

Verdacht auf Schimmelpilzallergie: Was ist zu testen?

Untersuchung von Allergiediagnostika und Testsystemen



Sabine Kespohl, Monika Raulf

Expositionen gegen Schimmelpilze können arbeitsbedingte Gesundheitsgefahren darstellen. Neben infektiösen, toxischen und irritativen Effekten treten auch immer wieder Sensibilisierungen auf, die typische allergische Reaktionen verursachen können. Die Diagnose von Schimmelpilzallergien ist schwierig, da die genaue Schimmelpilzexposition häufig nicht bestimmt werden kann und darüber hinaus standardisierte und kommerziell verfügbare Allergenextrakte fehlen, sodass nur wenige Schimmelpilzextrakte getestet werden können.

Schimmelpilzexpositionen an Arbeitsplätzen sind keine Seltenheit. Grundsätzlich ist eine berufliche Schimmelpilzexposition bei den folgenden Tätigkeiten als gegeben anzusehen [1]:

- Abfallbereich (Abfallwirtschaft, Kompostierung, Mülltrennung und -verbrennung, Wertstoffsartierung)
- Gebäudesanierung, Sanierung von schimmelpilzbefallenen Innenräumen, Bodensanierung
- Aufenthalt in Archiven, Bibliotheken, Depots und Magazinen, hier besteht häufig Kontakt zu altem Papier beziehungsweise Papier mit Schimmelpilzbefall
- Landwirtschaft durch den Kontakt mit Heu, Streu und in der Tierhaltung
- Gärtnereien, Floristik, Baumarbeiten
- Lebens- und Genussmittel sowie Futtermittelproduktion
- Papier- und Holzherstellung und -verarbeitung
- Umgang mit Kühlschmierstoffen (Aerosole mit Bakterien und Schimmelpilzen)
- Lüftungs-/Klimaanlagenwartung
- Forschungs- und medizinische Untersuchungslabors

Vermutlich sind alle Schimmelpilze geeignet, Sensibilisierungen und Allergien hervorzurufen. Im Vergleich zu anderen Umweltallergenen, wie zum Beispiel Pollen und Milben, wird ihr allergenes Potenzial geringer eingeschätzt. Nichtsdestotrotz kann man davon ausgehen, dass längerfristiger, intensiver Kontakt mit luftgetragene Pilzsporen und anderen Pilzbestandteilen (z.B. Myzel) bei einer bestehenden Veranlagung (z.B. Atopie) zu einer Sensibilisierung und nachfolgend bis zu schweren allergischen Reaktionen führen kann. Auf Grund einer stetigen Ausweitung der Problematik hat das IPA die diagnostischen Möglichkeiten bei Verdacht auf Schimmelpilzallergien untersucht und Empfehlungen für den Einsatz in der Praxis erarbeitet.

Immer weniger kommerzielle Allergiediagnostika

Durch die Novellierung des Arzneimittelgesetzes 2015 sind für Allergiediagnostika Zulassungen erforderlich, die aufwendig und teuer sind. Dies reduziert insbesondere bei ‚selteneren Allergenen‘, zu denen auch Schimmelpilze gehören, die verfügbaren Allergiehauttests [2]. Die den Leitlinien entsprechende Allergiediagnostik empfiehlt Hautpricktestung (skin prick test, SPT) und/oder *In-vitro-IgE*-Testung [3]. Wenn

Kurz gefasst

- Die Diagnose einer Schimmelpilzallergie wird häufig durch das Fehlen standardisierter, kommerziell verfügbarer Allergenextrakte erschwert.
- Das IPA hat die diagnostischen Möglichkeiten bei Verdacht auf Schimmelpilzallergien untersucht und Empfehlungen für den Einsatz in der Praxis erarbeitet.
- Der Vergleich verschiedener diagnostischer Testsysteme zeigt, dass der Hautpricktest (SPT) sensitiver als die spezifische IgE-Bestimmung im Blut ist. Deshalb sollte der SPT immer zuerst eingesetzt werden.
- Insbesondere bei Schimmelpilzallergenen wird eine Doppelbestimmung im Hauttest empfohlen.

Hauttestextrakte stetig reduziert werden, fokussiert sich die Diagnostik auf die serologische IgE-Testung. In den hier dargestellten Untersuchungen wurden die in den Leitlinien empfohlenen Testverfahren SPT und sIgE für die häufig getesteten Schimmelpilze *Alternaria alternata* (Alt a), *Aspergillus fumigatus* (Asp f), *Cladosporium herbarum* (Cla h) und *Penicillium chrysogenum* (Pen ch) in einer Multicenterstudie unter Federführung des IPA evaluiert [4].

Das Allergentestspektrum wurde dafür um den Innenraum-relevanten Schimmelpilz *Aspergillus versicolor* (Asp v) erweitert, da dieser Schimmelpilz häufig in Räumen mit Feuchtschäden nachgewiesen wurde [5-6]. Allerdings gibt es keine oder nur wenige kommerzielle Allergentestextrakte für *Aspergillus versicolor* und daher wurde die Sensibilisierungsprävalenz selten untersucht. Aufgrund der häufigen *Aspergillus versicolor*-Exposition in Innenräumen gilt dieser Schimmelpilz aber als potentes, vermutlich ‚unter-diagnostiziertes‘ Innenraumallergen. Der Deutsche Kinder-Umwelt-Survey (GerES IV) von 2007 berücksichtigte den typischen Innenraumschimmelpilz *Aspergillus versicolor* und ließ dafür spezielle Allergentestlösungen herstellen. In der umfangreichen Querschnittsstudie mit insgesamt 1538 gesunden Kindern wurde eine Sensibilisierungsprävalenz gegen fünf Schimmelpilze, darunter auch *Aspergillus versicolor*, gemessen [7]. Die Sensibilisierungsrate gegen mindestens einen der untersuchten Schimmelpilze lag bei 9,5 Prozent. Auf *Aspergillus versicolor* reagierten 2,3 Prozent, also ein Viertel der Kinder, mit mindestens einer Schimmelpilzsensibilisierung.

Die Schimmelpilzallergiediagnostik ist aber nicht nur wegen der eingeschränkten Auswahl von Schimmelpilz-Testextrakten schwierig. Eine weitere Herausforderung stellt die Heterogenität der Schimmelpilz-Allergentestlösungen aufgrund der unterschiedlichen Ausgangsmaterialien dar. Daher wurden die in der Multicenterstudie „Qualitätsüberprüfung von Schimmelpilzextrakten“ (kurz QuaSchi) eingesetzten Schimmelpilz-Hautpricktestlösungen zunächst biochemisch analysiert [8].

Biochemische Qualitätsanalyse von Schimmelpilz-Hautpricktestlösungen

Die in der Studie eingesetzten, kommerziellen Schimmelpilz-Hautpricktestextrakte wurden von jeweils vier Herstellern bezogen. Zwei weitere nicht kommerzielle Schimmelpilzextrakte gegen *Aspergillus versicolor* wurden am IPA hergestellt. Die biochemische Analyse umfasste die qualitative und quantitative Messung des Protein-, Antigen- und Allergengehalts [4, 8]. Mengenmäßig (quantitativ) war der Proteingehalt in allen Schimmelpilz-Hautpricktestextrakten vergleichbar und

betrug zwischen knapp 0,1 – 0,2 mg/mL. Die korrespondierenden Proteinprofile (qualitativ) zeigten jedoch erhebliche Unterschiede. Abbildung 1 zeigt exemplarisch das Proteinprofil für die vier kommerziellen Hautpricktestextrakte von *Aspergillus fumigatus*. Die spezifischen Proteinmuster der kommerziellen Extrakte basieren wahrscheinlich auf verschiedenen Extraktionsmethoden und/oder unterschiedlichen Ausgangsmaterialien. Dieses Phänomen konnte bei allen Schimmelpilz-Hautpricktestextrakten beobachtet werden. Auch die Antigen- und Allergengehalte variierten erheblich. Die gemessenen Antigengehalte unterschieden sich je nach Hersteller und Schimmelpilzart um bis zum Faktor 1000 [8]. Das IgE-bindende Potenzial der Hautpricktestextrakte wurde mittels sIgE-Inhibitionsstudien gemessen. Mit allen Extrakten konnte eine deutliche Reduktion der initialen IgE-Bindung erzielt werden. Ob die gemessenen Unterschiede der Extrakte im Proteingehalt und -profil sowie im Antigen-/Allergengehalt und Antigenmuster auch beim Einsatz in der Diagnostik relevant sind, wurde im Folgenden in der Pricktestung überprüft und die Größe der Hautreaktion ermittelt. Tabelle 1 zeigt exemplarisch die Daten für

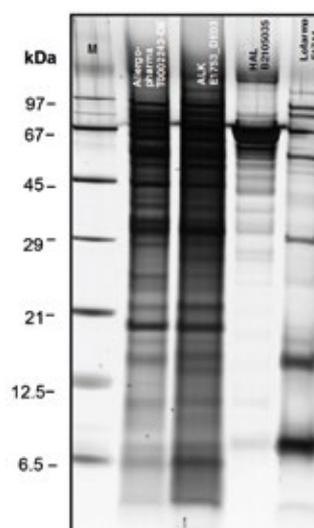


Abbildung 1: SDS-Silbergel verschiedener *Aspergillus fumigatus* (Asp f) Hautpricktestextrakte

1000 [8]. Das IgE-bindende Potenzial der Hautpricktestextrakte wurde mittels sIgE-Inhibitionsstudien gemessen. Mit allen Extrakten konnte eine deutliche Reduktion der initialen IgE-Bindung erzielt werden. Ob die gemessenen Unterschiede der Extrakte im Proteingehalt und -profil sowie im Antigen-/Allergengehalt und Antigenmuster auch beim Einsatz in der Diagnostik relevant sind, wurde im Folgenden in der Pricktestung überprüft und die Größe der Hautreaktion ermittelt. Tabelle 1 zeigt exemplarisch die Daten für

die Überprüfung der *Aspergillus fumigatus* Hautpricktest-extrakte. Testlösungen mit hohem Antigengehalt und hoher sIgE-Inhibitionsrate, in diesem Falle von Allergopharma beziehungsweise ALK, lösten bei 37 beziehungsweise 30 Probanden eine Hautreaktion aus, im Gegensatz zu den zwei

SPT-Extrakt Hersteller	Protein [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	Antigen [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	Allergenität [% Inhibition]	Hautreaktion MW ≥ 1.5 mm [n=]
Asp f Allergopharma	90	250.3	69	37
Asp f ALK	150	345.0	88	30
Asp f HAL-Allergie	180	0.5	48	21
Asp f Lofarma	40	82.1	46	20

Tabelle 1: Biochemische Analyse von Asp f Hautpricktestextrakten

Detektionsrate (%)	sIgE mx1	SPT Allergo	SPT ALK	SPT HAL	SPT Lofarma
nur sIgE	62	-	-	-	-
nur SPT Pen ch, Asp f, Alt a	-	75	69	63	67
nur SPT Pen ch, Asp f, Alt a, Cla h	-	78	73	63*	70
sIgE mx1+ SPT Pen ch, Asp f, Alt a	+	78	72	70	71
sIgE mx1+ SPT Pen ch, Asp f, Alt a, Cla h	+	80	74	70*	73

*keine Cla h Testlösung verfügbar

Tabelle 2: Detektionsrate der Schimmelpilz-Sensibilisierten mit verschiedenen Tests

Atopie

Der Begriff „Atopie“ kommt aus dem Griechischen und beschreibt die Neigung der Betroffenen auf den Kontakt mit ansonsten harmlosen Substanzen aus der Umwelt zu reagieren. Atopie bezeichnet u.a. also eine körperliche Bereitschaft zu einer krankhaft erhöhten Bildung von Immunglobulin-E-Antikörpern (IgE). Um den Atopiestatus einer Person bestimmen zu können, werden in der Allergologie häufig zwei Testparameter bestimmt:

- Gesamt IgE je nach Alter des Patienten, z.B. ≥ 150 kU/L, kann auf eine Atopie hinweisen.
- Spezifische IgE-Konzentrationen (sIgE) $\geq 0,35$ kU/L auf die Inhalationsallergen-Mischung (sx1) deutet auf eine Atopie hin. Diese Inhalationsallergenmischung sx1 enthält folgende Allergenextrakte: Hausstaubmilbe (*Dermatophagoides pteronyssinus*), Katzen- und Hunde-Epithel, Wiesenlieschgraspollen, Weidel-/ Lolchgraspollen, *Cladosporium herbarum*, Birkenpollen und Beifußpollen.

Testextrakten mit niedrigerem Antigengehalt, die nur bei 20 beziehungsweise 21 Probanden zu einer Hautreaktion führten. Dies galt auch für alle weiteren Schimmelpilzspezies, mit Ausnahme von *Alternaria alternata*, da hier bereits kleinste Mengen des Hauptallergens (Alt a 1) für eine positive Hautreaktion ausreichend waren.

QuaSchi-Studie – Studiendesign und Probandenkollektiv

In der QuaSchi-Studie wurde die Reaktivität verschiedener, kommerzieller Schimmelpilz-Hautpricktestextrakte im Rahmen der Diagnostik zur Abklärung einer Schimmelpilzallergie untersucht und verglichen. Dreizehn allergologische Zentren, in denen freiwillige Probanden mit Verdacht auf Schimmelpilzallergie oder schimmelpilzassoziierten Beschwerden rekrutiert wurden, nahmen an der Studie teil. Die Probanden wurden mit insgesamt 15 kommerziellen Schimmelpilzextrakten, sowie zwei am IPA hergestellten Extrakten von *Aspergillus versicolor* untersucht. Die Hautpricktestung erfolgte gemäß der aktuellen Leitlinie der DGAKI beziehungsweise den Empfehlungen der EAACI für die Hautpricktestungen in Doppelbestimmung auf der Innenseite beider Arme in gegenläufiger Richtung (Abb. 2) [3, 9]. Korrespondierend wurde eine spezifische IgE-Messung gegen die jeweiligen Schimmelpilzspezies durchgeführt. Zusätzlich wurden in den Seren der Studienteilnehmer auch Gesamt-IgE, die IgE-Reaktivitäten gegen die Inhalationsallergenmischung sx1 sowie gegen die Schimmelpilzallergenmischung mx1, die *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum* und *Alternaria alternata* enthält, bestimmt. Es wurden insgesamt 168 Probanden im Alter zwischen 10 und 78 Jahren untersucht, davon 51 Prozent Männer und 49 Prozent Frauen. 166 Studienteilnehmer gaben respiratorische Beschwerden, vermutlich durch Schimmelpilze, an. 47 Prozent der Seren hatten erhöhte Gesamt-IgE-Konzentrationen und 62 Prozent waren positiv im Inhalationsscreen (sx1).

Ist eine Doppelbestimmung im Hautpricktest zwingend notwendig?

Insgesamt wurden bei 87 von 168 Studienteilnehmenden im SPT positive Hautreaktionen auf mindestens eine der applizierten Schimmelpilz-Hautpricktestlösungen ermittelt. Der Anteil der Probanden, der mit demselben Schimmelpilztestextrakt auf beiden Armen eine übereinstimmende Hautreaktion zeigte, lag abhängig von der verwendeten Hauttestlösung zwischen 42 und 88 Prozent. Somit wären bei einzelnen Schimmelpilzallergenen durch Testung an nur einem Arm weniger als die Hälfte der Schimmelpilzsensibilisierungen diagnostiziert worden. Eine Ursache hierfür liegt in nicht standardisierten beziehungsweise heterogenen Testextrakten [4, 8, 9]. So zeigten Schimmelpilztestlösun-

Fazit für die Praxis:

- Da der Hautpricktest sensitiver als die spezifische IgE-Bestimmung ist, sollte zuerst eine Hauttestung durchgeführt werden
- Verwendung von Hauttestlösungen mit hohem Antigengehalt wird unbedingt empfohlen
- Hautpricktestung sollte als Doppelbestimmung an beiden Armen an verschiedenen Positionen durchgeführt werden
- Als Screeningtool, zur Bestimmung von spezifischem IgE im Serum, ist die Schimmelmischung mx1 bestehend aus *Alternaria alternata*-, *Aspergillus fumigatus*-, *Penicillium chrysogenum*-, *Cladosporium herbarum*-Extrakten geeignet
- Eine kombinierte Testung von Hautpricktest mit *Penicillium chrysogenum*-, *Aspergillus fumigatus*- und *Alternaria alternata*-Extrakten und der spezifischen IgE-Bestimmung gegen die Schimmelpilzmischung mx1 bietet sich als erster Schritt an

Die Autorinnen:

Dr. Sabine Kespohl, Prof. Dr. Monika Raulf
IPA

Literatur

1. DGUV Information 213-092. Pilze – Einstufung biologischer Arbeitsstoffe. BG RCI Schriftenreihe Sichere Biotechnologie 6/2016
2. Klimek L, Werfel T, Vogelberg C, Jung K. Authorised allergen products for intracutaneous testing may no longer be available in Germany. Allergy textbooks have to be re-written. Allergo J Int. 2015; 24: 84–93
3. Ruëff F, Bergmann KC, Brockow K, Fuchs T, Grübl A, Jung K, Klimek L, Müsken H, Pfaar O, Przybilla B, Sitter H, Wehrmann W. German Society for Allergology and Clinical Immunology: Hauttests zur Diagnostik von allergischen Soforttyp-Reaktionen. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinischen Immunologie (DGAKI). Pneumologie, 2011; 65: 484–495
4. Kespohl S, Maryska S, Bünger J, Hagemeyer O, Jakob T, Joest M, Knecht R, Koschel D, Kotschy-Lang N, Merget R, Mülleneisen NK, Rabe U, Röseler S, Sander I, Stollewerk D, Straube H, Ulmer HM, van Kampen V, Walusiak-Skorupa J, Wiszniewska M, Wurpts G, Brüning T, Raulf M. How to diagnose mould allergy? Comparison of skin prick tests with specific IgE results. Clin Exp Allergy 2016; 46: 981–991
5. Fischer, G, Dott, W. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. Arch Microbiol. 2003; 179: 75-82
6. Andersen B, Frisvad JC, Søndergaard I, Rasmussen IS, Larsen LS. Associations between fungal species and water-damaged building materials. Appl Environ Microbiol. 2011; 77: 4180-8
7. Kolossa-Gehring M, Becker K, Conrad A, Lüdecke A, Riedel S, Seiwert M, Schulz C, Szewzyk R. German Environmental Survey for Children (GerES IV) – first results. Int J Hyg Environ Health. 2007; 210: 535-40
8. Kespohl S, Maryska S, Zahradnik E, Sander I, Bruening T, Raulf-Heimsoth M. Biochemical and immunological analysis of mould skin prick test solution. Current status of standardization. Clin Exp Allergy 2013; 43: 1286–1296
9. van Kampen V, de Blay F, Folletti I, Kobierski P, Moscato G, Olivieri M, Quirce S, Sastre J, Walusiak-Skorupa J, Raulf-Heimsoth M. EAACI position paper. Skin prick testing in the diagnosis of occupational type I allergies. Allergy 2013; 68: 580–584