



DPA-Dx* Pädiatrie

Molekulare Diagnostik für die
Differenzierung von Nahrungsmittelallergien
im Kindesalter

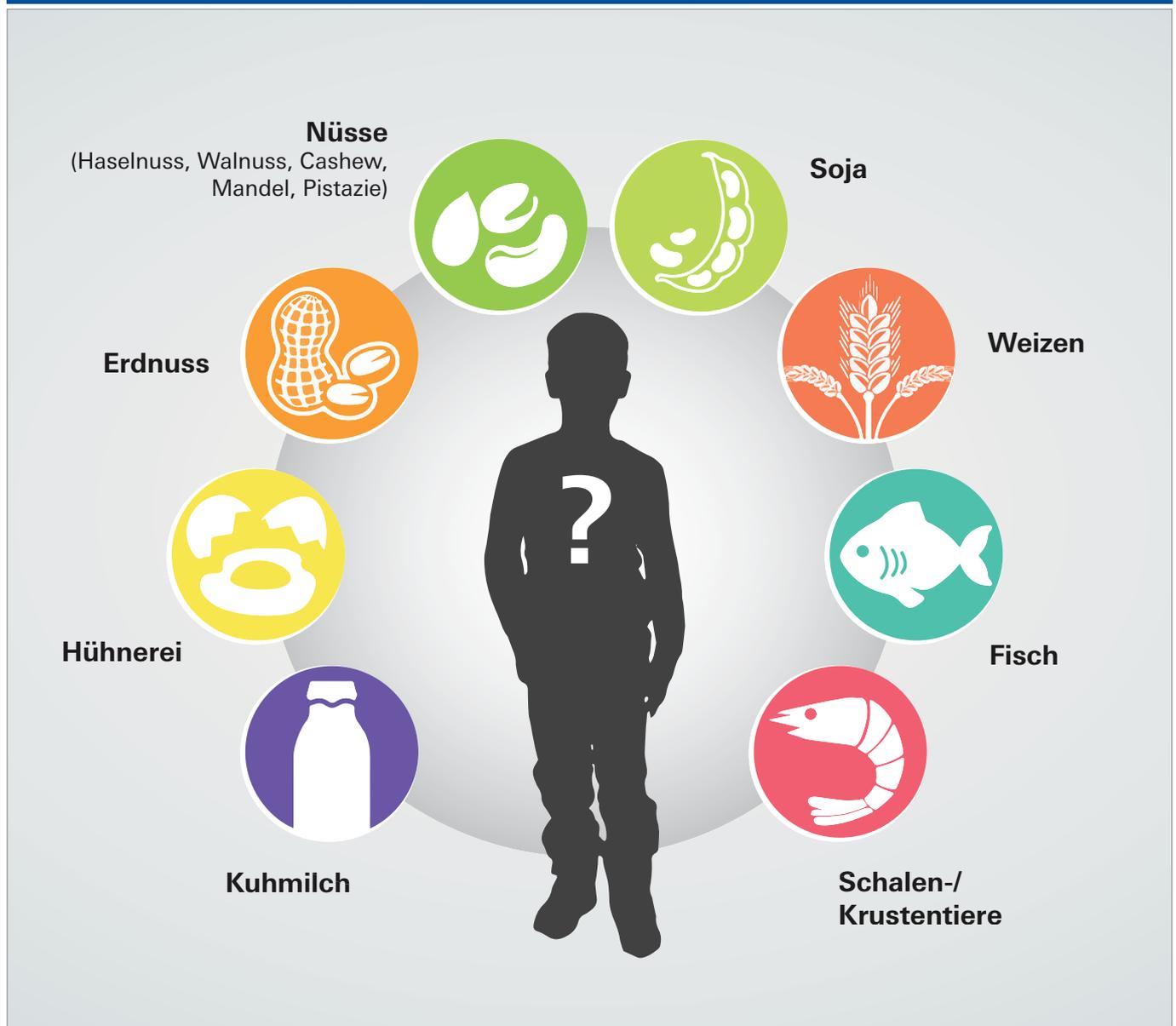


- **Detailliertes Sensibilisierungsprofil für jeden Patienten**
- **Simultane Analyse von spezifischem IgE gegen Hoch- und Niedrigrisikokomponenten**
- **Differenzierung von pollenassoziierten Erdnussallergien und echten Erdnussallergien**

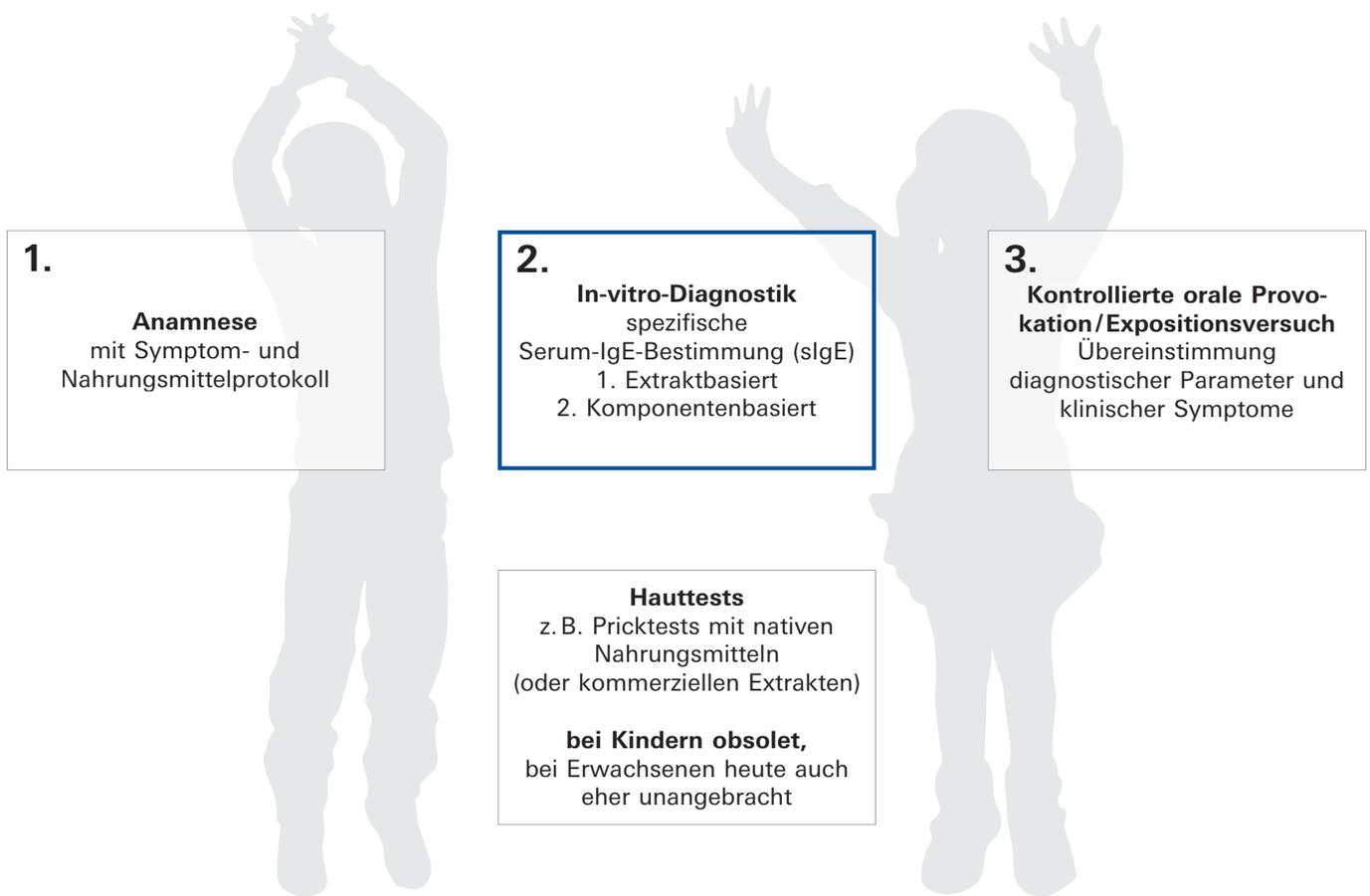
Nahrungsmittelallergien im Kindesalter

- werden in primäre und sekundäre Nahrungsmittelallergien (NMA) unterteilt:
 - Primäre NMA entstehen durch eine gastrointestinale Sensibilisierung auf Nahrungsmittelallergene.
 - Sekundäre NMA entwickeln sich infolge von Kreuzreaktionen auf Inhalationsallergene (z.B. Pollenallergene).
- werden bei bis zu 20% der Kinder vermutet, aber nur bei 4% mittels oraler Provokation bestätigt.
- lösen vielfältige Symptome aus und betreffen verschiedene Organsysteme (Haut, Magen-Darm-Trakt, Herz-Kreislauf).
- beeinträchtigen die Lebensqualität der Kinder und deren Umfeld (Familie, Erzieher, Freunde).
- sind die häufigsten Auslöser für Anaphylaxien (schwere allergische Reaktionen); bei Kuhmilch- und Hühnereiallergien vor allem in den ersten zwei Lebensjahren, bei Erdnussallergie ab dem Säuglings- bis hin zum Erwachsenenalter.

90% der Nahrungsmittelallergien basieren auf diesen Allergenquellen



Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf Nahrungsmittelallergien



Schema adaptiert nach Worm M et al., Leitlinie zum Management IgE-vermittelter Nahrungsmittelallergien. Allergo J Int 2015, 24:256

Definierte Partial-Allergen-Diagnostik (DPA-Dx) bei Nahrungsmittelallergien

- identifiziert die allergieauslösenden Proteine – Hochrisikokomponenten (nachfolgend rot gekennzeichnet) und Niedrigrisikokomponenten (nachfolgend grün gekennzeichnet) – und bereichert damit die konventionelle extraktbasierte Allergiediagnostik um wichtige Informationen:
 - Über die Proteinfamilien, zu der die Komponenten gehören, kann das Risiko für schwere allergische Reaktionen (Hochrisikokomponenten) und/oder der Verlauf von Provokationstests genauer eingeschätzt sowie die Möglichkeit einer späteren Toleranzentwicklung prognostiziert werden.
 - Über die Strukturähnlichkeit der Komponenten zu weiteren Allergenen können potentielle Kreuzreaktionen mit anderen Nahrungsmitteln und/oder Baumpollen/Gräsern vorhergesagt werden.
 - Die Identifizierung hitzelabiler Komponenten deutet darauf hin, dass gegarte Speisen möglicherweise toleriert werden (wichtig bei der Diätberatung).
- kann die Sensitivität und die Spezifität der Allergiediagnostik steigern (im Extrakt sind nicht immer alle Komponenten enthalten).

Kuhmilchallergie

- Häufigste Nahrungsmittelallergie im Säuglings-/Kleinkindalter (Prävalenz 2%)
- Symptome: Neurodermitis, Urtikaria, Magen-Darm-Beschwerden, Asthma, Anaphylaxie
- Hohe Wahrscheinlichkeit für eine spontane Toleranzentwicklung im Alter zwischen 2 und 5 Jahren (bei etwa 80% der allergischen Kinder)
- Toleranz gegenüber bestimmten Zubereitungsformen (gekocht, gebacken) kuhmilchhaltiger Lebensmittel bei einer Sensibilisierung gegenüber hitzelabilen Allergenkomponenten

Rind: **Bos domesticus**

Laktoferrin:

Bos d LTF

- Mögliche Toleranz gekochter Milch

β-Laktoglobulin:

Bos d 5

- Majorallergen
- Mögliche Toleranz gekochter Milch

Serumalbumin:

Bos d 6

- Mögliche Toleranz gekochter Milch
- Bestandteil von Rindfleisch, d. h. Reaktionen gegen Rindfleisch möglich
- Bestandteil einiger zellbasierter Immuntherapien

Kasein:

Bos d 8

- Majorallergen
- Strikte Vermeidung von Milch und Milchprodukten (roh und gekocht)
- Hohe sIgE-Titer gegen Kasein sind Hinweis auf persistierende Sensibilisierung
- Mögliche Kreuzreaktionen mit Ziegen- und Schafmilch

α-Laktalbumin:

Bos d 4

- Majorallergen
- Mögliche Toleranz gekochter Milch
- Marker für mögliche Toleranzentwicklung



Hitzestabil

Hitzelabil

Lebensmittel, die Kuhmilchproteine enthalten können:



Eiscreme



Joghurt



Käse



Schokolade



Brötchen

Hühnereiallergie

- Zweithäufigste Nahrungsmittelallergie im Säuglings-/Kleinkindalter (Prävalenz 1,5 bis 2%)
- Symptome: Neurodermitis, Urtikaria, Magen-Darm-Beschwerden, Asthma, Anaphylaxie
- Hohe Wahrscheinlichkeit für eine spontane Toleranzentwicklung im Alter zwischen 2 und 5 Jahren (bei etwa 70% der allergischen Kinder)
- Toleranz gegenüber bestimmten Zubereitungsformen (gekocht, gebacken, gebraten) hühnereihaltiger Lebensmittel bei einer Sensibilisierung gegenüber hitzelabilen Allergenkomponenten
- Wichtigste Allergenkomponenten im Eiweiß enthalten, aber aufgrund des Risikos von Kreuzkontaminationen zwischen Eiweiß und Eigelb Meidung von komplettem Ei empfohlen

Huhn: **Gallus domesticus**

Ovalbumin:

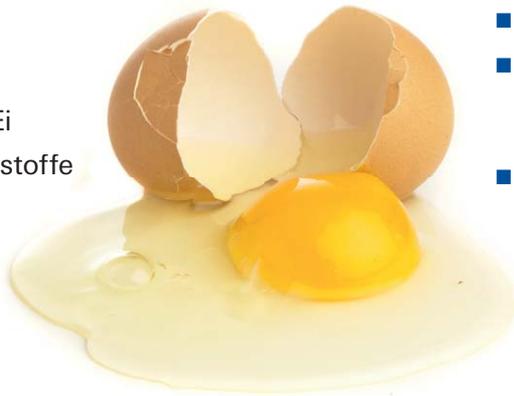
Gal d 2

- Mögliche Toleranz von ausreichend erhitztem Ei
- Bestandteil einiger Impfstoffe

Conalbumin:

Gal d 3

- Mögliche Toleranz von ausreichend erhitztem Ei
- Selten klinische Symptome



Ovomucoid:

Gal d 1

- Hohes allergenes Potenzial
- Verdauungsresistent
- Strikte Vermeidung von Produkten, die rohe und erhitzte Eier enthalten
- Hohe sIgE-Titer gegen Ovomucoid sind Hinweis auf persistierende Sensibilisierung

Lysozym:

Gal d 4

- Mögliche Toleranz von ausreichend erhitztem Ei
- Bestandteil einiger Nahrungsmittel oder pharmazeutischer Produkte (als Konservierungsmittel)

Hitzestabil

Hitzelabil

Lebensmittel/Produkte, die Hühnereiproteine enthalten können:



Impfstoffe

Pfannkuchen

Nudeln

Kuchen-/Keksteig

Eiscreme

Erdnussallergie

- Häufigster Auslöser nahrungsmittelbedingter Anaphylaxie (Prävalenz zwischen 1 und 3%)
- Symptome: orales Allergiesyndrom (OAS), gastrointestinale Beschwerden, systemische Reaktionen bis hin zu einer Anaphylaxie
- Klinisches Erscheinungsbild abhängig vom Sensibilisierungsmuster gegen verschiedene Erdnussproteine
- Meist lebenslange Persistenz

Erdnuss: *Arachis hypogaea*

Speicherproteine:

- Verdauungsresistent
- PRIMÄRE Erdnussallergie
- Hohes Risiko für schwere Reaktionen, Vermeidung selbst geringster Erdnussmengen
- Mögliche Kreuzreaktionen u. a. mit Sojabohnen, Linsen, Erbsen

Ara h 1 Ara h 2 Ara h 3 Ara h 6 Ara h 7



PR 10 Protein: (Homolog von Bet v 1 aus Birkenpollen)

- Verdauungssensitiv
- SEKUNDÄRE Erdnussallergie
- Assoziation mit mildereren Symptomen (OAS), strikte Vermeidung von Erdnüssen nicht zwingend erforderlich
- Mögliche Kreuzreaktionen mit Birke, Apfel und Haselnuss

Ara h 8

Lipidtransferprotein (LTP):

Ara h 9

- Milde, lokale bis schwere, systemische Reaktionen möglich, Vermeidung selbst geringster Erdnussmengen
- Hohe Prävalenz in Südeuropa
- Mögliche Kreuzreaktionen u. a. mit Pfirsich, Haselnuss, Apfel

Profilin:

Ara h 5

- Milde Reaktionen wahrscheinlich
- Mögliche Kreuzreaktionen u. a. mit Latex, Birke, Lieschgras

Hitzestabil

Hitzelabil

Lebensmittel/Produkte, die Erdnussproteine enthalten können:



Öle/Fette



Schokolade



Kuchen



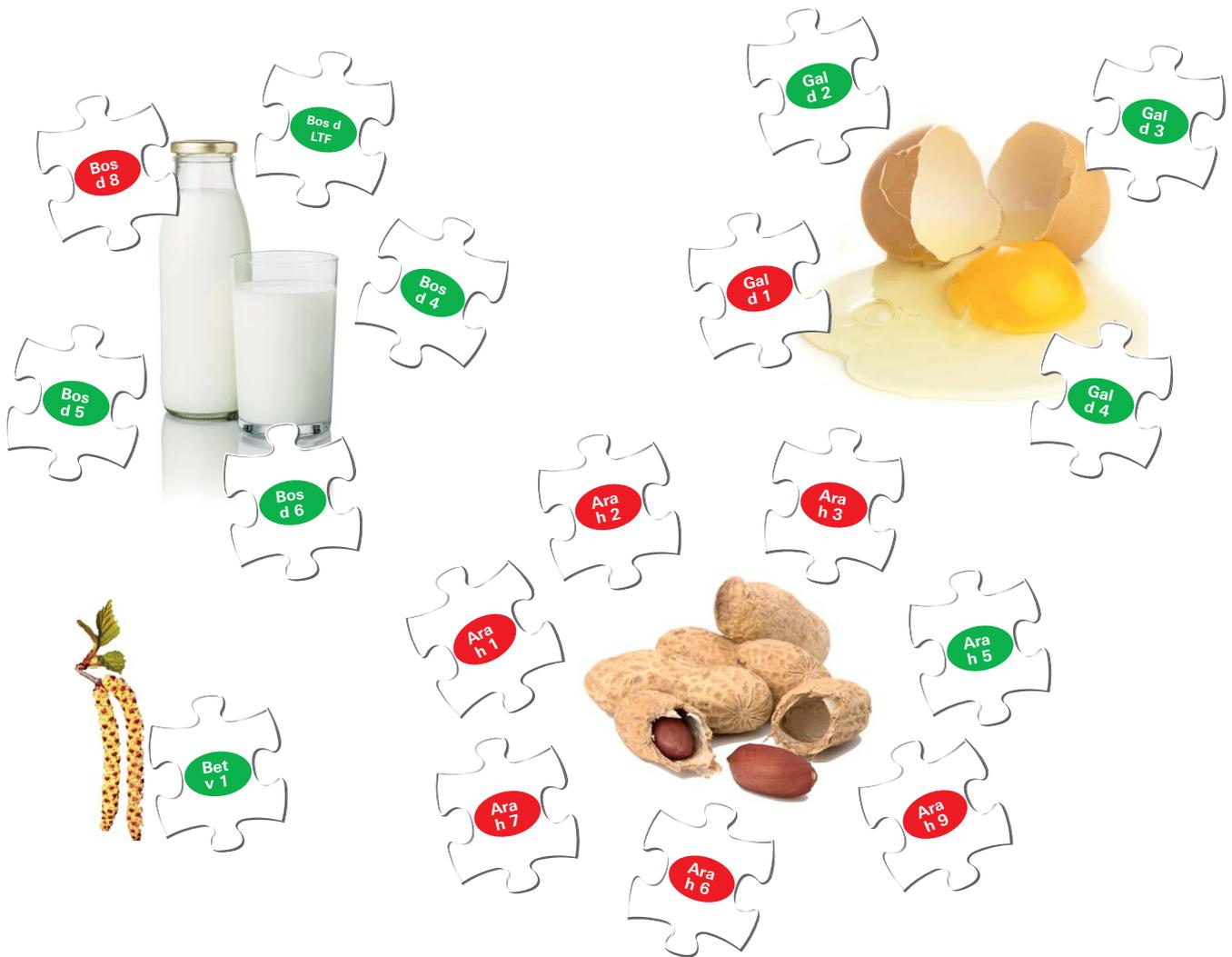
Cornflakes



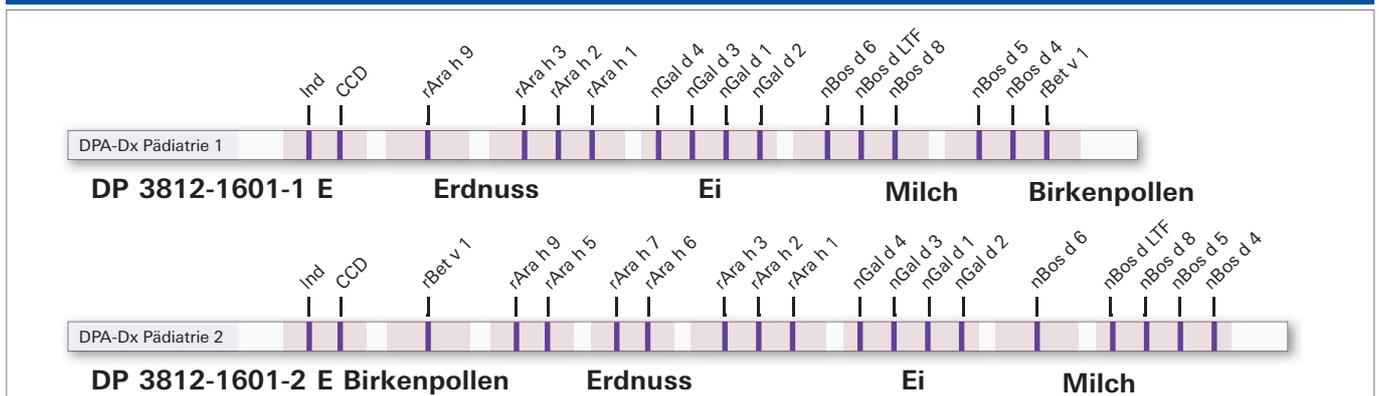
Kosmetik

Simultane Analyse von Hoch- und Niedrigrisikokomponenten

Bei Verdacht auf eine Nahrungsmittelallergie im Kleinkindalter empfiehlt es sich, die wichtigsten Allergene simultan zu analysieren. Auf diese Weise wird das Risiko minimiert, Sensibilisierungen gegen ein relevantes Allergen zu übersehen, wie es bei der Analyse einzelner Komponenten geschehen kann. Mithilfe eines Multiparametertests können umfangreiche Sensibilisierungsprofile mit vergleichsweise geringen Serumengen (100µl/14 Allergenkomponenten im Vergleich zu 560µl/14 Allergenkomponenten in Einzelparametertests) erstellt werden. Dies ist vor allem bei pädiatrischen Patienten von Vorteil. Ein Multiparametertest spart somit unnötige Schritte und führt in kürzester Zeit zu einem kompletten Sensibilisierungsprofil.



Multiparametertests für die präzise und umfassende Diagnostik



Fallbeispiele Erdnussallergie

Lisa und Tom leiden seit dem ersten Schuljahr an unspezifischen Symptomen (Kribbeln im Mund, Ekzembildung, Übelkeit, Rhinokonjunktivitis). Hierbei ist abzuklären, ob es sich um eine Nahrungsmittelallergie handelt und ob ein Risiko für eine schwere systemische Reaktion besteht.

Befund Erdnussallergie									
Lisa					Tom				
Allergen	Klasse	0	1	2	3	4	5	6	
rBet v 1	0	[Bar chart showing class 0 for rBet v 1]							
rAra h 1	5	[Bar chart showing class 5 for rAra h 1]							
rAra h 2	4	[Bar chart showing class 4 for rAra h 2]							
rAra h 3	0	[Bar chart showing class 0 for rAra h 3]							
rAra h 6	3	[Bar chart showing class 3 for rAra h 6]							
rAra h 7	0	[Bar chart showing class 0 for rAra h 7]							
rAra h 5	0	[Bar chart showing class 0 for rAra h 5]							
rAra h 9	0	[Bar chart showing class 0 for rAra h 9]							

Ergebnis und Schlussfolgerung:

Lisa ist gegen mehrere hitzestabile Speicherproteine der Erdnuss sensibilisiert (primäre Erdnussallergie). Aufgrund des hohen Risikos einer schweren, systemischen Reaktion sollte sie selbst kleinste Mengen Erdnuss meiden sowie ein Notfallset mit Medikamenten zur Behandlung schwerer allergischer Symptome mit sich tragen. Eine Toleranzentwicklung ist unwahrscheinlich.

Ergebnis und Schlussfolgerung:

Tom ist gegen Birkenpollen sensibilisiert, nicht gegen erdnusspezifische Komponenten (sekundäre Erdnussallergie). Möglicherweise toleriert er ausreichend erhitzte Erdnüsse bzw. zeigt nach dem Verzehr von Erdnuss eher milde Symptome. Das Ergebnis sollte im Provokationstest bestätigt werden. Eine spezifische Immuntherapie gegen Birkenpollen könnte die Symptome der Allergie mildern.

Interpretationshilfe zur Auswertung der DPA-Dx-Pädiatrie-Profile

Zur Erleichterung der Befundauswertung enthält die Software EUROLinScan für die standardisierte Auswertung der EUROLINE-Streifen eine integrierte Interpretationshilfe, die die wichtigsten Informationen zu den einzelnen Allergenen übersichtlich darstellt und so bei der richtigen Diagnosestellung unterstützt. Dabei wird nach positiven und negativen Komponenten sortiert, und Angaben zu folgenden Kategorien werden gemacht:

- Proteinfamilie
- Hitzestabilität
- klinische Relevanz (mögliche Symptome)
- potenzielle Kreuzreaktionen

Interpretationsübersicht (Beispiel für positive Ergebnisse)		
Birke (Betula verrucosa)		
rBet v 1		EAST-Klasse 5
Proteinfamilie/Funktion	PR-10-Protein	Hitzelabil
Klinische Relevanz	Rhinitis oder Konjunktivitis; Orales Allergiesyndrom (OAS); OAS auch auf pflanzliche Nahrungsmittel möglich (birkenpollen-assoziierte Nahrungsmittelallergie), geeignet für Immuntherapie gegen Birke	
Potenzielle Kreuzreaktionen	Ara h 8 (Erdnuss), Gly m 4 (Soja), Cor a 1 (Haselnuss), Pollen verwandter Baumarten der Ordnung Fagales wie Erle, Buche, Hasel sowie verwandte Proteine aus Obst, Gemüse und Nüssen	
Ei (Gallus domesticus)		
nGal d 1		EAST-Klasse 4
Proteinfamilie/Funktion	Ovomucoïd	Hitzestabil
Klinische Relevanz	Risiko allergischer Reaktionen gegen alle Zubereitungsformen von Ei, hohe slgE-Konzentrationen sind assoziiert mit persistierender Hühneisensibilisierung	
Potenzielle Kreuzreaktionen	Nicht bekannt	

Korrelationsdaten zum Mitbewerber

nBos d 8 (Kasein, Kuhmilchallergen)

ImmunoCAP	EUROIMMUN Immunblot		
	n=41	pos	neg
	pos	24	3
neg	2	12	
Sensitivität:		89%	
Spezifität:		86%	

nGal d 1 (Ovomucoid, Hühnereiallergen)

ImmunoCAP	EUROIMMUN Immunblot		
	n=32	pos	neg
	pos	11	0
neg	4	17	
Sensitivität:		100%	
Spezifität:		81%	

rAra h 1 (Erdnussallergen)

ImmunoCAP	EUROIMMUN Immunblot		
	n=94	pos	neg
	pos	42	4
neg	3	45	
Sensitivität:		91%	
Spezifität:		94%	

rAra h 2 (Erdnussallergen)

ImmunoCAP	EUROIMMUN Immunblot		
	n=105	pos	neg
	pos	51	6
neg	5	43	
Sensitivität:		89%	
Spezifität:		90%	

rAra h 3 (Erdnussallergen)

ImmunoCAP	EUROIMMUN Immunblot		
	n=98	pos	neg
	pos	57	3
neg	0	38	
Sensitivität:		95%	
Spezifität:		100%	

rBet v 1 (Birkenallergen)

ImmunoCAP	EUROIMMUN Immunblot		
	n=57	pos	neg
	pos	33	0
neg	0	24	
Sensitivität:		100%	
Spezifität:		100%	



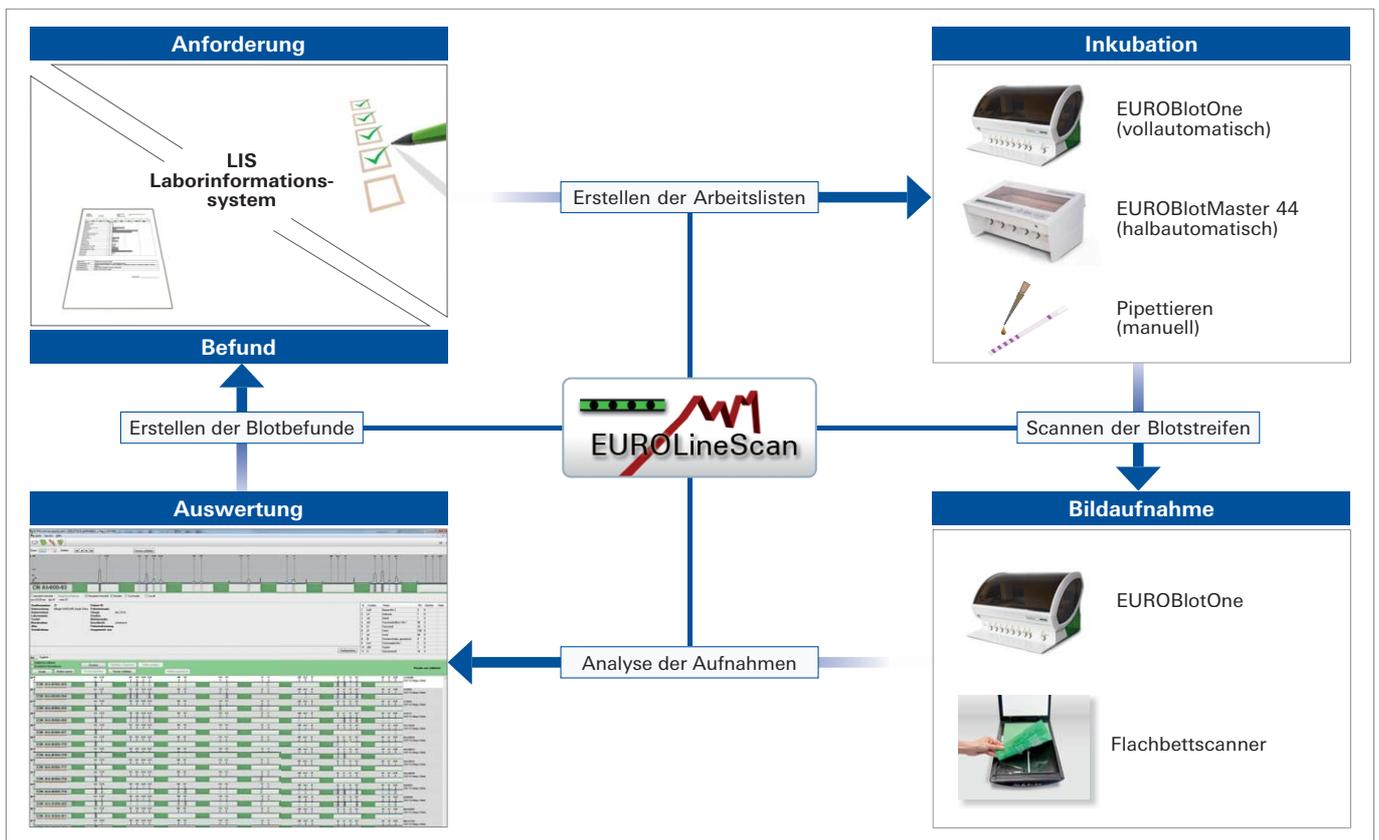
Erarbeitung umfassender Allergieprofile mit EUROLINE DPA-Dx

- manuell mit minimalem technischen Aufwand für die Durchführung im eigenen Labor
- halbautomatisch mit dem EUROBlotMaster 44 für einen höheren Probendurchsatz (bis zu 30 oder 44 Proben pro Lauf)
- vollautomatisch mit dem EUROBlotOne für einen hohen Probendurchsatz (44 Proben pro Lauf, 748 Einzelparameter mit dem DPA-Dx Pädiatrie 2)

Bei der manuellen und halbautomatischen Abarbeitung erfolgt die Bildaufnahme der Streifen mittels Flachbettscanner. Anschließend übernimmt die Software EUROLinScan die automatische Auswertung.

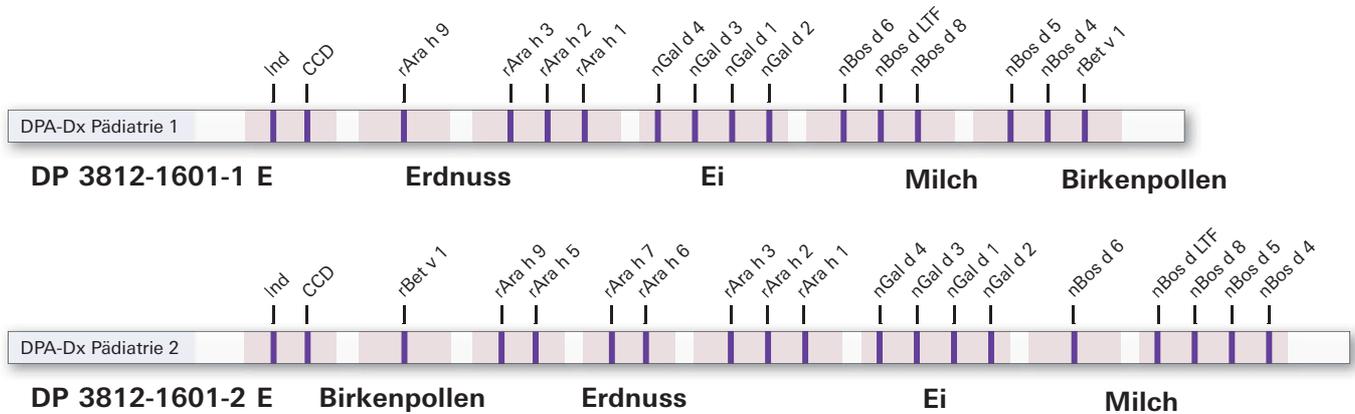
Der kompakte Vollautomat **EUROBlotOne** dient der standardisierten Abarbeitung der EUROLINE-Teststreifen – von der Probenerkennung bis zum fertigen Analyseergebnis. Die Proben werden vom Gerät pipettiert und alle Inkubations- und Waschschriffe vollautomatisch durchgeführt. Anschließend werden die von der integrierten Kamera erfassten Bilddaten automatisch an die Software EUROLinScan übermittelt.

EUROLinScan erkennt selbständig die Positionen der Teststreifen, identifiziert die Banden und misst deren Intensität. Das Programm rechnet die Bandenintensitäten automatisch in EAST(Enzym-Allergo-Sorbent-Test)-Klassen um, die in Bezug auf die Konzentrationsabstufungen dem in der Allergiediagnostik weit verbreiteten RAST(Radio-Allergo-Sorbent-Test)-System entsprechen. Die automatische Auswertung der Teststreifen kann kontrolliert und bei Bedarf manuell angepasst werden, wobei alle Änderungen automatisch protokolliert werden. Die Ergebnisse werden zusammen mit den Bilddaten elektronisch archiviert, eine Aufbewahrung der EUROLINE-Teststreifen ist nicht erforderlich. Für jeden Patienten kann ein separater Befundbogen erstellt werden. EUROLinScan übernimmt ebenfalls die bidirektionale Kommunikation mit EUROLabOffice 4.0 (Labormanagementsoftware) oder einem Laborinformationssystem (LIS) zum Import der Arbeitslisten und Export der Ergebnisse.





EUROLINE-DPA-Dx-Pädiatrie-Profile



Nutzen der EUROLINE-DPA-Dx-Pädiatrie-Profile für die Diagnostik von Nahrungsmittelallergien im Kindesalter:

- Abschätzung des Risikos für schwere allergische Reaktionen
- Hinweise auf eine erforderliche Nahrungsmittelkarenz
- Geringes Probenvolumen (100–400 µl) erforderlich; ideal für pädiatrische Patienten
- Von der Probe zum Befund in weniger als 3,5 Stunden
- Individuelle Automatisierungslösungen
- Standardisierte Auswertung gemäß EAST(Enzym-Allergo-Sorbent-Test)-Klassen-System mit der Software EUROLineScan