

**Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie am  
Biederstein des Klinikums rechts der Isar der  
Technischen Universität München  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. J. Ring)**

**Die Bedeutung des Human-Basophilen-Degranulationstests (HBDT)  
in der Diagnostik der Insektengiftallergie**

**Ursula Rüter**

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Dr. J. Ring

2. Univ.-Prof. Dr. M. W. Ollert

Die Dissertation wurde am 02.02.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.09.2007 angenommen.

## INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	V
<b>1. Einleitung</b>	1
1.1 Allgemeines	1
1.2 Epidemiologie der Insektengiftallergie	5
1.3 Taxonomie der wichtigsten Hymenoptera	5
1.4 Insektengift	6
1.5 Klinisches Erscheinungsbild	7
1.6 Pathogenese	9
1.7 Diagnostik der Insektengiftallergie	9
1.8 Entwicklung des HBDT	12
1.9 Fragestellung der Arbeit	13
<b>2. Patientengut, Material und Methoden</b>	14
2.1 Hauttest	14
2.2 RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test)	15
2.3 In-vitro-Histaminfreisetzung (Histamin Release Test)	17
2.4 Human-Basophilen-Degranulationstest (Allergolam®)	21
2.5 Diagnosekriterien Allergie	27

	Seite
<b>3. Statistische Auswertung</b>	29
<b>4. Ergebnisse</b>	31
<b>4.1 Alter und Geschlecht der Probanden</b>	31
<b>4.2 Einteilung der Patienten</b>	32
<b>4.3 Ergebnisse des HBDT</b>	34
<b>4.4 Resultat des In-vitro-Histaminfreisetzungstests     (Histamin Release Test)</b>	38
<b>4.5 Resultat des RAST</b>	39
<b>4.6 Resultat des Intrakutan- bzw. Pricktests</b>	41
<b>4.7 Vierfelderkorrelation</b>	42
4.7.1 <i>HBDT und Histamin Release Test</i>	42
4.7.2 <i>HBDT und RAST</i>	43
4.7.3 <i>HBDT und Hauttest</i>	44
<b>4.8 Korrelationen</b>	44
4.8.1 <i>Vergleich des HBDT mit dem Histamin         Release Test nach Inkubation mit Bienengift         in verschiedenen Konzentrationen</i>	44
4.8.2 <i>Vergleich des HBDT mit dem Histamin         Release Test nach Inkubation mit Wespengift         in verschiedenen Konzentrationen</i>	47
4.8.3 <i>Vergleich des HBDT mit dem RAST für         Bienengift</i>	50
4.8.4 <i>Vergleich des HBDT mit dem RAST für         Wespengift</i>	53

## Inhaltsverzeichnis

---

	Seite
<b>5. Vergleich von HBDT mit dem Goldstandard: Anamnese, Hauttest und RAST</b>	56
5.1 Bienengift	56
5.2 Wespengift	57
<b>6. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des HBDT</b>	58
<b>7. Diskussion</b>	62
<b>8. Zusammenfassung</b>	72
<b>9. Literatur</b>	75
<b>10. Anhang</b>	86
<b>Lebenslauf</b>	
<b>Danksagung</b>	

### ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

b	Bienengiftallergie
BDT	Basophilen-Degranulationstest
b+w	Bienen- und Wespengiftallergie
bow	Bienen- oder Wespengiftallergie
CAP	Carrier-Polymer-System
CAST	Cellular-Antigen-Stimulations-Test
DI	Degranulationsindex
di	Degranulationsindex
ELISA	Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay
FEIA	Fluoro-Enzyme-Immuno-Assay
HBDT	Human-Basophilen-Degranulationstest
hbdt	Human-Basophilen-Degranulationstest
hr	Histamin Release Test = In-vitro-Histaminfreisetzung
HRT	Histamin Release Test = In-vitro-Histaminfreisetzung
ic	Intrakutantest
m	männlich
neg	negativ
pos	positiv
pr	Pricktest
PRIST	Papierscheiben-Radioimmunosorbent-Test
r	Korrelationskoeffizient
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
SLT	Sulfidoleukotriene
SPSS	Statistical Package for the Social Science (Software für Windows) Statistische Datenanalyse
U	Units
vab	Verdacht auf Bienengiftallergie

## Abkürzungsverzeichnis

---

vaw	Verdacht auf Wespengiftallergie
vs.	versus
w	weiblich
W	Wespengiftallergie
zzna	Zellzahl nicht auswertbar

## 1. Einleitung

---

### 1. Einleitung

#### 1.1 Allgemeines



Franz R. starb im Alter von 21 Jahren am 13.6.1968 am Stich einer einzigen Biene.

Laut Aussage seiner Mutter war bei dem jungen Mann eine ‚Überempfindlichkeit‘ auf Bienenstiche schon länger bekannt.

Der Begriff ‚Allergie‘ in Zusammenhang mit Insekten war zu dieser Zeit auf dem Lande nicht geläufig. Anamnestisch reagierte der Patient mit ‚Schwellung‘ und ‚Ausschlag‘ auf frühere Stichereignisse.

## 1. Einleitung

---

Ob durch damals vorhandene therapeutische Maßnahmen das Leben des jungen Mannes hätte gerettet werden können, der auf einem Einödhof in Oberösterreich lebte, ist heute nicht mehr eruierbar.

Dass er jedoch zum heutigen Zeitpunkt bei frühzeitig einsetzender Diagnostik und Therapie der Bienengiftallergie durch Hyposensibilisierung überlebt hätte, ist ziemlich sicher.

Ein weiterer Todesfall nach einem Bienenstich:

Ein 10-jähriges Mädchen brach auf offener Straße mit einem akuten Kreislaufschock zusammen. Alle Reanimationsmaßnahmen blieben erfolglos. Das Kind hatte zuvor aus einem Tetrapack Eistee getrunken. Bei der gerichtsmedizinischen Untersuchung wurde im Mund des Mädchens der Giftstachel einer Biene gefunden. Im Blut zeigten sich eine Erhöhung des Gesamt-IgE-Spiegels sowie spezifisch erhöhte Titer gegen Bienen- und Wespengift. Todesursache war ein durch eine allergische Reaktion ausgelöster Bronchospasmus nach Stich durch eine Honigbiene [40].

Todesfälle in Zusammenhang mit Hymenopterenstichen werden in der Literatur immer wieder erwähnt.

War Pharao Menes wirklich der erste bekannte Allergiker, der laut Hieroglypheninschrift im Jahr 2641 v. Chr. am Stich einer Wespe starb [24]? Oder wurde er doch von einem Nilpferd getötet, wie Manethon, Priester aus Theben und erster ägyptischer Geschichtsschreiber, im 3. Jahrhundert v. Chr. beschrieb [34]?

Die erste klinische Beschreibung eines plötzlichen Todes nach Insektenstich stammt aus dem Jahre 1765 von Dr. Desbret, königlicher Berater und Arzt der Universität von Montpellier. Er berichtete über die



## 1. Einleitung

---

Beobachtung eines 30-jährigen Landwirts, der innerhalb kürzester Zeit nach einem Bienenstich an einem allergischen Schock verstarb [5].

Im englischsprachigen Raum weist eine ehemalige Grabinschrift in den USA auf eine Insektengiftallergie hin. Sie zeugt vom Tod des Timothy Ryan am 12. Mai 1914 durch einen Bienenstich. Der Grabstein wurde durch „Winter, Wind und Frost“ zerstört, die Inschrift jedoch überliefert.

“In memory of Timothy Ryan  
Who died May 12<sup>th</sup> 1814  
In the 66<sup>th</sup> year of his age.  
A thousand ways cut short our days.  
None are exempt from death.  
A honey bee by stinging me  
Did stop my mortal breath.  
This grave contains the last remains  
Of my frail house of clay.  
My soul is gone not to return  
To one eternal day.  
Friends one and all both great and small  
Behold where I do lie.  
While you are here for death prepare  
Remember you must die.” [9]

Weitere geschichtliche Hinweise auf Insektenstichreaktionen finden wir in den USA in einem Briefwechsel des “physician“ Jonathan Mease 1836 [17] sowie in Deutschland bei Husemann [23].

Wobei natürlich berücksichtigt werden muss, dass man retrospektiv meist nicht genau unterscheiden kann, ob eine allergische oder eine toxische Reaktion vorlag oder die Lokalisation des Stiches für die Symptomatik verantwortlich war.

Die eingangs aufgeführten Beispiele zeigen den “worst case“ der anaphylaktischen Reaktion nach Stichen von Hymenopteren.

## 1. Einleitung

---

Die folgende Kasuistik aus der Praxis der Verfasserin soll deutlich machen, wie wichtig die exakte allergologische Diagnostik sowie die konsequente Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie ist. Sie soll aber auch veranschaulichen, wie sehr die Lebensqualität eines nicht behandelten Allergikers eingeschränkt wird.

Kasuistik:

Ein sechsjähriger Junge wird beim Spielen auf einer kleebedeckten Wiese von einer Biene gestochen. Der Stachel wird von den Eltern sofort aus der Fußsohle entfernt. Nach einigen Minuten treten bei dem Kind die Symptome Übelkeit, Erbrechen und Bauchkrämpfe auf. Die Therapie mit Antihistaminika und Kortikosteroiden wird sofort eingeleitet, der Junge überwacht. Es treten keine weiteren Symptome mehr auf.

Nach einer Latenzzeit von vier Wochen zeigt der RAST Klasse 3 auf Bienengift, die Intrakutantestung mit Bienengift ist positiv. Anamnese, RAST und In-vivo-Testung zeigen das Vorliegen einer Bienengiftallergie.

In der Zeit von Diagnosestellung bis Therapiebeginn ändert sich das Leben der Familie. Der Sechsjährige darf nirgends ohne Aufsicht bleiben. Das Kind selbst, der achtjährige Bruder, die Großeltern, die Kindergärtnerinnen, die Mütter der besuchten Freunde usw. werden über die Krankheit, die Gefahren, das Verhalten nach einem Bienenstich und die Notfallmedikation aufgeklärt. Der kleine Allergiker trägt immer seine Notfalltasche bei sich (Kortison, Antihistaminika, Pinzette, Telefonnummern). Diese wechselt von der Kindergartentasche in die Badetasche usw. Auch im Hochsommer werden lange Kleidung und geschlossene Schuhe getragen.

## **1. Einleitung**

---

Nach erfolgreicher Hyposensibilisierung kann das Kind wieder ein normales Leben führen.

### **1.2 Epidemiologie der Insektengiftallergie**

0,8 bis 5 % der Bevölkerung zeigen auf Insektenstiche systemische Reaktionen, 19 % zeigen hypererge Lokalreaktionen.

Jährlich gibt es ca. 10 bis 40 Todesfälle in Deutschland infolge von Stichreaktionen. Man geht jedoch von einer erheblichen Dunkelziffer aus [45, 49]. 3.000 Patienten mit Verdacht auf Insektengiftallergie werden pro Jahr von Notärzten versorgt.

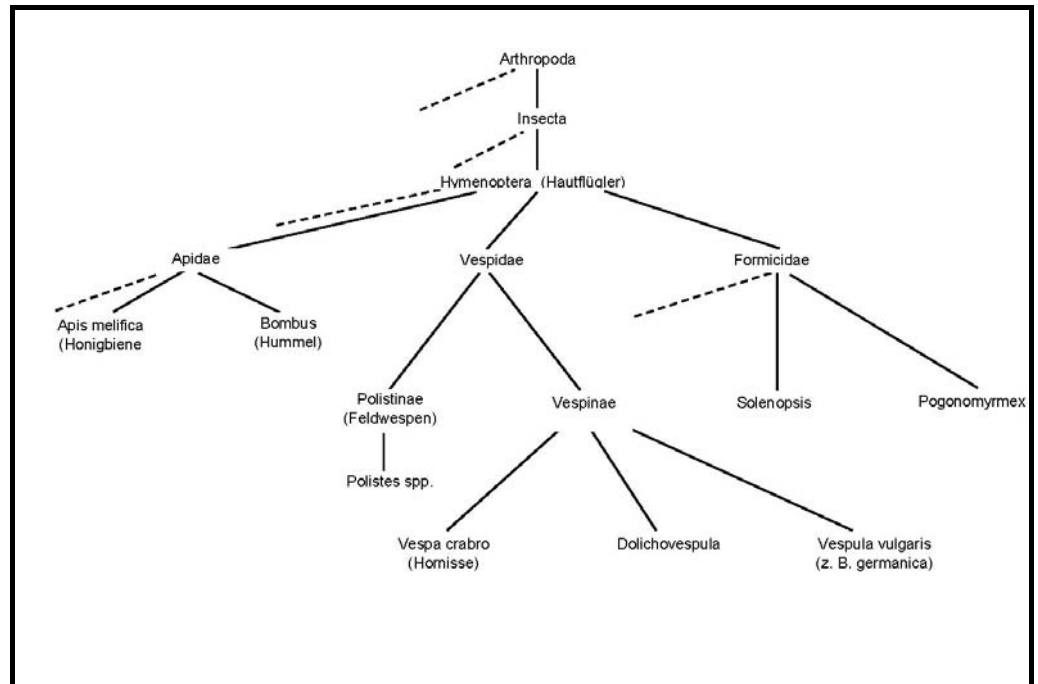
Unter Berücksichtigung von Anamnese, Hauttestreaktionen und spezifischen Serum-IgE-Antikörpern gegenüber Bienen- und Wespengift wurde eine Prävalenz in der Bevölkerung von bis zu 25 % gefunden [45]. Jedes Jahr sterben europaweit schätzungsweise 180 Menschen an den Folgen von Bienen- und Wespenstichen [37].

### **1.3 Taxonomie der wichtigsten Hymenoptera**

In Mitteleuropa werden die Mehrzahl der allergischen Reaktionen durch Stiche der Honigbiene (*Apis mellifera*) oder bestimmter Faltenwespen (*Vespula germanica*, *Vespula vulgaris*) verursacht (s. Abb. 1, S. 6) [49]. Selten führen Hummeln, Hornissen, Ameisen, Mücken oder Bremsen zu systemischen Stichreaktionen.

# 1. Einleitung

---



**Abb. 1:** Taxonomie der für die Insektengiftallergie wichtigsten Hymenoptera [49]

## 1.4 Insektengift

Im Insektengift sind sowohl toxische als auch allergisierende Substanzen enthalten.

Die meisten Insektengifte bestehen aus biogenen Aminen, basischen Peptiden und höhermolekularen Eiweißen, meist Enzymen [49].

Das wichtigste Allergen des Bienengifts ist das Enzym Phospholipase A 2, welches auch in Wespengift enthalten ist, jedoch keine Kreuzreaktion zeigt.

Bienen injizieren pro Stich ca. 50-100 µg Gift, Wespen 2-10 µg Gift. Die Biene sticht einmal und der Stachel bleibt stecken, die Wespe kann öfter stechen.

In einem Versuch wurde gezeigt, dass Wespen bis zu siebenmal kurz

## 1. Einleitung

---

hintereinander stechen können, wobei gelegentlich auch ‚blinde‘ Stiche ohne Giftabgabe erfolgten [22].

Die bei Bienenstichen injizierte Giftmenge ist nicht nur wesentlich größer, sondern auch konstanter als bei Wespenstichen.

### 1.5 Klinisches Erscheinungsbild

Insektenstiche können örtliche und systemische Reaktionen auslösen. Von lokalen Reaktionen spricht man bei einer umschriebenen Schwellung/Rötung kleiner/gleich 10 cm an der Stichstelle. Diese können toxischer oder allergischer Genese sein.

Eine gesteigerte örtliche Reaktion misst größer 10 cm, teilweise mit einer Dauer von mehr als 24 Stunden [45]. Diese sind häufig IgE-vermittelt, stellen aber keine Indikation zur Hyposensibilisierung dar. Sie finden sich oft bei hämatologischen Erkrankungen [49].

Systemische Reaktionen bei sehr zahlreichen Stichen können auch toxischer Genese sein und zu Hämolyse, Niereninsuffizienz, Rhabdomyolyse oder ZNS-Störungen führen.

Durch Stiche in Larynx oder Trachea kann es auch zu einer örtlich toxischen Reaktion kommen.

Selten zeigen sich ungewöhnliche Stichreaktionen wie z. B. Serumkrankheit oder Vasculitis [45].

Bei der systemischen Reaktion auf Insekten überwiegen jedoch durch IgE-Antikörper ausgelöste Soforttypreaktionen, deren Maximalvariante die Anaphylaxie ist.

Anaphylaktische Reaktionen werden je nach Intensität in verschiedene Schweregrade eingeteilt (s. Tab. 1).

## 1. Einleitung

---

**Tab. 1:** Schweregradskala zur Klassifizierung anaphylaktischer/ anaphylaktoider Reaktionen nach Ring und Meißner [49]

Grad	Haut	Abdomen	Respirationstrakt	Herz-Kreislauf
<b>I</b>	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	-	-	-
<b>II</b>	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem (nicht obligat)	Nausea, Krämpfe	Rhinorrhö Heiserkeit Dyspnoe	Tachykardie (> 20/min) Hypotension (> 20 mmHg systolisch) Arrhythmie
<b>III</b>	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem (nicht obligat)	Erbrechen Defäkation	Larynxödem Bronchospasmus Zyanose	Schock
<b>IV</b>	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem (nicht obligat)	Erbrechen Defäkation	Atemstillstand	Kreislaufstillstand

Nicht alle Symptome sind obligat. Häufig fehlen sogar Hauterscheinungen.

## **1. Einleitung**

---

### **1.6 Pathogenese**

Beim ersten Allergenkontakt erfolgt die Sensibilisierung des Organismus. B-Lymphozyten differenzieren sich unterstützt von T-Helferzellen zu Plasmazellen, die allergenspezifische IgE-Antikörper produzieren. Diese binden sich an Fc-Rezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen bzw. basophilen Granulozyten. Es entsteht ein spezifischer Allergenrezeptor an der Oberfläche.

Beim zweiten Allergenkontakt kommt es zur Brückenbildung zwischen dem Allergen und zwei IgE-Molekülen. Über Membranveränderungen kommt es zur Bildung neuer Mediatoren wie z. B. PAF, Leukotriene, Prostaglandine sowie zur Freisetzung präformierter Substanzen [49].

### **1.7 Diagnostik der Insektengiftallergie**

Die Allergiediagnostik ruht auf drei Grundpfeilern: Anamnese, Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper und Hauttestung.

#### **1.7.1 Anamnese**

Bei Verdacht auf das Vorliegen einer Bienen- oder Wespengiftallergie ist die spezielle allergologische Anamnese der erste Schritt der Diagnostik. Gerade beim ersten oder zweiten Stich eines Insekts ist es für Patienten, die bisher noch nie ‚Kontakt‘ mit dem Thema Allergie hatten, schwierig, dieses zu identifizieren.

Interessant ist allein schon die Jahreszeit, in der der Stich stattgefunden hat. Da bei der Honigbiene der ganze Staat im Gegensatz zu Wespen überwintert, können Bienenstiche sogar an sonnigen Wintertagen vor-

## 1. Einleitung

---

kommen, am häufigsten jedoch im Frühling und im Frühsommer.

Wespenstiche treten überwiegend im Sommer und Herbst auf, weil die Staaten dann ihre volle Stärke erreicht haben [36].

Nur kleine Details, die veranschaulichen sollen, wie genau besonders die allergologische Anamnese sein muss.

Weiterhin muss erfragt werden: Die Familien- und Medikamentenanamnese, die Lokalisation des Stichs, blieb der Stachel stecken, die Latenz bis zum Eintreten der Symptome, welche Symptomatik zeigte sich, sind Vorerkrankungen bekannt etc.

Die ausführlichen Fragebögen zur strukturierten Anamnese wurden von der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie erarbeitet und finden sich in deren Leitlinien [45].

### 1.7.2 *Hauttest*

Nach dem Schema der Endpunkt titration wird mit dem Pricktest mit der Giftkonzentration 1 µg/ml begonnen und bis 300 µg/ml gesteigert. Bei negativer Hautreaktion erfolgt der Intrakutantest mit 0,01-1 µg/ml [49].

### 1.7.3 *In-vitro-Diagnostik*

In-vitro-Testmethoden waren damals wie heute ein unverzichtbarer Bestandteil der Allergiediagnostik.

Der Vorteil ist gerade bei der Bienen- und Wespengiftallergie evident: Es kommt zu keinerlei Gefährdung des Patienten.

Wichtig ist jedoch zu beachten, dass die bekannten In-vitro-Tests nur



## 1. Einleitung

---

Teilabschnitte der in vivo ablaufenden, allergischen Reaktion wiedergeben [27].

Mit der serologischen Komponente, der Messung von Gesamt-IgE und spezifischen IgE-Antikörpern, beschäftigen sich der RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test) und der PRIST (Papierscheiben-Radioimmunosorbent-Test). Heute werden hauptsächlich CAP-RAST-FEIA, Magic Lite oder Ala STAT verwendet.

Weitere diagnostische Hinweise – bei negativem Hauttest und RAST – kann der Immunoblot geben [39].

Die zelluläre Komponente geben die Degranulation der Basophilen, die In-vitro-Histaminfreisetzung, die Methode der Aktivierung basophiler Leukozyten sowie der CAST wieder.

Bei der In-vitro-Histaminfreisetzung (Histamin-Freisetzungstest, Histamin Release Test) wird das nach Allergenkontakt aus den Granula der Basophilen freigesetzte Histamin fluorometrisch oder mit Immunoassay bestimmt. Das freigesetzte Histamin wird prozentual auf das durch Lyse im Parallelansatz ermittelte Gesamt-Histamin der Zellen bezogen. Als Positivkontrolle werden die Zellen mit Anti-IgE-Antikörpern inkubiert [47].

Mit der Methode der Aktivierung basophiler Leukozyten werden nach Allergenstimulation die Oberflächenmarker CD63 oder 203c mittels Durchflusszytometrie bestimmt [47, 49].

Auf der Bestimmung neu synthetisierter Mediatoren aus Effektorzellen nach Allergenkontakt basiert der Leukotrien-Freisetzungstest (z. B. Cellular-Antigen-Stimulations-Test, CAST) [7, 10]. Mit dem Zytokin Interleukin-3 präaktivierte Leukozyten werden mit Allergen inkubiert. Die vorwiegend von basophilen Granulozyten neu synthetisierten Sulfido-Leukotriene (SLT) in Form von LTC<sub>4</sub> und seiner Metaboliten LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub> werden quantitativ mit einem Immunoassay auf ELISA-Basis bestimmt. Als Positivkontrolle für die allergeninduzierte Freisetzung wird

## 1. Einleitung

---

ein monoklonaler Anti-Fc-IgE-Rezeptor-Antikörper verwendet [47].

Bei der Diagnostik der Insektengiftallergie ist weiters die Bestimmung der Mastzelltryptase von Interesse. Da Tryptase langsamer abgebaut wird als Histamin, können mit dieser Methode fraglich allergische Reaktionen mit Mastzellbeteiligung innerhalb der letzten 24 Stunden untersucht werden. Weiters können erhöhte basale Tryptasewerte einen Hinweis auf eine Mastozytose geben [44, 47].

### 1.8 Entwicklung des HBDT

Die Entwicklung dieses In-vitro-Tests, der sich mit der Degranulation des Basophilen beschäftigte, wurde 1961 von Shelly begonnen [54, 55] und von Hirsch, Zastrow und Soifer in den Siebzigerjahren weitergeführt [21, 58].

Benveniste führte sogar eine automatische Zählung mit der „automatic Hemalog D Technicon machine“ durch [4].

Eine Schwierigkeit bzw. ein Nachteil der damaligen Methode war, dass im Blut nur sehr wenig basophile Zellen sind (ca. 40/ $\mu$ l).

Dry, Leynadier et al. gelang die Anreicherung der Basophilen auf 300-1.000/ $\mu$ l [13, 14, 15, 28, 29, 30, 31].

Der HBDT wurde vom Institut Pasteur standardisiert und unter dem Namen Allergolam® auf den deutschen Markt gebracht.

Er wurde für folgende Allergene angeboten:

- Bienen- und Wespengift
- Dermatophagoides pteronyssinus et farinae
- Katzen- und Hundehaar
- Schimmelpilzmischung
- Hausstaubextrakt
- Baumpollen

## **1. Einleitung**

---

- Gräsermischung
- Echinococcus granulosus (Hydatose)
- Schistosoma (Bilharziose)
- Stadtallergengemisch: Hausstaub, Milben, Katzen- und Hundehaar, Schimmelpilze
- Landallergengemisch: 10 Gräser, 16 Bäume, 9 Kräuter, 4 Getreidearten.

### **1.9 Fragestellung der Arbeit**

Ist der HBDT eine Alternative oder Ergänzung zur gängigen In-vitro-Diagnostik in Klinik und Praxis?

Wie ist die Übereinstimmung des HBDT mit RAST, Hauttest und Histamin Release Test?

Wie hoch sind die Sensitivität und die Spezifität des HBDT?

Sind die Ergebnisse reproduzierbar?

## **2. Patientengut, Material und Methoden**

---

## **2. Patientengut, Material und Methoden**

Untersucht wurden 70 Probanden, die sich 1984-1985 in der Dermatologischen Klinik der Ludwigs-Maximilians-Universität München (LMU) vorstellten. Bei 55 Patienten ergab sich anamnestisch der Verdacht auf eine Bienen- und/oder Wespengiftallergie. 15 Probanden, bei denen weder eine Insektengiftallergie noch eine Atopie eruierbar waren, wurden als Kontrollpersonen in die Studie aufgenommen. Aus statistischen Gründen (s. 2.4.3) konnten in die endgültige Bewertung nur 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- und/oder Wespengiftallergie sowie 7 Kontrollpersonen einbezogen werden.

Die Hauttestungen erfolgten in der Allergologischen Ambulanz.

RAST und Histaminfreisetzungstest (Histamin Release Test) wurden von den Medizinisch-Technischen Assistentinnen, der HBDT (Human-Basophiler-Degranulations-Test) wurde von der Verfasserin durchgeführt.

### **2.1 Hauttest**

Die Hauttestungen wurden in Notfallbereitschaft nach dem Schema der Endpunkttitration mit Bienen- und Wespengift (Reless, Hollister-Stier, USA) durchgeführt. Als Dosen wurden damals beim Pricktest verwendet: 0,01 – 0,1 – 1,0 – 10 und 100 µg/ml.

Bei negativem Ausfall wurde intrakutan mit 0,1 bis 1 µg/ml getestet. Die Positivkontrolle wurde mit Histamin, die Negativkontrolle mit Kochsalz durchgeführt.

Je nach Durchmesser von Quaddel und Erythem wurde die Testreaktion von 0 bis + + + + bewertet oder in Millimetern angegeben (Tab. 2).

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

Tab. 2: Beurteilung von Hauttestreaktionen [48]

Beurteilung	Prick (mm Ø)		Intrakutan (mm Ø)	
	Quaddel	Erythem	Quaddel	Erythem
Ø	Ø	< 3	< 3	< 5
+	2-3	3-5	3-5	5-10
++	3	6-10	6-10	11-20
+++	4-6	11-20	11-15	21-40
++++	> 6	> 20	> 15	> 40

Die Hauttestung wurde frühestens vier Wochen nach dem Stichereignis durchgeführt.

### 2.2 RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test)

Verwendet wurde der Phadebas® RAST (PHARMACIA Diagnostics, Uppsala, Schweden).

Bestimmt wurden die zirkulierenden allergenspezifischen IgE-Antikörper. Das Patientenserum wurde kovalent an Papierscheiben gekoppelten Allergenen (Bienen- und Wespengift) gegeben. Es band sich nur das spezifische IgE der Probe, das Unspezifische wurde fortgewaschen. Dann wurde radioaktiv markiertes Anti-IgE zugesetzt, das nun von IgE gebunden wurde.

Je höher die Radioaktivität des gebildeten Komplexes war, desto mehr spezifisches IgE enthielt die Probe. Die in einem Gammazähler gemessenen Zählraten wurden direkt mit denen verglichen, die sich aus der parallel angesetzten Referenzserie ergaben.

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

Auf diese Weise wurden die Testresultate klassifiziert. Jede Probe konnte in Phadebas-RAST-Klassen 0-4 eingeordnet oder in Phadebas-RAST-Units pro ml ausgedrückt werden (bei den heute gängigen RAST-Methoden erfolgt die Einteilung bis Klasse 6) (s. Tab. 3).

Während die RAST-Klassen als Hilfsmittel zur schnellen Klassifizierung der Werte gedacht sind, erlauben die Phadebas-RAST-Units semi-quantitative Aussagen über die Konzentration zirkulierender allergenspezifischer IgE-Antikörper. Wir arbeiteten ausschließlich mit RAST-Klassen.

Laut Hersteller zeigten bei Verwendung von Insektengiftscheiben die RAST-Klassen 0 und 1 an, dass zirkulierende insektengiftspezifische IgE-Antikörper nicht nachweisbar oder nicht vorhanden waren. Eine klinisch bestehende oder zukünftige Überempfindlichkeit gegen Insektenstiche konnte damit nicht ausgeschlossen werden.

**Tab. 3:** RAST-Klassen

RAST-Klasse	Allergenspezifischer IgE-Gehalt	U/ml	positiv/negativ
0	nicht messbar oder nicht vorhanden	< 0,35	-
1	nicht messbar oder nicht vorhanden	0,35 – 0,7	-
2	mäßig hoch	0,7 – 3,5	+
3	hoch	3,5 – 17,5	+
4	sehr hoch	> 17,5	+

## **2. Patientengut, Material und Methoden**

---

Nach Herstellerangaben sollten die Blutproben wegen des Anstiegs und Abfalls der insektengiftspezifischen IgE-Antikörper nicht früher als zwei bis drei Wochen und nicht später als sechs Monate nach einem Insektstich abgenommen werden [43].

### **2.3 In-vitro-Histaminfreisetzung (Histamin Release Test)**

Der Histamin Release Test kommt dem HBDT vom Prinzip her am nächsten. Nach der Inkubation mit den fraglichen Allergenen (Bienen- oder Wespengift) wird die aus den Granula der Basophilen freigesetzte Histaminmenge fluorometrisch bestimmt.

#### **2.3.1 Herstellung der Leukozytensuspension**

Dem Probanden wurde je nach Versuchsumfang 20 bis 60 ml venöses Blut aus der Ellenbeugenvene in heparinisierten 20 ml Spritzen bis zum Anschlag des Kolbens entnommen. Etwa 5 ml Blut wurde in Glasröhrchen gefüllt, welches in einer späteren Untersuchung für den Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) und die IgE-Bestimmung benötigt wurde. Die jeweils in der Spritze verbliebenen 20 ml Blut wurden mit 6 % Macrodex vermischt, das mit einem Butterfly (Nr. 16) wiederum bis zum Kolbenanschlag aufgezogen wurde. Nun wurde die gefüllte Spritze nach oben in ein 50 ml Falcon-Röhrchen gestellt. Innerhalb einer Zeit von ca. 90 Minuten sedimentierten die Erythrozyten, während Leukozyten, Thrombozyten und Plasma im Überstand verblieben. Dieser Überstand wurde dann vorsichtig mit Hilfe eines Butterflies (Nr. 16) in das 50 ml Falcon-Röhrchen gegeben. Die in der Spritze zurückbleibenden sedimentierten Erythrozyten wurden im weiteren Verlauf des Ver-

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

suches nicht benötigt. Bei 300 g (1200 Umdrehungen/ Min.) und einer Temperatur von 4° C wurde daraufhin der Leukozytenüberstand 10 Minuten zentrifugiert. Die Zellen befanden sich dann am Boden des Röhrchens. Bis auf wenige Milliliter wurde der zellfreie Überstand mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Zur Zerstörung der noch vorhandenen Erythrozyten, die eine nicht erwünschte Trübung mit sich bringen würden, wurde zu den im Falcon-Röhrchen verbliebenen Zellen 5 ml destilliertes Wasser gegeben. Dies führte aufgrund des hypoosmolaren Mediums zu einer Lyse der Erythrozyten, während die Leukozyten intakt blieben („hypotoner Schock“). Nach 12 Sek. wurde 1,8 % Kochsalzlösung hinzugefügt, um die normale Osmolarität (0,9 % NaCl) wiederherzustellen. Dieses Gemisch wurde erneut bei 300 g (1200 Umdrehungen/Min.) und 4° C 10 Minuten zentrifugiert. Wiederum wurden der Überstand abgesaugt und die Zellen sodann mit 20 ml TCM-Puffer aufgeschwemmt. Es folgte eine 10-minütige Zentrifugation bei 300 g (1200 Umdrehungen/Min.) und 4° C, die Entfernung des Überstandes mittels der Wasserstrahlpumpe, dann die Zugabe von 15 ml TCM-Puffer sowie eine erneute Zentrifugation und das Absaugen des Überstandes. Zuletzt wurden die Zellen mit 10 ml TCM-Puffer aufgeschwemmt und vorsichtig mit einer Serumpipette vom Boden des Röhrchens abgelöst und in Suspension gebracht.

Die Zählung der weißen Blutkörperchen erfolgte in der Neubauer-Zählkammer. Zu 10 µl Zellsuspension wurden 190 µl 3 % Essigsäure gegeben, und diese Mischung wurde in die Zählkammer eingefüllt. Der Zellsuspension fügte man dann je nach vorhandener Zellzahl die entsprechende Menge TCM-Puffer hinzu, um eine Endkonzentration von ca. 3 Millionen Zellen/ml zu erhalten.



## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

### 2.3.2 *Stimulation der basophilen Granulozyten*

Zu 0,4 ml Zellsuspension wurde bei nicht stimulierten Leukozyten 0,1 ml TCM-Puffer hinzugefügt. Um den Gesamthistamingehalt der Zellen berechnen zu können, pipettierte man 0,1 ml 70 % Perchlorsäure ein, die zu einer vollständigen Zellyse führte. Die Histaminliberatoren Anti-IgE  $10^{-3}$  oder  $10^{-2}$  sowie Bienen- oder Wespengift in den Allergenkonzentrationen 0,01; 0,1; 0,5 und 1,0  $\mu\text{g/ml}$  wurden ebenfalls in einer Menge von 0,1 ml zu den Zellsuspensionen gegeben. Die Endkonzentrationen betragen somit bei Anti-IgE  $2 \times 10^{-4}$  oder  $2 \times 10^{-3}$ .

Im Anschluss an die Zugabe der Stimulantien wurden die Zellen ca. 30 Minuten im Schüttelwasserbad bei  $37^\circ\text{C}$  (Anti-IgE) inkubiert. Die Analysenröhrchen wurden dann 10 Minuten bei  $4^\circ\text{C}$  und 300 g (1200 Umdrehungen/Min.) zentrifugiert. Zur Enteiweißung wurde der Überstand der einzelnen Proben in andere Analysenröhrchen überkippt, die mit 0,5 ml 2 % Perchlorsäure bzw. mit 1 ml 2 % Perchlorsäure (Probe, die für den 100 %-Wert bestimmt war) gefüllt waren. Zeigte sich dabei eine Trübung, wurde erneut eine Zentrifugation (20 Minuten,  $4^\circ\text{C}$ , 1900 g, 3000 Umdrehungen/Min.) durchgeführt und der klare Überstand in ein leeres Röhrchen gegeben.

### 2.3.3 *Histaminbestimmung*

Die zur Messung vorbereiteten Proben wurden bis zur endgültigen Bestimmung des Histamingehaltes im Kühlschrank bei  $4^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Die Histaminfreisetzungsraten wurden spektrofluorometrisch mit dem Technicon-Autoanalyser gemessen. Der Reaktionsablauf ist wie folgt: Die Histaminprobe wurde mit 5 %-iger Natriumchloridlösung versetzt und mit Natronlauge alkalisiert. Das zugesetzte n-Butanol extrahiert das

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

Histamin aus der wässrigen Lösung. Im Extraktor I wird wässrige Phase abgetrennt und verworfen. Die Butanol-Phase wird mit Salzsäure und n-Heptan versetzt und in einer zweiten Extraktionsschleife gemischt. Im Extraktor II wird die organische Phase abgetrennt und verworfen. Die wässrige Phase wird neu mit Luft segmentiert und der Analyse zugeführt. Histamin reagiert nach Zusatz von Natronlauge mit  $\sigma$ -Phthaldialdehyd zu einem fluoreszierenden Farbstoff. Nach optimaler Reaktionszeit wird Phosphorsäure zugesetzt und die Fluoreszenz bei 460 nm nach Anregung bei 355 nm gemessen [48, 56, 57].

### 2.3.4 Berechnung der Histaminfreisetzung

Nach dem Durchlauf der Proben durch den Technicon-Autoanalyser wurden vom Schreiber des Gerätes Kurven erstellt, die nach folgender Formel in die Konzentration ng/ml umgerechnet wurden:

$$\frac{(\text{Kurvenhöhe der Probe} - \text{Kurvenhöhe der spontanen Histaminfreisetzung}) \times \frac{10}{\text{Verdünnung}}}{\text{Kurvenhöhe des Standards}} = \text{Histaminkonzentration (ng/ml)}$$

Standard (zur Eichung): Konzentration = 10 ng/ml

Verdünnung der Analysen: 1:2 (0,5 ml Analyse + 0,5 ml 2 % Perchlorsäure)

Verdünnung des 100 % Wertes (Gesamthistaminfreisetzung): 1:3 (0,5 ml Analyse + 1 ml 2 % Perchlorsäure)

Um bessere Vergleichsmöglichkeiten zwischen verschiedenen Probanden zu haben, wurde die Konzentration von ng/ml in den Prozentwert vom jeweiligen 100 % Wert nach folgender Formel umgerechnet:

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

$$\text{Prozentwert der Histaminfreisetzung (Probe)} = \frac{\text{Histaminfreisetzung der Probe in ng/ml}}{\text{Histaminfreisetzung des 100 \% Wertes in ng/ml}} \times 100 \%$$

Eine Probe wurde als positiv im Sinne einer Hymenopterenengiftallergie eingestuft, wenn der Histamingehalt in % für Bienen- oder Wespengift der Konzentration C( $\mu\text{g/ml}$ ) Folgendes ergab (s. Tab. 4):

**Tab. 4:** Einteilung Histaminfreisetzungstest

Bienen- oder Wespengift C( $\mu\text{g/ml}$ )	Histamingehalt in %
1,0	10
0,5	10
0,1	5
0,01	5

### 2.4 Human-Basophilen-Degranulationstest (Allergolam®)

#### 2.4.1 Grundlagen

Allergolam® war ein In-vitro-Test des Instituts Pasteur (Marnes-la-Coquette, Frankreich) für die Allergiediagnostik, der die Degranulation der Basophilen bestimmte. Bei der Brückenbildung zweier IgE-Moleküle auf der Oberfläche des Basophilen und dem korrespondierenden Allergen kommt es zur Sekretion präformiert gelagerter Substanzen wie Histamin, Eosinophil-chemotaktischer Faktor, Neutrophil-chemotaktischer Faktor etc. Der HBDT basierte darauf, dass die Granula des Basophilen mit Toluidinblau gefärbt und somit die Basophilen mikroskopisch gezählt werden konnten.

## **2. Patientengut, Material und Methoden**

---

In Abwesenheit des spezifischen Oberflächen-IgE (Patient nicht sensibilisiert) oder ohne das spezifische Allergen kam es zu keiner Brückenbildung und somit zu keiner Degranulation.

Kam es jedoch zum Kontakt von spezifischem IgE und dem korrespondierenden Allergen, wurden die Granula aus der Zelle entleert und der Basophile wurde unsichtbar.

Auf diese Weise war es nun möglich, mit dem Mikroskop die Basophilen zu zählen, die nicht mit einem Allergen in Verbindung gebracht wurden sowie nach dem Allergenkontakt die Zahl der nicht mehr sichtbaren Basophilen zu berechnen.

### **2.4.2 Gewinnung und Behandlung der Patientenproben, Vorgaben des Herstellers [24]**

Der Patient musste nüchtern sein. Es wurde EDTA-Blut verwendet. Der Test musste innerhalb von drei Stunden durchgeführt werden, ansonsten konnte die Blutprobe bei 2-8 ° C bis zu 36 Stunden aufbewahrt werden.

Der Puffer sollte einen pH-Wert zwischen 7,3 und 7,6 haben und das Ethanolbad täglich erneuert werden. Alle Reagenzien mussten Zimmertemperatur haben. Der Allergolam®-Test konnte nicht durchgeführt werden:

- bei Basopenie
- bei Patienten nach einem anaphylaktischen Schock innerhalb der letzten drei Wochen
- bei Patienten während einer „allergischen Krise“ (Angabe des Herstellers) innerhalb der letzten 10 Tage
- bei Patienten mit Anämie, Leukopenie oder Hyperthyreose.

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

### 2.4.3 Durchführung des Tests

Der HBDT (Allergolam®) der Firma Fresenius (Oberursel, Deutschland) enthielt

- ein Basokonzentrationskit (Nr. 96100), bestehend aus 10 Ampullen mit je 2,5 ml Pufferlösung (heparinisierte Hepes-Salzlösung) und 10 Ampullen mit je 3 ml Dichtemedium (Ficoll-Natrium-Metrizoat) sowie
- ein Allergenkit, bestehend aus dem Objektträger (Hautflügler-Analyse Kit Nr. 96222), 10 Ampullen mit je 0,7 ml Fixier- und Färbelösung sowie Eindeckmedium und Eindeckgläschen.

Der Inhalt einer Ampulle Pufferkonzentrat wurde mit Aqua dest. auf 25 ml aufgefüllt und sorgfältig gemischt. Der Puffer musste im pH-Bereich 7,3-7,6 liegen.

Dann folgte die Anreicherung der basophilen Zellen, die sogenannte Basokonzentration. Diese musste aufgrund der wenigen, im Blut vorkommenden basophilen Zellen ( $40/\text{mm}^3$ ) erfolgen.

Der Inhalt einer Ampulle Dichte-Medium wurde in ein 20 ml-Zentrifugenröhrchen gegeben.

In ein 25 ml-Röhrchen wurden 5 ml Blut und 5 ml Pufferlösung gegeben. Dieses wurde verschlossen und vorsichtig durch mehrmaliges Umkehren gemischt. Das Blut-Puffergemisch wurde mit einer Pasteurpipette langsam in das Röhrchen mit dem Dichtemedium, das in einem Winkel von  $45^\circ$  gehalten wurde, eingelassen und auf dem Dichtemedium belassen. Wichtig war, das Vermischen von Blut und Dichtemedium zu vermeiden.

Dann wurde das Röhrchen 30 Minuten lang bei 400 g zentrifugiert. Es bildete sich ein weißer Zellring zwischen dem Dichte- und dem Puffermedium. Dieser Ring (1-2 ml) wurde mit einer Pasteurpipette aufgenommen (wobei das Dichtemedium nicht erfasst werden durfte), erneut mit 15 ml Puffer vermischt und 10 Minuten bei 150 g zentrifugiert. Der

## **2. Patientengut, Material und Methoden**

---

Überschuss wurde verworfen.

Der Zellverband wurde mit 400 µl Pufferlösung, bei einer Ausgangsmenge von 5 ml Patientenblut, verdünnt und vorsichtig mit einer Pipette oder einem Mischer 30-50 Sekunden lang homogenisiert.

Wichtig waren die vollständige Homogenisierung und die Durchführung der Basokonzentration bei Raumtemperatur (18-30 °).

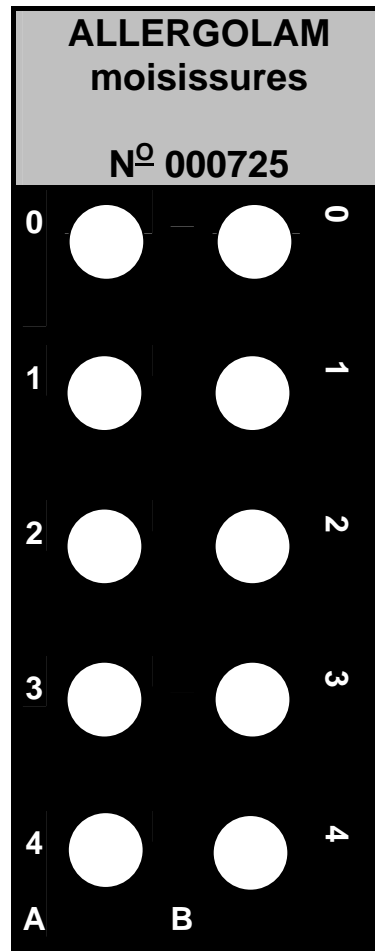
Es folgte die Degranulationsreaktion.

20 µl der Zellsuspension wurden auf jedes Antigenfeld des Objektträgers aufgetragen, wobei das Antigenfeld nicht mit der Pipette berührt werden durfte. Der Objektträger wurde in einer feuchten Kammer bei 37 ° für 20 min inkubiert und danach 30 min im Inkubator getrocknet. Auf jedes Antigenfeld wurden 40 µl Fixierlösung gegeben. Der Objektträger wurde abgedeckt. Nach 15 min wurde er zwanzigmal im Aquadest.-Bad gespült und dann 15 sec in absolutes Ethanol gegeben. Danach wurde der Objektträger 30 sec in einem Toluolbad gespült. Man trug einen Tropfen Eindeckflüssigkeit zwischen die Antigenfelder 1-4 und legte das Deckglas darauf. Luftblasen mussten sofort entfernt werden. Nach 15-minütiger Trockenzeit konnte der Objektträger mit einem normalen Mikroskop unter 400-facher Vergrößerung betrachtet werden.

Der hier verwendete Objektträger war bivalent, d. h. er war mit zwei Allergenen beschichtet. Der von der Verfasserin benutzte Hautflügler-Analyse-Kit sah folgendermaßen aus:

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---



**Abb. 2:** Allergolam® Kit

Dies entsprach der in Tabelle 5 dargestellten Allergenart und –verdün-  
nung.

## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

**Tab. 5:** Allergenart und Allergenkonzentration des HBDT

Antigenfeld	Art des Allergens und Verdünnung	c µg/ml	Antigenfeld	Art des Allergens und Verdünnung	c µg/ml
A 0	Puffer	0	B 0	Puffer	0
A 1	Bienengift 10 <sup>-9</sup>	0,001	B 1	Wespengift 10 <sup>-9</sup>	0,001
A 2	Bienengift 10 <sup>-8</sup>	0,01	B 2	Wespengift 10 <sup>-8</sup>	0,01
A 3	Bienengift 10 <sup>-7</sup>	0,1	B 3	Wespengift 10 <sup>-7</sup>	0,1
A 4	Bienengift 10 <sup>-6</sup>	1,0	B 4	Wespengift 10 <sup>-6</sup>	1,0

Die Basophilen waren durch ihre intensive Violettfärbung leicht von den anderen „blauen“ Zellen, bei denen es sich im Wesentlichen um Lympho- und Monozyten handelte, zu unterscheiden.

Man zählte die basophilen Zellen in allen Antigenfeldern folgendermaßen: Vom Kreuzpunkt des Feldes aus wurden 10 Mikroskopfelder vertikal und 10 horizontal gezählt.

Die Basophilen sollten nicht an der Peripherie gezählt werden.

Aus statistischen Gründen war es wichtig, in den Kontrollfeldern mindestens 100 basophile Zellen zu zählen.

Berechnung des Degranulationsindex (DI) in %:

Aus dem Verhältnis der verschwundenen Basophilen bei der jeweiligen Allergenkonzentration zur Gesamtzahl der basophilen Zellen der Kontrolle ergab sich der Degranulationsindex.

$$DI (\%) = \frac{\text{Gesamtzahl der Basophilen} - \text{nicht degranulierte Basophile}}{\text{Gesamtzahl der Basophilen}} \cdot 100$$

Interpretation des Resultats:

DI ≤ 35 % negativ

DI ≥ 50 % positiv

DI 36-49 % zweifelhaftes oder schwach positives Resultat.



## 2. Patientengut, Material und Methoden

---

Laut Angaben des Herstellers war die statistische Signifikanz der Resultate abhängig von der Anzahl der gezählten basophilen Zellen. Diese konnte von Patient zu Patient variieren.

Eine Degranulation  $\geq 50\%$  (der Patient war sensibilisiert) war lt. Hersteller unter folgenden Bedingungen signifikant:

- mindestens 100 Basophile mussten insgesamt gezählt werden
- die Zellverteilung auf dem Objektträger sollte homogen sein
- die Färbung und Eindeckung sollten ausreichend sein.

Bei einem biallergenen Objektträger wie dem Hautflügler-Analyse-Kit wurde eine doppelte Durchführung empfohlen.

### 2.5 Diagnosekriterien Allergie

Als Patienten mit gesicherter Bienen- und/oder Wespengiftallergie wurden in dieser Arbeit diejenigen bezeichnet, bei denen nach Diagnostik eine Hyposensibilisierungsbehandlung begonnen wurde. Diese Entscheidung wurde damals nach dem modifizierten Schema nach Urbanek gefällt (Abb. 3), das später verlassen wurde.

Punkte	0	1	2
Anamnese	Ø (oder nur lokal)	leichte Reaktion (Grad I)	schwere Reaktion (Grad II-IV)
Hauttest	Ø	Prick: 100 µg/ml l. c. $\geq 0,1$ µg/ml	Prick: $\leq 10$ µg/ml l. c. $\leq 0,01$ µg/ml
RAST	0	1	2-4

**Abb. 3:** Indikation zur Hyposensibilisierung bei Insektengiftallergie mod. nach Urbanek [48]

## **2. Patientengut, Material und Methoden**

---

Bei einem Score  $\geq 5$  wurde die Indikation zur Hyposensibilisierung gestellt. In der Hautklinik der LMU wurden aber auch Patienten mit einer anamnestisch schweren Reaktion und einem deutlichen Hauttestergebnis mit einem Score  $\geq 4$  hyposensibilisiert. Bei eindeutiger Anamnese und negativem RAST wurde das Ergebnis der In-vitro-Histaminfreisetzung zur Entscheidungsfindung mitherangezogen.

### 3. Statistische Auswertung

---

### 3. Statistische Auswertung

Im Rahmen der beschreibenden Statistik wurden zu den metrischen Größen der Mittelwert und die Standardabweichung, Minimum und Maximum, der Median sowie die 25 %- und 75 %-Perzentile angegeben, zu den nominal skalierten Größen absolute und prozentuale Häufigkeiten.

Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests wurde bei mehreren untersuchten Größen eine Abweichung von der Normalverteilung festgestellt, so dass zur Prüfung eines linearen Zusammenhangs der Korrelationskoeffizient nach Spearman herangezogen wurde.

In Vierfeldertafeln wurden die Ergebnisse des HBDT den Goldstandardergebnissen gegenübergestellt.

Zur Validierung wurde der Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest berechnet und als Maß für die Übereinstimmung der Kappa-Index (s. Tab. 6) ermittelt.

**Tab. 6:** Stufeneinteilung Kappa-Index

Kappa	Übereinstimmung
< 0,10	keine
0,10-0,40	schwache
0,41-0,60	deutliche
0,61-0,80	starke
0,81-1,0	(fast) vollständige

### **3. Statistische Auswertung**

---

Außerdem wurden Sensitivität und Spezifität angegeben.

Bei allen statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5 % zugrunde gelegt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS für Windows.

## 4. Ergebnisse

---

### 4. Ergebnisse

#### 4.1 Alter und Geschlecht der Probanden

Evaluiert wurden 70 Probanden.

Da der Hersteller des Allergolam®-Tests – wie eingangs erwähnt – ein Minimum von 100 Zellen vorschreibt, um ein verlässliches Ergebnis zu erzielen, konnten in die endgültige Bewertung nur 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie sowie 7 Kontrollpersonen einbezogen werden.

Mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie stellten sich 43,6 % männliche und 56,4 % weibliche Patienten vor. Das Durchschnittsalter betrug 31,8 Jahre.

Die Kontrollgruppe bestand zu 71,4 % aus Männern und zu 28,6 % aus Frauen mit einem Durchschnittsalter von 35,3 Jahren (s. Tab. 7 und 8).

**Tab. 7:** Alter der Patienten (Jahre)

Gruppe	n	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
						25.	50. (Median)	75.
Allergiegruppe	39	31,79	12,759	13	62	20,0	33,0	41,0
Kontrollgruppe	7	35,29	10,210	25	54	26,0	33,0	43,0

## 4. Ergebnisse

---

**Tab. 8:** Geschlecht der Patienten

Gruppe		n	Prozent
Allergiegruppe	m	17	43,6
	w	22	56,4
	Gesamt	39	100,0
Kontrollgruppe	m	5	71,4
	w	2	28,6
	Gesamt	7	100,0

### 4.2 Einteilung der Patienten

Laut Anamnese bestand bei 22 Patienten der Verdacht auf eine Bienengiftallergie und bei 10 Patienten der Verdacht auf eine Wespengiftallergie. 4 Patienten schilderten sowohl auf Bienen- als auch auf Wespenstiche allergische Reaktionen und bei 3 Patienten war das auslösende Insekt unklar (s. Tab. 9).

#### 4. Ergebnisse

---

**Tab. 9:** Anamnestische Angaben der 39 Patienten mit Verdacht auf Insektengiftallergie

<b>Auslösendes Insekt</b>	<b>n</b>	<b>Prozent</b>
Biene	22	56,4
Wespe	10	25,6
Biene und Wespe	4	10,3
Unklar	3	7,7

Von diesen 39 Patienten hatten nach den Diagnosekriterien (s. Abb. 3, S. 27) 25 Patienten eine Bienengift-, 9 Patienten eine Wespengift- und 2 Patienten eine Bienen- und Wespengiftallergie. Es wurde eine Hypo-sensibilisierung eingeleitet.

Bei 3 Patienten konnte durch Anamnese, Hauttest und RAST keine eindeutige Diagnose gestellt werden (s. Tab. 10).

## 4. Ergebnisse

---

**Tab. 10:** Diagnose der 39 Patienten mit Verdacht auf Insektengiftallergie

Insektengiftallergie	n	Prozent
Biene	25	64,1
Wespe	9	23,1
Biene und Wespe	2	5,1
Keine	3	7,7

### 4.3 Ergebnisse des HBDT

#### 4.3.1 Zellzahlen in der Kontrolle

Die Zellzahl in den Kontrollen A0 und B0 (= angereicherte Basophile ohne Allergenkontakt) variierte von Patient zu Patient sehr stark.

Es zeigte sich ein Minimum von 2 bis maximal 495 Zellen.

Da vom Hersteller ein Minimum von 100 Zellen gefordert wurde, ergab sich ein Mittelwert der Zellen in der Kontrolle bei 39 Patienten mit Verdacht auf Hymenopterenallergie von  $171,62 \pm 83,17$  bei A0 und von  $175,97 \pm 94,41$  bei B0.

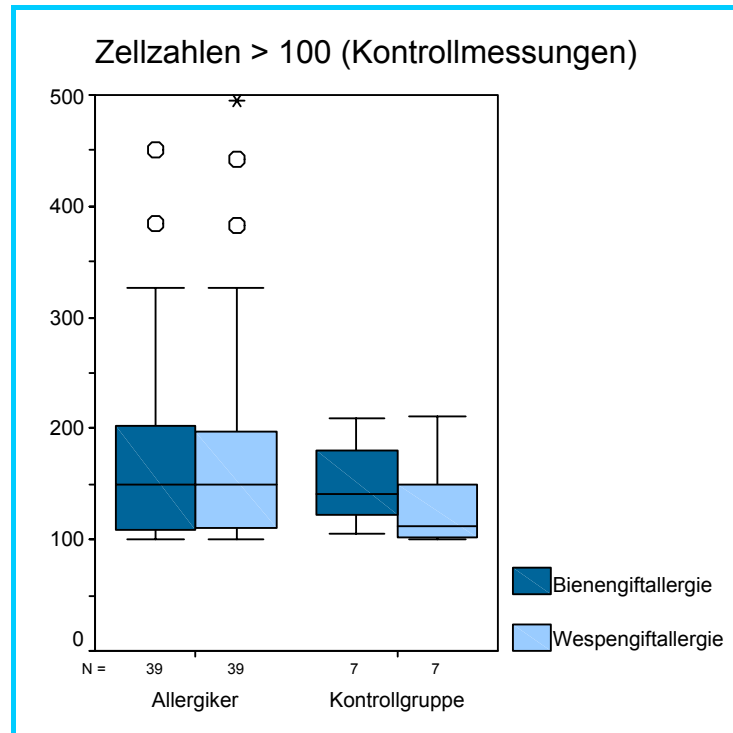
Bei den 7 Kontrollpatienten ergaben sich Mittelwerte von  $151,57 \pm 42,1$  bei A0 und  $132,57 \pm 41,15$  bei B0 (s. Abb. 4, s. Anhang Tab. 24).

Diese große Streubreite der Zellzahl war beim Zeitaufwand der Auszählung von Interesse.



## 4. Ergebnisse

---



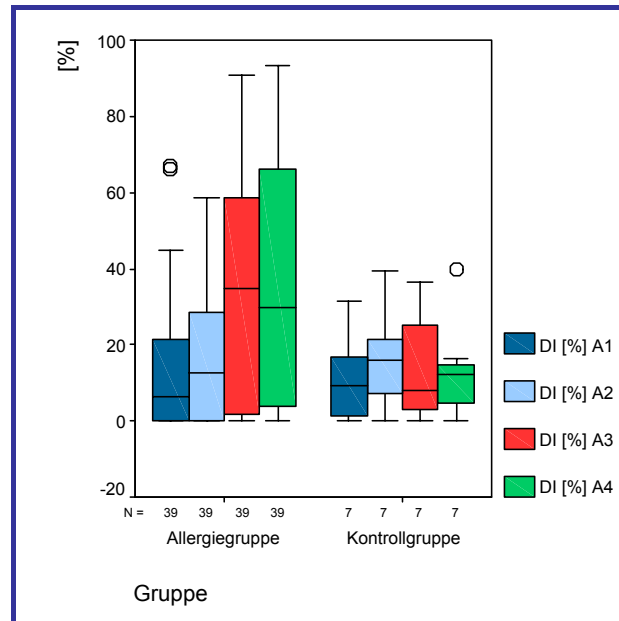
**Abb. 4:** Zellzahlen der Kontrollen A0 und B0 für 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- und Wespengiftallergie

### 4.3.2 Degranulationsindex

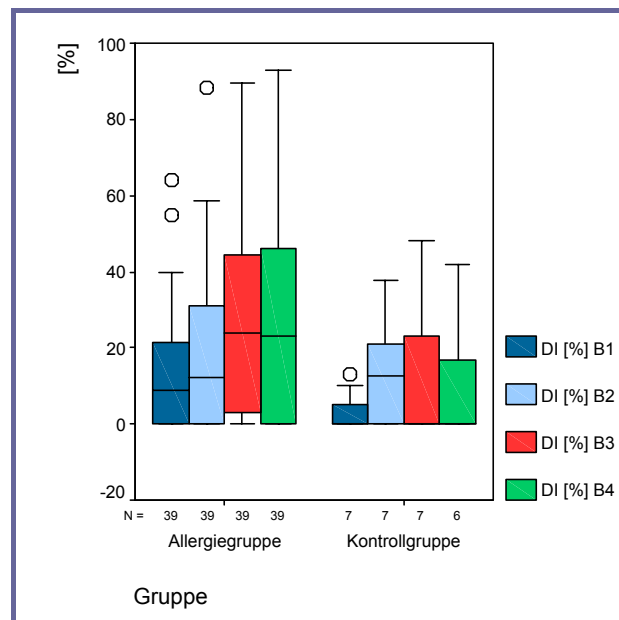
Die unten stehenden Boxplotdarstellungen zeigen die Degranulationsindices in % der Allergie- und Kontrollgruppe bei den ansteigenden Allergenkonzentrationen A1 (0,001  $\mu\text{g/ml}$ ) bis A4 (1,0  $\mu\text{g/ml}$ ) für Bienengift (Abb. 5) und B1 (0,001  $\mu\text{g/ml}$ ) bis B4 (1,0  $\mu\text{g/ml}$ ) für Wespengift (Abb. 6)

(s. Anhang Tab. 25 und 26).

## 4. Ergebnisse



**Abb. 5:** Streuung der Degranulationsindices in den Allergenkonzentrationen 0,001 bis 1,0 µg/ml von Bienengift bei 39 Patienten mit V. a. Hymenopteren giftallergie und 7 Kontrollpatienten



**Abb. 6:** Streuung der Degranulationsindices in den Allergenkonzentrationen 0,001 bis 1,0 µg/ml von Wespengift bei 39 Patienten mit V. a. Hymenopteren giftallergie und 7 Kontrollpatienten

## 4. Ergebnisse

---

Bei den 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie zeigte sich eine Zunahme der Degranulationsindices bei steigender Allergenkonzentration.

Getestet auf Bienengift ergaben sich Mittelwerte der DI bei der Konzentration 0,001 µg/ml von  $12,51 \pm 17,65$ , bei 0,01 µg/ml von  $15,91 \pm 17,25$ , bei 0,1 µg/ml von  $34,47 \pm 30,89$  und von  $34,99 \pm 32,25$  bei 1,0 µg/ml (s. Abb. 5, Anhang Tab. 25).

Bei der Testung auf Wespengift zeigten sich im HBDT Mittelwerte der Degranulationsindices bei 0,001 µg/ml von  $13,22 \pm 15,55$ , bei 0,01 µg/ml von  $18,71 \pm 21,02$ , bei 0,1 µg/ml von  $29,56 \pm 27,86$  und bei 1,0 µg/ml von  $29,89 \pm 27,23$  (s. Abb. 6, Anhang Tab. 26).

Bei den 7 Kontrollpatienten ergaben sich sowohl bei der Testung auf Bienengift als auch auf Wespengift meist deutlich niedrigere Degranulationsindices. Bei der Konzentration 0,001 µg/ml waren die DI-Mittelwerte für Biene  $11 \pm 11,98$ , für Wespe  $3,28 \pm 5,68$ , bei 0,01 µg/ml  $16,01 \pm 13,62$  (Biene) und  $13,25 \pm 14,65$  (Wespe), bei 0,1 µg/ml  $14,47 \pm 14,44$  (Biene) und  $13,44 \pm 22,32$  (Wespe) und bei 1,0 µg/ml  $12,9 \pm 13,4$  (Biene) und  $9,78 \pm 17,05$  (Wespe). Auffallend war, dass die Degranulation bei der Allergenkonzentration 1,0 µg/ml geringer ausfiel als bei 0,1 µg/ml (s. Abb. 5 und 6, s. Anhang Tab. 25 und 26).

### 4.3.3 Resultat des HBDT

Von den 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie reagierten 16 (41 %) positiv ( $DI \geq 50$  %) und 23 (59 %) negativ auf Bienengift, 11 (28,2 %) positiv und 28 (71,8 %) negativ auf Wespengift. Bei den 7 Kontrollpersonen war der HBDT mit einem  $DI < 50$  % negativ (s. Tab. 18, 19, 22, 23 im Anhang).

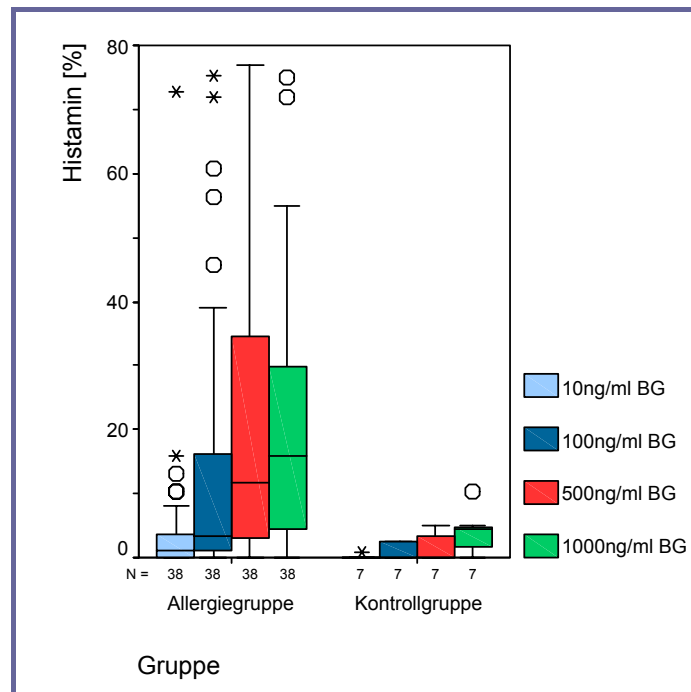
## 4. Ergebnisse

### 4.4 Resultat des In-vitro-Histaminfreisetzungstests (Histamin Release Test)

Von den 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie zeigten 26 (66,7 %) ein positives und 12 (30,8 %) ein negatives Ergebnis auf Bienengift sowie 19 (48,7 %) ein positives und 19 ein negatives Ergebnis auf Wespengift im Histaminfreisetzungstest (bei einem Patient lag kein HRT vor).

Bei den 7 Kontrollprobanden reagierten im HRT einer auf Bienengift und zwei auf Wespengift (s. Abb. 7 und 8, s. Anhang Tab. 18-23).

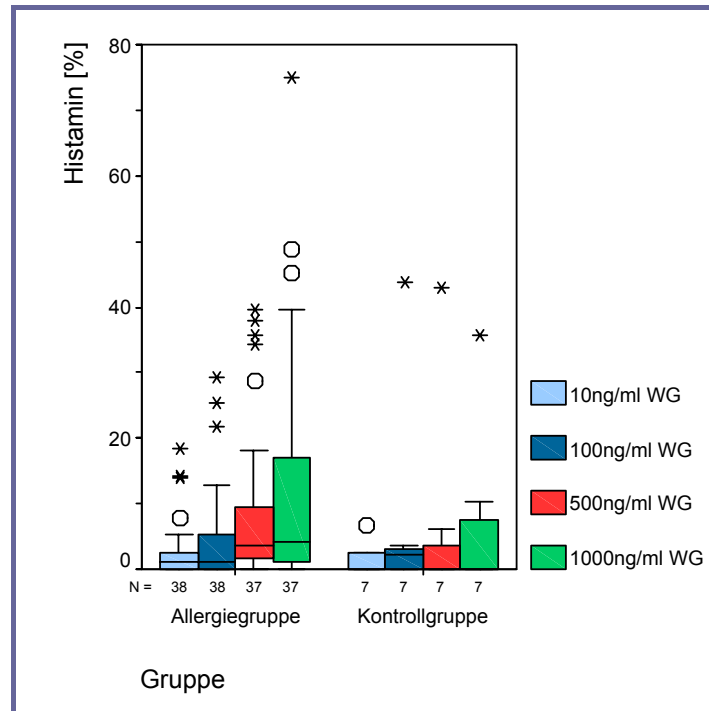
Die folgenden Boxplottedarstellungen Abb. 7 und 8 zeigen die Ergebnisse der Histaminausschüttung (in %) der Allergie- und Kontrollgruppe bei den ansteigenden Allergenkonzentrationen 0,01; 0,1; 0,5 und 1,0 µg/ml, getestet auf Bienen- und Wespengift (s. Anhang Tab. 27 und 28).



**Abb. 7** Histamin Release-Werte (in %) nach Inkubation mit Bienengift (Minimum, Maximum, Perzentilen)

## 4. Ergebnisse

---



**Abb. 8** Histamin Release-Werte (in %) nach Inkubation mit Wespengift (Minimum, Maximum, Perzentilen)

### 4.5 Resultat des RAST

#### 4.5.1 Testung auf Bienengift

Von den 39 Patienten mit Verdacht auf Insektengiftallergie ergab sich bei 16 Patienten (41 %) mit RAST-Klasse 0 und 1 ein negatives Resultat und bei 23 Patienten (59 %) ab Klasse 2 ein positives Resultat im Sinne einer Bienengiftallergie (s. Tab. 18, 19 im Anhang).

Die Verteilung der einzelnen RAST-Klassen findet sich in Tab. 11.

## 4. Ergebnisse

---

**Tab. 11:** Verteilung der RAST-Klassen (Bienenngift) bei Patienten mit Insektengiftallergie

<b>RAST Klasse</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
0	12	30,8
1	4	10,3
2	12	30,8
3	11	28,2
4	0	0
gesamt	39	100

Bei den 7 Kontrollpatienten ergab sich jeweils die RAST-Klasse 0 (s. Anhang Tab. 22, 23).

### **4.5.2 Testung auf Wespengift**

Bei der Testung derselben 39 Patienten auf Wespengift zeigte sich bis RAST-Klasse 1 bei 30 Patienten (76,9 %) ein negatives und bei 9 Patienten (23,1 %) ein positives Resultat (s. Tab. 12, s. Anhang Tab. 18, 19).

## 4. Ergebnisse

---

**Tab. 12:** Verteilung der RAST-Klassen (Wespengift) bei Patienten mit Insektengiftallergie

RAST Klasse	n	%
0	22	56,4
1	8	20,5
2	8	20,5
3	0	0
4	1	2,6
gesamt	39	100

Auch bei Wespengift zeigten die 7 Kontrollpatienten jeweils die RAST-Klasse 0 (s. Anhang Tab. 22, 23).

### 4.6 Resultat des Intrakutan- bzw. Pricktests

#### 4.6.1 *Testung auf Bienengift*

Von den 39 Patienten mit Verdacht auf Hymenoptereingiftallergie reagierten im Hauttest 7 Patienten (17,9 %) negativ und 32 (82,1 %) positiv (s. Tab. 18, 19 im Anhang).

#### 4.6.2 *Testung auf Wespengift*

Es zeigte sich bei 20 Patienten (51,3 %) ein negatives und bei 19 Patienten (48,7 %) ein positives Ergebnis im Sinne einer Wespengiftallergie (s. Tab. 18, 19 im Anhang).

Bei den Kontrollpatienten wurden keine Hauttests durchgeführt.

## 4. Ergebnisse

---

### 4.7 Vierfelderkorrelation

#### 4.7.1 HBDT und Histamin Release Test

Die Vierfelderkorrelation der Ergebnisse des Humanen Basophilen Degranulationstests und des Histaminfreisetzungstests ergab bei 38 Patienten mit Verdacht auf Hymenopterenallergie (ein Histamin Release Test fehlte) für Bienengift eine Übereinstimmung von 68,4 % und für Wespengift von 73,7 % (s. Tab. 13).

**Tab. 13:** Vierfelderkorrelation von HBDT und Histamin Release Test bei 38 Patienten mit Insektengiftallergie

Bienengift			Wespengift		
	HRT			HRT	
HBDT	positiv	negativ	HBDT	positiv	negativ
positiv	15	1	positiv	10	1
negativ	11	11	negativ	9	18
38			38		
Übereinstimmung = 68,4 %			Übereinstimmung = 73,7 %		



## 4. Ergebnisse

---

### 4.7.2 HBDT und RAST

Die Vierfeldertafel von RAST und HBDT zeigt von 39 Patienten mit Verdacht auf Insektengiftallergie bei 28 (71,8 %) auf Bienengift und 35 (89,7 %) auf Wespengift eine Übereinstimmung (s. Tab. 14).

**Tab. 14:** Vierfelderkorrelation von HBDT und RAST bei 39 Patienten mit Insektengiftallergie

Bienengift			Wespengift		
	RAST			RAST	
HBDT	positiv	negativ	HBDT	positiv	negativ
positiv	14	2	positiv	8	3
negativ	9	14	negativ	1	27
39			39		
Übereinstimmung = 71,8 %			Übereinstimmung = 89,7 %		

## 4. Ergebnisse

---

### 4.7.3 HBDT und Hauttest

Der Allergolamtest und die Intrakutan- bzw. Pricktestung stimmten zu 59 % bei Bienengift und zu 79,5 % bei Wespengift überein (s. Tab. 15).

**Tab. 15:** Vierfelderkorrelation von HBDT und Hauttest bei 39 Patienten mit Insektengiftallergie

Bienengift			Wespengift		
	Hauttest			Hauttest	
HBDT	positiv	negativ	HBDT	positiv	negativ
positiv	16	0	positiv	11	0
negativ	16	7	negativ	8	20
39			39		
Übereinstimmung = 59 %			Übereinstimmung = 79,5 %		

## 4.8 Korrelationen

### 4.8.1 Vergleich des HBDT mit dem Histamin Release Test nach Inkubation mit Bienengift in verschiedenen Konzentrationen

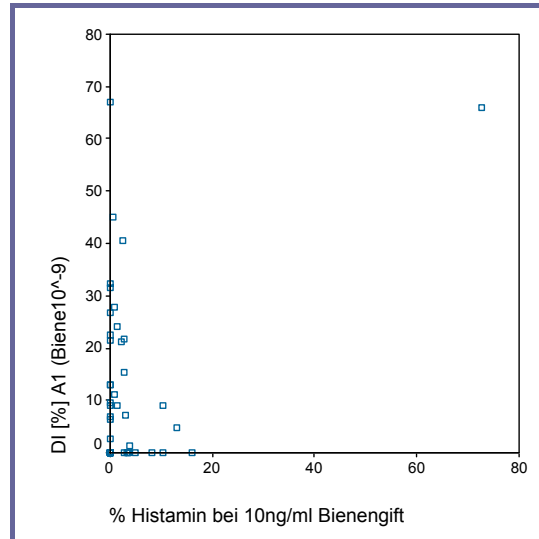
Es erfolgte die Gegenüberstellung der Wertepaare der Degranulationsindices (DI %) und %-Histaminausschüttung bei den einzelnen Allergenkonzentrationen.

Bei der Konzentration 0,01 µg/ml im Histamin Release Test und 0,001 µg/ml im HBDT ergab der Korrelationskoeffizient nach Spearman

#### 4. Ergebnisse

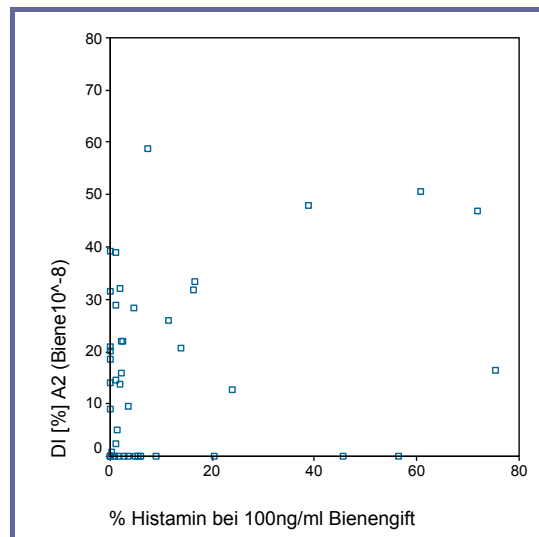
---

mit  $r = -0,66$  keine signifikante Korrelation (s. Abb. 9).



**Abb. 9:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 0,01  $\mu\text{g/ml}$  im HRT

Ebenso zeigte sich bei der Konzentration 0,01  $\mu\text{g/ml}$  im HBDT und 0,1  $\mu\text{g/ml}$  im HRT mit  $r = 0,150$  keine signifikante Korrelation (s. Abb. 10).

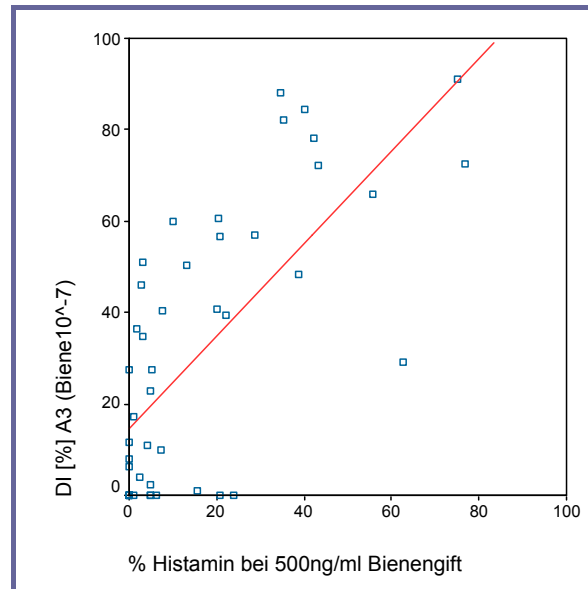


**Abb. 10:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 0,1  $\mu\text{g/ml}$  im HRT

## 4. Ergebnisse

---

Ab der Allergenkonzentration 0,1 µg/ml im HBDT und 0,5 µg/ml im Histamin Release Test ergab der Korrelationskoeffizient nach Spearman mit  $r = 0,672$  eine signifikante Korrelation (s. Abb. 11).

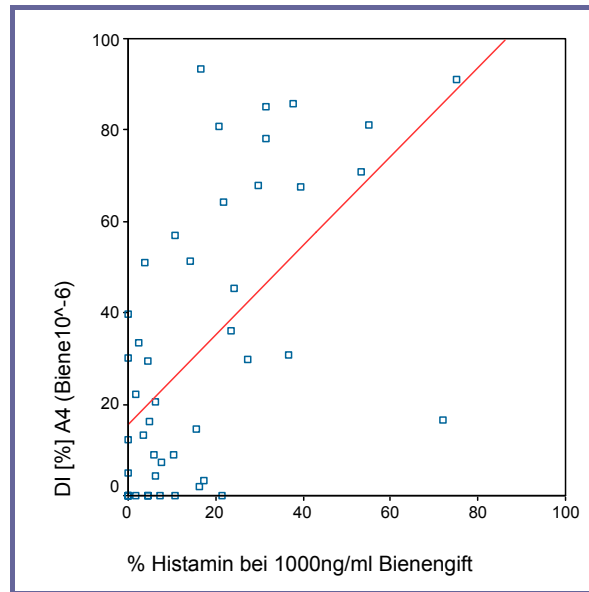


**Abb. 11:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 0,5 µg/ml im HRT

Auch bei der höchsten Allergenkonzentration von 1,0 µg/ml im HBDT und 1,0 µg/ml im HRT ergibt sich mit  $r = 0,589$  eine signifikante Korrelation zwischen Allergolam® und Histaminfreisetzungstest (s. Abb. 12).

## 4. Ergebnisse

---



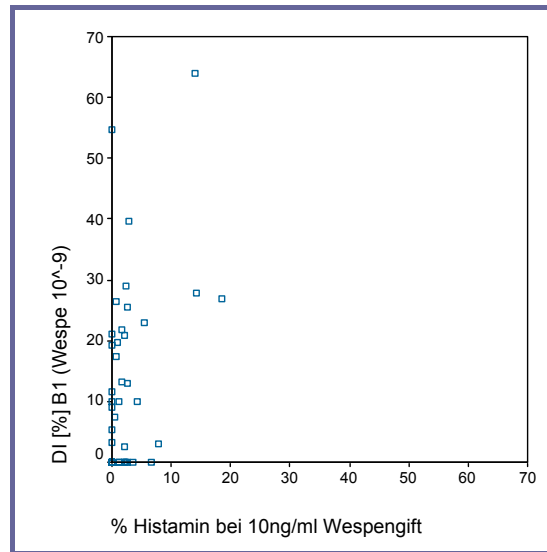
**Abb. 12:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 1,0 µg/ml im HRT

### ***4.8.2 Vergleich des HBDT mit dem Histamin Release Test nach Inkubation mit Wespengift in verschiedenen Konzentrationen***

Bei der Korrelation der Wertepaare des HBDT (DI %) mit dem Histamin Release Test (% Histamin) zeigte sich bei der niedrigsten Allergenkonzentration (0,001 µg/ml im HBDT und 0,01 µg/ml im HRT) eine mäßige Korrelation mit  $r = 0,336$  (s. Abb. 13).

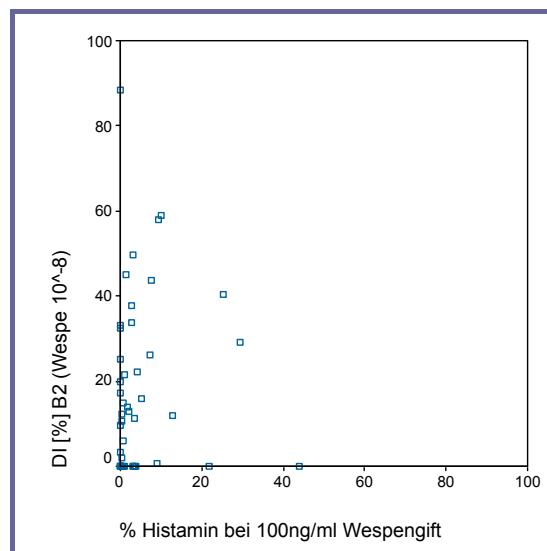
## 4. Ergebnisse

---



**Abb. 13:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 0,01 µg/ml im HRT

Bei der nächsthöheren Allergenkonzentration ergab sich mit  $r = 0,174$  kein signifikanter Zusammenhang (s. Abb. 14).

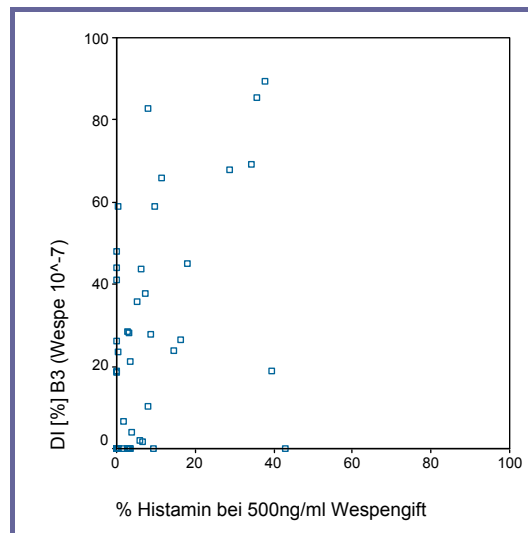


**Abb. 14:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 0,1 µg/ml im HRT

#### 4. Ergebnisse

---

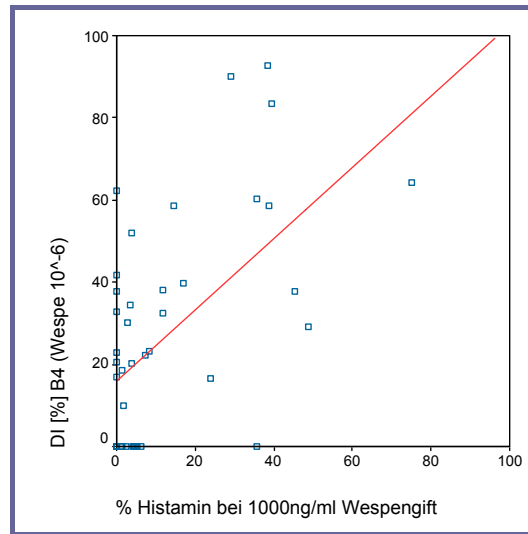
Bei der Allergenkonzentration 0,1 µg/ml im HBDT und 0,5 µg/ml im Histaminfreisetzungstest ergab der Korrelationskoeffizient nach Spearman mit  $r = 0,360$  (s. Abb. 15) genauso wie bei der höchsten Allergenkonzentration 1,0 µg/ml im HBDT und 1,0 µg/ml im HRT mit  $r = 0,453$  eine nur mäßige Korrelation (s. Abb. 16).



**Abb. 15:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 0,5 µg/ml im HRT

## 4. Ergebnisse

---



**Abb. 16:** Korrelation des HBDT zum Histaminfreisetzungstest bei einer Konzentration von 1,0 µg/ml im HRT

### 4.8.3 Vergleich des HBDT mit dem RAST für Bienengift

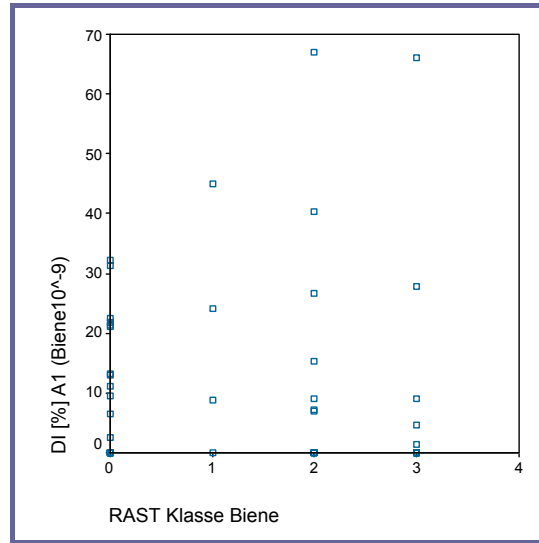
Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ergab bei der Allergenkonzentration 0,001 µg/ml mit  $r = -0,132$  und bei 0,01 µg/ml mit  $r = 0,196$  keine signifikante Korrelation (s. Abb. 17 und 18).

Die Korrelation war bei der Allergenkonzentration 0,1 µg/ml mit  $r = 0,618$  und 1,0 µg/ml mit  $r = 0,622$  signifikant (s. Abb. 19 und 20).

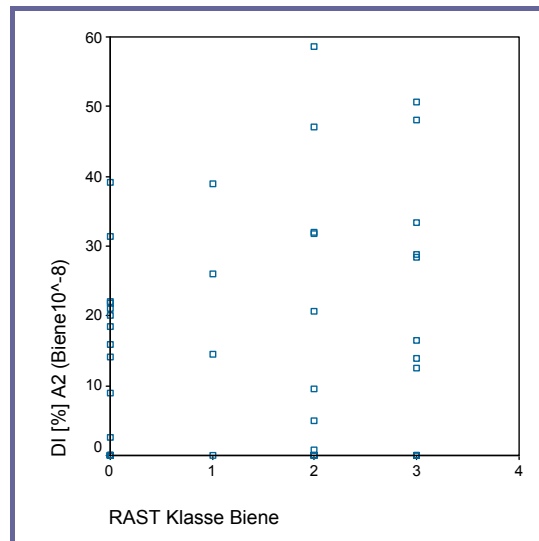


## 4. Ergebnisse

---



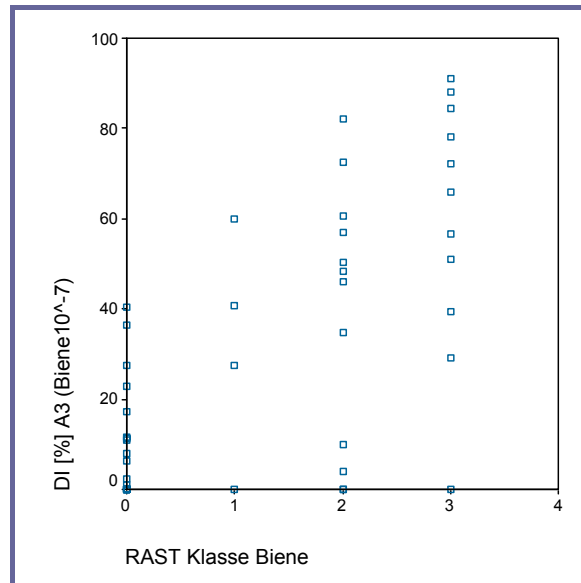
**Abb. 17:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 0,001  $\mu\text{g/ml}$



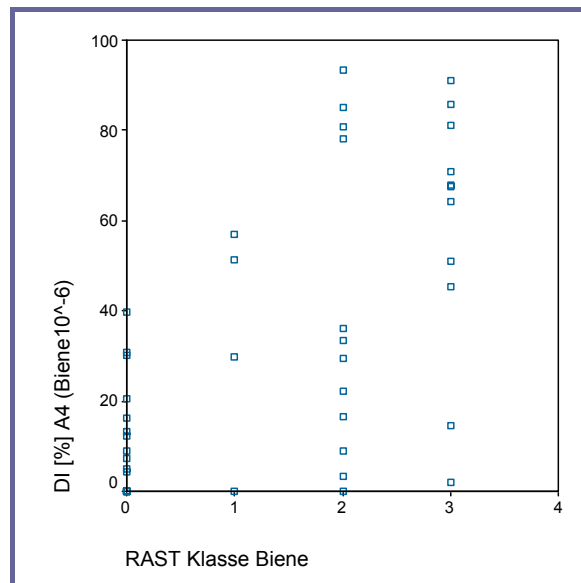
**Abb. 18:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 0,01  $\mu\text{g/ml}$

## 4. Ergebnisse

---



**Abb. 19:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 0,1 µg/ml



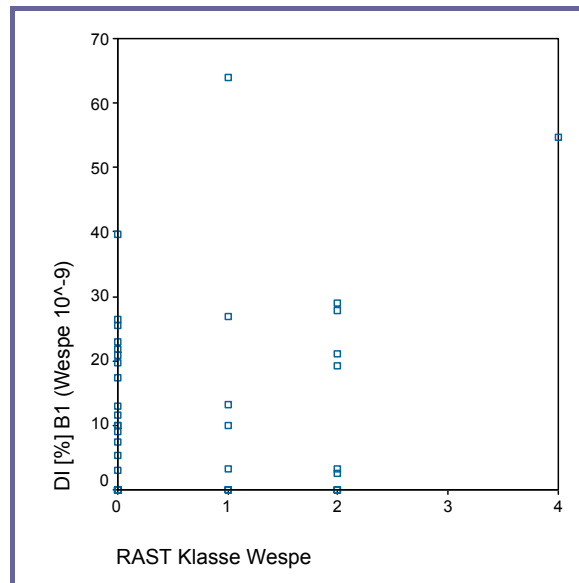
**Abb. 20:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 1,0 µg/ml

## 4. Ergebnisse

---

### 4.8.4 Vergleich des HBDT mit dem RAST für Wespengift

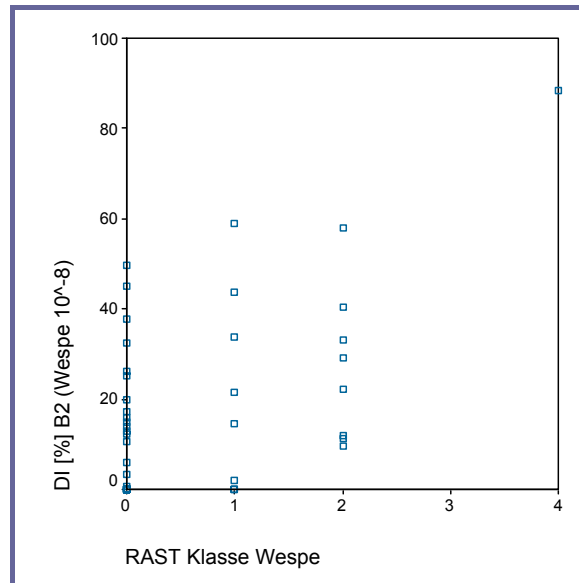
Bei der Testung auf Wespengift ergab sich bei der Konzentration 0,001 µg/ml im HBDT mit  $r = 0,214$  keine Korrelation, bei der Konzentration 0,01 µg/ml mit  $r = 0,405$  eine schwache Korrelation mit dem RAST (s. Abb. 21 und 22).



**Abb. 21:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 0,001 µg/ml

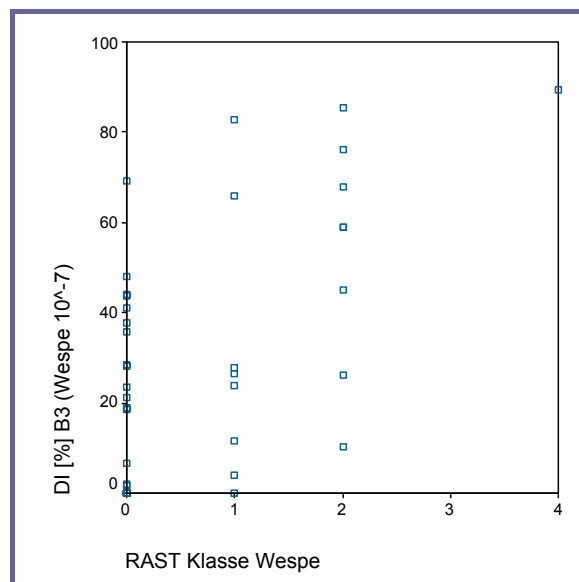
## 4. Ergebnisse

---



**Abb. 22:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 0,01 µg/ml

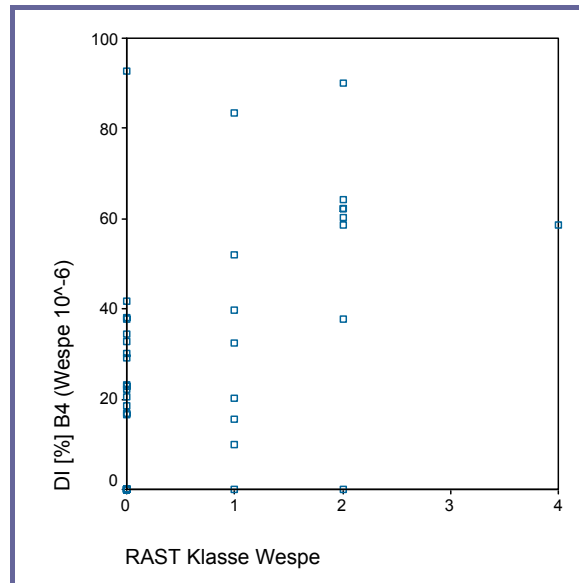
Die Korrelation war signifikant bei den Allergenkonzentrationen 0,1 µg/ml mit  $r = 0,526$  und 1,0 µg/ml mit  $r = 0,524$  (s. Abb. 23 und 24), jedoch deutlich niedriger als bei Bienengift.



**Abb. 23:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von 0,1 µg/ml

## 4. Ergebnisse

---



**Abb. 24:** Korrelation des HBDT zum RAST bei der Allergenkonzentration von  $1,0 \mu\text{g/ml}$

## 5. Vergleich von HBDT mit dem Goldstandard: Anamnese, Hauttest und RAST

---

### 5. Vergleich von HBDT mit dem Goldstandard: Anamnese, Hauttest und RAST

Zur Bestimmung von Sensitivität und Spezifität wurden die Ergebnisse des HBDT der 32 Bienen- und Wespengiftallergiker, die anschließend einer Hyposensibilisierungsbehandlung unterzogen wurden (Score  $\geq 4$ ), mit den 7 nichtallergischen Kontrollpersonen verglichen (s. Tab. 16 und 17).

#### 5.1 Bienengift

Bei der Testung auf Bienengift betrug die Sensitivität 64 % und die Spezifität 100 % (Tab. 16).

**Tab. 16:** Ergebnis des HBDT bei 25 Patienten mit im Goldstandard gesicherter Bienengiftallergie sowie bei 7 Nichtallergikern

	HBDT Biene		
Bienenallergie	negativ	positiv	Gesamt
negativ	7	0	7
positiv	9	16	25
gesamt	16	16	32

Die Signifikanzanalyse wurde mit dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson durchgeführt.

Als Maß der Übereinstimmung wurde der Kappa-Index bestimmt:

Mit Kappa = 0,438 zeigte sich eine deutliche Übereinstimmung.

## 5. Vergleich von HBDT mit dem Goldstandard: Anamnese, Hauttest und RAST

---

### 5.2 Wespengift

Bei der Testung auf Wespengift zeigte der HBDT eine Sensitivität von 66,7 % und eine Spezifität von 100 % (s. Tab. 17).

**Tab. 17:** Ergebnis des HBDT bei 9 Patienten mit im Goldstandard gesicherter Wespengiftallergie sowie bei 6 Nichtallergikern

	HBDT Wespe		
Wespenallergie	negativ	positiv	Gesamt
negativ	6	0	6
positiv	3	6	9
gesamt	9	6	15

Der Kappa-Index zeigte mit 0,615 eine starke Übereinstimmung.

## **6. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des HBDT**

---

### **6. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des HBDT**

Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen, wurden mit der Blutprobe eines Patienten 5 Objektträger beschichtet. Dieser Vorgang wurde bei insgesamt 4 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie durchgeführt.

Es wurden die Zellzahlen in den Feldern A0-A4 bzw. B0-B4 pro Patient fünfmal ermittelt (s. Anhang Tab. 29 bis 32).

Da hier nur die Streuung der Zellzahlen von Interesse war, wurden hier auch Ergebnisse dargestellt, bei denen die vom Hersteller geforderte Zellzahl von 100 im Kontrollfeld nicht erreicht wurde.

#### **6.1 Zellzahlen und Degranulationsindices nach Inkubation mit Bienengift**

Bei Patient 1 lag die niedrigste Zellzahl im Kontrollfeld bei 22 und die höchste bei 59, bei einem Mittelwert von 41,2 und einer Standardabweichung von 16,66.

In A1 (Verdünnung  $10^{-9} = 0,001$ ) streute die Zellzahl pro Objektträger von 21 bis 74.

Die Resultate dieses Patienten sind ein Beispiel dafür, dass die Zellzahl in einem mit Antigen beschickten Feld (hier A1) manchmal höher waren als in einem allergenfreien Kontrollfeld (A0). Dieses Phänomen trat bei mehreren Proben auf und wurde auch vom Hersteller als möglich beschrieben.

Die Degranulationsindices dieses Patienten streuten von 0-46,4 %, d. h. von nicht sensibilisiert bis fraglich sensibilisiert (dieses Ergebnis konnte – wie oben schon mehrfach erwähnt – nicht verwertet werden).



## 6. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des HBDT

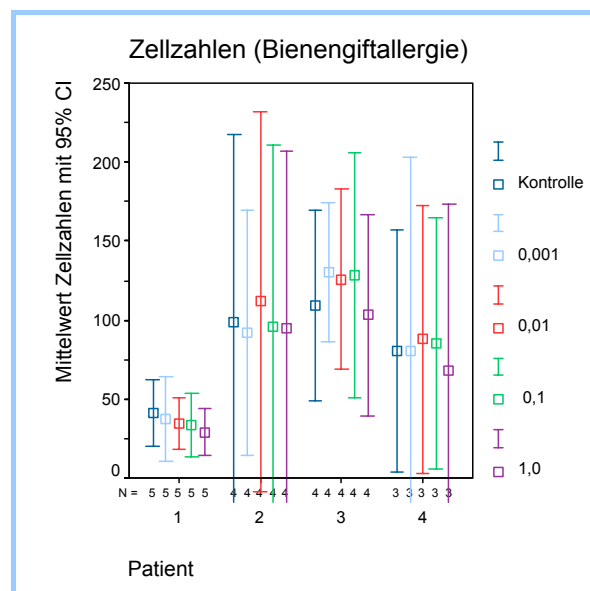
Bei Patient 2 konnten nur vier Objektträger mikroskopisch ausgewertet werden, der Fünfte war wegen einer Luftblase in der Kontrolle nicht zu verwenden.

Die Zellzahlen des Patienten in der Kontrolle streuten von 37 bis 207. Von fünf angefertigten Objektträgern hätte nur einer zur Diagnostik beitragen können.

Die Degranulationsindices dieses Patienten streuten von 0 bis 45,9 %, d. h. wiederum von nicht sensibilisiert bis schwach positiv.

Patient 3 streute von 48 bis 151, 2 Objektträger hätten für die Diagnostik nicht verwertet werden können, die Degranulationsindices zeigten durchgehend keine Sensibilisierung.

Bei Patient 4 lagen die Zellzahlen in A0 zwischen 33 und 116, d. h. nur einer von fünf Objektträgern hätte verwertet werden dürfen und ein negatives Ergebnis erbracht (s. Anhang Tab. 29, 31).



**Abb. 25:** Graphische Darstellung der Mittelwerte und der Streuung der Zellzahlen von Patient 1 bis 4 bei den einzelnen Allergenverdünnungsstufen

## **6. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des HBDT**

---

### **6.2 Zellzahlen und Degranulationsindices nach Inkubation mit Wespengift**

Bei Patient 1 ergaben sich ein Minimum der Zellzahlen in der Kontrolle von 14 und ein Maximum von 49. Diese 5 Objektträger hätten alle nicht ausgewertet werden können.

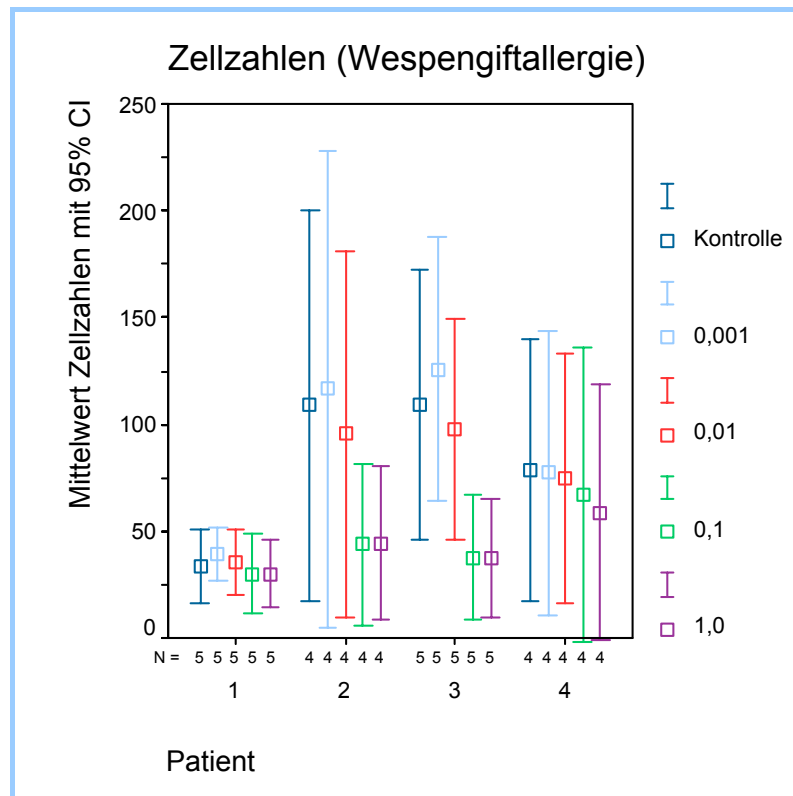
Die Degranulationsindices dieses Patienten streuten von 0 %-52,8 %.

Bei Patient 2 streuten die Zellzahlen in B0 von 63 bis 188. Von den fünf Objektträgern derselben Blutprobe hätten zwei wegen zu geringer Zellzahl in der Kontrolle (B0), einer wegen einer Luftblase in B0 nicht ausgewertet werden können. Die Degranulationsindices in der Allergenverdünnungsstufe 0,1 µg/ml lagen alle zwischen 50,8 und 67,1 %. Der Patient wäre in allen vier Proben als Allergiker erkannt worden.

Bei Patient 3 konnten von fünf Objektträgern vier mit einer Zellzahl  $\geq 100$  beurteilt werden. Der Patient wurde viermal richtig als Allergiker erkannt.

Bei Patient 4 streuten die Zellzahlen der Kontrolle von 34 bis 120, die Ergebnisse zweier Objektträger hätten verwertet werden dürfen. In diesen wäre der Patient richtig als „Nicht-Allergiker“ erkannt worden. Drei Untersuchungen hätten jedoch vollständig wiederholt werden müssen (s. Anhang Tab. 30, 32).

## 6. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des HBDT



**Abb. 26:** Graphische Darstellung der Mittelwerte und der Streuung der Zellzahlen von Patient 1 bis 4 bei den verschiedenen Allergenverdünnungsstufen

Insgesamt zeigte sich, dass bei Bienengift die Resultate in 90 % der Fälle und bei Wespengift in 85 % der Fälle reproduzierbar waren, wobei erneut die hohe Ausfallquote wegen mangelnder Basophilenzellzahl betont werden muss.

## 7. Diskussion

---

### 7. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war, die Wertigkeit des Humanen Basophilen Degranulationstests Allergolam® in der Diagnostik der Bienen- und Wespengiftallergie zu beurteilen.

Hierzu wurden bei 55 Patienten mit Verdacht auf Bienen- und/oder Wespengiftallergie die In-vivo-Testung mit Prick- bzw. Intrakutantest und die In-vitro-Diagnostik mittels RAST, Histamin Release Test und HBDT durchgeführt. Als Kontrollgruppe fungierten 15 Probanden, bei denen sich anamnestisch kein Hinweis auf Allergie oder Atopie ergab.

Der HBDT Allergolam® quantifiziert die Degranulationsreaktion der basophilen Leukozyten nach Kontakt mit einem sensibilisierenden Allergen. Bei dieser Testmethode wurden konzentrierte Zellsuspensionen mit angereicherten Basophilen auf einen Objektträger aufgetragen, der rechts und links jeweils ein Kontrollfeld (A0 und B0) und vier Antigenfelder mit ansteigender Allergenkonzentration enthielt. Durch mikroskopische Auszählung der basophilen Granulozyten in den Kontroll- und Allergenfeldern wurde der Degranulationsindex ermittelt und damit der Sensibilisierungsgrad des Patienten bestimmt.

#### 7.1 Zellzahlen

Da im peripheren Blut nur wenig basophile Zellen zu finden sind, war die von Leynadier, Dry et al. [28] erstmals durchgeführte Basokonkonzentration von großer Bedeutung. Diese wurde durch Zugabe eines Dichtemediums (Natrium-Ficoll-Metrizoat) und Zentrifugieren erreicht.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass die Zahl der Basophilen im allergenfreien Feld von Patient zu Patient stark variierte. Das Minimum lag bei 2, das Maximum bei 495 Zellen. Von 70 angefertigten Allergo-

## 7. Diskussion

---

lam®-Tests konnten 23 Objektträger für die Diagnostik nicht herangezogen werden, weil die vom Hersteller des Tests geforderte Zellzahl von 100 Basophilen in der Kontrolle nicht erreicht wurde: das waren 32,9 %.

Meist war die Zellzahl insgesamt reduziert, jedoch misslingen auch Auswertungen wegen Verklumpung von Zellen. Es handelte sich um 8 Kontrollpersonen und 16 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergien.

Das heißt in der Praxis: Der praktisch tätige Allergologe müsste jeden dritten Patienten wieder einbestellen. Die Patienten müssten erneut morgens (man bedenke den Arbeitszeitausfall) nüchtern erscheinen.

In diesem Zusammenhang ist interessant, dass der Hersteller für den Hautflüglerkit empfahl, jedoch nicht forderte, die Untersuchung doppelt durchzuführen, d. h. zwei Objektträger mit demselben Blut eines Patienten zu beschicken. Das würde doppelte Kosten und zweifachen Zeitaufwand bedeuten.

Diese Doppelbestimmung wurde außer bei Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in keiner Studie zum HBDT durchgeführt.

In einer Studie der Universität Marburg, die den Allergolam® bei respiratorischen Erkrankungen im Kindesalter untersuchte, konnten von 31 Patientenproben 7 (= 22,6 %) Objektträger wegen Basopenie oder Zellverklumpung nicht beurteilt werden [20].

Ursächlich für die verminderte Zellzahl der 23 Patienten könnten ein anaphylaktischer Schock innerhalb der letzten drei Wochen oder ein Insektenstich innerhalb der letzten zehn Tage vor Blutentnahme sein. Eine direkte Basopenie kann auch vorliegen bei einer Leukozytopenie, bei oder nach Virusinfekten, bei einer Thyreoiditis oder nach Strahlentherapie. Eine medikamentöse Therapie kann sowohl die Zahl der Basophilen verringern als auch die Synthese und Ausschüttung der Mediatoren beeinflussen oder aber auch die Bildung oder Kopplung der An-

## **7. Diskussion**

---

tikörper behindern [3, 59, 61]. Dass die teilweise misslungene Basokonzentration auf eine dieser Ursachen zurückzuführen ist, ist jedoch unwahrscheinlich, weil die Patienten ausdrücklich nach dem Stichintervall, Vorerkrankungen und medikamentöser Therapie befragt wurden und frühestens nach vier Wochen In-vitro- und In-vivo-Tests durchgeführt wurden.

Die mittlere Basophilenzellzahl in den Feldern ohne Antigenzugabe lag bei den Allergikern mit 172 (in A0) und 176 (in B0) erwartungsgemäß deutlich höher als bei den Kontrollpatienten mit 152 (in A0) und 133 (in B0). Eine ähnliche Variabilität der Zellzahlen in A0 und B0, in denen sich kein Allergen befand, wurde auch in einer französischen Studie von Mordelet-Dambrine 1983 beschrieben [35].

Man könnte allerdings die statistische Signifikanz des Tests erhöhen, indem man von A0 + B0 den Mittelwert bildet.

### **7.2 Degranulationsindex**

Die Degranulationsindices waren bei den Allergikern in der Regel höher als bei den Kontrollpersonen. Erwartungsgemäß zeigte sich bei den Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie eine Zunahme der Degranulationsindices mit steigender Allergenkonzentration.

### **7.3 Reproduzierbarkeit**

Um die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse des Allergolam® zu überprüfen, wurden bei vier Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie der HBDT jeweils fünfmal durchgeführt.

Bei großer Streuung der Zellzahlen und Degranulationsindices zeigte

## 7. Diskussion

---

sich, dass die Ergebnisse bei Bienengift in 90 %, bei Wespengift in 85 % der Fälle reproduzierbar waren.

Von den zwanzig Objektträgern waren jedoch nur acht mit ausreichender Kontrollzellzahl.

Da diese Untersuchungen zum Schluss durchgeführt wurden, erhärtete sich der Verdacht, dass mit Annäherung an das Verfallsdatum der Objektträger und Testsubstanzen die Basokonzentration immer häufiger misslang, d. h. dass die Haltbarkeit kürzer war als angegeben.

Eine Studie zur Reproduzierbarkeit der Testergebnisse des HBDT wurde von Sabbah 1988 durchgeführt. Die Blutproben von 28 Patienten mit anaphylaktischen oder systemischen Reaktionen auf Hymenoptereingift wurden jeweils in Labors in Angers und Paris untersucht. Die Übereinstimmung der Testergebnisse war mit 38,5 % gering [53].

Ito et al. [25] ließen die fertigen Objektträger, beschichtet mit dem Blut von 7 Patienten, von 2 Beobachtern auszählen. Bei Hausstaub und Hausstaubmilben wurde eine 100-%ige Übereinstimmung erzielt, bei Schimmelpilzen waren 86 % und bei Katzen- und Hundehaar nur 57 % der Ergebnisse identisch.

Bei getrennter Durchführung und Auswertung des HBDT von 7 Patientenproben durch zwei unterschiedliche Personen ergaben sich für Hausstaub und Hausstaubmilben ebenfalls eine 100-%ige und bei Katzen- und Hundehaar eine 57-%ige Übereinstimmung. Jedoch bei Schimmelpilzen waren nur 2 von 7 Testergebnissen identisch.

Um den Faktor ‚Subjektivität des Betrachters‘ auszuschalten und den Zeitaufwand der Auswertung zu reduzieren, wurde die maschinelle Auswertung (mittels Optomax Image Analyser) von Leynadier [31] untersucht. Aber auch hier entstanden Artefakte z. B. durch Staub auf dem Objektträger.

## 7. Diskussion

---

### 7.4 Basophilendegranulationstest im Vergleich mit RAST und Histaminfreisetzungstest

Der direkte Vergleich des HBDT mit anderen In-vitro-Untersuchungsmethoden zeigte überraschende Ergebnisse.

War die Konkordanz zwischen HBDT und HRT mit 68 % bei Bienengift noch ähnlich hoch wie zwischen HBDT und RAST mit 72 %, so zeigte sich bei Wespengift zwischen HBDT und HRT eine mit 74 % deutlich niedrigere Übereinstimmung als zwischen HBDT und RAST mit 90 %. Da es sich bei HBDT und HRT um zelluläre Tests handelt, die auch immunologische Faktoren wie die ‚Freisetzungsfähigkeit‘ (‚releasability‘) der Granulozyten widerspiegeln [49], hätte man eine höhere Übereinstimmung dieser beiden Methoden erwarten können.

In einer Studie der Universitätshautklinik Münster [52] mit 43 Patienten waren bei Bienengift 87 % und bei Wespengift 91 % der Ergebnisse von HBDT und RAST identisch.

Deutlich abweichende Resultate brachte eine Untersuchung der Hautklinik Heidelberg mit einer geringen Konkordanz von 35 % bei Bienengift und 36 % bei Wespengift [42].

Mit der Bestimmung der Korrelationskoeffizienten nach Spearman konnte in dieser Arbeit eine signifikante Korrelation bei Bienengift nachgewiesen werden für die Wertepaare HBDT und HRT mit  $r = 0,67$  und HBDT und RAST mit  $r = 0,62$ . Eine schwache Korrelation ergab sich bei Wespengift für das Wertepaar HBDT und HRT mit  $r = 0,45$  und HBDT und RAST mit  $r = 0,53$ .



## **7. Diskussion**

---

### **7.5 HBDT und Hauttest**

Auch der Vergleich HBDT zu In-vivo-Hauttestung zeigte wieder sehr divergierende Resultate. HBDT und Intrakutan- bzw. Pricktest korrelierten bei Bienengift zu nur 59 %, bei Wespengift zu 80 %.

Die Heidelberger Studie ergab eine Korrelation von 53 %, die Arbeit aus Münster von 83 % bei Bienengift und jeweils von 49 % und 77 % bei Wespengift [42, 52].

### **7.6 Spezifität und Sensitivität des HBDT**

Die wichtigsten Qualitätsmerkmale eines Labortests sind dessen Sensitivität und Spezifität.

Diese wurden mit der Vierfelderkorrelation ermittelt, indem das Ergebnis des Allergolam®-Tests dem Goldstandard – der Summe der Ergebnisse von Anamnese, Hauttest und RAST – gegenübergestellt wurde.

Der HBDT überzeugt durch die ausgezeichnete Spezifität von 100 % für Bienen- und Wespengift. Die Sensitivität zeigte sich mit 64 % bei Bienengift und 66,7 % bei Wespengift deutlich niedriger.

Dass die Spezifität deutlich über der Sensitivität liegt, ergab auch die Heidelberger Studie. Und zwar sowohl für Bienen- und Wespengift als auch für Gräser, Hausstaub und Hausstaubmilben [42].

Eine Untersuchung der Pneumonologischen Abteilung des Krankenhauses Wels, die den Allergolam® bei Hausstaubmilben- und Gräserpollenallergikern einsetzte, erzielte ebenfalls eine Spezifität von 100 % bei einer Sensitivität von 86 bzw. 81 % [2].

Diese hohe Spezifität und in der Regel niedrigere Sensitivität der Basophilen-Degranulationsmethode konnte in weiteren Studien für Insek-

## 7. Diskussion

---

tengifte [60, 38, 8], für Gräserpollen [61] sowie für Hausstaub und Hausstaubmilben [16, 39, 15] festgestellt werden.

### 7.7 Basophilen-Degranulationstest und Insektengifte

Es liegen nicht viele Studien über den Allergolam®-Test in der Diagnostik von Bienen- und Wespengiftallergien vor.

Beim Vergleich mit früheren Untersuchungen mit dem Human Basophilen Degranulationstest sollte beachtet werden, dass nicht immer die Hersteller und die Zusammensetzung der Allergene für Hauttestung, Histamin Release Test und RAST dokumentiert wurden. Teils divergierten auch die Normwerte.

In ähnlicher Technik wie der HBDT führte Mumcuoglu 1979 und 1980 den Basophilen-Degranulationstest (BDT) bei 50 Bienen- und/oder Wespengiftallergikern durch. Hierbei wurde Heparinblut nicht auf vorgefertigte, allergenbeschichtete Objektträger gegeben, sondern in Röhrchen mit Antigenzusatz inkubiert, mit Toluidinblau versetzt und in einer Neubauer Zählkammer ausgewertet. In dieser Studie ergab sich eine Übereinstimmung von Anamnese und RAST von 75 %, Anamnese und BDT von 74 % und RAST und BDT von nur 60 %.

Weiters fand Mumcuoglu, dass der RAST ohne neue ‚Stimulation‘, d. h. ohne neuen Stich im Verlauf von ein bis drei Jahren oft wieder negativ wurde und dass daher bei größerem zeitlichen Abstand zwischen allergischer Reaktion und Untersuchung auch bei sichererer Sensibilisierung ein falsch negatives RAST-Ergebnis gefunden wurde [38, 39]. Der BDT blieb dagegen länger positiv.

Da der BDT wie der HBDT mit zellfixiertem IgE arbeitet, ist es möglich, dass im Serum der Titer des betreffenden IgE unter messbare Werte

## 7. Diskussion

---

gesunken ist, die Rezeptoren der Basophilen und Mastzellen aber noch mit IgE besetzt sind.

In einer Schweizer Studie von Wüthrich et al., die den modifizierten Test von Mumcuoglu bei 98 Bienen- und Wespengiftallergikern anwandten, wurde dem Intervall zwischen Stich und Testung besondere Aufmerksamkeit entgegengebracht. Lag das letzte Stichereignis länger als ein halbes Jahr und weniger als zwei Jahre zurück, so zeigte der BDT eine signifikant größere Positivitätsrate als RAST und Hauttestung [60].

Dietschi et al. führten 1987 eine Untersuchung des HBDT mit gewaschenen und ungewaschenen Leukozyten bei 24 Insektengiftallergikern vor und während einer Hyposensibilisierung durch. Sie wiesen nach, dass der HBDT mit ungewaschenen Leukozyten sechs bis neun Monate nach Beginn der Immuntherapie negativ war, wohingegen der RAST noch klar positive Resultate zeigte. Sie führten dies auf blockierende giftspezifische IgG-Antikörper zurück. Bei gewaschenen Leukozyten war der HBDT auch nach sechs bis neun Monaten noch positiv [11].

### 7.8 Basophilen-Degranulationstest und andere Allergene

Gu et al. testeten Patienten mit allergischem Asthma bronchiale im HBDT auf *Alternaria*. Es zeigte sich eine Positivitätsrate von 92 % und eine gute Korrelation mit dem Hauttest. Die Degranulationsindices waren bei den Allergikern signifikant höher als bei den Kontrollen [18].

Keller et al. testeten 30 Patienten mit perennialer Rhinitis und Verdacht auf Schimmelpilzallergie. Es zeigte sich eine bessere Korrelation von HBDT mit Hauttest und nasalem Provokationstest als zwischen den beiden In-vivo-Methoden [26].

## 7. Diskussion

---

Rouquette verglich den HBDT (Allergengemisch) und den Hauttest bei allergischem Asthma bronchiale und dokumentierte eine Übereinstimmung von 82 % [51].

Bei Aoki et al. zeigte sich bei Gräserpollenallergikern eine Übereinstimmung des HBDT mit dem Hauttest von 90 % [1].

Dry et al. untersuchten Patienten mit Verdacht auf Gräserpollenallergie mit dem modifizierten HBDT, wobei ein Degranulationsindex  $\geq 30$  als positiv bewertet wurde. Sie konnten eine Konkordanz von 94 % zwischen Hauttest und HBDT feststellen. [13, 14].

In einer zweiten Studie ließ sich bei 93 Patienten mit Verdacht auf Hausstaubmilbenallergie bei *Dermatophagoides pteronyssinus* eine 95-%ige, bei *Dermatophagoides farinae* eine 87-%ige Übereinstimmung des HBDT mit dem Hauttest erzielen [15].

Donne et al. verglichen bei 55 Hausstauballergikern Hauttest, RAST und HBDT. Hierbei zeigten Hauttest und HBDT mit 90 % mehr übereinstimmende Ergebnisse als Hauttest mit RAST mit 50 % [12].

Leynadier et al. untersuchten den HBDT mit gewaschenen Leukozyten von 10 Hausstaubmilbenallergikern vor und zehn Monate nach Schnellhyposensibilisierung. Auch sie fanden keine signifikanten Unterschiede bei den HBDT-Resultaten [33].

### 7.9 Praktische Anwendung, Vor- und Nachteile des HBDT

Der Zeitaufwand für die Aufbereitung der Blutprobe und die Beschichtung eines Allergolam®-Kits betrug ca. 2,3 Stunden, wobei mehrere gleichzeitig hergestellt werden konnten. Die mikroskopische Auszählung dauerte je nach Zellzahl ca. 10 bis 30 Minuten pro Objektträger. Da vom Hersteller für bestimmte Allergene eine doppelte Durchführung empfohlen wurde, war der Zeitaufwand für ein fertiges Testergebnis

## 7. Diskussion

---

folglich noch größer.

Die mikroskopische Auszählung war ermüdend. Es mussten allein in den beiden Kontrollfeldern durchschnittlich 348 Zellen gezählt werden.

Obwohl die Dauer der Durchführung des Phadebas® RAST viel länger war, konnten mit diesem größere Testreihen durchgeführt werden.

Für den Allergolam® HBDT sprachen die niedrigeren Kosten und der geringe apparative Aufwand. Es entfiel die Gefährdung des Personals durch radioaktive Substanzen sowie die Umweltbelastung.

Gegenüber dem HBDT bot der RAST den Vorteil, dass kein Nüchternblut erforderlich war und das Serum langfristig gelagert werden konnte.

Die Auswertung des HBDT musste innerhalb von 36 Stunden erfolgen.

Der Human-Basophile-Degranulationstest Allergolam® brachte den interessanten Ansatz in die Allergiediagnostik, eine mediatorsezernierende Zielzelle – den Basophilen – und deren Reaktionsfreudigkeit nach Allergenkontakt zu beobachten. Aber daraus ergab sich auch ein wesentlicher Nachteil dieser Testmethode:

die Subjektivität des Betrachters. Die mangelnde Reproduzierbarkeit der Ergebnisse von 90 % bei Bienen- und 85 % bei Wespengift stellte sich in anderen Studien noch gravierender dar. Die hohe Ausfallquote von 32,9 % der fertigen Objektträger, die an der mangelnden Stabilität der Testsubstanzen liegen könnte, stellte jedoch das Hauptproblem dar. Der ausgezeichneten Spezifität von 100 % stand die mangelnde Sensitivität von 64 % bei Bienen- und 66,7 % bei Wespengift gegenüber.

In Anbetracht der oben angeführten Nachteile und der Tatsache, dass mit dem RAST eine zuverlässige, weniger störanfällige und langfristig bewährte In-vitro-Testmethode vorlag, erwies sich der Human-Basophile-Degranulationstest Allergolam® nicht als Bereicherung der Allergiediagnostik.

## 8. Zusammenfassung

---

### 8. Zusammenfassung

Die Hyposensibilisierung ist die einzige kausale Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie. Um die Indikation für die Behandlung eindeutig zu stellen, ist eine sorgfältige Diagnostik notwendig. Diese ruht auf den drei Grundpfeilern Anamnese, In-vivo-Hauttestung und In-vitro-Test.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwieweit der Human Basophile Degranulationstest (HBDT) Allergolam® eine Alternative oder Ergänzung zur damals gängigen In-vitro-Diagnostik darstellte.

Hierzu wurde der HBDT bei 55 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie sowie bei 15 Kontrollpersonen durchgeführt.

Die Ergebnisse wurden verglichen mit Anamnese, Hauttestung, der Bestimmung der spezifischen IgE-Antikörper mittels Phadebas® RAST und der In-vitro-Histaminfreisetzung (Histamin Release Test, HRT).

Die Übereinstimmung der beiden zellulären Tests HBDT und HRT lag mit 68 % bei Bienengift und 74 % bei Wespengift deutlich niedriger als die Konkordanz von HBDT und RAST mit 72 % bei Testung auf Bienen- und 90 % auf Wespengift. Auch im Vergleich mit dem Intrakutan- bzw. Pricktest zeigte der Basophile Degranulationstest bei Bienengift mit 59 % eine niedrigere Übereinstimmung als bei Wespengift mit 80 %.

Der HBDT überzeugte mit einer ausgezeichneten Spezifität von 100 % sowohl für Bienen- als auch für Wespengift. Demgegenüber stand eine niedrige Sensitivität von 64 % bei Bienen- und 66,7 % bei Wespengift.

Die Reproduzierbarkeit, die anhand von fünffacher Testdurchführung bei vier Patienten mit Verdacht auf Hymenopterenengiftallergie überprüft wurde, erwies sich mit 90 % bei Bienen- und 85 % bei Wespengift als nicht ausreichend.

Mit einer Quote von 32,9 % nicht verwertbarer Testergebnisse wegen zu geringer Basophilenzellzahl zeigte sich der Allergolam®-Test ausge-

## 8. Zusammenfassung

---

sprochen störanfällig. Ursächlich für die teilweise nicht ausreichende Basokonzentration könnte die mangelnde Stabilität der Testmaterialien sein. Aber auch vorbestehende Erkrankungen und medikamentöse Therapie können den HBDT beeinflussen.

Die Methode des HBDT Allergolam® hat sich retrospektiv nicht als Bereicherung der Allergiediagnostik erwiesen. Die nicht automatisierte, mikroskopische Auswertung, die mangelnde Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, die hohe Ausfallsquote fertiger Objektträger bei nicht ausreichender Basokonzentration, die geringe Übereinstimmung des HBDT mit dem Hauttest bei Bienengift und die niedrige Sensitivität erlauben den Schluss, dass diese Testmethode besonders für die Diagnostik einer potentiell lebensbedrohenden Erkrankung wie der Bienen- und Wespengiftallergie nicht geeignet ist.

Die ausführliche Anamnese, der Intrakutan- und Pricktest sowie die Bestimmung des Gesamt-IgE und des spezifischen IgE mittels RAST, sowie bei unklaren Fällen die Ergänzung der Diagnostik durch andere zelluläre Tests (Histaminfreisetzungstest, Basophilenaktivierungstest oder Leukotrienfreisetzungstest) haben sich mittlerweile als bessere und praktikablere Methoden zur Indikationsstellung der Immuntherapie erwiesen.

## 8. Zusammenfassung

---

Und da sich die neuen Tage  
aus dem Schutt der alten bauen,  
kann ein ungetrübtes Auge  
rückwärtsblickend vorwärts schauen.

Friedrich Wilhelm Weber [49]



## 9. Literaturverzeichnis

---

### 9. Literaturverzeichnis

- [1] Aoki, H., Vellieux, P., Theobald-Segalen, C., Senft, M., Vervloet, D., Benveniste, J., Charpin, J.  
Clinical evaluation of the human basophil degranulation test in grass pollen allergic patients.  
Ann. Allergy 57 (1986) 319-332
  
- [2] Artmann, C., Mayer, K.  
Allergiediagnostik: Erfahrungen mit dem humanbasophilen Degranulationstest.  
Lab. med. 9 (1985) 363-368
  
- [3] Begemann, H., Begemann, M.  
Praktische Hämatologie.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1989, 180-181
  
- [4] Benveniste, J.  
The human basophil degranulation test as an in vitro method for the diagnosis of allergies.  
Clin. Allergy 11 (1981) 1-11
  
- [5] Bousquet, J., Menardo, J. L., Michel, F.  
Allergies aux Hymenoptères.  
Institut Français de recherche en Allergologie.  
Joinville-Le-pont (1985)

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [6] Braun-Falco, O.  
Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie.  
Neuere Entwicklungen. Bd. 9.  
Springer, Heidelberg, 1979, 292-293
- [7] Cahen, Y. D., Maly, F. E., Wuthrich, B.  
Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) – Verwendbarkeit in der  
Diagnostik von Insektengiftallergien.  
Schweiz. Med. Wochenschr. 127 (1997) 5-11
- [8] Cornillon, J., Faucon, D., Tourain, R.  
L'allergie aux hymenoptères. Apport des nouveaux examens bio-  
logiques au diagnostique (TDHB et RAST).  
Rev. Franc. Allergol. 21 (1981) 79-81
- [9] Dean, G. A.  
Early anaphylaxis to bee stings.  
J. A. M. A. 183 (1963) 169
- [10] De Weck, A. L.  
Zellulärer-Allergen-Stimulierungs-Test (CAST).  
Allergologie 20 (1997) 487-502
- [11] Dietschi, R., Wüthrich, B., Marti-Wyss, S., Cuhat, J.  
Der Basophilen-Degranulationstest (BDT) als Verlaufsparemeter  
einer Hyposensibilisierung mit Hymenopterengiften.  
Schweiz. Med. Wochenschr. 117 (1987) 1728-1735
- [12] Donne, J. P., Clauss, C., Guerin, B., Bignon, J.  
Respiratory allergy to house dust.  
Nouv. Presse Med. 9 (44) (1980) 3335-3337

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [13] Dry, J., Leynadier, F., Luce, H.  
Le test de dégranulation des basophiles humains: comparaison avec les tests cutanés aux pollens de graminées chez 72 sujets.  
Annales d'immunologie 130 C(1) (1979) 39-48
- [14] Dry, J., Leynadier, F., Luce, H.  
Human basophil degranulation in pollinosis: correlation with skin-test diameter.  
Sem Hop. (1980 Apr 18-25) 56 (15-16) 719-722
- [15] Dry, J., Leynadier, F., Luce, H.  
Human basophil degranulation in Dermatophagoides allergies: 93 cases.  
Ann. Allergy 44 (1980) 308-312
- [16] Feliu, X., de la Cuesta, C. G., Castillo, J. G., Sanz, M. L., Oehling, A.  
Basophil degranulation test in house dust mite allergy.  
Allergol. Immunopathol. 4 (Madr) (1989) 193-196
- [17] Frazier, C. A.  
Insect allergy. Allergic and toxic reactions to insects and other arthropods.  
St. Louis, Miss. Green (1969) 85-86
- [18] Gu, M., Zhang, X.  
HBDT in fungal allergic asthmatic patients.  
Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases 18 (1995) 158-160

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [19] Hamilton, R. G.  
Diagnostic methods for insect sting allergy.  
Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 4 (2004) 297-306
- [20] Hiller, A.  
Allergiediagnostik mit dem Basophilendegranulationstest  
Allergolam® bei respiratorischen Erkrankungen im Kindesalter.  
Marburg, Univ., Diss., 1991
- [21] Hirsch, S. R., Zastrow, J. E.  
Basophil degranulation: a new method of observation and its correlation with skin testing.  
J. Allergy Clin. Immunol. 50 (1972) 338-347
- [22] Hoffmann, D. R., Jacobson, R. S.  
Allergens in hymenoptera venom XII. How much protein is in a sting?  
Ann. Allergy 52 (1984) 276-278
- [23] Husemann, Th., Husemann, A.  
Handbuch der Toxikologie.  
Suppl., 1867, 26
- [24] Institut Pasteur  
Allergolam: Human Basophil Degranulation Test (HBDT). General methodology.

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [25] Ito, K., Kobayashi, N., Miyamoto, T., Yasueda, H., Yui, Y., Shida, T., Utrata, C., Abe, Y., Mano, K., Matsui, T. et al.  
Studies on the usefulness of the human basophil degranulation test performed using an Allergolam kit.  
Aerugi (= Allergy) 35 (1986) 1139-1148
- [26] Keller, H., Madjar, J., Schapowal, A.  
Basophil degranulation test in suspected mould allergy.  
Laryngol. Rhinol. Otol. 66 (1987) 484-489
- [27] Kersten, W., Wahl, P. G. von, Lange, C. E., Wenning, J.  
Empfehlung zur In-vitro-Diagnostik allergischer Erkrankungen.  
Allergo J. 9 (2000) 21-24
- [28] Leynadier, F., Luce, H., Dry, J.  
Une technique simple d' isolement et de fixation des polynucléaires basophiles humains.  
Rev. Franc. Allergol. 17 (1977) 215-218
- [29] Leynadier, F., Luce, H., Abrego, A., Huguier, M., Huguet, C. I., Dry, J.  
Human basophil degranulation test in diagnosis of hydatosis.  
Br. Med. J. 280 (1980) 1251
- [30] Leynadier, F., Luce, H., Dry, J.  
Méthodologie simplifiée du test de dégranulation des basophiles humains.  
Rev. Franc. Allergol. 21 (1981) 173-175

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [31] Leynadier, F., Luce, H., Abrego, A., Dry, J.  
Automated measurement of human basophil degranulation.  
Allergy 36 (1981) 239-244
- [32] Leynadier, F., Luce, H., Dry, J.  
Le test de dégranulation des basophiles humains appliqué au diagnostic des helminthiases.  
Med. et Hyg. 40 (1982) 121-125
- [33] Leynadier, F., Abuaf, N., Halpern, G. M., Murrieta, M., Garcia-Duarte, C., Dry, J.  
Blocking IgG antibodies after rush immunotherapy with mites.  
Ann. Allergy 57 (1986) 325-329
- [34] Michel, F. B., Bousquet, J., Menardo, J. L.  
Accidents secondaires aux piqûres d' hyménoptères : séméiologie et diagnostic.  
Bull. Acad. Nat. Méd. 166 (1982) 531-537
- [35] Mordelet-Dambrine, M., Marrache, F., Leynadier, F., Durieux, P., Huchon, G., Chretien, J.  
Test of human basophil degranulation. The interpretation and analysis of variability factors in the absence of antigen.  
Pathol. Biol. Paris 31 (1983) 49-51
- [36] Müller, U. R.  
Insektenstichallergie.  
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1988, 2, 64-65

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [37] Müller, U. R.  
In 21. Fortbildungskongress. Fortschritte der Allergologie, Immunologie und Dermatologie.  
Davos 2005
- [38] Mumcuoglu, Y., Wortmann, F.  
Der Basophilen-Degranulationstest in der Diagnostik von Bienen- und Wespenstichallergien.  
Schweiz. Med. Wochenschr. 109 (1979) 1183-1187
- [39] Mumcuoglu, Y., Wortmann, F.  
Modified basophil degranulation test in diagnosis of bee and wasp sting allergies.  
Allergy 35 (1980) 335-340
- [40] Nowak, R., Gottloeber, P., Peter, R. U.  
Tod nach Bienenstich.  
Der Hautarzt 54 (2003) 348-350
- [41] Ollert, M., Ring, J.  
Prognostische Bedeutung von Immunoblot-Untersuchungen bei Hymenoptereingift-Allergie.  
Allergologie 22 (Suppl 2) (1999) 78-79
- [42] Perta-Reissenberger, B.  
Der Basophilen-Degranulationstest Allergolam® im Vergleich zu Hauttest und RAST.  
Heidelberg, Univ., Diss., 1987

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [43] Pharmacia Diagnostics  
Phadebas RAST 300.  
Schweden (1984)
- [44] Przybilla, B., Bergmann, K. C., Ring, J., eds.  
Praktische Allergologische Diagnostik.  
Steinkopf, Darmstadt, 2000, 328-334
- [45] Przybilla, B., Rueff, F., Fuchs, T., Pfeiffer, C., Rakoski, J., Stolz, W., Vieluf, D.  
Insektengiftallergie. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie.  
Allergo J. 13 (2004) 186-190
- [46] Przybilla, B., Ring, J.  
Diagnostik und Therapie der Allergie vom Sofort-Typ gegenüber Bienen- und Wespengift.  
Allergologie 8 (1985) 31-36
- [47] Renz, H., Becker, W. M., Bufe, A., Tebbe, J. K., Raulf-Heimsoth, M., Sologa, J., Werfel, T., Worm, M.  
In-vitro-Allergiediagnostik.  
Allergo. J. 11 (2002) 492-506
- [48] Ring, J.  
Angewandte Allergologie.  
MMW Medizin Verlag, München, 1983, 28, 38, 75



## 9. Literaturverzeichnis

---

- [49] Ring, J.  
Angewandte Allergologie.  
Urban & Vogel, München, 2004, 3. Auflage, 33, 99, 140-142, 162-164
- [50] Ring, J., Fuchs, T., Schultze-Werninghaus, G.  
Weißbuch Allergie in Deutschland.  
Urban & Vogel, München, 2004, 2. Auflage, 238-241
- [51] Rouquette, A. M., Lugassy, D., Vacheron, F., Combrisson, A., Akoun, G.  
Human basophil degranulation test (HBDT) for diagnosis of respiratory allergic disorders.  
Sem. Hop. 57 (1981) 1181-1184
- [52] Rustemeyer, M.  
Vergleichende Beurteilung des neuen Humanen Basophilen Degranulations-Tests (HBDT) mit dem Intrakutantest und Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) bei Insektengiftallergikern.  
Münster, Univ., Diss., 1989
- [53] Sabbah, A., Pasquier, E., Le Quay, L., Oréac, J.  
Etude du test de dégranulation des basophiles humains (TDBH).  
Essai de détermination de la fiabilité.  
Allerg. Immunol. 20 (1988) 130-140
- [54] Shelley, W. B., Juhlin, L.  
A new test for detecting anaphylactic sensitivity: The basophil reaction.  
Nature 191 (1961) 1056

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [55] Shelley, W. B.  
New serological test for allergy in man.  
Nature 195 (1962) 1188
- [56] Shore, P. A., Burkhalter, A., Cohn, V. H.  
A method for the fluorometric assay of histamine in tissues.  
J. Pharmacol. Exp. Ther. 127 (1959) 182-191
- [57] Siraganian, R. P.  
Automated histamine analysis for in vitro allergy testing II.  
Correlation of skin test results with in vitro whole blood histamine  
release in 82 patients.  
J. Allergy Clin. Immunol. 59 (1977) 214-222
- [58] Soifer, M. M., Hirsch, S. R.  
The direct degranulation test and the intracutaneous test: A com-  
parison using food extract.  
J. Allergy Clin. Immunol. 56 (1975) 127-132
- [59] Thomas, L.  
Labor und Diagnose.  
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 1998, 522-530
- [60] Wüthrich, B., Dietschi, R., Berlinger, F., Marti-Wyss, S.,  
Cuhat, J.  
Der Basophilen-Degranulationstest in der Diagnostik der Hymen-  
opterengift-Allergie.  
Schweiz. Med. Wochenschr. 117 (1987) 1333-1341

## 9. Literaturverzeichnis

---

- [61] Yeung-Laiwah, A. C., Hannah, J., Patel, K. R.  
In vitro effect of calcium antagonists on basophil degranulation.  
J. Allergy Clin. Immunol. 59 (1977) 271

## 10. Anhang

### 10. Anhang

**Tab. 18:** Ergebnisse von 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie im HBDT (DI % bei den ansteigenden Allergenkonzentrationen von 0,001 bis 1,0 µg/ml), Histamin Release Test (% Histaminausschüttung bei den Allergenkonzentrationen 0,01 bis 1,0 µg/ml), RAST und Intrakutan- oder Pricktest mit Bienengift

biene	bow	alter	sex 0=m 1=w	hdbt				hr				rast	ic/pr
patient				0,001	0,01	0,1	1,0	0,01	0,1	0,5	1,0	klasse	0=neg 1=pos
1	b	28	0	4,7	12,6	78,1	81,1	13,0	23,9	42,3	55,0	3	1
2	w	58	0	0,0	0,0	40,3	7,3	2,8	9,0	7,6	7,6	0	1
3	w	39	1	21,1	22,1	0,0	0,0	2,3	2,3	0,0	0,0	0	1
4	vab	43	0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,6	5,9	4,7	7,3	0	1
5	b	14	1	6,9	0,7	4,0	33,6	0,0	0,3	2,4	2,4	2	1
6	vab	28	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	20,8	21,3	1	0
7	b	42	1	0,0	0,0	66,0	70,7	10,3	45,6	55,8	58,3	3	1
8	b	25	1	0,0	0,0	10,0	0,0	3,5	5,5	7,1	10,7	2	1
9	b	14	0	40,4	31,7	82,0	78,1	2,4	16,3	35,2	31,5	2	1
10	b	19	1	0,0	28,9	56,7	64,4	0,0	1,0	20,6	21,8	3	1
11	b	33	0	15,3	20,7	60,7	36,0	2,6	13,8	20,3	23,4	2	1
12	b	38	0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	23,8	16,1	3	1
13	b	18	1	0,0	0,0	29,1	14,5	0,0	56,3	62,5	15,6	3	1
14	b+w	41	0	0,0	0,0	0,0	22,3	0,0	0,0	0,0	1,9	2	1
15	w	21	1	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	5,0	1,1	0,0	0	1
16	w	15	1	13,0	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0
17	w	42	1	6,4	9,0	10,9	20,5	0,0	0,0	4,1	6,1	0	0
18	b	23	0	1,3	33,3	39,3	45,3	3,8	16,6	22,2	24,2	3	1
19	b	34	1	26,7	5,0	48,5	85,1	0,0	1,3	38,6	31,6	2	1
20	b	30	1	0,0	0,0	0,9	30,9	0,0	1,6	15,4	36,6	0	1
21	w	43	0	0,0	0,0	11,3	0,0	leer	leer	leer	leer	0	1
22	b	21	1	66,9	58,7	50,4	93,4	0,0	7,3	13,3	16,7	2	1
23	w	18	0	21,4	18,5	11,7	30,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0
24	b	34	1	45,0	38,9	40,8	51,2	0,5	1,2	19,9	14,1	1	1
25	b	19	0	0,0	50,7	84,5	85,8	16,0	60,8	40,3	37,8	3	1
26	b	48	1	9,0	32,0	46,0	9,0	1,4	2,0	2,9	5,8	2	1
27	w	17	0	32,2	2,5	17,3	0,0	0,0	1,0	1,2	1,6	0	0
28	vab	34	1	13,1	31,4	0,0	5,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0
29	b	47	1	9,1	48,0	72,3	67,7	10,3	38,9	43,2	39,6	3	1
30	b	33	0	0,0	0,0	56,9	80,7	3,2	20,4	28,8	20,7	2	1
31	b	24	1	27,8	13,9	50,9	50,9	0,7	1,8	3,1	3,8	3	1
32	b	13	0	0,0	28,4	88,1	67,9	0,0	4,5	34,5	29,8	3	1
33	b	39	0	24,0	26,0	60,0	57,0	1,3	11,3	10,0	10,7	1	1
34	b	20	0	66,0	16,5	91,0	91,0	72,8	75,4	75,0	75,0	3	1
35	b	62	1	7,2	9,5	34,8	29,4	3,1	3,4	3,2	4,4	2	1
36	b	55	1	0,0	47,0	72,4	16,4	8,2	71,8	76,9	71,8	2	1
37	w	34	1	21,7	0,0	2,4	4,3	2,7	0,7	4,8	6,2	0	0
38	b+w	39	0	8,9	14,5	27,4	29,8	0,0	1,1	5,3	27,5	1	1
39	b	35	1	0,0	0,0	0,0	3,4	0,0	0,0	6,4	17,5	2	1

## 10. Anhang

**Tab. 19:** Ergebnisse von 39 Patienten mit Verdacht auf Bienen- oder Wespengiftallergie im HBDT (DI % bei den ansteigenden Allergenkonzentrationen von 0,001 bis 1,0 µg/ml), Histamin Release Test (% Histaminausschüttung bei den Allergenkonzentrationen 0,001 bis 1,0 µg/ml), RAST und Intrakutan- oder Pricktest mit Wespengift

wespe patient	bow	hdbt					hr					rast klasse	ic/pr 0=neg 1=pos
		0,001	0,01	0,1	1,0	0,001	0,01	0,1	0,5	1,0			
1	b	7,4	10,7	1,8	0,0	3,3	0,5	0,4	6,7	0,0	0	0	
2	w	0,0	43,8	82,7	51,9	0,9	2,6	7,5	8,1	3,8	1	1	
3	w	21,0	58,0	10,1	0,0	0,0	0,0	9,3	7,8	6,4	2	1	
4	vab	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	3,5	3,2	2,7	2,5	0	0	
5	b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	2,8	0,0	0	1	
6	vab	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,0	0	0	
7	b	0,0	0,0	23,6	20,4	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0	0	
8	b	10,0	16,0	28,0	30,0	3,5	4,2	5,2	3,1	2,7	0	0	
9	b	29,0	40,4	85,3	90,2	0,0	2,3	25,3	35,8	29,1	2	1	
10	b	0,0	0,0	3,9	20,2	0,0	0,0	0,3	3,7	3,7	1	1	
11	b	26,5	14,0	28,4	34,4	0,9	0,6	1,6	2,7	3,6	0	0	
12	b	27,0	0,0	23,7	39,9	8,5	18,4	0,0	14,6	16,9	1	0	
13	b	27,7	29,2	76,2	62,3	2,1	14,3	29,3	leer	leer	2	1	
14	b+w	19,3	33,2	58,8	62,1	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	2	1	
15	w	3,0	0,8	18,8	29,1	5,6	7,8	8,9	39,5	48,9	0	1	
16	w	3,2	9,5	26,3	37,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2	0	
17	w	19,7	49,7	69,3	92,7	1,0	1,0	3,1	34,4	38,4	0	1	
18	b	13,3	33,7	0,0	0,0	0,0	1,6	2,8	3,4	4,8	1	0	
19	b	9,9	2,0	27,7	9,9	0,0	1,1	0,3	8,7	1,7	1	0	
20	b	21,7	32,5	40,9	38,1	0,0	1,7	0,0	0,0	11,8	0	1	
21	w	3,3	14,5	11,7	15,4	leer	leer	leer	leer	leer	1	1	
22	b	25,6	14,9	43,6	22,3	2,0	2,5	0,7	6,3	7,3	0	0	
23	w	54,8	88,5	89,4	58,7	0,0	0,0	0,0	37,8	38,9	4	1	
24	b	0,0	21,4	26,4	32,4	0,0	1,2	1,2	16,4	11,7	1	1	
25	b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	1	
26	b	23,0	45,1	0,0	32,7	2,9	5,4	1,3	9,4	0,0	0	0	
27	w	2,5	12,0	45,0	58,5	1,6	2,2	12,8	18,1	14,5	2	1	
28	vab	20,9	12,3	18,4	22,7	0,0	2,1	0,3	0,0	0,0	0	0	
29	b	39,7	26,3	35,6	23,2	0,0	2,8	7,1	5,2	8,3	0	1	
30	b	5,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	3,6	5,2	0	0	
31	b	0,0	0,0	21,3	18,5	2,3	2,1	3,8	3,5	1,5	0	0	
32	b	17,4	0,0	37,6	37,6	14,2	0,7	21,7	7,1	45,2	0	0	
33	b	9,0	20,0	19,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0	
34	b	63,9	58,8	66,0	83,5	0,0	13,9	10,2	11,5	39,6	1	1	
35	b	0,9	5,9	0,0	0,0	0,6	1,1	0,6	0,3	1,3	0	0	
36	b	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,1	3,1	3,1	4,1	0	0	
37	w	0,0	11,2	59,0	60,1	0,0	0,0	3,4	9,6	35,8	2	1	
38	b+w	0,0	22,3	67,9	64,3	0,0	0,0	4,2	28,6	75,1	2	1	
39	b	11,7	3,3	6,6	16,7	0,0	0,0	0,0	1,6	23,8	0	0	

## 10. Anhang

**Tab. 20:** Ergebnisse des HBDT, Histamin Release Tests, RAST und Intrakutan- oder Pricktests mit Bienengift bei 16 Patienten, die die geforderte Zellzahl von 100 im Kontrollfeld des HBDT nicht erreicht haben

biene patient	bow	alter	sex 0=m 1=w	biene hdbt				hr				rast klasse	ic/pr 0=neg 1=pos
				0,001	0,01	0,1	1,0	0,01	0,1	0,5	1,0		
1	b+w	50	1	0,0	0,0	20,0	30,0	0,0	0,0	8,3	12,5	1	1
2	b	28	0	0,0	0,0	56,5	66,1	9,7	14,5	9,8	9,8	4	1
3	b	31	0	4,8	90,5	leer	leer	9,3	leer	66,7	55,7	3	1
4	b	37	0	0,0	0,0	42,9	28,6	1,7	1,7	leer	31,3	2	1
5	b	21	1	0,0	42,5	22,5	30,0	4,2	3,0	2,2	2,2	3	1
6	w	45	1	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0
7	b	64	1	21,0	73,7	leer	leer	35,5	43,9	48,9	57,5	1	1
8	b	35	1	leer	0,0	41,6	leer	3,1	28,0	27,0	21,2	2	1
9	b	27	0	0,0	7,8	10,4	11,7	0,0	0,0	1,3	4,1	3	1
10	b	7	1	10,4	49,4	42,9	31,2	14,9	30,3	28,3	30,0	2	1
11	vab	31	1	2,2	5,6	5,6	leer	0,0	0,0	0,0	0,0	1	0
12	w	leer	1	26,4	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	4,9	8,3	0	0
13	w	56	1	0,0	46,0	14,0	0,0	10,3	11,1	11,1	11,1	0	0
14	w	leer	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	6,5	8,1	0	0
15	b	29	1	0,0	46,8	93,6	80,8	leer	leer	leer	leer	3	1
16	vaw	14	1	22,5	30,0	35,0	37,5	0,0	0,0	1,0	2,0	0	0

**Tab. 21:** Ergebnisse des HBDT, Histamin Release Tests, RAST und Intrakutan- oder Pricktests mit Wespengift bei 16 Patienten, die die geforderte Zellzahl von 100 im Kontrollfeld des HBDT nicht erreicht haben

wespe patient	bow	hdbt				hr				rast klasse	ic/pr 0=neg 1=pos	
		0,001	0,01	0,1	1,0	0,001	0,01	0,1	0,5			1,0
1	b+w	4,0	4,0	44,0	68,0	0,0	4,2	8,3	25,0	37,5	3	1
2	b	6,5	35,5	28,0	33,3	0,0	3,3	1,8	0,0	11,8	0	0
3	b	0,0	16,6	57,7	68,0	0,0	0,3	5,0	7,3	22,3	0	1
4	b	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	6,3	16,3	leer	16,3	0	0
5	b	14,3	28,6	22,9	31,4	2,1	3,6	4,1	1,1	0,0	0	0
6	w	6,6	0,0	54,1	59,0	0,0	0,0	11,6	21,8	16,9	3	1
7	b	8,3	0,0	0,0	8,3	0,0	0,0	0,0	0,0	12,8	0	0
8	b	77,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0
9	b	0,0	19,0	leer	10,1	0,0	0,0	0,0	4,1	4,1	0	0
10	b	leer	leer	14,9	20,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0
11	vab	0,0	5,5	0,0	leer	4,1	14,2	17,8	17,8	13,3	0	0
12	w	22,6	24,5	77,4	58,5	0,0	0,0	22,8	30,9	32,6	2	1
13	w	18,6	22,0	52,5	32,2	11,1	9,4	13,7	14,5	8,5	1	1
14	w	0,0	44,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	1
15	b	0,0	18,4	23,7	0,0	leer	leer	leer	leer	leer	0	1
16	vaw	0,0	0,0	7,0	4,7	0,0	2,0	4,0	6,1	24,3	0	1

## 10. Anhang

**Tab. 22:** Ergebnisse des HBDT, Histamin Release Tests, RAST und Intrakutan- oder Pricktests mit Bienengift bei 15 Kontrollpersonen

biene patient		alter	sex 0=m 1=w	hdbt c 0,001 di %	0,01	0,1	1,0	hr c 0,01 %	0,1	0,5	1,0	rast klasse	ic/pr 0=neg 1=pos
1		43	1	9,4	15,9	8,0	0,0	0,0	2,3	0,0	4,5	0	fehlt
2		26	0	0,0	21,9	22,9	16,2	0,0	2,5	5,0	5,0	0	fehlt
3		25	1	2,6	14,1	6,4	12,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
4		33	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4	0	fehlt
5		31	0	31,4	39,2	27,5	39,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
6		35	0	22,4	21,0	0,0	9,1	0,0	0,0	4,9	10,3	0	fehlt
7		54	0	11,2	0,0	36,5	13,1	0,9	2,6	1,7	3,4	0	fehlt
8	zzna	35	0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	7,1	10,4	14,0	0	fehlt
9	zzna	40	1	15,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	3,4	7,6	0	fehlt
10	zzna	29	0	40,0	6,7	55,0	10,0	2,1	4,8	2,1	2,1	0	fehlt
11	zzna	17	0	0,0	1,3	15,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
12	zzna	46	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	2,8	5,7	0	fehlt
13	zzna	23	1	0,0	11,1	0,0	0,0	1,3	1,3	8,7	8,7	0	fehlt
14	zzna	59	0	0,0	0,0	27,1	0,0	0,0	2,9	0,0	5,8	0	fehlt
15	zzna	43	1	15,0	1,3	fehlt	0,0	0,8	0,8	0,0	3,3	0	fehlt

**Tab. 23:** Ergebnisse des HBDT, Histamin Release Tests, RAST und Intrakutan- oder Pricktests mit Wespengift bei 15 Kontrollpersonen

wespe patient		hdbt c 0,001 di %	0,01	0,1	1,0	hr c 0,001 %	0,01	0,1	0,5	1,0	rast klasse	ic/pr 0=neg 1=pos
1		0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	2,3	3,5	1,5	4,6	0	fehlt
2		13,0	25,0	48,0	17,0	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
3		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
4		0,0	37,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2,9	0,0	0,0	0	fehlt
5		10,0	17,1	44,1	41,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
6		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,7	43,9	43,0	35,8	0	fehlt
7		0,0	12,8	2,0	fehlt	0,0	0,0	2,2	6,0	10,3	0	fehlt
8	zzna	0,0	0,0	25,0	50,0	7,1	10,4	3,4	10,4	49,1	0	fehlt
9	zzna	19,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,8	9,3	0	fehlt
10	zzna	2,2	2,2	17,4	0,0	2,1	2,1	1,3	12,5	22,9	0	fehlt
11	zzna	47,0	27,7	28,9	24,1	0,0	0,0	3,4	37,2	28,2	0	fehlt
12	zzna	0,0	0,0	13,5	0,0	1,4	2,8	1,4	7,1	0,0	0	fehlt
13	zzna	0,0	34,8	fehlt	0,0	4,0	7,3	4,0	4,0	3,3	0	fehlt
14	zzna	17,0	34,0	30,2	9,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	fehlt
15	zzna	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	7,4	2,5	9,9	9,9	0	fehlt

## 10. Anhang

**Tab. 24:** Zellzahl im Kontrollfeld

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
Allergiker	Zellzahl Kontrolle Bienengiftallergie	39	171,62	83,171	100	451	108,00	150,00	204,00
	Zellzahl Kontrolle Wespengiftallergie	39	175,97	94,409	100	495	109,00	149,00	200,00
Kontrollgruppe	Zellzahl Kontrolle Bienengiftallergie	7	151,57	42,099	105	210	107,00	141,00	204,00
	Zellzahl Kontrolle Wespengiftallergie	7	132,57	41,146	100	211	102,00	113,00	159,00

**Tab. 25:** Degranulationsindices bei den einzelnen Allergenverdunstungsstufen

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
Allergiegruppe	DI [%] A1 (Biene 10 <sup>-9</sup> )	39	12,51	17,647	,0	66,9	,00	6,40	21,40
	DI [%] A2 (Biene 10 <sup>-8</sup> )	39	15,91	17,250	,0	58,7	,00	12,60	28,90
	DI [%] A3 (Biene 10 <sup>-7</sup> )	39	34,47	30,886	,0	91,0	,90	34,80	60,00
	DI [%] A4 (Biene 10 <sup>-6</sup> )	39	34,99	32,245	,0	93,4	3,40	29,80	67,70
Kontrollgruppe	DI [%] A1 (Biene 10 <sup>-9</sup> )	7	11,00	11,980	,0	31,4	,00	9,42	22,40
	DI [%] A2 (Biene 10 <sup>-8</sup> )	7	16,01	13,623	,0	39,2	,00	15,90	21,90
	DI [%] A3 (Biene 10 <sup>-7</sup> )	7	14,47	14,444	,0	36,5	,00	8,00	27,50
	DI [%] A4 (Biene 10 <sup>-6</sup> )	7	12,90	13,397	,0	39,7	,00	12,20	16,20



## 10. Anhang

**Tab. 26:** Degranulationsindices bei den einzelnen Allergenverdünungsstufen

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
Allergiegruppe	DI [%] B1 (Wespe 10 <sup>-9</sup> )	39	13,22	15,550	,0	63,9	,00	9,00	21,70
	DI [%] B2 (Wespe 10 <sup>-8</sup> )	39	18,71	21,024	,0	88,5	,00	12,30	32,50
	DI [%] B3 (Wespe 10 <sup>-7</sup> )	39	29,56	27,856	,0	89,4	1,80	23,70	45,00
	DI [%] B4 (Wespe 10 <sup>-6</sup> )	39	29,89	27,231	,0	92,7	,00	23,20	51,90
Kontrollgruppe	DI [%] B1 (Wespe 10 <sup>-9</sup> )	7	3,28	5,677	,0	13,0	,00	,00	10,00
	DI [%] B2 (Wespe 10 <sup>-8</sup> )	7	13,25	14,648	,0	37,9	,00	12,80	25,00
	DI [%] B3 (Wespe 10 <sup>-7</sup> )	7	13,44	22,315	,0	48,0	,00	,00	44,10
	DI [%] B4 (Wespe 10 <sup>-6</sup> )	6	9,78	17,050	,0	41,7	,00	,00	23,17

**Tab. 27:** Ergebnisse des Histamin Release Tests bei den einzelnen Allergenverdünungsstufen

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
Allergiegruppe	% Histamin bei 10 ng/ml Bienengift	38	4,46	12,047	,0	72,8	,00	1,00	3,52
	% Histamin bei 100 ng/ml Bienengift	38	13,40	21,185	,0	75,4	,92	3,40	16,37
	% Histamin bei 500 ng/ml Bienengift	38	19,82	21,540	,0	76,9	3,05	11,65	34,67
	% Histamin bei 1.000 ng/ml Bienengift	38	19,72	19,529	,0	75,0	4,25	15,85	30,22
Kontrollgruppe	% Histamin bei 10 ng/ml Bienengift	7	,12	,340	,0	,9	,00	,00	,00
	% Histamin bei 100 ng/ml Bienengift	7	1,05	1,321	,0	2,6	,00	,00	2,50
	% Histamin bei 500 ng/ml Bienengift	7	1,65	2,333	,0	5,0	,00	,00	4,90
	% Histamin bei 1.000 ng/ml Bienengift	7	3,94	3,498	,0	10,3	,00	4,40	5,00

## 10. Anhang

**Tab. 28:** Ergebnisse des Histamin Release Tests bei den einzelnen Allergenverdünnungsstufen

Gruppe		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
Allergiegruppe	% Histamin bei 10 ng/ml Wespengift	38	2,51	4,257	,0	18,4	,00	1,10	2,52
	% Histamin bei 100 ng/ml Wespengift	38	4,45	7,111	,0	29,3	,00	1,25	5,67
	% Histamin bei 500 ng/ml Wespengift	37	9,11	11,519	,0	39,5	1,05	3,70	10,55
	% Histamin bei 1.000 ng/ml Wespengift	37	13,17	18,229	,0	75,1	,50	4,10	20,35
Kontrollgruppe	% Histamin bei 10 ng/ml Wespengift	7	1,64	2,501	,0	6,7	,00	,00	2,50
	% Histamin bei 100 ng/ml Wespengift	7	7,50	16,119	,0	43,9	,00	2,20	3,50
	% Histamin bei 500 ng/ml Wespengift	7	7,21	15,931	,0	43,0	,00	,00	6,00
	% Histamin bei 1.000 ng/ml Wespengift	7	7,24	13,176	,0	35,8	,00	,00	10,30

## 10. Anhang

**Tab. 29:** Streuung der Zellzahlen von Patient 1 bis 4 in den Kontrollfeldern und den einzelnen Allergenverdünnungen

Patient		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
1	Zellzahl Kontrolle (Biene)	5	41,20	16,664	22	59	25,00	40,00	58,00
	Zellzahl 0,001 (Biene)	5	37,00	21,552	21	74	22,00	31,00	55,00
	Zellzahl 0,01 (Biene)	5	34,80	13,008	15	45	21,50	43,00	44,00
	Zellzahl 0,1 (Biene)	5	33,80	16,053	19	59	22,00	26,00	49,50
	Zellzahl 1,0 (Biene)	5	29,00	12,021	17	45	18,50	25,00	41,50
2	Zellzahl Kontrolle (Biene)	4	99,00	74,328	37	207	46,25	76,00	174,75
	Zellzahl 0,001 (Biene)	4	91,75	48,685	57	162	58,00	74,00	143,25
	Zellzahl 0,01 (Biene)	4	112,00	75,529	56	223	61,00	84,50	190,50
	Zellzahl 0,1 (Biene)	4	95,50	72,399	41	202	46,75	69,50	170,25
	Zellzahl 1,0 (Biene)	4	94,50	70,553	40	198	46,25	70,00	167,25
3	Zellzahl Kontrolle (Biene)	5	97,00	42,661	48	151	55,00	100,00	137,50
	Zellzahl 0,001 (Biene)	5	112,40	46,544	41	170	75,50	113,00	149,00
	Zellzahl 0,01 (Biene)	5	110,40	46,220	49	168	68,50	106,00	154,50
	Zellzahl 0,1 (Biene)	5	111,00	57,948	40	185	63,00	90,00	169,50
	Zellzahl 1,0 (Biene)	4	103,00	40,175	78	163	79,50	85,50	144,00
4	Zellzahl Kontrolle (Biene)	5	65,80	30,606	33	116	44,00	60,00	90,50
	Zellzahl 0,001 (Biene)	5	69,00	41,539	25	120	27,00	75,00	108,00
	Zellzahl 0,01 (Biene)	5	70,80	35,850	27	123	41,00	64,00	104,00
	Zellzahl 0,1 (Biene)	3	85,00	32,078	65	122	65,00	68,00	122,00
	Zellzahl 1,0 (Biene)	3	68,00	42,579	27	112	27,00	65,00	112,00

## 10. Anhang

**Tab. 30:** Streuung der Zellzahlen von Patient 1 bis 4 in den Kontroll- und Allergenfeldern

Patient		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
1	Zellzahl Kontrolle (Wespe)	5	33,60	13,903	14	49	20,00	36,00	46,00
	Zellzahl 0,001 (Wespe)	5	39,00	10,100	28	52	29,00	40,00	48,50
	Zellzahl 0,01 (Wespe)	5	35,40	12,582	21	51	23,50	34,00	48,00
	Zellzahl 0,1 (Wespe)	5	30,00	14,883	13	48	15,00	32,00	44,00
	Zellzahl 1,0 (Wespe)	5	30,00	12,767	14	45	19,50	25,00	43,00
2	Zellzahl Kontrolle (Wespe)	4	109,00	57,486	63	188	64,75	92,50	169,75
	Zellzahl 0,001 (Wespe)	4	116,50	70,212	60	214	62,75	96,00	190,75
	Zellzahl 0,01 (Wespe)	4	95,75	53,897	53	167	53,50	81,50	152,25
	Zellzahl 0,1 (Wespe)	4	44,00	23,805	23	77	25,00	38,00	69,00
	Zellzahl 1,0 (Wespe)	4	44,50	22,605	25	75	26,25	39,00	68,25
3	Zellzahl Kontrolle (Wespe)	5	109,20	51,232	33	177	69,50	112,00	147,50
	Zellzahl 0,001 (Wespe)	5	125,60	49,757	41	163	84,50	135,00	162,00
	Zellzahl 0,01 (Wespe)	5	97,60	41,446	40	141	62,50	87,00	138,00
	Zellzahl 0,1 (Wespe)	5	37,80	23,795	8	73	18,00	36,00	58,50
	Zellzahl 1,0 (Wespe)	5	37,40	22,512	9	70	17,50	40,00	56,00
4	Zellzahl Kontrolle (Wespe)	5	73,40	35,451	34	120	43,50	60,00	110,00
	Zellzahl 0,001 (Wespe)	5	75,20	36,677	31	119	42,00	67,00	112,50
	Zellzahl 0,01 (Wespe)	5	71,60	32,439	32	116	45,50	60,00	103,50
	Zellzahl 0,1 (Wespe)	5	65,40	37,541	11	112	35,00	59,00	99,00
	Zellzahl 1,0 (Wespe)	4	58,75	37,819	16	100	22,00	59,50	94,75

## 10. Anhang

**Tab. 31:** Streuung der Degranulationsindices von Patient 1 bis 4 bei den vier Allergenverdünnungsstufen

Patient		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
1	DI [%] 0,001 (Biene)	5	16,34	14,715	,0	36,8	2,25	17,90	29,65
	DI [%] 0,01 (Biene)	5	24,92	16,789	,0	46,4	10,55	27,10	38,20
	DI [%] 0,1 (Biene)	5	19,38	17,787	,0	35,0	,00	29,80	33,55
	DI [%] 1,0 (Biene)	5	28,58	12,450	9,1	39,3	16,40	33,30	38,40
2	DI [%] 0,001 (Biene)	4	11,17	12,914	,0	23,0	,00	10,85	22,67
	DI [%] 0,01 (Biene)	4	6,07	12,150	,0	24,3	,00	,00	18,22
	DI [%] 0,1 (Biene)	4	16,22	20,512	,0	44,6	,60	10,15	37,92
	DI [%] 1,0 (Biene)	4	16,72	20,698	,0	45,9	1,07	10,50	38,60
3	DI [%] 0,001 (Biene)	5	4,70	6,743	,0	14,6	,00	,00	11,75
	DI [%] 0,01 (Biene)	5	5,30	7,311	,0	14,5	,00	,00	13,25
	DI [%] 0,1 (Biene)	5	11,62	11,731	,0	27,4	,00	14,00	22,05
	DI [%] 1,0 (Biene)	4	11,45	14,371	,0	29,8	,00	8,00	26,35
4	DI [%] 0,001 (Biene)	5	14,08	25,268	,0	58,3	,00	,00	35,20
	DI [%] 0,01 (Biene)	5	5,30	8,057	,0	18,2	,00	,00	13,25
	DI [%] 0,1 (Biene)	3	,00	,000	,0	,0	,00	,00	,00
	DI [%] 1,0 (Biene)	3	19,46	30,819	,0	55,0	,00	3,40	55,00

**Tab. 32:** Streuung der Degranulationsindices von Patient 1 bis 4 bei den vier Allergenverdünnungsstufen

Patient		N	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Perzentile		
							25.	50. (Median)	75.
1	DI [%] 0,001 (Wespe)	5	4,98	7,452	,0	16,7	,00	,00	12,45
	DI [%] 0,01 (Wespe)	5	5,54	12,387	,0	27,7	,00	,00	13,85
	DI [%] 0,1 (Wespe)	5	13,78	22,033	,0	52,8	1,00	7,00	29,95
	DI [%] 1,0 (Wespe)	5	9,46	17,240	,0	30,6	1,90	4,70	19,40
2	DI [%] 0,001 (Wespe)	4	3,57	7,150	,0	14,3	,00	,00	10,72
	DI [%] 0,01 (Wespe)	4	13,65	6,535	6,1	21,4	7,37	13,55	20,02
	DI [%] 0,1 (Wespe)	4	59,45	6,724	50,8	67,1	52,85	59,95	65,50
	DI [%] 1,0 (Wespe)	4	58,77	49,938	52,4	64,3	53,87	59,20	63,25
3	DI [%] 0,001 (Wespe)	5	1,58	3,533	,0	7,9	,00	,00	3,95
	DI [%] 0,01 (Wespe)	5	10,12	13,127	,0	28,0	,00	2,30	24,15
	DI [%] 0,1 (Wespe)	5	67,76	7,152	58,8	75,8	60,75	67,90	74,70
	DI [%] 1,0 (Wespe)	4	67,48	6,322	60,5	75,5	62,40	64,40	74,10
4	DI [%] 0,001 (Wespe)	5	6,44	5,996	,0	11,7	,00	8,80	11,70
	DI [%] 0,01 (Wespe)	5	3,64	3,887	,0	9,0	,00	3,30	7,45
	DI [%] 0,1 (Wespe)	5	17,98	28,265	,0	67,6	,85	6,60	40,80
	DI [%] 1,0 (Wespe)	3	30,98	16,221	16,7	52,9	17,78	27,15	48,00

# Lebenslauf

**Name:** Ursula Rüter, geb. Setzer

**Geburtsdatum:** 02.10.1960

**Geburtsort:** Passau

**Familienstand:** verheiratet  
2 Kinder

**Schulbildung:**  
1967-1969 Grundschule Neuhaus  
1969-1971 Volksschule Schärding  
1971-1979 Bundesgymnasium Schärding  
18.06.1979 Allgemeine Hochschulreife

**Studium:**  
1979-1980 Studium der Rechtswissenschaft  
an der Universität Passau  
Studium der Humanmedizin  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
24.08.1982 Ärztliche Vorprüfung  
22.03.1984 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
23.08.1985 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
21.11.1986 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

**Hochschulabschluss:**  
21.11.1986 Staatsexamen Humanmedizin

**Approbation als Arzt:**  
04.12.1986 erteilt vom Bayerischen Staatsministerium  
des Innern

**Berufliche Tätigkeit:**  
1987-1990 Kreiskrankenhaus Wegscheid  
Innere und Chirurgische Abteilung  
17.09.1990 Zusatzbezeichnung Naturheilverfahren

**Facharztprüfung:**  
07.07.1993 bei der Bayerischen Landesärztekammer  
Facharzt für Allgemeinmedizin

seit 1993 niedergelassen als Allgemeinärztin in  
Gemeinschaftspraxis mit Dr. med. Martin  
Rüter in Hauzenberg

## **Danksagung**

Mein Dank gilt

Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Ring für die Überlassung des Themas, ganz besonders für die Offenheit und Bereitschaft, mir nach so langer Zeit die Gelegenheit zu geben, diese Arbeit zu beenden,

Frau PD Dr. Bernadette Eberlein für die rasche Korrektur und die konstruktive Kritik,

Frau Elke Luxemburger für die immer freundliche und geduldige Hilfestellung im Labor,

Frau Uta Schwarz für die perfekte Schreibearbeit und vielfältige Unterstützung,

meinen Eltern sowie

Martin, Maxi und Pauli.