

**Laborbiochemische und klinische Evaluationsstudie eines Multiallergen-
Testsystems zum Nachweis von spezifischen IgE**

Ahmed Tariq Omary

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München
zur Erlangung eines
Doktors der Medizin (Dr.med.)
genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer*innen der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Markus Ollert
2. Prof. Dr. Dirk H. Busch

Die Dissertation wurde am 01.09.2022 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 21.02.2023 angenommen.

Meiner Familie

*« ...So weit gekommen und so viel gesehen
So viel passiert das wir nicht verstehen
Berge erklimmen um hier heute zu stehen
Meere durchschwommen um Krieg zu entgehen
Grenzen passiert, marschiert unter Tränen
Doch ich fand hier meine Identität
Alles verloren in der Nacht als wir flohen
Und mich dann hier gefunden als einer von 80 Millionen... »*

MoTrip

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Abkürzungsverzeichnis	3
1. Einleitung	4
1.1 Allergie.....	4
1.1.1 Definition und Klassifikation.....	4
1.1.2 Atopie und assoziierte Erkrankungen.....	8
1.1.3 Die Allergie-Epidemie – eine Volkserkrankung.....	11
1.2 Immunglobulin E (IgE).....	13
1.2.1 Aufbau und physiologische Funktion von IgE.....	13
1.2.2 Diagnostik unter Zuhilfenahme von IgE.....	16
1.2.2.1 In-vitro-IgE-Diagnostik – direkter IgE-Nachweis.....	16
1.2.2.2 In-vivo-Diagnostik von spezifischen IgE (Prick-Test) – indirekter IgE-Nachweis.....	18
1.2.3 Klinische Relevanz – IgE als Biomarker.....	19
2. Ziel der Arbeit	21
3. Material und Methoden	22
3.1 Materialien.....	22
3.1.1 Probanden und Materialgewinnung.....	22
3.1.2 Geräte.....	22
3.1.3 Einzelallergene und Allergenextrakte.....	23
3.1.3 Substanzen für IgE Messung.....	23
3.2 Methoden.....	24
3.2.1 In-vitro-Testsysteme.....	24
3.2.1.1 Phadia® 250.....	24
3.2.1.1.1 ImmunoCap Testprinzip.....	24
3.2.1.1.2 ImmunoCAP-Reaktionsschritte.....	25
3.2.1.2 AP720S™ Optigen®.....	27

3.2.1.2.1 Optigen-Testprinzip	27
3.2.1.2.2 Optigen-Reaktionsschritte	27
3.2.2 In-vivo-Testsystem: Prick-Test	29
3.3 Daten und statistische Auswertung	29
4. Ergebnisse	31
4.1 Probandenkollektiv	31
4.2 Korrelation der spezifischen IgE-Werte zwischen ImmunoCAP und Optigen.....	32
4.2.1 Korrelation der spezifischen IgE-Werte.....	32
4.2.2 Korrelation der IgE-Klassen.....	33
4.2.3 Korrelation des spezifischen IgE - Zusammenfassung	35
4.3 Diskriminative Güte von ImmunoCAP und Optigen im Vergleich zum Prick-Test	36
4.3.1 Diskriminative Güte der spezifischen IgE-Werte	36
4.3.2 Diskriminative Güte der IgE-Klassen	38
4.3.3 Diskriminative Güte – Zusammenfassung	39
5. Diskussion	41
5.1 Performance des Optigen- vs. ImmunoCAP-Testsystem.....	41
5.2 Vergleich von Singleplex- und Multiplex-IgE-Messsystemen	44
5.3 Molekulare IgE-Diagnostik mit Allergen-chips	46
6. Zusammenfassung	48
Literaturverzeichnis	49
Dank	55

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent	Min	Minute(n)
Abb.	Abbildung	mL	Milliliter
APC	Antigenpräsentierende Zelle(n)	MTP	Mikrotiterplatte
aIgE	Anti-Immunglobulin E-Antikörper	mRNA	Boten („messenger“) -Ribonukleinsäure
Bsp.	Beispiel	NKC	„natural killer cell(s)“
bzw.	Beziehungsweise	nm	Nanometer
°C	Grad Celsius	NF-κB	„nuclear factor kappa B“
CCL	C-Chemokin-Ligand	PAMPS	„pathogen associated molecular patterns“
CCR	Chemokin-Rezeptor	PBMC	„peripheral blood mononuclear cell(s)“
CD	„cluster of differentiation“	pDC	Plasmazytoide dendritische Zelle
CLA	„chemiluminescence assay“	Pen/Strep	Penicillin/Streptomycin
CTLA-4	„cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4“	PHA	Phythämagglutinin (=Lectin)
CXCL	CX-Chemokin-Ligand	PI	Propidiumiodid
CXCR	CX-Chemokin-Rezeptor	PRR	„pattern recognition receptor“
DAMPs	„danger associated molecular patterns“	µg	Mikrogramm
DC	Dendritische Zelle(n)	µL	Mikroliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure	RCA	Rhinoconjunctivitis allergica
DMSO	Dimethylsulfoxid	rpm	„rounds per minute“
DPBS	Dulbecco's phosphate buffered saline	RPMI	Roswell Park Memorial Institute
EDTA	Ethylendiamintetraacetat	sek	Sekunde(n)
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor	sIgE	Spezifisches IgE
EIA	„enzyme immuno assay“	STAT	„signal transducer and activator of transcription“
ELISA	„enzyme-linked immunosorbent assay“	TCR	T-Zell-Rezeptor
evtl.	eventuell	T _H	T-Helferzelle
FACS	„fluorescence associated cell sorter“	TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
FEIA	„fluorescence enzyme immune assay“	T _{reg}	T regulatorische Zelle
FOXP3	Forkhead Box Protein P3	vgl.	Vergleiche
g	Gravitation	z.B.	zum Beispiel
h	Stunde(n)		
HLA	Humanes Leukozyten Antigen		
ICAM-1	Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1		
IFN	Interferon		
ICOS	„inducible T cell costimulator“		
Ig	Immunglobulin		
IL	Interleukin		
IMSE	Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie		
LPS	Lipopolysaccharid		
MACS	„magnetic activated cell sorting“		
MHC	„major histocompatibility complex“		

1. Einleitung

1. Einleitung

1.1 Allergie

1.1.1 Definition und Klassifikation

Das Wort Allergie setzt sich aus den altgriechischen Wörtern *állos* (wird mit „fremd“ oder „anders“ übersetzt) sowie aus *érgon*, („Werk“ oder „Reaktion“), zusammen. Die wortwörtliche Übersetzung für Allergie ergibt daher den Begriff „Fremdreaktion“ [72]. Im medizinischen Kontext taucht eine Definition von Allergie erst im Jahr 1906 im Rahmen der Münchner Medizinischen Wochenschrift in einem Artikel des Wiener Pädiaters Clemens von Pirquet als eine „spezifisch veränderte Reaktionsfähigkeit des Organismus“ auf. Heutzutage wird der Begriff Allergie als eine immunologische Hypersensitivität auf bestimmte, normalerweise harmlose körperfremde Umweltstoffe, auch Allergene genannt, definiert. Allergie ist daher keine eigenständige Erkrankung, sondern vielmehr ein Mechanismus zur Entstehung von vielen verschiedenen Erkrankungen mit unterschiedlichen Pathomechanismen [10].

Unter Berücksichtigung dieser unterschiedlichen Pathomechanismen, der jeweiligen typischen Klinik sowie dem zeitlichem Verlauf der verschiedenen allergischen Reaktionen, entwickelte 1963 der britische Tierarzt und Immunologe Robert Royston Amos Coombs zusammen mit seinem Landsmann, dem Pathologen und Immunologen Philip George Houthem Gell, eine bis heute gültige Einteilung von pathologischen allergischen Reaktionen, die sog. „Coombs and Gell-Klassifikation“ (Tabelle 1) [67].

Tabelle 1 Klassifikation von Allergien (nach Coombs und Gell)

Type	Name	Immunmechanismus	Erkrankungen (Bsp.)
I	Soforttyp, anaphylaktischer Typ	IgE-Antikörper	Atopischer Formenkreis Anaphylaxie
II	Zytotoxischer, Antikörpervermittelter Typ	IgM- oder IgG-Antikörper gegen Zelloberflächen- oder Matrix-Antigene	Autoimmune hämolytische Anämie
III	Immunkomplex-Typ	Immunkomplexe von	Serumkrankheit

1. Einleitung

		zirkulierenden Antigenen mit IgM- oder IgG-Antikörpern	Arthus-Reaktion
IV	Spättyp, verzögerter zellvermittelter Typ	T-Lymphozyten	Kontaktallergie granulomatöse Reaktion

Im Folgenden werden die einzelnen Allergie- bzw. Überempfindlichkeitstypen genauer erläutert. Aufgrund der Thematik dieser Dissertation wird ein besonderer Schwerpunkt auf den Soforttyp (Typ I) gelegt.

Typ I: Die Soforttypreaktion

Die Typ-I-Überempfindlichkeitsreaktion teilt sich in zwei Phasen auf.

1. Sensibilisierungsphase

Voraussetzung einer Typ-1-Allergie ist ein vorausgegangener, in der Regel symptomloser Erstkontakt mit einem spezifischen Allergen. Im Rahmen dieses Kontaktes kommt es nach Prozessierung des Allergens durch antigenpräsentierende Zellen (APC) wie z. B. dendritischen Zellen und Präsentation über den Major Histocompatibility Complex-II (MHCII) zur Aktivierung antigenspezifischer CD4⁺ T-Helferzellen des Typs 2 (T_H2-Zellen). Diese wiederum aktivieren B-Zellen und führen über die Produktion von IL-4 zu einem Klassenwechsel der allergenspezifischen Immunglobuline (Ig) zu IgE. Die Immunglobuline der Klasse E binden daraufhin im Gewebe über ihren hochaffinen Fc-Rezeptor an gewebständige Mastzellen und basophile Granulozyten und werden so zu zellständigen Antikörpern (vgl. Abb. 1) [1; 77].

1. Einleitung

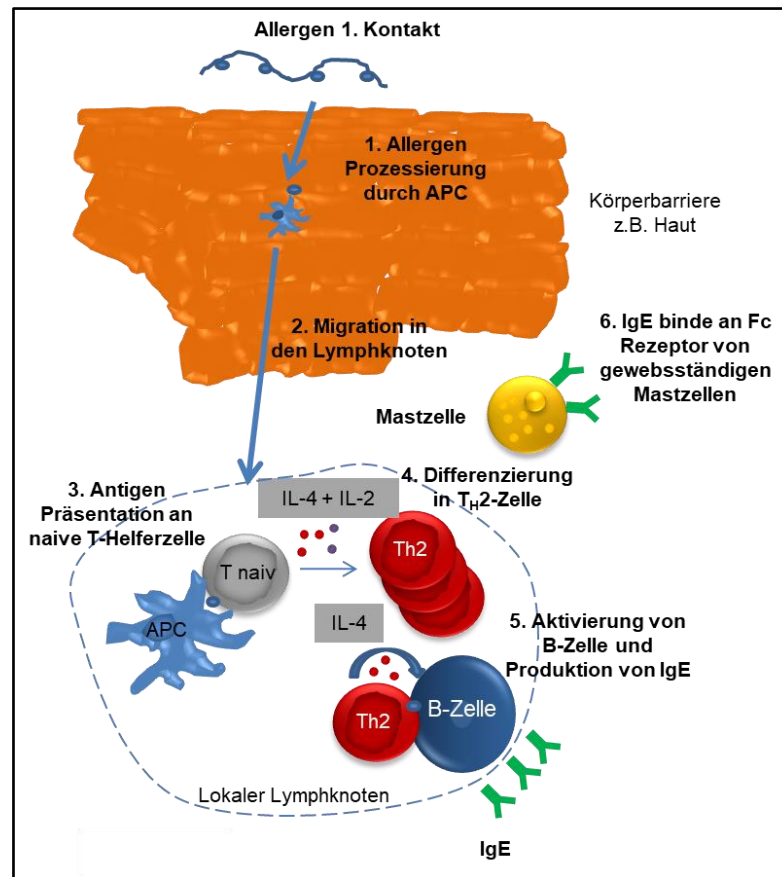


Abb. 1: Pathomechanismus der Typ 1 Überempfindlichkeitsreaktion – Sensibilisierungsphase

Beim Allergen-Erstkontakt wird das Allergen über APC prozessiert und im Lymphknoten naiven T-Helferzellen präsentiert. Diese werden hierdurch aktiviert und regen ihrerseits wiederum B-Zellen zur Produktion von allergenspezifischen IgE-Antikörpern an. Die IgE Rezeptoren binden im Anschluss an gewebständige myeloische Zellen wie Mastzellen und basophile Granulozyten.

2. Effektorphase

Wie der Name schon sagt, zeigt sich die Soforttypreaktion bereits wenige Minuten nach der zweiten Allergenexposition. Hierbei kommt es durch eine allergenbedingte Quervernetzung von IgE-Molekülen auf der Oberfläche von Mastzellen oder basophilen Granulozyten zur deren Aktivierung mit nachfolgender Degranulation dieser Zellen. Dies führt zur Freisetzung vieler verschiedener Botenstoffe – etwa: Histamin, Leukotrienen, Prostaglandine, weitere Entzündungsmediatoren – in das umgebende Gewebe. Dies wiederum führt zu Vasodilatation, erhöhter Gefäßpermeabilität, Mucussekretion und Kontraktion von glatter Muskulatur. Je nach Stärke der Reaktion kann es sich um eine rein lokale Reaktion wie bei Rhinitis oder eine systemische Reaktion im Sinne einer Anaphylaxie bis zum Kreislaufstillstand handeln [1].

1. Einleitung

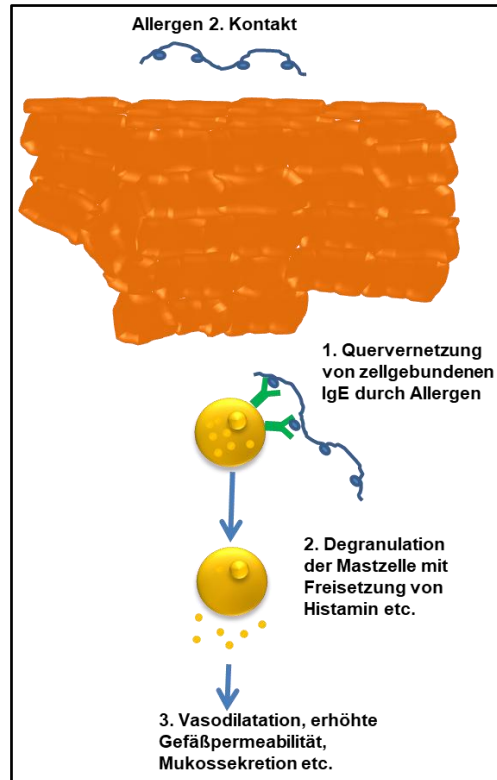


Abb. 2: Pathomechanismus der Typ 1 Überempfindlichkeitsreaktion – Effektorphase

Die Bindung des Allergens an die antigenbindende Region der zellgebundenen (Mastzelle oder basophiler Granulozyt) IgE-Antikörper führt zu einer Quervernetzung dieser Antikörper. Dies triggert die Degranulation dieser Zellen mit Freisetzung von verschiedenen Mediatoren wie u.a. Histamin.

Typ II: Zytotoxischer, Antikörper-vermittelter Typ

Bei dieser Reaktion kommt es durch die Bindung von Antikörpern an zellständige Antigene, z. B. das ABO-System der Erythrozyten, oder an extrazelluläre Matrixproteine zur Aktivierung des Komplementsystems sowie von zytotoxischen Zellen mit nachfolgender Lyse dieser Zellen. Die Typ-II-Überempfindlichkeitsreaktion zählt wie Typ I zu den unmittelbaren Allergien [33].

Typ III: Immunkomplextyp

Bei diesem Allergiesubtyp kommt es durch die Ablagerung von Aggregaten aus Allergen/Antigen und zugehörigen Antikörpern (sog. Immunkomplexe) zur Komplementaktivierung mit Freisetzung von gewebsschädigenden Enzymen sowie Chemotaxis von proinflammatorischen Zellen. Eine Ablagerung erfolgt vor allem in den postkapillären Venolen mit Auslösung einer leukozytoklastischen Vaskulitis [49].

1. Einleitung

Typ IV: Spättyp, verzögerter zellvermittelter Typ

Bei der allergischen Reaktion verzögerten Typ, auch zellvermittelte Reaktion genannt, kommt es durch die während der Sensibilisierung im Allergenerstkontakt aktivierten T-Helfer-Zellen vom T_{H1} -Subtyp beim Zweitallergenkontakt zur Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen mit Gewebeschäden als Folgereaktion. Der klinische Prototyp dieser Überempfindlichkeitsreaktion ist das allergisch vermittelte Kontaktekzem. Hierbei kommt es ca. 48-72 Stunden nach Allergenkontakt zur Aktivierung der allergenspezifischen T_{H1} -Zellen mit typischer Ekzemcharakteristik (Alteration der Epidermis). Die Typ-IV-Allergie ist nach der Typ-I-Allergie die häufigste Allergieform [55; 75].

An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass der Begriff Allergie in der englischen Literatur eine andere Bedeutung im Vergleich zur deutschen Interpretation hat. Demnach kann die englische Übersetzung von Allergie, „allergy“ am ehesten mit der Typ-1-Überempfindlichkeitsreaktion von Coombs und Gell gleichgesetzt werden. Der in der deutschen Literatur verwendete Oberbegriff Allergie ist im Englischen am ehesten mit „hypersensitivity“, also Hypersensitivität oder auch Überempfindlichkeitsreaktion zu übersetzen. In dieser Arbeit wird der Begriff Allergie und Überempfindlichkeitsreaktion synonym verwendet (vgl. Abb. 2) [33].

1.1.2 Atopie und assoziierte Erkrankungen

Der Begriff Atopie stammt von dem griechischen Wort „*atopia*“ ab, was übersetzt so viel wie Ortslosigkeit bedeutet. In der Medizin wurde dieser Begriff erstmalig im Jahr 1923 von Coca und Cooke zur Beschreibung des gemeinsamen Auftretens von Rhinoconjunctivitis allergica und Bronchialasthma mit Hauttestsoforttypreaktionen gegen natürliche Antigene eingeführt [23]. Heutzutage versteht man unter Atopie eine genetisch determinierte Veranlagung einer Person mit einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ-1 auf Kontakt mit normalerweise harmlosen Umweltstoffen wie z. B. Pollen zu reagieren. Sie beschreibt also eine übersteigerte Immunantwort auf Allergene, welche mit erhöhten IgE-Werten einhergeht [70]. Die European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) definiert Atopie als eine individuelle

1. Einleitung

und/oder familiär bedingte Tendenz, sich zu sensibilisieren und schon auf geringe Dosen von Allergenen, meist Proteine, IgE-Antikörper zu produzieren“ [31]. Demnach sieht diese weltweit größte wissenschaftliche Fachgesellschaft im Bereich der allergischen Erkrankungen die Begriffe „Atopie“ und „atopisch“ als genetische Veranlagung, eine IgE-vermittelte Sensibilisierung auf normale Antigenexposition zu entwickeln, die bei Gesunden zu keiner anhaltenden IgE-Antwort führe [31].

Zu dem sog. atopischen Formenkreis von Erkrankungen zählen klassischerweise das atopische Ekzem, die allergische Rhinokonjunktivitis und das allergische Asthma bronchiale. Weiterhin sind auch andere allergische Erkrankungen wie die Nahrungsmittelallergie und die eosinophile Ösophagitis mit Atopie assoziiert. Betroffene Personen mit Atopie (sog. „Atopiker“) leiden häufig an mehreren dieser Erkrankungen gleichzeitig [39].

Charakteristischerweise zeigt sich eine definierte zeitliche Abfolge der verschiedenen atopischen Erkrankungen vom atopischen Ekzem zur Nahrungsmittelallergie, zum allergischen Asthma bronchiale und schließlich zur Rhinoconjunctivitis allergica. Diese Krankheitsevolution bezeichnet man als „atopic march“ („atopischer Marsch“) und beschreibt somit die natürliche zeitliche Entwicklung der atopischen Erkrankungen [36] (siehe Abb. 3).

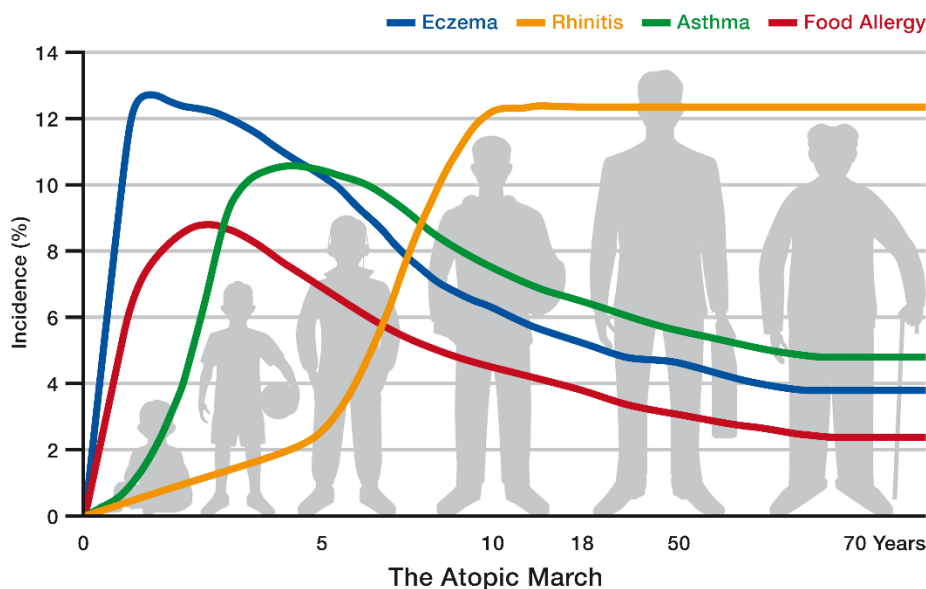


Abb. 3 Der "Atopic March" Abbildung modifiziert nach [28]

Demnach kommt es als erste Manifestation einer atopischen Veranlagung zum Auftreten eines atopischen Ekzems. Hierbei handelt es sich um eine chronische, entzündliche, stark juckende

1. Einleitung

Hauterkrankung mit einer komplexen Ätiologie und Pathogenese. Das atopische Ekzem beginnt klassischerweise früh in der Kindheit mit einer Hauptprävalenz während den ersten beiden Lebensjahre und hier insbesondere während der ersten sechs Lebensmonate [34]. Weltweit leiden ca. 20 % der Kinder an einer atopischen Dermatitis [28]. Betroffene Kinder haben ein sechsfach erhöhtes Risiko, im weiteren Verlauf eine Nahrungsmittelallergie zu entwickeln [87]. Letztere hat ihre Hauptprävalenz mit 10 % im 12. Lebensmonat und ist in dieser Altersgruppe vor allem gegen Hühnereiweiß und Kuhmilch gerichtet. Allergien gegen Erdnuss, Weizen und Soja entwickeln sich hingegen klassischerweise eher später in der Kindheit [56]. Gefürchtet bei Atopikern ist vor allem die Progression zum allergischen Asthma bronchiale, welches vor allem zwischen dem 3. und 9. Lebensjahr auftreten kann. Auch hier gilt, dass das atopische Ekzem ein Hauptrisikofaktor für die Entwicklung dieser Atemwegserkrankung ist. So bekommen ca. 60 % der Kinder mit einem schweren atopischen Ekzem im Verlauf ein allergisches Asthma [38]. Später, vor allem zwischen dem 7. und 13. Lebensjahr, kann zusätzlich die Rhinoconjunctivitis allergica, auch als Heuschnupfen bekannt, auftreten [51].

Das Konzept des „atopic march“ mit der altersabhängigen Sequenz der verschiedenen atopischen Erkrankungen wurde von verschiedenen epidemiologischen longitudinalen Studien bestätigt [50; 74; 79; 88]. Schneider et al. zeigten beispielsweise in einer longitudinal angelegten prospektiven Studie, dass Kinder mit atopischen Ekzem im Verlauf von drei Jahren in 15,9 % eine Nahrungsmittelallergie, in 10,7 % ein allergisches Asthma und in 22,4 % eine Rhinoconjunctivitis allergica entwickelten [74]. Jedoch ist der atopische Marsch nur bei einer Subgruppe von Atopikern in voller Ausprägung vorhanden. So konnten Belgrave et al. zeigen, dass das traditionelle Muster des „atopic march“ nur in 7% der untersuchten Kinder vorkam [9].

Bezüglich des Immunmechanismus hinter dem atopischen Marsch scheint dem atopischen Ekzem, insbesondere der damit einhergehenden Hautbarrierestörung eine Schlüsselrolle zuzukommen. So konnte in diversen Mausstudien gezeigt werden, dass eine Allergenexposition über die Haut eine T_H2 -Immunität induziert, welche Nahrungsmittelallergien oder allergische Atemwegserkrankungen begünstigt [5; 80; 82]. Hingegen führt die Ingestion von Nahrungsmitteln eher zu einer immunologischen Toleranz, auch „orale Toleranz“ genannt [20].

Obwohl die Definition von Atopie direkt mit der Bildung von IgE-Antikörpern zusammenhängt, ist bei einigen atopischen Erkrankungen wie etwa dem atopischen Ekzem, IgE kein

1. Einleitung

entscheidender pathophysiologischer Mediator. Es gibt sogar Patienten mit atopischem Ekzem, welches normwertige IgE-Werte zeigt: das sog. intrinsische atopische Ekzem [84]. Der atopische Marsch kann daher auch als ein Fortschreiten verschiedener allergischer Erkrankungen mit gemeinsamen prädisponierenden genetischen und umweltbedingten Faktoren sowie einer charakteristischen T_H2-Immunantwort beschrieben werden [43].

1.1.3 Die Allergie-Epidemie – eine Volkserkrankung

Die Prävalenz von atopischen Erkrankungen zeigte innerhalb der letzten Dekaden einen massiven Anstieg (vgl. Abb. 4). Die „World Allergy Organization“ (WAO) geht davon aus, dass über alle Altersgruppen hinweg weltweit ca. 10 – 40 % der Menschen von allergischen Erkrankungen betroffen sind [59]. In einer Studie von Blank et al. konnte gezeigt werden, dass bereits Anfang der 2000er Jahre ca. 37 % der bayerischen Bevölkerung gegen Inhalationsallergene sensibilisiert waren [14]. Insbesondere entwickelte Länder sind hiervon stark betroffen. So leiden in Deutschland etwa 20 bis 30 Millionen Menschen an Allergien, man spricht von einer Volkserkrankung, welche auch als „Epidemie des 21. Jahrhunderts“ bezeichnet wird [12; 54].

Der Anstieg der Erkrankungszahlen zeigt sich vor allem bei Kindern. So leiden ca. 30 % der Kinder weltweit an Allergien, 10 % haben Asthma und allergische Rhinokonjunktivitis und 5 – 7 % Nahrungsmittelallergien. Die Prävalenz von allergischem Asthma hat sich beispielsweise im Vergleich zu den 1950er Jahren mehr als vervierfacht. Zur Verdeutlichung dieses Anstiegs wurde der Begriff „Allergie-Epidemie“ geprägt (vgl. Abb. 4) [57].

1. Einleitung

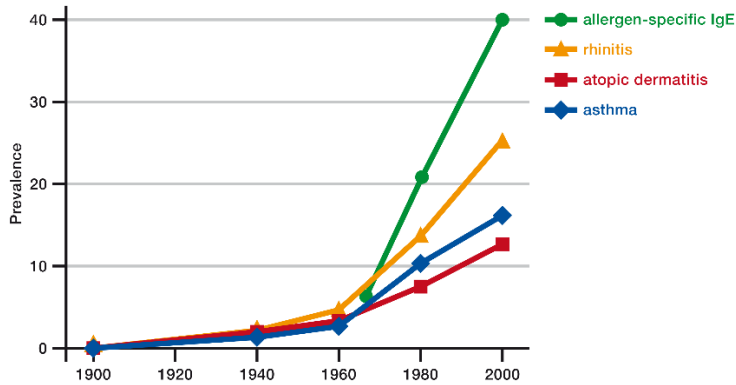


Abb. 4: Die „Allergie Epidemie“ Abbildung modifiziert nach [36]

Deutlicher Anstieg der Prävalenz von atopischen Erkrankungen während der letzten 100 Jahre, Daten vom Swiss Institute of Allergy and Asthma Research (SIAF)[19]

Die genauen Ursachen für die rapide Zunahme von allergischen Erkrankungen sind nicht bekannt. Es existieren jedoch verschiedene Hypothesen zur Erklärung dieses Phänomens. Die bekannteste hierunter ist die Hygienehypothese – sie beruht auf der epidemiologischen Feststellung von 1989, dass mit zunehmender Anzahl an Familienmitgliedern die Prävalenz an Rhinokonjunktivitis abnimmt [81]. Übersetzt man die Hygienehypothese auf eine immunologischen Ebene, wird eine reduzierte Exposition mit mikrobiellen Antigenen im frühen Leben und der damit einhergehende Verlust der mikrobiellen Diversität mit der steigenden Prävalenz von allergischen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Insbesondere die zunehmende Urbanisierung wurde in diesem Rahmen als ein Hauptfaktor identifiziert. Aktuell leben bereits mehr als die Hälfte der Weltbevölkerung in einem urbanen Umfeld, mit steigender Tendenz [54; 57; 73]. Im Gegensatz dazu konnte in mehreren epidemiologischen Studien das Aufwachsen im ländlichen Bereich invers mit dem Auftreten von Heuschnupfen im späteren Leben assoziiert werden [17].

Die steigende Prävalenz allergischer Erkrankungen manifestiert sich auch in einer steigenden sozioökonomischen Belastung. Verursacht werden diese zunehmenden Kosten vor allem durch häufigere Arztbesuche, eine dauerhafte Medikation sowie Fehlzeiten in Schule und Beruf. Gemäß der EAACI führen allein Asthma und allergische Rhinitis in Europa zu mehr als 100 Millionen verlorener Arbeitstage und Schulfehltage pro Jahr. Bei angemessener Behandlung könnten laut EAACI 142 Milliarden Euro eingespart werden [46; 64; 93].

1. Einleitung

In Anbetracht dieser Zahlen kommt neben der Therapie vor allem der Diagnostik von allergischen Erkrankungen eine essenzielle Rolle zu. Der nächste Abschnitt dieser Arbeit beschäftigt sich daher mit dem Immunglobulin E als diagnostischem Marker für allergische Erkrankungen.

1.2 Immunglobulin E (IgE)

1.2.1 Aufbau und physiologische Funktion von IgE

Immunglobuline (Ig), auch Antikörper genannt, sind Bestandteile des humoralen Immunsystems und gehören zur adaptiven, d. h. erworbenen Immunität. Es handelt sich dabei um Proteinkomplexe, welche spezifische Strukturen, Antigene genannt, binden können. Die Bindung zwischen Antikörper und Antigen funktioniert dabei nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip mittels nicht-kovalenter Bindung. Entdeckt wurden Immunglobuline 1948 durch die schwedische Immunologin Astrid Fagraeus, welche auch B-Zellen bzw. Plasmazellen als ihre Produktionsquelle identifizierte. Seitdem wurden beim Menschen insgesamt fünf verschiedene Klassen von Antikörpern identifiziert, Immunglobulin A, D, E, G und M [1; 35].

Strukturell teilen alle Antikörpermoleküle ein gemeinsames Gerüst, welches aus zwei identischen kleinen (sog. leichte Ketten) sowie aus zwei identischen großen (sog. schwere Ketten) Polypeptidketten besteht, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Die leichten Ketten bestehen jeweils aus einem variablen Anteil und einem konstanten Anteil, wohingegen die schweren Ketten jeweils neben einem variablen Anteil drei bis vier konstante Domänen aufwiesen. Je nachdem, welches Ende des Antikörpers man betrachtet, lassen sich zwei funktionelle Regionen von Immunglobulinen charakterisieren. Der sog. Fc-Anteil (engl. „crystallisable fragment“) besteht aus den konstanten Domänen der beiden schweren Ketten und ist für die Bindung des Antikörpers an die zellulären Rezeptoren sowie für die Aktivierung von Serumproteinen wie des Komplementsystems verantwortlich. Der gegenüber liegende Fab-Anteil (engl. „antigen-binding fragment“) besteht aus der variablen Region einer schweren und einer leichten Kette und ist für die Antigenerkennung sowie -bindung verantwortlich. Es existieren daher zwei Fab-Fragmente. Zwischen den Fab-Armen und dem Fc-Teil liegt die sog. Gelenk- oder Scharnierregion (engl. „hinge region“), welche die Beweglichkeit der variablen Region vermittelt. Abbildung 5 zeigt den exemplarischen Aufbau eines Antikörpers [37; 76; 86].

1. Einleitung

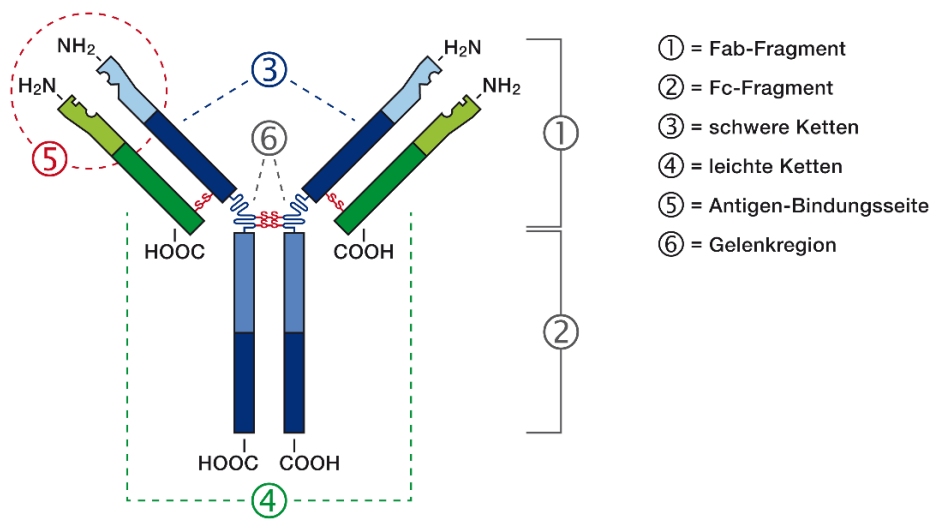


Abb. 5: Aufbau eines Immunglobulins Abbildung modifiziert nach [43]
Schematischer Aufbau eines Immunglobulins mit seinen verschiedenen funktionellen und strukturellen Regionen [37]

Einige Antikörper wie IgM können fünf Duplikate dieser Strukturen bilden und liegen in Pentamerkomplexen vor, welche bis zu 10 Antigene binden können. IgE ist jedoch wie in Abb. 5 dargestellt ein monomerer Antikörper, welcher insgesamt zwei Antigenstrukturen binden kann.

Entdeckt wurde IgE, welcher als einziger Antikörper-Typ überwiegend zellgebunden (v.a. an Mastzellen) vorliegt und daher eine vergleichsweise geringen Serumkonzentration aufweist, erst 1966 als letztes Immunglobulin, fast 20 Jahre nach der Erstentdeckung anderer Antikörper. Als Alleinstellungsmerkmal von IgE ist ein Fehlen der Gelenkregion bekannt, wodurch das IgE-Molekül laut Theorie während der Interaktion mit seinen Rezeptoren flexiblere Konformationen einnehmen kann. Weiterhin besitzt das IgE-Molekül zur Bindung an seinen hoch affinen zellulären Rezeptor Fc-epsilon-R1 stärkere Glykosylierungen im Vergleich zu anderen Antikörperklassen (vgl. Abb 6).

1. Einleitung

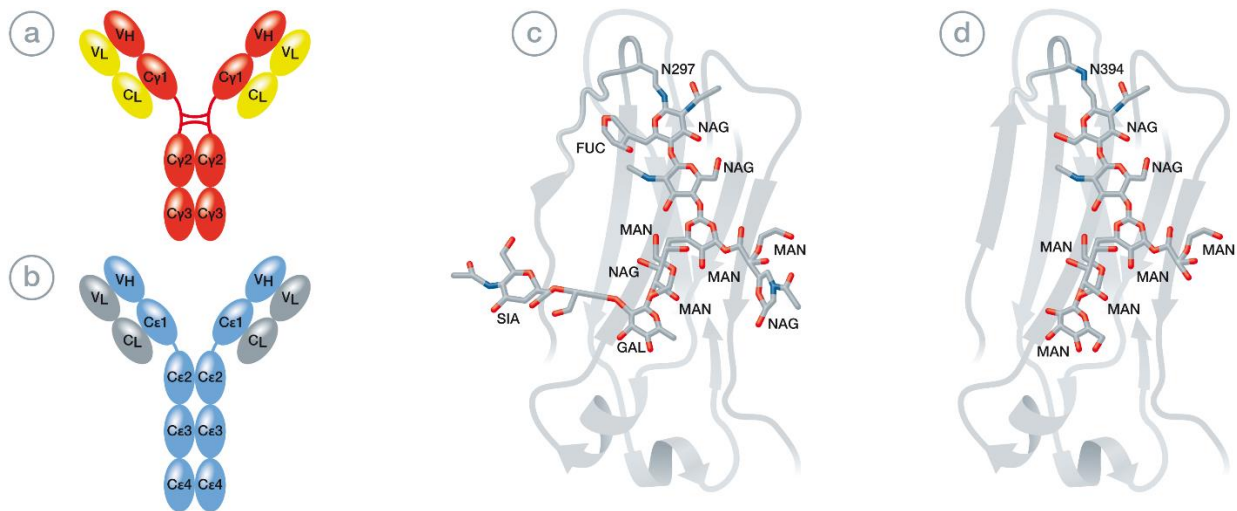


Abb. 6: Gesamtstruktur von Glykosylierung von IgG vs. IgE Abbildung modifiziert nach [46]

a. Schematischer Aufbau von Immunglobulin G (IgG). b. Schematischer Aufbau von Immunglobulin E (IgE) mit fehlender Gelenkregion. c. Glykosylierung von IgG. d. Glykosylierung von IgE. FUC, fructose; GAL, galactose; MAN, mannose; NAG, N-acetylglucosamine; SIA, sialic acid [85]

IgE besitzt ein Molekulargewicht von 190 kDa, ist im Gegensatz zu IgG nicht plazentagängig und besitzt nicht die Fähigkeit, das Komplementsystem zu aktivieren. Im Vergleich zu anderen Antikörperklassen ist die Serumhalbwertszeit mit nur drei Tagen sehr gering, jedoch kann IgE in seiner zellgebundenen Form auch für mehrere Wochen und Monate im Gewebe verbleiben. Wie bereits in Abb. 1 aufgeführt, erfolgt der Isotypwechsel von IgM zu IgE in B-Zellen bzw. Plasmazellen durch aktivierte T_H2 -Zellen und ihre Schlüsselzytokinen IL-4 und IL-13. Eine erneute Exposition mit dem Antigen führt schließlich zur Quervernetzung von an Fc-epsilon-R1 gebundenen IgE-Antikörpern, was zur Freisetzung von in zytoplasmatischen Granula gespeicherten Mediatoren wie Histamin, Serotonin, Prostaglandinen, Tryptase und Leukotrienen aus Mastzellen führt [37; 65; 76; 86].

Neben seiner pathophysiologischen Rolle bei allergischen Erkrankungen (vgl. 1.2.3) hat IgE wie auch die gesamte Typ-2-Immunität eine wichtige physiologische Funktion bei der Abwehr von Parasiten. Ein gastrointestinaler Helminthenbefall, welcher bis zu einem Drittel die Weltbevölkerung betrifft, führt beispielsweise zu einer T_H2 -Immunantwort mit Produktion von parasitenspezifischem IgE, was zur Opsonierung des Parasiten führt. Im Anschluss können Effektorzellen wie Eosinophile, Basophile und Mastzellzellen mittels ihres Rezeptors Fc-epsilon-R1 an die parasitengebundenen IgE-Antikörper binden, was wiederum zur Produktion und Freisetzung von für die Parasitenabwehr essenziellen biologisch aktiven Mediatoren führt.

1. Einleitung

So konnte gezeigt werden, dass eine IgE-abhängige Mastzellaktivierung im Gastrointestinaltrakt das Ausstoßen von Parasiten mittels verstärkter Peristaltik und intraluminaler Mucussekretion begünstigen. Weiterhin korrelieren die Level von parasitenspezifischen IgE-Antikörpern positiv mit einer Resistenz von Infektionen gegen dieselben. Untermuert wird die Rolle von IgE bei der Parasitenabwehr auch durch eine explorative Studie von Cruz et al., welche unter Therapie mit Omalizumab, einem Anti-IgE-Antikörper, eine leichte Zunahme von Wurminfektionen feststellen konnten [1; 6; 25 ; 63].

1.2.2 Diagnostik unter Zuhilfenahme von IgE

1.2.2.1 In-vitro-IgE-Diagnostik – direkter IgE-Nachweis

Im Vergleich zu den anderen Immunglobulinklassen enthält das menschliche Serum nur eine geringe IgE-Konzentration, da das IgE zumeist zellgebunden im Gewebe vorliegt. Dies stellt eine besondere Herausforderung an die Diagnostik dieser Antikörperklasse dar.

Bei der diagnostischen Bestimmung von IgE im Serum muss man primär zwischen Gesamt- und spezifischem IgE unterscheiden. Das Gesamt-IgE spiegelt dabei die totale IgE-Konzentration im Serum wider. Sie ist auch bei gesunden Personen sehr variabel und liegt zwischen <2 bis >100 kU/L ($1\text{ kU} = 2,44 \mu\text{g IgE}$; $1 \text{ kU/L} = 2,44 \text{ ng/ml} = 1 \text{ I.E./ml}$) [86]. Ein oberer Grenzwert für Gesunde lässt sich demnach schlecht definieren, wird aber meist bei > 100 kU/L angesetzt (vgl. Abb. 6). Das Gesamt-IgE kann neben dem Serum auch im Plasma und in Sekreten untersucht werden [54].

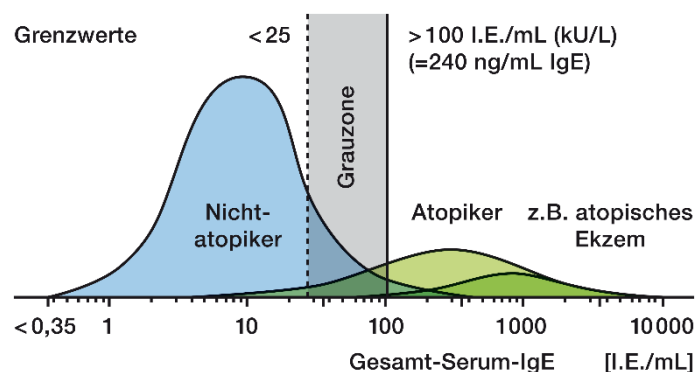


Abb. 7: Verteilung von Gesamt-IgE Abbildung modifiziert nach [44]

Oberer Grenzwert von IgE nicht eindeutig definiert, da es deutliche Überlappungen zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern gibt [86]

1. Einleitung

Das spezifische IgE (sIgE), auch allergenspezifisches IgE genannt, bezeichnet hingegen die Fraktion des Gesamt-IgE im Serum, welche eine Reaktivität gegen Allergenextrakte oder Einzelallergene aufweist, die in in-vitro Testverfahren bestimmt werden können. Das sIgE weist somit eine serologische Sensibilisierung gegen spezifische Allergene nach [7; 11].

Zur Bestimmung von sIgE existieren zahlreiche unterschiedliche Systeme (vgl. Tabelle 2), die jedoch alle auf ähnlichen Prinzipien aufbauen.

Tabelle 2 Beispiel von Textsystemen zur Bestimmung von sIgE (Auszug aus Leitlinie AWMF mit Optigen ergänzt)[7]
(aIgE = Anti-IgE-Antikörper; HRP = Horseradish Peroxidase; S = Streptavidin)

Name des Assays	Phase	Markierung	Detektionssystem
ALLERgen	flüssig	aIgE-HRP	Photometrie
Allerg-o-liq	fest und flüssig	aIgE-S	Photometrie
CAP-System	fest	aIgE	Fluorophotometer
CLA Allergietestsystem OPTIGEN	fest	aIgE	Chemilumineszenz
Immulite 2500	flüssig	aIgE-HRP	Chemilumineszenz

Je nachdem, welches Testsystem verwendet wird, werden die spezifischen Allergene (Allergenextrakte oder rekombinante Allergene) entweder an eine feste Phase, z. B. Zellulose oder Polystyrol, gekoppelt oder als Flüssigallergene eingesetzt. Im ersten Schritt werden diese Allergene mit dem zu untersuchenden Probandenserum inkubiert. Hier erfolgt eine Bindung des sIgE an das jeweilige Antigen. Das ungebundene IgE wird im Anschluss durch Waschschrte entfernt. Zur Quantifizierung des antigengebundenen sIgE erfolgt im nächsten Schritt eine Inkubation mit fluoreszenzmarkierten oder enzymgekoppelten Anti-IgE-Antikörpern (aIgE). Mittels Bestimmung der Fluoreszenzintensität (FEIA oder „fluorescence enzyme immuno assay“) oder der nach Substratzugabe enzymatisch eingeleiteten Farbreaktion (EIA oder „enzyme immuno assay“) bzw. einer induzierten chemischen Reaktion mit Lichtfreisetzung (CLA oder „chemiluminescence assay“) kann durch die Verwendung spezieller Eichkurven auf die Gesamtmenge an sIgE rückgeschlossen werden (vgl. Abb. 7). Nur noch historische Bedeutung haben radioaktiv markierte aIgE, die ehemals beim sog. RAST (Radio Allergo Sorbent Test) eingesetzt wurden [7; 15; 53; 86].

1. Einleitung

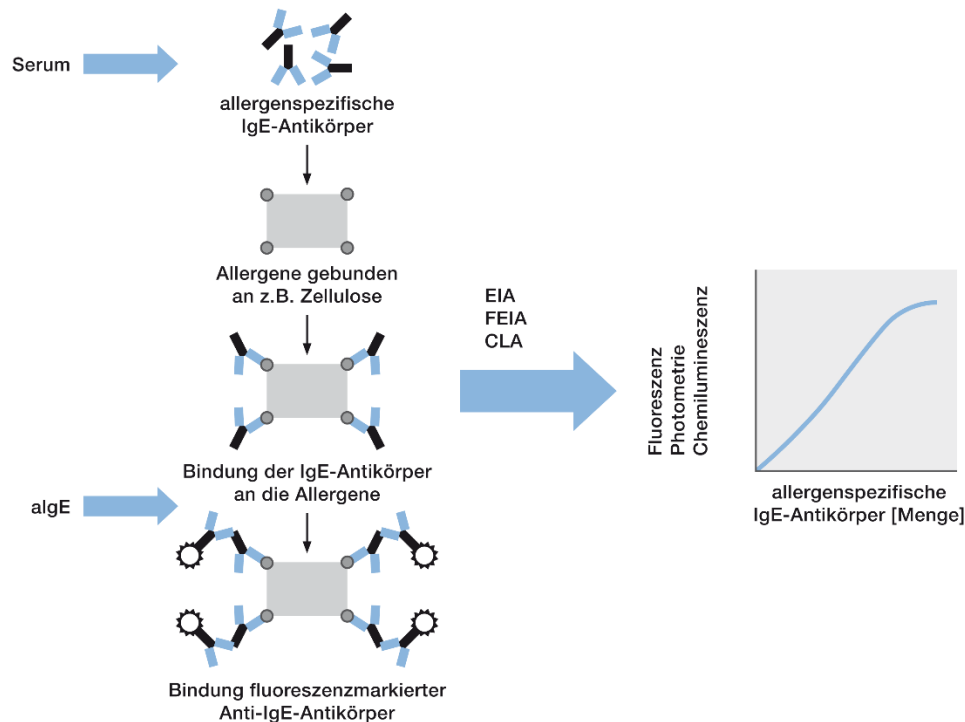


Abb. 8: Grundprinzip der in-vitro-Diagnostik von sIgE
Abbildung modifiziert nach [86]

Der Nachweis von spezifischen IgE bei einem Patienten zeigt jedoch primär erstmal eine Sensibilisierung und noch keine Allergie auf. Erst durch eine passende Anamnese bzw. einen positiven Provokationstest kann eine Allergie auf das jeweilige Allergen diagnostiziert werden [71].

1.2.2.2 In-vivo-Diagnostik von spezifischen IgE (Prick-Test) – indirekter IgE-Nachweis

Eine weitere Methode, um indirekt sIgE zu detektieren, besteht im Hauttest, z. B. im Prick-Test (aus dem Englischen „to prick“, stechen). Hierbei wird das in der Regel in wässriger Lösung verdünnte Allergen bzw. Allergengemisch auf die Haut (i. d. R. Unterarm oder Rücken) getropft und im Anschluss mit Hilfe einer Lanzette in die Dermis befördert. Eine weitere Möglichkeit besteht in dem sog. Prick-zu-Prick-Test, bei dem im ersten Schritt die Allergenquelle (z. B. ein Apfel) mittels Lanzette „geprickt“ wird und im Anschluss mit der gleichen Lanzette die Haut penetriert wird. Liegt eine Typ-I-Hypersensitivität gegen das verwendete Allergen vor, kommt es nach ca. 15 bis 20 Min. zum Auftreten einer quantifizierbaren Ödemreaktion, die als Quaddel bezeichnet wird. Pathomechanistisch führt das durch die Epidermis in die Dermis „geprickte“ Allergen zur Quervernetzung von an Mastzellen zellgebundenem spezifischen IgE (vgl. Abb. 2)

1. Einleitung

mit nachfolgender Degranulation dieser Zellen und Freisetzung von u. a. Histamin. Klinisch zeigt sich diese Reaktion als Quaddel mit umgebendem Rötungshof. Eine positive Reaktion wird ab einem Quaddeldurchmesser von über 3 mm definiert und weist somit eine Sensibilisierung gegenüber dem Allergen nach. Jedoch spricht man nur bei Vorliegen klinischer Symptome von einer Allergie [90].

Jeder Prick-Test beinhaltet eine Positiv- und eine Negativkontrolle. Bei der Positivkontrolle wird Histamin in die Haut geprickt, bei der Negativkontrolle physiologische Kochsalzlösung. Diese Kontrollen geben darüber Aufschluss, ob der Test grundsätzlich auswertbar ist. Nach ein bis zwei Stunden klingt die Reaktion wieder ab, jedoch sind sowohl bei negativer als auch bei positiver Sofortreaktion Spätreaktionen nach 6 bis 24 Stunden möglich.

Da es sich beim Prick-Test um eine lokale Reaktion handelt, können gleichzeitig mehrere Allergene nebeneinander getestet werden. In sehr seltenen Fällen kann es zu einer systemischen Reaktion im Sinne einer anaphylaktischen Reaktion kommen.

Vorteile des Prick-Tests gegenüber anderen Testmethoden sind die minimale Invasivität, die geringen Kosten sowie die Tatsache, dass Ergebnisse sofort verfügbar sind. Im Gegensatz zur In-vitro-Diagnostik dürfen beim Prick-Test vor der Untersuchung keine Medikamente eingenommen werden, die eine allergische Reaktion potenziell unterdrücken könnten, z. B. Kortikosteroide oder Antihistaminika. Zudem ist der Prick-Test eine rein qualitative Messung und schwierig zu standardisieren [41].

1.2.3 Klinische Relevanz – IgE als Biomarker

In der klinischen Praxis gibt es neben der klassischen Allergiediagnostik verschiedene andere Indikationen für die Bestimmung von Gesamt- bzw. spezifischen IgE. So kann IgE in der Behandlung von diversen Erkrankungen als Biomarker eingesetzt werden. Marzano et al. zeigten kürzlich, dass ein hoher Gesamt-IgE-Spiegel signifikant mit einem Ansprechen auf den Anti-IgE-Antikörper Omalizumab bei der chronisch spontanen Urtikaria korreliert [60]. Weiterhin gibt es auch positive Daten für einen Einsatz von IgE als Biomarker, um das Ansprechen auf eine spezifische Immuntherapie vorherzusagen [16; 22]. Zink et al. konnte in einer klinischen Studie zeigen, dass mittels Immunadsorption von IgE aus dem Blut von Patienten mit atopischem Ekzem nicht nur eine signifikante Verringerung der Serum IgE-Spiegel erreicht werden konnte, sondern auch eine Verbesserung des atopischen Ekzems auftrat [92]. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass einer Therapie mit dem anti-IL-4/IL-13-Rezeptor-Antikörper

Dupilumab, der für die Therapie des atopischen Ekzems sowie des allergischen Asthma bronchiale zugelassen ist, zu einer signifikanten Reduktion von IgE in nasalen Polypen führt. Eine Verwendung als Biomarker bei der chronischen Rhinosinusitis mit nasalen Polypen könnte daher auch hier in Zukunft erfolgen [48]. Zusätzlich kann mittels Komponenten-basierter IgE Diagnostik bei z.B. Erdnussallergikern eine Voraussage zur Schwere der Reaktion getroffen werden [26].

2. Ziel der Arbeit

2. Ziel der Arbeit

Allergische Erkrankungen haben in unserer modernen Gesellschaft mittlerweile epidemisches Ausmaß erreicht. Für eine gezielte Diagnostik ist es somit bereits in der gesundheitlichen Erstversorgung beim Allgemein- oder Kinderarzt essenziell, qualitativ hochwertige Testverfahren zu etablieren, die eine Früherkennung dieser Krankheitsbilder erlauben. Die Herausforderung moderner allergologischer Diagnostika ist es, hochzuverlässige und belastbare Daten für eine Vielzahl von Allergenen im Rahmen des klinischen Alltags zu generieren, jedoch bei zunehmendem Kostendruck im Gesundheitssystem gleichzeitig kostengünstig zu bleiben.

Ziel dieser Arbeit ist es daher zwei verschiedene laborchemische Messmethoden für sIgE miteinander zu vergleichen und klinisch zu evaluieren. Bei den beiden Testsystemen handelt es sich zum einen um den auf herkömmlicher Singleplex-Testung basierenden Immunoassay Phadia® 250 (ImmunoCAP®) (ThermoFisher Scientific, Uppsala, Schweden) und zum anderen um das Paneltest-System AP720S™ (OPTIGEN®) (Hitachi Chemical Diagnostics, Mountain View, CA, USA), mit dem die gleichzeitige Analyse von mehreren Allergenen möglich ist. Die Zielsetzung ist es herauszuarbeiten, ob das kostengünstige Paneltestsystem Optigen gegenüber dem weithin als Standard eingeführten ImmunoCAP-System in der IgE-Diagnostik für die klinische Routine in Bezug auf Sensitivität und Spezifität gleichwertige präzise Ergebnisse liefert. Dabei sollen prinzipiell zwei Vorgänge beleuchtet werden:

- A. Korrelation der spezifischen IgE-Werte zwischen den beiden Testsystemen
- B. Klinische Evaluierung

Ad A) In einem ersten Schritt werden die spezifischen IgE-Werte von definierten Antigenen bei Probanden mit beiden Testsystemen gemessen und miteinander verglichen.

Ad B) Im zweiten Schritt wird die diskriminative Güte (Sensitivität und Spezifität) der beiden Systeme in Referenz auf die Sensibilisierung der gleichen Probanden im klinischen Prick-Test evaluiert.

3. Material und Methoden

3. Material und Methoden

3.1 Materialien

3.1.1 Probanden und Materialgewinnung

Es erfolgte eine retrospektive Erhebung an 80 Probanden, welche sich routinemäßig in der Allergieabteilung der Klinik und Poliklinik für Dermatologie der TU München vorstellten. Im Rahmen der klinischen Routine erhobene Daten wurden für die Analyse in dieser Dissertation verwendet. Bei der klinischen Vorstellung entnommene venöse Blutproben wurden zur Gewinnung des Serums nach Entnahme zentrifugiert (10 Min., 4000 U/min; 4°C) und im Anschluss in 150 µl Aliquots bei - 20° C zur weiteren Analyse eingefroren.

Folgende patientenbezogene Parameter wurden für die Analyse erhoben:

Kategorie	Subkategorie
Geschlecht	Weiblich
	Männlich
Alter	< 18 Jahre
	> 18 Jahre
Allergiekategorie	Saisonale Aeroallergene
	Perenniale Aeroallergene
	Nahrungsmittelallergie

3.1.2 Geräte

Gerät	Hersteller
Phadia® 250	ThermoFisher Scientific, Uppsala, Schweden
AP720S™ OPTIGEN® Semi-Automated In Vitro Allergy Diagnostic System	Hitachi, Tokio, Japan
Zentrifuge Biofuge 13	Heraeus, Hanau, Deutschland
Zentrifuge Megafuge 1.0R	Heraeus, Hanau, Deutschland

3. Material und Methoden

3.1.3 Einzelallergene und Allergenextrakte

Name	Allergenname Latein	Abkürzung	Bezugsquelle (Prick-Lösung)
Hausstaubmilbe	Dermatophagoides pteronyssinus	Der p	Bencard Allergie
Hausstaubmilbe	Dermatophagoides farinae	Der f	Bencard Allergie
Schimmelpilz	Aspergillus	Asp	Allergopharma
Schimmelpilz	Cladosporium	Cl	Alk-Abello
Pferd	Pferd (Equus caballus)	Equ	Allergopharma
Hund	Hund (Canis lupus)	Can	Alk-Abello
Katze	Felis catus	Fel	Bencard Allergie
Lieschgras	Phleum pratense	Phl	Allergopharma
Beifuß	Artemisia vulgaris	Art	Allergopharma
Birke	Betula verrucosa 1	Bet v1	Allergopharma
Haselnuss	Corylus avellana	Cor	Bencard Allergie
Hühnereiweiß	Ovalbumin	Alb	Allergopharma
Milcheiweiß	Lac	Lac	Allergopharma
Kabeljau	Gadus morhua	Gad	Nicht durchgeführt
Weizen	Triticum	Tri	Bencard Allergie
Sojabohne	Glycine max	Gly	Alk-Abello
Erdnuss	Arachis hypogaea	Ara	Allergopharma
Apfel	Malus	Mal	Nativ
Karotte	Daucus carota	Dau	Bencard Allergie
Latex	Hevea brasiliensis	Hev	Nativ

3.1.3 Substanzen für IgE Messung

Gerät	Substanz	Bezugsquelle
Phadia® 250	Enzym-Anti-IgE, β -Galaktosidase	ThermoFisher
Phadia® 250	Substratlösung, 0,001 % 4-Methylumbelliferyl- β -D-Galaktosid	ThermoFisher
Phadia® 250	Stopplösung, 4 % Natriumcarbonat	ThermoFisher
Phadia® 250	Substratlösung, 0,001 % 4-Methylumbelliferyl- β -D-Galaktosid	ThermoFisher
Phadia® 250	IgE Standards, Konzentrationen: 0,35; 0,7; 3,5; 17,5; 50 und 100 kU/l (IgE-Standards sind gegen das 2. Internationale Referenzpräparat 75/502 von menschlichem Serum-IgE der WHO kalibriert)	ThermoFisher
Phadia® 250	Kontrollen	ThermoFisher
Phadia® 250	Waschlotionen	ThermoFisher
AP720S™ Optigen®	Antikörperreagenz, enzymmarkierter Anti-Human-IgE	Hitachi
AP720S™ Optigen®	Photoreagenz 1:1 - Lösung mit 7-15 mM 3-Aminophthalhydrazid	Hitachi

3. Material und Methoden

	(Luminol), 5-25 µM Enhancer und 0,025 M Boratpuffer, pH 9,4 - Lösung mit 7-15 mM 3-Aminophthalhydrazid (Luminol), 5-25 µM Enhancer und 0,025 M Boratpuffer, pH 9,4	
AP720S™ Optigen®	Waschpufferkonzentrat, Enthält nach Verdünnung 0,01 M phosphatgepufferte Salzlösung, 0,1 % Tween 20 und 0,001 % Natriumazid als Konservierungsmittel.	Hitachi
AP720S™ Optigen®	Waschlotionen	Hitachi

3.2 Methoden

3.2.1 In-vitro-Testsysteme

Das zu analysierende Serum wurde langsam bei Raumtemperatur aufgetaut und mittels der beiden zu untersuchenden Systeme von ThermoFisher Scientific und Hitachi nach den jeweils entsprechenden Herstellerangaben auf spezifische IgE-Antikörper gemessen. Es wurden spezifische IgE-Antikörper gegen die in 3.1.3 aufgeführten Allergene untersucht.

3.2.1.1 Phadia® 250

3.2.1.1.1 ImmunoCap Testprinzip

Das Gerät Phadia® 250 von ThermoFisher Scientific analysiert spezifisches IgE nach dem ImmunoCap-Testprinzip. Bei diesem Testverfahren handelt es sich um einen Sandwich-ELISA. Hierbei werden die spezifischen Allergene irreversibel an ein Cellulosederivat, also einen Feststoff, gebunden. Nach Bindung des spezifischen IgE-Antikörpers an das Allergen (Abb. 9A) und Abwaschung der unspezifischen, nicht gebundenen IgE-Antikörper werden Enzym-markierte Antikörper gegen IgE hinzugefügt, welche mit dem gebundenen spezifischen IgE einen Komplex bilden (Abb. 9B). Nach einem weiteren Waschschrift zur Entfernung des ungebundenen Enzym-markierten Anti-IgE wird der gebundene Komplex mit einem Entwicklerreagenz inkubiert (Abb. 9C). In einem letzten Schritt wird die enzymatische Reaktion abgestoppt und die Fluoreszenz des Eluats gemessen (Abb. 9D).

3. Material und Methoden

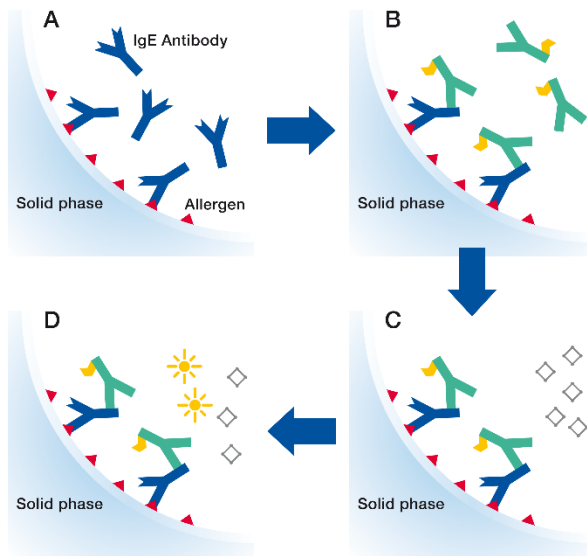


Abb. 9: Testprinzip von Phadia® ImmunoCap Abbildung modifiziert

A. Spezifisches IgE bindet an Cellulose gebundenes Allergen B. Inkubation mit Enzymkarierten Anti-IgE C. Inkubation mit Entwicklerreagenz für enzymatische Reaktion D. Fluoreszenzmessung

3.2.1.1.2 ImmunoCAP-Reaktionsschritte

Reaktionsschritt 1: Serum- Inkubation

Es werden 22 µl des Probandenserums mit 198 µl Verdünnungslösung in einem Verdünnungsröhrchen gemischt und von dieser Mischung im Anschluss 18 µl in eine Vertiefung (sog. well) mit 72 µl Sample Diluent pipettiert. Die Vertiefung enthält bereits das zellulosegebundene spezifische Antigen. Im Anschluss erfolgt bei 37 ° C für 30 Min. die Inkubation zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen mit Standard und Kontrollen.

Waschschritt 1: Entfernung nicht spezifisch gebundener Serum-Antikörper

Reaktionsschritt 2: Serum-Konjugat-Inkubation

In diesem Schritt werden 90 µl eines mit β-Galaktosidase markierten anti-human IgE-Antikörper (Konjugat) in das jeweiligen Wells pipettiert und für 28 Min. bei 37 ° C inkubiert. Es erfolgt die Bildung von enzymmarkierten Antigen-Antikörper-Komplexen mit Patientenproben, Standards und Kontrollen.

Waschschritt 2: nicht spezifisch gebundene Konjugat-Antikörper werden eliminiert

3. Material und Methoden

Reaktionsschritt 3: Substrat-Inkubation

Zum Start der enzymatischen Reaktion werden 90 µl von 0,001 % 4-Methylumbelliferyl-β-D-Galaktosid-Lösung (Substrat) in die jeweilige Vertiefung pipettiert und für 39 Min. bei 37 ° C inkubiert. Die Antikörper gekoppelte β-Galaktosidase setzt nun das Substrat in β-Galaktose und das fluoreszierende 4-Methylumbelliferon um.

Reaktionsschritt 4: Stopp-Reaktion

Zum Stopp der enzymatischen Reaktion werden 200 µl 4 % Natriumcarbonat-Lösung (Stopplösung) in die jeweilige Vertiefung pipettiert.

Fluorometrische Messung:

Im Anschluss erfolgt die automatische Messung nach einem fluorometrischen Messprinzip mit einer Anregungswellenlänge von 367 nm und einer Emissionswellenlänge von 445 nm. Die emittierte Lichtmenge ist dabei direkt proportional zu der Menge an allergenspezifischem IgE im Serum des Probanden. Mittels der mittgemessenen definierten Standards kann eine für das Probandenserum spezifische Konzentrationsangabe der allergenspezifischen IgE-Antikörpermenge erfolgen. Die Konzentrationsangabe der spezifischen IgE-Antikörper wird quantitativ (0,1 – 100 kU/L) oder in ImmunoCAP Klassen (0 – 6) angegeben (vgl. Tab. 4). Je höher der Messwert, desto höher ist die Konzentration des allergenspezifischen IgE-Antikörpers im Probandenserum.

Tabelle 3: ImmunoCAP-Klassen

ImmunoCAP-Klassen	kU/L	Beurteilung
0	<0,35	Keine Sensibilisierung
1	0,35 – 0,70	Leichte Sensibilisierung
2	0,70 – 3,50	Leichte Sensibilisierung
3	3,50 – 17,5	Mittlere Sensibilisierung
4	17,5 – 50,0	Mittlere Sensibilisierung
5	50,0 – 100	Starke Sensibilisierung
6	> 100	Sehr starke Sensibilisierung

3. Material und Methoden

3.2.1.2 AP720S™ Optigen®

3.2.1.2.1 Optigen-Testprinzip

Das Gerät AP720S™ arbeitet nach dem OPTIGEN-Testprinzip. Bei diesem Verfahren werden kleine Plastikvorrichtungen, sog. Petten, welche jeweils 36 Testkammern (davon eine negative Leerwertkontrolle und eine positive Verfahrenskontrolle) enthalten, mit Patientenserum inkubiert. Dabei wird das Serum gleichzeitig mit einer Reihe von Allergenen in Kontakt gebracht (vgl. Abb. 10). Die Allergene sind in den einzelnen Testkammern jeweils an eine Festphase aus Polystyrol gebunden. Das Prinzip der IgE-Messung ist vergleichbar mit dem ImmunoCAP-System (vgl. Abb. 9).

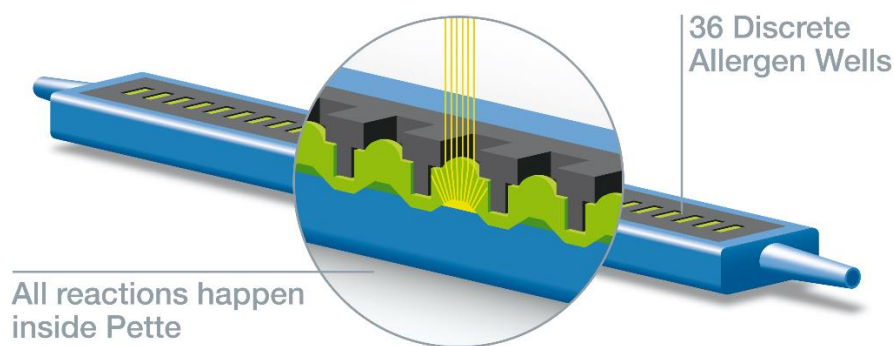


Abb. 10: Testprinzip von Optigen® Abbildung modifiziert

3.2.1.2.2 Optigen-Reaktionsschritte

Waschschritt 1: Rehydrierung der Pette mit 10 mL Waschpuffer

Reaktionsschritt 1: Serum-Inkubation

Zum Aufziehen des Serums wird die Pette senkrecht ins Serum gestellt. Mittels einer an die Pette oben angeschlossenen 3-ml-Spritze wird das Serum langsam aufgezogen, bis das oberste Fenster gefüllt ist (ca. 490 µl bei ≤ 20 Testkammern). Dann wird die Pette nach Verschluss für zwei

3. Material und Methoden

Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Bei diesem Schritt folgt die Bindung des allergenspezifischen Antikörpers an den Boden der Testkammer.

Waschschritt 2: Entfernung nicht spezifisch gebundener Serum-Antikörper

Reaktionsschritt 2: Serum-Antikörperreagenz-Inkubation

In diesem Schritt werden wie bei Reaktionsschritt 1 beschrieben das Antikörperreagenz, welches den enzymmarkierten anti-human IgE-Antikörper enthält, in die Pette aufgezogen und nach Verschluss für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Das Antikörper gekoppelte Enzym beim Optigen-Prinzip ist Meerrettichperoxidase (engl. „horseradish peroxidase“ oder HRP). Es erfolgt die Bildung von enzymmarkierten Antigen-Antikörperkomplexen in den jeweiligen Testkammern.

Waschschritt 3: nicht spezifisch gebundene anti-IgE-Antikörper werden eliminiert

Reaktionsschritt 3: Substrat-Inkubation

Zum Start der enzymatischen Reaktion wird die Pette wie in den vorangehenden Schritten beschrieben mit dem Photoreagenz befüllt (1 : 1; Lösung mit 7-15 mM 3- Aminophthalhydrazid (Luminol), 5 – 25 µM Enhancer und 0,025 M Boratpuffer, pH 9,4; Lösung mit 0,00125 M Ethyl-Orange, 0,002 M Wasserstoffperoxid) und für 10 Min. bei 37 ° C inkubiert. Die Antikörper gekoppelte Meerrettichperoxidase oxidiert nun das Substrat (Luminol + Wasserstoffperoxid) unter Freisetzung eines Photons im blauen Bereich des Lichtspektrums (Chemolumineszenzreaktion).

Chemilumineszenz-Messung:

Im Anschluss erfolgt die Messung der Testkammern mittels des CLA-1TM-Luminometers. Die Messung muss innerhalb von 60 Min. nach dem Befüllen der Pette mit der Photoreagenzreaktion gestartet werden. Das Luminometer misst die Menge an Licht in sog. Lumineszenzeinheiten (LE), die von den einzelnen Testkammern emittiert werden. Zur Berechnung des jeweiligen IgE-Werts werden die Emissionen der Negativkontrolle automatisch abgezogen. Die Einordnung in sog. CLA-Klassen 0 – 4 (CLA Class Allergy Scoring System) beruht auf der Lichtmenge, die von den jeweiligen Allergenen in der Pette emittiert wird (vgl. Tabelle 4).

3. Material und Methoden

Tabelle 4: CLA-Klassen

CLA-Klasse	Netto LE	Konzentration der allergenspezifischen IgE-Antikörper
0	0 – 26	Es wurden keine Antikörper erkannt
1	27 – 65	Niedrige Antikörperkonzentration
2	66 – 142	Moderate Antikörperkonzentration
3	143 – 242	Hohe Antikörperkonzentration
4	>242	Sehr hohe Antikörperkonzentration

3.2.2 In-vivo-Testsystem: Prick-Test

Die Theorie sowie praktische Durchführung des Prick-Tests wurde bereits in der Einleitung (vgl. 1.2.2.2) abgehandelt. Die verwendeten Prick-Lösungen sind im Material-Teil aufgeführt (vgl. 3.1.3).

Alle Prick-Tests in dieser Arbeit wurden nach vorheriger Desinfektion am Unterarm der jeweiligen Probanden ausschließlich in der Allergie-Ambulanz der dermatologischen Klinik der TU München durchgeführt. Neben der Positivkontrolle (Histamin; Allergopharma) und der Negativkontrolle (sterile Kochsalzlösung; Klinikumsapotheke des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München) wurden alle der im Materialteil (vgl. 3.1.3) aufgeführten kommerziellen Prick-Lösungen bzw. native Produkte getestet. Eine Ablesung der Ergebnisse erfolgte jeweils nach 15 Min. Der Prick-Test wurde als positiv gewertet, wenn die entstandene Quaddel des jeweiligen Allergens ≥ 3 mm größer als die Negativkontrolle war.

3.3 Daten und statistische Auswertung

Es erfolgte die Auswertung von klinischen und laborimmunologischen Daten, die in den Jahren 2013 und 2014 im Rahmen verschiedener allergologischer Untersuchungen in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am Biederstein, Klinikum rechts der Isar, TUM, an insgesamt 80 Patienten mit Inhalationsallergie oder Nahrungsmittelallergie gewonnen und vollständig anonymisiert zur Verfügung gestellt wurden. Neben den klinisch-allergologischen Daten, die auch Hauttestergebnisse einschlossen, handelte es sich bei den vorliegenden Daten

3. Material und Methoden

um die Ergebnisse von serologischen Bestimmungen der spezifischen IgE-Reaktivität gegen multiple klinisch relevante Inhalations- und Nahrungsmittelallergene. Diese serologischen Untersuchungen wurden mittels automatisierter (Phadia UniCAP250, Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Schweden) oder teil-automatisierter (Hitachi Chemical Diagnostics, Mountain View, CA, USA) Immunoassay-Systeme durchgeführt.

Die Korrelation von Optigen- und ImmunoCAP-Messwerten sowie entsprechender Klasseneinteilungen wurde mittels des Korrelationskoeffizienten nach Spearman quantifiziert. Die diagnostische Güte von Optigen und ImmunoCAP-Messungen bezüglich der Prick-Klassifikation wurde anhand der Fläche unter der Kurve („area under the curve“, AUC) der Grenzwertoptimierungskurve („receiver operating characteristic“, ROC) beurteilt. Alle statistischen Hypothesentests wurden auf explorativen und zweiseitigen 5 %-Signifikanzniveaus durchgeführt. Entsprechend wurden zweiseitige 95 %-Konfidenzintervalle für Effektgrößen, z. B. für die AUC, berechnet. Statistische Analysen wurden in R 3.0.0 (R, Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich) durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte unter Konsultation und Unterstützung des Instituts für Medizinische Statistik und Epidemiologie (IMSE) durch PD Dr. Alexander Hapfelmeier.

4. Ergebnisse

4. Ergebnisse

4.1 Probandenkollektiv

Es erfolgte der Einschluss von insgesamt 80 Patienten im Alter von 6 bis 78 Jahren in das Probandenkollektiv dieser Arbeit. Das Durchschnittsalter betrug $35,15 \pm 20,3$ Jahre mit einem Median von 32 Jahren (Abb. 11A). Das Männer-Frauen-Verhältnis betrug 0,86 mit insgesamt 37 eingeschlossenen Männern und 43 Frauen (Abb. 11B). Während das Durchschnittsalter der Frauen $36,4 \pm 20,1$ Jahre betrug, wiesen die Männer mit $33,7 \pm 20,4$ Jahre ein etwas jüngeres Alter auf.

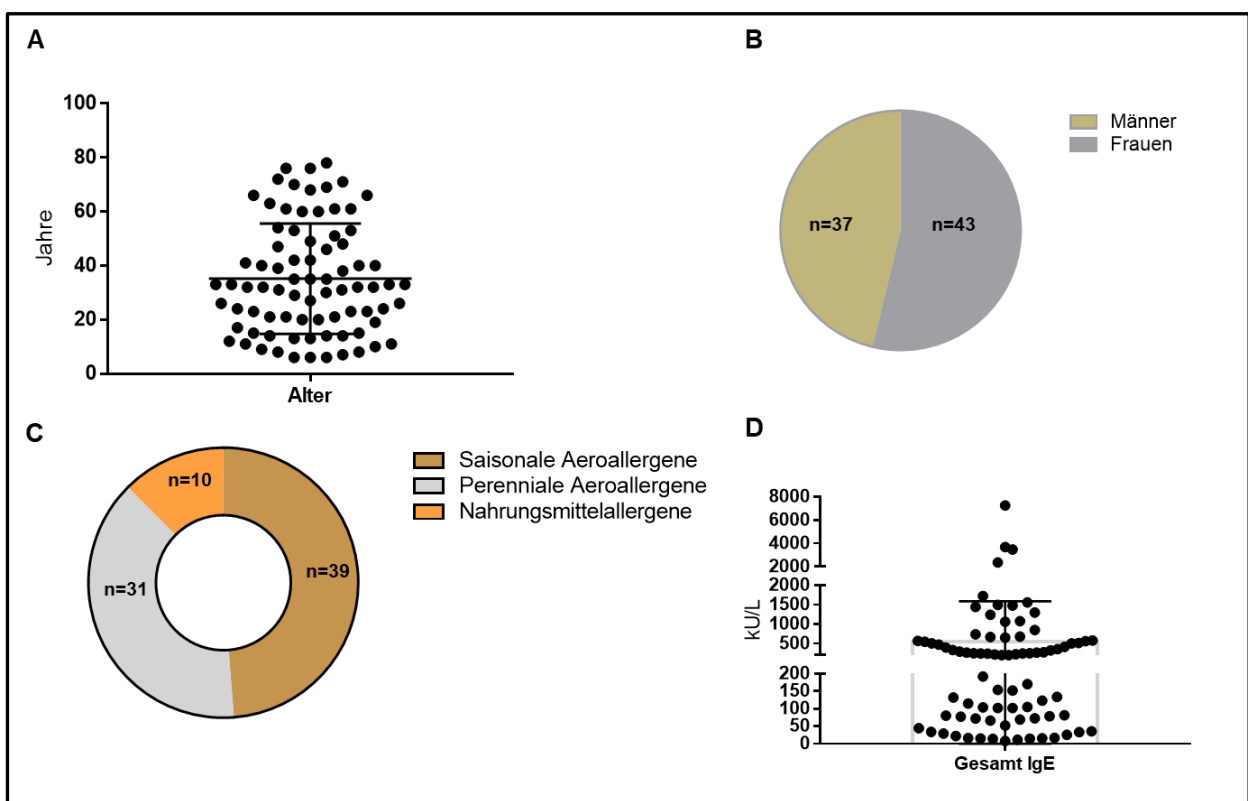


Abb. 11: Probandenkollektiv

Einschluss von insgesamt 80 Probanden; A. Alter in Jahren mit Mittelwert und Standardabweichung; B. Geschlechterverhältnis; C. Allergiekategorie der eingeschlossenen Probanden; mit Sensibilisierung gegen saisonale Aeroallergenen, perenniale Aeroallergene und Nahrungsmittelallergene; D. Gesamt-IgE in kU/L der jeweiligen Probanden mit Mittelwert und Standardabweichung

Von den 80 eingeschlossenen Probanden stellte sich die Mehrheit mit 48,7 % ($n = 39$) wegen einer Allergie gegen saisonale Aeroallergene, 38,8 % ($n = 31$) wegen einer Allergie gegen perenniale Aeroallergene und 12,5 % ($n = 10$) wegen einer Nahrungsmittelallergie vor.

Das durchschnittliche Gesamt-IgE der 80 Probanden war deutlich erhöht und betrug $557,1 \pm 1018,9$ kU/L, mit einem Median von 232 kU/L.

4. Ergebnisse

4.2 Korrelation der spezifischen IgE-Werte zwischen ImmunoCAP und Optigen

Die Korrelation der spezifischen IgE-Werte und Klassen zwischen ImmunoCAP und Optigen wurde mit dem Rangkorrelationskoeffizienten r nach Spearman berechnet, da die Daten keiner Normalverteilung folgten. Bei der Interpretation des r -Werts, orientiert sich diese Arbeit an der Einteilung von Cohen aus dem Jahr 1992 [24]:

$r = .10$ entspricht einem schwachen Effekt

$r = .30$ entspricht einem mittleren Effekt

$r = .50$ entspricht einem starken Effekt

4.2.1 Korrelation der spezifischen IgE-Werte

Von den insgesamt 20 verschiedenen Allergenen, für welche bei jedem Probanden mit beiden Testsystemen jeweils spezifische IgE-Werte bestimmt wurden, zeigte sich zwischen ImmunoCAP und Optigen im Durchschnitt ein Korrelationskoeffizient $r = 0,668 \pm 0,22$ bei einem medianen r -Wert von 0,764. Eine Signifikanz wurde für die Korrelation bei allen Allergenen erreicht. Der Koeffizient r schwankte zwischen der geringsten Korrelation von 0,235 bei Kabeljau (Gad) und der höchsten Korrelation mit 0,930 bei Hausstaubmilbe (Der f1, vgl. Tab. 5).

Tabelle 5: Korrelation der spezifischen IgE-Werte zwischen ImmunoCAP und Optigen

Allergene	Korrelation nach Spearman (r)	
	spezifische IgE-Werte	
	r	Signifikanz p
Der f1	0,930	< 0,001
Cor	0,923	< 0,001
Der p1	0,897	< 0,001
Fel	0,882	< 0,001
Phl	0,869	< 0,001
Can	0,813	< 0,001
Dau	0,807	< 0,001
Mal	0,799	< 0,001
Bet v 1	0,780	< 0,001
Ara	0,770	< 0,001
Art	0,758	< 0,001
Gly	0,685	< 0,001
Tri	0,597	< 0,001
Asp	0,558	< 0,001
Hev	0,522	< 0,001
Alb	0,458	< 0,001

4. Ergebnisse

Equ	0,452	< 0,001
Cla	0,380	0,001
Lac	0,252	0,024
Gad	0,235	0,036

In Abb. 12 werden exemplarisch die Korrelationsgraphiken der spezifischen IgE-Werte von Hausstaubmilbe (Der f1) (stärkste Korrelation) und Kabeljau (Gad) (schwächste Korrelation) aufgezeigt. Eine komplette Auflistung der Graphen der analysierten Allergene findet sich im Anhang dieser Arbeit.

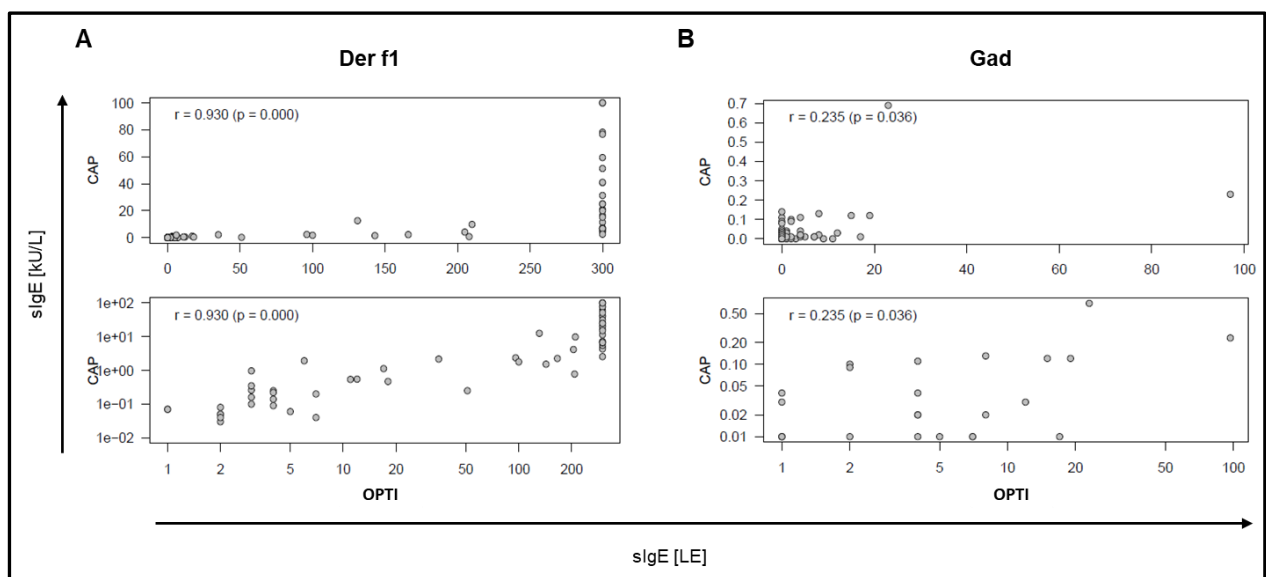


Abb. 12: Korrelationsgraphik der spezifischen IgE-Werte

Korrelation der spezifischen IgE-Werte zwischen dem ImmunoCAP-System in der y-Achse und dem Optigen-System in der x-Achse. Jeder Punkt entspricht einem Probanden. In der unteren Zeile Darstellung der Achsen zum Teil logarithmisch; A. Hausstaubmilbe (Der f1); B. Kabeljau; Opti, Optigen; CAP, ImmunoCAP; sIgE, spezifisches IgE, LE, Lumineszenzeinheiten

4.2.2 Korrelation der IgE-Klassen

Neben der Korrelation der spezifischen IgE-Werte erfolgte auch eine Korrelation der IgE-Klassen von ImmunoCAP und Optigen. Dabei reichen die ImmunoCAP-Klassen von 0 – 6 (vgl. 3.2.1.1.2) und die Optigen-Klassen, auch CLA-Klassen genannt, von 0 – 4 (vgl. 3.2.1.2.2). Bei den 20 gemessenen Allergenen zeigte sich im Mittel hinsichtlich der IgE-Klassen ein Korrelationskoeffizient nach Spearman von $0,618 \pm 0,26$ sowie ein Median von 0,699. Bis auf die spezifischen IgE-Werte gegen Milch und Kabeljau zeigten sich die Korrelationskoeffizienten überall signifikant. Der r-Wert reicht von - 0,013 bei Kabeljau mit der geringsten Korrelation

4. Ergebnisse

(negative Korrelation) zu 0,930 bei Hausstaubmilbe (Der p1) mit der stärksten Korrelation. Bei Latex konnte kein Korrelationskoeffizient berechnet werden.

Tabelle 6: Korrelation der IgE-Klassen zwischen ImmunoCAP und Optigen

Allergene	Korrelation nach Spearman (r)	
	IgE-Klassen	
	r	Signifikanz p
Der p1	0,930	< 0,001
Fel	0,926	< 0,001
Der f1	0,913	< 0,001
Cor	0,897	< 0,001
Phl	0,876	< 0,001
Bet v 1	0,77	< 0,001
Can	0,724	< 0,001
Art	0,721	< 0,001
Equ	0,707	< 0,001
Asp	0,699	< 0,001
Gly	0,67	< 0,001
Cl a	0,573	< 0,001
Dau	0,527	< 0,001
Mal	0,476	< 0,001
Alb	0,451	< 0,001
Ara	0,414	< 0,001
Tri	0,28	0,012
Lac	0,2	0,075
Gad	-0,013	0,911

In Abb. 13 werden exemplarisch die Korrelationsgraphiken der IgE-Klassen des ImmunoCAP- und des Optigen-Systems von Hausstaubmilbe (Der f1) (sehr starke Korrelation) und Kabeljau (Gad) (negative Korrelation) aufgezeigt. Eine komplette Auflistung der Graphen der analysierten Allergene findet sich im Anhang dieser Arbeit.

4. Ergebnisse

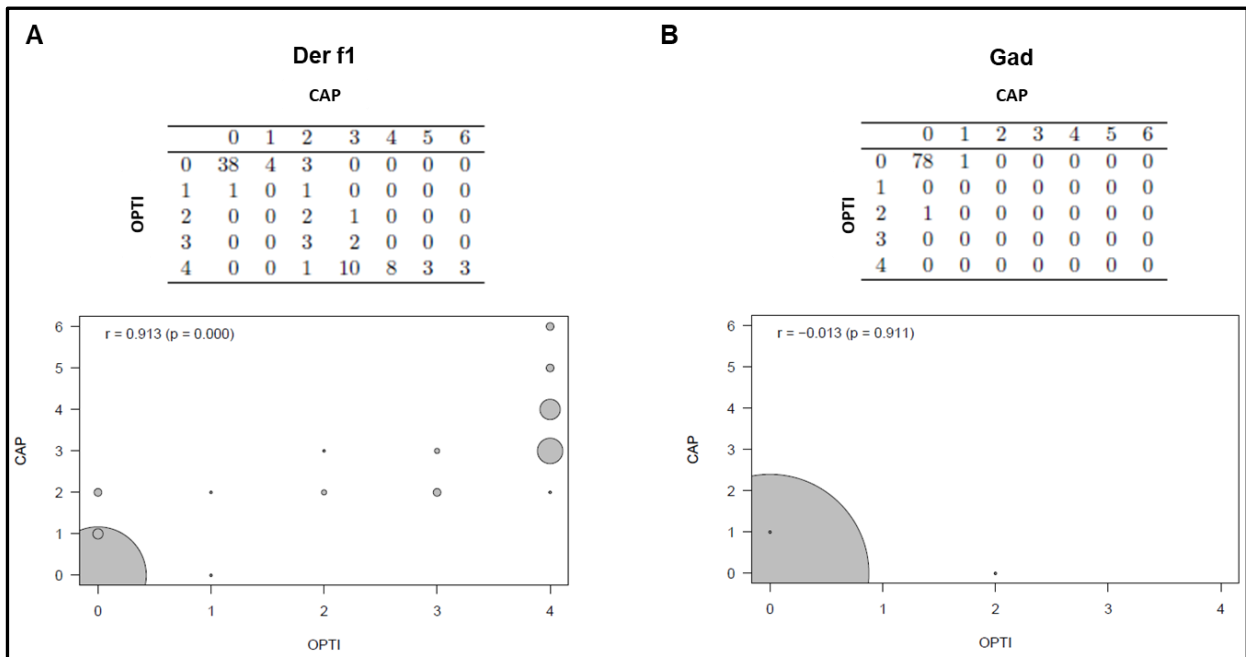


Abb. 13: Korrelationsgraphik der IgE-Klassen

Korrelation der IgE-Klassen zwischen dem ImmunoCAP- und dem Optigen-System. In der oberen Zeile Gegenüberstellung der absoluten Anzahl der jeweiligen IgE-Klassen beider Systeme, x-Achse CAP und y-Achse Opti; in der unteren Zeile Darstellung der Korrelation mittels Blasendiagramm, je größer die Blase desto höher die Anzahl der Probanden; A. Hausstaubmilbe (Der f1); B. Kabeljau; Opti, Optigen; CAP, ImmunoCAP;

4.2.3 Korrelation des spezifischen IgE - Zusammenfassung

Beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten zwischen den spezifischen IgE-Werten und den IgE-Klassen zeigte sich im Schnitt eine Differenz von $0,149 \pm 0,148$: mit dem geringsten Unterschied bei Hühnereiweiß und Lieschgras von jeweils 0,007 und der größten Diskrepanz mit 0,356 bei der Erdnuss (Abb. 14).

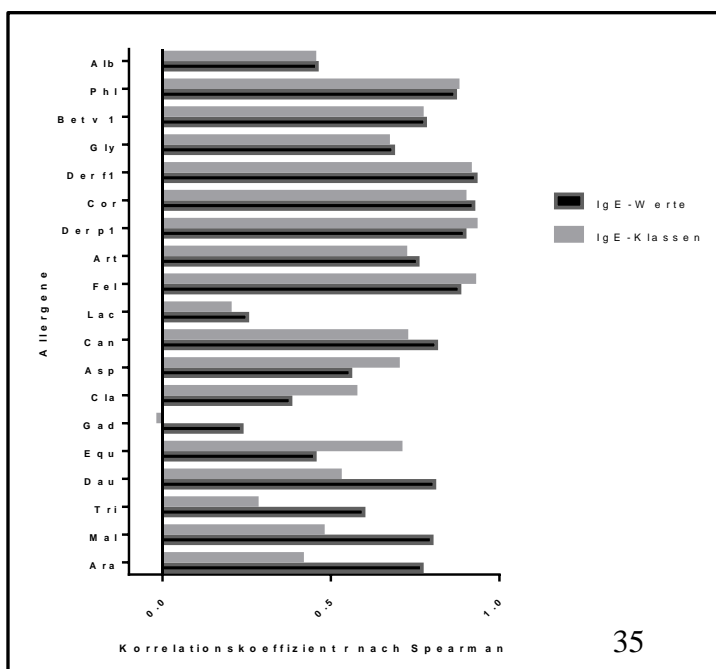


Abb. 14: Vergleich der Korrelationen zwischen den spezifischen IgE-Werten und IgE-Klassen

Korrelation der spezifischen IgE-Werte (schwarz) und der IgE-Klassen (grau) zwischen dem ImmunoCAP- und dem Optigen-System, bezogen auf die einzelnen Allergene in der Übersicht. In der x-Achse wird der Korrelationskoeffizient r nach Spearman gezeigt. In der y-Achse sind die einzelnen Allergene aufgetragen, gegen welche im Serum das spezifische IgE bestimmt wurde. Von oben nach unten nimmt das Delta des Korrelationskoeffizienten zwischen IgE-Werten und IgE-Klassen zu.

4.3 Diskriminative Güte von ImmunoCAP und Optigen im Vergleich zum Prick-Test

Zur klinischen Evaluierung der beiden Testsysteme erfolgte die Bestimmung der diskriminativen Güte (Sensitivität und Spezifität) der beiden Systeme in Referenz zur Sensibilisierung der gleichen Probanden im Prick-Test. Der Hauttest wird hierbei als Goldstandard angesehen, in welchem die Probanden entweder als positiv oder negativ gegenüber dem einzelnen Allergen gewertet werden. Es wird geprüft, inwieweit die beiden in-vitro IgE-Testsysteme ImmunoCAP und Optigen (welche eine quantitative Größe darstellen) das qualitative Ergebnis (positiv bzw. negativ) des Prick-Tests abbilden können. Es erfolgt daher die Bestimmung der prognostischen Aussage von ImmunoCAP und Optigen zum Prick-Test, welche mittels der Grenzwertoptimierungskurve, auch ROC-Kurve genannt, dargestellt wird. Zur Quantifizierung des Ergebnisses erfolgt die Berechnung der Fläche unter der ROC-Kurve (AUC). Liegt die Kurve auf der Diagonalen, also bei einem AUC von 0,5, deutet dies auf einen Zufallsprozess mit gleich hoher Trefferquote wie Falschpositivquote hin. Nach Hosmer & Lemeshow wird die Qualität eines Tests mittels Bestimmung der AUC wie folgt eingeteilt [45]:

AUC = 0,5 → keine Diskrimination, Zufallsprinzip

AUC 0,5 – 0,7 → schlechte Diskrimination

AUC 0,7 – 0,8 → akzeptable Diskrimination

AUC 0,8 – 0,9 → gute Diskrimination

AUC > 0,9 → sehr gute Diskrimination

4.3.1 Diskriminative Güte der spezifischen IgE-Werte

Hinsichtlich der spezifischen IgE-Werte zeigte sich beim ImmunoCAP eine durchschnittliche AUC von $0,734 \pm 0,155$ bei einem Median von 0,778. Im Vergleich dazu zeigte sich beim Optigen-Testsystem eine durchschnittliche AUC von $0,780 \pm 0,131$ und ein Median von 0,796. Bei beiden Testsystemen zeigte sich die stärkste Diskrimination mit 0,976 (ImmunoCAP) bzw. 0,964 (Optigen) bei Hausstaubmilbe (Der f1) und die schwächste Diskrimination mit 0,515 (ImmunoCAP) bzw. 0,549 (Optigen) beim Schimmelpilz (Cla) (Tab. 7). Bei allen gemessenen Allergenen zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem ImmunoCAP und dem Optigen-Testsystem. Für drei Allergene, Hühnereiweiß, Milch und Kabeljau, konnte keine AUC berechnet werden.

4. Ergebnisse

Tabelle 7: Diskriminative Güte der spezifischen IgE-Werte von ImmunoCAP und Optigen zum Prick-Test

Allergene	ImmunoCAP	Optigen	Signifikanz p
	spezifische IgE-Werte	spezifische IgE-Werte	
	AUC	AUC	
Der f1	0,976	0,964	0,571
Phl	0,967	0,93	0,095
Fel	0,96	0,938	0,331
Bet v 1	0,944	0,893	0,067
Der p1	0,937	0,928	0,684
Art	0,858	0,796	0,235
Equ	0,858	0,877	0,679
Dau	0,809	0,845	0,388
Can	0,778	0,843	0,124
Cor	0,721	0,687	0,521
Mal	0,679	0,581	0,251
Gly	0,633	0,657	0,689
Ara	0,624	0,641	0,769
Tri	0,604	0,644	0,305
Asp	0,588	0,732	0,151
Hev	0,574	0,75	0,26
Cla	0,515	0,549	0,606

In Abb. 15 werden exemplarisch die ROC-Kurven der spezifischen IgE-Werte des ImmunoCAP- und des Optigen-Systems im Vergleich zum Prick-Test für Hausstaubmilbe (Der f1) (sehr gute Diskrimination) und Schimmelpilz (Cla) (schlechte Diskrimination) aufgezeigt. Eine komplette Auflistung der Graphen der analysierten Allergene findet sich im Anhang dieser Arbeit.

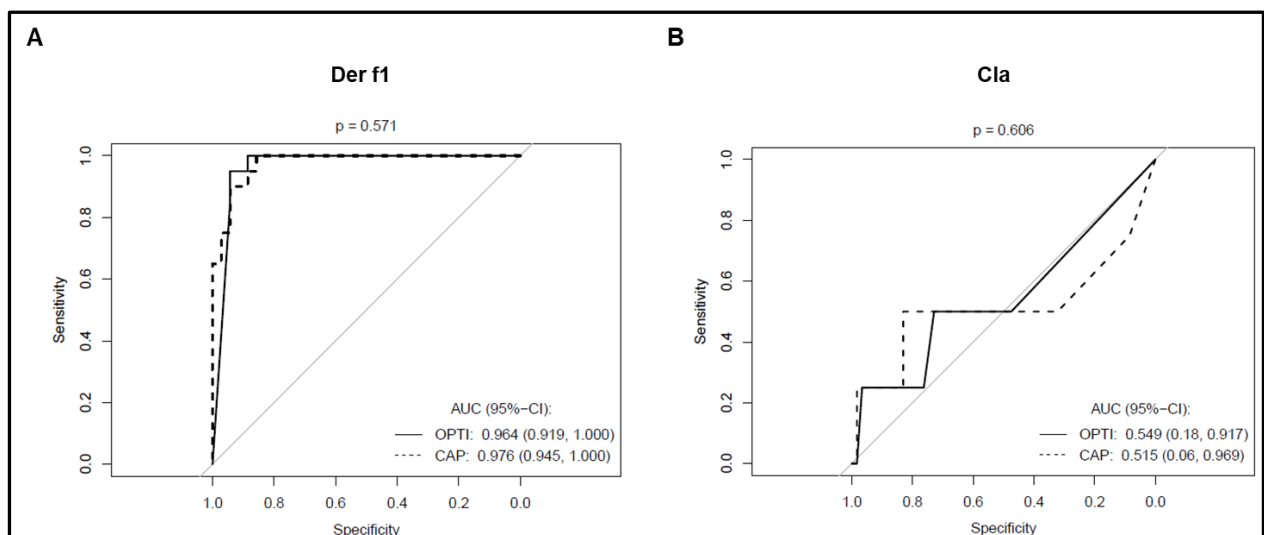


Abb. 15: Diskriminative Güte der spezifischen IgE-Werte von ImmunoCAP und Optigen in Referenz zur Prick-Klassifikation – ROC-Kurvenanalyse.

ROC-Kurven der spezifischen IgE-Werte des ImmunoCAP- und Optigen-Testsystems in Bezug auf die Prick-Klassifikation (+/-). In der x-Achse zeigte sich die Spezifität und in der y-Achse die Sensitivität der spezifischen IgE-Werte von ImmunoCAP und Optigen in Referenz zur Prick-Klassifikation. Weiterhin Berechnung von AUC mit 95 % Konfidenzintervall. A. Hausstaubmilbe

4. Ergebnisse

(Der f1); B. Schimmelpilz (Cladosporium); AUC, area under the curve; CAP, ImmunoCAP; CI, Konfidenzintervall; Opti, Optigen.

4.3.2 Diskriminative Güte der IgE-Klassen

Hinsichtlich der diskriminative Güte bei den IgE-Klassen zeigte sich beim ImmunoCAP eine durchschnittliche AUC von $0,734 \pm 0,157$ und ein Median von 0,777. Beim Optigen-Testsystem zeigte sich bei den IgE-Klassen, bezogen auf den Prick-Test, eine durchschnittliche AUC von $0,747 \pm 0,155$ und ein Median von 0,754. Die höchste diskriminative Güte zeigte sich wie schon bei den spezifischen IgE-Werten – auch bei den IgE-Klassen mit einer AUC von 0,965 (ImmunoCAP) bzw. 0,974 (Optigen) bei der Hausstaubmilbe (Der f1). Die schwächste diskriminative Güte, bezogen auf den Prick-Test, zeigt sich bei den IgE-Klassen beim ImmunoCAP-Testsystem mit einer AUC von 0,5 bei Latex (Hev) und beim Optigen-Testsystem mit einer AUC von 0,505 bei Sojabohne (Gly) (Tab. 8). Bei allen gemessenen Allergenen zeigte sich auch bei den IgE-Klassen kein signifikanter Unterschied zwischen dem ImmunoCAP und dem Optigen-Testsystem. Für drei Allergene – Hühnereiweiß, Milch und Kabeljau – konnte keine AUC berechnet werden.

Tabelle 8: Diskriminative Güte der IgE-Klassen von ImmunoCap und Optigen zum Prick-Test

	ImmunoCAP IgE-Klassen	Optigen IgE-Klassen	
Allergene	AUC	AUC	Signifkanz p
Der f1	0,964	0,974	0,513
Fel	0,944	0,89	0,06
Der p1	0,934	0,936	0,881
Phl	0,918	0,961	0,056
Bet v 1	0,87	0,913	0,092
Equ	0,839	0,816	0,746
Dau	0,802	0,754	0,551
Art	0,79	0,847	0,197
Can	0,777	0,777	0,989
Cor	0,671	0,732	0,136
Tri	0,608	0,689	0,711
Cl	0,597	0,576	0,311
Ara	0,582	0,628	0,638
Gly	0,567	0,505	0,209
Mal	0,561	0,642	0,734
Asp	0,552	0,52	0,058
Hev	0,5	0,537	0,837

4. Ergebnisse

In Abb. 16 werden exemplarisch die ROC-Kurven der IgE-Klassen des ImmunoCAP- und des Optigen-Systems in Referenz zum Prick-Test von Hausstaubmilbe (Der f1) (sehr gute Diskrimination) und Schimmelpilz (Cla) (schlechte Diskrimination) aufgezeigt. Eine komplette Auflistung der Graphen für die restlichen Allergene findet sich im Anhang dieser Arbeit.

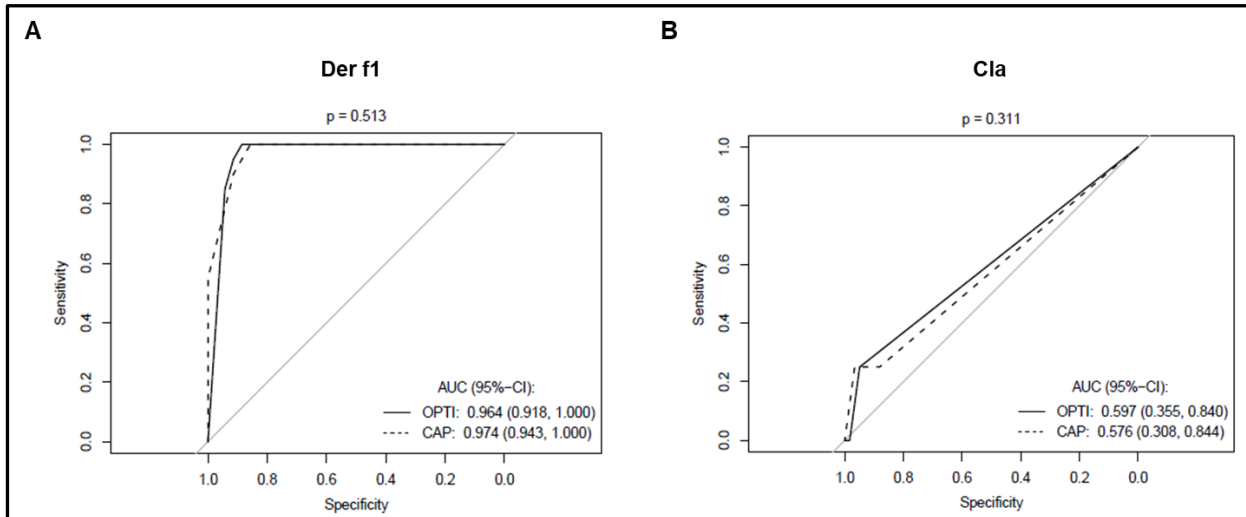


Abb. 16: Diskriminative Güte der IgE-Klassen von ImmunoCAP und Optigen in Referenz zur Prick-Klassifikation – ROC-Kurvenanalyse.

ROC-Kurven der IgE-Klassen des ImmunCAP und Optigen-Testsystems in Bezug auf die Prick-Klassifikation (+/-). In der x-Achse zeigte sich die Spezifität und in der y-Achse die Sensitivität der IgE-Klassen von ImmunoCAP und Optigen in Bezug auf die Prick-Klassifikation. Weiterhin Berechnung von AUC mit 95 % Konfidenzintervall. A. Hausstaubmilbe (Der f1); B. Schimmelpilz (Cladosporium); AUC, area under the curve; CAP, ImmunoCAP; CI, Konfidenzintervall; Opti, Optigen.

4.3.3 Diskriminative Güte – Zusammenfassung

Beim Vergleich der diskriminativen Güte des ImmunoCAP- und Optigen-Testsystems in Bezug auf den Prick-Test zeigte sich bei den spezifischen IgE-Werten im Durchschnitt ein nicht signifikantes Delta der AUC von $0,05 \pm 0,05$ und bei den IgE-Klassen ebenfalls ein nicht signifikantes Durchschnittsdelta von $0,04 \pm 0,02$. Bei den spezifischen IgE-Werten zeigte sich die größte Differenz der AUC zwischen ImmunoCAP und Optigen mit 0,176 bei Latex und die geringste Differenz mit 0,009 bei Hausstaubmilbe (Der p1). Bei den IgE-Klassen wiesen sowohl Apfel als auch Weizen mit einer AUC Differenz von 0,081 den größten Unterschied zwischen dem ImmunoCAP- und dem Optigen-Testsystem auf. Keine Abweichung der IgE-Klassen zwischen den beiden Messsystemen zeigte sich bei dem Allergen Hund. Abb. 17 zeigt die Differenz der AUC mit 95 % Konfidenzintervall von ImmunoCAP und Optigen. Bei keinem Allergen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem ImmunoCAP und Optigen-Testsystem.

4. Ergebnisse

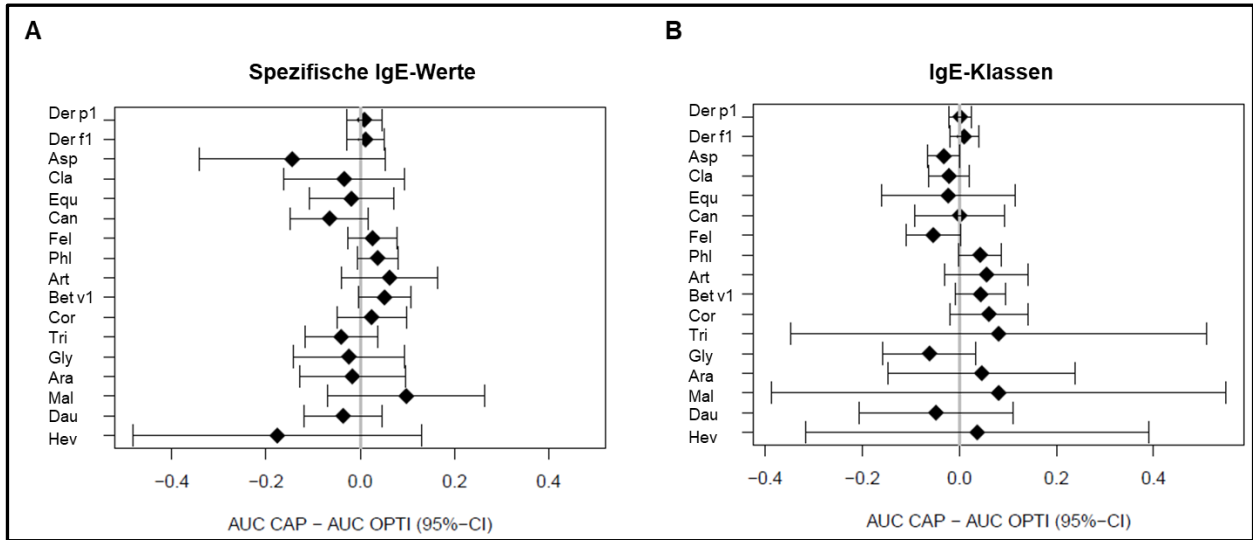


Abb. 17: Vergleich der diskriminativen Güte zwischen dem ImmunoCAP- und Optigen-Testsystem.

Differenz der AUC von ImmunoCAP und Optigen in Bezug auf die Prick-Klassifikation. In der x-Achse zeigte sich das Delta der AUC von ImmunCAP und Optigen mit 95 % Konfidenzintervall. In der y-Achse zeigen sich die einzelnen Allergene. A. Spezifische IgE-Werte; B. IgE-Klassen; AUC, area under the curve; CAP, ImmunoCAP; CI, Konfidenzintervall; Opti, Optigen.

5. Diskussion

Die Identifikation von klinisch relevantem spezifischem IgE ist entscheidend für die Diagnose, Behandlung und Prävention allergischer Erkrankungen [69; 78]. Weltweit gibt es verschiedenste In-vitro-Testsysteme zur Bestimmung von spezifischem IgE. Die Effektivität der IgE-Messung kann stark von dem jeweiligen methodischen Vorgehen – wie z. B. dem Allergen-Coating oder den einzelnen Detektionsmechanismen der IgE-Allergen-Bindung – beeinflusst werden, was eine Validierung neuer Testsysteme im Vergleich zu etablierten Methoden notwendig macht [91]. Eine der besonders etablierten und zuverlässigen IgE-Messsysteme stellt das ImmunoCAP-System dar – von einigen Autoren als „Goldstandard“ in der In-vitro-Diagnose von allergischen Erkrankungen bezeichnet [4]. Allerdings kann das ImmunoCAP-System nur spezifisches IgE gegen ein einzelnes Allergen oder eine Allergenfraktion detektieren, und zwar in der sog. Singleplex-Methode.

Aus diesem Grund erfolgte die Entwicklung weiterer Testsysteme – etwa jenes von Optigen, das in einem Testlauf über 30 verschiedene allergenspezifische IgE-Werte ermitteln kann. Diese im allgemeinen kostengünstigeren Systeme werden MAST („multiple allergen simultaneous test“) oder Paneltest bzw. Multiplex-Methode genannt [42].

5.1 Performance des Optigen- vs. ImmunoCAP-Testsystem

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass bezogen auf die spezifischen IgE-Werte und die IgE-Klassen für die große Mehrheit der hier analysierten Allergene anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman insgesamt eine starke Korrelation zwischen dem Singleplex ImmunoCAP- und dem Multiplex Optigen-System besteht [24]. Weiterhin zeigte sich die diskriminative Güte zum Prick-Test bei der Optigen-Testmethode bei der Mehrheit der analysierten Allergene vergleichbar mit dem Goldstandard der IgE-Diagnostik ImmunoCAP.

In der Literatur findet man vergleichbare Ergebnisse. Zur Bestimmung der Performance des neueren Optigen-Systems analysierten Kim et al. die Diagnoseeffektivität bei der allergischen Rhinitis im Vergleich zu einem Vorgängermodell von Optigen. Als Referenz diente wie in der vorliegenden Arbeit das ImmunoCAP-System sowie der Prick-Test [53]. In den 1990er Jahren erfolgte die Einführung des MAST-CLA in Korea, mit welchem die gleichzeitige Messung von 35 Allergenen möglich wurde. Die Weiterentwicklung erfolgte im Jahr 2007 mit der Einführung

des MAST-CLA-Optigen-Systems, welches durch eine um 80 % verkürzte Inkubationszeit deutlich schnellere Ergebnisse liefern kann.

Wesentlicher Nachteil des Vorgängermodells war eine schlechtere Sensitivität im Vergleich zum Prick-Test [2]. Beim Optigen-Test wurde daher versucht, durch eine erhöhte Bindung der Allergene an eine Polystyren-basierte Festphase die Sensitivität zu erhöhen. In einer ersten Studie zeigte der Vergleich des alten und des neuen Testsystems eine Konkordanz von über 90 % zwischen den beiden Testsystemen [58]. In der Studie von Kim et al. zeigte das Optigen-System vergleichbare Ergebnisse mit der Hauttestung sowie mit dem ImmunoCAP, bei gleichzeitig weniger falsch positiven Ergebnissen im Vergleich zur Vorgeneration. Das Optigen-System korrelierte dabei besser mit dem ImmunoCAP als mit dem Hauttest. Die Autoren argumentierten diese Beobachtung damit, dass beide Testsysteme spezifisches IgE messen und sich daher vom Grundprinzip sehr ähnlich sind, wohingegen bei der Hauttestung eine funktionelle Histaminausschüttung gemessen wird.

Im Vergleich zur vorliegenden Studie erfolgte bei Kim et al. eine Fokussierung auf in Korea relevante Aeroallergene bei der RCA. Bis auf die Küchenschabe wurden jedoch alle relevanten analysierten Allergene im hier durchgeführten Vergleich zwischen Optigen und ImmunoCAP (Der p1, Der f1, Hund, Katze, Beifuß) auch in dieser Arbeit ausgewertet. Hier ergab sich interessanterweise eine sehr ähnliche Anordnung der Korrelationskoeffizienten. Die höchste Korrelation der getesteten IgE-Werte zeigte sich wie in unserer Arbeit bei Der f1 und Der p1 gefolgt von Katze, Beifuß und Hund. Der Korrelationskoeffizient zeigt sich dabei nahezu identisch zwischen der Arbeit von Kim et al. und der vorliegenden Studie.

Im Vergleich verschiedener MAST-IgE-Testsysteme analysierten Shin et al. unter anderem die Übereinstimmung zwischen ImmunoCAP und Optigen bei diversen inhalativen und Nahrungsmittelallergenen. Bei Aeroallergenen zeigte sich bei den positiven Ergebnissen eine 91,75 %-ige und bei den Nahrungsmittelallergenen eine 86,4 %-ige Übereinstimmung zum ImmunoCAP. Im Vergleich zu den anderen beiden MAST-Systemen (Polycheck Allergy und RIDA Allergy Screen) wies das Optigen-System insgesamt eine höhere Sensitivität auf. Insgesamt ergab sich aus dieser Studie eine moderate Übereinstimmung von Optigen und ImmunoCap mit Cohens Kappa bei inhalativen Allergenen von 0,27 und bei Nahrungsmittelallergenen von 0,59. Optigen zeigte insgesamt verglichen zu den beiden anderen MAST-Systemen in dieser Studie die beste Kapazität im Direktvergleich zum ImmunoCAP.

5. Diskussion

Jedoch wurden insgesamt nur 23 Proben mit dem ImmunoCAP verglichen [40]. Im Vergleich zur vorliegenden Studie konnte sich die hohe Übereinstimmung bei Hausstaubmilbe, Beifuß, Lieschgras, Hund und Katze erneut bestätigen.

Weiterhin zeigte sich ebenfalls wie in dieser Arbeit eine geringe Übereinstimmung von nur 50 % bei Hühnereiweiß. Im Gegensatz zu den hier vorliegenden Ergebnissen zeigte sich jedoch eine hohe Übereinstimmung bei Kabeljau und Milch. Zu berücksichtigen sind jedoch die kleine Probandenanzahl, da nur einer bis drei Probanden mit beiden Systemen getestet wurden.

In einer weiteren Studie mit 78 Patienten zur Diagnose einer allergischen Rhinitis zeigte sich eine vergleichbare Übereinstimmung von MAST-CLA (91,5 %) und ImmunoCAP (92,1 %) im Vergleich zur Hauttestung. Die Sensitivität des MAST-CLA war mit 73,4 % niedriger als die des ImmunoCAP mit 81,4 %, wohingegen die Spezifität mit 95,3 % etwas höher als die des ImmunoCAP (94,5 %) lag [52].

Neben diesen Studien führte auch der Hersteller Hitachi einen eigenen Validierungsprozess des Optigen-Systems durch. Hierbei erfolgte eine Evaluation des sog. Universalpanels gegen den ImmunoCAP der Firma Phadia. Bei diesem Panel wurden mit Hilfe von Pädiatern und Allergologen in verschiedenen Ländern die 20 häufigsten Allergene inkludiert (Abb. 18A). Dieses enthält auch 16 von 20 der in dieser Arbeit untersuchten Allergene.

A		B			
ALLERGEN	LATIN NAME	OPTIGEN	vs.	CAP	
Birch, White	<i>Betula verrucosa (alba, pendula)</i>	C	No.	%	W/1C
Ragweed Mix I	<i>Ambrosia elatior / Ambrosia trifida</i>	=	890	66.02%	90%
Timothy Grass	<i>Phleum pratense</i>	+1	203	15.06%	
Mugwort	<i>Artemisia vulgaris</i>	-1	115	8.53%	
Latex	<i>Hevea brasiliensis</i>	+2	79	5.86%	
Soybean	<i>Glycine max</i>	-2	44	3.26%	
Rice	<i>Oryza sativa</i>	+3	7	0.52%	
Codfish	<i>Gadus morhua</i>	-3	10	0.74%	
Wheat	<i>Triticum aestivum</i>	Total	1348	100.00%	
Peanut	<i>Arachis hypogaea</i>				
Egg white	<i>Gallus gallus</i>				
Cow's Milk	N/A				
Aspergillus	<i>Aspergillus fumigatus</i>				
Cladosporium	<i>Cladosporium herbarum / Cladosporium cladosporioides</i>				
Alternaria	<i>Alternaria alternata (tenuis)</i>				
Dog	<i>Canis</i>				
Cat	<i>Felis domesticus</i>				
Cockroach Mix	<i>Blattella germanica / Periplaneta americana</i>				
Mite p	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>				
Mite f	<i>Dermatophagoides farinae</i>				

Abb. 18: Optigen vs. ImmunoCAP – Validierung des Herstellers Abbildung modifiziert nach [70]

A. Allergene des Universalpanels B. Vergleich der IgE-Klassen von Optigen und ImmunoCAP; C, Class (Klassen); No. Number (Anzahl); W/IC, within one class (innerhalb einer Klasse)

Bei insgesamt 1348 Datenpunkten ergab der Vergleich zum ImmunoCAP eine Sensitivität von 88 % und eine Spezifität von 94 %. Bezogen auf die IgE-Klassen lagen 90 % der Optigen-Ergebnisse innerhalb einer CAP-Klasse (Abb. 18B). Neben einer genauen Auflistung der Diagnosegüte einzelner Allergene zwischen den beiden Systemen fehlt ein Vergleich zum Hauttest bei dieser nicht in der wissenschaftlichen Fachliteratur veröffentlichten Validierungsstudie [44].

Nach ausführlicher Recherche verfügbarer Literatur hat sich gezeigt, dass die vorliegende Arbeit die einzige Studie darstellt, welche das Optigen-Testsystem in größerem Ausmaß mit den identischen Patienten gegen eine Vielzahl von verschiedenen Inhalations- und Nahrungsmittelallergenen mit dem ImmunoCAP-System und gleichzeitig dem Prick-Test vergleicht. Dies zeigt den Stellenwert dieser Studie, welche insgesamt eine hohe Übereinstimmung des Optigen-Testsystem zum ImmunoCAP und Hauttest aufzeigen konnte.

5.2 Vergleich von Singleplex- und Multiplex-IgE-Messsystemen

Der größte Vorteil eines Multiplex-IgE-Messsystems wie Optigen – im Vergleich zu einem Singleplex-System wie dem ImmunoCAP – besteht in der gleichzeitigen Analyse von spezifischen IgE-Werten gegen eine Vielzahl von Allergenen. Die Vorteile des Multiplex- im Vergleich zum Singleplex-System lassen sich dabei verschiedenen Ebenen zuordnen: [44; 47; 89]

1. Zum einen die deutliche Zeitersparnis. Das hier nach dem ImmunoCAP-Singleplex-Prinzip getestete Phadia 250-Gerät kann innerhalb von 5 Stunden ca. 250 Ergebnisse analysieren. Der AP720S™ mit der Multiplex-Optigen-Technik liefert in der gleichen Zeit mehr als 400 Ergebnisse.
2. In der Pädiatrie mit häufig erschwelter Blutabnahme, aber auch bei Erwachsenen im Rahmen von Nachbestimmungen ist es oft essenziell, mit wenig Serum viele Allergene zu testen. Mit dem ImmunoCAP-System benötigt man pro Allergen ca. 50 µL Serum. Zusätzlich zu berücksichtigen ist ein Totvolumen von ca. 300 µL, was bei 20 zu testenden Allergenen zu einer Gesamtmenge von 1100 µL Serum (55 µL pro Allergen)

führt. Mit dem Optigen-Testsystem können 20 Allergene mit 300 µL Serum bestimmt werden, was 15 µL pro Allergen entspricht, einer Reduktion der Serummenge pro Allergen von über 70 %.

3. In einer Zeit des zunehmenden Kostendrucks im Gesundheitssystem ist es von enormer Bedeutung, medizinische Diagnostik bei höchster Qualität so kostengünstig wie möglich zu erbringen. Ein Vergleich der realen Kosten ist schwierig, da neben den reinen Materialkosten auch die Personalkosten berechnet werden müssen. Beim Multiplex-Verfahren zeigt sich durch die Zeitersparnis beim Messen vieler Allergene hier ein Vorteil hinsichtlich der Personalkosten.
4. Als Hauptvorteil des Multiplex-Systems muss der diagnostische Mehrgewinn des Klinikers gesehen werden. Dieser erlangt mit diesem Testverfahren sofort einen Überblick über das Sensibilisierungsprofil des untersuchten Individuums und kann daraus weitere diagnostische sowie therapeutische Maßnahmen ableiten.

Zur Geltung kommen die Vorzüge des Multiplex-Systems allerdings erst im Zuge größerer Allergiescreening-Untersuchungen (bei denen das IgE-Reaktionsprofil eines Patienten gegen möglichst viele Allergene bestimmt werden soll). Ein klassisches Beispiel: die idiopathische Anaphylaxie, bei der es häufig schwierig ist, durch eine allergologische Testung einen klaren Auslöser zu identifizieren. Es erfolgt daher die Testung gegen typische Auslöser einer idiopathischen Anaphylaxie wie z. B. alpha-Gal, Lupinensamen, Sellerie und Omega-5-Gliadin. Durch ein Multiplex-System kann hier in kurzer Zeit, kosteneffektiv und mit wenig Serum eine ausführliche Diagnostik erfolgen, damit ein lebensbedrohliches Allergen identifiziert wird [13; 68]. Hierfür ist es essenziell, dass die Sensitivität von Multiplex IgE-Messsystemen im Vergleich zu Singleplex-Systemen hoch genug ist. Dies konnte in dieser Arbeit sowie in Zusammenschau mit der Literatur für das Optigen-System aufgezeigt werden.

In klinischen Fragestellungen, bei denen nur wenige Allergene zu testen sind – beispielsweise bei einer in den Wintermonaten aggravierten rhinokonjunktivitisartigen Symptomatik mit Verdacht auf Hausstaubmilbenallergie – ist die Singleplex-Methode im Vorteil. Das ImmunoCAP-System ist in diesem Setting sowohl schneller als auch kostengünstiger und hat als definierter Goldstandard auch die etwas höhere Sensitivität (vgl. 5.1).

5.3 Molekulare IgE-Diagnostik mit Allergenchips

Unter molekularer Allergiediagnostik (auch komponenten-basierte IgE Diagnostik genannt) versteht man die Bestimmung von spezifischen IgE-Antikörpern gegen einzelne natürlich isolierte oder rekombinant hergestellte Einzelallergene bzw. Allergenfragmente, nicht wie herkömmlich gegen Gesamtextrakte [27; 61]. Diese Weiterentwicklung des spezifischen IgE-Nachweises hat die Qualität der Allergiediagnostik wesentlich verbessert [8]. Mit dieser Technik kann eine genuine Sensibilisierung von einer Kreuzreaktion unterschieden werden. So zeigen Bienengiftallergiker häufig eine Kreuzsensibilisierung auf den Gesamtextrakt des Wespengifts. Mit Hilfe von rekombinanten Allergenen kann analysiert werden, ob eine genuine Doppelsensibilisierung oder nur eine Kreuzreaktivität wegen der molekularen Verwandtschaft einzelner Allergene vorliegt [21; 66]. Gerade bei unklarer Stichanamnese unterstützt diese Diagnostik den Kliniker bei der Entscheidung, welche allergenspezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) durchgeführt werden soll [21; 32; 83].

Aktuell gibt es sowohl die Möglichkeit, molekulare IgE-Diagnostik mittels Singleplex-System durchzuführen als auch jene, mit Multiplex-Systemen zu arbeiten. Dabei werden verschiedene Vorgehensmethoden unterschieden:

Bei der sog. „top down“-Methode entscheidet der Kliniker – ausgehend von der allergologischen Anamnese –, welche Sensibilisierungen im Hauttest und mittels spezifischer IgE-Messung mit Gesamtextrakten bestimmt werden soll. Basierend auf diesen Befunden wird eine klinische Hypothese erstellt und diese mittels weiterer molekularer Diagnostik ergänzt. Besagte Strategie eignet sich aufgrund der begrenzten Anzahl zu testender Allergene am besten für ein Singleplex-System.

Bei der sog. „bottom up“-Methode wird – ausgehend von einer breit aufgestellten IgE-Diagnostik – eine klinische Hypothese erstellt. Diese Strategie eignet sich am besten für Multiplex-Systeme, da eine Vielzahl von Allergenen getestet wird. Bei dem sog. „U-shaped approach“ wird nach Diagnostik mittels „top down“-Prinzip zur Erweiterung der spezifischen IgE-Diagnostik ein Multiplex-Verfahren nachgeschoben [18].

Die diagnostische Lücke zwischen Multiplex-Test und molekularer Diagnostik wurde zuletzt durch die Das MAST-Verfahren nach Optigen-Prinzip bietet die Möglichkeit der gleichzeitigen Analyse von bis zu 36 Allergenen. Allerdings basieren die kommerziell erhältlichen Panels für

dieses System auf Gesamtallergenextrakten. Eine Komponenten-basierte molekulare Diagnostik ist für dieses System derzeit nicht etabliert [44] – ein großer Nachteil gegenüber der ImmunoCAP Singleplex-Methode, mit welcher sowohl eine Analyse von spezifischem IgE gegen Gesamtextrakte als auch gegen Einzelallergene bzw. Allergenfragmente möglich ist [89]. Auch neuere Systeme wie der ImmunoCAP-ISAC- oder der Euroimmun EUROLINE IgE-Test weisen diesen Vorteil gegenüber dem Optigen-Testsystem [30] auf. Prinzipiell würde sich das MAST-Verfahren jedoch optimal für die Komponenten-basierte molekulare IgE-Diagnostik eignen, weil neben der geringen Menge an Serum nur eine geringe Menge an molekularen Allergenen erforderlich ist.

Entwicklung von sog. Allergen-chips geschlossen. Der etablierteste Vertreter dieser Gruppe ist der sog. ImmunoCAP-ISAC (Immuno Solid-Phase Allergen Chip), welcher die Biochip-Technologie mit der molekularen Allergologie in einem miniaturisierten Immunoassay vereint. Mit diesem Chip ist es möglich, unter Einsatz von nur 40 µL Serum auf 112 gleichzeitig natürlich gereinigte oder rekombinant hergestellte Einzelallergene aus 51 Allergenquellen zu testen. Der Nachteil gegenüber Singleplex-ImmunoCAP- und Optigen-Verfahren: ISAC liefert nur semiquantitative Ergebnisse. Zudem besteht durch die geringen Allergenmengen auf dem Allergenchip eine reduzierte Sensitivität des Tests. Eine weitere Reduktion der Empfindlichkeit wird durch die Interferenz von Antikörpern anderer Klassen (v. a. IgG) hinsichtlich der Bindung an immobilisiertes Allergen ausgelöst. Im Gegensatz dazu sind bei den Singleplex-Verfahren Allergene in einer wesentlich höheren Quantität (10.000-fach höhere Allergenmenge) eingesetzt, sodass mehr spezifische IgE-Antikörper eine Bindungsstelle finden, wodurch eine höhere Sensitivität erzielt wird [3; 68; 89].

Gemäß dem WAO-Konsensusdokument zur molekularen Allergiediagnostik eignet sich die Allergenchip-Testung ISAC am besten für polysensibilisierte Kinder und Erwachsene bei Verdacht auf Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel- und Inhalationsallergene mit kreuzreaktiven Eigenschaften [62]. Aktuell ist der ISAC in der Praxis vor allem für seltene Komplexfälle reserviert.

Mittels besagter Allergen-chips werden große Mengen an Daten (Stichwort „big data“) generiert, die in Zukunft dazu beitragen können, eine personalisierte Medizin im Bereich der Allergologie zu entwickeln [29].

6. Zusammenfassung

Allergische Erkrankungen haben innerhalb der letzten Jahrzehnte ein epidemieartiges Ausmaß erreicht und gehen mit hohen Einbußen an Lebensqualität für die Betroffenen einher. Eine Studie der Charité Berlin schätzte in der Europäischen Union die Möglichkeiten eines jährlichen Einsparpotenzials auf über 140 Milliarden Euro: auf der Basis sachgerechter Diagnose und Therapie von allergischen Erkrankungen. Entscheidend für die Diagnostik dieser Erkrankungen ist die Bestimmung von IgE aus dem Serum. Hierfür sind verschiedene In-vitro-Testsysteme etabliert, von denen der ImmunoCAP aktuell als Goldstandard angesehen wird.

Ziel dieser Arbeit war es, ein neuartiges Panel-IgE Messverfahren, das sog. Optigen-Testsystem, mit dem Singleplex ImmunoCAP-System sowie mit dem Hauttest bei der Diagnostik verschiedener Allergene zu vergleichen und zu bestimmen, welcher IgE-Test für die klinische Routine in Bezug auf Sensitivität und Spezifität präzisere Ergebnisse liefert bzw. ob eine Inferiorität des Optigen-Tests gegenüber dem ImmunoCAP-Test besteht.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass – bezogen auf spezifische IgE-Werte als auch IgE-Klassen – für die große Mehrheit der hier analysierten Allergene (anhand des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman) eine starke Korrelation zwischen dem Singleplex-ImmunoCAP- und dem Multiplex-Optigen-System besteht. Weiterhin zeigte sich die diskriminative Güte zum Prick-Test mit der Optigen-Testmethode bei der Mehrheit der analysierten Allergene vergleichbar mit dem Goldstandard der IgE-Diagnostik ImmunoCAP. Die Literatur weist ähnliche Ergebnisse auf, wobei bislang größere Vergleichsstudien zwischen den beiden Testsystemen nicht durchgeführt wurden.

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass das Optigen-Testsystem als klassischer Vertreter eines Multiplex-IgE-Testsystems für eine breit aufgestellte IgE Diagnostik anstelle des ImmunoCAP Testsystems gut geeignet ist und gegenüber diesem keine Inferiorität aufweist. Derzeit kann jedoch das Optigen-System aufgrund der fehlenden komponentenbasierten Allergiediagnostik nur für die Basisdiagnostik bei Standardfällen eingesetzt werden.

Literaturverzeichnis

1. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. H., & Pillai, S. (2011). *Cellular and Molecular Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences. <https://books.google.de/books?id=qtJY05rIUkQC>
2. Agata, H., Yomo, A., Hanashiro, Y., Muraki, T., Kondo, N., & Orii, T. (1993). Comparison of the MAST chemiluminescent assay system with RAST and skin tests in allergic children. *Ann Allergy*, *70*(2), 153-157.
3. Ahlgrim, C., Gutermuth, J., Onell, A., Borres, M. P., Schäffner, I., Darsow, U., Pfab, F., Brockow, K., Ring, J., Behrendt, H., Jakob, T., & Huss-Marp, J. (2015). Comparison of Molecular Multiplex and Singleplex Analysis of IgE to Grass Pollen Allergens in Untreated German Grass Pollen-Allergic Patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*, *25*(3), 190-195.
4. Akdis, C. A. (2014). The underlying mechanisms in allergy. *EAACI Global Atlas of Allergy*. Zurich: *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, 39-42.
5. Akei, H. S., Brandt, E. B., Mishra, A., Strait, R. T., Finkelman, F. D., Warriar, M. R., Hershey, G. K., Blanchard, C., & Rothenberg, M. E. (2006). Epicutaneous aeroallergen exposure induces systemic TH2 immunity that predisposes to allergic nasal responses. *J Allergy Clin Immunol*, *118*(1), 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.046>
6. Anthony, R. M., Rutitzky, L. I., Urban, J. F., Jr., Stadecker, M. J., & Gause, W. C. (2007). Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nat Rev Immunol*, *7*(12), 975-987. <https://doi.org/10.1038/nri2199>
7. AWMF. (2010). In-Vitro-Allergiediagnostik AWMF Leitlinie. AWMF. https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/061-017_S1_In-vitro-Allergiediagnostik_abgelaufen.pdf
8. Barber, D., Diaz-Perales, A., Escribese, M. M., Kleine-Tebbe, J., Matricardi, P. M., Ollert, M., Santos, A. F., & Sastre, J. (2021). Molecular allergology and its impact in specific allergy diagnosis and therapy. *Allergy*, *76*(12), 3642-3658. <https://doi.org/10.1111/all.14969>
9. Belgrave, D. C., Granell, R., Simpson, A., Guiver, J., Bishop, C., Buchan, I., Henderson, A. J., & Custovic, A. (2014). Developmental profiles of eczema, wheeze, and rhinitis: two population-based birth cohort studies. *PLoS Med*, *11*(10), e1001748. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001748>
10. Bergmann, K. C., & Ring, J. (2014). *History of Allergy*. S. Karger AG. <https://books.google.de/books?id=dffSAwAAQBAJ>
11. Biedermann, T., Heppt, W., Renz, H., & Röcken, M. (2016). *Allergologie*. Springer-Verlag.
12. Biermann J, M. H., Wehrmann W et al. . (2013). Allergische Erkrankungen der Atemwege – Ergebnisse einer umfassenden Patientenkohorte in der deutschen gesetzlichen Krankenversicherung. *Allergo J*, *2013*;22(6):366–373.
13. Bilò, M. B., Martini, M., Tontini, C., Mohamed, O. E., & Krishna, M. T. (2019). Idiopathic anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*, *49*(7), 942-952. <https://doi.org/10.1111/cea.13402>
14. Blank, S., Haemmerle, S., Jaeger, T., Russkamp, D., Ring, J., Schmidt-Weber, C. B., & Ollert, M. (2019). Prevalence of Hymenoptera venom allergy and sensitization in the population-representative German KORA cohort. *Allergo Journal International*, *28*(6), 183-191.
15. Bousquet, J., Chanez, P., Chanal, I., & Michel, F. B. (1990). Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: a new automated specific IgE assay. *J Allergy Clin Immunol*, *85*(6), 1039-1043.
16. Braren, I., Greunke, K., Pilette, C., Mempel, M., Grunwald, T., Bredehorst, R., Ring, J., Spillner, E., & Ollert, M. (2011). Quantitation of serum IgE by using chimeras of human IgE receptor and avian immunoglobulin domains. *Anal Biochem*, *412*(2), 134-140. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.12.013>

17. Braun-Fahrlander, C. (2003). Environmental exposure to endotoxin and other microbial products and the decreased risk of childhood atopy: evaluating developments since April 2002. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 3(5), 325-329. <https://doi.org/10.1097/01.all.0000092600.10871.e0>
18. Buzzulini, F., Da Re, M., Scala, E., Martelli, P., Conte, M., Brusca, I., & Villalta, D. (2019). Evaluation of a new multiplex assay for allergy diagnosis. *Clin Chim Acta*, 493, 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.025>
19. Cezmi, A. (2013). Swiss Institute of Allergy and Asthma Research (SIAF). <https://www.siaf.uzh.c>
20. Chinthrajah, R. S., Hernandez, J. D., Boyd, S. D., Galli, S. J., & Nadeau, K. C. (2016). Molecular and cellular mechanisms of food allergy and food tolerance. *J Allergy Clin Immunol*, 137(4), 984-997. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.02.004>
21. Cifuentes, L., Vosseler, S., Blank, S., Seismann, H., Pennino, D., Darsow, U., Bredehorst, R., Ring, J., Mempel, M., Spillner, E., & Ollert, M. W. (2014). Identification of Hymenoptera venom-allergic patients with negative specific IgE to venom extract by using recombinant allergens. *J Allergy Clin Immunol*, 133(3), 909-910. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.09.047>
22. Ciprandi, G. (2017). Serum IgE as biomarker for predicting allergen immunotherapy effectiveness. *J Allergy Clin Immunol*, 139(6), 2029. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.12.987>
23. Coca, A. F., & Cooke, R. A. (1923). On the Classification of the Phenomena of Hypersensitiveness. *The Journal of Immunology*, 8(3), 163-182. <http://www.jimmunol.org/content/jimmunol/8/3/163.full.pdf>
24. Cohen, J. (1992). A power primer. *Psychol Bull*, 112(1), 155-159. <https://doi.org/10.1037//0033-2909.112.1.155>
25. Cruz, A. A., Lima, F., Sarinho, E., Ayre, G., Martin, C., Fox, H., & Cooper, P. J. (2007). Safety of anti-immunoglobulin E therapy with omalizumab in allergic patients at risk of geohelminth infection. *Clin Exp Allergy*, 37(2), 197-207. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02650.x>
26. Czolk, R., Klueber, J., Sørensen, M., Wilmes, P., Codreanu-Morel, F., Skov, P. S., Hilger, C., Bindeslev-Jensen, C., Ollert, M., & Kuehn, A. (2021). IgE-Mediated Peanut Allergy: Current and Novel Predictive Biomarkers for Clinical Phenotypes Using Multi-Omics Approaches [Mini Review]. *Front Immunol*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.594350>
27. Darsow, U., & Biedermann, T. (2016). Molekulare Allergiediagnostik: Was für die Praxis wichtig zu wissen ist. *Dtsch Arztebl International*, 113(24), [20]. <https://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=179886>
28. Davidson, W. F., Leung, D. Y. M., Beck, L. A., Berin, C. M., Boguniewicz, M., Busse, W. W., Chatila, T. A., Geha, R. S., Gern, J. E., Guttman-Yassky, E., Irvine, A. D., Kim, B. S., Kong, H. H., Lack, G., Nadeau, K. C., Schwaninger, J., Simpson, A., Simpson, E. L., Spergel, J. M., Plaut, M. (2019). Report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases workshop on "Atopic dermatitis and the atopic march: Mechanisms and interventions". *J Allergy Clin Immunol*, 143(3), 894-913. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.01.003>
29. Delhalle, S., Bode, S. F. N., Balling, R., Ollert, M., & He, F. Q. (2018). A roadmap towards personalized immunology. *NPJ Syst Biol Appl*, 4, 9. <https://doi.org/10.1038/s41540-017-0045-9>
30. Di Fraia, M., Arasi, S., Castelli, S., Dramburg, S., Potapova, E., Villalta, D., Tripodi, S., Sfika, I., Zicari, A. M., Vilella, V., Perna, S., Travaglini, A., Verardo, P. L., & Matricardi, P. M. (2019). A new molecular multiplex IgE assay for the diagnosis of pollen allergy in Mediterranean countries: A validation study. *Clin Exp Allergy*, 49(3), 341-349. <https://doi.org/10.1111/cea.13264>
31. EAACI. WAO/EAACI Allergie und Definitionen http://www.eaaci.org/attachments/304_German.pdf
32. Eberlein, B., Krischan, L., Darsow, U., Ollert, M., & Ring, J. (2012). Double positivity to bee and wasp venom: improved diagnostic procedure by recombinant allergen-based IgE testing and basophil activation test including data about cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol*, 130(1), 155-161. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.02.008>

33. Elgert, K. D. (2009). *Immunology: Understanding The Immune System*. Wiley.
<https://books.google.de/books?id=gpNPZFGDPzgC>
34. Eller, E., Kjaer, H. F., Host, A., Andersen, K. E., & Bindslev-Jensen, C. (2010). Development of atopic dermatitis in the DARC birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol*, 21(2 Pt 1), 307-314.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2009.00914.x>
35. Fagraeus, A. (1947). Plasma cellular reaction and its relation to the formation of antibodies in vitro. *Nature*, 159(4041), 499.
36. Garbe, C., & Rassner, G. (2013). *Dermatologie: Leitlinien und Qualitätssicherung für Diagnostik und Therapie Berichte von der 39. Tagung der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. Springer Berlin Heidelberg. <https://books.google.de/books?id=nY6fBgAAQBAJ>
37. Godwin, L., & Crane, J. S. (2019). Biochemistry, Immunoglobulin E (IgE). In *StatPearls*. StatPearls Publishing StatPearls Publishing LLC.
38. Gustafsson, D., Sjöberg, O., & Foucard, T. (2000). Development of allergies and asthma in infants and young children with atopic dermatitis--a prospective follow-up to 7 years of age. *Allergy*, 55(3), 240-245.
39. Han, H., Roan, F., & Ziegler, S. F. (2017). The atopic march: current insights into skin barrier dysfunction and epithelial cell-derived cytokines. *Immunol Rev*, 278(1), 116-130.
<https://doi.org/10.1111/imr.12546>
40. Han, M., Shin, S., Park, H., Park, K. U., Park, M. H., & Song, E. Y. (2013). Comparison of three multiple allergen simultaneous tests: RIDA allergy screen, MAST optigen, and polycheck allergy. *Biomed Res Int*, 2013, 340513. <https://doi.org/10.1155/2013/340513>
41. Heinzerling, L., Mari, A., Bergmann, K. C., Bresciani, M., Burbach, G., Darsow, U., Durham, S., Fokkens, W., Gjomarkaj, M., Haahtela, T., Bom, A. T., Wohrl, S., Maibach, H., & Lockey, R. (2013). The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy*, 3(1), 3.
<https://doi.org/10.1186/2045-7022-3-3>
42. Hermansson, L. L., Pensamo, E., Korhonen, K., Rantanen, S., Isoaho, R., & Savolainen, J. (2014). PRS41. Health Economic Benefit Of Including Component Resolved Diagnostics (Crd) (Immucap Isac) In In Vitro Diagnostic (Ivd) Algorithm In Prospective Trial With Suspected Food Allergic School Children In Finland. *Value in Health*, 17, A176.
<https://doi.org/10.1016/j.jval.2014.03.1027>
43. Hill, D. A., & Spergel, J. M. (2018). The atopic march: Critical evidence and clinical relevance. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 120(2), 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2017.10.037>
44. Hitachi Chemical Diagnostics, I. OPTIGEN: A New Technology for the In Vitro Determination of Allergen-Specific IgE Levels in Patient Serum. *Hitachi Chemical Diagnostics' Monograph*. http://www.hcdiagnostics.com/idc/groups/hcd/documents/supportingdocumentpdf/poc_007150.pdf
45. Hosmer, D. W., Lemeshow, S., & Sturdivant, R. X. (2013). *Applied Logistic Regression*. Wiley.
<https://books.google.de/books?id=64JYAwAAQBAJ>
46. Ioana Agache, C. A. A., Tomas Chivato, Peter Hellings, Karin Hoffman-Sommergruber, Marke Jutel, Antti Lauerma, Nikos Papadopoulos, Peter Schmid-Grendelmeier, Carten Schmidt-Weber. (2018). EAACI White Paper on research, innovation and quality care.
47. Jakob, T., Forstenlechner, P., Matricardi, P., & Kleine-Tebbe, J. (2015). Molekulare Allergiediagnostik im Multiplex-Verfahren. In J. Kleine-Tebbe & T. Jakob (Eds.), *Molekulare Allergiediagnostik* (pp. 149-174). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45221-9_9
48. Jonstam, K., Swanson, B. N., Mannent, L. P., Cardell, L. O., Tian, N., Wang, Y., Zhang, D., Fan, C., Holtappels, G., Hamilton, J. D., Grabher, A., Graham, N. M. H., Pirozzi, G., & Bachert, C. (2019). Dupilumab reduces local type 2 pro-inflammatory biomarkers in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Allergy*, 74(4), 743-752. <https://doi.org/10.1111/all.13685>

49. Justiz Vaillant, A. A., & Zito, P. M. (2019). Immediate Hypersensitivity Reactions. In *StatPearls*. StatPearls PublishingStatPearls Publishing LLC.
50. Kapoor, R., Menon, C., Hoffstad, O., Bilker, W., Leclerc, P., & Margolis, D. J. (2008). The prevalence of atopic triad in children with physician-confirmed atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*, *58*(1), 68-73. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.06.041>
51. Kiess, W., Werfel, T., & Spergel, J. M. (2011). *Atopic Dermatitis in Childhood and Adolescence*. S. Karger AG. <https://books.google.de/books?id=eYw7AQAAQBAJ>
52. Kim, D.-Y., Park, S. Y., Hong, S. B., Lee, O. H., Choi, G. C., & Cho, J. H. (2018). Comparison of Multiple Allergen Simultaneous Test and ImmunoCAP for the Diagnosis of Allergic Rhinitis. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg*, *61*(1), 29-34. <https://doi.org/10.3342/kjorlhns.2017.00381>
53. Kim, J. K., Yoon, Y. M., Jang, W. J., Choi, Y. J., Hong, S. C., & Cho, J. H. (2011). Comparison study between MAST CLA and OPTIGEN. *Am J Rhinol Allergy*, *25*(4), e156-159. <https://doi.org/10.2500/ajra.2011.25.3646>
54. Klimek, L., Vogelberg, C., & Werfel, T. (2018). *Weißbuch Allergie in Deutschland*. Springer Medizin Verlag. <https://books.google.de/books?id=I57CvQEACAAJ>
55. Kostner, L., Anzengruber, F., Guillod, C., Recher, M., Schmid-Grendelmeier, P., & Navarini, A. A. (2017). Allergic Contact Dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am*, *37*(1), 141-152. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2016.08.014>
56. Kulig, M., Bergmann, R., Klettke, U., Wahn, V., Tacke, U., & Wahn, U. (1999). Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life. *J Allergy Clin Immunol*, *103*(6), 1173-1179.
57. Lambrecht, B. N., & Hammad, H. (2017). The immunology of the allergy epidemic and the hygiene hypothesis. *Nat Immunol*, *18*(10), 1076-1083. <https://doi.org/10.1038/ni.3829>
58. Lee, S., Lim, H. S., Park, J., & Kim, H. S. (2009). A new automated multiple allergen simultaneous test-chemiluminescent assay (MAST-CLA) using an AP720S analyzer. *Clin Chim Acta*, *402*(1-2), 182-188. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.01.014>
59. Majeed, H., & Majeed, H. (2017). Acknowledging the environmental allergy epidemic in children in the UK. *Lancet Planet Health*, *1*(9), e349-e350. [https://doi.org/10.1016/s2542-5196\(17\)30161-4](https://doi.org/10.1016/s2542-5196(17)30161-4)
60. Marzano, A. V., Genovese, G., Casazza, G., Fierro, M. T., Dapavo, P., Crimi, N., Ferrucci, S., Pepe, P., Liberati, S., Pigatto, P. D., Offidani, A., Martina, E., Girolomoni, G., Rovaris, M., Foti, C., Stingeni, L., Cristaudo, A., Canonica, G. W., Nettis, E., & Asero, R. (2019). Predictors of response to omalizumab and relapse in chronic spontaneous urticaria: a study of 470 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, *33*(5), 918-924. <https://doi.org/10.1111/jdv.15350>
61. Matricardi, P. M., Kleine-Tebbe, J., Hoffmann, H. J., Valenta, R., Hilger, C., Hofmaier, S., Aalberse, R. C., Agache, I., Asero, R., Ballmer-Weber, B., Barber, D., Beyer, K., Biedermann, T., Bilò, M. B., Blank, S., Bohle, B., Bosshard, P. P., Breiteneder, H., Brough, H. A., Ollert, M. (2016). EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol*, *27* Suppl 23, 1-250. <https://doi.org/10.1111/pai.12563>
62. Members, S. C. A. a. R. P. (2020). A WAO - ARIA - GA(2)LEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis (PAMD): Update 2020. *World Allergy Organ J*, *13*(2), 100091. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2019.100091>
63. Mukai, K., Tsai, M., Starkl, P., Marichal, T., & Galli, S. J. (2016). IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol*, *38*(5), 581-603. <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0565-1>
64. Muraro, A. Advocacy Manifesto Tackling the Allergy Crisis in Europe - Concerted Policy Action Needed. *The European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI)*. https://www.eaaci.org/documents/EAACI_Advocacy_Manifesto.pdf

65. Oettgen, H. C. (2016). Fifty years later: Emerging functions of IgE antibodies in host defense, immune regulation, and allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, *137*(6), 1631-1645. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.04.009>
66. Ollert, M., & Blank, S. (2015). Anaphylaxis to insect venom allergens: role of molecular diagnostics. *Curr Allergy Asthma Rep*, *15*(5), 26. <https://doi.org/10.1007/s11882-015-0527-z>
67. Pamphilon, D. H., & Scott, M. L. (2007). Robin Coombs: his life and contribution to haematology and transfusion medicine. *Br J Haematol*, *137*(5), 401-408. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06531.x>
68. Patelis, A., Borres, M. P., Kober, A., & Berthold, M. (2016). Multiplex component-based allergen microarray in recent clinical studies. *Clin Exp Allergy*, *46*(8), 1022-1032. <https://doi.org/10.1111/cea.12761>
69. Renz, H., Biedermann, T., Bufer, A., Eberlein, B., Jappe, U., Ollert, M., Petersen, A., Kleine-Tebbe, J., Raulf-Heimsoth, M., & Saloga, J. (2009). In-vitro Allergiediagnostik. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie (DGAKI). *Allergo J*, *18*.
70. Ring, J. (2011). *Neurodermitis - Atopisches Ekzem*. Thieme. <https://books.google.de/books?id=Kyo-kOWITCEC>
71. Roberts, G., Ollert, M., Aalberse, R., Austin, M., Custovic, A., DunnGalvin, A., Eigenmann, P. A., Fassio, F., Grattan, C., Hellings, P., Hourihane, J., Knol, E., Muraro, A., Papadopoulos, N., Santos, A. F., Schnadt, S., & Tzeli, K. (2016). A new framework for the interpretation of IgE sensitization tests. *Allergy*, *71*(11), 1540-1551. <https://doi.org/10.1111/all.12939>
72. Sampson, H. A., & Friedman, S. L. (2015). *Allergy and Clinical Immunology*. Wiley. https://books.google.de/books?id=Ek1_BwAAQBAJ
73. Sbihi, H., Boutin, R. C., Cutler, C., Suen, M., Finlay, B. B., & Turvey, S. E. (2019). Thinking bigger: How early-life environmental exposures shape the gut microbiome and influence the development of asthma and allergic disease. *Allergy*. <https://doi.org/10.1111/all.13812>
74. Schneider, L., Hanifin, J., Boguniewicz, M., Eichenfield, L. F., Spergel, J. M., Dakovic, R., & Paller, A. S. (2016). Study of the Atopic March: Development of Atopic Comorbidities. *Pediatr Dermatol*, *33*(4), 388-398. <https://doi.org/10.1111/pde.12867>
75. Schrijvers, R., Gilissen, L., Chiriac, A. M., & Demoly, P. (2015). Pathogenesis and diagnosis of delayed-type drug hypersensitivity reactions, from bedside to bench and back. *Clin Transl Allergy*, *5*, 31. <https://doi.org/10.1186/s13601-015-0073-8>
76. Schroeder, H. W., Jr., & Cavacini, L. (2010). Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol*, *125*(2 Suppl 2), S41-52. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.046>
77. Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2014). Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol*, *133*(2), 291-307; quiz 308. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.11.020>
78. Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2018). Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J Allergy Clin Immunol*, *141*(1), 41-58. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.11.003>
79. Spergel, J. M. (2010). Epidemiology of atopic dermatitis and atopic march in children. *Immunol Allergy Clin North Am*, *30*(3), 269-280. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2010.06.003>
80. Spergel, J. M., Mizoguchi, E., Brewer, J. P., Martin, T. R., Bhan, A. K., & Geha, R. S. (1998). Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. *J Clin Invest*, *101*(8), 1614-1622. <https://doi.org/10.1172/jci1647>
81. Strachan, D. P. (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *Bmj*, *299*(6710), 1259-1260. <https://doi.org/10.1136/bmj.299.6710.1259>
82. Strid, J., Hourihane, J., Kimber, I., Callard, R., & Strobel, S. (2004). Disruption of the stratum corneum allows potent epicutaneous immunization with protein antigens resulting in a

- dominant systemic Th2 response. *Eur J Immunol*, 34(8), 2100-2109.
<https://doi.org/10.1002/eji.200425196>
83. Sturm, G. J., Varga, E. M., Roberts, G., Mosbech, H., Bilò, M. B., Akdis, C. A., Antolín-Amérigo, D., Cichocka-Jarosz, E., Gawlik, R., Jakob, T., Kosnik, M., Lange, J., Mingomataj, E., Mitsias, D. I., Ollert, M., Oude Elberink, J. N. G., Pfaar, O., Pitsios, C., Pravettoni, V., . . . Muraro, A. (2018). EAACI guidelines on allergen immunotherapy: Hymenoptera venom allergy. *Allergy*, 73(4), 744-764. <https://doi.org/10.1111/all.13262>
84. Suarez-Farinas, M., Dhingra, N., Gittler, J., Shemer, A., Cardinale, I., de Guzman Strong, C., Krueger, J. G., & Guttman-Yassky, E. (2013). Intrinsic atopic dermatitis shows similar TH2 and higher TH17 immune activation compared with extrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 132(2), 361-370. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.04.046>
85. Sutton, B. J., Davies, A. M., Bax, H. J., & Karagiannis, S. N. (2019). IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. *Antibodies (Basel)*, 8(1).
<https://doi.org/10.3390/antib8010019>
86. Trautmann, A., & Kleine-Tebbe, J. (2017). *Allergologie in Klinik und Praxis: Allergene - Diagnostik - Therapie*. Thieme. <https://books.google.de/books?id=col6DwAAQBAJ>
87. Tsakok, T., Marrs, T., Mohsin, M., Baron, S., du Toit, G., Till, S., & Flohr, C. (2016). Does atopic dermatitis cause food allergy? A systematic review. *J Allergy Clin Immunol*, 137(4), 1071-1078. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.10.049>
88. van der Hulst, A. E., Klip, H., & Brand, P. L. (2007). Risk of developing asthma in young children with atopic eczema: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol*, 120(3), 565-569. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.05.042>
89. van Hage, M., Hamsten, C., & Valenta, R. (2017). ImmunoCAP assays: Pros and cons in allergology. *J Allergy Clin Immunol*, 140(4), 974-977. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.008>
90. van Kampen, V., de Blay, F., Folletti, I., Kobierski, P., Moscato, G., Olivieri, M., Quirce, S., Sastre, J., Walusiak-Skorupa, J., & Raulf-Heimsoth, M. (2013). EAACI position paper: skin prick testing in the diagnosis of occupational type I allergies. *Allergy*, 68(5), 580-584. <https://doi.org/10.1111/all.12120>
91. Williams, P. B., Barnes, J. H., Szeinbach, S. L., & Sullivan, T. J. (2000). Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: establishing a standard. *J Allergy Clin Immunol*, 105(6 Pt 1), 1221-1230. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.105219>
92. Zink, A., Gensbaur, A., Zirbs, M., Seifert, F., Suarez, I. L., Mourantchian, V., Weidinger, S., Mempel, M., Ring, J., & Ollert, M. (2016). Targeting IgE in Severe Atopic Dermatitis with a Combination of Immunoabsorption and Omalizumab. *Acta Derm Venereol*, 96(1), 72-76. <https://doi.org/10.2340/00015555-2165>
93. Zuberbier, T., Lotvall, J., Simoens, S., Subramanian, S. V., & Church, M. K. (2014). Economic burden of inadequate management of allergic diseases in the European Union: a GA(2) LEN review. *Allergy*, 69(10), 1275-1279. <https://doi.org/10.1111/all.12470>

Dank

Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Werk einer einzelnen Person. Die folgenden Worte sind daher an jene Menschen gerichtet, die es mir ermöglicht haben, meine Dissertation zu schreiben.

Im ganz besonderen Maße danke ich Herrn Prof. Dr. Markus Ollert für die Ermöglichung dieser Arbeit, die hervorragende Betreuung und seine ständige Hilfsbereitschaft. Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. Alexander Hapfelmeier vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie für die großartige Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten. Für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich überdies bei meiner Frau bedanken.

Nicht zuletzt danke ich allen Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Dermatologie am Biederstein. Sie alle waren mir stets kompetente wie hilfreiche Ansprechpartner und haben mein Forschungsprojekt durch ihre konstruktive Kritik bereichert.

Anhang

Inhaltsverzeichnis

1 Hausstaubmilbe Der p1	
1.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	5
1.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	5
1.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	6
1.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)...	7
1.2.1 ROC der gemessenen Werte	7
1.2.2 ROC der ermittelten Klassen	8
2 Hausstaubmilbe Der f1	
2.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	9
2.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	9
2.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	10
2.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)...	11
2.2.1 ROC der gemessenen Werte	11
2.2.2 ROC der ermittelten Klassen	12
3 Aspergillus	
3.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	13
3.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	13
3.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	14
3.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)...	15
3.2.1 ROC der gemessenen Werte	15
3.2.2 ROC der ermittelten Klassen	16
4 Cladosporium	
4.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	17
4.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	17
4.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	18
4.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)...	19
4.2.1 ROC der gemessenen Werte	19
4.2.2 ROC der ermittelten Klassen	20

5 Pferd	
5.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	21
5.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	21
5.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	22
5.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	23
5.2.1 ROC der gemessenen Werte	23
5.2.2 ROC der ermittelten Klassen	24
6 Hund	
6.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	25
6.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	25
6.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	26
6.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	27
6.2.1 ROC der gemessenen Werte	27
6.2.2 ROC der ermittelten Klassen	28
7 Katze	
7.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	29
7.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	29
7.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	30
7.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	31
7.2.1 ROC der gemessenen Werte	31
7.2.2 ROC der ermittelten Klassen	32
8 Lieschgras	
8.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	33
8.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	33
8.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	34
8.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	35
8.2.1 ROC der gemessenen Werte	35
8.2.2 ROC der ermittelten Klassen	36
9 Beifuß	
9.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	37
9.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	37
9.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	38
9.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	39
9.2.1 ROC der gemessenen Werte	39
9.2.2 ROC der ermittelten Klassen	40
10 Birke	
10.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	41
10.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	41
10.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	42
10.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	43
10.2.1 ROC der gemessenen Werte	43
10.2.2 ROC der ermittelten Klassen	44
11 Haselnuss	
11.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	45
11.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	45
11.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	46
11.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	47
11.2.1 ROC der gemessenen Werte	47
11.2.2 ROC der ermittelten Klassen	48

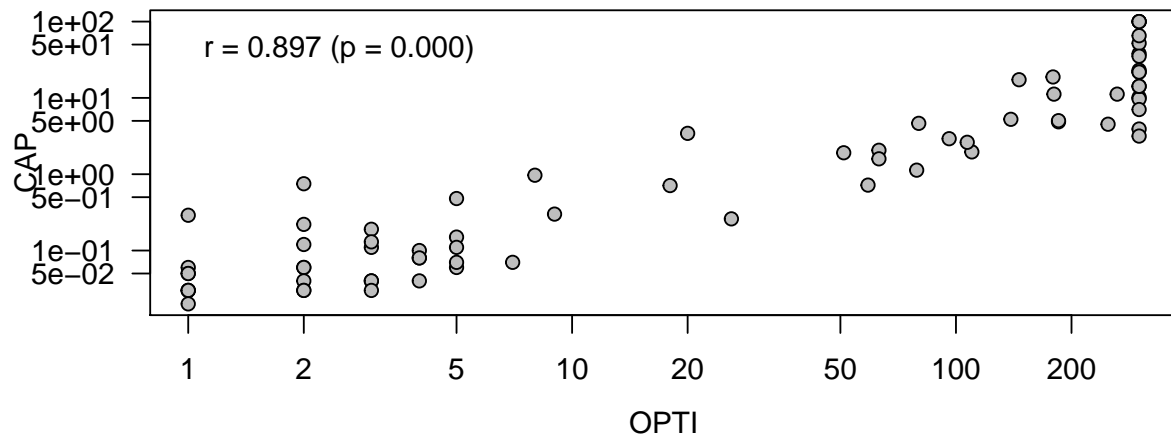
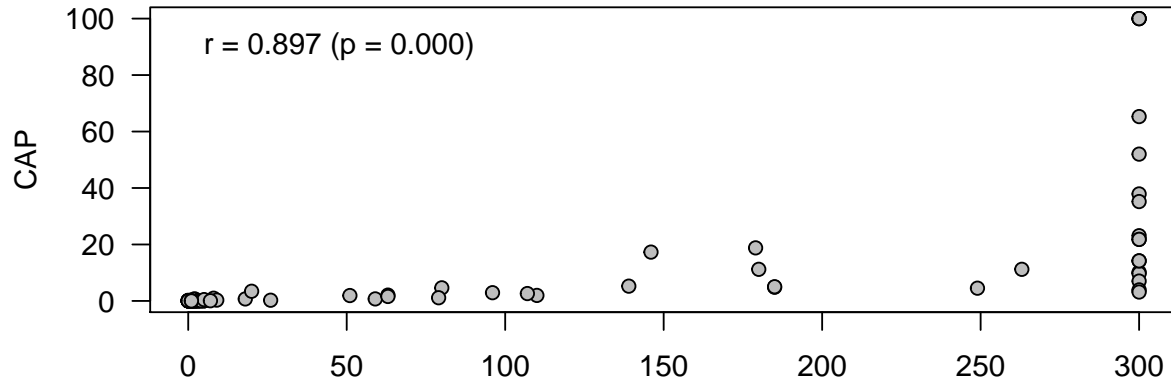
12 Hühnereiweiß	
12.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	49
12.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	49
12.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	50
13 Milch	
13.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	51
13.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	51
13.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	52
14 Kalbejau	
14.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	53
14.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	53
14.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	54
15 Weizen	
15.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	55
15.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	55
15.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	56
15.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	57
15.2.1 ROC der gemessenen Werte	57
15.2.2 ROC der ermittelten Klassen	58
16 Sojabohne	
16.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	59
16.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	59
16.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	60
16.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	61
16.2.1 ROC der gemessenen Werte	61
16.2.2 ROC der ermittelten Klassen	62
17 Erdnuss	
17.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	63
17.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	63
17.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	64
17.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	65
17.2.1 ROC der gemessenen Werte	65
17.2.2 ROC der ermittelten Klassen	66
18 Apfel	
18.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	67
18.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	67
18.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	68
18.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-) ...	69
18.2.1 ROC der gemessenen Werte	69
18.2.2 ROC der ermittelten Klassen	70

19 Karotte	
19.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	71
19.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	71
19.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	72
19.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)	73
19.2.1 ROC der gemessenen Werte	73
19.2.2 ROC der ermittelten Klassen	74
20 Latex	
20.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP	75
20.1.1 Korrelation der gemessenen Werte	75
20.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen	76
20.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)	77
20.2.1 ROC der gemessenen Werte	77
20.2.2 ROC der ermittelten Klassen	78
21 ROC der gemessenen Werte, Zusammenfassung	79
22 ROC der ermittelten Klassen, Zusammenfassung	80

1 Hausstaubmilbe Der p1

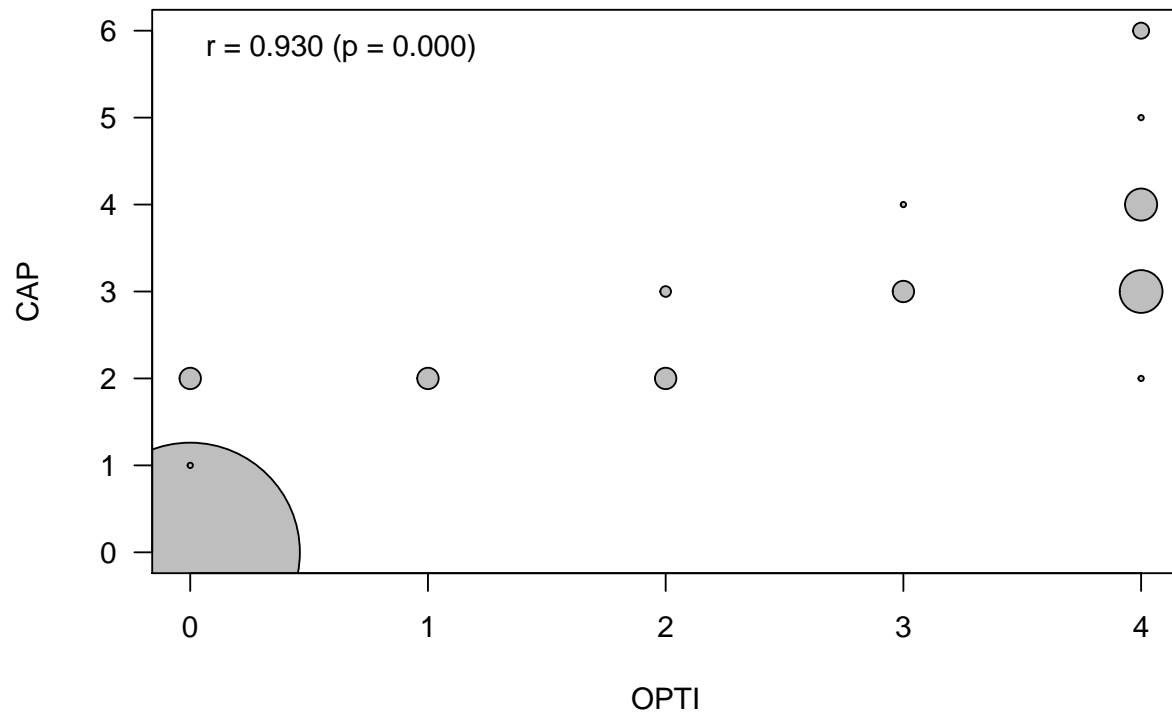
1.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

1.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



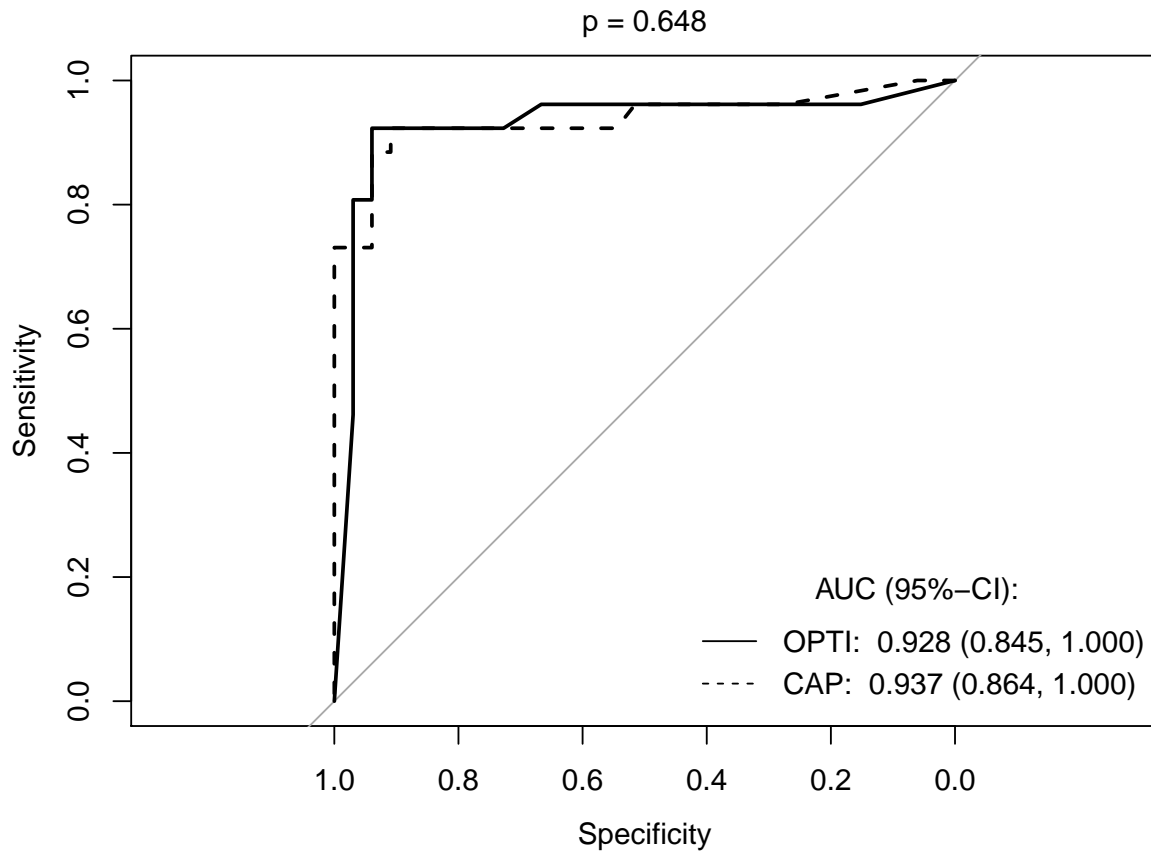
1.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	41	1	4	0	0	0	0
1	0	0	4	0	0	0	0
2	0	0	4	2	0	0	0
3	0	0	0	4	1	0	0
4	0	0	1	8	6	1	3

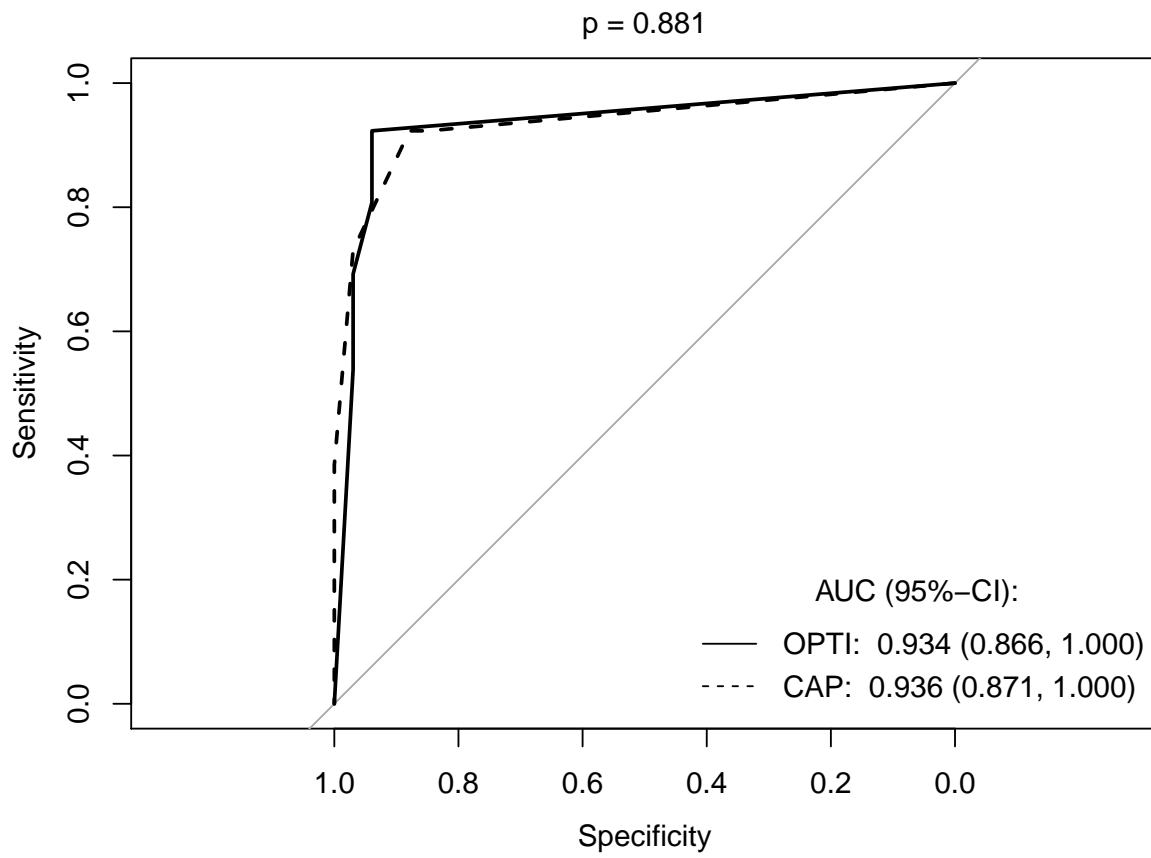


1.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

1.2.1 ROC der gemessenen Werte



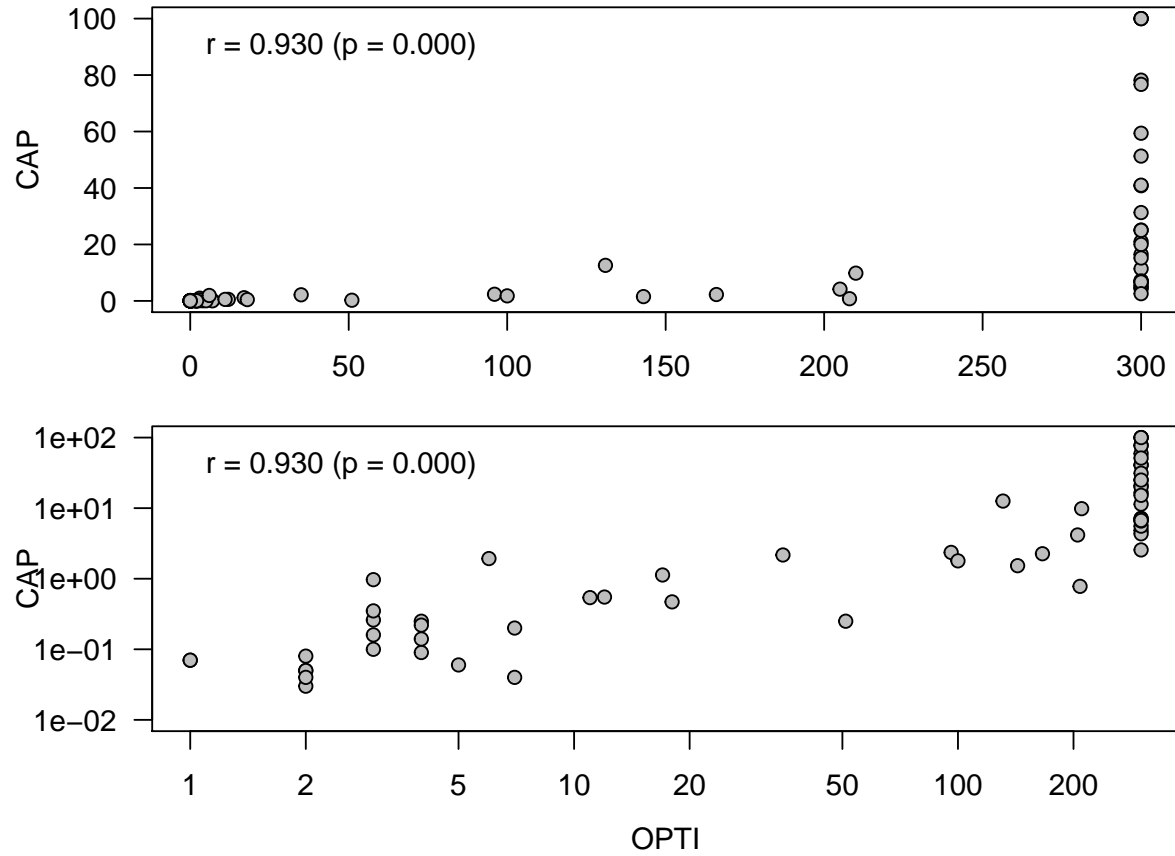
1.2.2 ROC der ermittelten Klassen



2 Hausstaubmilbe Der fl

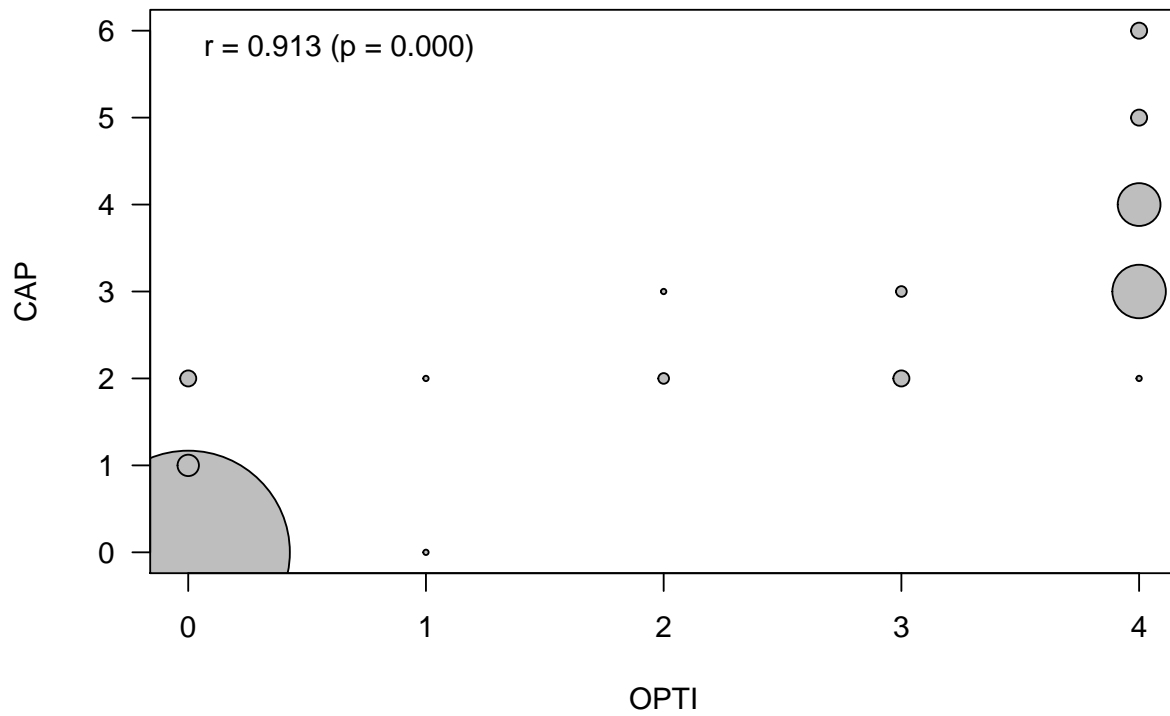
2.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

2.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



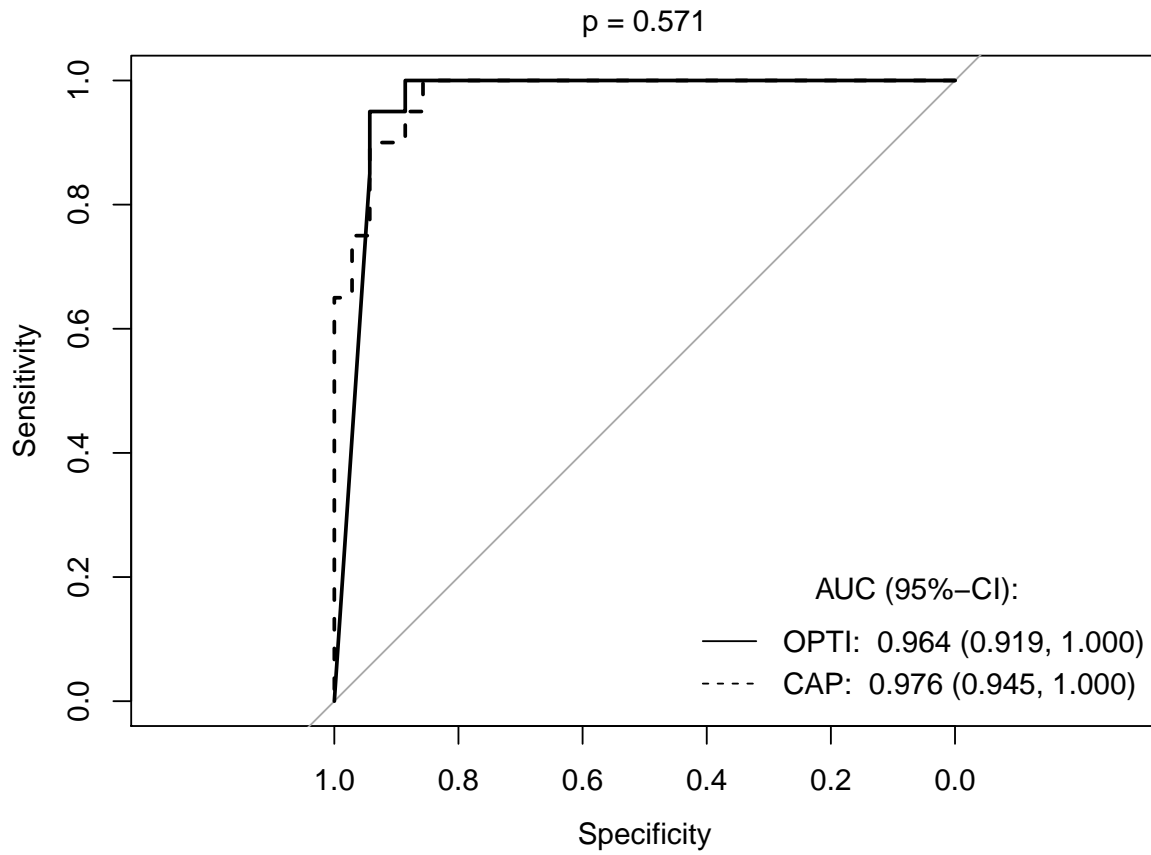
2.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	38	4	3	0	0	0	0
1	1	0	1	0	0	0	0
2	0	0	2	1	0	0	0
3	0	0	3	2	0	0	0
4	0	0	1	10	8	3	3

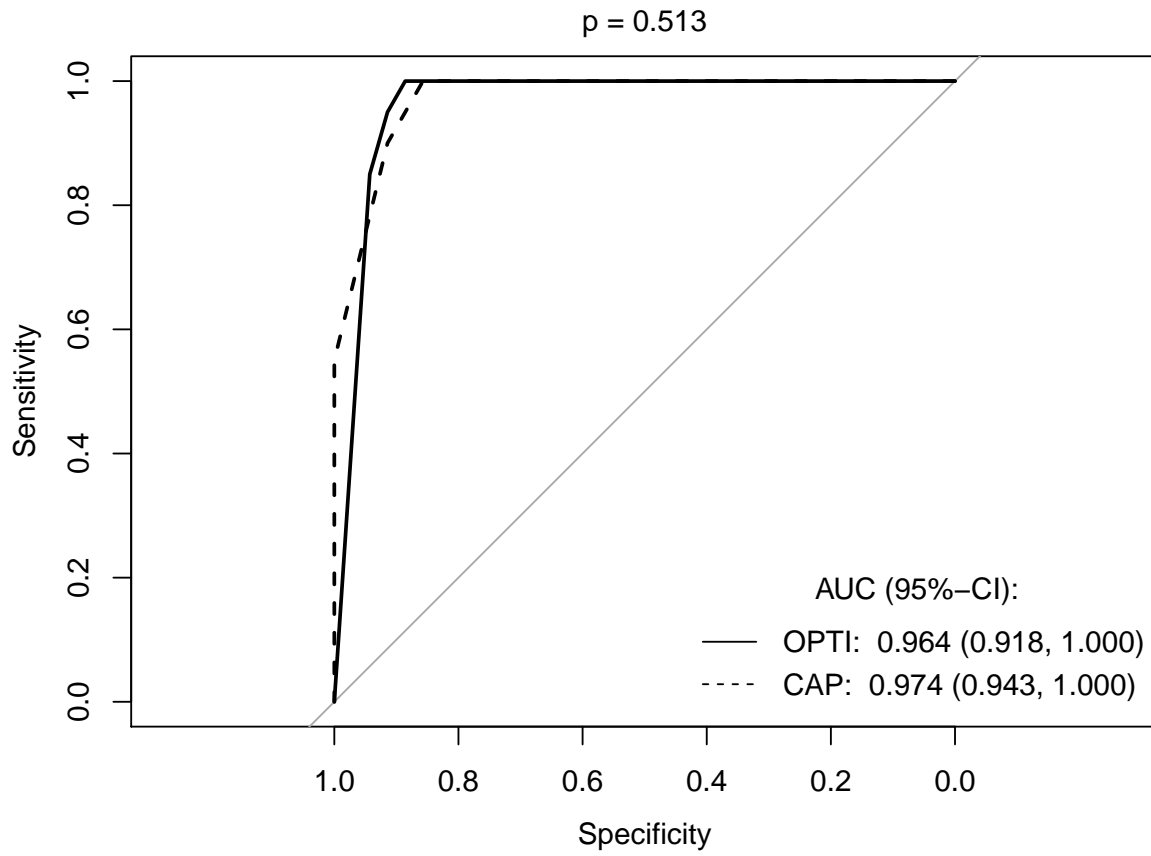


2.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

2.2.1 ROC der gemessenen Werte



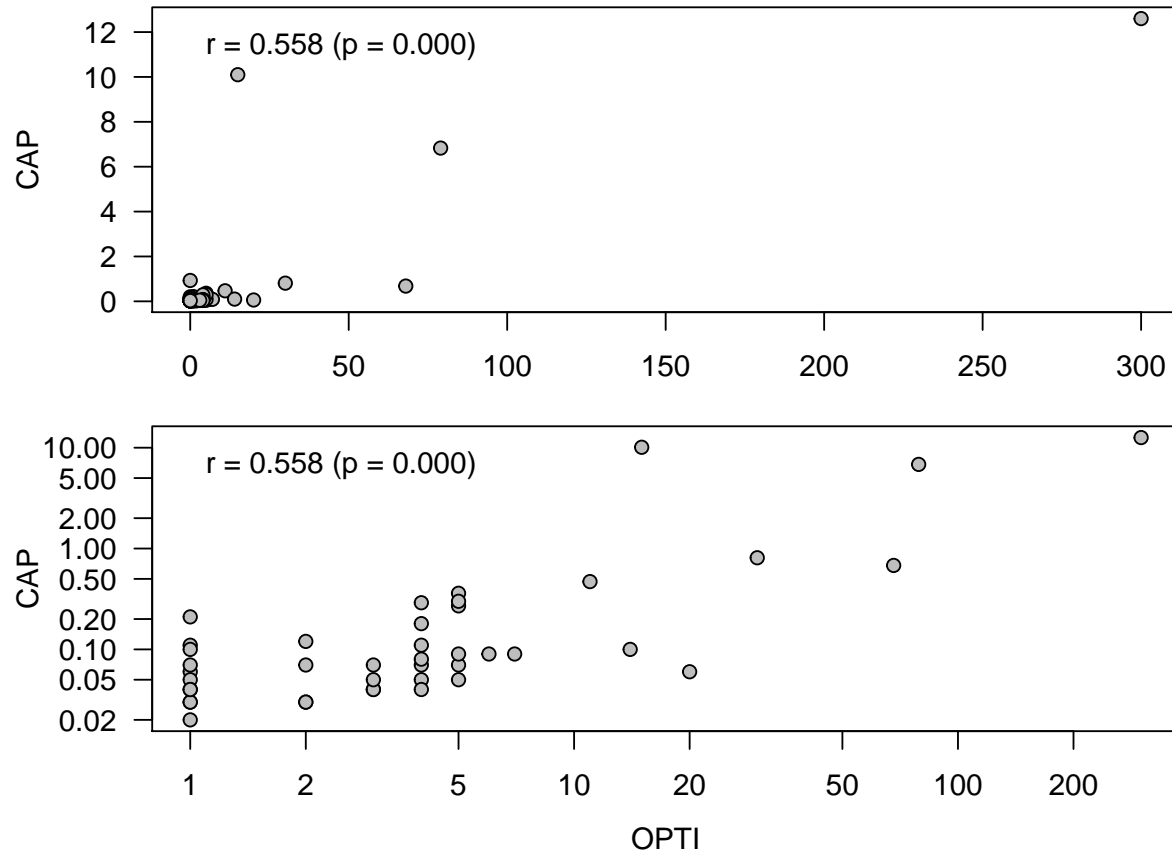
2.2.2 ROC der ermittelten Klassen



3 Aspergillus

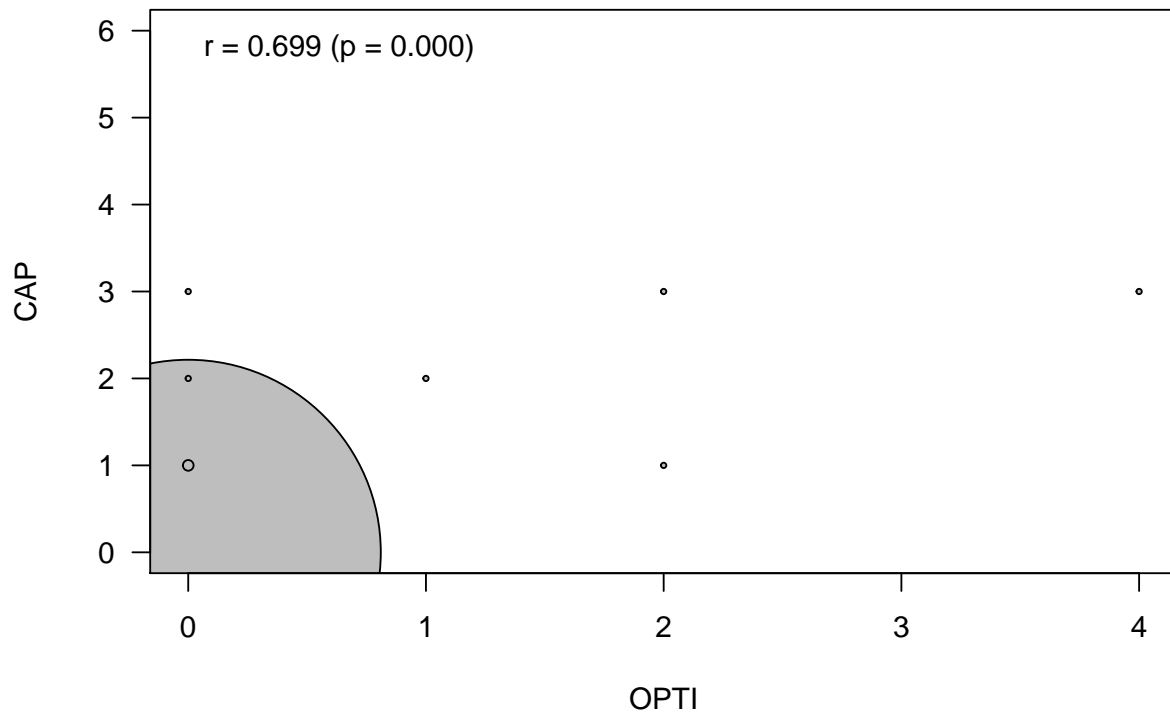
3.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

3.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



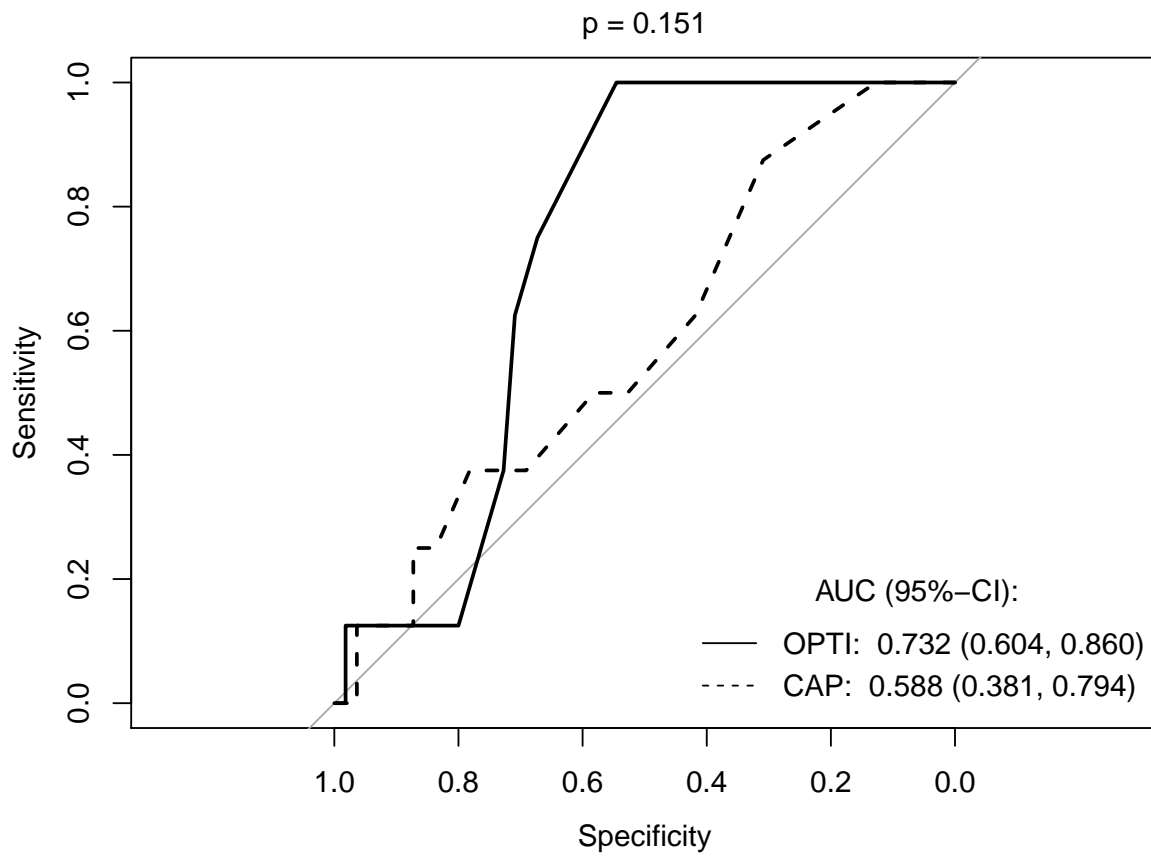
3.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	72	2	1	1	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0	0
2	0	1	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	1	0	0	0

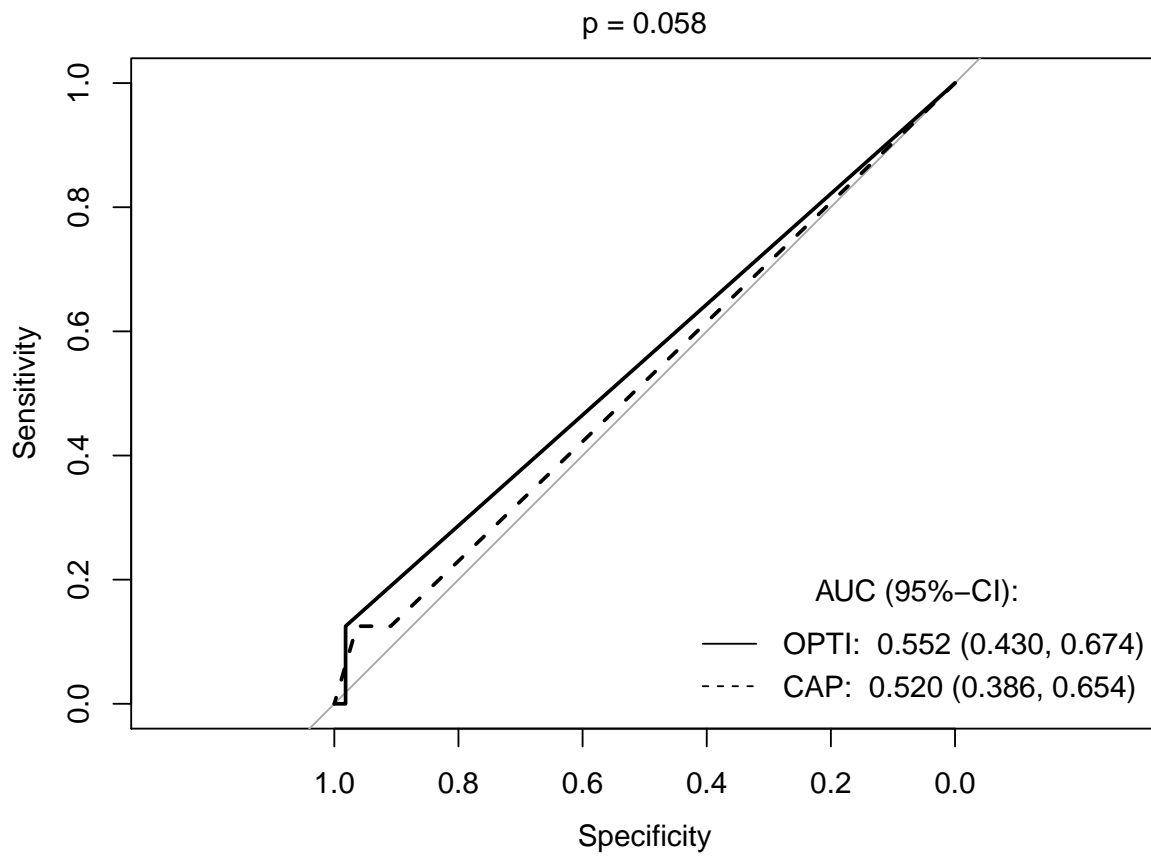


3.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

3.2.1 ROC der gemessenen Werte



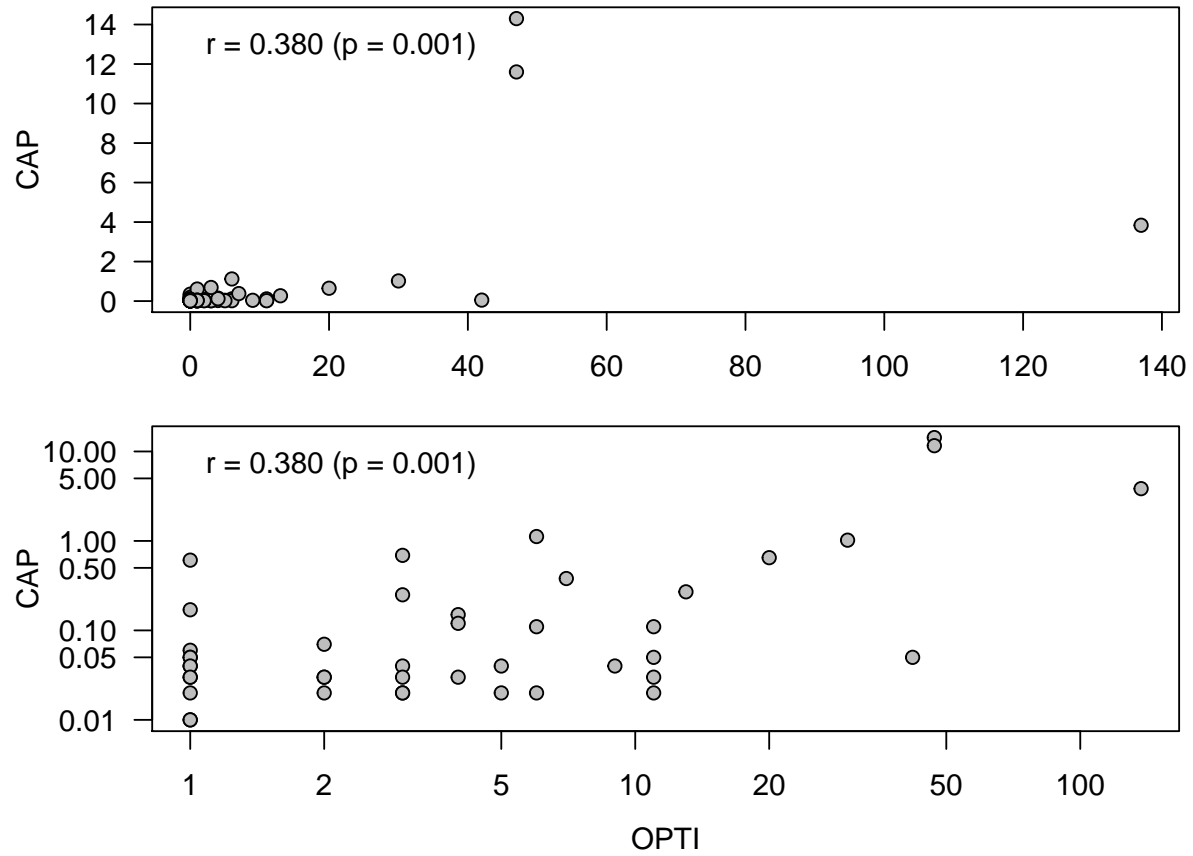
3.2.2 ROC der ermittelten Klassen



4 Cladosporium

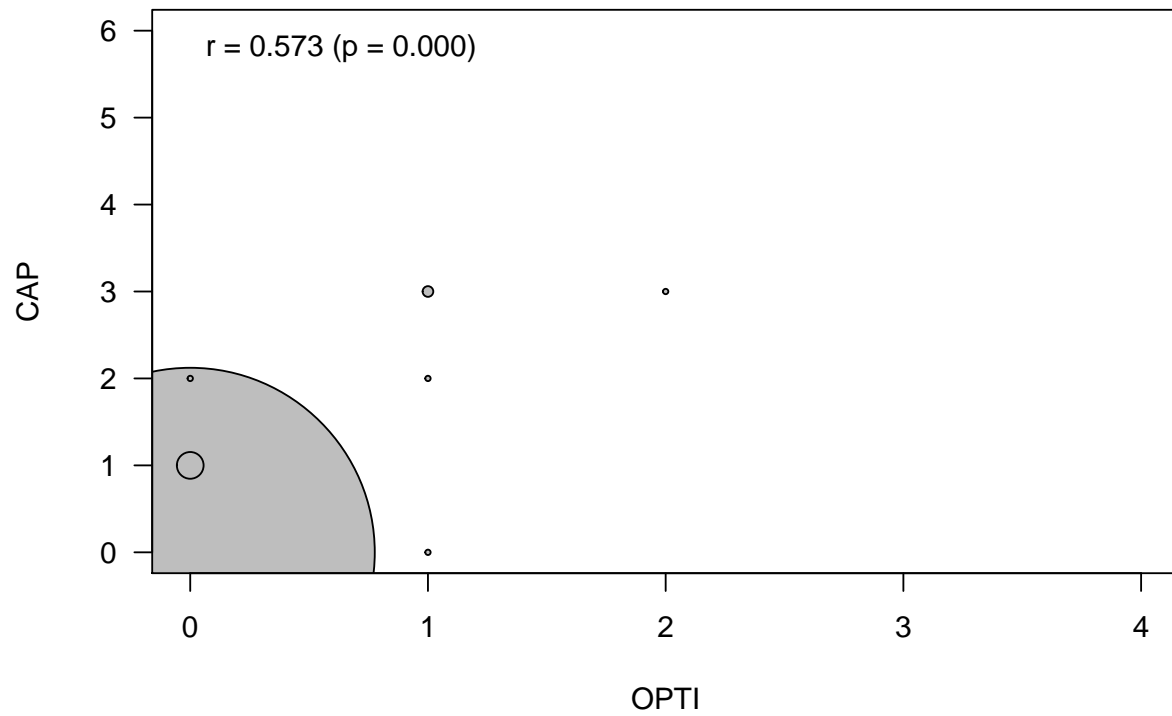
4.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

4.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



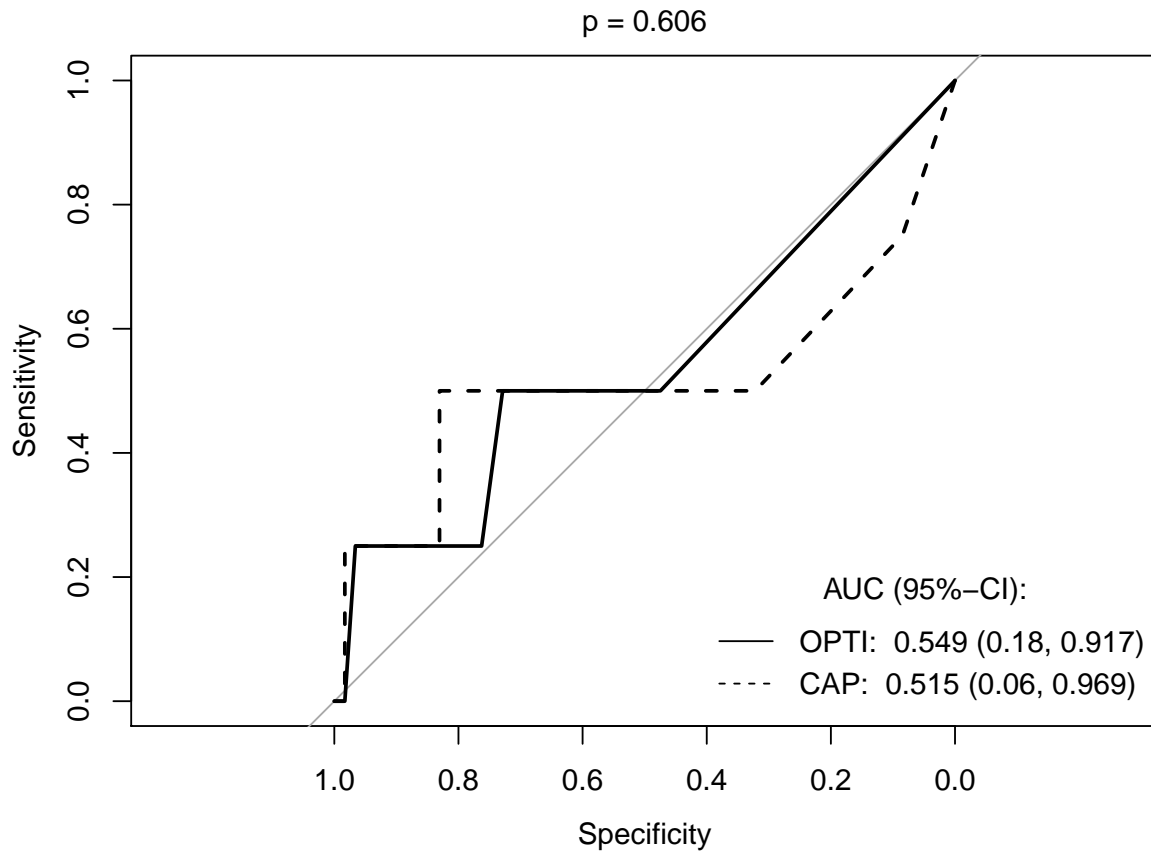
4.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	69	5	1	0	0	0	0
1	1	0	1	2	0	0	0
2	0	0	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0

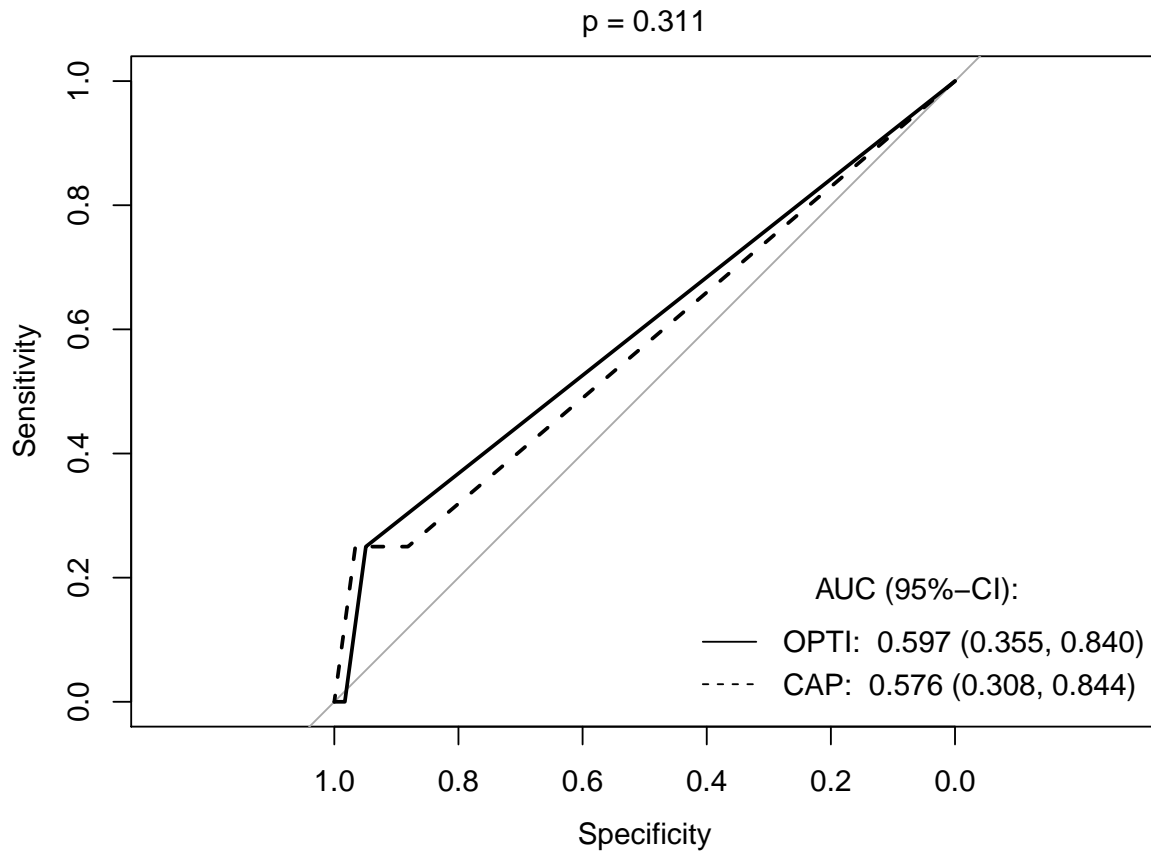


4.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

4.2.1 ROC der gemessenen Werte



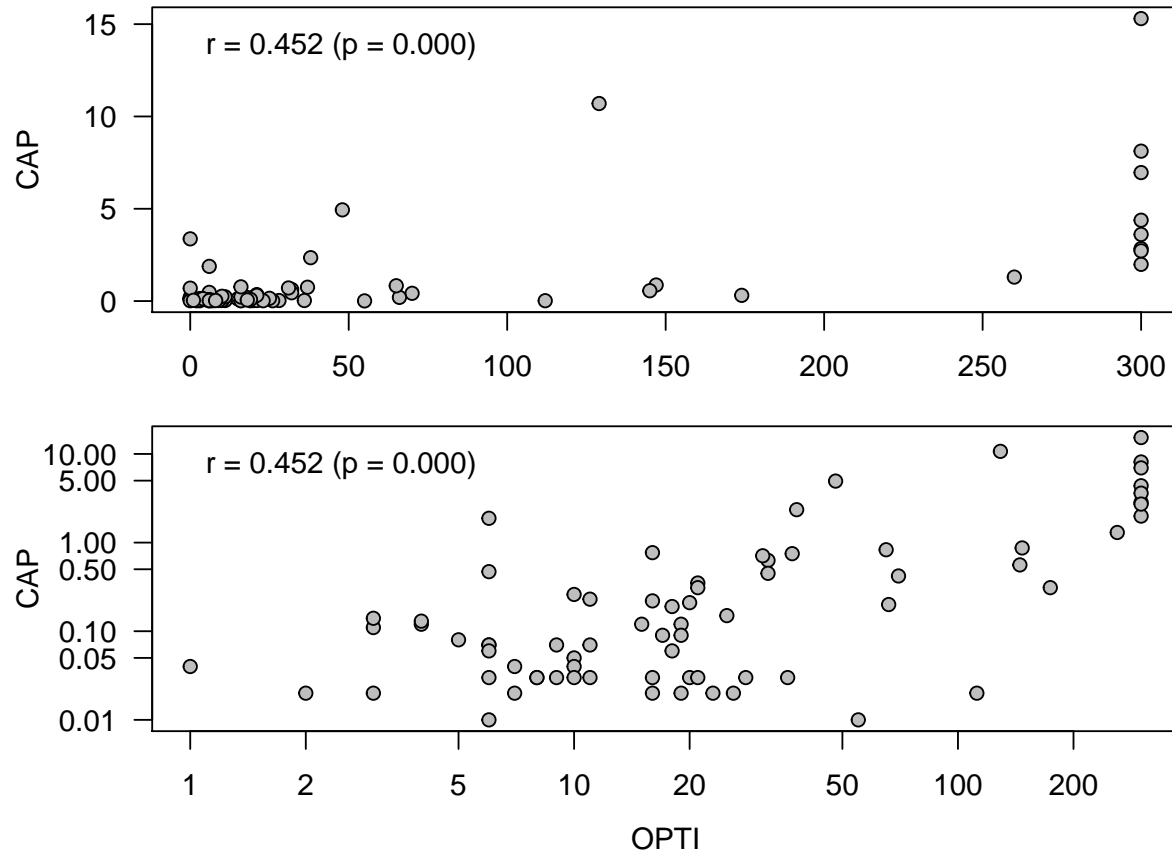
4.2.2 ROC der ermittelten Klassen



5 Pferd

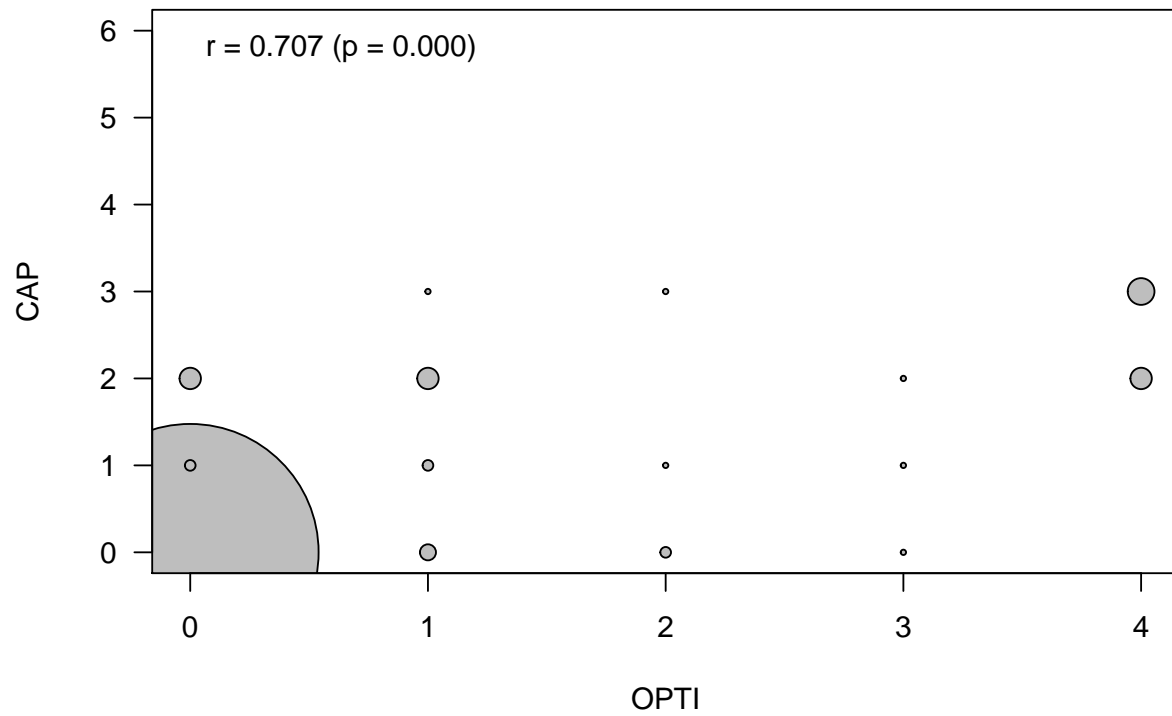
5.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

5.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



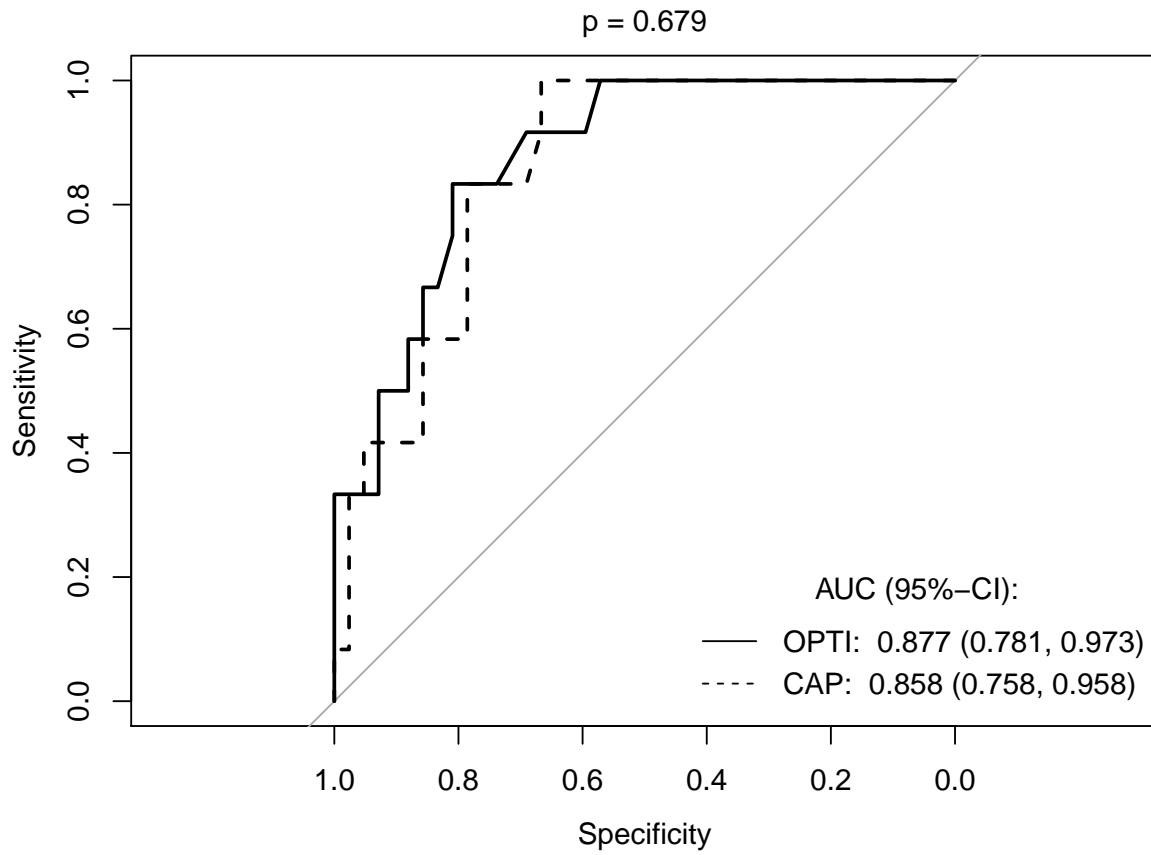
5.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	48	2	4	0	0	0	0
1	3	2	4	1	0	0	0
2	2	1	0	1	0	0	0
3	1	1	1	0	0	0	0
4	0	0	4	5	0	0	0

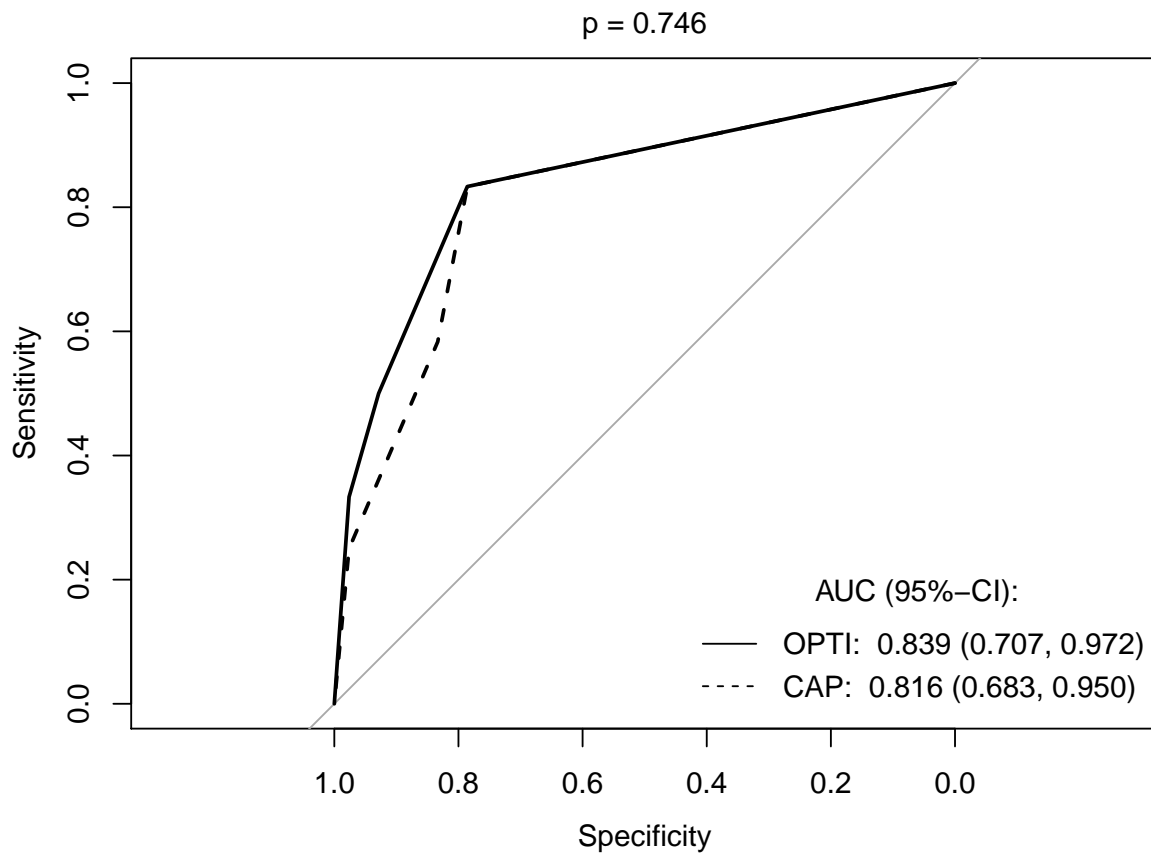


5.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

5.2.1 ROC der gemessenen Werte



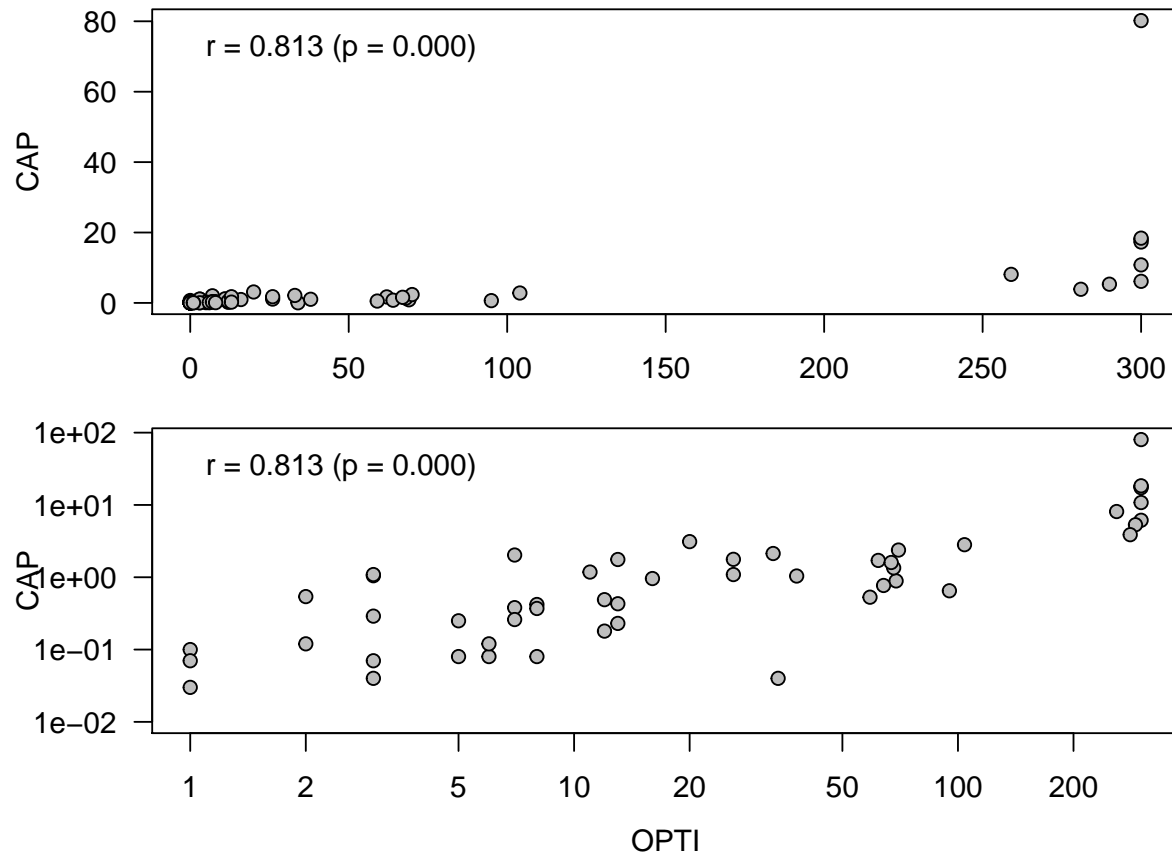
5.2.2 ROC der ermittelten Klassen



6 Hund

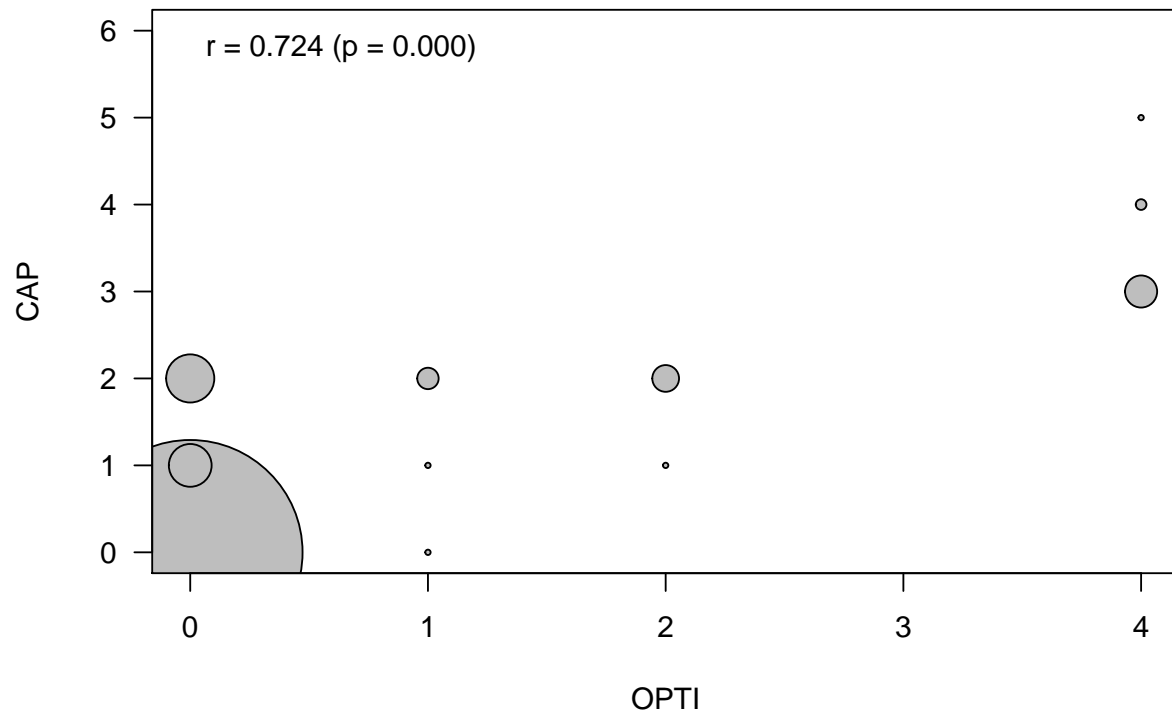
6.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

6.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



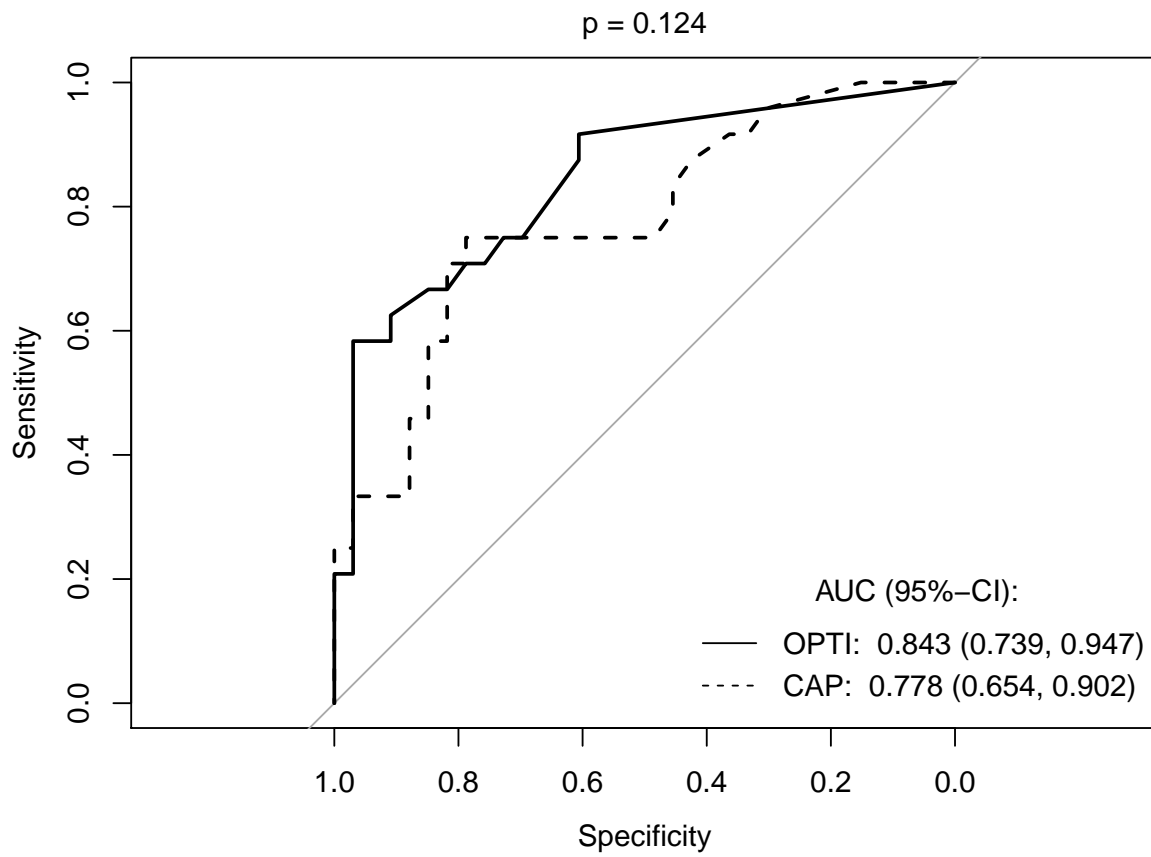
6.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	42	8	9	0	0	0	0
1	1	1	4	0	0	0	0
2	0	1	5	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	6	2	1	0

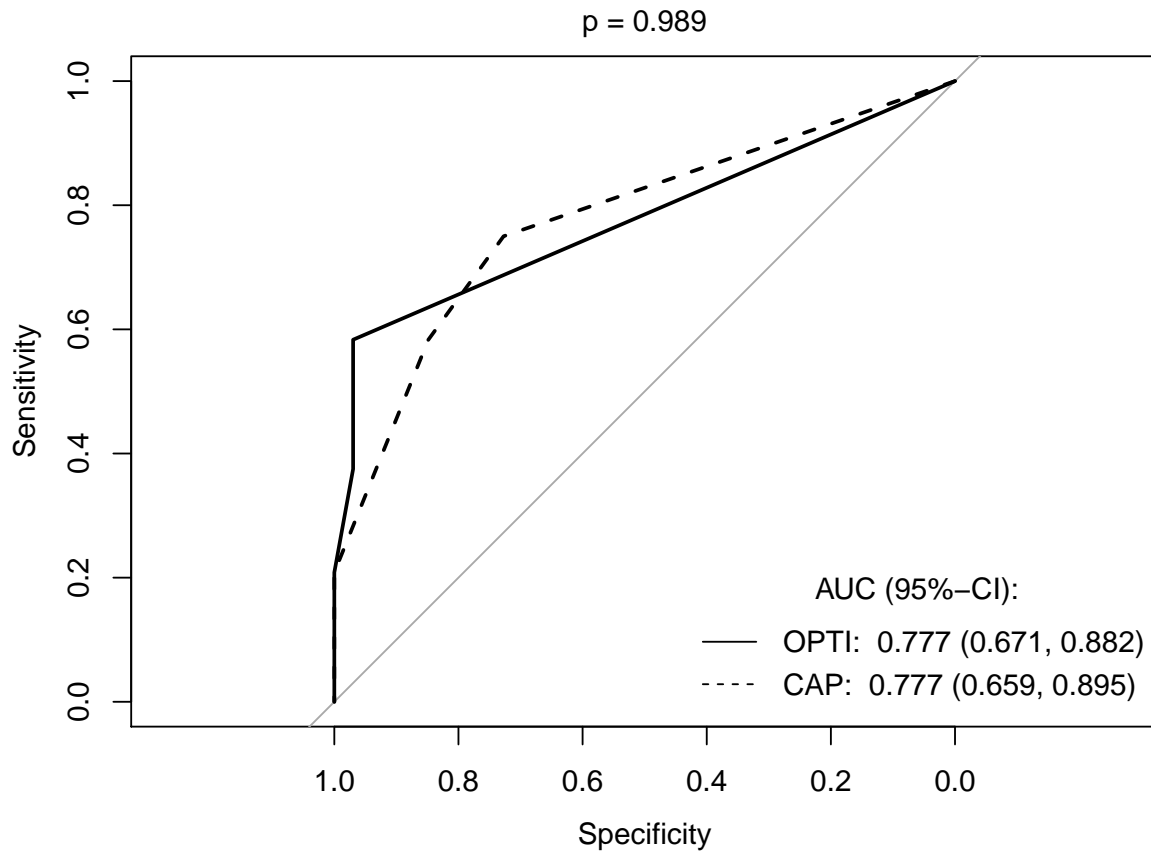


6.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

6.2.1 ROC der gemessenen Werte



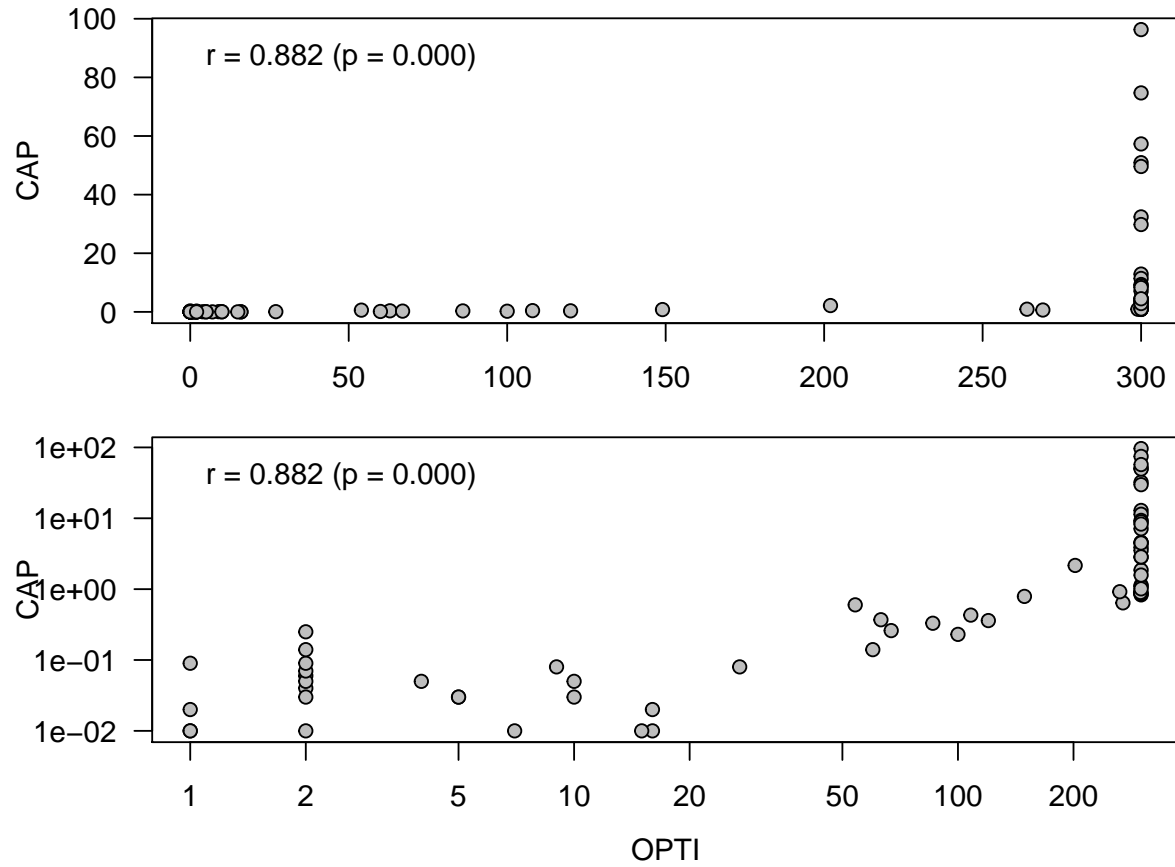
6.2.2 ROC der ermittelten Klassen



7 Katze

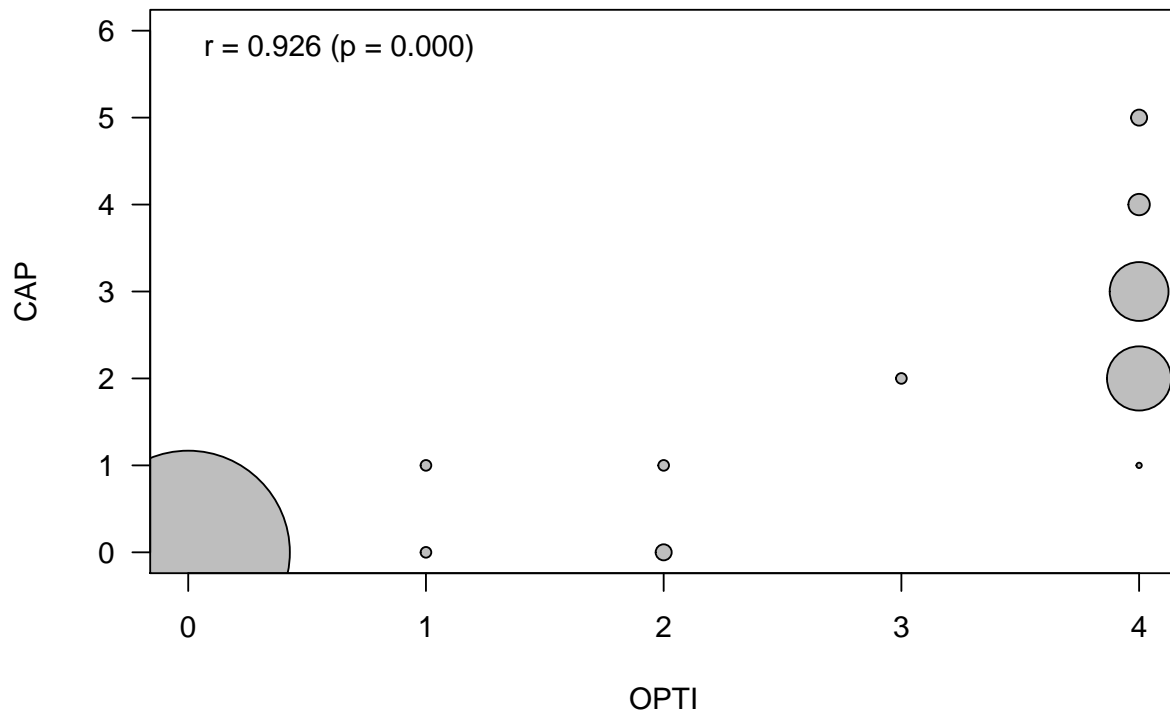
7.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

7.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



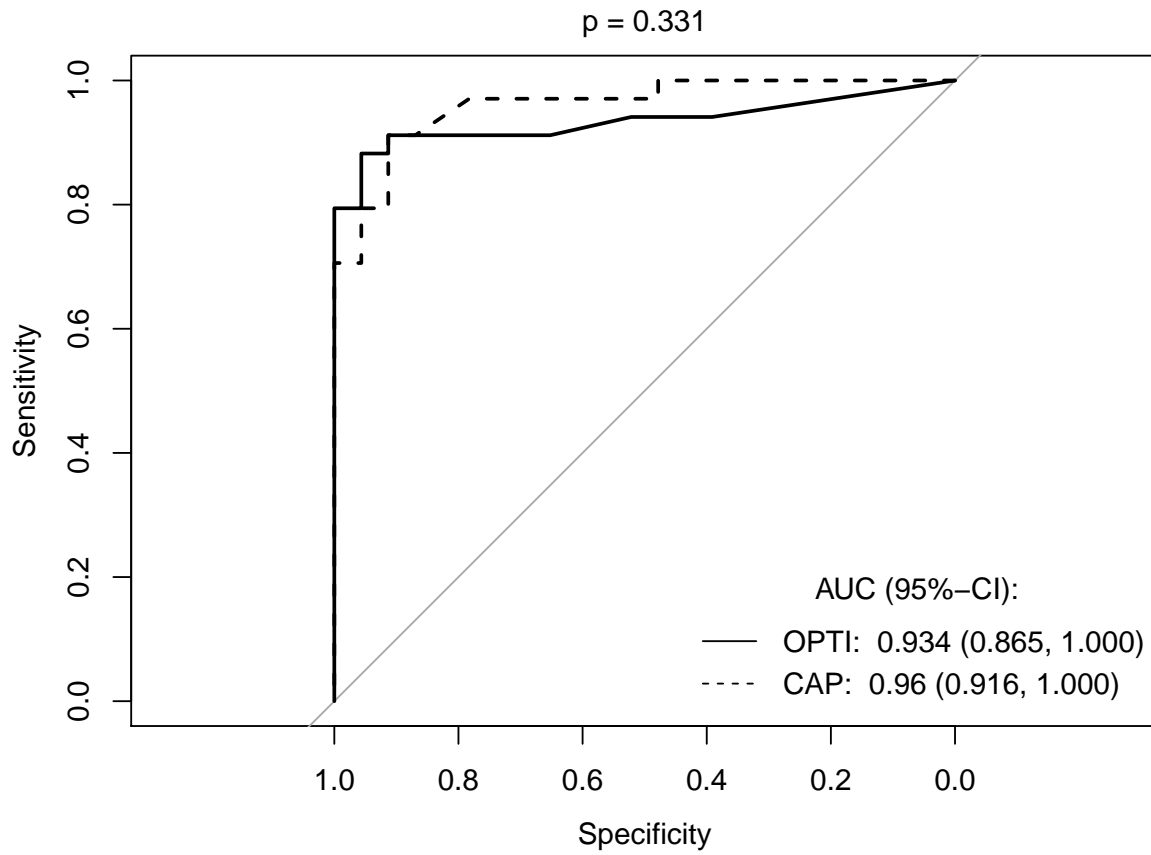
7.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	38	0	0	0	0	0	0
1	2	2	0	0	0	0	0
2	3	2	0	0	0	0	0
3	0	0	2	0	0	0	0
4	0	1	12	11	4	3	0

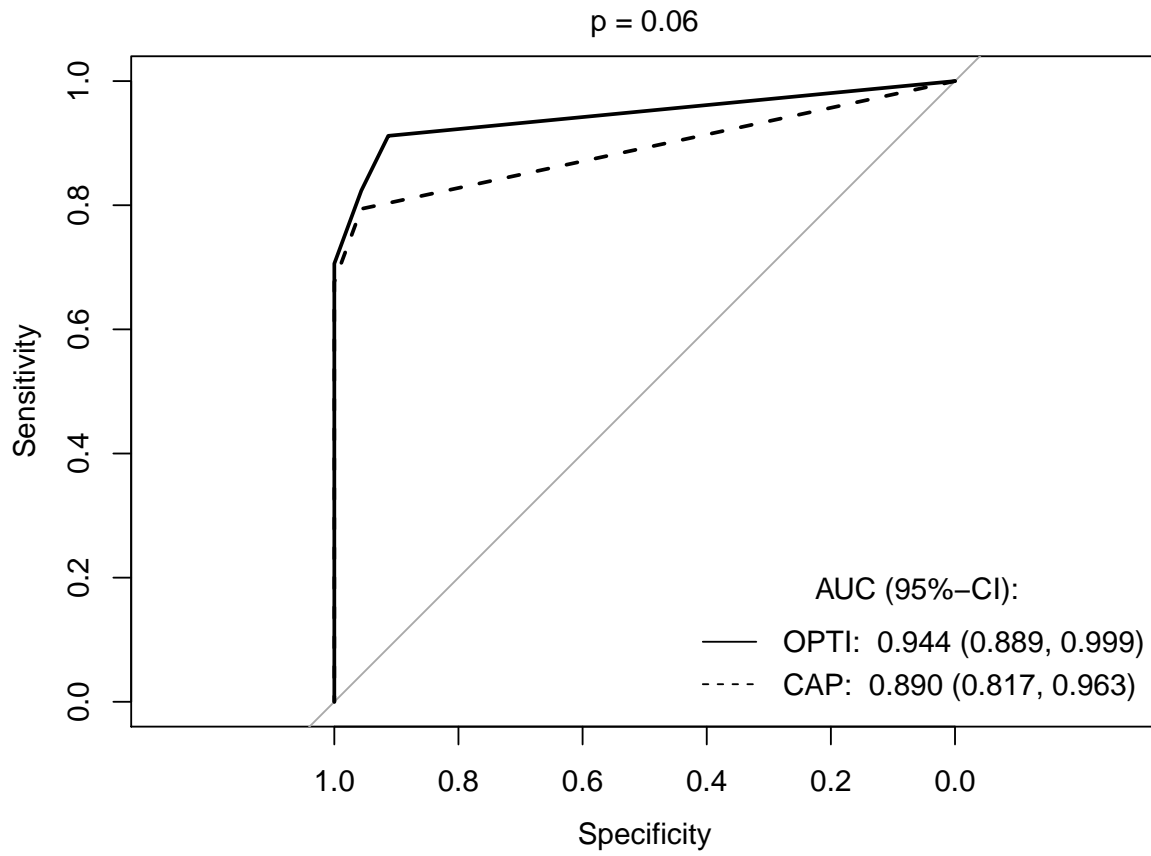


7.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

7.2.1 ROC der gemessenen Werte



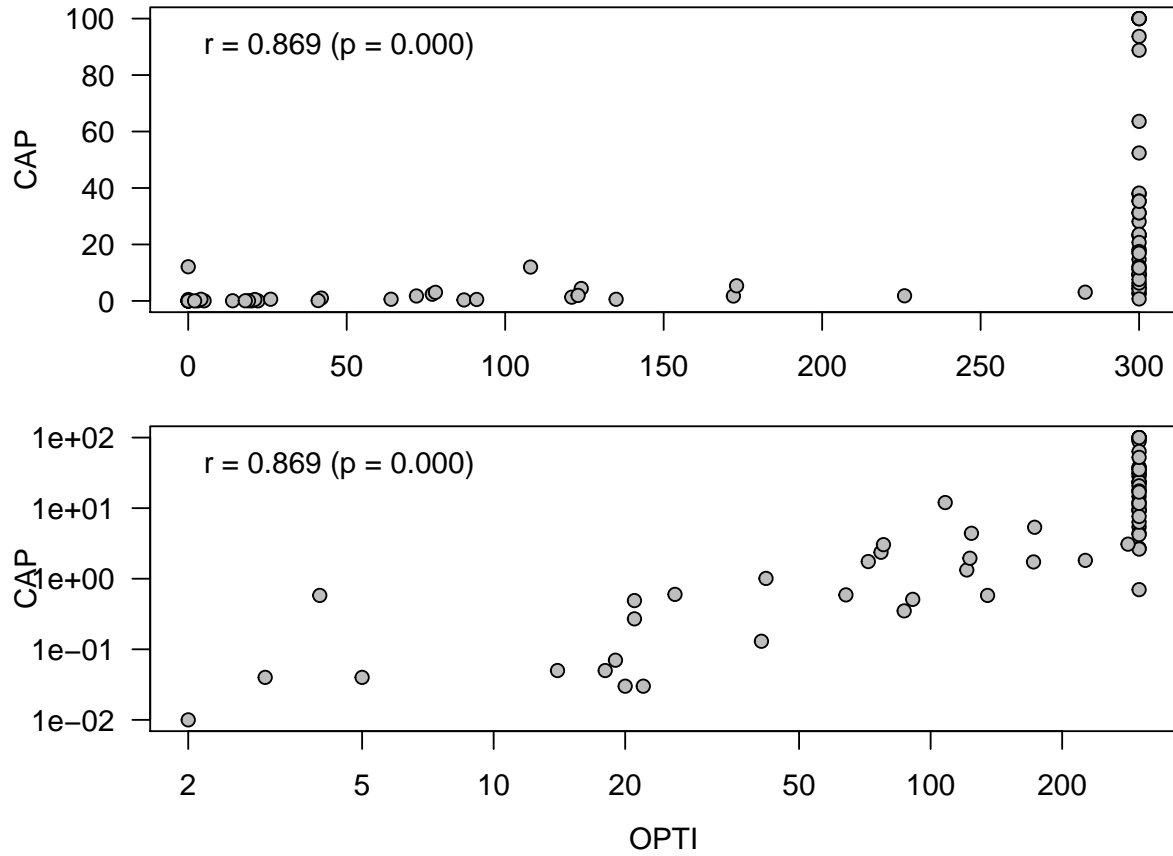
7.2.2 ROC der ermittelten Klassen



8 Lieschgras

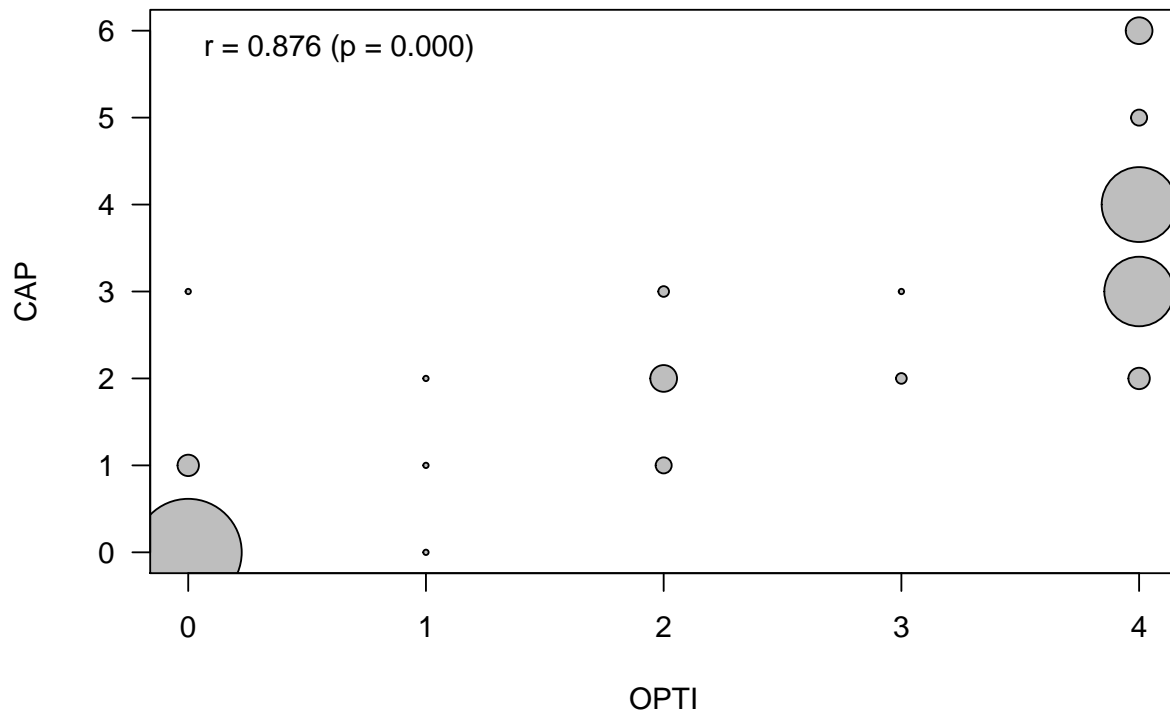
8.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

8.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



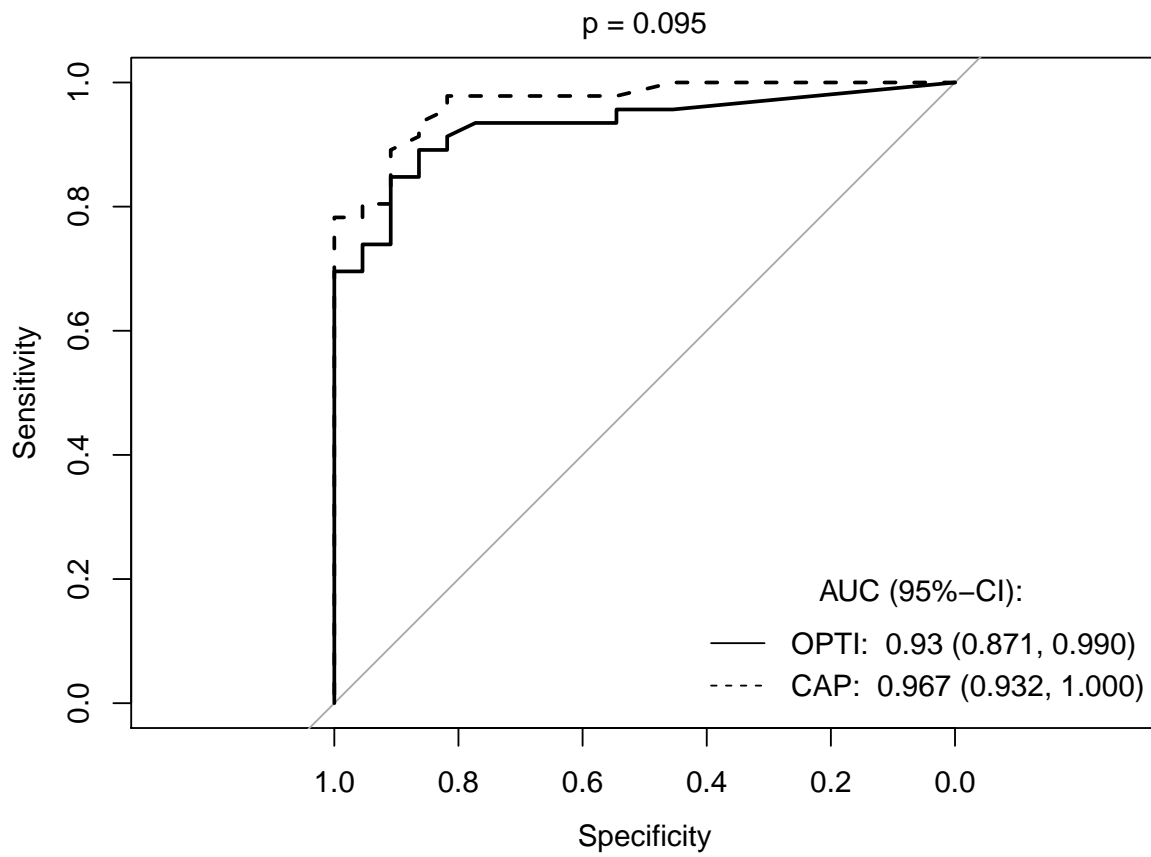
8.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	20	4	0	1	0	0	0
1	1	1	1	0	0	0	0
2	0	3	5	2	0	0	0
3	0	0	2	1	0	0	0
4	0	0	4	13	14	3	5

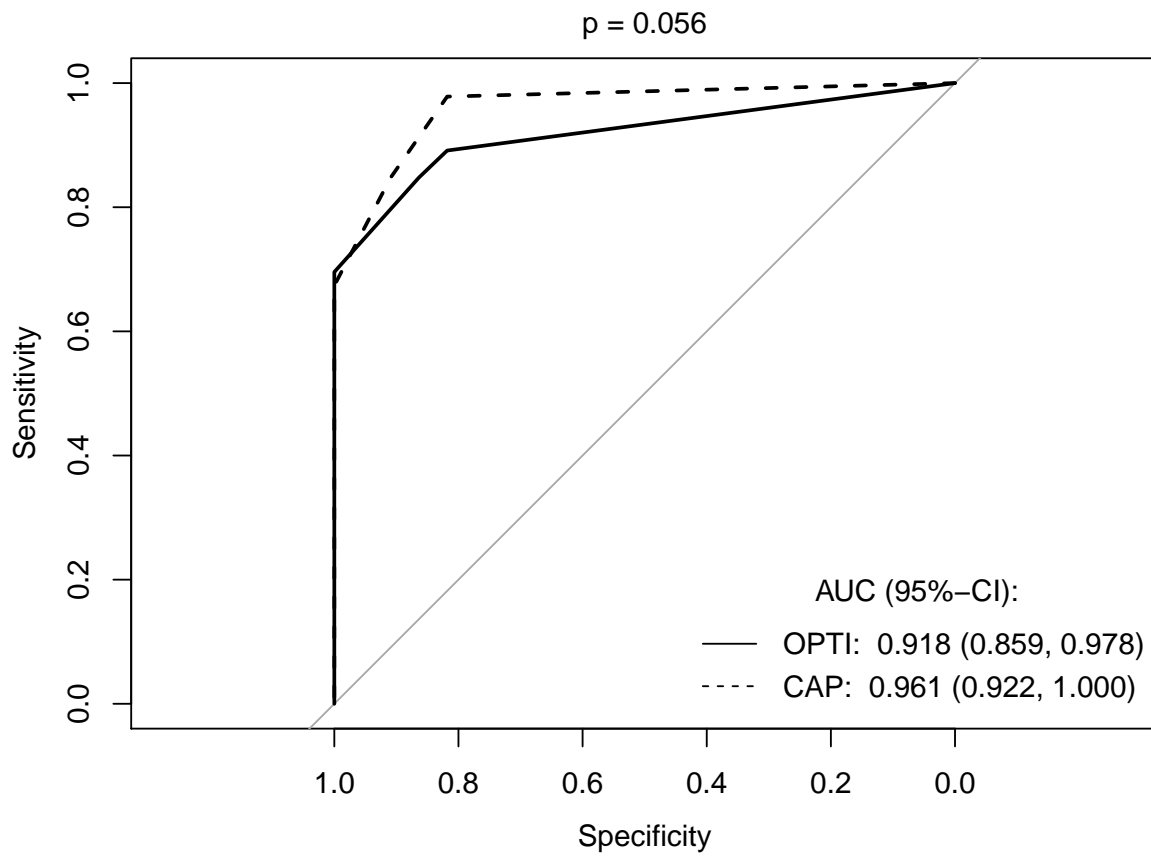


8.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

8.2.1 ROC der gemessenen Werte



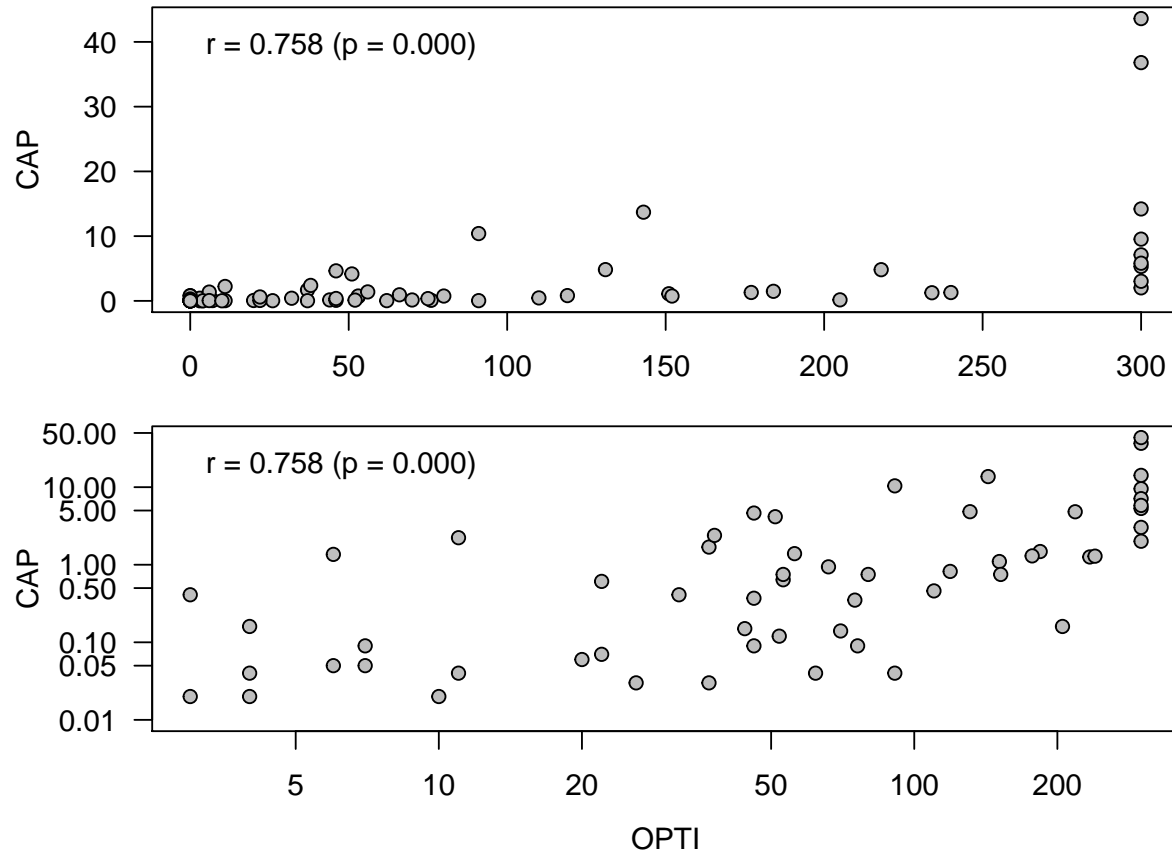
8.2.2 ROC der ermittelten Klassen



9 Beifuss

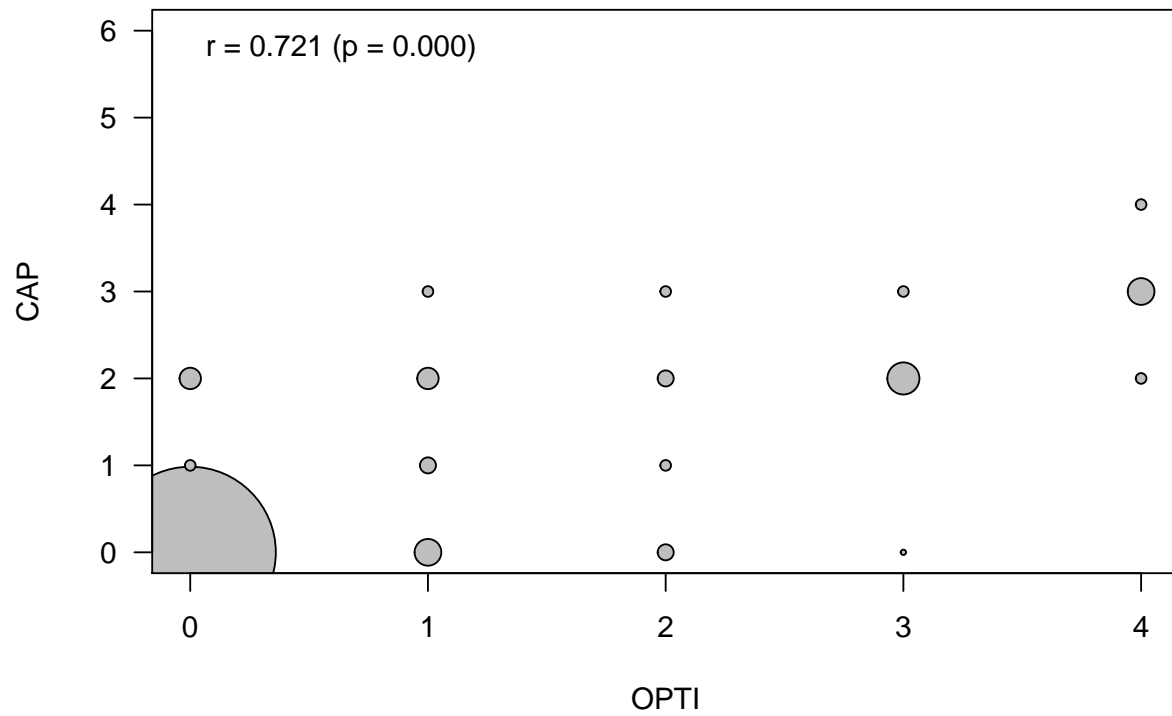
9.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

9.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



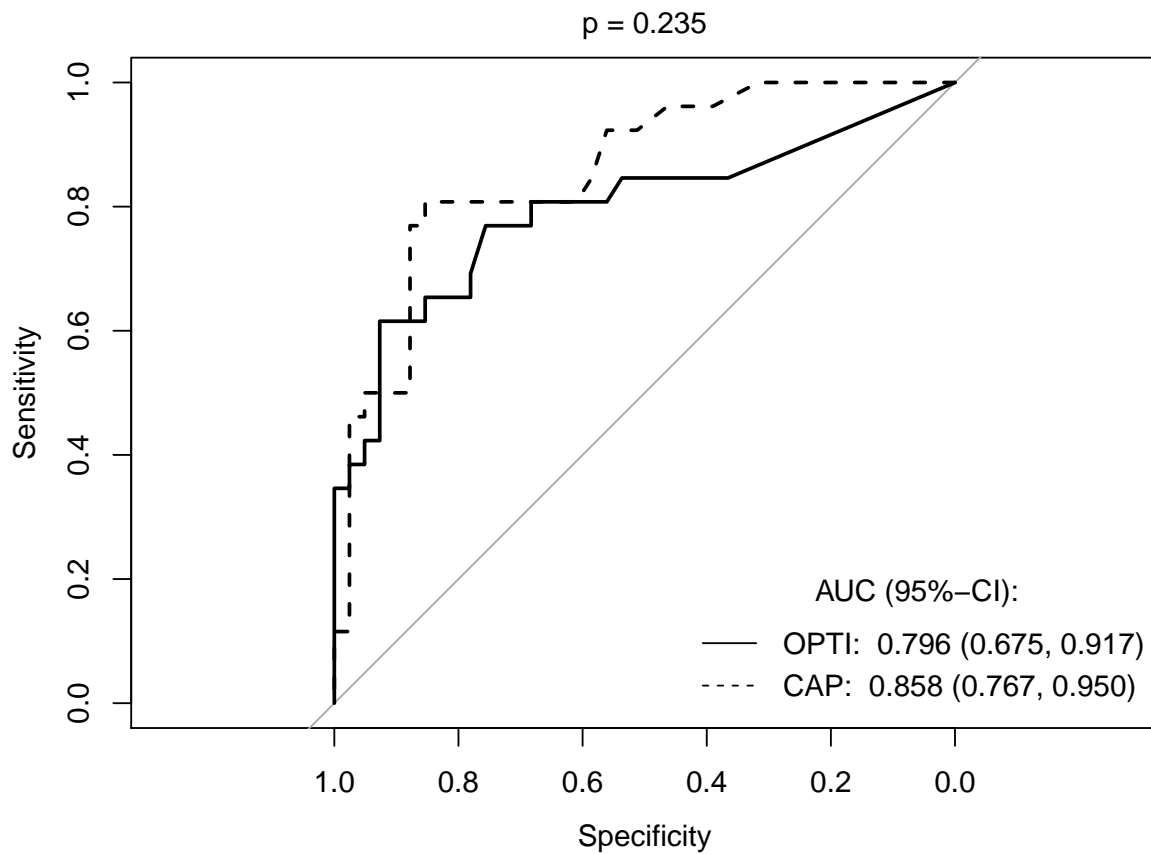
9.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	32	2	4	0	0	0	0
1	5	3	4	2	0	0	0
2	3	2	3	2	0	0	0
3	1	0	6	2	0	0	0
4	0	0	2	5	2	0	0

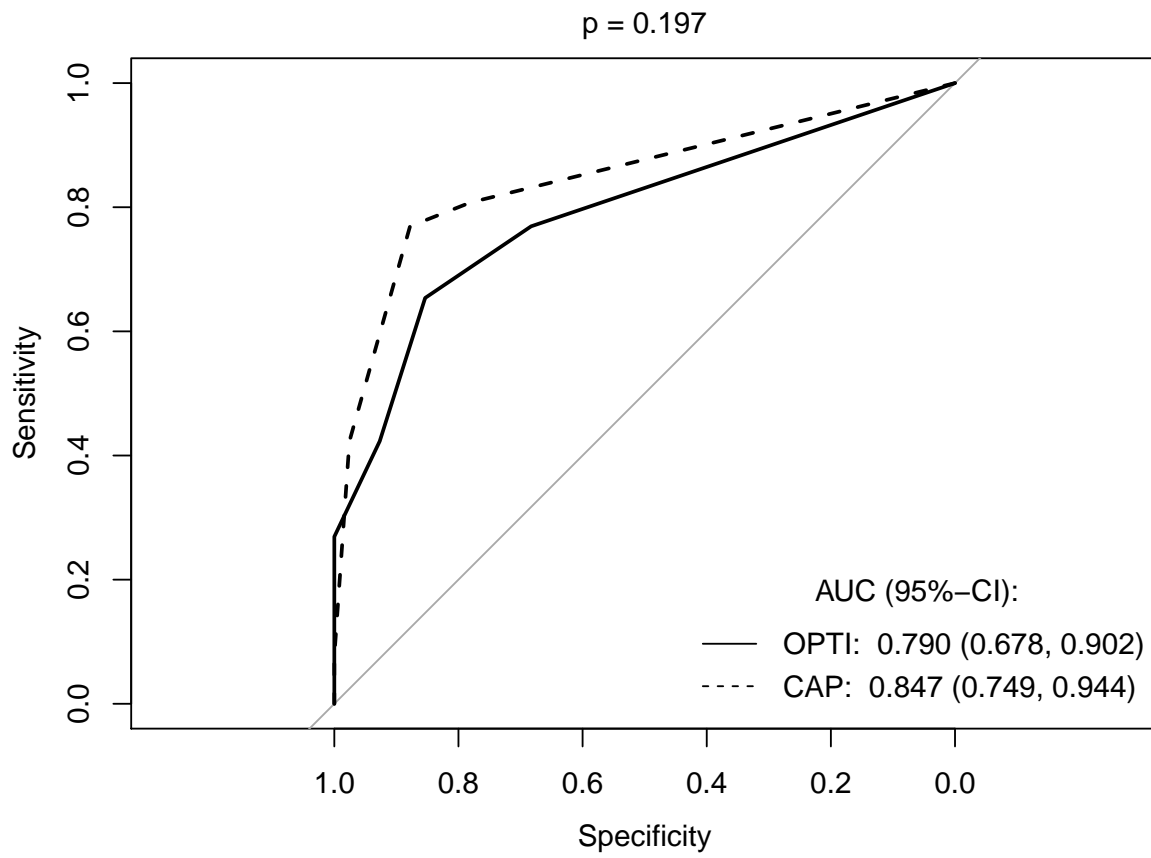


9.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

9.2.1 ROC der gemessenen Werte



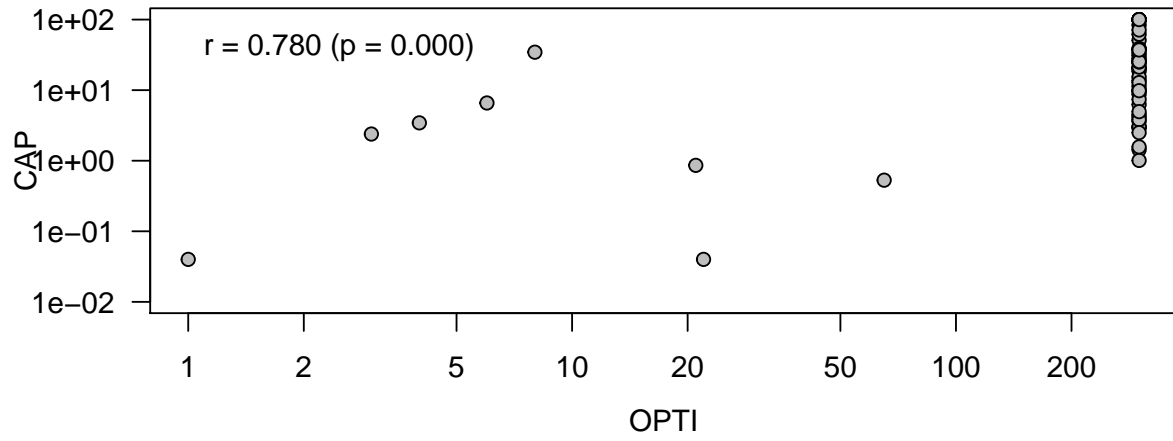
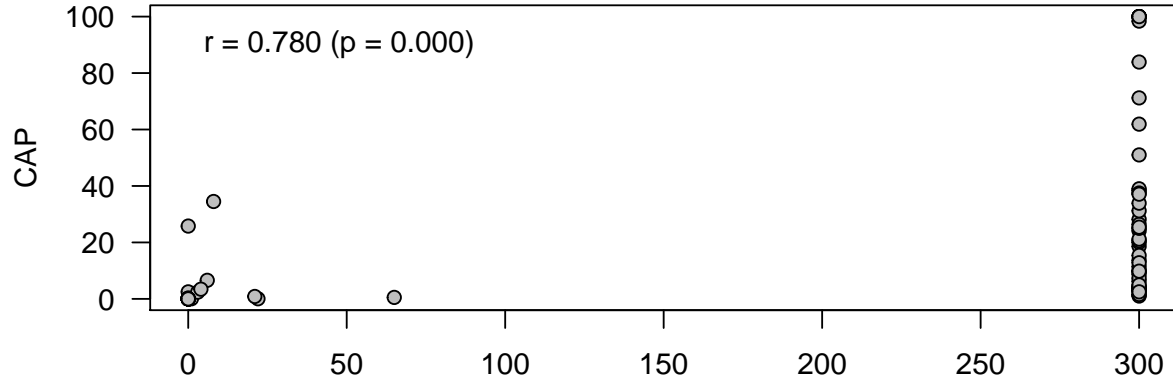
9.2.2 ROC der ermittelten Klassen



10 Birke

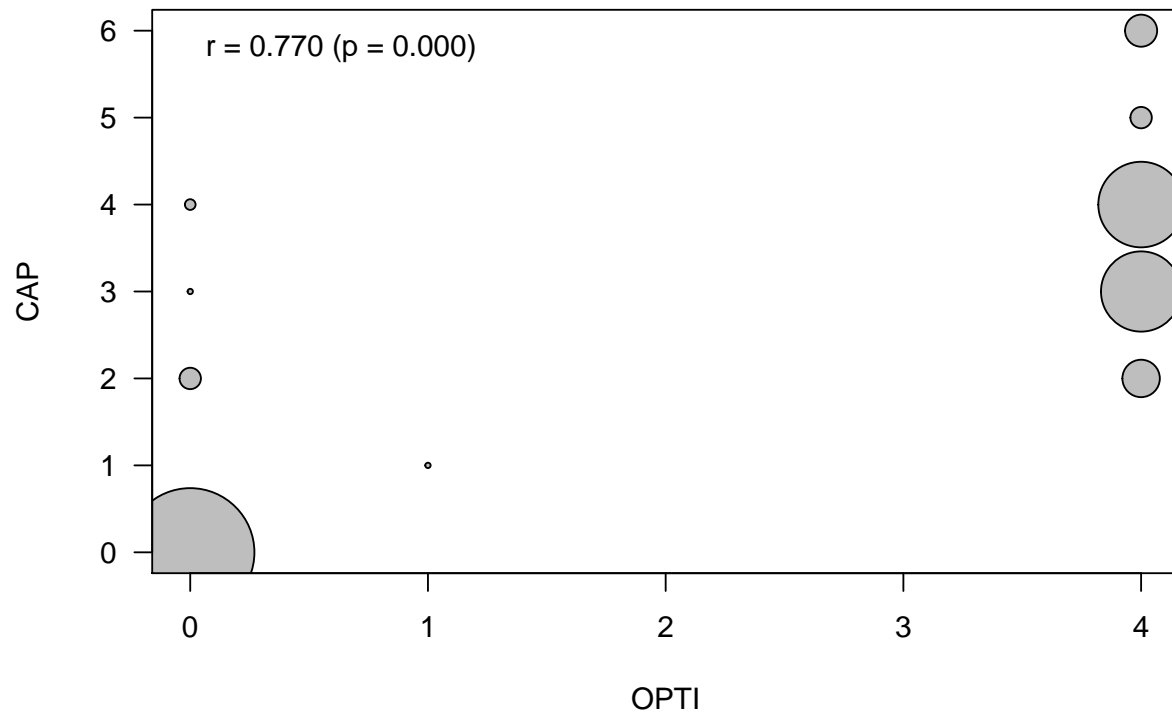
10.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

10.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



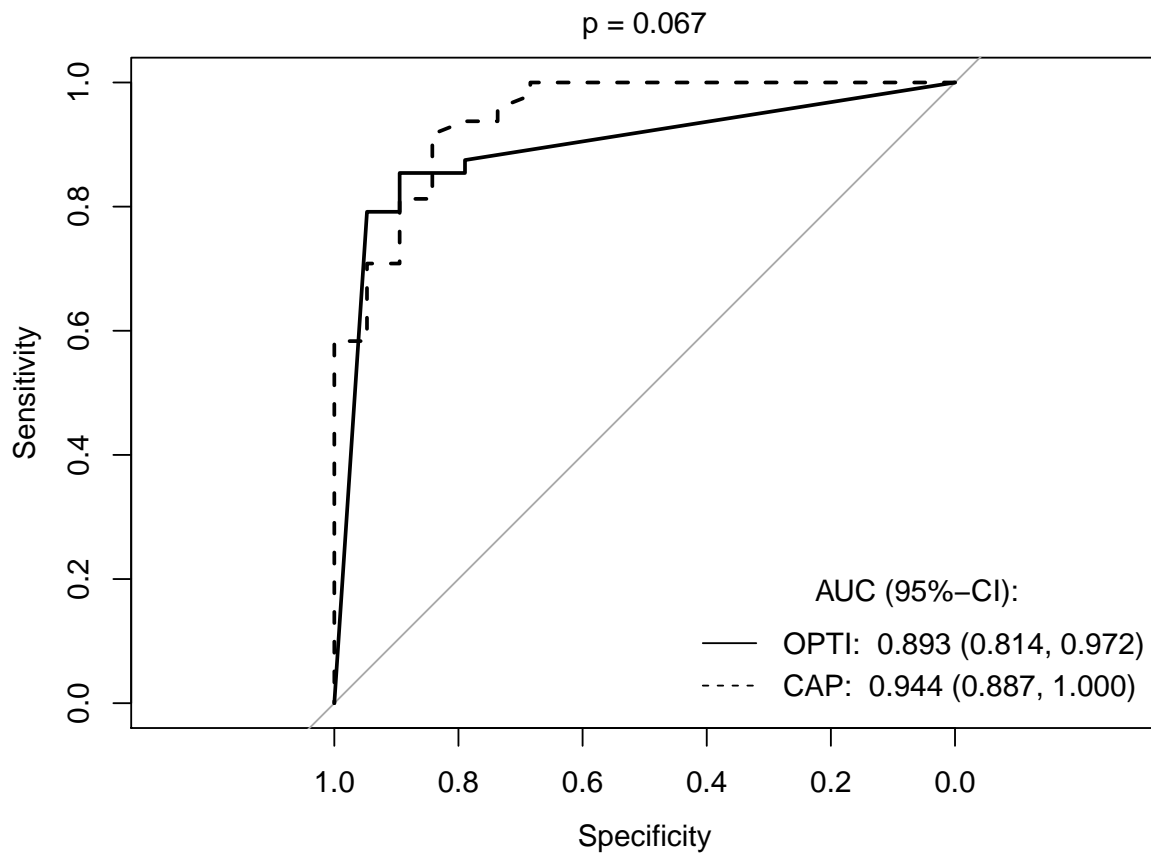
10.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	24	0	4	1	2	0	0
1	0	1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	7	15	16	4	6

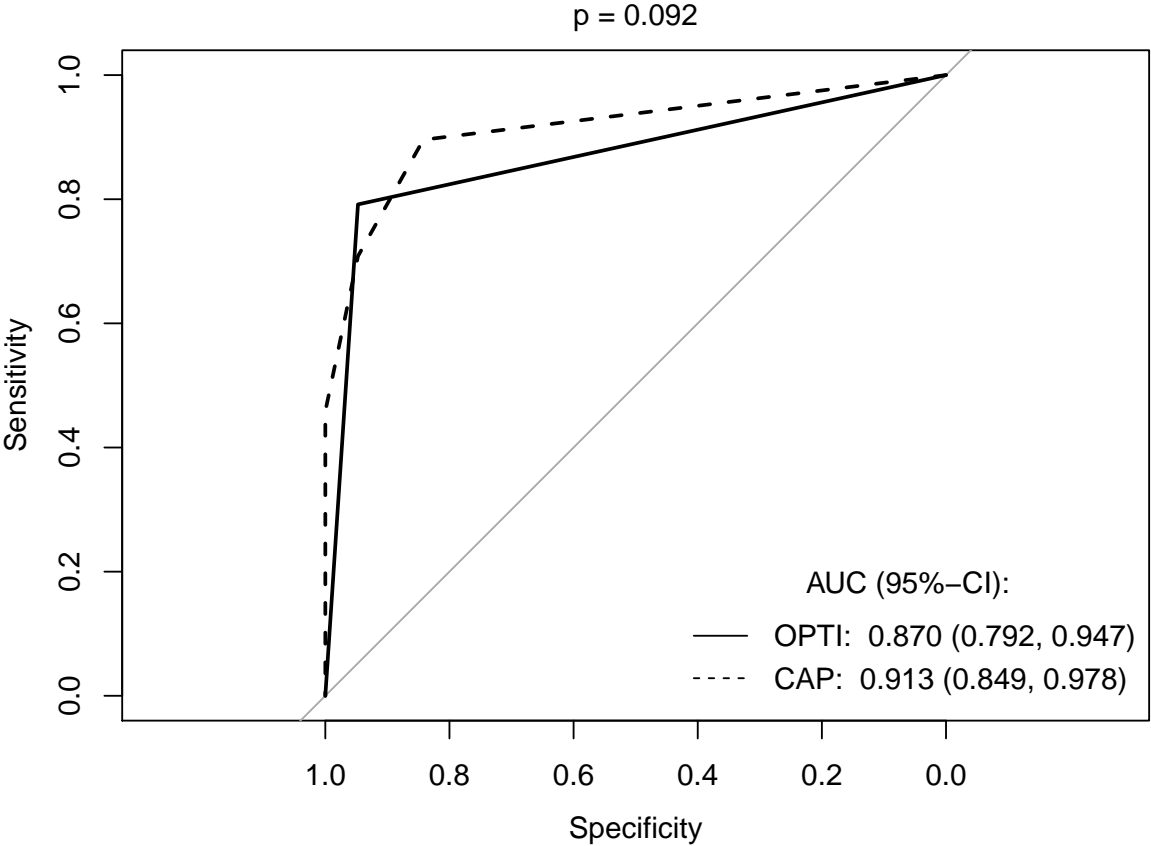


10.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

10.2.1 ROC der gemessenen Werte



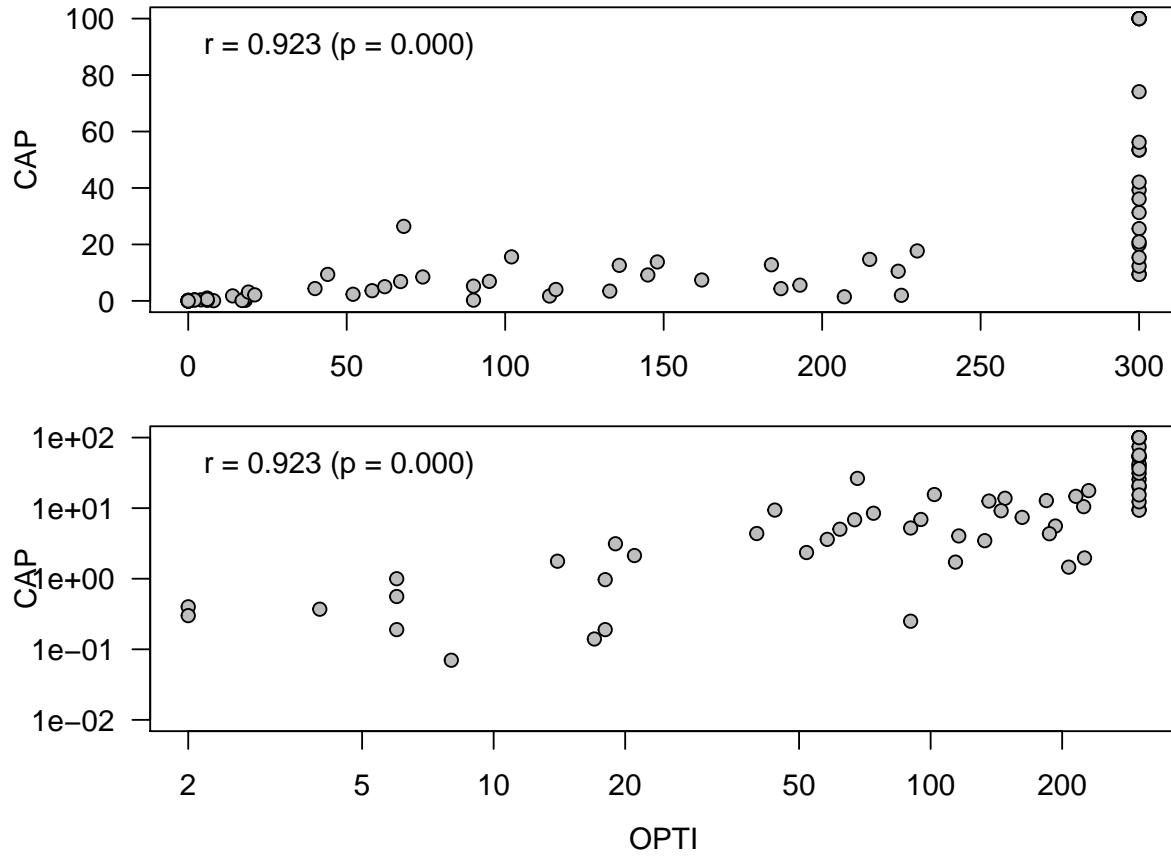
10.2.2 ROC der ermittelten Klassen



11 Haselnuss

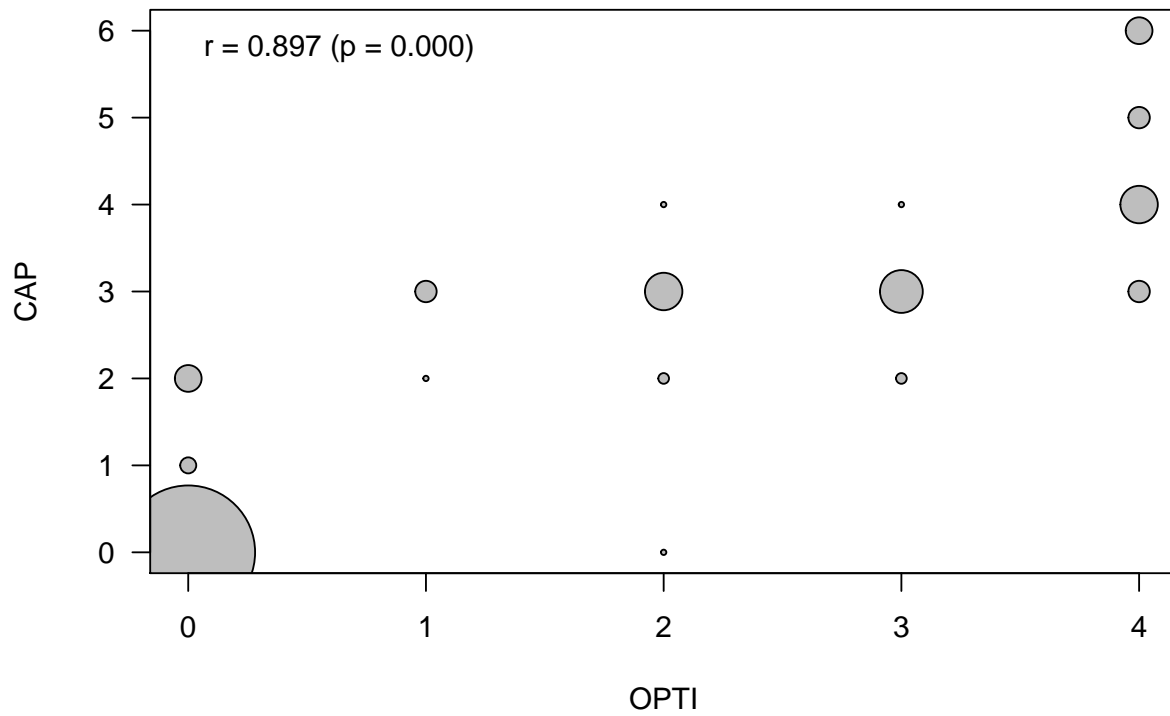
11.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

11.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



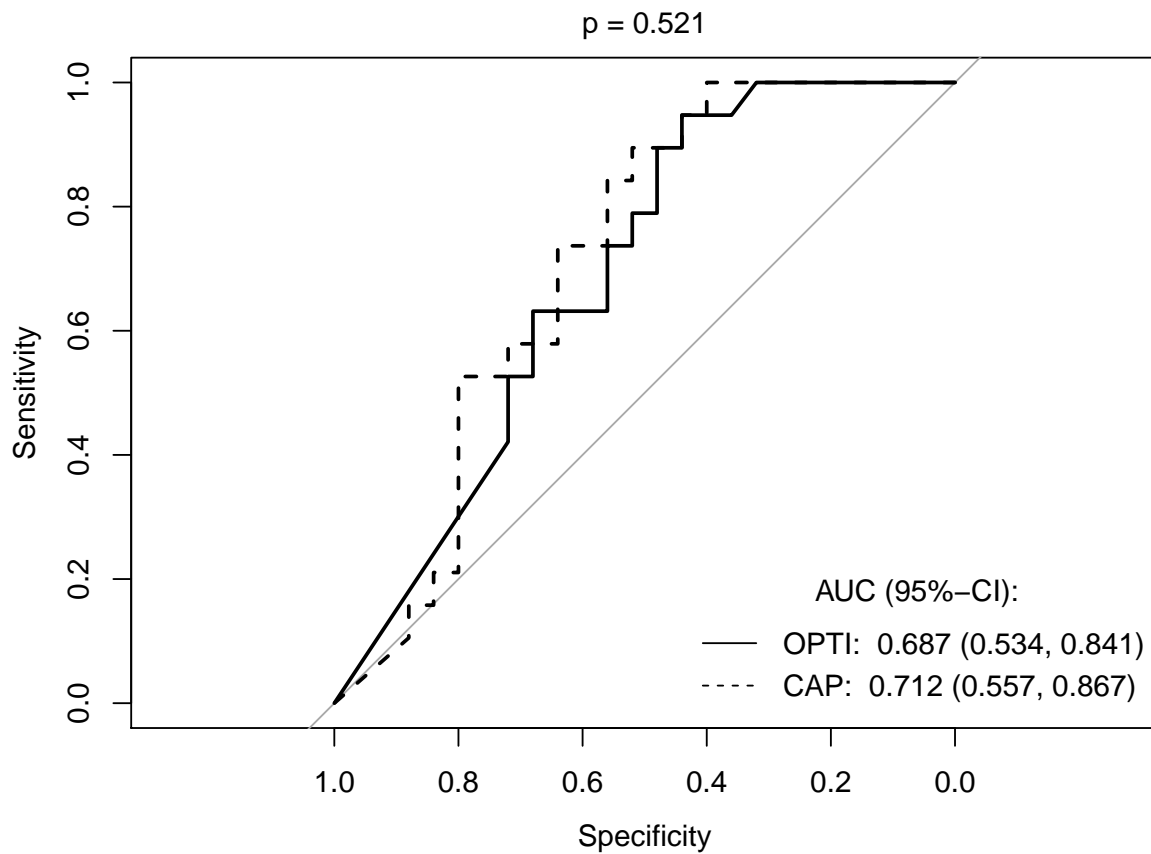
11.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	25	3	5	0	0	0	0
1	0	0	1	4	0	0	0
2	1	0	2	7	1	0	0
3	0	0	2	8	1	0	0
4	0	0	0	4	7	4	5

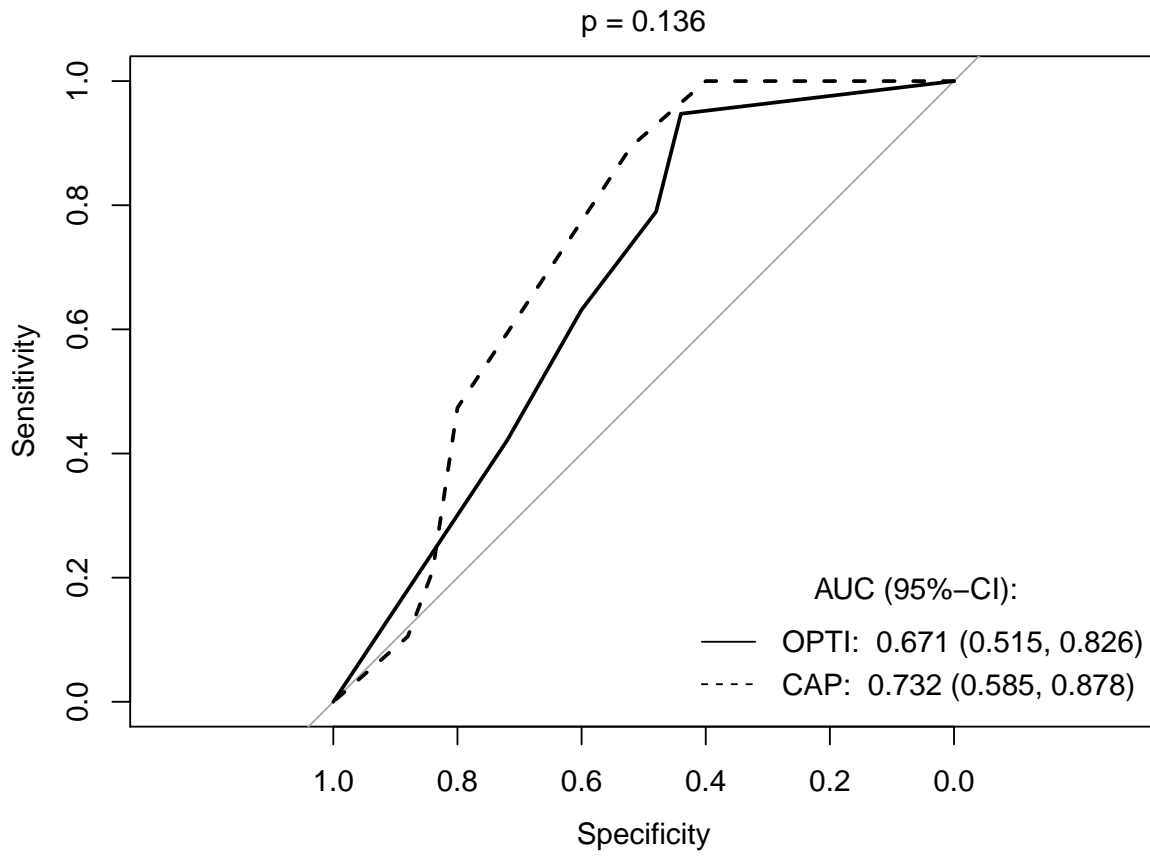


11.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

11.2.1 ROC der gemessenen Werte



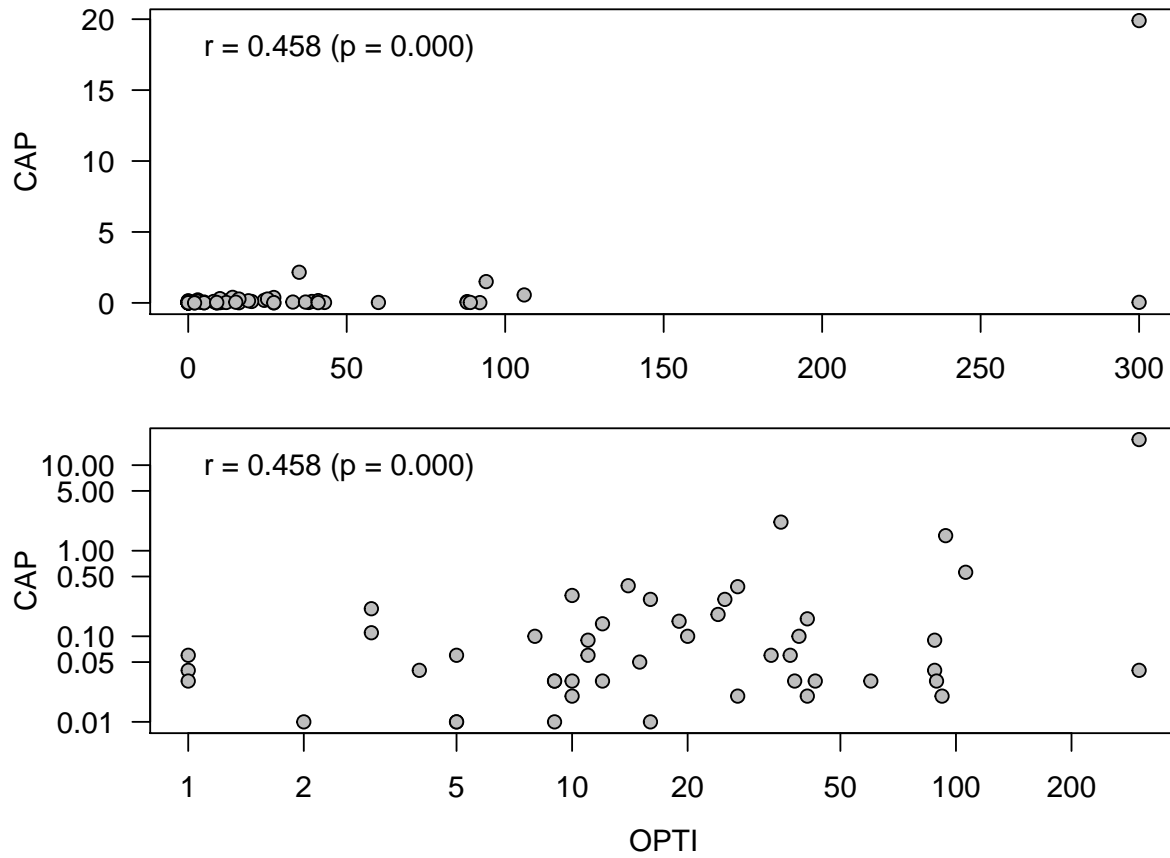
11.2.2 ROC der ermittelten Klassen



12 Hühnereiweiß

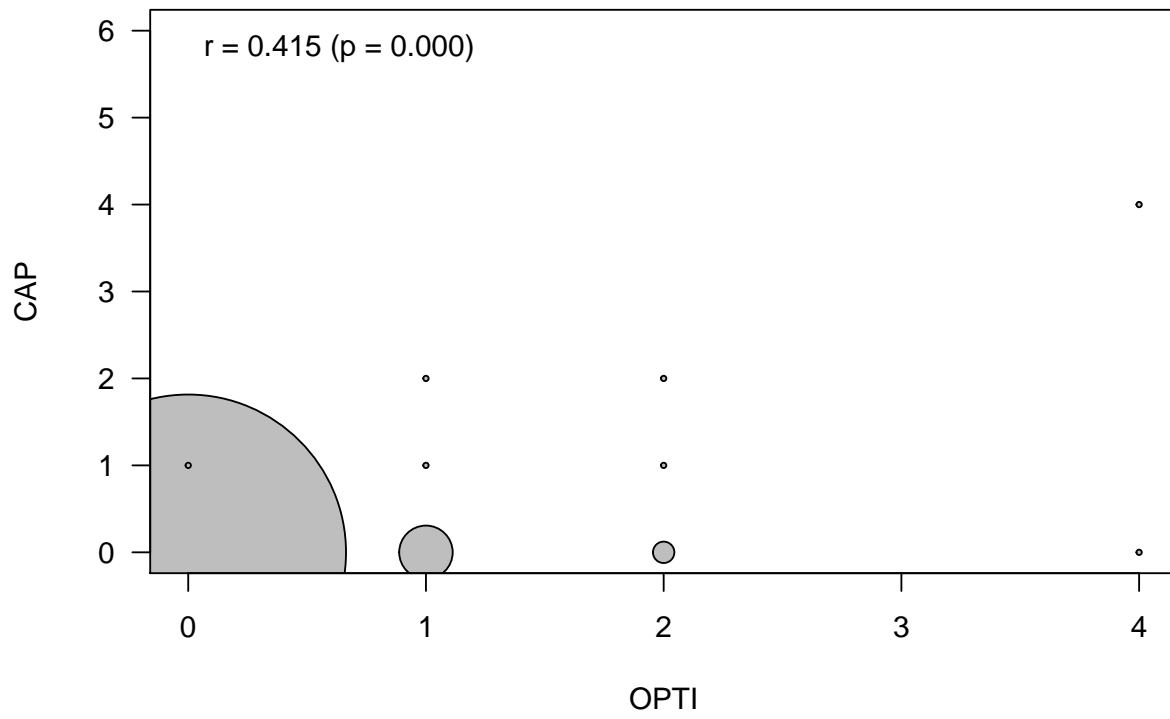
12.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

12.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



12.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

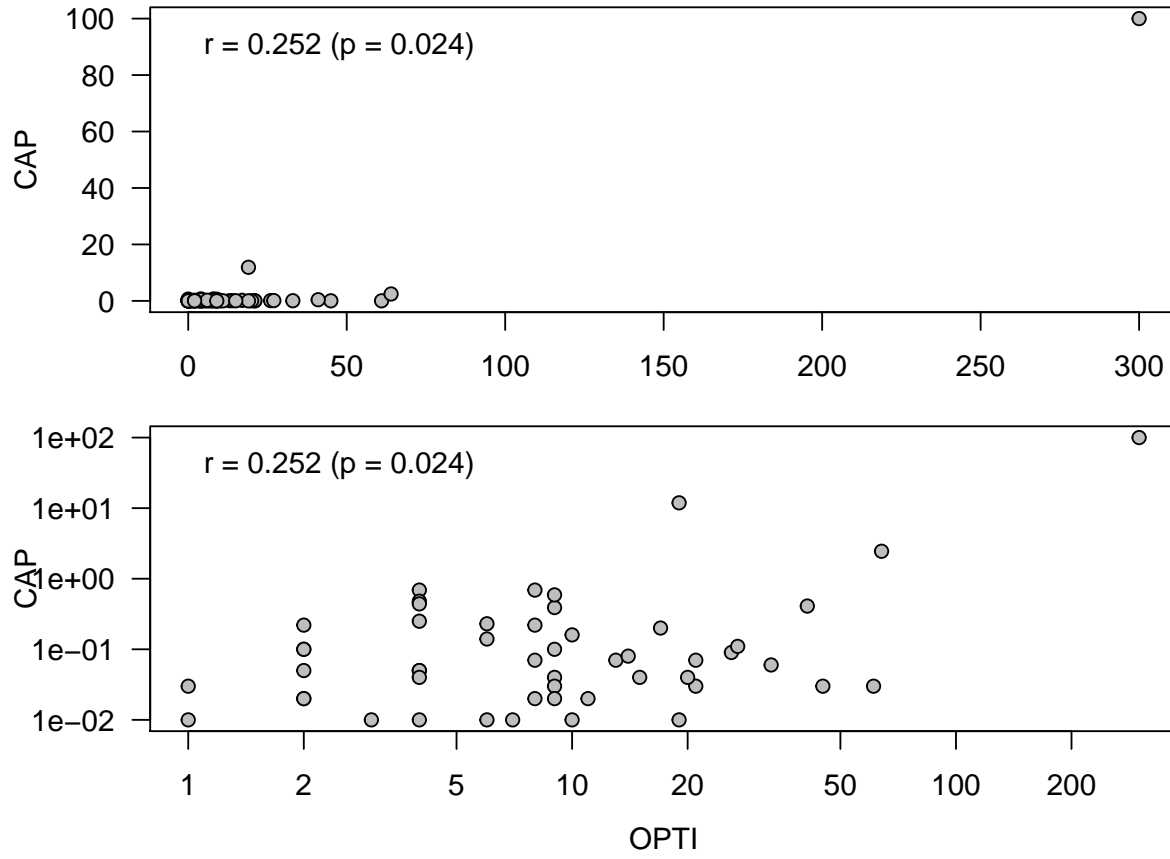
	0	1	2	3	4	5	6
0	59	1	0	0	0	0	0
1	10	1	1	0	0	0	0
2	4	1	1	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	1	0	0



13 Milch

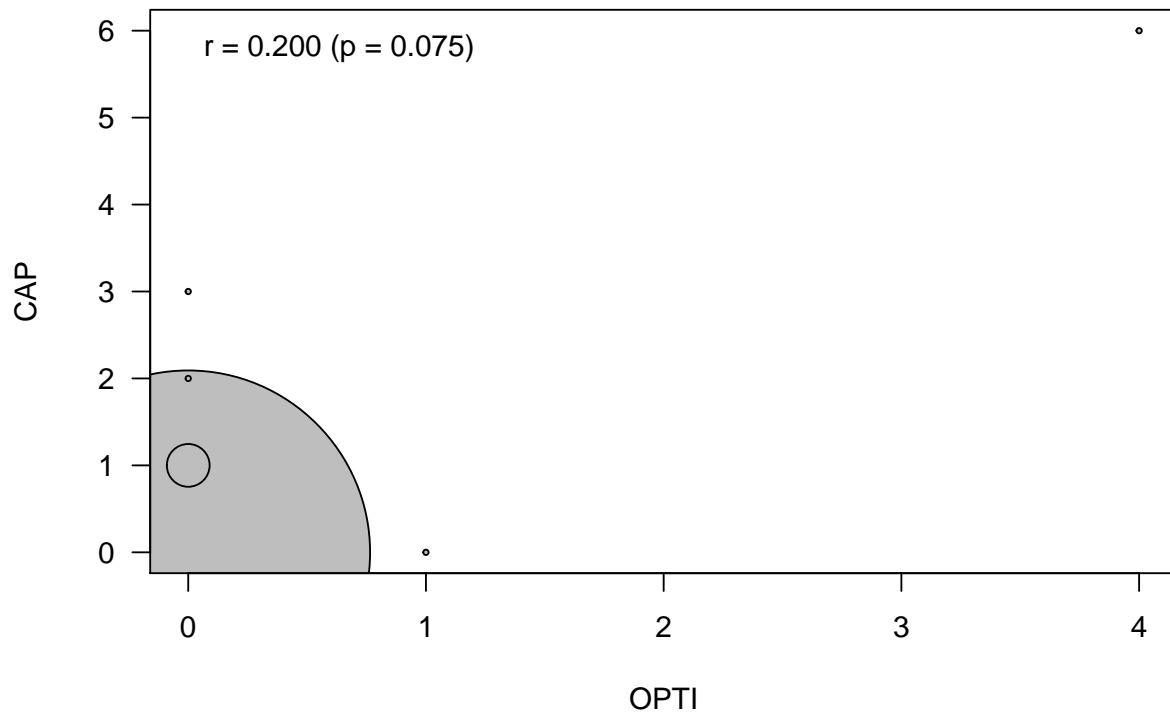
13.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

13.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



13.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

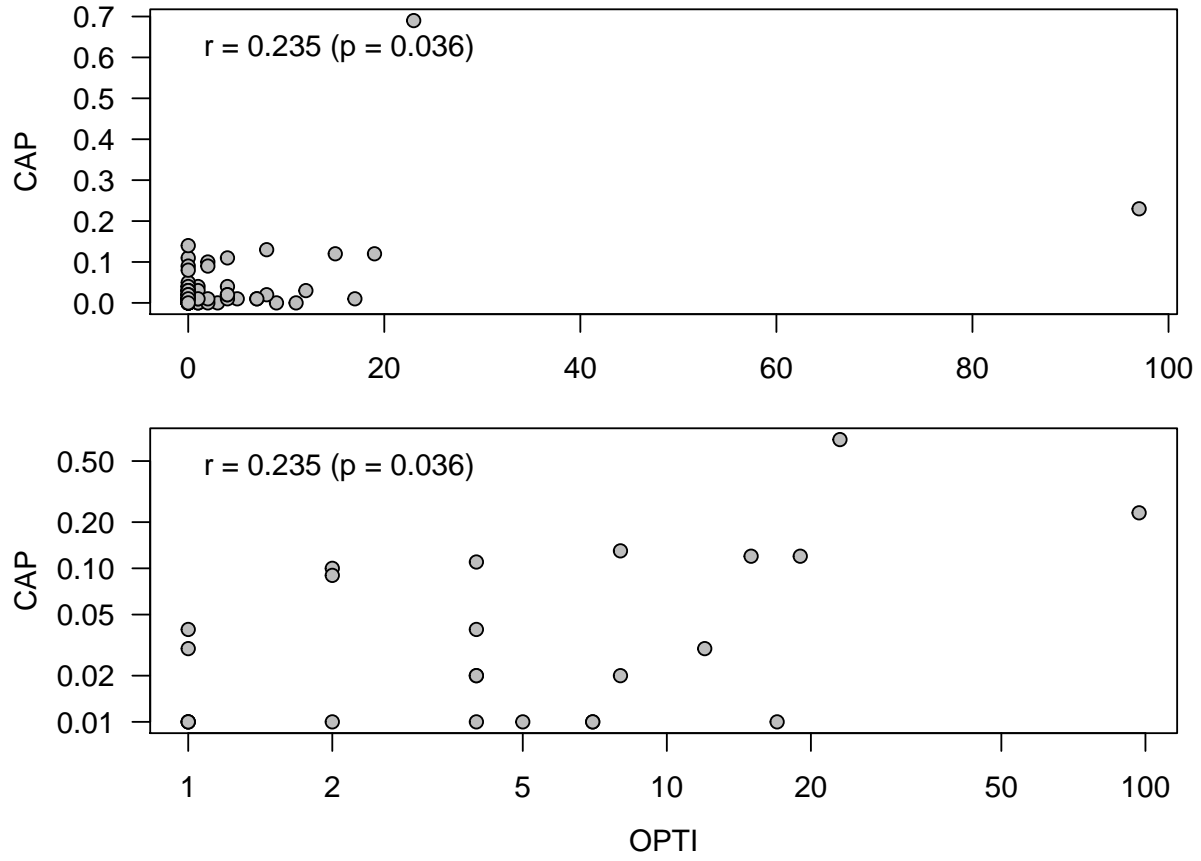
	0	1	2	3	4	5	6
0	68	8	1	1	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	1



14 Kabeljau

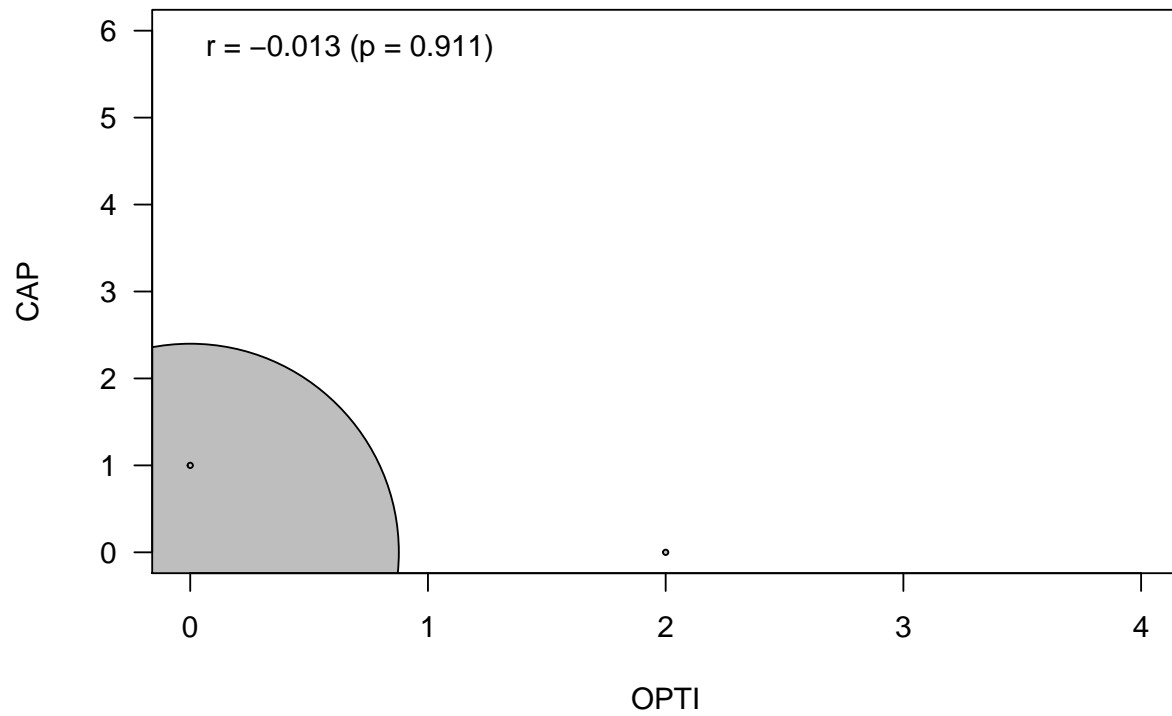
14.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

14.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



14.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

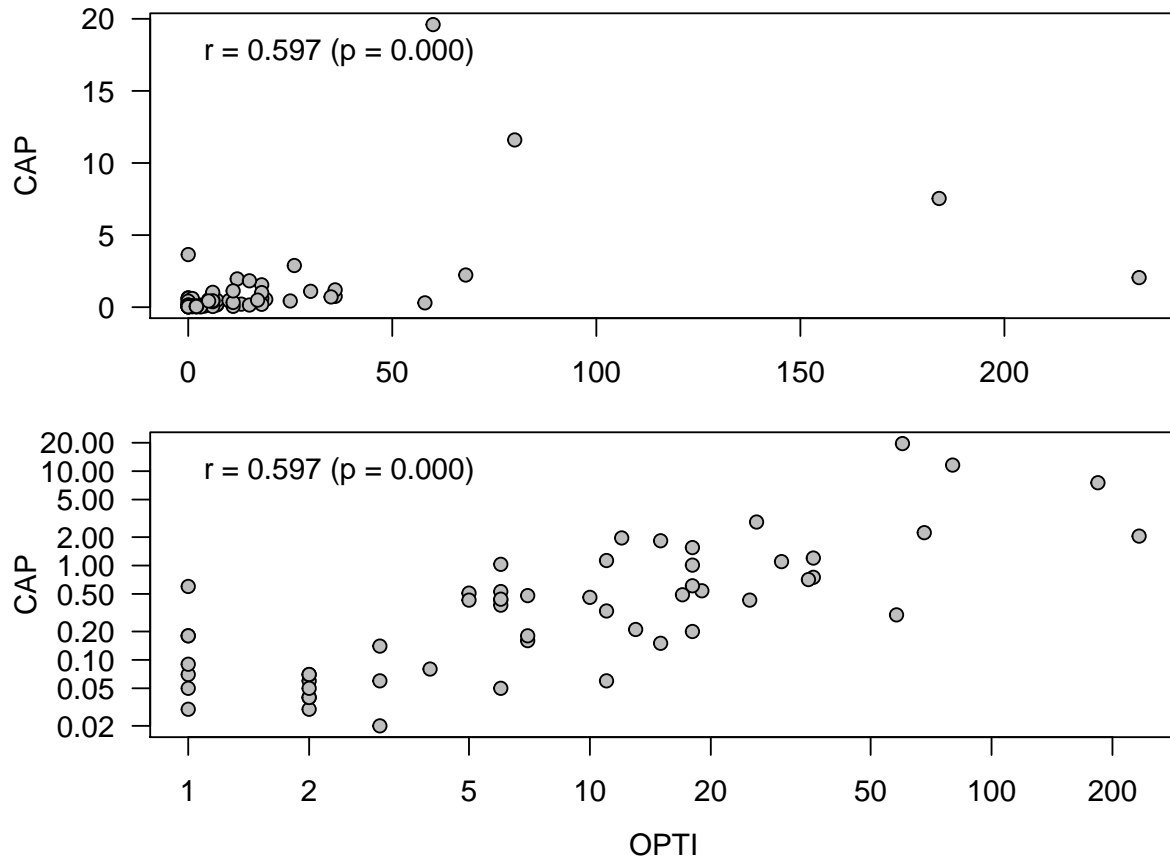
	0	1	2	3	4	5	6
0	78	1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0



15 Weizen

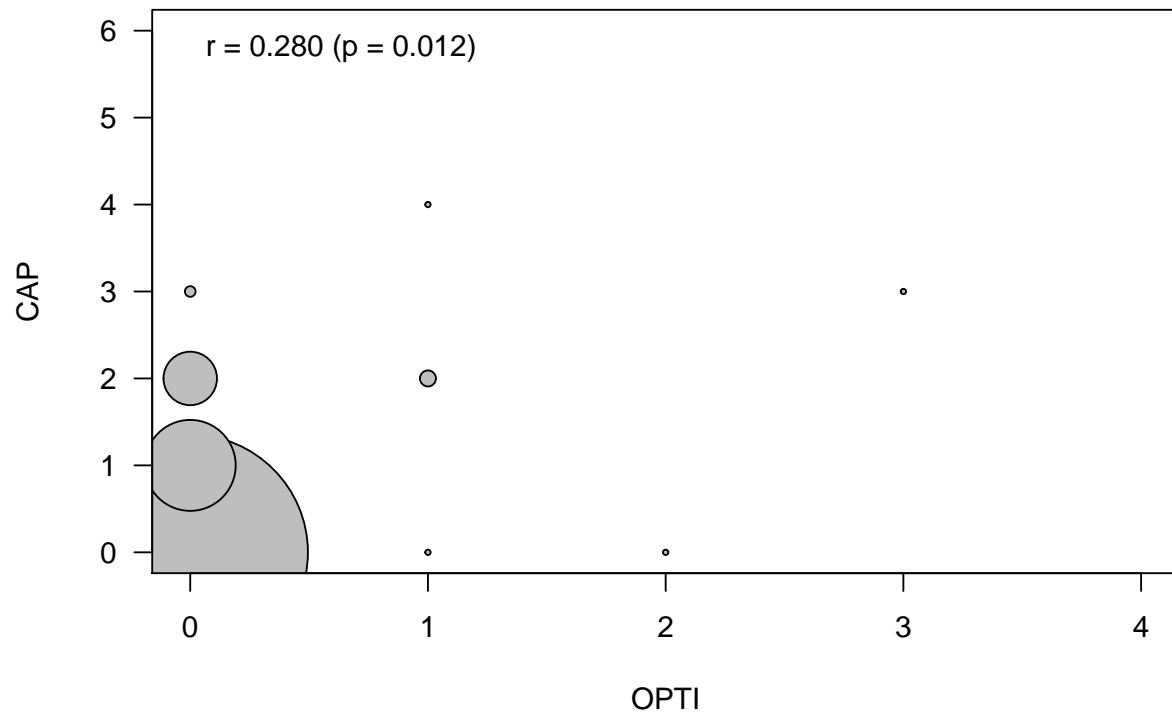
15.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

15.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



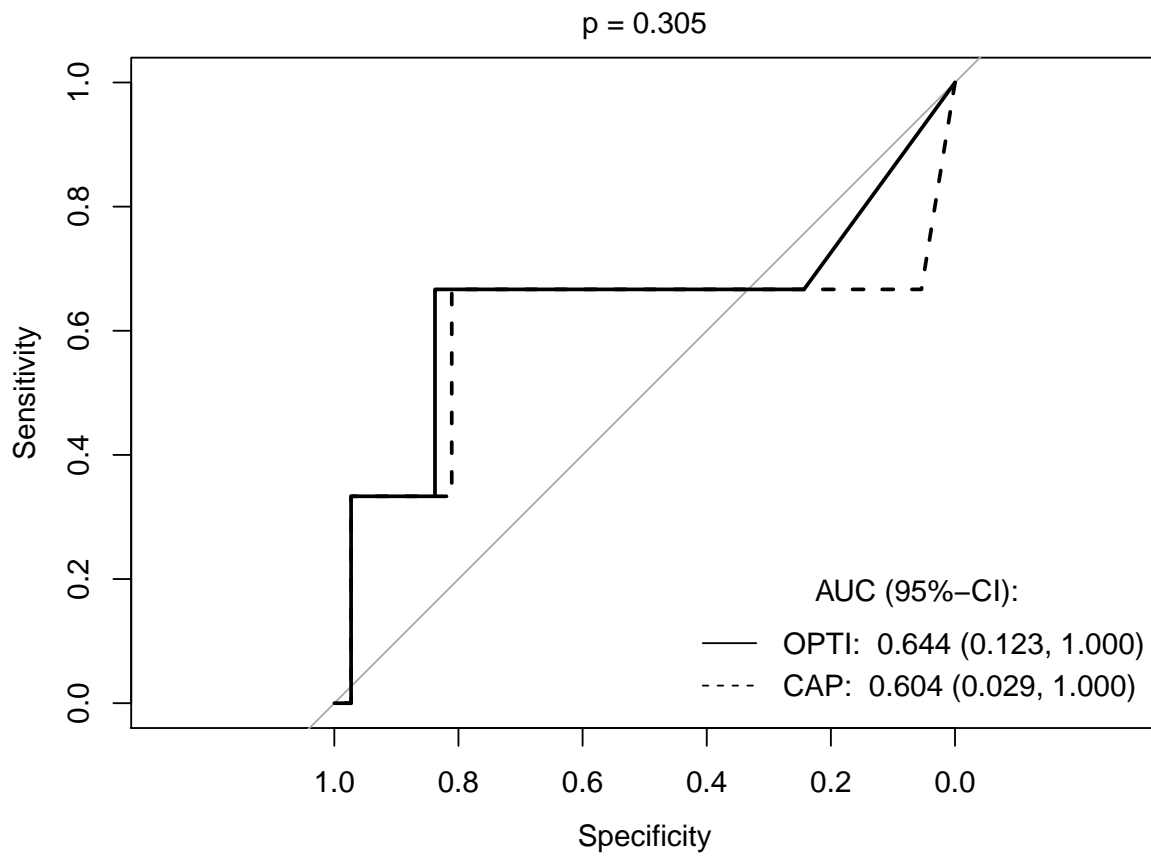
15.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	44	17	10	2	0	0	0
1	1	0	3	0	1	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0

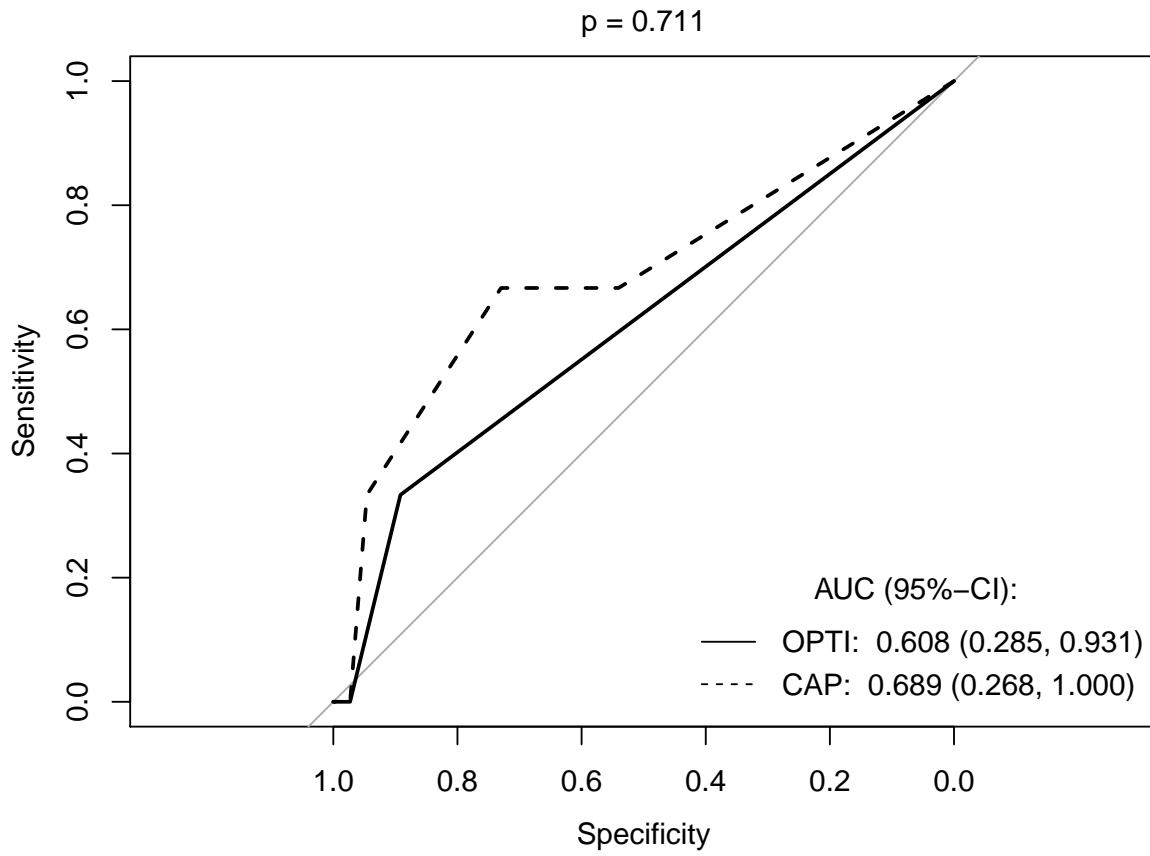


15.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

15.2.1 ROC der gemessenen Werte



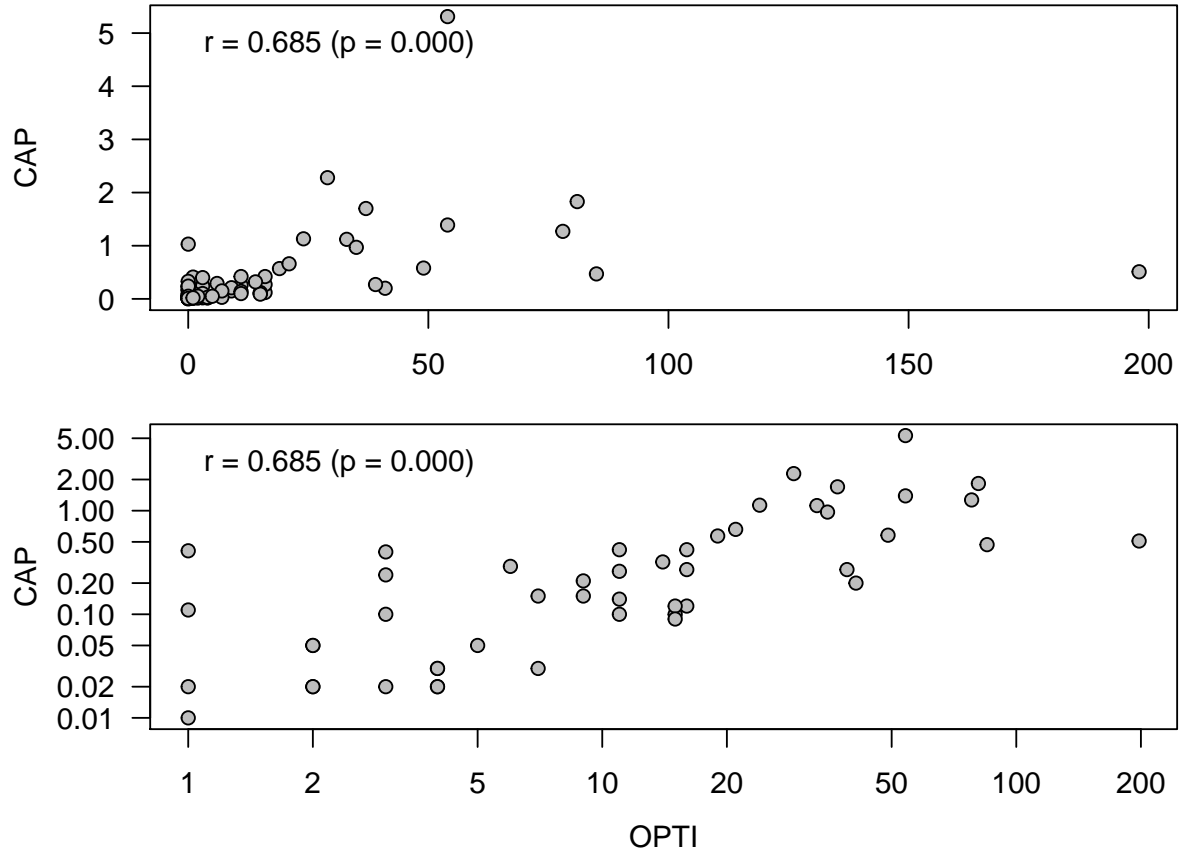
15.2.2 ROC der ermittelten Klassen



16 Sojabohne

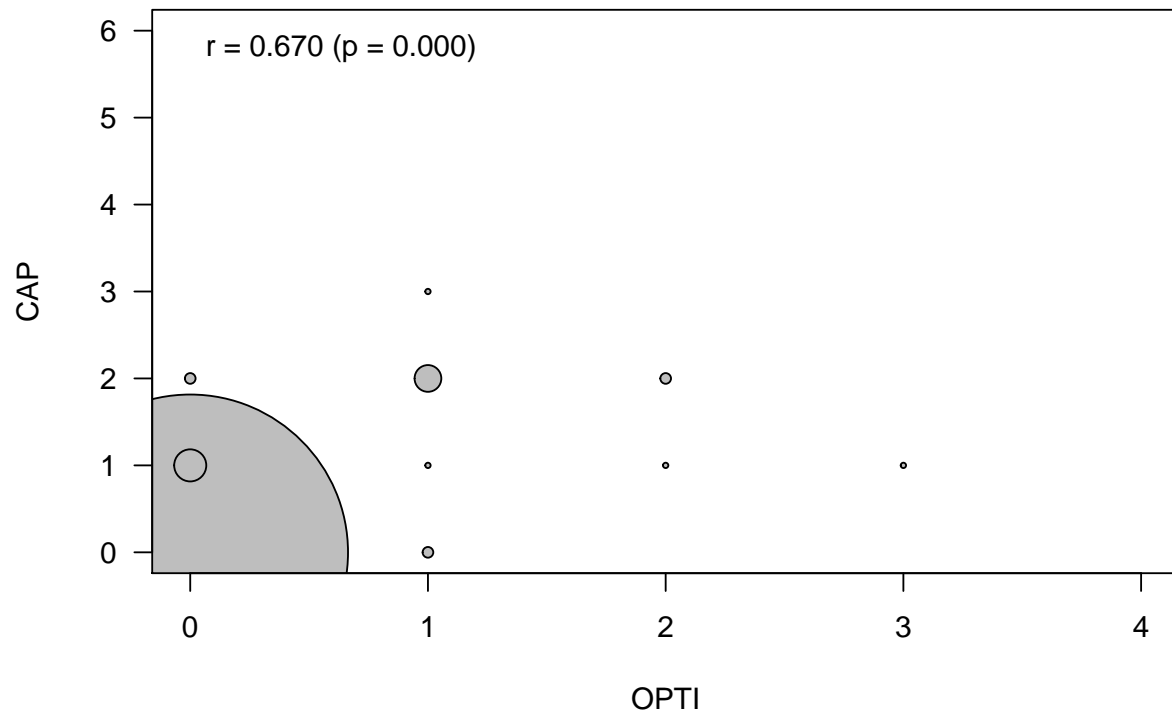
16.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

16.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



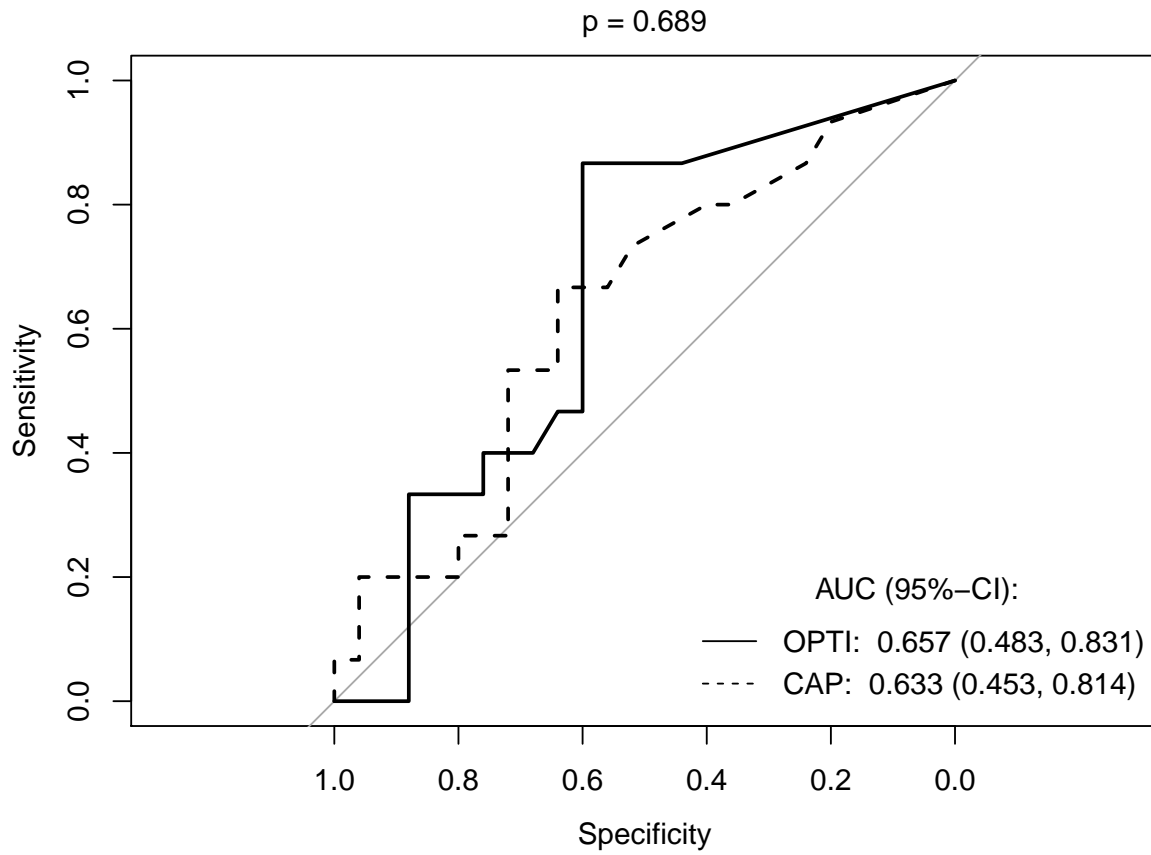
16.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	59	6	2	0	0	0	0
1	2	1	5	1	0	0	0
2	0	1	2	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0

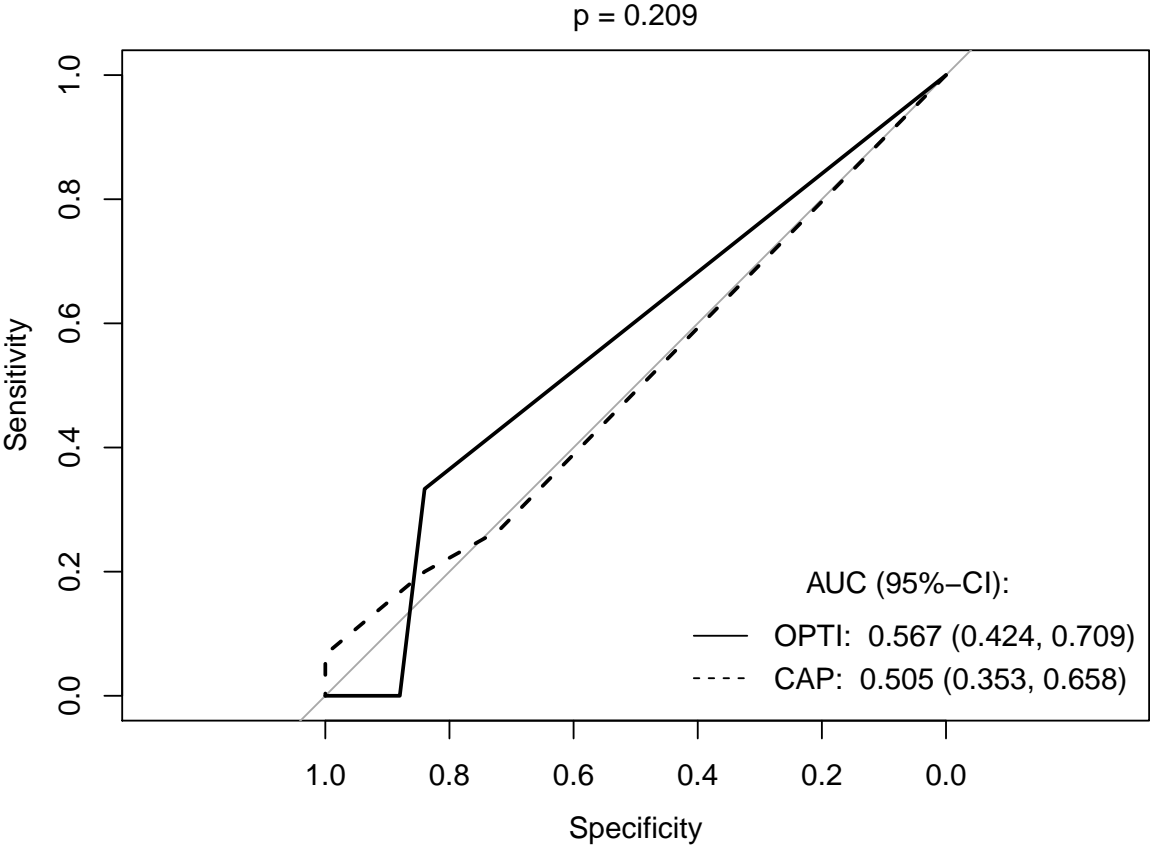


16.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

16.2.1 ROC der gemessenen Werte



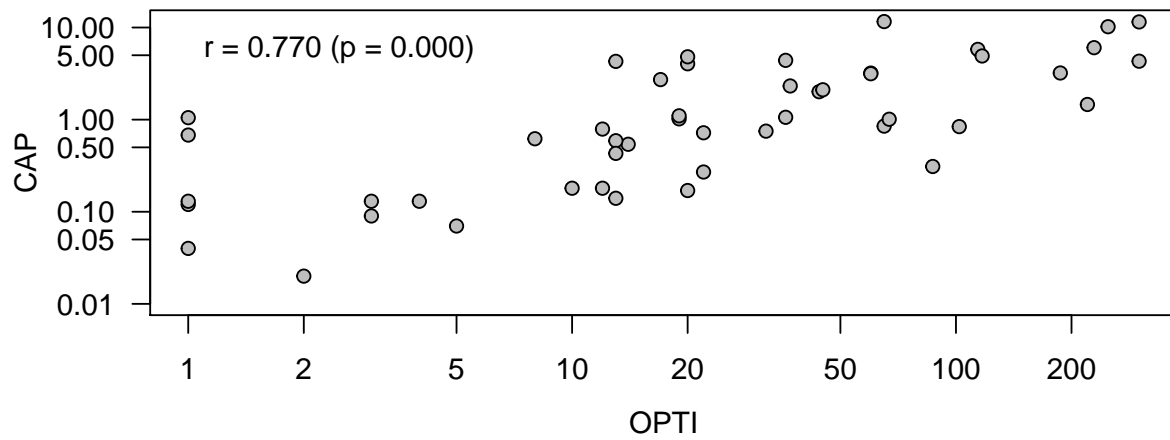
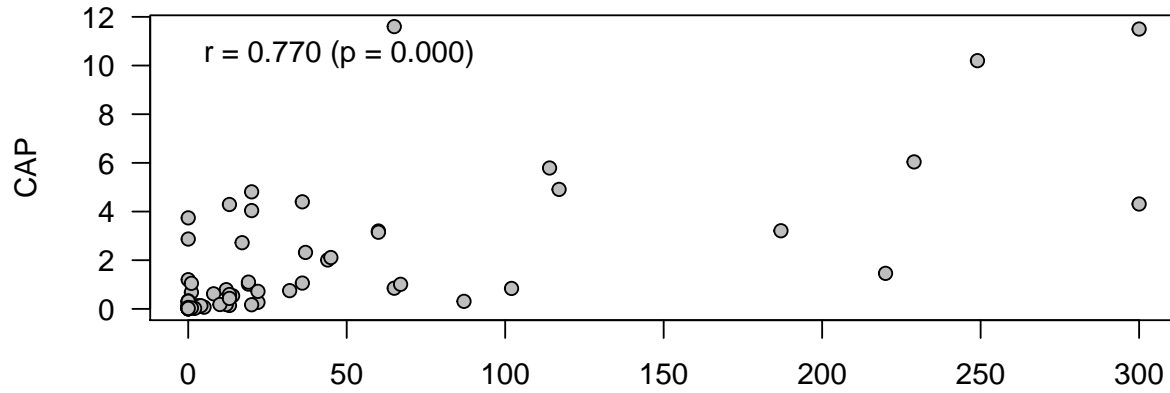
16.2.2 ROC der ermittelten Klassen



17 Erdnuss

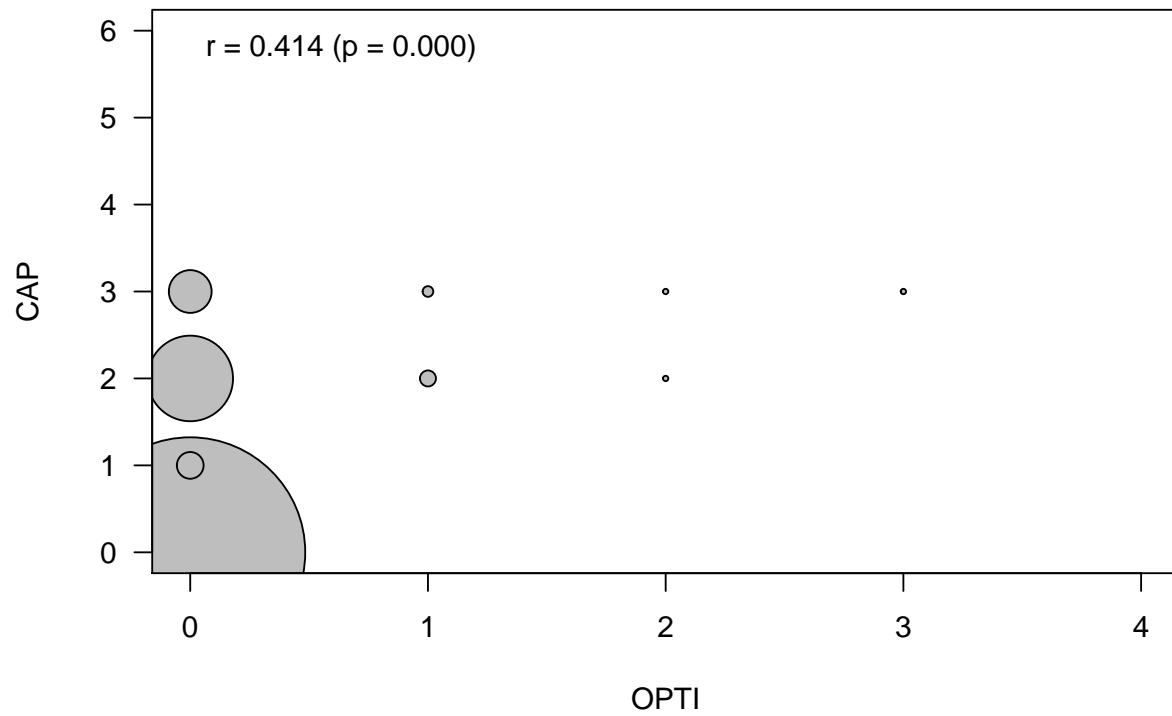
17.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

17.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



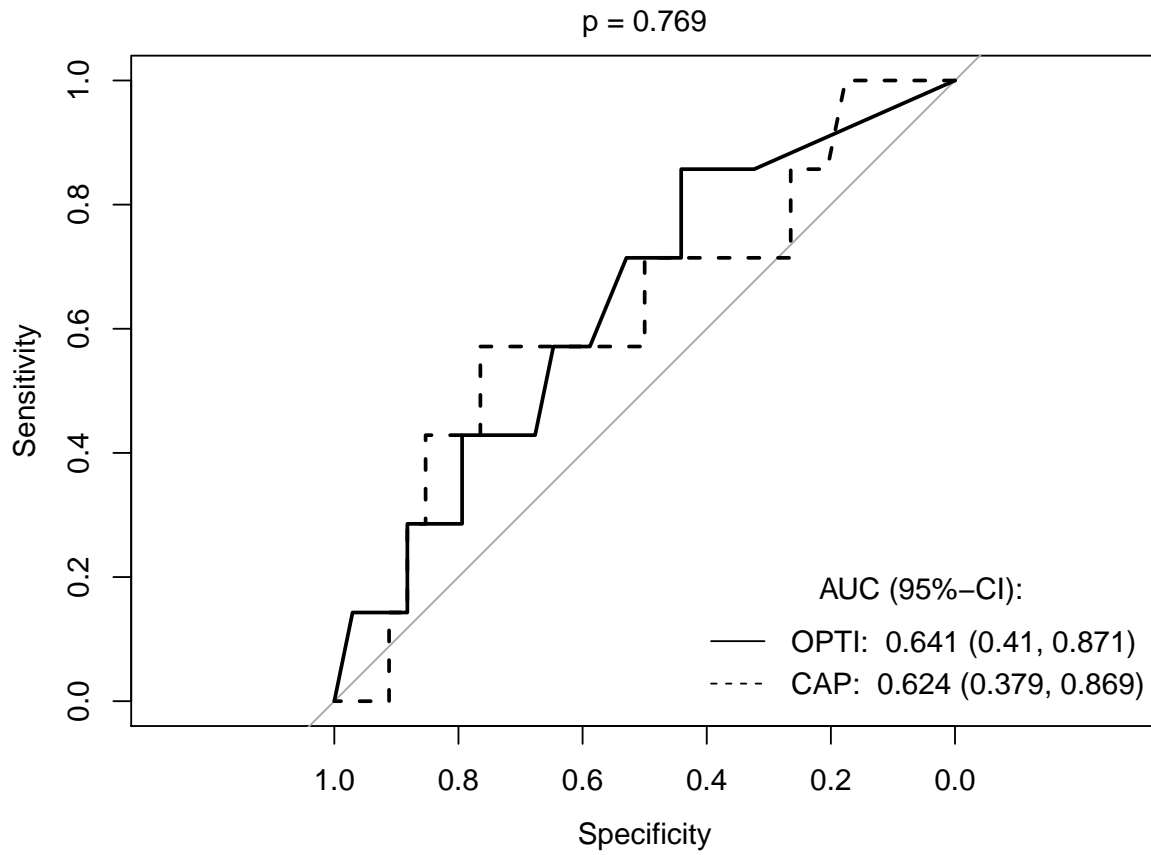
17.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	43	5	16	8	0	0	0
1	0	0	3	2	0	0	0
2	0	0	1	1	0	0	0
3	0	0	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0

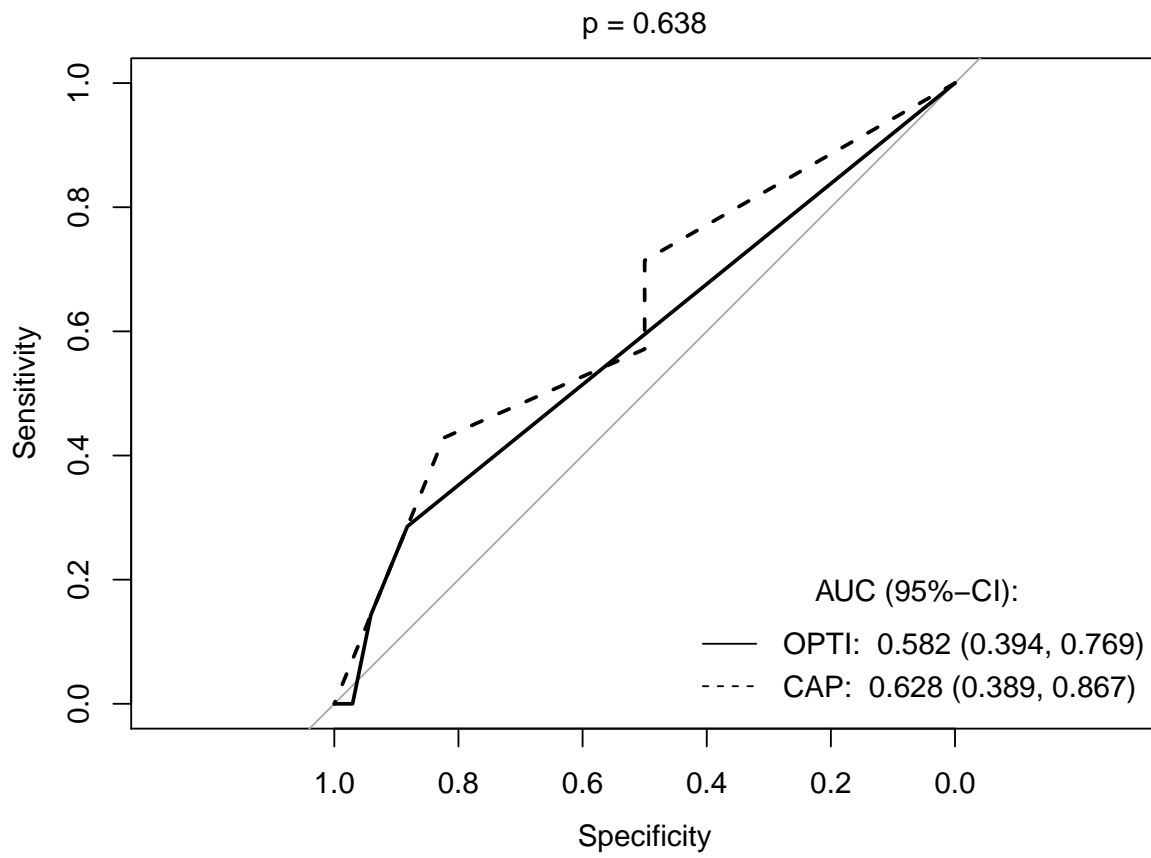


17.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

17.2.1 ROC der gemessenen Werte



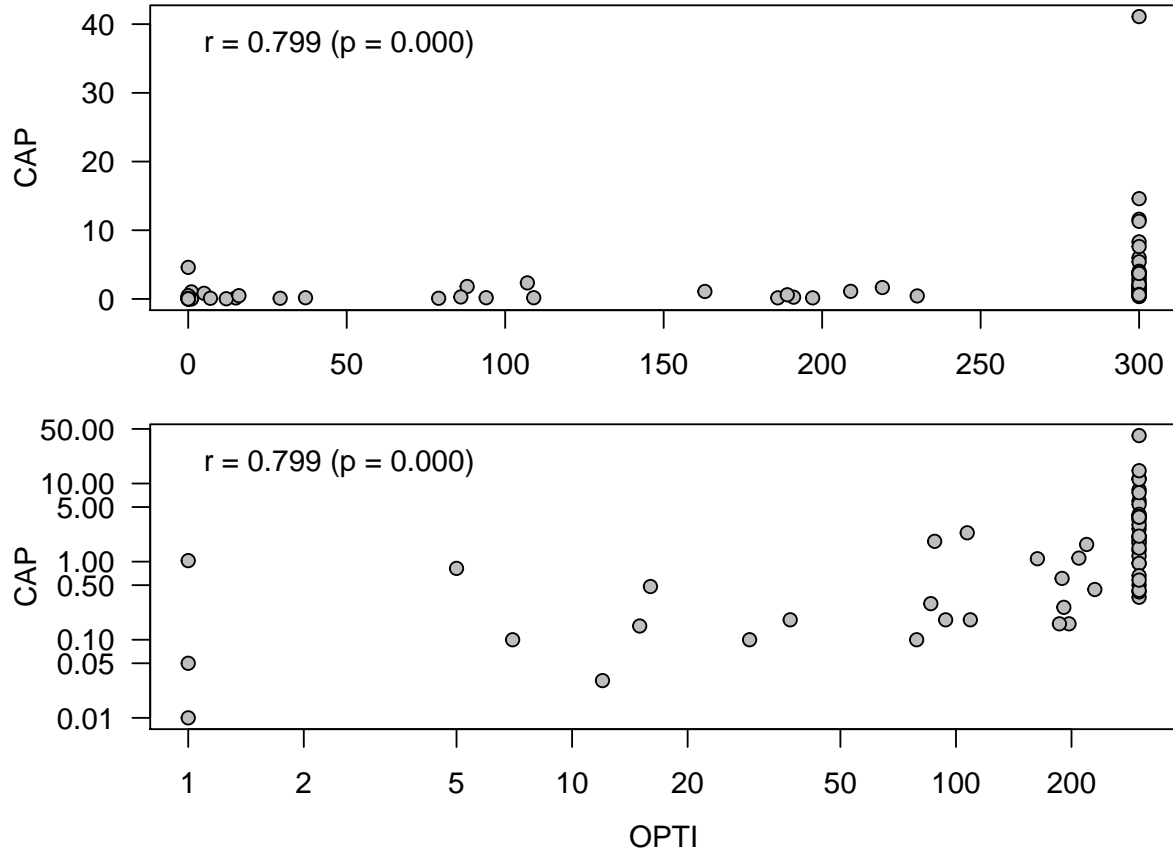
17.2.2 ROC der ermittelten Klassen



18 Apfel

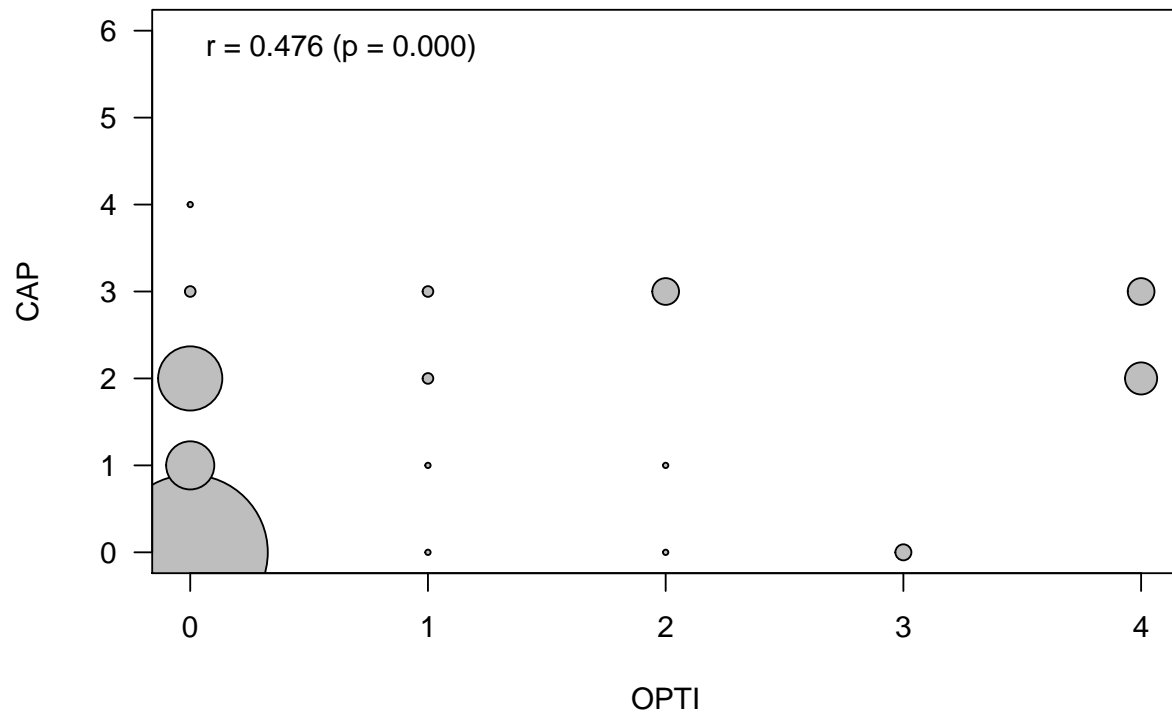
18.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

18.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



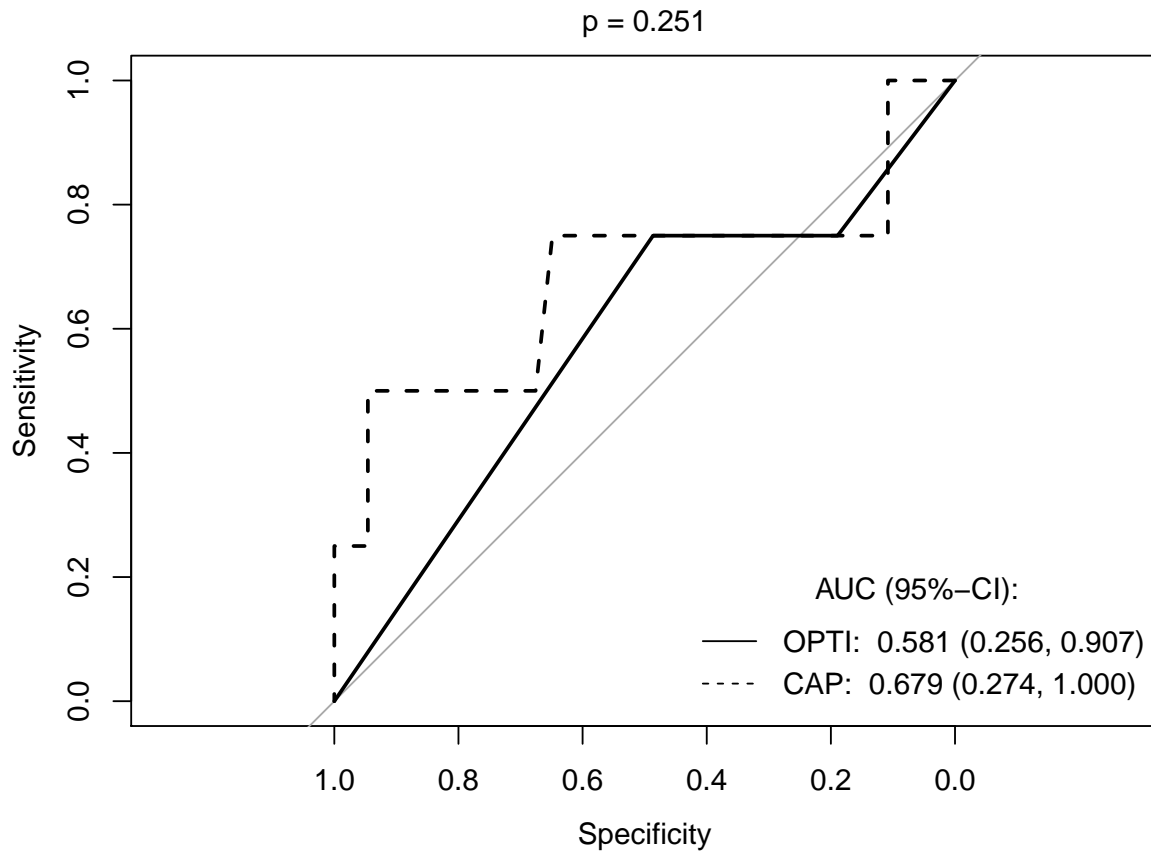
18.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	29	9	12	2	1	0	0
1	1	1	2	2	0	0	0
2	1	1	0	5	0	0	0
3	3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	6	5	0	0	0

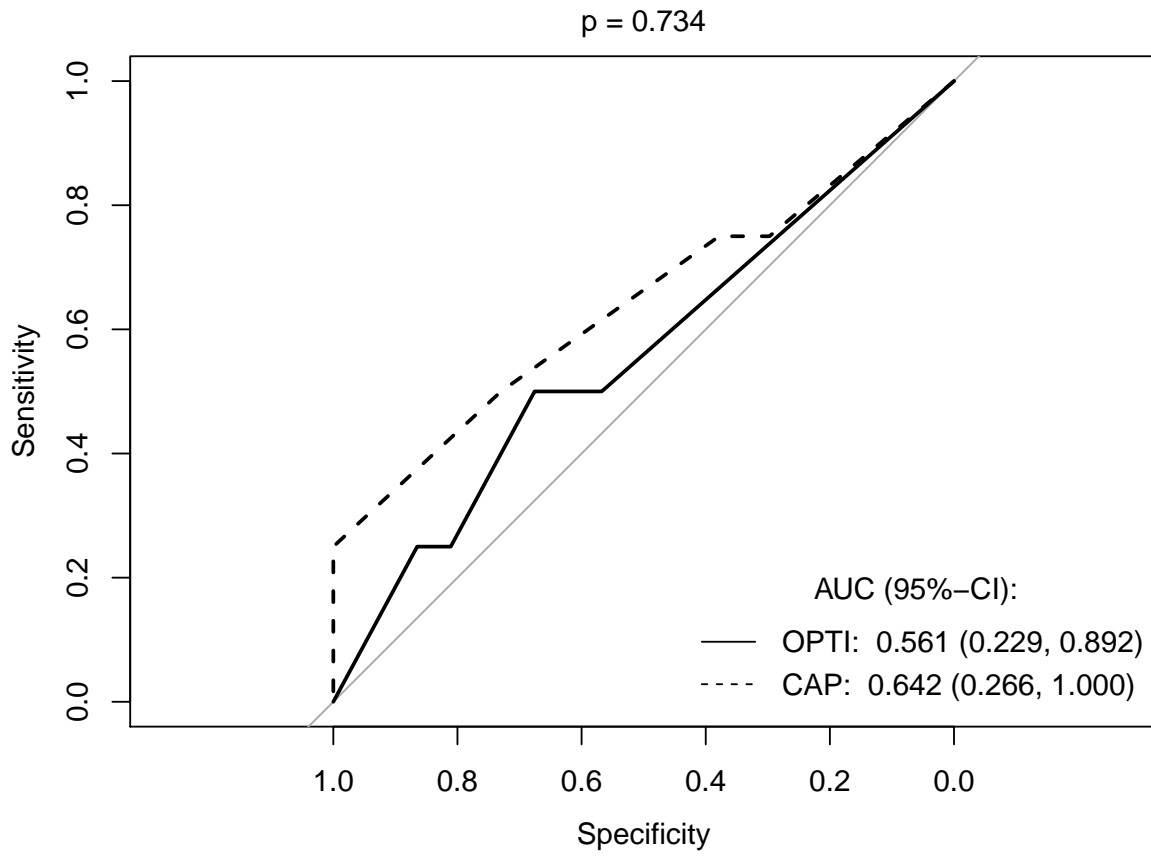


18.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

18.2.1 ROC der gemessenen Werte



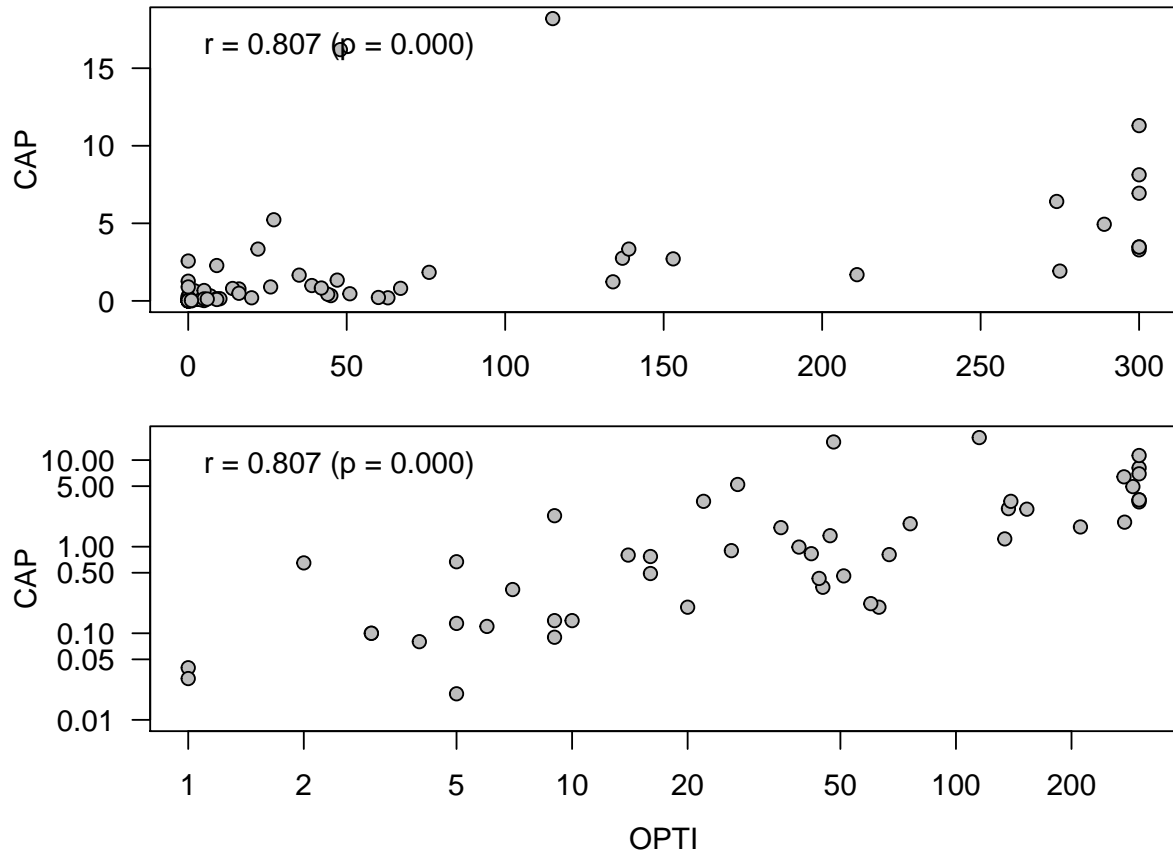
18.2.2 ROC der ermittelten Klassen



19 Karotte

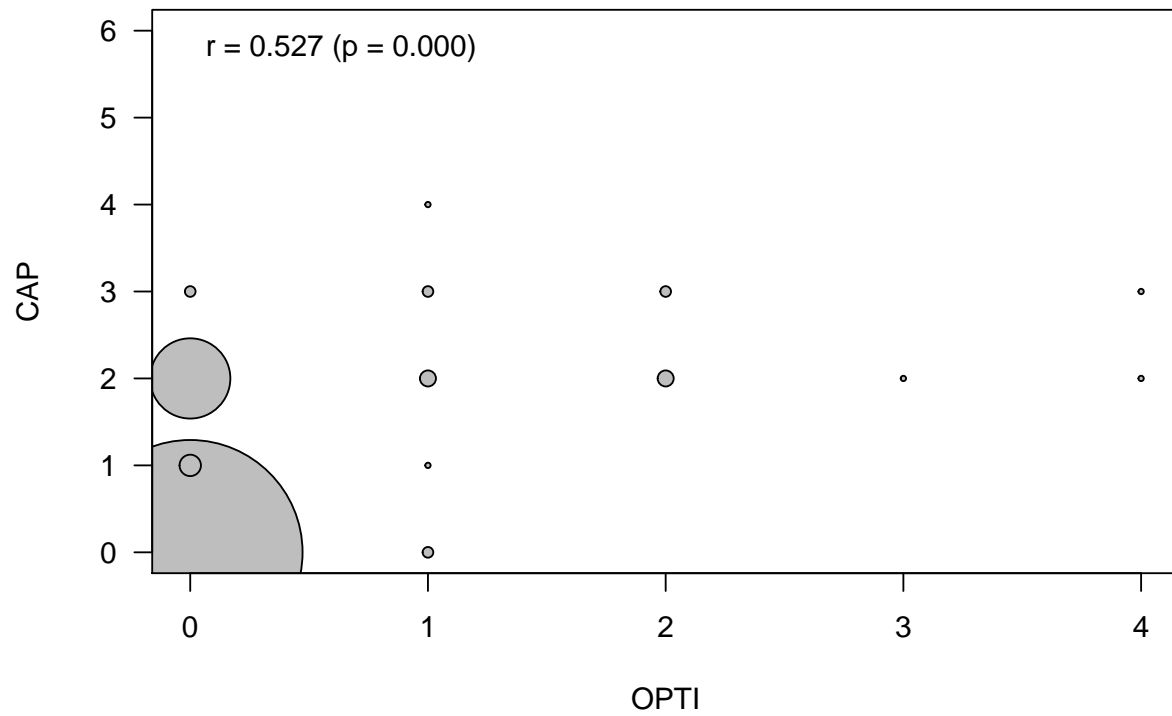
19.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

19.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



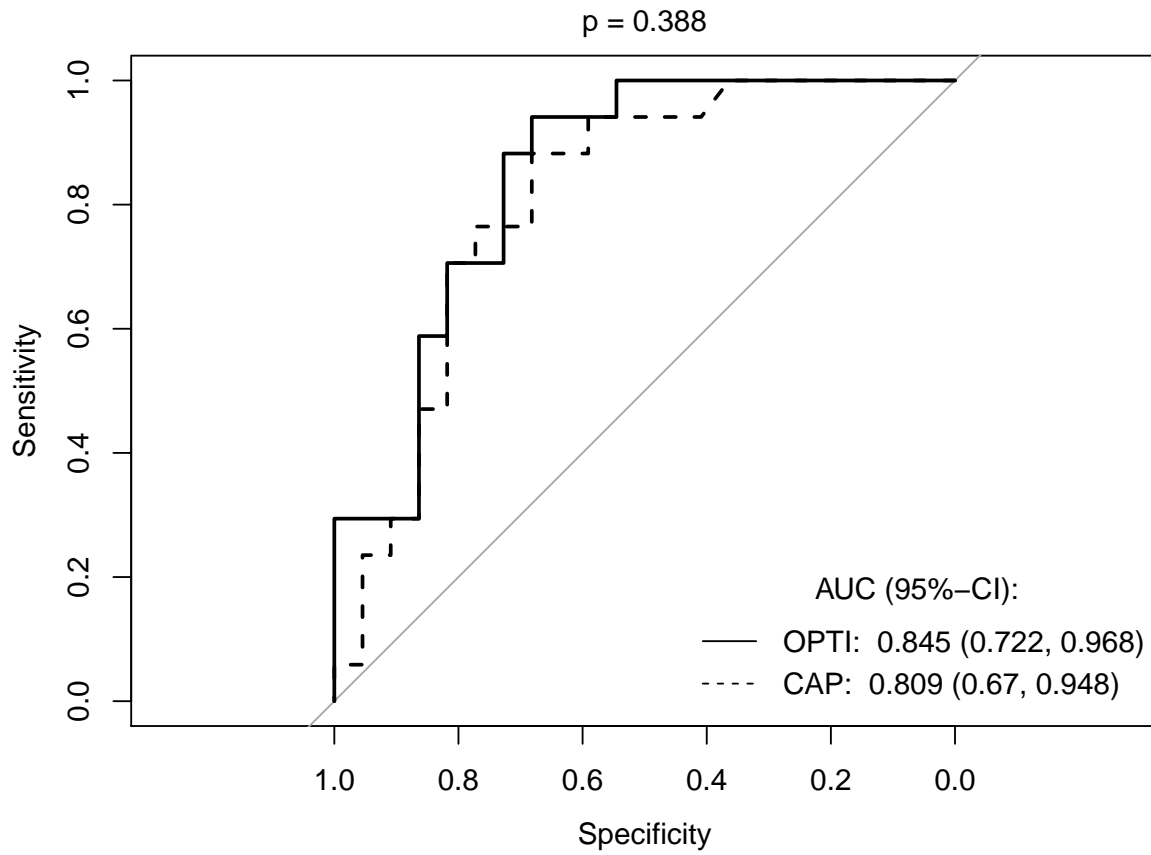
19.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	42	4	15	2	0	0	0
1	2	1	3	2	1	0	0
2	0	0	3	2	0	0	0
3	0	0	1	0	0	0	0
4	0	0	1	1	0	0	0

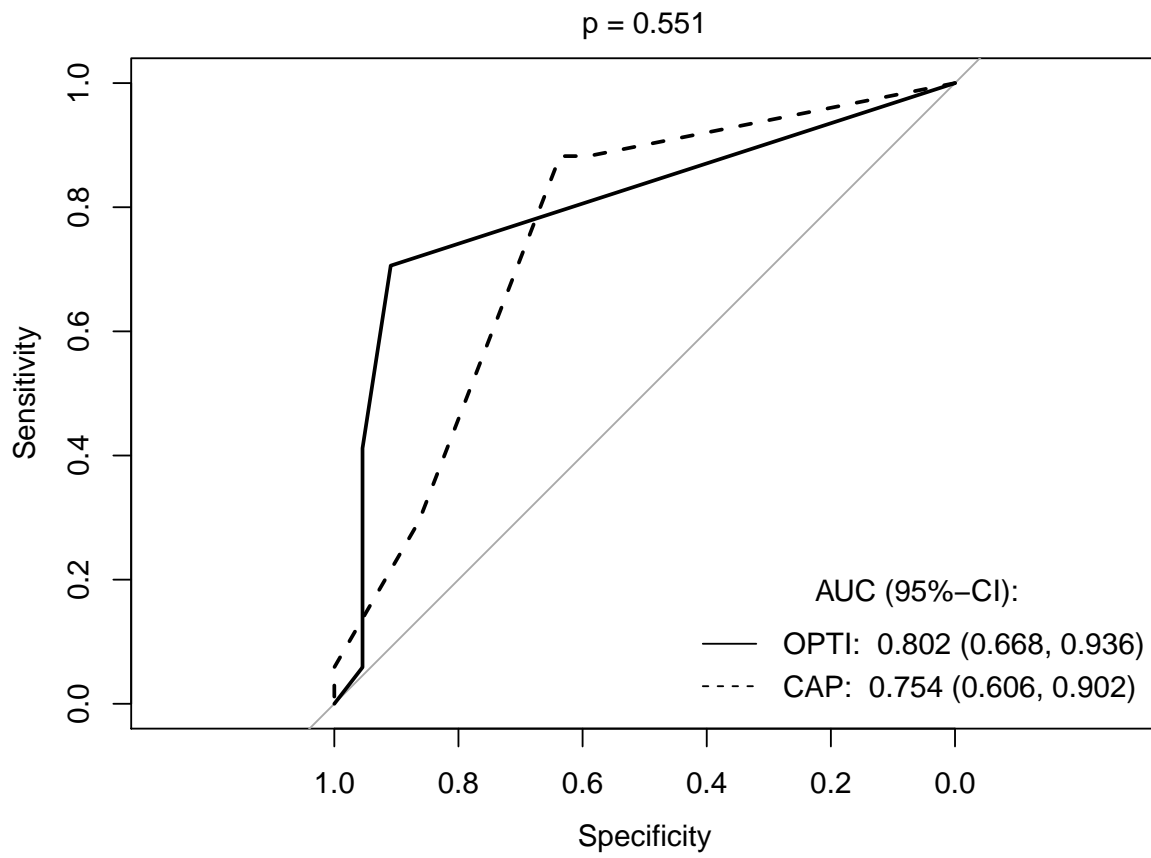


19.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

19.2.1 ROC der gemessenen Werte



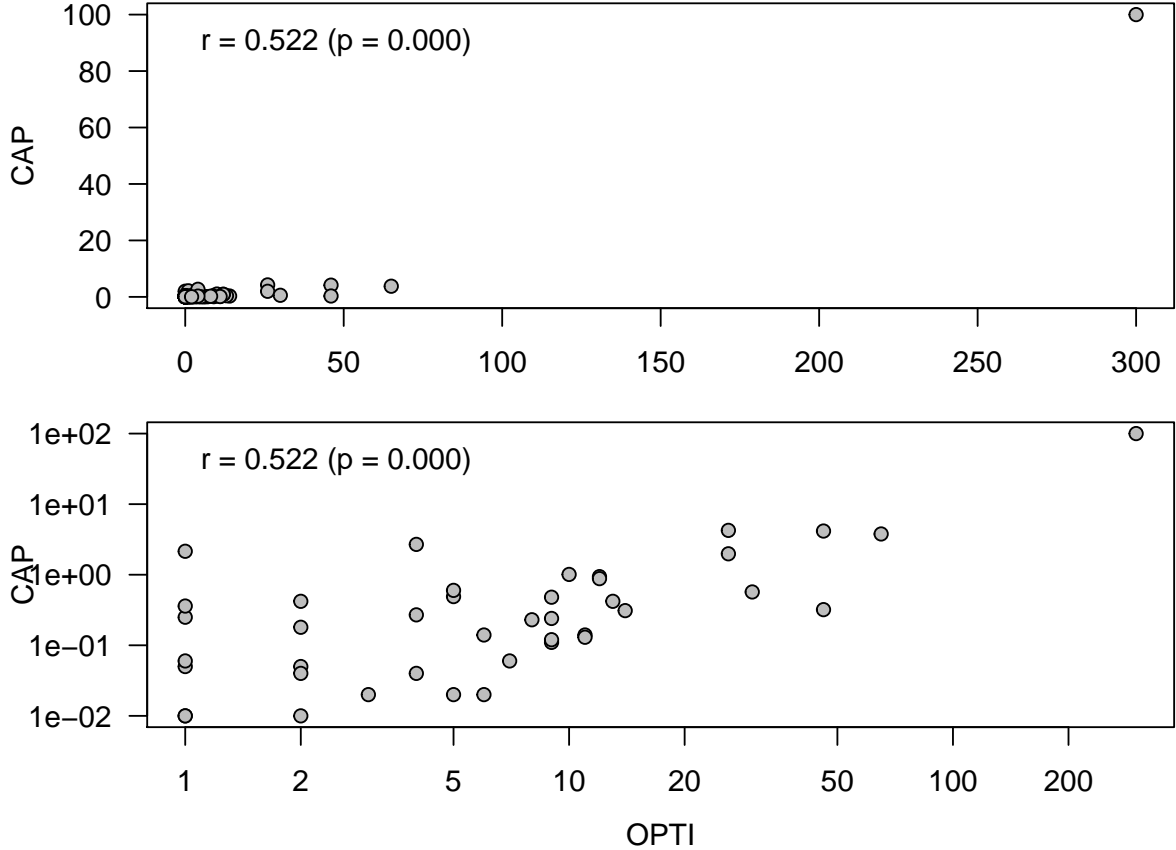
19.2.2 ROC der ermittelten Klassen



20 Latex

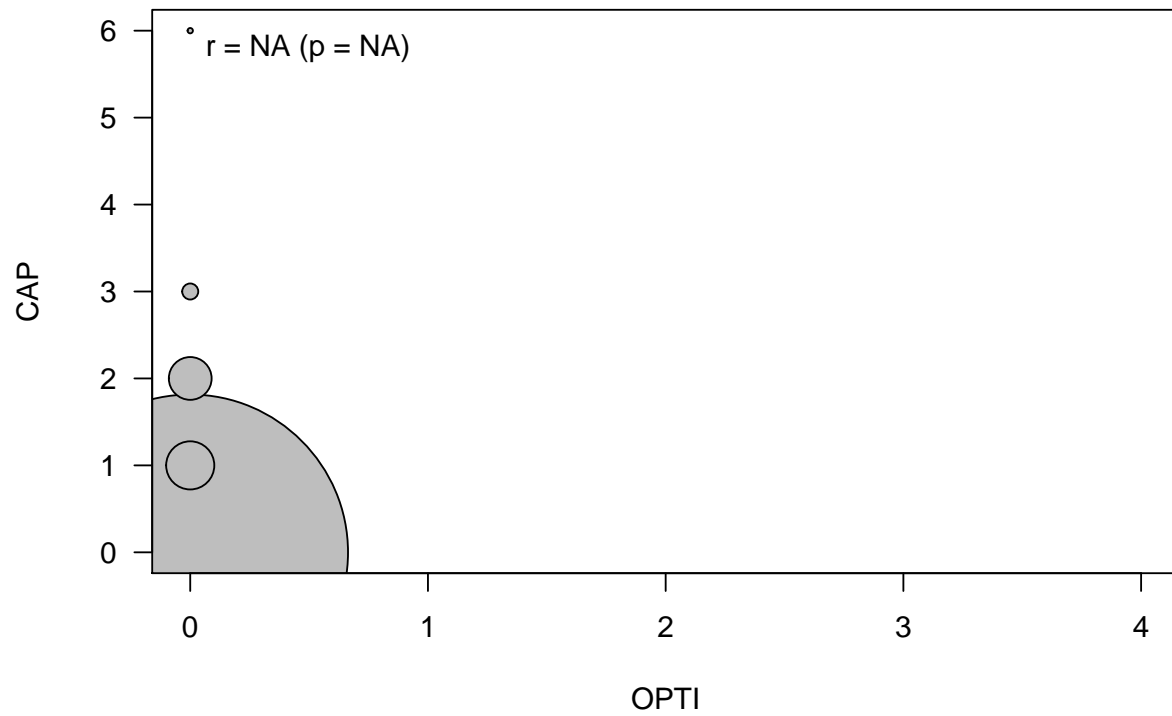
20.1 Korrelation (nach Spearman) von OPTI mit CAP

20.1.1 Korrelation der gemessenen Werte



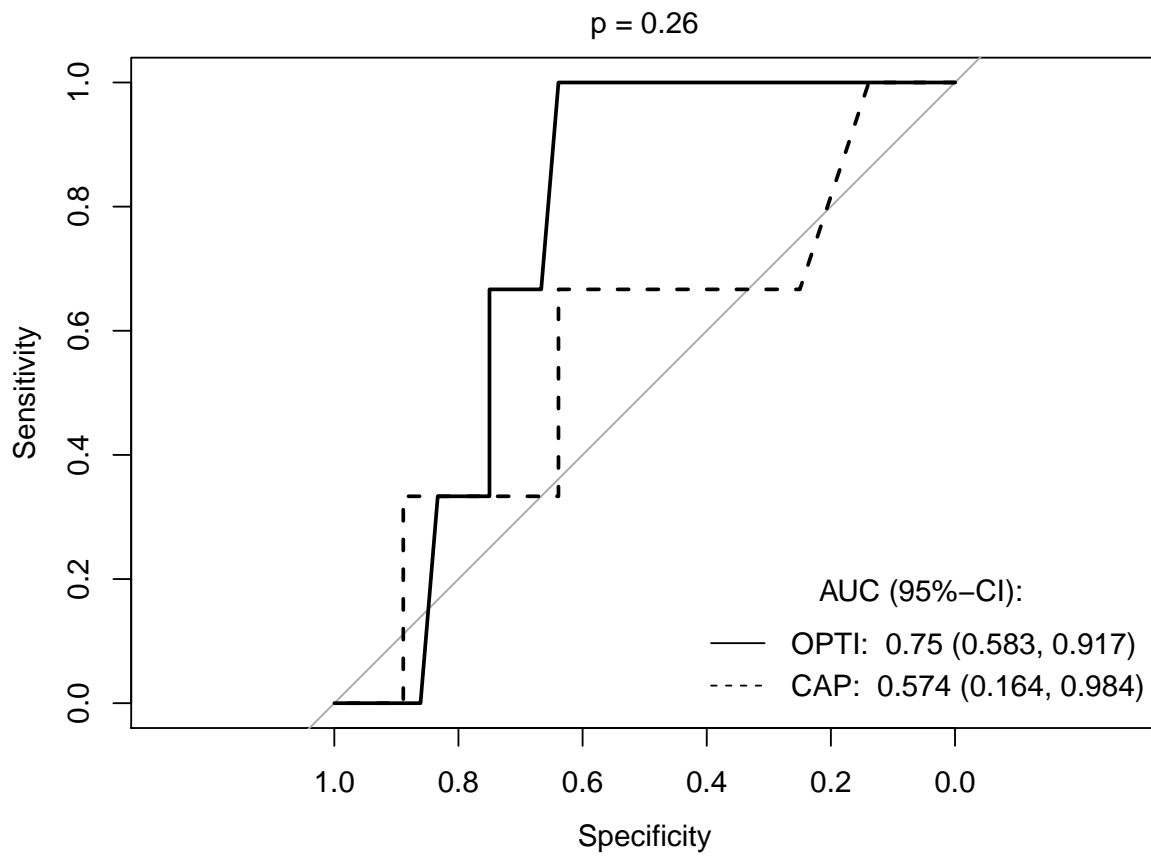
20.1.2 Korrelation der ermittelten Klassen

	0	1	2	3	4	5	6
0	59	9	8	3	0	0	1
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0

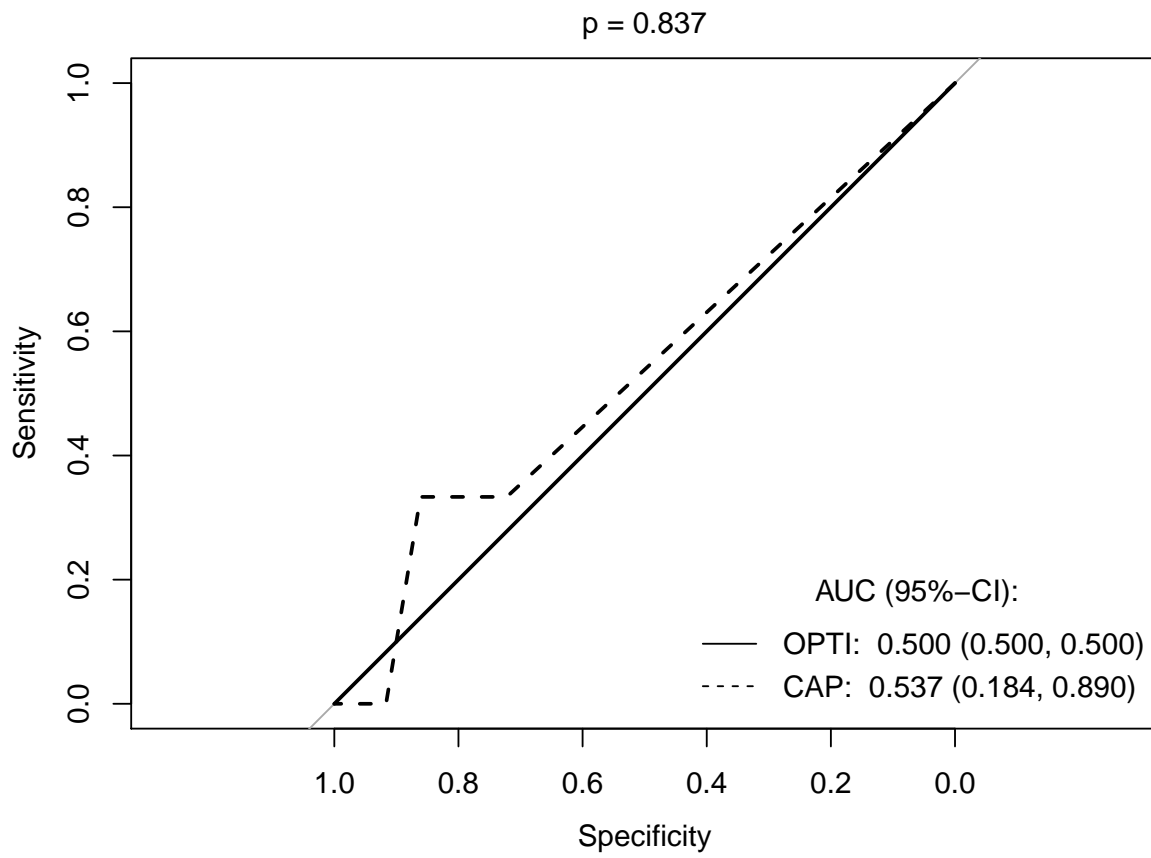


20.2 Diskriminative Güte von OPTI und CAP in Referenz auf die Prick Klassifikation (+/-)

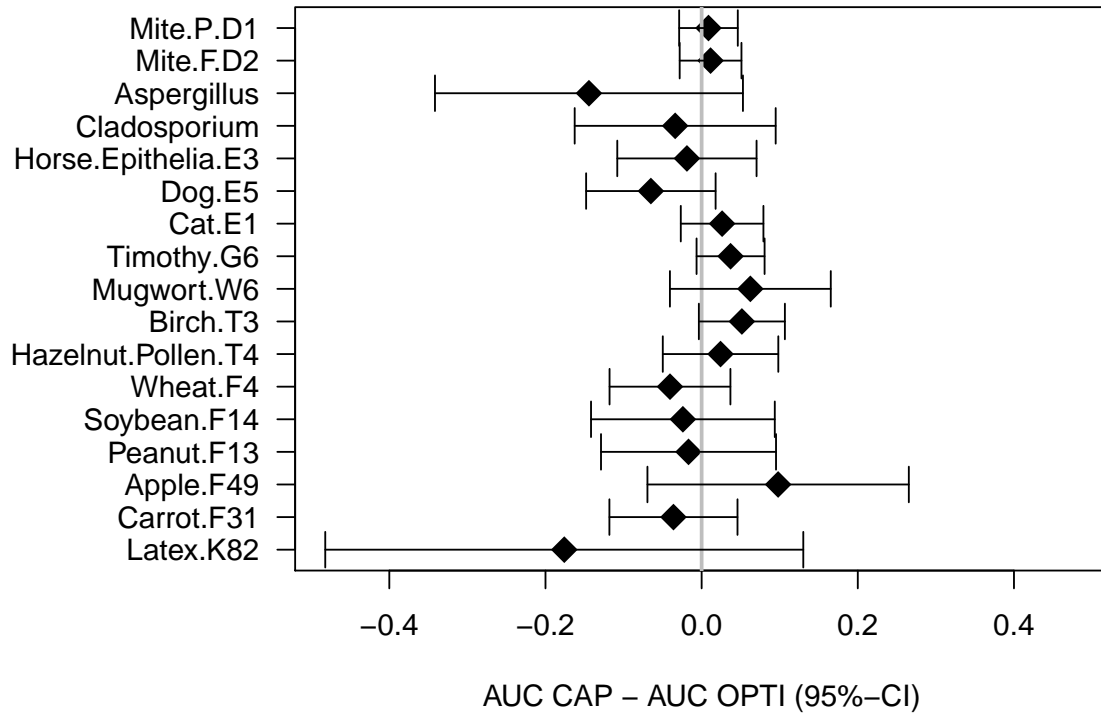
20.2.1 ROC der gemessenen Werte



20.2.2 ROC der ermittelten Klassen



21 ROC der gemessenen Werte, Zusammenfassung



22 ROC der ermittelten Klassen, Zusammenfassung

