil), das eine allergische Immunreaktion auslösen kann
Allergenextrakt	Mischung allergener und nicht allergener Komponenten, extrahiert aus Allergenquelle (z. B. Fischallergenextrakt)
Allergenquelle	Herkunft/Ausgangsmaterial der Allergene (z. B. Fisch)
Api g 1	Sellerieallergen mit Homologie zu Bet v 1, verantwortlich für birkenpollenassoziierte, z. T. schwere Kreuzreaktionen
Bet v 1	Immundominantes Majorallergen in Pollen der Birke (<i>Betula verrucosa</i>)
Bet v 2	Birkenpollenprofilin, Minorallergen, das als Panallergen in zahlreichen Pollen und pflanzlichen Nahrungsmitteln für Kreuzreaktionen verantwortlich sein kann und dadurch die Diagnostik erschwert
CAP	Festphasen-Allergenträger im ImmunoCAP-System
CCD	Kreuzreaktive Kohlenhydratepitope („cross-reactive carbohydrate determinants“); sie stellen Epitope von N-Glykanen dar und sind als Panallergene verantwortlich für eine ausgeprägte Kreuzreagibilität
Cor a 1.04	Haselnussallergen mit Homologie zu Bet v 1, verantwortlich für birkenpollenassoziierte Kreuzreaktionen
Cor a 8	Haselnuss-LTP, das systemische Reaktionen induzieren kann
Dau c 1	Karottenallergen mit Homologie zu Bet v 1, verantwortlich für birkenpollenassoziierte, z. T. schwere Kreuzreaktionen
DBPCFC	Doppelblinde, plazebokontrollierte, orale Nahrungsmittelprovokation („double-blind placebo-controlled food challenge“)
Gad c 1	Majorallergen des Kabeljaus (Ca ⁺⁺ -Transportprotein, Parvalbumin, wichtigstes Fischallergen)
Gly m 4	Sojaallergen mit Homologie zu Bet v 1, verantwortlich für birkenpollenassoziierte, z. T. schwere Kreuzreaktionen
Kreuzreaktiv	Ähnlichkeitsbedingte, immunologische Reaktion mit Molekülstrukturen, die nicht für die ursprüngliche Sensibilisierung verantwortlich waren
LTP	Lipidtransferproteine, thermo- und verdauungsstabile Allergene pflanzlicher Herkunft
Mal d 1	Apfelallergen mit Homologie zu Bet v 1, verantwortlich für häufige birkenpollenassoziierte, meist oropharyngeale Kreuzreaktionen
MUXF3	Bezeichnung der Struktur einer Kohlenhydratseitenkette von pflanzlichen Glykoproteinen und Allergenen, die potenziell von IgE-Antikörpern gebunden werden können, entspricht einem bestimmten Typ der CCD
OAS	Orales Allergiesyndrom
Oleosine	Lipophile und thermostabile Allergene in Nüssen und Ölsaaten
Pen a 1	Tropomyosin (Muskelstrukturprotein) der Garnele mit homologen Proteinen in anderen Arthropoden und Ursache von Kreuzreaktionen
PR-10	„Pathogenesis-related protein family 10“, Bet-v-1-homologe Proteine mit Abwehrfunktion in Pflanzen (u. a. in Baumpollen, Nahrungsmitteln)
Pru p 3	Pfirsich-LTP, das für systemische Reaktionen bei Patienten im Mittelmeerraum verantwortlich ist
Rekombinant	Mithilfe von gentechnisch veränderten (Mikro-)Organismen hergestellt
Rekombinantes Allergen	Häufig in <i>Escherichia coli</i> hergestelltes allergenes Protein ohne die bei nativen Allergenen vorkommenden Kohlenhydratseitenketten
Sensibilisierung	Allergiebereitschaft (nur bei korrespondierenden Symptomen relevant)
Tri a 19	ω -5-Gliadin im Weizen, verantwortlich für systemische Reaktionen und anstrengungsabhängige Anaphylaxie bei Weizenallergie

Verunreinigungen in prozessierten Nahrungsmitteln durch Allergenspuren vorkommen, kann in begründeten Fällen ein breit angelegtes diagnostisches Screening auf zehn bis 20 Einzelallergene oder Allergenquellen notwendig sein.

Spezifische IgE-Konzentrationen lassen sich auch mithilfe verschiedener Methoden (Prinzip: Streifen, Pipette) simultan bestimmen. Die von den Herstellern vorgegebene Kombination der Nahrungsmittel erlaubt keine gezielten Einzelbestimmungen, so dass bei fehlender Anamnese positive, klinisch irrelevante Ergebnisse zur Verunsicherung führen können. Bei ausgeprägter Sensibilisierung sind ähnliche Aussagen wie mit etablierten Labormethoden zur spezifischen IgE-Bestimmung möglich. Allerdings existieren nur wenige publizierte Studien und kaum Vergleichsuntersuchungen zwischen den sog. Schnelltests und den etablierten Labormethoden, deren diagnostische Wertigkeit teilweise umfangreich geprüft und dokumentiert wurde.

Die Ergebnisse der spezifischen IgE-Bestimmung sind von der Qualität der notwendigen Reagenzien abhängig und können erheblich von den anamnestischen Angaben, den Hauttestresultaten und den Ergebnissen einer oralen Provokation abweichen. Somit ist ihre diagnostische Tauglichkeit für jede Allergenquelle oder jedes Allergen und jedes Testverfahren getrennt zu betrachten. In Einzeluntersuchungen wurden retrospektiv ermittelte spezifische IgE-Konzentrationen (Phadia-ImmunoCAP-System) mit hohem Vorhersagewert für eine klinische allergische Reaktion auf Nahrungsmittel bei Kindern mit atopischer Dermatitis [82] mit kontrollierten Provokationen (DBPCFC) überprüft: Für einige klassische Allergenquellen war ab bestimmten allergenspezifischen IgE-Konzentrationen eine klinische Reaktion mit 95%iger Wahrscheinlichkeit vorhersehbar [81]. Andere Studien fanden höhere bzw. keine Werte (Kuhmilch, Soja, Weizen) zur sicheren Vorhersage einer klinischen Reaktion [25]. Die uneinheitlichen Ergebnisse beruhen auf abweichenden Methoden und Kollektiven; sie können daher nicht auf die Routinediagnostik übertragen werden. Insofern ist auch bei hohen spezifischen IgE-Konzentrationen in der Regel eine orale Provokation nicht verzichtbar.

Verschiedene methodisch aufwendigere Laborverfahren wie der Histaminfreisetzungstest, Basophilaktivierungs- oder -stimulationstest, Leukotrienfreisetzungstest („cellular antigen stimulation test“ [CAST]) oder der Lymphozytenstimulationstest können für die Diagnostik von IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergien derzeit nur in Einzelfällen bzw. letzterer nur für wissenschaftliche Fragestellungen empfohlen werden. Studien mit Nahrungsmitteln [32, 33] zeigen, dass sich IgE-vermittelte

Sensibilisierungen auch im Basophilenaktivierungstest durch vermehrte Expression der Aktivierungsmarker CD63 oder CD203c nachweisen lassen (Übersicht bei [31, 87]). Die Tests sind aufwendig und kostenintensiv und bieten in der Regel keine Vorteile gegenüber einer Bestimmung des Serum-IgE oder einem Hauttest.

Wichtigstes Instrument zur In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien ist die spezifische IgE-Bestimmung, deren Varianten (einzelne Allergenquellen oder -mischungen, Paneltests, Einzelallergene) sich erheblich in ihrer diagnostischen Wertigkeit unterscheiden. Hohe IgE-Werte gegen Hühnerei, Kuhmilch, Erdnuss oder Fisch sind mit erhöhtem Risiko für klinische Reaktionen assoziiert, erlauben aber selten den Verzicht auf eine orale Provokation. Zelluläre Methoden mit basophilen Leukozyten zum indirekten Nachweis IgE-vermittelter Sensibilisierungen gegen Nahrungsmittel sind nur in Einzelfällen sinnvoll.

Allergenfamilien und Einzelallergene in Nahrungsmitteln

Die erfolgreiche Identifizierung und Charakterisierung von allergenen Molekülen in Nahrungsmitteln gestatten zunehmend deren differenzierten Einsatz in der In-vitro-Diagnostik [90]. Bei (teil)identischer Aminosäuresequenz und struktureller Ähnlichkeit (Konformation) werden sie gemeinsamen Molekülfamilien zugeordnet [19, 26] und in Datenbanken aufgenommen (siehe www.allergen.org als offizielle Website des Subkomitees für Allergen-Nomenklatur unter der Aufsicht der Internationalen Union der Immunologischen Gesellschaften und der WHO; www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam; www.allergome.org). Identisch strukturierte IgE-bindende Epitope bilden die Grundlage der Kreuzreaktivität [42]. Als Faustregel gilt: Je ähnlicher die Oberflächenstruktur von zwei Molekülen ausfällt, umso eher sind kreuzreagierende IgE-Antikörper zu erwarten. Anhand der Molekülfamilien lassen sich Markerallergene definieren, die für die Entstehung einer Sensibilisierung maßgeblich sind und den Bezugspunkt für resultierende Kreuzreaktionen gegenüber anderen Allergenmolekülen bilden.

Birkenpollen-Majorallergen Bet v 1 und seine Verwandten

Das immundominante Birkenpollenallergen Bet v 1 wird zur Verteidigung gegenüber Pathogenen, bei abiotischem Stress und entwicklungsabhängig vermehrt gebildet und ist an der natürlichen Abwehr der Pflanzen beteiligt („pathogenesis-related protein family 10“ [PR-10]). Ähnliche Proteine kommen nicht nur in anderen Pollenpflanzen (u. a. Hasel, Erle, Buche), sondern auch in zahlreichen Obst- und

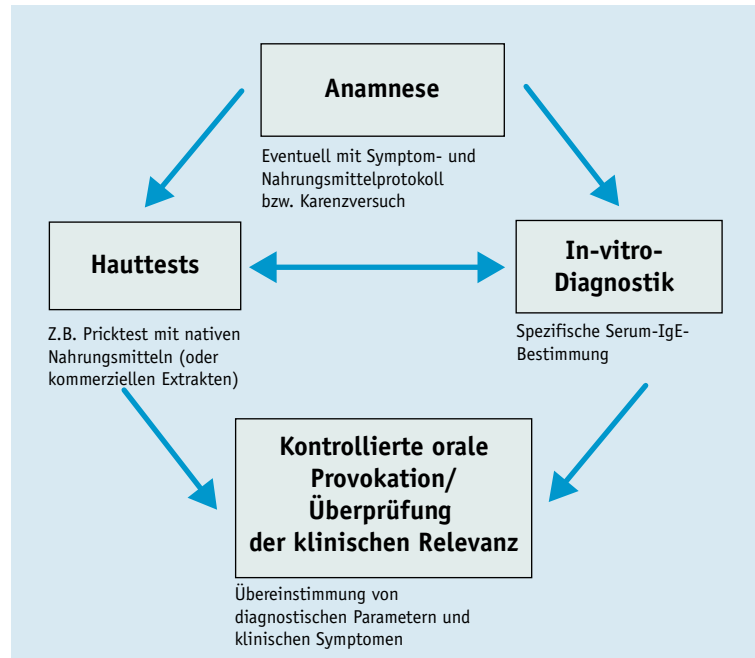


Abbildung 1. Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf Nahrungsmittelallergie: im Erwachsenenalter Sensibilisierungsnachweis häufig mit Hauttests (linke Hälfte), im Kindesalter bevorzugt mithilfe der spezifischen IgE-Bestimmung (rechte Hälfte, zusätzliche Erläuterung siehe Text)

Gemüsesorten sowie Nüssen und Leguminosen vor. Sie stellen die Grundlage für die bei Birkenpollenallergikern beobachteten Kreuzreaktionen dar, die aufgrund der Hitzelabilität und der Labilität dieser Allergene im Milieu des Magens meist auf die Mundhöhle beschränkt bleiben [42].

Abhängig von Sensibilisierung (absolute bzw. relative Höhe des spezifischen IgE), dem Grad der Kreuzreaktion und der zugeführten Menge sind allerdings auch bei den Bet-v-1-homologen Nahrungsmittelallergenen im Einzelfall bedrohliche systemische Symptome beobachtet worden. Beispiele sind schwere Reaktionen auf das Sojaprotein Gly m 4 in thermisch gering prozessierten Sojaprodukten (z. B. Sojamilch, Sojaproteindiätpulver, Sportlergetränke) [48, 51, 52, 63], auf Api g 1 in selleriehaltigen Produkten und auf Dau c 1 in Karotten.

Lipidtransferproteine: Risikomoleküle bedeutsam im Mittelmeerraum

Systemische Reaktionen nach Genuss diverser Obst- und Gemüsesorten sowie von Nüssen und Getreiden können auf stabilen Allergenen aus der Familie der Lipidtransferproteine (LTP) beruhen [18]. Vorwiegend im Mittelmeerraum und vor allem in Spanien beobachtet, entsteht eine primär gastrointestinale Sensibilisierung wahrscheinlich durch den Verzehr reifer Pfirsiche [34]. Die strukturelle Ähnlichkeit des Pfirsich-LTP Pru p 3 mit anderen hitze- und säurestabilen Vertretern dieser Allergenfamilie bedingt

anschließend Kreuzreaktionen gegenüber anderen Obst- und Gemüsesorten sowie manchmal anderen pflanzlichen Lebensmitteln, die LTP enthalten (z. B. Mais). Die Reaktionen können gegenüber typischen birkenpollenassoziierten Lebensmitteln wie Apfel, Kirsche und Haselnuss auftreten, es können aber auch Nahrungsmittel betroffen sein, die selten pollenassoziierte Allergien auslösen, z. B. Weintraube oder Spargel.

Unabhängig von der bei Obstallergie üblichen Bet-v-1-Kreuzreaktion werden in unseren Breiten nur selten LTP-Sensibilisierungen nachgewiesen, die relativ selten mit systemischen Reaktionen wie bei den Patienten aus dem Mittelmeerraum einhergehen.

Profiline: weitverbreitete Proteine und Panallergene mit unterschiedlicher Relevanz

Als stark konservierte Proteine kommen Profiline [96, 97] in allen eukaryotischen Zellen vor und sind für Sensibilisierungen gegenüber Pollen (z. B. Birkenpollenprofilin Bet v 2) und Nahrungsmitteln bei einem kleineren Teil der Patienten verantwortlich (daher Minorallergene) [105]. Aufgrund ihrer Ähnlichkeit besteht ausgeprägte Kreuzreaktivität, deren klinische Relevanz von Patient zu Patient stark variieren kann. In Einzelfällen sind klinische Reaktionen im nasalen Provokationstest bei Profilinsensibilisierungen beschrieben worden [66]. Andererseits zeigten Patienten mit selten vorkommender Monosensibilisierung gegenüber Bet v 2 (ohne Bet-v-1-Sensibilisierung) trotz positiver Hauttestreaktionen auf das rekombinante Allergen keine Symptome einer pollenassoziierten Nahrungsmittelallergie [71]. Bei einer Allergie gegenüber Melonen sind Profiline als wichtigste Allergene für die Auslösung vorwiegend oropharyngealer Symptome identifiziert worden [78].

Kreuzreaktive Kohlenhydratepitope („cross-reactive carbohydrate determinants“ [CCD])

Allergenspezifische IgE-Antikörper binden nicht nur Peptid-, sondern auch Kohlenhydratepitope, die im Gegensatz zu klassischen Peptidepitopen strukturelle Ähnlichkeit mit Allergenen außerhalb der zugehörigen Proteinfamilie zeigen. Zugrunde liegen kreuzreaktive Kohlenhydratdeterminanten („cross-reactive carbohydrate determinants“ [CCD]) [35], die mit identischer Struktur in unterschiedlichen Glykoproteinen vorkommen. Für die meisten Allergenquellen insbesondere pflanzlichen Ursprungs konnte eine Anti-CCD-IgE-Reaktivität nachgewiesen werden. Serologisch festgestellte Sensibilisierungen gegen pollenassoziierte Nahrungsmittel können auf CCD beruhen [75]. CCD interferieren aber auch mit der Diagnostik echter (primärer) Nahrungsmittelallergien, da alle pflanzlichen Nahrungs-

mittel relevante Mengen an CCD in Form glykosylierter Proteine enthalten. Der Anti-CCD-IgE-Nachweis ist spezifisch und richtig positiv, korreliert aber häufig nicht mit der klinischen Symptomatik, vermutlich aufgrund der niedrigen Affinität und geringen biologischen Aktivität von Anti-CCD-IgE [2, 20, 30, 53, 59, 60, 99, 102]. Es gibt andererseits vereinzelt Hinweise auf die klinische Relevanz von Anti-CCD-IgE [21, 36, 58, 101].

Ein Verdacht auf Anti-CCD-IgE besteht bei diskrepanten Hauttest- und serologischen Befunden sowie positivem IgE gegenüber vielen verschiedenen pflanzlichen Allergenquellen. Zur spezifischen In-vitro-Diagnostik können CCD-haltige Screeningallergene verwendet werden. Es handelt sich dabei um Meerrettichperoxidase, Bromelain und Ascorbatoxidase in verschiedenen automatisierten IgE-Nachweisverfahren.

Bestimmte Kohlenhydratseitenketten von pflanzlichen Glykoproteinen stehen als isoliertes CCD ohne die Proteinkomponente kommerziell zur Verfügung (MUXF-CAP).

Einsatz von Einzelallergenen für die In-vitro-Diagnostik

Zukünftig werden zunehmend Einzelallergene, deren Nomenklatur international festgelegt wird (siehe www.allergen.org, www.allergome.org, auszugsweise in den Abkürzungen), für die In-vitro-Diagnostik zur Verfügung stehen. Folgende Einsatzmöglichkeiten kommen infrage:

- ein Einzelallergen (z. B. Hauptallergen) zur allergenspezifischen Diagnostik,
- Zusatz eines oder mehrerer Einzelallergene zu einem Extrakt („spiken“),
- Verwendung einer Mischung von Einzelallergenen anstelle eines Extrakts.

Die erste Möglichkeit gestattet eine molekülspezifische Diagnostik, deren Bedeutung je nach Allergenquelle (siehe unten) von Fall zu Fall geklärt werden muss. Die anderen Möglichkeiten dienen der Qualitätsverbesserung der bisher üblichen Diagnostik einer Sensibilisierung gegenüber Allergenquellen mit Extrakten und sollen die Testempfindlichkeit (analytische Sensitivität) verbessern.

Screening auf Einzelallergene mithilfe von Multiplex-Methoden

Die parallele Analyse einer kleinen Serumprobe (sog. Multiplex-Methoden) und miniaturisierte Mikrochips [39, 43] erlauben mittlerweile ein semiquantitatives IgE-Screening auf über 100 Einzelallergene. Die derzeitige Auswahl an rekombinanten und natürlichen Einzelallergenen (z. B. Immuno Solid-phase Allergen Chip, ISAC, VBC Genomics, Wien; www.vbc-genomics.at; Vertrieb in Deutschland durch Phadia, Freiburg) berücksichtigt sowohl In-

halationsallergene als auch Nahrungsmittel [5, 57] als Allergenquellen. Bei relativ guter Empfindlichkeit, akzeptabler Präzision und angemessener klinischer Charakterisierung der Testallergene stellen diese Multiplex-Methoden potente Screeningmethoden dar, die zukünftig bei Patienten mit multiplen Sensibilisierungen, (pollenassoziierten) Kreuzreaktionen oder zahlreichen Nahrungsmittelallergien [40] eine differenziertere Aussage zum Sensibilisierungsspektrum versprechen. Inwieweit der Vorteil zusätzlicher Informationen durch eine derartige komponentenspezifische IgE-Diagnostik oder der Nachteil irrelevanter Testergebnisse aufgrund potenzieller Sensibilisierungen mit unklarer klinischer Aktualität überwiegt, wird sich bei klinischer Erprobung zukünftig zeigen.

Bestimmte Molekülfamilien (z. B. Bet-v-1-Homologe, Lipidtransferproteine und Profiline) enthalten Allergene ähnlicher Sequenz und Struktur, deren gemeinsame IgE-Bindungsstellen die Grundlage der Kreuzreaktionen darstellen. Kreuzreaktive Kohlenhydratepitope (CCD), häufig pflanzlichen Ursprungs, können ebenfalls IgE binden, das selten klinisch relevant ist.

Aktueller Wissensstand zu den wichtigsten Allergenquellen unter den Nahrungsmitteln, ihren Allergenen und den Konsequenzen für die In-vitro-Diagnostik

Die alphabetisch geordneten Abschnitte berücksichtigen sowohl häufige als auch seltenere, mit systemischen Reaktionen einhergehende Nahrungsmittelallergenquellen. Einige dieser Allergenquellen induzieren primär gastrointestinale Sensibilisierungen, während andere auf (pollenassoziierten) Kreuzreaktionen bei vorangegangener Sensibilisierung durch inhalative (Pollen-)Allergenquellen beruhen. Dabei werden die bisher identifizierten Einzelallergene im Hinblick auf ihre Bedeutung für die In-vitro-Diagnostik bewertet.

Apfel

Bei der Apfelallergie, deren Grundlage in Mittel- und Nordeuropa kreuzreagierende Allergene in Baumpollen sind, ist die In-vitro-Diagnostik mit Extrakten nur begrenzt zu empfehlen. Zum einen ist das Hauptallergen im Apfel Mal d 1 aufgrund endogener Enzymaktivitäten in den Früchten instabil und verantwortlich für falsch negative IgE-Bestimmungen bei Verwendung von Apfelextrakten. Zum anderen ergeben sich, wie auch bei anderen birkenpollenassoziierten Lebensmitteln, infolge der Kreuzreaktivität zwischen Bet v 1 der Birkenpollen und Mal d 1 häufig irrelevante, positive Testergebnisse auf Apfelextrakte ohne klinische Symptomatik [14, 108]. Aufgrund des klaren klinischen Zusammenhangs

zwischen Birkenpollen- und Apfelallergie wird in unseren Breiten häufig auf eine weitergehende Diagnostik verzichtet [42], obwohl sich Symptome nach Apfelgenuss bei baumpollenassoziiertem Kreuzreaktion gezielt durch eine In-vitro-Diagnostik mit Mal d 1 klären lassen. Im Gegensatz dazu tritt die Apfelallergie in den Mittelmeerländern als primäre Nahrungsmittelallergie mit häufig systemischen Reaktionen durch LTP (Mal d 3) auf [15].

Erdnuss

Wegen lebensgefährlicher Reaktionen [23, 83] zählen Erdnüsse zu den bedrohlichen Nahrungsmittelallergenquellen. Die Allergie beginnt häufig in der frühen Kindheit [110], verliert sich nur bei 20% der Betroffenen und kann ein Leben lang bestehen bleiben [24]. Die bisher identifizierten Hauptallergene der Erdnuss sind die 7S-Globuline Ara h 1, Ara h 6 und Ara h 7, das 2S-Albumin Ara h 2 und das 7S-Globulin Ara h 3/4 [10]. In der Diskussion stehen außerdem lipophile und thermostabile Allergene in Nüssen und Ölsaaten (Oleosin) und Agglutinin aus der Erdnuss (www.allergome.org), diese sind vom Subkomitee für Allergen-Nomenklatur jedoch noch nicht in der Allergen-Datenbank aufgenommen. Neben Allergenen, die primär sensibilisieren, enthält die Erdnuss auch pollenassoziierte Nahrungsmittelallergene (Ara h 5, Profilin; Ara h 8, Bet-v-1-Homolog). Bei der Herstellung von Erdnussextrakten treten keine größeren Probleme auf, da die Allergene hitzestabil sind und keine Unterschiede zwischen verschiedenen Sorten bestehen [100]. Die Allergene Ara h 1, 2, 3 und 8 sind inzwischen in rekombinanter Form verfügbar (z. B. ImmunoCAP-System, Phadia, Freiburg). Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass Ara h 2 das potenteste Erdnussallergen darstellt. Ein hohes Risiko für schwere Reaktionen scheint außerdem bei Patienten mit multiplen Sensibilisierungen gegen mehrere Erdnussallergene zu bestehen [72].

Die Bestimmung von spezifischem IgE gegen Erdnuss-einzelallergene könnte somit Vorteile für die Diagnostik haben, allerdings fehlen noch Daten aus kontrollierten Studien, um die Bestimmung von Einzelallergenen in der Praxis generell zu empfehlen.

Fisch

Fischproteine sind für manchmal bedrohliche IgE-vermittelte allergische Reaktionen verantwortlich. Ein erhöhter pH-Wert im Magen (Säureblocker/Antazida) kann möglicherweise zu einer verringerten Degradation von Fischallergenen führen [94, 95]. Durch die bemerkenswerte Stabilität gegenüber Hitze (und z. T. gegen Proteolyse) besitzt das Majorallergen Gad c 1 des Kabeljaus [3], ein stark konserviertes Ca⁺⁺-Transportprotein (Parvalbumin) im Muskelgewebe von Fischen und Amphibien, in ge-

garter Form kaum geringere Allergenaktivität. Die ähnliche Aminosäuresequenz von Gad c 1 und Parvalbuminen anderer Fischarten ist für den hohen Anteil von Kreuzsensibilisierungen verantwortlich [22]. Mithilfe rekombinanter Karpfenparvalbumine (Cyp c 1.01 und 1.02) konnten Isoformen mit großer Ähnlichkeit identifiziert werden [91].

Fischgelatine wird hingegen von den meisten Fischallergikern vertragen [38], obwohl IgE-Antikörper gegen Fischgelatine (Kollagen) und selten auch klinische Reaktionen beschrieben wurden [80]. Monoallergien gegen bestimmte Fischarten beruhen wahrscheinlich auf speziesspezifischen Allergenen [69] oder Epitopen des Parvalbumins, die bisher unzureichend charakterisiert sind. Bei der Herstellung der Testreagenzien sollten daher nicht nur Parvalbumine mit Gad-c-1-Homologie, sondern auch potenziell sensibilisierende speziesspezifische Allergene erfasst werden. Differenzialdiagnostisch ist bei Fischunverträglichkeit auch an eine *Anisakis*-Allergie [73] und an eine Reaktion auf biogene Amine zu denken.

Gewürze

Gewürze und ihre Antigene resultieren aus verschiedenen botanischen Familien, weisen aber gemeinsame Molekülstrukturen und damit z.T. deutliche Kreuzreaktionen auf. Monovalente gewürzspezifische Nahrungsmittelallergien sind selten (< 2% aller Nahrungsmittelallergien) [64]. Erwachsene besitzen häufiger spezifische IgE-Antikörper auf Gewürze als Kinder. Da Assoziationen zwischen Birkenpollen-, Beifußpollen-, Sellerie- und zahlreichen Gewürzsensibilisierungen bestehen, sind bei einer IgE-Diagnostik auf Gewürzeinzelallergene diese Kreuzsensibilisierungen [107], aber auch das Lebensalter und die Expositionsmöglichkeiten (z. B. Beruf) zu beachten [93]. Seren von Patienten mit allergischen Symptomen nach gewürzten Speisen enthalten oft kreuzreagierende IgE-Antikörper (z. B. auf Bet v 1, Profilin, z. B. Bet v 2) und nur selten monovalente gewürzspezifische Antikörper. Mittlerweile wurden sogar mit Naturlatexallergenen kreuzreagierende IgE-Antikörper festgestellt, so dass durch Gewürze induzierte Symptome in Einzelfällen auch beim Latex-Frucht-Syndrom zu beachten sind.

Haselnuss

Bei Birkenpollenallergikern ist von einer Kreuzsensibilisierung gegen Haselnuss auszugehen, unabhängig davon, ob sich diese manifestiert oder nicht. Seren von Betroffenen mit manifester Haselnussallergie zeigen signifikante IgE-Reaktivitäten gegen die Homologe insbesondere von Bet v 1 und seltener Bet v 2 im Haselnussextrakt [44].

Früher traten bei Verwendung von kommerziellem Haselnussextrakt relativ häufig falsch negative

Testergebnisse auf, da das Bet-v-1-assoziierte Allergen Cor a 1.04 nur in geringen Konzentrationen in der Nuss vorkommt. Dieses Problem konnte durch den Einsatz eines mit rekombinantem Allergen gespickten Extrakts am CAP gelöst werden [4].

Birkenpollenallergiker mit klinischen Symptomen durch Haselnüsse besitzen offenbar höhere IgE-Werte gegen Haselnuss als Patienten ohne klinische Symptome [108]. Zwischen Patienten mit lediglich lokalen Symptomen und Patienten mit systemischen Symptomen einer Anaphylaxie besteht jedoch kein signifikanter Unterschied hinsichtlich ihrer Bet-v-1-spezifischen IgE-Konzentrationen. Neuere Studien deuten allerdings auf nicht kreuzreagierende Haselnussallergene als Ursache für systemische Reaktionen hin, die parallel oder unabhängig von einer Sensibilisierung gegen Baumpollen auftreten können. Bedeutsam sind vor allem Cor a 9 [13] und das LTP Cor a 8 [86], die vielversprechende Kandidaten für die In-vitro-Diagnostik darstellen.

Hühnerei

Die Hauptallergene (Gal d 1: Ovomukoid; Gal d 2: Ovalbumin; Gal d 3: Ovotransferrin; Gal d 4: Lysozym) sind im Eiklar enthalten, das gut zum In-vitro-Test in der Praxis und auch für Sammeltests geeignet ist. Wegen fehlender Studien zur diagnostischen Brauchbarkeit sollten Eigelb und Gesamtei nur im Sonderfall bei überzeugender Anamnese (Vogeleisyndrom) [92] und negativem Test auf Eiklar bestimmt werden.

Gegenüber anderen Lebensmitteln ist die positive und negative Vorhersagekraft von In-vitro-Tests mit Eiklar bei Kindern vergleichsweise gut [25, 82]. Klinische Indikationen für die Bestimmung von spezifischem IgE auf Einzelproteine bestehen derzeit nicht.

Krusten- und Weichtiere

Die Krustaceen (Garnelen, Krabben, Hummer, Langusten sowie Fluss- und Taschenkrebse) stellen durch den zunehmenden Genuss eine bedeutsame Allergenquelle dar und können bedrohliche Überempfindlichkeitsreaktionen auslösen [85]. In zahlreichen Spezies sind mittlerweile Majorallergene identifiziert worden (Garnele: Met e 1 [56] und Pen a 1 [76]; Hummer: Hom a 1 [55]; Krebs: Cha f 1 [54]). Sie entsprechen dem Tropomyosin, einem wichtigen Muskelstrukturprotein sämtlicher Arthropoden und anderer Tiere. Aufgrund der hohen Verwandtschaft zwischen Tropomyosinen werden zwischen den unterschiedlichen Arten (Garnelen, Krabben, Langusten und Hummer) häufig kreuzreaktive IgE-Antikörper nachgewiesen [54], deren klinische Bedeutung bisher unklar ist. Allerdings sind auch speziesspezifische Sensibilisierungen mit

isolierten Reaktionen auf eine bestimmte Garnelen- oder andere Krustaceenarten möglich. Testreagenzien für die In-vitro-Diagnostik sollten daher nicht nur aus einer Spezies hergestellt werden, um keine IgE-bindenden Strukturen aus bestimmten Unterarten (z. B. Garnelensubspezies) unberücksichtigt zu lassen.

Rekombinantes Pen a 1 ist inzwischen als kommerzielles Reagens für die In-vitro-Diagnostik erhältlich [28]. Ferner wurden neue Allergene beschrieben: Pen m 2, eine Argininkinase aus Garnelen [109], und Lit v 3, eine leichte Kette des Myosins der Krabbe [6]. Die klinische Bedeutung wie auch die Relevanz dieser Allergene für die In-vitro-Diagnostik sind bisher unklar.

Kuhmilch

Der Proteinanteil der Kuhmilch (ca. 30–35 g/l) setzt sich im Wesentlichen aus den zwei Fraktionen Kasein (ca. 80%) und Molke (ca. 20%) zusammen [104]. Die Kaseinfraktion enthält das β_{s1} -, β_{s2} -, β - und κ -Kasein sowie Spuren von Laktoferrin, während die Molkefraktion aus α -Laktalbumin, β -Laktoglobulin, bovinem Serumalbumin (BSA) und Immunglobulinen besteht. Die Aminosäuresequenzen dieser Proteine sind aufgeklärt.

Die meisten Milchallergiker sind gegen mehrere Kuhmilchproteine sensibilisiert; umgekehrt existiert beim Menschen eine große Variationsbreite unterschiedlicher IgE-Antworten gegen einzelne Kuhmilchproteine. Es gibt kein einzelnes Allergen, das allein für die Kuhmilchallergie verantwortlich gemacht werden kann; alle Kuhmilchallergene können Sensibilisierungen induzieren. Bei der In-vitro-Testung wegen des Verdachts einer Kuhmilchallergie wird daher die IgE-Reaktivität gegen die Gesamtheit der Kuhmilchproteine untersucht. Eine Bestimmung des spezifischen IgE gegen die einzelnen Fraktionen ist für die tägliche Praxis derzeit nicht relevant und bleibt wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten.

Latex-Frucht-Syndrom

Patienten mit einer Naturlatexsensibilisierung können Allergien auf Avocado, Banane, Kiwi sowie weitere Lebensmittel entwickeln. Das unterschiedliche Spektrum der infrage kommenden Früchte hängt sehr von den Essgewohnheiten ab [11, 16]. Das sog. Latex-Frucht-Syndrom stellt eine Form einer durch Kreuzreaktionen vermittelten Lebensmittelallergie dar [103], führt allerdings äußerst selten zu klinisch manifesten Symptomen. Am häufigsten werden Lokalreaktionen im Sinne eines oralen Allergiesyndroms (OAS) beobachtet. Eine gezielte In-vitro-Diagnostik ist nur bei den Naturlatexallergikern sinnvoll, die an einer Nahrungsmittelallergie erkrankt sind. Klinische Indikationen für

die Bestimmung von spezifischem IgE auf Einzelproteine, von denen bisher 19 identifiziert und teilweise mit ihren Isoformen als Hev b 1–13 in die internationale Nomenklatur aufgenommen worden sind (www.allergen.org, www.allergome.org), bestehen bei latexassoziierter Nahrungsmittelallergie derzeit nicht.

Sellerie

Die Sellerieallergie tritt als typische pollenassoziierte Nahrungsmittelallergie vor allem bei Birken- und/oder Beifußpollensensibilisierung auf [9, 46, 47, 106]. Selleriewurzel löst erheblich häufiger systemische Reaktionen aus als andere pollenassoziierte allergene Nahrungsmittel wie z. B. Apfel. Systemische Reaktionen auf Sellerie werden insbesondere bei Patienten beobachtet, die häufig nur spezifisches IgE gegen Beifuß, aber nicht zwangsläufig gegenüber Sellerie zeigen. Bisher wurden drei Sellerieallergene beschrieben: Api g 1 [17, 58], ein 15–16 kD großes Bet-v-1-homologes Protein, das Profilin Api g 4 [84, 98] sowie das 50–60 kD große Api g 5, eine Flavin-Adenin-Dinukleotid-(FAD-)haltige Oxidase [21, 37, 41]. Mit hoher Wahrscheinlichkeit sind bis heute noch nicht alle klinisch relevanten Allergene beschrieben. Durch die Existenz hitzestabiler Allergene und die breite Verwendung von Selleriepulver als Würzmittel in verarbeiteten Lebensmitteln ist Sellerie als „verborgenes Allergen“ relevant [7]. Die Sensitivität der In-vitro-Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper (ImmunoCAP: > 0,7 kU/l) bei gesicherter Sellerieallergie betrug in einer Provokationsstudie 73%, die Spezifität 38% [9]. Da alle bekannten Major- und Minorallergene von Sellerie mit IgE gegen Pollenallergene kreuzreagieren, findet man bei Pollenallergikern einen hohen Anteil an Patienten mit erhöhten IgE-Antikörpern gegen Sellerie, die nicht mit einer klinischen Sellerieallergie einhergehen. Andererseits sollte bei Verdacht einer systemischen Reaktion auf Sellerie grundsätzlich das allergenspezifische IgE gegen Beifußpollen mit bestimmt werden.

Sojabohne

Die Sojabohnenallergie auf stabile Proteine kommt bevorzugt bei Kleinkindern vor [79]. Zahlreiche Einzelallergene wurden inzwischen identifiziert [8, 12]: Gly m 1, ein hydrophobes Schalenprotein, und Gly m 2, ein 2S-Albumin, waren im Zusammenhang mit gehäuften Asthmaanfällen beim Entladen von Sojabohnenfrucht aufgefallen. Die Bedeutung von Sensibilisierungen gegen Sojaprofilin, Gly m 3, ist unklar. Ähnlich verhält es sich mit einer Reihe von Sojaproteinen (Glycine, Lektine, siehe www.allergome.org), die für komplexe und individuell außerordentlich variable Sensibilisierungsmuster ver-

Tabelle 1. Häufige bzw. potenziell lebensbedrohliche Allergenquellen bei Nahrungsmittelallergien im Kindes- und Erwachsenenalter

Kinder	Jugendliche und Erwachsene
Kuhmilch	Pollenassoziierte Nahrungsmittelallergene
Hühnerei	(z. B. Apfel, Nüsse, Soja, Sellerie, Karotte, Paprika, Gewürze)
Erdnuss	Nüsse und Ölsaaten (z. B. Sesam)
Weizen	Erdnuss
Soja	Fisch und Krustentiere
Nüsse	Kuhmilch- und Milchprodukte
Fisch	Hühnerei Naturlatexassoziierte Nahrungsmittelallergene (z. B. Banane, Avocado, Kiwi)

Tabelle 2. Indikationen zur In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien

- Begründeter Verdacht einer IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie
- Gezielter Ausschluss einer IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie (abhängig von der Allergenquelle und dem Testsystem)
- Verdacht der Sensibilisierung auf hauttestungeeignete Nahrungsmittel
- Bedrohliche Reaktionen auf Nahrungsmittelallergenquellen (schweres Asthma oder Kreislaufreaktionen in der Anamnese)
- Bedingungen, die eine Hauttestung bzw. deren Auswertung nicht zulassen (z. B. Urticaria factitia, generalisierte Hauterkrankung, Gabe von Medikamenten, die das Hauttestergebnis beeinträchtigen)
- Säuglings- oder Kleinkindalter

antwortlich sind. Die Speicherproteine Glycinin (Gly m 6) und β -Conglycinin (Gly m 5) scheinen besonders häufig für die Auslösung von schweren systemischen Reaktionen verantwortlich zu sein [45]. In vitro werden häufig Kreuzreaktivitäten zwischen Sojabohne und Erdnuss beobachtet [88], die klinisch jedoch selten relevant sind.

Schwere oropharyngeale und systemische Symptome können durch thermisch gering prozessierte Sojaprodukte (Sojamilch, Sojaproteinpulver als Diät- oder Nahrungsergänzungsmittel) ausgelöst werden, denen eine Kreuzreaktivität des Sojaproteins Gly m 4 mit dem Birkenpollen-Majorallergen Bet v 1 zugrunde liegt [51, 52, 63]. Durch den großen Anteil an Birkenpollenallergikern und den wachsenden Sojakonsum in der Bevölkerung repräsentiert dieser Zusammenhang wahrscheinlich in Mittel- und Nordeuropa die häufigste Form der Sojaallergie im Jugend- und Erwachsenenalter [48]. Eine gezielte Diagnostik dieser birkenpollenassoziierten Sojaallergie ist durch die Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper gegen Gly m 4 möglich, während Sojaextrakte aufgrund ihres geringen Gly-m-4-Anteils bei dieser Konstellation negative oder niedrige IgE-Ergebnisse zeigen können.

Weizen

Weizen ist ein Grundnahrungsmittel. Die häufig verwendeten Weizenarten sind *Triticum aestivum* für Backprodukte und *Triticum durum* für Nudeln.

Weizenproteine setzen sich zu 5% aus Globulinen (salzlöslich), zu 15% aus Albuminen (wasserlöslich) und zu 80% aus Gluten (wasser- und salzunlöslich) zusammen. Gluten besteht zu fast gleichen Teilen aus den Speicherproteinen der Prolamine als monomere Gliadine (ω -Gliadine, α -Gliadine, γ -Gliadine) und den Gluteninen als aggregierte Gliadine. Die ω -Gliadine werden entsprechend ihrer elektrophoretischen Mobilität in die langsam wandernden ω -1-, ω -2- und ω -3-Gliadine sowie die schnell wandernden ω -4- und ω -5-Gliadine unterteilt.

Für Weizen sind zwei Hauptallergengruppen bekannt. Die erste Gruppe ist die Albumin-/Globulin-Fraktion. Hier spielen die α -Amylase-Inhibitoren die größte Rolle. Die zweite Gruppe ist die Glutenfraktion, bei denen vor allem die monomeren Gliadine von Wichtigkeit sind – besonders das ω -5-Gliadin (Tri a 19) [70]. Dieses Pflanzenspeicherprotein, eine Komponente der schnell wandernden ω -Gliadin-Fraktion im Weizen, stellt ein wichtiges Allergen unter den wasser- und salzunlöslichen Proteinen dar. Es ist ein Risikomarker für zwei Patientengruppen, zum einen für Patienten mit schweren allergischen Sofortreaktionen auf Weizen, insbesondere Kinder, und zum anderen für Patienten mit weizenabhängiger, anstrengungsinduzierter Anaphylaxie [27, 61, 65].

Allergenquellen pflanzlicher (z. B. Nüsse, Früchte, Gemüse) und tierischer Herkunft (Kuhmilch, Hühnerei, Fisch) werden als Extrakte zur Diagnostik eingesetzt, sofern es ihre Qualität erlaubt. Die IgE-Diagnostik mit Einzelallergenen gestattet eine molekülspezifische Diagnostik, deren Bedeutung je nach Allergenquelle und klinischer Charakterisierung der Einzelallergene variiert.

Indikationen zur In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien

In Abhängigkeit von Alter, klinischer Symptomatik und verdächtigten Allergenquellen (Tab. 1) ergeben sich verschiedene Indikationen für die In-vitro-Diagnostik (Tab. 2), die in den folgenden Abschnitten näher erläutert werden.

Begründeter Verdacht einer Nahrungsmittelallergie

Bei einem begründeten Verdacht ist die Bestimmung von spezifischem IgE neben einem Hauttest sinnvoll (besondere Situation bei anaphylaktischer Reaktion und Kindern, siehe unten). Dabei ist zu bedenken,

dass nur für eine beschränkte Anzahl von Nahrungsmitteln, vorwiegend die mit hoher Allergenstabilität (z. B. Kuhmilch, Ei, Erdnuss, Fisch, Sellerie), ausreichend evaluierte Extrakte oder geprüfte Einzelallergene für die IgE-Bestimmung zur Verfügung stehen.

Bedrohliche Reaktionen auf Nahrungsmittel

Bei bedrohlichen Reaktionen auf Nahrungsmittel (z. B. Erdnuss, Nüsse, Soja, Milch, Fisch, Krustentiere, Ölsaaten, z. B. Sesam) kann von der üblichen diagnostischen Reihenfolge (Abb. 1) abgewichen werden. Besonders bei schweren anaphylaktischen Reaktionen ist zunächst die Bestimmung des spezifischen IgE gegen das verdächtige bzw. auszuschließende Nahrungsmittel gerechtfertigt.

Verdacht der Sensibilisierung auf hauttestungeeignete Nahrungsmittel

Lässt sich im Hauttest ein Nahrungsmittel als Auslöser einer Soforttypreaktion nicht prüfen, ist eine spezifische IgE-Bestimmung sinnvoll. Diese Konstellation (unklare Anamnese bei positivem Hauttest) findet sich gehäuft bei bestimmten, potenziell irritativen Nahrungsmitteln (z. B. Tomate und Gewürze). Hier kann mit Suchtests für spezifisches IgE (z. B. fx5 auf die Nahrungsmittel Erdnuss, Fisch, Hühnereiweiß, Kuhmilchprotein, Soja und Weizen; fx14 auf die Nahrungsmittel Tomate, Spinat, Kohl und Paprika) eine Palette von Nahrungsmittelallergenquellen rationell überprüft werden. Ein ungezieltes Screening mit In-vitro-Methoden ohne begründeten Verdacht einer Nahrungsmittelunverträglichkeit ist dagegen nicht zu rechtfertigen.

Bedingungen, die eine Hauttestung bzw. deren Auswertung nicht zulassen

Unter bestimmten Voraussetzungen ist eine Abweichung von der üblichen diagnostischen Reihenfolge (Abb. 1) nötig (mangelnde Hauttestfähigkeit). Ausgeprägter urtikarieller Dermographismus, generalisierte Hauterkrankungen und Medikamente mit hauttestbeeinflussender Wirkung sind Indikationen für eine vorgezogene In-vitro-Testung. Bei Säuglingen und Kleinkindern werden Hauttests aus psychologischen Gründen häufig zurückhaltend durchgeführt; hier ist die Indikation zur In-vitro-Diagnostik ebenfalls großzügig zu stellen.

Häufige Nahrungsmittelallergenquellen mit geringem Gefährdungspotenzial

Bei anamnestisch nur geringfügigen klinischen Reaktionen (z. B. leichte oropharyngeale Symptome bei pollenassoziierter Nahrungsmittelsensibilisierung) sollte die übliche diagnostische Reihenfolge (Anamnese, Hauttest, In-vitro-Diagnostik) eingehalten werden.

Tabelle 3. Probleme der Bewertung spezifischer IgE-Ergebnisse

Technische und methodische Fehler

(Gründe für falsch positive und falsch negative Resultate)

- Mangelnde Qualität der Reagenzien (z.B. Allergenextrakte bzw. ihre Extraktion, Kopplung und Stabilität)
- Laborfehler

Interpretationsfehler

(Gründe für klinisch nicht relevante Resultate)

- Stark erhöhtes Gesamt-IgE mit multiplen Sensibilisierungen
- Zu hohe Nachweisempfindlichkeit
- Kreuzreaktive IgE-Antikörper

halten werden. Auch instabile Nahrungsmittelallergene (z. B. in Obst und Gemüse) lassen sich nativ erfolgreich an der Haut testen (z. B. Prick zu Prick), sofern negative Kontrolltests bei gesunden Probanden vorliegen. Bei positivem Ergebnis sollte kritisch hinterfragt werden, inwieweit eine zusätzliche In-vitro-Diagnostik therapeutische Konsequenzen nach sich zieht. Dabei ist der Schweregrad der Symptome (z. B. leichtes Jucken an der Mundschleimhaut beim OAS) bei der diagnostischen Planung zu berücksichtigen: Ein In-vitro-Screening z. B. sämtlicher Obst- und Gemüsesorten bzw. ihrer verfügbaren Einzelallergene bei birkenpollenassoziierter Kreuzsensibilisierung ist nicht angezeigt (siehe Leitlinie zu Kreuzreaktionen auf Nahrungsmittel [42]).

Indikationen zur IgE-Diagnostik bestehen bei begründetem Verdacht einer Nahrungsmittelallergie und fehlender Aussage nach Anamnese und Hauttest, bei Sensibilisierung auf hauttestungeeignete Nahrungsmittel, bei bedrohlicher Reaktion auf Nahrungsmittel, bei Bedingungen, die Hauttests bzw. ihre Auswertung nicht zulassen, und im Kindesalter.

Interpretation der Testresultate der In-vitro-Diagnostik mit Nahrungsmitteln

Ein positiver IgE-Nachweis zeigt eine IgE-vermittelte Sensibilisierung an, die nur bei Übereinstimmung mit der Anamnese oder einer kontrollierten Provokation eine klinisch bedeutsame Nahrungsmittelallergie beweist. Dabei sollten mögliche Fehler bei der Interpretation berücksichtigt werden (Tab. 3).

Qualität der Reagenzien

Einige Fehlerquellen betreffen die Testreagenzien und deren Prozessierung durch den Testhersteller. Falsch negative Resultate können darauf beruhen, dass die Allergenquelle und ihr Gehalt an IgE-bindenden Proteinen nicht repräsentativ sind. Allerdings

können auch schlechte Löslichkeit, ungeeignete Extraktionsmethoden (z. B. lipophiler Oleosine mit wässriger Extraktion), eine ungenügende Kopplung der Allergene an die verwendete Festphase oder eine unzureichende Allergenstabilität zu falsch negativen Resultaten bei der spezifischen IgE-Bestimmung führen.

Laborfehler und Grenzwerte

Laborfehler, die häufiger als die Qualität der Reagenzien für im Ringversuch abweichende Ergebnisse verantwortlich sind, können sowohl zu falsch negativen als auch falsch positiven Befunden Anlass geben. Da die Bemühungen der Diagnostikhersteller um maximale Sensitivität zu sehr niedrigen Schwellenwerten für die Unterscheidung negativer und positiver Ergebnisse geführt haben, ist bei einer zu tief angesetzten Nachweisempfindlichkeit ebenfalls mit vermehrt falsch positiven bzw. klinisch irrelevanten Ergebnissen zu rechnen. Es muss daher sichergestellt sein, dass eine ausreichende Anzahl von geeigneten Negativkontrollseren kein positives Resultat erzeugt.

Die Interpretation der IgE-In-vitro-Diagnostik wird durch weitere Aspekte erschwert. Bei extrem erhöhtem Gesamt-IgE (z. B. bei Patienten mit atopischem Ekzem mit Werten über 2.000 kU/l) sind die spezifischen IgE-Ergebnisse häufig klinisch nicht relevant. Ein Grund kann die unspezifische Bindungsfähigkeit des massiv erhöhten Gesamt-IgE bei bestimmten Testsystemen sein, andererseits treten bei polyklonaler IgE-Dysregulation häufig polyvalente Sensibilisierungen mit erhöhten spezifischen IgE-Konzentrationen und gehäufte Kreuzreaktionen auf. Eine Betrachtung allergenspezifischer IgE-Werte im Verhältnis zum Gesamt-IgE, häufig als Interpretationshilfe individueller Befunde dienlich, bringt für die Vorhersage einer klinischen Reaktion allerdings keine diagnostischen Vorteile [62].

Durch Kreuzsensibilisierungen verursachte positive Reaktionen sind nur dann klinisch relevant, wenn Symptome auftreten. Einige Proteine aus verschiedenen biologischen Pflanzen- und Tierfamilien, gegen die nie eine primäre Sensibilisierung erfolgt ist, können durch ihre Strukturverwandtschaft und ähnliche Aminosäuresequenz der zugänglichen Proteinanteile IgE-Antikörper binden [1]. Eine klinische Relevanz dieser „serologischen“ Kreuzreaktivität besteht nur bei entsprechender Symptomatik und ist häufig gering (z. B. bei pollenassoziierten Nahrungsmittelsensibilisierungen). Daraus leitet sich die Forderung ab, die In-vitro-Diagnostik gezielt auf die Allergenquellen zu beschränken, bei denen ein klinischer Verdacht auf eine Nahrungsmittelallergie besteht bzw. die konkret ausgeschlossen werden sollen [74]. Bei Pollenallergikern ohne Nahrungsmittelunverträglichkeit

ist die Analyse eventueller Kreuzsensibilisierungen nicht indiziert, da kreuzreaktive Einzelallergene zwangsläufig zu zahlreichen klinisch irrelevanten Ergebnissen führen.

Die Interpretation hat potenziell falsche Resultate durch unzureichende Reagenzienqualität oder Laborfehler und klinisch irrelevante Ergebnisse durch stark erhöhtes Gesamt-IgE, zu hohe Nachweisempfindlichkeit oder kreuzreagierende Allergene (Interpretationsfehler) zu berücksichtigen. Positive Testergebnisse entsprechen allergenspezifischen Sensibilisierungen, die nur bei korrespondierenden Symptomen relevant sind.

Ungeeignete Methoden, die nicht für die Diagnostik von Nahrungsmittelallergien empfohlen werden können

Zu den ungeeigneten Verfahren gehören einerseits Methoden, die aufgrund ihrer zweifelhaften Basis (siehe www.quackwatch.org) und mangelnden Reproduzierbarkeit weder sinnvolle Aussagen zulassen noch in kontrollierten Studien einen Nutzen für die Diagnostik von (allergischen) Erkrankungen gezeigt haben [29]:

- Elektroakupunktur,
- Bioresonanz,
- Irisidiagnostik,
- Kinesiologie,
- Quantenmedizin,
- „zytotoxischer“ Lebensmitteltest und andere.

Eine weitere Gruppe von Testmethoden bedient sich (immunologischer) Testverfahren, die methodisch in einem anderen Zusammenhang eingeführt worden sind und deren Interpretation in Bezug auf Nahrungsmittel unzulässig ist und keine Labordiagnose einer allergischen Nahrungsmittelsensibilisierung oder -unverträglichkeit zulässt:

- Bestimmung von spezifischen IgG- oder IgG₄-Antikörpern gegen Nahrungsmittel [50, 89];
- Lymphozytentransformationstest (LTT), Lymphozytenstimulationstest (LST) mit Nahrungsmitteln; bei diesem Testverfahren können durch Abweichungen (Gruppeneffekte in Form unterschiedlicher Mittelwerte im Stimulationsindex) beim Vergleich von Nahrungsmittelallergikern und Gesunden auftreten, die allerdings aufgrund der erheblichen Streuung mit Überlappung der Einzelwerte nicht zur individuellen diagnostischen Vorhersage geeignet sind;
- Darmbiopsieprovokationstest („tissue oxygenation provocation“ [TOP]).

Die dargestellten Methoden besitzen keine Aussagekraft und sind daher aus der Sicht der allergologischen Gesellschaften zur Abklärung oder zum

Ausschluss einer Nahrungsmittelallergie oder -intoleranz ungeeignet [49, 68].

Untauglich zur Diagnostik von Nahrungsmittelallergien sind Bioresonanz, Kinesiologie, Elektroakupunktur, zytotoxischer Lebensmitteltest (Methoden ohne Aussagekraft und/oder Überprüfung), Lymphozytentransformationstest, nahrungsmittelspezifisches IgG und IgG₄ (Methoden mit unzulässiger Interpretation).

Ungelöste Probleme und Schwierigkeiten der In-vitro-Diagnostik von Nahrungsmittelallergien und Forderungen an zukünftige Forschungsprojekte

Die Qualität sämtlicher Testverfahren zur In-vitro-Diagnostik hängt maßgeblich von den verwendeten Reagenzien ab. Bisher ist aufgrund der unterschiedlichen Allergenquellen, Allergene und Bezugssysteme

ein direkter, quantitativer Vergleich zwischen verschiedenen In-vitro-Test-Anbietern und ihrer Methoden nur in Einzelfällen möglich.

Die besonders bei Pflanzenproteinen beobachteten Probleme durch serologische Kreuzreaktivität sind methodisch nicht ohne Weiteres lösbar; bessere Kenntnisse der zugrunde liegenden Strukturähnlichkeit auf Proteinebene werden in Zukunft eine sicherere Interpretation erlauben.

Häufig ist die klinische Relevanz der erhobenen In-vitro-Befunde bei der Diagnostik von Nahrungsmittelallergien unklar. Bisher gibt es nicht genügend Studien, in denen mit kontrollierten Provokationen mittels DBPCFC [67] die Ergebnisse der In-vitro-Verfahren am Goldstandard der klinischen Diagnose überprüft wurden. Da bei der geringen Häufigkeit von klinisch bedeutsamen Nahrungsmittelallergien derartige Studien schwer zu realisieren sind, bedarf es der verstärkten Zusammenarbeit von spezialisierten Zentren.

Literatur

1. Aalberse RC, Akkerdaas JH, Ree R van. Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy* 2001; 56: 478–90
2. Aalberse RC, Koshte V, Clemens JG. Immunoglobulin E antibodies that crossreact with vegetable foods, pollen, and Hymenoptera venom. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 356–64
3. Aas K, Elsayed SM. Characterization of a major allergen (cod). Effect of enzymic hydrolysis on the allergenic activity. *J Allergy* 1969; 44: 333–43
4. Andersson K, Ballmer-Weber BK, Cistero-Bahima A, Ostling J, Lauer I, Vieths S, Lidholm J. Enhancement of hazelnut extract for IgE testing by recombinant allergen spiking. *Allergy* 2007; 62: 897–904
5. Asero R, Ballmer-Weber BK, Beyer K, Conti A, Dubakiene R, Fernandez-Rivas M, Hoffmann-Sommergruber K, Lidholm J, Mustakov T, Oude Elberink JN, Pumphrey RS, Stahl Skov P, Ree R van, Vlieg-Boerstra BJ, Hiller R, Hourihane JO, Kowalski M, Papadopoulos NG, Wal JM, Mills EN. IgE-mediated food allergy diagnosis: current status and new perspectives. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 135–47
6. Ayuso R, Grishina G, Bardina L, Carrillo T, Blanco C, Ibanez MD, Sampson HA, Beyer K. Myosin light chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 795–802
7. Ballmer-Weber BK, Hoffmann A, Wüthrich B, Lüttkopf D, Pompei C, Wangorsch A, Kästner M, Vieths S. Influence of food processing on the allergenicity of celery: DBPCFC with celery spice and cooked celery in patients with celery allergy. *Allergy* 2002; 57: 228–35
8. Ballmer-Weber BK, Holzhauser T, Scibilia J, Mittag D, Zisa G, Ortolani C, Oesterballe M, Poulsen LK, Vieths S, Bindslev-Jensen C. Clinical characteristics of soybean allergy in Europe: a double-blind, placebo-controlled food challenge study. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1489–96
9. Ballmer-Weber BK, Vieths S, Lüttkopf D, Heuschmann P, Wüthrich B. Celery allergy confirmed by double-blind, placebo-controlled food challenge: a clinical study in 32 subjects with a history of adverse reactions to celery root. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 373–8
10. Becker WM, Schocker F, Boldt A. Allergene der Erdnuss: Struktur und Charakteristika. *Allergologie* 2005; 28: 359–66
11. Beezhold DH, Sussman GL, Liss GM, Chang NS. Latex allergy can induce clinical reactions to specific foods. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 416–22
12. Besler M, Helm KM, Ogawa T. Allergen data collection – update: soybean (glycine max). *Internet Symposium on Food Allergens* 2000; 2 (Suppl 3): 1–35 (<http://www.food-allergens.de>)
13. Beyer K, Grishina G, Bardina L, Grishin A, Sampson HA. Identification of an 115 globulin as a major hazelnut food allergen in hazelnut-induced systemic reactions. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 517–23
14. Bircher AJ, Melle G van, Haller E, Curty B, Frei PC. IgE to food allergens are highly prevalent in patients allergic to pollens, with and without symptoms of food allergy. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 367–74
15. Bolhaar ST, Weg WE van de, Ree R van, Gonzalez-Mancebo E, Zuidmeer L, Bruijnzeel-Koomen CA, Fernandez-Rivas M, Jansen J, Hoffmann-Sommergruber K, Knulst AC, Gilissen LJ. In vivo assessment with prick-to-prick testing and double-blind, placebo-controlled food challenge of allergenicity of apple cultivars. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 1080–6
16. Brehler R, Theissen U, Mohr C, Luger T. "Latex-fruit syndrome": frequency of cross-reacting IgE antibodies. *Allergy* 1997; 52: 404–10
17. Breiteneder H, Hoffmann-Sommergruber K, O'Riordain G, Susani M, Ahorn H, Ebner C, Kraft D, Scheiner O. Molecular characterization of Api g 1, the major allergen of celery (*Apium graveolens*), and its immunological and structural relationships to a group of 17-kDa tree pollen allergens. *Eur J Biochem* 1995; 233: 484–9
18. Breiteneder H, Mills C. Nonspecific lipid-transfer proteins in plant foods and pollens: an important allergen class. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 275–9
19. Breiteneder H, Mills EN. Molecular properties of food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 14–23, quiz 24
20. Broichmann PW, Kästner H, Kalveram KJ. Pseudo-polyvalent immediate-type sensitization within the

- meaning of cross-allergy between bee and wasp venom, pollen, vegetable foods and crustaceans. *Allergologie* 1992; 15: 295–9
21. Bublin M, Radauer C, Wilson IB, Kraft D, Scheiner O, Breiteneder H, Hoffmann-Sommergruber K. Cross-reactive N-glycans of Api g 5, a high molecular weight glycoprotein allergen from celery, are required for immunoglobulin E binding and activation of effector cells from allergic patients. *FASEB J* 2003; 17: 1697–9
 22. Bugajska-Schretter A, Elfman L, Fuchs T, Kapiotis S, Rumpold H, Valenta R, Spitzauer S. Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca²⁺ depletion. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 67–74
 23. Buhl T, Kampmann H, Fuchs T. Tod durch Erdnussallergie nach Konsum eines einzeln verpackten Müsliriegels gesetzeskonform ohne Deklaration der Inhaltsstoffe. *Allergo J* 2006; 15: 572–4
 24. Burks W, Sampson HA, Bannon GA. Peanut allergens. *Allergy* 1998; 53: 725–30
 25. Celik-Bilgili S, Mehl A, Verstege A, Staden U, Nocon M, Beyer K, Niggemann B. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 268–73
 26. Chapman MD, Pomes A, Breiteneder H, Ferreira F. Nomenclature and structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 414–20
 27. Daengsuwan T, Palosuo K, Phankingthongkum S, Visitsunthorn N, Jirapongsananuruk O, Alenius H, Vichayanond P, Reunala T. IgE antibodies to omega-5 gliadin in children with wheat-induced anaphylaxis. *Allergy* 2005; 60: 506–9
 28. DeWitt AM, Mattsson L, Lauer I, Reese G, Lidholm J. Recombinant tropomyosin from *Penaeus aztecus* (rPen a 1) for measurement of specific immunoglobulin E antibodies relevant in food allergy to crustaceans and other invertebrates. *Mol Nutr Food Res* 2004; 48: 370–9
 29. Dorsch W, Ring J. Komplementärmethoden oder sogenannte Alternativmethoden in der Allergologie. *Allergo J* 2002; 3: 163–70
 30. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, Clerck LS De, Stevens WJ. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 137–44
 31. Ebo DG, Sainte-Laudy J, Bridts CH, Mertens CH, Hagendorens MM, Schuerwegh AJ, Clerck LS De, Stevens WJ. Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives. *Allergy* 2006; 61: 1028–39
 32. Erdmann SM, Heussen N, Moll-Slodowy S, Merk HF, Sachs B. CD63 expression on basophils as a tool for the diagnosis of pollen-associated food allergy: sensitivity and specificity. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 607–14
 33. Erdmann SM, Sachs B, Schmidt A, Merk HF, Scheiner O, Moll-Slodowy S, Sauer I, Kwicien R, Maderegger B, Hoffmann-Sommergruber K. In vitro analysis of birch-pollen-associated food allergy by use of recombinant allergens in the basophil activation test. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136: 230–8
 34. Fernandez-Rivas M, Gonzalez-Mancebo E, Rodriguez-Perez R, Benito C, Sanchez-Monge R, Salcedo G, Alonso MD, Rosado A, Tejedor MA, Vila C, Casas ML. Clinically relevant peach allergy is related to peach lipid transfer protein, Pru p 3, in the Spanish population. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 789–95
 35. Fötisch K, Vieths S. N- and O-linked oligosaccharides of allergenic glycoproteins. *Glycoconj J* 2001; 18: 373–90
 36. Fötisch K, Westphal S, Lauer I, Retzek M, Altmann F, Kolarich D, Scheurer S, Vieths S. Biological activity of IgE specific for cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 889–96
 37. Ganglberger E, Radauer C, Grimm R, Hoffmann-Sommergruber K, Breiteneder H, Scheiner O, Jensen-Jarolim E. N-terminal sequences of high molecular weight allergens from celery tuber. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 566–70
 38. Hansen TK, Poulsen LK, Stahl Skov P, Hefle SL, Hlywka JJ, Taylor SL, Bindslev-Jensen U, Bindslev-Jensen C. A randomized, double-blinded, placebo-controlled oral challenge study to evaluate the allergenicity of commercial, food-grade fish gelatin. *Food Chem Toxicol* 2004; 42: 2037–44
 39. Harwanegg C, Hiller R. Protein microarrays for the diagnosis of allergic diseases: state-of-the-art and future development. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2006; 38: 232–6
 40. Harwanegg C, Hutter S, Hiller R. Allergen microarrays for the diagnosis of specific IgE against components of cow's milk and hen's egg in a multiplex biochip-based immunoassay. *Methods Mol Biol* 2007; 385: 145–57
 41. Heiss S, Fischer S, Müller WD, Weber B, Hirschwehr R, Spitzauer S, Kraft D, Valenta R. Identification of a 60 kd cross-reactive allergen in pollen and plant-derived food. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 938–47
 42. Henzgen M, Vieths S, Reese I, Erdmann S, Fuchs T, Jäger L, Kleine-Tebbe J, Lepp U, Niggemann B, Saloga J, Vieluf I, Zuberbier T, Werfel T. Nahrungsmittelallergien durch immunologische Kreuzreaktionen. Leitlinie der Arbeitsgruppe Nahrungsmittelallergie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI) und des Ärzteverbandes Deutscher Allergologen (ÄDA). *Allergo J* 2004; 14: 48–59
 43. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt WM, Twardosz A, Barletta B, Becker WM, Blaser K, Breiteneder H, Chapman M, Cramer R, Duchene M, Ferreira F, Fiebig H, Hoffmann-Sommergruber K, King TP, Kleber-Janke T, Kurup VP, Lehrer SB. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J* 2002; 16: 414–6
 44. Hirschwehr R, Valenta R, Ebner C, Ferreira F, Sperr WR, Valent P, Rohac M, Pumpold H, Scheiner O, Kraft D. Identification of common allergenic structures in hazel pollen and hazelnuts: a possible explanation for sensitivity to hazelnuts in patients allergic to tree pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 927–36
 45. Holzhauser T, Wackermann O, Ballmer-Weber BK, Bindslev-Jensen C, Scibilia J, Perono-Garoffo L, Utsumi S, Poulsen LK, Vieths S. Soybean (glycine max) allergy in Europe: Gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycine max) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 452–8
 46. Jankiewicz A, Aulepp H, Altmann F, Fötisch K, Vieths S. Serological investigation of 30 celery-allergic patients with particular consideration of the thermal stability of IgE binding celery allergens. *Allergo J* 1998; 7: 87–95
 47. Jankiewicz A, Aulepp H, Baites W, Bögl KW, Dehne LI, Zuberbier T, Vieths S. Allergic sensitization to native and heated celery root in pollen-sensitive patients investigated by skin test and IgE binding. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 111: 268–78
 48. Kleine-Tebbe J, Herold DA, Vieths S. Sojaallergie durch Kreuzreaktionen gegen Birkenpollen-Majorallergen Bet v 1. *Allergologie* 2008; 31: 303–13
 49. Kleine-Tebbe J, Lepp U, Niggemann B, Werfel T. Nahrungsmittelallergie und -unverträglichkeit: bewährte statt nicht evaluierte Diagnostik. *Dtsch Arztebl* 2005; 102: A1965–9
 50. Kleine-Tebbe J, Reese I, Ballmer-Weber BK, Beyer K, Erdmann S, Fuchs T, Henzgen M, Heratizadeh A, Huttegger I, Jäger L, Jappe U, Lepp U, Niggemann B, Raithel M, Saloga J, Szépfalusi Z, Vieths S, Werfel T, Zuberbier T, Worm M. Keine Empfehlung für IgG und IgG₄-Bestimmungen gegen Nahrungsmittel. *Allergo J* 2009; 18: im Druck

51. Kleine-Tebbe J, Vieths S, Franke S, Jahreis A, Rytter M, Hausteil U-F. Schwere allergische Reaktionen auf Sojaweiß-haltiges Diätpulver durch IgE-vermittelte Kreuzreaktivität bei ausgeprägter Bet v 1-Sensibilisierung. *Allergo J* 2001; 10: 154–9
52. Kleine-Tebbe J, Vogel L, Crowell DN, Hausteil UF, Vieths S. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 797–804
53. Lauer I, Fötisch K, Kolarich D, Ballmer-Weber BK, Conti A, Altmann F, Vieths S, Scheurer S. Hazelnut (*Corylus avellana*) vicilin Cor a 11: molecular characterization of a glycoprotein and its allergenic activity. *Biochem J* 2004; 383: 327–34
54. Leung PSC, Chen Y-C, Gershwin ME, Wong SH, Kwan HS, Chu KH. Identification and molecular characterization of *Charybdis feratus* tropomyosin, the major crab allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 847–52
55. Leung PSC, Chen YC, Mykles DL, Chow WK, Li CP, Chu KH. Molecular identification of the lobster muscle protein tropomyosin as a seafood allergen. *Mar Mol Biol Biotech* 1998; 7: 12–20
56. Leung PSC, Chu KH, Chow WK, Ansari A, Bandea CI, Kwan HS, Nagy SM, Gershwin ME. Cloning expression, and primary structure of *Metapenaeus ensis* tropomyosin, the major heat-stable shrimp allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 882–90
57. Lidholm J, Ballmer-Weber BK, Mari A, Vieths S. Component-resolved diagnostics in food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6: 234–40
58. Lüttkopf D, Ballmer-Weber BK, Wüthrich B, Vieths S. Celery allergens in patients with positive double-blind placebo-controlled food challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 390–9
59. Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 286–95
60. Mari A, Iacovacci P, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Felice G Di, Pini C. Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1005–11
61. Matsuo H, Kohno K, Niihara H, Morita E. Specific IgE determination to epitope peptides of omega-5 gliadin and high molecular weight glutenin subunit is a useful tool for diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Immunol* 2005; 175: 8116–22
62. Mehl A, Verstege A, Staden U, Kulig M, Nocon M, Beyer K, Niggemann B. Utility of the ratio of food-specific IgE/total IgE in predicting symptomatic food allergy in children. *Allergy* 2005; 60: 1034–9
63. Mittag D, Vieths S, Vogel L, Becker WM, Rihs HP, Helbling A, Wüthrich B, Ballmer-Weber BK. Soybean allergy in patients allergic to birch pollen: clinical investigation and molecular characterization of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 148–54
64. Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Lemerdy P, Croizier A, Kanny G. Food allergy and IgE sensitization caused by spices: CICBAA data (based on 589 cases of food allergy). *Allerg Immunol (Paris)* 2002; 34: 135–40
65. Morita E, Matsuo H, Mihara S, Morimoto K, Savage AW, Tatham AS. Fast omega-gliadin is a major allergen in wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Dermatol Sci* 2003; 33: 99–104
66. Niederberger V, Stubner P, Spitzauer S, Kraft D, Valenta R, Ehrenberger K, Horak F. Skin test results but not serology reflect immediate type respiratory sensitivity: a study performed with recombinant allergen molecules. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 848–51
67. Niggemann B, Erdmann S, Fuchs T, Henzgen M, Jäger L, Kleine-Tebbe J, Lepp U, Raithel M, Reese I, Saloga J, Vieluf I, Vieths S, Zuberbier T, Werfel T. Standardisierung von oralen Provokationstests bei Nahrungsmittelallergien. *Allergo J* 2006; 15: 262–70
68. Niggemann B, Grüber C. Unproven diagnostic procedures in IgE-mediated allergic diseases. *Allergy* 2004; 59: 806–8
69. Pascual CY, Reche M, Fiandor A, Valbuena T, Cuevas T, Esteban MM. Fish allergy in childhood. *Pediatr Allergy Immunol* 2008; 19: 573–9
70. Pastorello EA, Farioli L, Conti A, Pravettoni V, Bonomi S, Iametti S, Fortunato D, Scibilia J, Bindslev-Jensen C, Ballmer-Weber B, Robino AM, Ortolani C. Wheat IgE-mediated food allergy in European patients: alpha-amylase inhibitors, lipid transfer proteins and low-molecular-weight glutenins. Allergenic molecules recognized by double-blind, placebo-controlled food challenge. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 144: 10–22
71. Pauli G, Oster JP, Deviller P, Heiss S, Bessot JC, Susani M, Ferreira F, Kraft D, Valenta R. Skin testing with recombinant allergens rBet v 1 and birch profilin, rBet v 2: diagnostic value for birch pollen and associated allergies. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 1100–9
72. Peeters KA, Koppelman SJ, Hoffen E van, Tas CW van der, Hartog Jager CF den, Penninks AH, Hefle SL, Bruijnzeel-Koomen CA, Knol EF, Knulst AC. Does skin prick test reactivity to purified allergens correlate with clinical severity of peanut allergy? *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 108–15
73. Pozo MD del, Moneo I, Corres LF de, Audicana MT, Munoz D, Fernandez E, Navarro JA, Garcia M. Laboratory determinations in *Anisakis simplex* allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 977–84
74. Przybilla B, Bergmann K-C, Ring J, eds. *Praktische allergologische Diagnostik*. Darmstadt: Steinkopff, 2001
75. Ree R van. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 189–97
76. Reese G, Jeoung B-J, Daul CB, Lehrer SB. Characterization of recombinant shrimp allergen *Pen a 1* (tropomyosin). *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 113: 240–2
77. Renz H, Biedermann T, Bufe A, Eberlein B, Jappe U, Ollert M, Petersen A, Kleine-Tebbe J, Raulf-Heimsoth M, Saloga J, Werfel T, Worm M. In-vitro Allergiediagnostik. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI). *Allergo J* 2009; 18: in Vorbereitung
78. Rodriguez-Perez R, Crespo JF, Rodriguez J, Salcedo G. Profilin is a relevant melon allergen susceptible to pepsin digestion in patients with oral allergy syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 634–9
79. Roehr CC, Edenharter G, Reimann S, Ehlers I, Worm M, Zuberbier T, Niggemann B. Food allergy and non-allergic food hypersensitivity in children and adolescents. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1534–41
80. Sakaguchi M, Toda M, Ebihara T, Irie S, Hori H, Imai A, Yanagida M, Miyazawa H, Ohsuna H, Ikezawa Z, Inouye S. IgE antibody to fish gelatin (type I collagen) in patients with fish allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 579–84
81. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 891–6
82. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 444–51
83. Sampson HA, Mendelson LM, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992; 327: 380–4
84. Scheurer S, Wangorsch A, Nerkamp J, Skov PS, Ballmer-Weber B, Wüthrich B, Hausteil D, Vieths S. Cross-reactivity within the profilin panallergen family investigated by comparison of recombinant profilins from pear (*Pyr c 4*), cherry (*Pru av 4*) and celery (*Api g 4*) with birch pollen profilin Bet v 2. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 756: 315–25
85. Schmid-Hess M, Wüthrich B. Zur Allergie auf Krevetten. Ein Beitrag über Reaktionen nach Genuss von Meeresfrüchten und Fischen. *Hautarzt* 1997; 48: 541–6

86. Schocker F, Lüttkopf D, Scheurer S, Petersen A, Cistero-Bahima A, Enrique E, San Miguel-Moncin M, Akkerdaas J, Ree R van, Vieths S, Becker WM. Recombinant lipid transfer protein Cor a 8 from hazelnut: a new tool for in vitro diagnosis of potentially severe hazelnut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 141–7
87. Shreffler WG. Evaluation of basophil activation in food allergy: present and future applications. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6: 226–33
88. Sicherer SH, Sampson HA. Peanut and soy allergy: a clinical and therapeutic problem. *Allergy* 2000; 55: 515–21
89. Stapel SO, Asero R, Ballmer-Weber BK, Knol EF, Strobel S, Vieths S, Kleine-Tebbe J. Testing for IgG(4) against foods is not recommended as a diagnostic tool – EAACI Task Force Report. *Allergy* 2008; 63: 793–6
90. Steckelbroeck S, Ballmer-Weber BK, Vieths S. Potential, pitfalls, and prospects of food allergy diagnostics with recombinant allergens or synthetic sequential epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1323–30
91. Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Verdino P, Keller W, Sperr WR, Valent P, Valenta R, Spitzauer S. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J Immunol* 2002; 168: 4576–84
92. Szepfalusi Z, Ebner C, Pandjaitan R, Orlicek F, Scheiner O, Boltz-Nitulescu G, Kraft D, Ebner H. Egg yolk alpha-livetin (chicken serum albumin) is a cross-reactive allergen in the bird-egg syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 932–42
93. Toorenenbergen AW van, Waanders J, Gerth Van Wijk R, Vermeulen AM. Immunoblot analysis of IgE-binding antigens in paprika and tomato pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 122: 246–50
94. Untersmayr E, Poulsen LK, Platzer MH, Pedersen MH, Boltz-Nitulescu G, Stahl Skov P, Jensen-Jarolim E. The effects of gastric digestion on codfish allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 377–82
95. Untersmayr E, Vestergaard H, Malling HJ, Jensen LB, Platzer MH, Boltz-Nitulescu G, Scheiner O, Stahl Skov P, Jensen-Jarolim E, Poulsen LK. Incomplete digestion of codfish represents a risk factor for anaphylaxis in patients with allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 711–7
96. Valenta R, Duchene M, Ebner C, Valent P, Sillaber C, Deviller P, Ferreira F, Tejkl M, Edelmann H, Kraft D et al. Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *J Exp Med* 1992; 175: 377–85
97. Valenta R, Duchene M, Pettenburger K, Sillaber C, Valent P, Bettelheim P, Breitenbach M, Rumpold H, Kraft D, Scheiner O. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science* 1991; 253: 557–60
98. Vallier P, DeChamp C, Valenta R, Vial O, Deviller P. Purification and characterization of an allergen from celery immunochemically related to an allergen present in several other plant species. Identification as a profilin. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 774–82
99. Veen MJ van der, Ree R van, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koppelman SJ, Jansen HM, Zee JS van der. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 327–34
100. Vieths S, Hoffmann A, Holzhauser T, Müller U, Reindl J, Hausteil D. Factors influencing the quality of food extracts for in vitro and in vivo diagnosis. *Allergy* 1998; 53 (46 Suppl): 65–71
101. Vieths S, Lüttkopf D, Reindl J, Anliker MD, Wüthrich B, Ballmer-Weber BK. Allergens in celery and zucchini. *Allergy* 2002; 57 (Suppl 72): 100–5
102. Vieths S, Mayer M, Baumgart M. Food allergy: specific binding of IgE antibodies from plant food sensitized individuals to carbohydrate epitopes. *Food Agric Immunol* 1995; 6: 453–63
103. Wagner S, Breiteneder H. The latex-fruit syndrome. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 935–40
104. Wal JM. Cow's milk allergens. *Allergy* 1998; 53: 1013–22
105. Wensing M, Akkerdaas JH, Leeuwen WA van, Stapel SO, Bruijnzeel-Koomen CA, Aalberse RC, Bast BJ, Knulst AC, Ree R van. IgE to Bet v 1 and profilin: cross-reactivity patterns and clinical relevance. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 435–42
106. Wüthrich B. Diagnostik – Häufigkeit der Symptome und der allergieauslösenden Nahrungsmittel bei Erwachsenen. In: Wüthrich B, Hrsg. *Nahrungsmittel und Allergie*. München-Deisenhofen: Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle, 1996: 35–45
107. Wüthrich B, Stöger P, Johansson SGO. RAST – spezifische IgE auf Gewürze bei Sensibilisierungen gegen Birke, Beifußpollen und Sellerie. *Allergologie* 1992; 15: 380–3
108. Wüthrich B, Straumann F. Pollen cross-reactivity. Can we establish a link between the in vitro results and the clinical situation? *Allergy* 1997; 52: 1187–93
109. Yu CJ, Lin YF, Chiang BL, Chow LP. Proteomics and immunological analysis of a novel shrimp allergen, Pen m 2. *J Immunol* 2003; 170: 445–53
110. Yu JW, Kagan R, Verreault N, Nicolas N, Joseph L, St Pierre Y, Clarke A. Accidental ingestions in children with peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 466–72