

**Der Zellantigenstimulationstest (CAST) in der Diagnostik von Allergien und  
Intoleranzreaktionen auf Hymenopteregifte**

**Dissertation**

**zur Erlangung des akademischen Grades**

**doctor medicinae (Dr. med.)**

Vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
von

Christian Bonney  
Arzt

geboren am 04.04.1974 in Wilhelmshaven

Gutachter:	Prof. Dr. Elsner Prof. Dr. Wollina Prof. Dr. Markert
Tag der öffentlichen Verteidigung:	04.05.2004

# **Inhaltsverzeichnis**

## **1. Einleitung**

1.1. Allergische Reaktionen auf Stiche von Hymenopteren (Hautflüglern)

1.2. Epidemiologie der Insektengiftallergie

1.3. Hymenopterenstiche und Giftzusammensetzung

1.4. Pathogenese der Insektengiftallergie

1.5. Pseudoallergische Reaktionen

1.6. Klinisches Erscheinungsbild

1.7. Diagnose der Hymenoptereingiftallergie

1.7.1. Der CAST

1.8. Therapie der Insektengiftallergie

1.9. Zusammenfassung

1.10. Ziele der Arbeit

## **2. Material und Methoden**

2.1. Patientengut und Ausschlusskriterien

2.2. Die allergologische Anamnese bei Verdacht auf eine vorliegende Insektengiftallergie

2.3. Hauttestung

2.3.1. Pricktest

2.3.2. Intracutantest

2.4. In-vitro-Testungen

#### 2.4.1. CAP RAST FEIA Test

##### 2.4.1.1. Testprinzip

#### 2.4.2. Zellulärer Antigen-Stimulationstest CAST

##### 2.4.2.1. Zell-Stimulation

##### 2.4.2.2. Nachweis der Leukotriene

##### 2.4.2.3. Bewertung der Ergebnisse

#### 2.5. Methoden der statistischen Auswertung

##### 2.5.1. Grundmodell

##### 2.5.2. Sensitivität und Spezifität

##### 2.5.3. Konfidenzintervalle

##### 2.5.4. Prädiktive Werte

##### 2.5.5. Youden-Index

##### 2.5.6. Signifikanzanalyse

### **3. Ergebnisse**

#### 3.1. Alters- und Geschlechtsverteilung

#### 3.2. Verursachendes Insekt

#### 3.3. Häufigkeiten des Reaktionsgrades (Mueller-Klassifikation) bei Einteilung allergischer Reaktionen nach Hymenopterenstichen

#### 3.4. Verteilung der Allergietypen

#### 3.5. Verteilung der Reaktionsgrade auf die diagnostizierten Allergietypen

#### 3.6. Hautteste

3.7. Verteilung der CAP-RAST-Klassen

3.8. Ergebnisse des zellulären Antigen-Stimulationstestes CAST

3.9. Vergleich der Ergebnisse aus Hauttestung und CAST

3.10. Vergleich der absoluten Sulfidoleukotrien-Ausschüttung mit den Ergebnissen aus Anamnese sowie CAP System™ RAST® FEIA-Testung

3.11. Patienten mit pseudoallergischen Reaktionen

## **4. Diskussion**

4.1. Genauigkeit der Verfahren und mögliche Fehlerquellen

4.1.1. Anamneseerhebung

4.1.2. Qualität der Hauttestung

4.1.3. Bewertung der Testergebnisse und Diagnose

4.1.4. Ergebnisse des CAST

4.2. Diskussion der erhobenen Ergebnisdaten

4.2.1. Patientengut und Diagnosen

4.2.2. Vergleich des CAST mit der Hauttestung

4.2.3. Vergleich des CAST mit der Anamneseklassifizierung nach MUELLER

4.2.4. Vergleich des CAST mit den Ergebnissen der CAP System™ RAST® FEIA-Testung

4.2.5. Aussagekraft des CAST bei pseudoallergischen Patienten

## **5. Schlussfolgerungen**

## **6. Zusammenfassung**

## **7. Literatur-und Quellenverzeichnis**

8. Anhang

- Danksagung
- Lebenslauf
- Ehrenwörtliche Erklärung

## 1. Einleitung

Allergische Reaktionen auf Stichereignisse von Hymenopteren (Hautflügler, z.B. Bienen und Wespen) sind ein relativ häufiges Geschehen in Mitteleuropa und können einen dramatischen, gar tödlichen Verlauf nehmen. Daher ist eine akkurate Allergiediagnostik und –Therapie zum Schutze des Patienten vor weiteren Stichen eine wichtige Aufgabe allergologisch tätiger Praxen und Kliniken. Bisher standen dem Allergologen verschiedene Methoden der Allergiediagnostik wie Anamnese, Hauttestung und einige wenige in-vitro-Teste zur Verfügung. Mit dem CAST (Cellular Antigen Stimulation Test = zellulärer Antigen-Stimulations-Test) ist seit einigen Jahren ein neues in-vitro-Verfahren auf dem Markt, von dem die Diagnostiker sich weiterführende Informationen über die vorliegende Allergie bzw. die zu erwartende Schwere einer Reaktion nach Re-exposition des Individuums erhoffen. Diese Arbeit vergleicht retrospektiv die Ergebnisse des CAST mit den bisher verwendeten Routineverfahren und soll so helfen, eine Aussage über den möglichen Stellenwert dieses Verfahrens in der Allergiediagnostik von Hymenoptereingiften zu treffen.

### 1.1. Allergische Reaktionen auf Stiche von Hymenopteren (Hautflüglern)

Allergien sind Ausdruck einer gestörten immunologischen Auseinandersetzung des Organismus mit einer körperfremden Substanz. Im Gegensatz zur Immunität verläuft bei der Allergie der Erstkontakt mit dem Fremdstoff (Allergen) klinisch stumm, der Zweitkontakt aber mit Symptomen von Krankheitswert. Allergien sind inadäquate, überschießende Immunreaktionen, die keinen Schutz, sondern Schaden hervorrufen (Voigtländer und Jung, 1995).

Zahlreiche Insekten können beim Menschen durch ihre Stiche lokale Haut- oder Schleimhautreaktionen auslösen, denen toxische oder allergische Mechanismen zugrunde liegen. Medizinisch bedeutsamer sind jedoch die zum Teil dramatisch verlaufenden systemischen Reaktionen des menschlichen Körpers auf ein Stichereignis.

Hauptverursacher allergischer Reaktionen durch Stiche in den gemäßigten europäischen Klimaten sind vor allem Mitglieder der Familien *Apidae* (Bienen) und *Vespidae*

(Faltenwespen). Aus der Familie der Bienen spielt nahezu ausschließlich die Honigbiene *Apis mellifera* (im folgenden als Biene bezeichnet) diesbezüglich eine Rolle. Im Bereich der *Vespidae* muß man eine Reihe von Gattungen und Arten in Betracht ziehen, wobei in Deutschland *Vespula vulgaris*, *Vespula germanica* und *Vespa* (im folgenden als Wespen bezeichnet) die häufigsten Verursacher allergischer Reaktionen auf Sticheignisse sind (Przybilla, 1995). Zur Taxonomie der Hymenopteren vgl. Abb. 1, S. 4.

## 1.2. Epidemiologie der Insektengiftallergie

Angaben über die Häufigkeit der Sensibilisierung von Populationen gegenüber Insektengiften variieren in der Literatur zum Teil erheblich. Die Bestimmung der Prävalenz der Hymenopterengiftallergie kann auf anamnestischen Angaben oder auf den Ergebnissen diagnostischer Tests beruhen. Beide Verfahren müssen verschiedene Unsicherheitsfaktoren in Kauf nehmen. Durch geographische Unterschiede wie Klima, Nahrungsangebot für die Insekten, Bevölkerungsdichte etc. ergeben sich weitere Probleme in der Vergleichbarkeit der Angaben. Relativ wenige Studien befassen sich mit dem Ausfall diagnostischer Untersuchungen bei unselektionierten Populationen. Müller (Müller UR, 1988, Kap. 3.3.1. Häufigkeit der Insektenstichallergie) fand von 59 Blutspendern aus der ländlichen Umgebung von Bern, Schweiz, bei 10 (18%) einen positiven RAST (s.u.) mit Bienengift; Stuckey et al. (Stuckey et al., 1982) fanden in einer umfangreichen Studie in Australien bei 549 von 3439 Individuen (16%) einen positiven RAST ebenfalls auf Bienengift. Herbert und Salkie (Herbert und Salkie, 1982) konnten bei 10 von 86 erwachsenen Kanadiern (12%) bienen- oder wespengiftspezifische IgE- Serumantikörper nachweisen. Golden et al. untersuchten 1982 insgesamt 187 Industriearbeiter aus Baltimore und fanden bei 33 (18%) positive Hauttests auf Insektengifte (Golden et al., 1982). Nur ein kleiner Teil dieser testpositiven Individuen hatte auch eine Vorgeschichte von schweren Lokalreaktionen oder systemischen Reaktionen nach Stichen von Hautflüglern. Zora (Zora et al., 1988) und Golden (Golden, 1989) konnten zeigen, dass positive diagnostische Tests ohne Anamnese einer Hymenopterenstichallergie nicht mit einer Allergie gleichgesetzt werden können: Nur 3 von 16 solcher Patienten Goldens (19%) und keiner der 7

Patienten Zoras entwickelte bei Re-exposition eine Allgemeinreaktion. Positive diagnostische Tests können demnach Ausdruck einer subklinischen Sensibilisierung sein. Eine epidemiologische Studie aus Deutschland von Schäfer et al. (Schäfer et al., 1997) gibt eine Sensibilisierungsrate von 24,5 % an. Mosbech (Mosbech, 1997) sowie Fischer und Külzer (Fischer und Külzer, 1993) geben die Häufigkeit generalisierter Stichreaktionen von 0,8 bis 5 % für Europa und die USA sowie von 1,2 bis 4,5 % für Deutschland an. Strupler et al. (Strupler et al., 1997) bestätigen diese Untersuchungen mit der Angabe einer Prävalenzrate von 3,5% für die Schweiz.

Nach den verfügbaren statistischen Daten sind Todesfälle von systemischen Überempfindlichkeitsreaktionen auf Hymenopterenstiche relativ selten. Die Mortalität schwankt von Land zu Land zwischen 0,09 (England und Wales, 1959-71) und 0,45 (Schweiz 1961-83). Für die Schweiz wurde bei einer geschätzten Prävalenz von 5 % für die Hymenopteregiftallergie die Letalität auf 0,0084 % oder rund einen Fall auf 100.000 Insektengiftallergiker pro Jahr errechnet (Müller UR, 1988, Kap. 3.3.2. Mortalität und Letalität). Von allen Autoren wird jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die diesbezügliche Dunkelziffer wesentlich höher liegen dürfte.



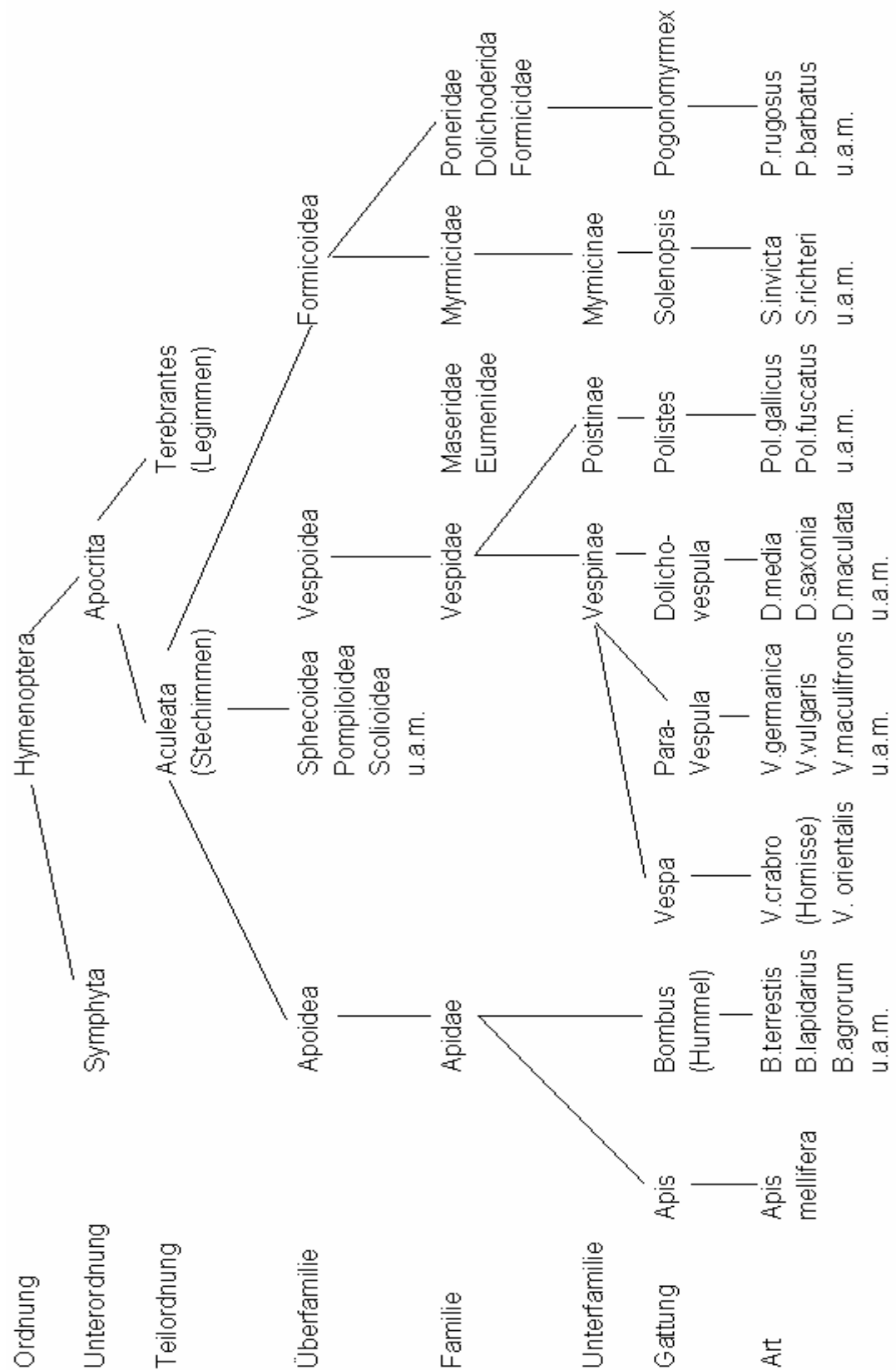


Abb. 1: Taxonomie der Hymenopteren  
Aus: Müller, 1988

### 1.3. Hymenopterenstiche und Giftzusammensetzung

Bei einem Bienenstich werden etwa 50-100 µg, bei einem Stich von Angehörigen der Gattungen *Vespula* oder *Dolichovespula* etwa 3-10 µg Gift (jeweils Trockengewicht) abgegeben. Der eigentliche Stachel der Aculeaten besteht aus zwei Stechborsten, die mit Hilfe von Muskelsträngen und eines komplizierten Hebelsystems auf der Stachelrinne wie auf einer Gleitschiene vor- und zurückbewegt werden können. Die Stechborsten sind mit Widerhaken bewehrt, die sich bei einem Stich durch den o.g. Bewegungsmechanismus immer tiefer in die Haut des Opfers vorarbeiten. Das Gift wird dann durch den von Stechborsten und Stachelrinne gebildeten Giftkanal in die Wunde gespritzt. Die Stechborsten der Vespiden besitzen nur wenige Widerhaken, weshalb die Wespen in der Regel den Stachel wieder zurückziehen können und zu mehreren Stichen fähig sind. Hingegen sind die Stechborsten der Honigbienen mit 10 wesentlich kräftigeren Widerhaken versehen, so dass die Biene beim Stich in elastische Wirbeltierhaut meist den Stachel und den anhängenden Giftapparat verliert und in der Folge stirbt. Da dies aber nicht notwendigerweise der Fall sein muß, kann der Verbleib des Stachels in der Wunde nicht zur sicheren Unterscheidung des verursachenden Insekts herangezogen werden.

Hymenopteregifte sind komplex zusammengesetzt, sie enthalten biogene Amine, Peptide und Proteine, die häufig auch enzymatische Eigenschaften haben. Für die zyto- und neurotoxischen Effekte sind zumeist Peptide und Phospholipasen verantwortlich. Als sog. „spreading factor“ (Substanz, die das Eindringen des Giftes in tiefere Schichten fördert) wirken Hyaluronidasen zusammen mit den biogenen Aminen (Przybilla, 1995).

Im Bienengift ist das wichtigste Allergen die Phospholipase A<sub>2</sub> (Dudler et al., 1994). Auch gegen die Hyaluronidasen wurden bei vielen Bienengiftallergikern spezifische IgE-Antikörper nachgewiesen. Des Weiteren wurden Beobachtungen über eine Allergenaktivität von Mellitin und der sauren Phosphatase beschrieben (Einarsson et al., 1982). Für die Toxizität des Bienengifts ist vor allem Mellitin, Apamin und das Mastzell-degranulierende Peptid von entscheidender Bedeutung.

Im Gift der Vespidenarten stellen Phospholipase (A+B), Hyaluronidase und Antigen 5 die drei Hauptallergene dar (Einarsson et al., 1985). Biogene Amine und

niedermolekulare Peptide sind für die toxische Wirkung des Wespengiftes an der Stichstelle sowie bei multiplen Stichen für die systemischen Reaktionen verantwortlich. Wespengift enthält mehr Histamin als Bienengift; des weiteren sind Serotonin, Dopamin, Adrenalin und Noradrenalin enthalten.

#### 1.4. Pathogenese der Insektengiftallergie

Die Insektengiftallergie gehört zu den klassischen, durch IgE vermittelten Typ – I Reaktionen nach der Einteilung von Coombs und Gell aus dem Jahre 1963 (vgl.Tab. 1).

Typ der Immunreaktion	vermittelt durch	Klinische Beispiele
I : anaphylaktisch	IgE	Schock, Urtikaria, Insektengiftallergie, Pollinosis
II: zytotoxisch	IgG, IgM	Agranulozytose, Thrombozytopenische Purpura Hämolytische Anämie
III: Immunkomplex-vermittelt	IgG, IgM	Vasculitis allergica, Serumkrankheit, allerg. Alveolitis
IV: zellvermittelt	T-Lymphoz.	Allerg. Kontaktekzem, makulo-pap. Arzneimittelexanthem

Tab. 1: Pathogene Immunreaktionen nach Coombs und Gell  
(aus: Voigtländer und Jung, 1995)

Beim ersten Allergenkontakt (s. Abb.2) kommt es zur Sensibilisierung des Organismus: Durch einen Stich gelangt das Antigen (oder auch ‚Allergen‘, in diesem Fall die Bestandteile des Insektengiftes) in den Körper, wird von Antigen-präsentierenden Zellen (sog. dendritische Zellen) aufgenommen, prozessiert, auf MHC-Moleküle (major histocompatibly complex) der Klasse II geladen und auf der Oberfläche der Zellen stabil präsentiert (Kramer und Dalkowski, 1997) und daraufhin von T-Helferzellen (im folgenden Th-Zellen genannt) erkannt. Die stimulierten Th-Zellen produzieren Lymphokine (bes. Interleukin 4), welche die B-Lymphozyten dazu anregen, sich zu Antikörper-produzierenden Plasmazellen zu differenzieren. Über Ihre Oberflächenrezeptoren erkennen die B-Lymphozyten das präsentierte Antigen und

produzieren daraufhin spezifische IgE (Immunglobulin E) – Antikörper. Diese binden sich an hochaffine  $Fc_\epsilon$ -Rezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen in Bindegewebe und Mukosa sowie auf basophilen Granulozyten in Blutbahn und Mukosa. Diese Zellen erwerben dadurch einen spezifischen Allergenrezeptor an der Oberfläche.

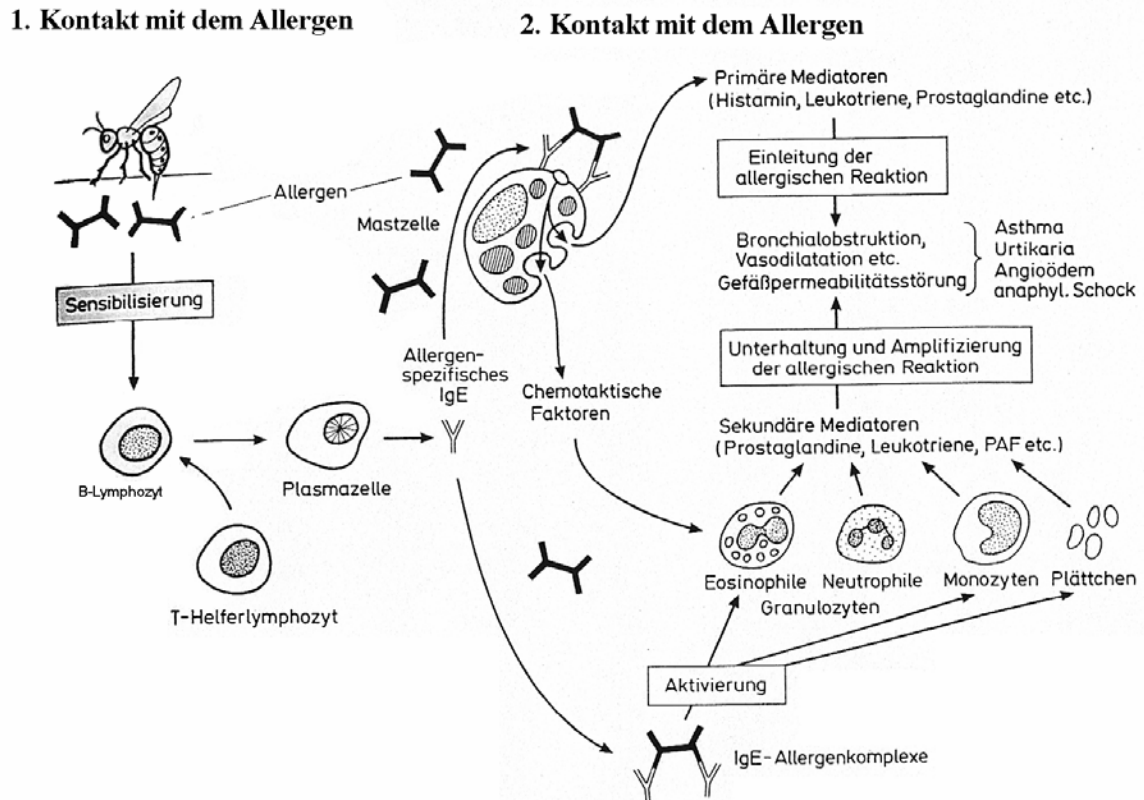


Abb. 2: Pathogenese der allergischen Reaktion vom Soforttyp. Aus: Müller, 1988; S. 37

Die initiale Bindung scheint keinen offensichtlichen Effekt auf die Zelle zu haben (Klein, 1991). Bei erneutem Allergenkontakt führt die Überbrückung von mindestens zwei benachbarten, zellfixierten, allergenspezifischen IgE-Molekülen durch ein Allergen mit mindestens zwei Bindungsstellen (Epitopen) zu einer Membranveränderung. Diese hat zum einen die Abspaltung von Arachidonsäure aus Membranlipiden und damit die Synthese symptomauslösender Mediatorsubstanzen zur Folge, zum anderen kommt es zur Verschmelzung der basophilen Granula mit der Zellmembran des Granulozyten und damit zur Ausschleusung bereits präformierter Mediatoren. Diese freigesetzten biologisch aktiven Substanzen sind dann für die

klinischen Manifestationen der allergischen Reaktion verantwortlich (Klein, 1991; Przybilla, 1995; Kramer, 1997): *Histamin*, Metabolite der Arachidonsäure wie *Leukotriene* und *Prostaglandine* sowie verschiedene chemotaktische Faktoren.

Histamin bewirkt im Bereich von Bronchien und Intestinum eine rasch eintretende, kurzdauernde Kontraktion der glatten Muskulatur sowie eine Steigerung der Gefäßpermeabilität und Vasodilatation im Kapillarbereich. Leukotriene (genauer: Sulfidoleukotriene sLT) sind Produkte der Lipoxygenase aus Arachidonsäure. Leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) ist einer der potentesten chemotaktischen Faktoren, vor allem für Neutrophile, aber auch für Monozyten und Eosinophile. Darüber hinaus fördert LTB<sub>4</sub> die Leukozytenadhärenz und erhöht die Freisetzung von lysosomalen Enzymen und reaktiven Sauerstoffmetaboliten. Mit diesen Eigenschaften repräsentiert LTB<sub>4</sub> einen typischen entzündungsfördernden Metaboliten. Von den weiteren Leukotrienen ist LTC<sub>4</sub> biologisch aktiver als LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub>. Alle drei zusammen sind verantwortlich für eine spasmogene Potenz, die früher unter dem Begriff SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis) zusammengefaßt wurde. Hauptangriffsorte der Sulfidoleukotriene sind wie auch beim Histamin die glatte Muskulatur und Zellen mit kontraktiler Kapazität. Bei allergisch ausgelöstem Bronchialasthma (sog. Intrinsic Asthma) sind es die Leukotriene, die entscheidend an der Auslösung des Bronchospasmus beteiligt sind; ihre Wirksamkeit ist auf molarer Basis hundert- bis tausendmal höher als die des Histamins (Resch, 1991 (in Gemsa). Abschließend ist der plättchenaktivierende Faktor (PAF) zu nennen, ein Lipidmediator mit potenter Wirkung auf die glatte Muskulatur von Blutgefäßen, Bronchien und Intestinum. Durch das Freiwerden dieser sekundären Mediatoren wird die allergische Reaktion vom Soforttyp amplifiziert und unterhalten (Müller UR, 1988, Kap. 3.1.2. Allgemeinreaktionen vom Soforttyp).

### 1.5.Pseudoallergische Reaktionen

Pseudoallergische Reaktionen (PSAR) zeigen klinisch die Symptome einer Allergie, beruhen jedoch nicht auf einer IgE-vermittelten Reaktion vom Soforttyp (s.o.). Da eine Sensibilisierungsphase fehlt, können sie bereits bei einem Erstkontakt mit der

auslösenden Substanz auftreten. Hierbei erfolgt keine immunologische Erkennung des Allergens. Pathogenetisch sind neben einer direkten Histaminfreisetzung unspezifische und antikörperunabhängige Effektorsysteme wie der Arachidonsäuremetabolismus, die Fibrinolyse, das Kininsystem und die Komplementaktivierung von Bedeutung. Über den Arachidonsäuremetabolismus werden, wie bereits im Abschnitt 1.4. erwähnt, auch Leukotriene produziert, die auch bei der IgE-vermittelten Reaktion entscheidend an der Entwicklung der klinischen Symptomatik beteiligt sind. Häufige Auslöser pseudoallergischer Reaktionen sind z.B. Analgetika, Antiphlogistika und Anästhetika, Muskelrelaxantien, Röntgenkontrastmittel und kolloidale Plasmaersatzmittel (Voigtländer und Jung, 1995). Bisher basieren die Diagnosen einer pseudoallergischen Reaktion häufig auf der Durchführung eines für den Patienten mit erheblichen Risiken verbundenen oralen Provokationstestes; im Falle einer Allergie gegen Hymenopteregifte hieße das Stichprovokation, die unter Umständen auch tödlich verlaufen kann. Eine zuverlässige in-vitro-Methode könnte hier Abhilfe schaffen. Bereits 1993 ergaben vorläufige Untersuchungen von De Weck und Mitarbeitern (De Weck et al., 1993), dass mit Betalaktamen und Azetylsalicylsäure (ASS) positive CAST-Resultate bei Patienten mit entsprechender Allergie bzw. Pseudoallergie erzielt werden können.

#### 1.6. Klinisches Erscheinungsbild

Das klinische Erscheinungsbild auf Stiche von Hymenopteren variiert zum Teil erheblich.

Die normale Hautreaktion auf einen Stich besteht in der Regel in einer schmerzhaften, manchmal juckenden, lokalen Quaddelbildung von bis zu ca. 2 cm Durchmesser; bei Einbezug des Unterhautgewebes kann diese Schwellung jedoch auch größer sein. Sie bildet sich in der Regel innerhalb von Stunden zurück und ist nicht Ausdruck einer allergischen Reaktion, sondern vielmehr durch die Reizwirkung der im Insektengift beihalteten Toxine und Entzündungsmediatoren (vgl. 1.3.) bedingt. Überschreitet die Schwellung jedoch einen Durchmesser von mehr als 10 cm und besteht für die Dauer von mindestens 24 Stunden, so handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach bereits um

die Symptomatik einer allergischen Reaktion (Mueller Grad 0, schwere Lokalreaktion; siehe Tab. 3, S.22). Diese schweren Lokalreaktionen können unter Umständen ein gesamtes Bein oder einen gesamten Arm betreffen, über Tage bis Wochen andauern und mit zum Teil erheblichen Funktionseinschränkungen einhergehen. Pathogenetisch spielt bei der schweren Lokalreaktion sowohl eine Soforttyp- wie auch eine Spättypallergie eine Rolle. Case et al. (Case et al., 1981) fanden bei Patienten mit dieser Symptomatik auch häufig einen positiven Lymphozytentransformationstest und Spätreaktionen im Hauttest, was auf die Beteiligung einer zellulären Immunantwort (Typ IV nach Coombs und Gell, vgl. Tab.1, S. 5) hindeutet (Müller UR, 1988, Kap. 3.1.1. Die schwere Lokalreaktion). Das Risiko einer generalisierten Stichreaktion bei einem Folgestich wird für diese Patientengruppe mit 5-10 % eingeschätzt (Golden, 1989), d.h. in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle wird es bei einem erneuten Stich einer Biene oder Wespe am ehesten wiederum zu einer starken Lokalreaktion kommen.

Von diesen lokalen Reaktionen in Folge eines Stichereignisses sind die generalisierten allergischen Reaktionen zu unterscheiden, bei denen es sich in erster Linie um IgE-vermittelte Reaktionen vom Soforttyp handelt. Hierbei ist das Wiederholungsrisiko bei einem Folgestich mit 40-50 % (Detjen and Greenberger, 1993) wesentlich größer, als bei den beschriebenen Lokalreaktionen. Aufgrund der hohen Gefährdung der Patienten ergibt sich hieraus die Notwendigkeit der Abklärung auf eine vorliegende Sensibilisierung gegenüber Hymenopterenngiften und gegebenenfalls die Indikationsstellung für eine Hyposensibilisierungstherapie.

Bei einem sensibilisierten Individuum genügt ein einziger Folgestich des allergieauslösenden Insektes, um innerhalb einer sehr kurzen Reaktionszeit, in der Regel weniger Minuten bis einigen Stunden (Lockey et al., 1988), zu einer Allgemeinreaktion zu führen. Die Symptomatik einer solchen Allgemeinreaktion manifestiert sich vorwiegend an der Haut als stark juckende Urtikaria. Pathogenetisch liegt der Urtikaria bei Hymenopterenngiftallergie eine Mediatorfreisetzung aus Effektorzellen der Haut, insbesondere Mastzellen, zu Grunde. In der Regel dürfte die Freisetzung durch Interaktion des Giftes mit mastzellfixierten giftspezifischen IgE-Antikörpern zustande kommen. Bei den seltenen Fällen mit negativen diagnostischen Tests muss auch eine nicht IgE-vermittelte Pathogenese in Betracht gezogen werden (Pseudoallergie; vgl.

1.5.). Das morphologische Substrat der urticariellen Quaddel ist ein Intrakutanes Ödem, das durch die mediatorbedingte gesteigerte Gefäßpermeabilität und in der Folge des Einstroms von extrazellulärer Flüssigkeit in diesen Bereich zustande kommt. Häufig mit der Urtikaria vergesellschaftet, gelegentlich auch allein, tritt das Angioödem (auch: angioneurotisches Ödem, Quincke-Ödem) auf. Diesem liegt vorwiegend eine subcutane Schwellung zugrunde, die sich im Gegensatz zur schweren Lokalreaktion fernab von der Stichstelle, häufig im Kopfbereich, entwickelt. Bei Lokalisation des Angioödems im Bereich der Mundhöhle oder des Pharynx kann es durch Verlegung der Atemwege lebensbedrohlich werden; bei exzessiver Flüssigkeitssequestration kann es auch zur Schocksymptomatik kommen.

Im Bereich des Respirationstraktes dominieren Bronchialobstruktion (vgl. 1.4. Pathogenese der Insektengiftallergie), Larynxödem oder selten auch eine allergische Rhinitis. Die respiratorische Symptomatik klingt spontan oder unter medikamentöser Behandlung meist innerhalb einiger Minuten bis Stunden ab. Jedoch sind die symptombedingten Veränderungen im Bereich der Atemwege wahrscheinlich die häufigste Todesursache nach Hymenopterenstichen (Barnard, 1967 und 1973).

Gastrointestinale Beschwerden werden in Form von Nausea, Emesis, Diarrhoe bis hin zu abdominalen Krämpfen angegeben. Diese Symptome beruhen ebenfalls auf einer allergischen Typ-I-Reaktion in der Darmwand mit Flüssigkeitssequestration und infolgedessen Schleimhautödem und/oder Spasmen der glatten Muskulatur.

Die kardiovaskuläre Symptomatik reicht von leichtem Schwindel oder Herzklopfen bis hin zum anaphylaktischen Schock mit massivem Blutdruckabfall und Pulsanstieg, häufig Bewußtseinsverlust, Inkontinenz von Urin und Stuhl und selten generalisierten Krämpfen. Kreislaufsymptome treten nur ausnahmsweise isoliert auf, meist sind sie mit den oben genannten kutanen, respiratorischen und gastrointestinalen Symptomen vergesellschaftet.

Zahlreiche Symptome, die von den Patienten angegeben werden, lassen sich klinisch nicht objektivieren, werden aber von so vielen Patienten beschrieben, dass auch sie allein auf eine allergische Reaktion hindeuten können. Hierunter fallen Parästhesien (Fußsohlen / Handflächen, perioral), metallischer Geschmack im Mund, generalisierter



oder anogenitaler Pruritus, Kopfschmerzen, Hitzewallungen, Palpitationen, Engegefühl im Thoraxbereich, Bauchkrämpfe, Schwindelgefühl und nicht zuletzt auch Angst.

Neben den üblichen Soforttypreaktionen, die im Patientenkollektiv weit über 90 % der Allgemeinreaktion ausmachen, werden selten auch Krankheitsbilder mit längerer Reaktionszeit von Stunden bis mehreren Tagen und untypischer Symptomatik beschrieben, die hier unter dem Begriff „Ungewöhnliche Reaktionen“ zusammengefaßt wird (Müller, 1988; Przybilla, 1993). Vergleiche dazu Tab. 3, Einteilung der allergischen Reaktion auf Hymenopterenstiche, S. 22). Pathogenetisch kommen hier am ehesten Typ-III-Reaktionen (nach Coombs und Gell, vgl. Tab.1) in Betracht, obwohl der Nachweis zirkulierender Immunkomplexe nur selten gelingt (Baumgartner et al., 1989). Patienten mit diesen Reaktionen wurden in dem hier untersuchten Patientengut nicht berücksichtigt.

#### 1.7. Diagnose der Hymenopterengiftallergie

Die moderne Diagnostik der Insektengiftallergie setzt sich aus verschiedenen Komponenten zusammen. Standard der Diagnostik in dermatologischen Praxen und Kliniken sind derzeit die ausführliche Stichanamnese, kutane Testungen wie Prick- und Intrakutantest sowie die Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper mittels Immuno-Cap-RAST in RIA (Radioimmunoassay)- oder FEIA (Floureszenzenzymimmunoessay)-Technik oder, als weiterführende Methode, im Western-Blot.

Zusätzliche Informationen bei Vorliegen einer Hymenopterengiftallergie können über die Bestimmung der basalen Serumtryptase im Blut gewonnen werden, da eine direkte Beziehung zwischen dem Auftreten von schweren anaphylaktischen Reaktionen auf Hymenopterengifte und einer okkulten kutanen Mastozytose zu bestehen scheint (Ludolph-Hauser et al., 2001a). Bei Nachweis einer okkulten kutanen Mastozytose bei gleichzeitig vorliegender anaphylaktischer oder anaphylaktoider Reaktion auf Insektengifte ist die lebenslange spezifische Hyposensibilisierungstherapie indiziert, da nach Beendigung dieser Therapie und Folgestich letal verlaufende Fälle auftraten (Ludolph-Hauser et al., 2001b). Da die Bestimmung der Serumtryptase bei allergischen

Reaktionen erst nach 2001 eingeführt wurde, fand sie bei Erhebung der Daten zu vorliegender Arbeit noch keine Beachtung.

Bei grenzwertigen Befunden können weitere Methoden zur Diagnosesicherung herangezogen werden, wie z.B. die Bestimmung der spezifischen IgG-Antikörper, deren Konzentration ebenfalls Auskunft über stattgehabte Allergenkontakte geben kann, jedoch für die Indikationsstellung der Hyposensibilisierungstherapie irrelevant sind (Müller et al., 1989).

Mit zunehmender Kenntnis der komplexen Physiologie allergischer Reaktionen erweiterte sich auch das Spektrum der diagnostischen Möglichkeiten. Der Trend geht hierbei vor allem in Richtung zellulärer in-vitro-Testverfahren. Methoden wie der Basophilen-Degranulationstest oder der Basophilen-Histamin-Freisetzungstest (Histamin-Release-Test HRT) sind wegen geringer Sensitivität und der subjektiven Beurteilbarkeit in Ihrer Aussagekraft eingeschränkt (Pruzansky et al., 1980; Wüthrich et al., 1987; Cahen et al., 1997) oder haben wegen ihres hohen technischen Aufwandes keinen Eingang in die Routinediagnostik gefunden (Höxtermann et al., 1995).

#### 1.7.1. Der CAST

Mit dem zellulären Antigen-Stimulations-Test CAST steht seit seiner Einführung 1992 durch De Weck et al. ein neuer in-vitro Test zur Diagnostik allergischer Reaktionen zur Verfügung, mit dessen Hilfe die Reaktivität auf ein bestimmtes Allergen ermittelt werden kann (De Weck et al., 1992). Da der CAST auf der Neuproduktion von Mediatoren der allergischen Reaktion basiert, kann die momentane Stimulierbarkeit eines Patienten untersucht werden (Höxtermann et al., 1995). Blutleukozyten werden mit dem Zytokin Interleukin 3 (IL 3) prästimuliert und anschließend dem betreffenden Allergen ausgesetzt. Vorwiegend basophile Granulozyten synthetisieren daraufhin Sulfidoleukotriene (sLT) in Form von LTC<sub>4</sub> und dessen Metaboliten LTD<sub>4</sub> und LTE<sub>4</sub>. Sie werden daraufhin mittels ELISA-Technik gemessen (Cahen et al., 1997).

Die diagnostische Wertigkeit des CAST wurde bereits in mehreren Studien untersucht und bisher hoch eingeschätzt. Die untersuchten Fallzahlen waren jedoch in allen Arbeiten niedrig (s. Tab. 2).

Autoren	Patienten	Hauptresultate
Maly et al. (1997)	15 Pat allerg. auf Biene und / oder Wespe	Korr. SLT/ST 0,60; Korr. HR/ST 0,36; Korr. RAST/ST: 0,46
Siridopoulous et al. (1995)	6 Kinder allerg. auf Bienen / Wespen; 6 Kontrollen	SLT pos. Bei sämtlichen Allergikern, auch bei einigen Kontrollen
Hipler (1995)	14 Pat. allergisch auf Bienen/Wespen	Fast vollständige Korrelation sLT mit Anamnese und RAST
Höxtermann et al. (1995)	25 Pat. allerg. auf Wespen, 10 Kontrollen	Übereinstimmung mit RAST: 84%, mit Hauttest: 88%
Maly et al. (1996)	23 Allergiker auf Bienen/Wespen, 10 Kontrollen	17 ST pos., Korr. SLT: 0,88; Korr. HR.: 0,59 6 ST neg.; 4/6 sLT pos. und RAST pos.; sLT-Spezifität: 90%; Kontrollen nur bei hohen Giftkonzentrationen positiv
Hipler et al. (1999)	84 Patienten m. Verdacht auf Hymenopterenngiftallergie	Fast vollständige Korrelation sLT mit Anamnese und RAST

Tab. 2: CAST und Insektengiftallergien. Aus: Zellulärer Allergen-Stimulations-Test (CAST), de Weck AL 1997. *ST*= *Skin Test (Hauttest)*; *HR*= *Histamine Release (Histaminfreisetzung)*, erweitert.

Cahen, Maly und Wüthrich evaluierten 66 vermutlich gegenüber Hymenopterenngiften allergische Patienten mit den gleichen Methoden, die in dieser Arbeit verwendet wurden (Anamnese, Hauttest, CAP-Rast und CAST). Kernstück Ihrer Arbeit war ebenfalls der Vergleich des „Goldstandard“ Hauttest mit dem Zellulären Antigen-Stimulationstest (CAST); Ihre Ergebnisse für Sensitivität und Spezifität:

Testung auf Bienengift: Sensitivität 73 % / Spezifität 71 %

Testung auf Wespengift: Sensitivität 68 % / Spezifität 100 %

(Cahen et al., 1997)

Die Durchführung der diagnostischen Komponenten wird ausführlich im Kapitel 2, Material und Methoden, beschrieben.

## 1.8. Therapie der Insektengiftallergie

Wie auch bei anderen allergischen Erkrankungen umfaßt die Therapie der Insektengiftallergie Expositionsprophylaxe, Pharmakotherapie und Hyposensibilisierung.

Allergenkarenz: Ein sicherer Schutz durch Repellenzien ist nicht möglich. Der Patient sollte dazu angehalten werden, allgemeine und spezielle Vorkehrungen zu treffen, um die Gefahr eines erneuten Stiches weitgehend zu reduzieren. Bei möglichem Insektenflug sollte daher auf das Verzehren süßer Speisen oder Obst verzichtet werden, der Aufenthalt in der Nähe von z.B. Abfallkörben, Tiergehegen oder Fallobst sei ebenso zu vermeiden wie der Gebrauch von Parfum. Durch richtige Bekleidung je nach Aktivität läßt sich das Risiko einer Neuexposition weiter senken, auch die Ausrüstung der Wohnung mit Insektennetzen sei zu überdenken. Des weiteren sollten Bienen- oder Wespennester aus dem unmittelbaren Aufenthaltsbereich des Patienten entfernt werden.

Die Pharmakotherapie umfaßt die Ausstattung des Patienten mit einer geeigneten Notfallmedikation; zweckmäßigerweise beinhaltet sie eine Tropfenlösung eines rasch wirksamen Antihistaminikums, eine Glukokortikosteroidlösung zur oralen Einnahme sowie ein Adrenalin-Dosieraerosol. Dieses Set sollte der Patient stets mit sich führen (Przybilla, 1995).

Die Indikation zur Hyposensibilisierungstherapie ist grundsätzlich bei jedem Patienten mit einer IgE-vermittelten systemischen anaphylaktischen Reaktion (SAR) zu stellen (Kiehn und Ring, 1993). Die Methode besteht darin, dass das verantwortliche Allergen dem Patienten beginnend bei sehr niedrigen Konzentrationen in sukzessiv steigender Dosis subcutan verabreicht wird. Dadurch gelingt es in vielen Fällen, den Krankheitsverlauf günstig zu beeinflussen, bzw. die Wahrscheinlichkeit erneuter systemischer Reaktionen nach Stichexposition zu reduzieren. Der Wirkmechanismus der Hyposensibilisierungstherapie ist bis heute nicht eindeutig geklärt; es werden mehrere Theorieansätze diskutiert. Da die Therapie der Insektengiftallergie nicht Gegenstand dieser Arbeit ist, verweise ich auf einschlägige Literatur zu diesem Thema, z.B. den Leitlinien zur Diagnose und Therapie der Bienen- und Wespenstichallergie der DGAI (Rueff et al., 2000).

Die Wirksamkeit der Giftbehandlung wurde in zahlreichen Studien anhand von Provokationstests oder Re-expositionen im Felde untersucht. Bei Stichprovokation nach Hyposensibilisierung traten je nach Autor in 58 (Yunginger et al., 1979) bis 100 % (Nataf et al., 1984; Malling et al., 1985; Mosbech et al., 1986) keine Allgemeinreaktion mehr auf. Hierbei wurde auffällig, dass in Arbeiten, die nur Kinder oder Wespenstichallergiker berücksichtigten, Erfolgsraten von 98-100 % beobachtet wurden, während die Erfolgsrate bei Erwachsenen mit Bienengiftallergie und anamnestisch schweren Allgemeinreaktionen mit 58-87 % deutlich darunter lag (Müller UR, 1988, Kap. 5.3.1. Die Wirksamkeit der Gifthyposensibilisierung).

Im Kindesalter wird mit einem prinzipiell gutartigeren Verlauf der Insektengiftallergie gerechnet und daher die Indikation zur Hyposensibilisierung zurückhaltender gestellt (Forster et al., 1991; Hauk, 1995). Hellmund et al. geben in einer retrospektiven Studie (von 1974 bis 1993) aus dem Jahre 1996 an, dass unbehandelte Kinder in bis zu 30 % bei Re-exposition ebenfalls mit schweren Allgemeinreaktionen reagieren würden, was die Zurückhaltung bei der Hyposensibilisierung in Frage stellt (Hellmund et al., 1996).

## 1.9. Zusammenfassung

Lange Zeit standen dem Allergologen, um eine verlässliche Allergiediagnose zu erstellen, lediglich die Methoden der Patientenbefragung und der Hauttestung (Ursprünglich mit Extrakten aus Bienenganzkörpern ohne Stachelapparat, erstmals 1930 von Benson und Semenov beschrieben; seit 1976 fast ausschließlich Verwendung der Gifte aus dem Giftsack der Hymenopteren) zur Verfügung (Benson and Semenov, 1930). Die Hauttestung (Skin-Prick-Test SPT, Intrakutantestung mit Endpunkttitration) wird nach wie vor als unerlässliches Werkzeug des Allergologen angesehen, obwohl sie keinen absoluten Goldstandard darstellen kann (De Weck, 1997). Einerseits ist ihre Reproduzierbarkeit deutlich schlechter als manche in-vitro-Tests (Braun-Fahrländer et al., 1997), andererseits reagieren sie auch mit bestimmten Allergenen häufig positiv bei scheinbar gesunden Personen ohne allergische Symptome (subklinische Sensibilisierung, vgl. 1.2. Epidemiologie der Insektengiftallergie). Die Diagnosestellung hängt allzu häufig auch von der Interpretation und der Erfahrung des durchführenden

Allergologen ab: Müller beispielsweise gibt an, dass der Intrakutantest erst dann als wirklich positiv gewertet werden darf, wenn 15-20 Minuten nach erfolgter Hauttestung eine Quaddel mit einem Durchmesser von mindestens 5 mm Durchmesser vorhanden sein muss (Müller UR, 1988, Kap. 4.2.1. Methodik). Praxis in der allergologischen Abteilung der Hautklinik der FSU Jena (aus der die Daten für die vorliegende Arbeit stammen) ist es jedoch, die resultierende Quaddel nach Allergenexposition mit der Positivkontrolle durch Histamin zu vergleichen; eine durchaus sinnvolle Methode, da hierbei auch die generelle Stimulierbarkeit des Patienten (durch die Histaminkontrolle) mit in Betracht gezogen wird.

Die Entdeckung des IgE durch Bennich, Johansson und Ishizaka (Bennich et al., 1968) und die später etablierte Bestimmung der IgE-spezifischen Antikörper hat der Allergiediagnose entscheidende Fortschritte gebracht und ist heute als einzige diagnostische Methode in vitro weit verbreitet. Auf die Besonderheiten, die Validität, Grenzen und Interpretation dieser Methode wird an dieser Stelle nicht näher eingegangen. IgE-Testungen geben zwar über das Vorhandensein einer allergischen Sensibilisierung Auskunft, nicht jedoch unbedingt über das Vorhandensein und die Intensität einer klinisch manifesten Allergie (De Weck, 1997).

Da allergische Symptome schlußendlich nicht durch IgE, sondern durch Entzündungsmediatoren (vgl. 1.4. Pathogenese der Insektengiftallergie) wie Histamin und Sulfidoleukotriene verursacht werden, ist es naheliegend, die Bestimmung dieser Mediatoren aus dem Blut (in vitro) nach Stimulation der ausschüttenden Zellen mit dem zu untersuchenden Allergen für diagnostische Zwecke anzuwenden. Es wurde beobachtet, dass neben dem Vorhandensein allergenspezifischer IgE-Antikörper und einer allgemeinen Sensibilisierung die Reaktivität der mit IgE besetzten Leukozyten und ihre Fähigkeit, die o.g. Entzündungsmediatoren freizusetzen (releasability) eine variable, aber entscheidende Rolle spielt. Die Reaktivität dieser Zellen, und letztlich *nicht* die Konzentration an IgE entscheidet, ob ein sensibilisierter Patient nach erneuter Exposition mit dem Allergen klinisch manifeste Symptome entwickeln wird, oder nicht.

#### 1.10. Ziele der Arbeit

Mit dem zellulären Antigen-Stimulationstest CAST ist dem Allergologen ein Werkzeug an die Hand gegeben worden, welches die Konzentration der von den Leukozyten ausgeschütteten Mediatoren nach standardisierter Stimulation mit dem zu untersuchenden Allergen im Blut des Patienten misst. Bisherige prospektive Studien mit geringen Fallzahlen kamen durchweg zu recht positiven Ergebnissen in Bezug auf die diagnostische Güte des CAST im Vergleich mit den herkömmlichen Methoden der Allergiediagnose bei Hymenopteregiftallergien wie Hauttestung, CAP-RAST oder Immunoblotverfahren (s. Tab. 2, S. 13).

Ziel dieser Arbeit ist daher die Untersuchung der diagnostischen Wertigkeit und Güte des CAST bei Insektengiftallergikern an einem größeren Kollektiv. Der Vorteil einer unabhängigen retrospektiven Betrachtung im Gegensatz zur prospektiven Studie liegt in der besseren Übertragbarkeit auf die Ergebnisse der allergologischen Testung in Kliniken und Praxen in der täglichen Routinediagnostik.

Besonderes Augenmerk werden wir auf die quantitative Aussagekraft in Bezug auf die Ausschüttung der Sulfidoleukotriene nach Stimulierung der Granulozyten legen, da dem Allergologen bisher ein Instrument fehlte, eine Aussage über die Reagibilität der allergischen Reaktion eines Patienten zu machen. Durch eine vergleichende Darstellung der Befundergebnisse bei Personen mit pseudoallergischen Reaktionen nach Stichen von Hymenopteren soll des weiteren die Aussagequalität des CAST in diagnostischen Grenzfällen untersucht werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Patientengut und Ausschlusskriterien

Anhand von archivierten Daten der Hautklinik der FSU Jena wurden alle Akten derjenigen Patienten gesichtet, die sich seit Einführung des CAST wegen des Verdachtes auf eine Insektengiftallergie in der Ambulanz der Allergologischen Abteilung der Hautklinik vorgestellt hatten und mit diesem in-vitro-Test untersucht wurden. Aus dem Kollektiv wurden alle Patienten ausgeschlossen, die sich vor der Abnahme des Blutes für den CAST einer Hyposensibilisierungstherapie unterzogen bzw. Antihistaminika oder Glukokortikoide eingenommen hatten, um Verfälschungen der diagnostischen Aussagen zu vermeiden. Weitere Voraussetzungen zum Einschluss in die Studie waren die Durchführung einer Stichanamnese und Einteilung in die Mueller-Klassifikation (s. Tab. 3, S. 22), der Hauttestung sowie der in-vitro-Untersuchung auf insektengiftspezifische IgE-Antikörper mittels CAP-RAST-FEIA Technik.

Nach Anwendung aller Ein- und Ausschlusskriterien fanden insgesamt 198 Patienten Zugang zu dieser Studie, die sich im Zeitraum von Mai 1993 bis Februar 2001 den oben genannten Untersuchungen unterzogen haben.

### 2.2. Die allergologische Anamnese bei Verdacht auf eine vorliegende Insektengiftallergie

Grundlage einer jeden allergologischen Diagnostik ist eine ausführliche und subtile Anamnese des Sticheignisses und dessen Folgen. Anhand eines standardisierten Fragebogens wird der Patient nach folgenden Parametern gefragt:

- Datum und Uhrzeit des Stiches
- Art des stechenden Insektes (Spezies)
- Stichlokalisierung



- Art der erfolgten Reaktion (Symptomatik)
- Zeitintervall zwischen Stich und Reaktion
- Frühere Stiche (und anschließende Reaktion)
- Risikofaktoren: Atopiker oder Imker

Die Praxis zeigt, dass viele Patienten zu der wichtigen Frage, von welchem Insekt sie gestochen worden seien, keine sicheren Angaben machen können. In diesem Fall können eine eingehendere Befragung und die Identifikation des Insektes mittels Schautafeln hilfreich sein. Ein in der Wunde verbliebener Stachel deutet eher auf den Stich einer Biene hin (vgl. 1.3. Hymenopterenstiche und Giftzusammensetzung). Stiche im Spätsommer oder Herbst werden am häufigsten von Wespen verursacht, während Bienenstiche hauptsächlich im Frühsommer registriert werden. Bei der Nahrungsaufnahme im Freien, in Obstgärten mit Fallobst, in Estrichen oder in Wohnräumen sind ebenfalls meist Vespidae Hauptverursacher, während Stiche von Bienen hauptsächlich beim Barfußgehen durch Gras (vor allem durch jungen Weißklee) und bei der Gartenarbeit auftreten.

Recht häufig wird jedoch auch nach diesen Fragen die Identität des verursachenden Insektes ungewiss bleiben; in diesen Fällen muss dann die weiterführende Diagnostik mit Hauttestungen und Serologie weiterhelfen.

In allen übrigen Fällen werden diese Zusatzuntersuchungen zur Bestätigung der anamnestisch erhobenen Diagnose verwendet (Müller UR, 1988, Kap. 4.1. Anamnese).

Für eine allergische Reaktion vom Soforttyp charakteristisch ist eine Reaktionszeit von meist nur wenigen Minuten bis zu einer Stunde (Frage nach dem Zeitintervall zwischen Stich und Reaktion). Als „harte“ Allergiesymptome werden Urtikaria, Angioödem, Konjunktivitis und Rhinitis, Stridor und Giemen gewertet, wenn sie vom Patienten oder Angehörigen eindeutig beschrieben wurden. Sogenannte „weiche“ Allergiesymptome können zwar ebenfalls Ausdruck einer allergischen Reaktion sein, sie können jedoch auch im Rahmen eines nicht allergischen Geschehens (vgl. hierzu 1.5. Pseudoallergische Reaktionen) auftreten. Hierzu gehören Parästhesien, Juckreiz,

Atemnot, Palpitationen, Schwindel, Synkopen, Nausea und Vomitus, Blutdruckabfall, Engegefühl im Thorax bis hin zu Kollaps und Bewusstlosigkeit.

Fieber, Gelenkschwellungen, Lymphadenopathien und Nervenlähmungen sowie makulo-papulöse Exantheme deuten schließlich eher auf eine allergische Reaktion vom verzögerten oder Spättyp hin (Müller UR, 1988, Kap. 3.1.3. Ungewöhnliche Reaktionen).

Zur Einteilung der allergischen Reaktionen nach Hymenopterenstichen wird häufig die Klassifikation nach HL Mueller aus dem Jahre 1966 verwendet (Mueller, 1966), die von vielen Autoren leichten Modifikationen unterworfen wurde (s. Tab. 3). Klassifizierungsversuche nach Schweregraden sind jedoch naturgemäß schematisch und können dem Einzelfall nicht gerecht werden, so dass bei Stellung einer allergologischen Diagnose oft Zwischengrade gewählt werden, da sich die klinischen Symptome des Patienten nicht in das starre Schema einer Klassifikation einteilen ließen.

### 2.3. Hauttestung

Die in-vivo-Diagnostik mittels Hauttestung (Prick- und/oder Intrakutantest) gilt in Kombination mit einer ausführlichen Anamnese als „Goldstandard“ der allergologischen Diagnostik bei Verdacht auf eine vorliegende Insektengiftallergie.

Nach erfolgter allergischer Reaktion benötigen Mastzellen und Granulozyten einige Zeit zur Neusynthese der primären und sekundären Entzündungsmediatoren, so dass in dieser Refraktärphase eine in-vivo-Diagnostik, die sich des selben Pathomechanismus bedient, gehäuft zu falsch-negativen Ergebnissen führen würde (Przybilla und Ring, 1985). Aus diesem Grunde wurde in allen Fällen ein Intervall von mindestens sechs Wochen zwischen Stichereignis und Hauttestung eingehalten.

Durch die Hauttestung wird eine Reaktionsschwelle ermittelt, also diejenige Konzentration an Allergenen, die zu einer positiven Hautreaktion führt. Mittels geeigneter Technik wird das Allergen, in unserem Fall das Insektengift, in steigender Konzentration in bestimmte Hautschichten eingebracht und die resultierende

Hautreaktion mit einer Positivkontrolle aus Histaminhydrochlorid und einer Negativkontrolle aus physiologischer Kochsalzlösung verglichen.

In erster Linie wird hierzu der Pricktest verwandt, da er bei hoher diagnostischer Aussagekraft den Patienten einem nur begrenzten Risiko aussetzt. Nur bei vollständig negativem Ausfall des Pricktestes bis zu einer Giftkonzentration von 300 µg/ml bzw. fraglich positivem Testausfall wurde zur Diagnosesicherung ein Intrakutantest angeschlossen. Da jedoch bei intrakutaner Applikation des Allergens die Giftstoffe direkt in die Blutbahn gelangen können, besteht für den Patienten ein erhöhtes Risiko für eine allergische bzw. anaphylaktische Reaktion gegenüber dem Pricktest. Durch diesen Umstand wurde bei einigen Hochrisikopatienten, die bereits bei dem ursächlichen Stichereignis stark reagiert hatten, der Intrakutantest vermieden und versucht, durch in-vitro-Testungen zu einer diagnostischen Aussage zu gelangen.

Schwere Lokalreaktionen (Grad 0)	Schwellung an Stichstelle mit Durchmesser > 10 cm und Dauer > 24 Stunden
<i>Allgemeinreaktionen</i>	
Grad I	generalisierte Urtikaria, Pruritus, Übelkeit, Angst
Grad II	beliebige Symptome von I und zwei oder mehr der folgenden: Angioödem (dies allein ist schon Grad II), Engegefühl, Erbrechen, Durchfall, Bauchkrämpfe, Schwindel
Grad III	beliebige Symptome von I und II und zwei oder mehr der folgenden: Atemnot, Giemen, Stridor (jedes allein schon Grad III) Dysphagie, Dysarthrie, Heiserkeit, Schwäche, Benommenheit, Todesangst
Grad IV:	beliebige Symptome von I-III und zwei oder mehr der folgenden: Blutdruckabfall, Kollaps, Bewusstlosigkeit, Inkontinenz (Urin, Stuhl), Zyanose
<i>Ungewöhnliche Reaktionen</i>	
	Serumkrankheitssyndrom, Fieber, Gelenkschmerzen, Schwellungen, Lymphadenopathie, generalisierte Vaskulitis, Exanthem, vaskulitische Purpura
Nierenaffektionen	Glomerulonephritis, nephrotisches Syndrom
Nervenaffektionen	Periphere Neuritis, Polyradikulitis, epileptiforme Krämpfe, reversible und irreversible zentralnervöse Ausfallerscheinungen
Blutaffektionen	Thrombozytopenie, hämolytische Anämie, disseminierte intravaskuläre Gerinnung (DIC)
Herzaffektionen	Angina pectoris, Myocardinfarkt, Herzrhythmusstörungen

Tab. 3: Einteilung der allergischen Reaktionen auf Hymenopterenstiche nach Müller HL 1966, leicht modifiziert und ergänzt nach Müller, 1988

### 2.3.1. Pricktest

Der Pricktest wurde als Bestätigungstest bei anamnestisch begründetem Verdacht auf eine allergische Reaktion vom Soforttyp gegenüber Insektengiften (Biene/Wespe) durchgeführt. Hierzu wurde zunächst auf der entfetteten und desinfizierten Vorderseite des Unterarms der Testperson bzw. des Patienten ein Tropfen Allergenlösung (ALK-prick SQ<sup>®</sup>; ALK-Scherax Hamburg) aufgebracht und mit einer Prick-Lanzette in die Epidermis eingeritzt, wobei darauf geachtet wurde, keine Blutung zu verursachen. Die Testung wurde mit einer Konzentration von jeweils 1 µg/ml Bienen- und Wespengift begonnen und bei negativem Testausfall mit den Konzentrationen 10, 100 und 300 µg/ml fortgeführt (Endpunkttitration). Parallel wurden jeweils eine Positivkontrolle mit Histaminhydrochloridlösung (0,1 mg/ml) sowie eine Negativkontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung geprickt.

Die Ablesung der Hautreaktionen erfolgte nach 15 Minuten, wobei jeweils der mittlere Durchmesser von Quaddel und Erythem in Millimetern angegeben und mit der Reaktion der Positivkontrolle (Voraussetzung: Negativkontrolle ohne Reaktion) verglichen wurde.

### 2.3.2. Intrakutantest

Durch streng intrakutane Injektion einer geringen Allergendosis kann ebenfalls eine lokal begrenzte allergische Reaktion vom IgE-vermittelten Soforttyp ausgelöst werden. Analog zum Pricktest wurde der Intrakutantest bei oben genannter Indikation mit steigenden Konzentrationen des zu untersuchenden Allergens durchgeführt, wobei wegen der erhöhten Gefahr der Auslösung einer anaphylaktischen Reaktion mit einer Dosis von 0,001 µg/ml begonnen wird. Bei negativem Ausfall wurde die Dosis in den Schritten 0,01; 0,1 und 1,0 µg/ml erhöht, bis auch hier eine eindeutige Reaktion im Vergleich zur Positivkontrolle zu verzeichnen war bzw. der Test insgesamt negativ ausfiel.

## 2.4. In-vitro-Testungen

Dem Allergologen stehen heute mit dem Radioallergosorbenttest RAST, dem Histaminreleasetest HRT, dem Western-Blot, dem Basophilen-Degranulationstest BDT, dem zellulären Antigen-Stimulationstest CAST und einigen anderen Methoden mehrere in-vitro-Tests zur Verfügung, um die Verdachtsdiagnose „Insektengiftallergie“ zu erhärten und zu bestätigen.

In dieser Studie wurden ausschließlich die Ergebnisse der in-vitro-Testungen auf Grundlage des Pharmacia CAP System™ RAST® FEIA-Testes, einer Modifikation des ursprünglichen Radioallergosorbenttestes, sowie des zellulären Antigen-Stimulationstestes CAST einbezogen.

### 2.4.1. CAP RAST FEIA Test

Das Pharmacia CAP System™ RAST® FEIA, ein Flouorenzymimmunoassay (Firma Pharmacia & Upjohn, Upsala, Schweden), ist ein auf der Grundlage des Radioallergosorbenttest weiterentwickeltes Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung der frei im Patientenblut zirkulierenden spezifischen IgE-Antikörper auf ein bestimmtes Allergen, in unserem Fall auf Bienen – oder Wespengift. Der Test wird heute von vielen allergologisch tätigen Labors als Routineuntersuchung für die verschiedensten Allergene verwendet.

#### 2.4.1.1. Testprinzip

Das interessierende Allergen ist bei diesem Testverfahren kovalent an sogenannte Immuno-CAPs (feinporige Celluloseschwämme mit großer Oberfläche und hoher Bindungskapazität für Allergene) gebunden. Wird nun Patientenserum über diese Oberfläche geleitet, bilden im Serum enthaltene spezifische IgE-Antikörper mit den auf dem Immuno-CAP gebundenen Allergenen (i1= Bienengift oder i3=Wespengift) einen Komplex. Nachdem die unspezifischen IgE abgewaschen wurden, werden Enzym ( $\beta$  - Galaktosidase)- markierte Antikörper gegen IgE hinzugefügt, die sich wiederum an den Komplex aus Allergen und spezifischem IgE anlagern. Nach Inkubation wird

überschüssiges ungebundenes Enzym-Anti-IgE abgewaschen und dann mit 4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-Galaktosid als Entwicklerreagenz inkubiert. Nach Beendigung der Reaktion mittels Natriumcarbonat als Stopp-Lösung wird die Fluoreszenz im Flourocoun 96 gemessen. Je höher hierbei der Fluoreszenzwert, um so mehr spezifisches IgE ist in der Probe enthalten.

Zur Auswertung des Testergebnisses wird die Durchschnittsfluoreszenz für jeden Standard berechnet, eine Standardkurve erstellt und anschließend mit den Ergebnissen der Patientenserien verglichen.

Zur Bestimmung des Gesamt-IgE als auch des spezifischen IgE wurden Eichsubstanzen nach dem WHO-IgE-Standard verwendet. Die Werte werden in kU/l (KiloUnits/Liter) ausgedrückt, oder können nachfolgend in CAP-RAST-Klassen eingeteilt werden:

CAP-RAST-KLASSE	0	$\leq 0,35$ kU/l
CAP-RAST-KLASSE	1	0,35 – 0,70 kU/l
CAP-RAST-KLASSE	2	0,7 – 3,5 kU/l
CAP-RAST-KLASSE	3	3,5 – 17,5 kU/l
CAP-RAST-KLASSE	4	17,5 – 50 kU/l
CAP-RAST-KLASSE	5	50 – 100 kU/l
CAP-RAST-KLASSE	6	$\geq 100$ kU/l

Werte  $\geq 0,35$  kU/l stellen ein positives, Werte  $\leq 0,35$  kU/l ein negatives Ergebnis dar. (Angaben aus: Pharmacia CAP System <sup>TM</sup> RAST<sup>®</sup> FEIA; Gebrauchsinformation, Überarbeitete Auflage 1997)

#### 2.4.2. Zellulärer Antigen-Stimulationstest CAST

Verwendet wurde ein von der Firma Bühlmann Laboratories AG, Allschwil, Schweiz, kommerziell angebotenes Testkit. Die theoretischen Grundlagen des Testprinzips wurden in Kap. 1.7. Diagnose der Hymenopterenngiftallergie; die bisherigen Untersuchungsergebnisse in Kap. 1.10. Ziele der Arbeit, beschrieben.

Der optimale Zeitpunkt für die Blutentnahme für den CAST ist zwischen 3 und 12 Wochen nach der durch einen Hymenopterenstich ausgelösten allergischen Reaktion. Wir führten die Blutentnahme jeweils vor der in-vivo-Testung (Prick- und/oder Intrakutan-Test) durch, wie von der Firma Bühlmann empfohlen. Da diese frühestens 6 Wochen nach Stichereignis durchgeführt wurde (s.o.), wurde dieses Intervall in allen Fällen eingehalten.

Der Test lässt sich in zwei Teile gliedern:

- Zell-Stimulation und
- Nachweis der Leukotriene

##### 2.4.2.1. Zell-Stimulation

Jeweils 2 ml EDTA-Blut werden innerhalb von drei Stunden nach der Probenentnahme mit 0,5 ml Dextranlösung leicht geschwenkt und anschließend für 90 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die in der oberen Phase enthaltenen Leukozyten werden vorsichtig abgenommen und 15 Minuten bei 130 x g und 4° Celsius zentrifugiert. Nach Verwerfen der oberen Phase werden die sedimentierten Zellen in 2 ml Inkubationspuffer mit 27 µl Interleukin-3 gegeben. Anschließend werden jeweils 200 µl Zellsuspension in Eppendorf-Tubes gegeben und die Stimulation in Doppelbestimmung mit 50µl Inkubationspuffer und Interleukin 3 (200 µl IP + 3 µl IL-3) durchgeführt. Durch Messung (s.u.) erhält man aus dieser Suspension den Backgroundwert. Zwei weitere Eppendorf-Tubes mit jeweils 200 µl Zellsuspension werden mit 50 µl monoklonalem Anti-IgE-Antikörper (Le27) stimuliert. Anschließend werden jeweils 50µl der zu untersuchenden Allergenlösung in 200 µl Zellsuspension gegeben und 30 bis 40 Minuten bei 37 ° Celsius inkubiert (Stimulationsphase). Daraufhin werden die Proben unter den bereits oben angegebenen Bedingungen 5 Minuten zentrifugiert. Die



unter der Stimulation produzierte Menge an Sulfidoleukotrienen kann anschließend aus dem Überstand direkt im ELISA bestimmt oder bei  $-20^{\circ}\text{C}$  für eine spätere Analyse eingefroren werden.

#### 2.4.2.2. Nachweis der Leukotriene

100  $\mu\text{l}$  des Überstandes werden zusammen mit Leukotrien-Enzym-Konjugat in Antikörper-beschichtete Mikrotiterplatten gegeben. Während einer 20-stündigen Inkubation bei  $4^{\circ}\text{C}$  konkurrieren die von den Zellen gebildeten Leukotriene mit den Enzym-konjugierten Leukotrienen um Bindungsstellen der monoklonalen Antikörper. Nach Entfernen der ungebundenen Reaktionspartner durch einen Waschschrift folgt die Entwicklung der Platte durch Zugabe von 100  $\mu\text{l}$  Enzymsubstrat. Die entstehende Farbreaktion wird nach ca. 30 min. durch 100  $\mu\text{l}$  1M Natriumhydroxid gestoppt. Die Messung der optischen Dichte erfolgt im Photometer (ELISA-Reader) bei einer Wellenlänge von 405 nm. Aus der zu erstellenden Standardkurve kann die Konzentration jeder einzelnen Probe abgelesen werden. Bei der Auswertung muss die basale Leukotrienfreisetzung (Background) sowie eine Positivkontrolle allerdings mit berücksichtigt werden. Damit man die Absolutwerte der Stimulierbarkeit erhält, muss der Backgroundwert von dem Wert der Stimulationskontrolle und dem Allergenstimulationswert für die zu untersuchenden Allergene subtrahiert werden. Die Positivkontrolle (oder auch: Stimulationskontrolle) ermittelt das Freisetzungsverhalten (releasability) der Effektorzellen. Durch einen anti-IgE-monoklonalen Antikörper werden vorhandene IgE-Moleküle auf der Oberfläche vernetzt, was letztendlich zu einer Freisetzung der Mediatoren (Leukotriene, Histamine) führt. Die Kontrolle erlaubt somit Rückschlüsse auf den Zustand (Vitalität) der Zellen zum Zeitpunkt der Stimulation (Höxtermann et al. 1995).

#### 2.4.2.3. Bewertung der Ergebnisse

Entsprechend den Angaben der Herstellerfirma des Testkits Bühlmann legten wir den Cut-off für Bienengift (I1) auf 681 pg Sulfidoleukotriene /ml, für Wespengift (I3) auf 864 pg Sulfidoleukotriene /ml fest. Werte oberhalb dieses Cut-offs galten als positives,

Werte darunter als negatives Testergebnis. Zur Diskussion, ob der Test bei unterschiedlichen cut-off-Werten zu unterschiedlichen Aussagen kommt, vergleiche Kap. 4.1.4., Ergebnisse des CAST.

## 2.5. Methoden der statistischen Auswertung

Grundlage der statistischen Beurteilung des CASTs im Vergleich mit den verschiedenen Testmethoden ist die Vier-Felder-Tafel. Die Vier-Felder-Tafel ist eine Kontingenztafel für zwei qualitative Merkmale mit jeweils zwei Ausprägungen, in unserem Fall mit Werten aus  $\{0,1\}^2$  mit 0 = negativer Ausprägung und 1 = positiver Ausprägung.

Untersucht wurden Sensitivität und Spezifität des CASTs im Vergleich mit der Hauttestung (sowie die dazugehörigen 95 %-Konfidenzintervalle), die positiven und negativen prädiktiven Werte, der Youden-Index sowie das Signifikanzniveau der Untersuchung.

### 2.5.1. Grundmodell

Sei  $(X_1, X_2)$  ein zufälliger Vektor mit Werten aus  $\{0,1\}^2$  und es bezeichne

$$p_{ij} := P(\{X_1 = i, X_2 = j\}) \quad \text{sowie}$$

$$p_i = p_{i0} + p_{i1} = P(\{X_1 = i\}) \quad \text{und}$$

$$p_j = p_{0j} + p_{1j} = P(\{X_2 = j\}) \quad \text{für } i, j \in \{0,1\}^2$$

Wobei  $X_1$  hierbei den Goldstandard, die Hauttestung, beschreibt und  $X_2$  die Ergebnisse des CAST umfasst.

### 2.5.2. Sensitivität und Spezifität

Die wichtigste Qualität eines Labortests ist seine sogenannte Sensitivität (Bortz und Lienert, 1998). Die Sensitivität eines Tests beurteilt seine Qualität bezüglich des Ansprechens bei tatsächlich erkrankten Personen oder: „Die **Sensitivität** ist die

bedingte Wahrscheinlichkeit  $P(T^+|E^+)$ , dass bei einem Patienten mit einer Erkrankung  $E$  ein bestimmter diagnostischer Test  $T$  positiv ist.“

Die Qualität eines Tests, bei negativem Ausfall auch eine negative Diagnose vorauszusagen, heißt Spezifität. Sie ist unter Normierungsbedingungen definiert als Anteil der test-negativen und diagnose-negativen Patienten an den diagnose-negativen Individuen. Oder: „Die bedingte Wahrscheinlichkeit  $P(T^-|E^-)$ , dass bei einem Patienten, der eine Erkrankung  $E$  nicht hat, ein bestimmter diagnostischer Test  $T$  negativ ist, heißt **Spezifität**.“ . (MH Hannover)

### 2.5.3. Konfidenzintervalle

Ein Konfidenzintervall ist ein geschätztes Intervall, welches den wahren Wert eines unbekanntem Parameters (z.B. Erwartungswert) mit vorgegebener Wahrscheinlichkeit  $1 - \alpha$ , z.B. 95 %, überdeckt (MH Hannover).

#### **Konfidenzintervall für eine unbekannte Wahrscheinlichkeit $p$ :**

(zum Konfidenzniveau  $1 - \alpha$ )

$$I = \left[ h_n - \frac{z_{1-\alpha/2}}{2\sqrt{n}}, h_n + \frac{z_{1-\alpha/2}}{2\sqrt{n}} \right].$$

Dabei bezeichnen  $h_n$  die beobachtete relative Häufigkeit und  $z_{1-\alpha/2}$  das entsprechende Quantil der Standardnormalverteilung (es ist für  $\alpha = 0,05$   $z_{0,975} = 1,96$ ).

Zu beachtende Faustregel: Es sollte gelten  $np(1-p) \geq 10$  . (Krause und Metzler, 1983)

### 2.5.4. Prädiktive Werte

Die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person bei einem positiven Testergebnis tatsächlich krank ist, wird als positiv prädiktiver Wert (positiver Vorhersagewert) bezeichnet. Entsprechend wird die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person bei einem negativen

Testergebnis tatsächlich gesund ist, als negativ prädiktiver Wert (negativer Vorhersagewert) bezeichnet. Mathematisch korrekt formuliert:

Der **positive prädiktive** Wert eines diagnostischen Verfahrens ist die bedingte Wahrscheinlichkeit, dass eine Erkrankung E vorliegt unter der Bedingung, dass der diagnostische Test T positiv ist ( $P(E^+|T^+)$ ). Entsprechend ist der **negative prädiktive** Wert die bedingte Wahrscheinlichkeit, dass eine Erkrankung E nicht vorliegt unter der Bedingung, dass der diagnostische Test negativ ist ( $P(E^-|T^-)$ ). (Institut für Biometrie, MH Hannover)

#### 2.5.5. Youden-Index

Der Youden Index (Youden, 1950) ist ein mathematischer Versuch, die Genauigkeit eines Tests in einer einzigen numerischen Zahl auszudrücken.

$$Y = ((\text{Sensitivität}) + (\text{Spezifität}) - 1)$$

Interpretation:

minimum index: -1

maximum index: +1

Ein „perfekter“ Test hätte die Ausprägung  $Y = +1$ .

Limitierung:

Der Index als solcher ist nicht in der Lage, Unzulänglichkeiten des Tests in Bezug auf Sensitivität oder Spezifität darzustellen (Hilden and Glasziou, 1996).

### 2.5.6. Signifikanzanalyse

Wenn man ein- und dieselbe Stichprobe von Individuen zwei- oder mehrfach (z.B. in einem zeitlichen Abstand, unter veränderten Bedingungen oder bezüglich zweier Merkmale) untersucht, hat man es nicht mehr mit unabhängigen, sondern mit abhängigen Stichproben zu tun.

Für die Analyse der Qualität des CASTs im Vergleich mit der Hauttestung als Goldstandard kam daher der Chi-Quadrat-Test nach McNemar für abhängige Stichproben zur Anwendung. Wir stellen der

**Nullhypothese**  $H_0 =$  „*Goldstandard Hauttest und CAST sind von identischer diagnostischer Güte*“ die **Alternativhypothese**  $H_1 =$  „*Goldstandard Hauttest und CAST sind nicht von identischer diagnostischer Güte*“ gegenüber:

Anhand einer Stichprobe vom Umfang  $n$  ist die Hypothese

$$H_0 : p_1 = p_{.1} \quad \text{gegen} \quad H_1 : p_1 \neq p_{.1}$$

zu prüfen.

#### Vierfeldertafel zur Häufigkeitsverteilung

$X_2$	O	$X_1$	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>1</b>			$H_{11}$	$H_{10}$
<b>0</b>			$H_{01}$	$H_{00}$

$X_1$  Ergebnis Hauttest mit 1 = positiver Hauttest und 0 = negativer Hauttest

$X_2$  Ergebnis CAST mit 1 = positiver CAST und 0 = negativer CAST

$H_x$  Häufigkeiten

**Test:** **McNemar-Test**

**Testgröße:**

$$T = \frac{(H_{10} - H_{01})^2}{H_{10} + H_{01}} \sim \chi_1^2.$$

(Chi-Quadrat-Verteilung mit 1 Freiheitsgrad)

**Bemerkungen:**

- Bedingung für die Anwendung:  $\frac{1}{2}(H_{10} + H_{01}) \geq 5$  . (Richtig positiv und Richtig negativ getestete Individuen gehen nicht in den Test mit ein!)
- Empfehlenswert ist ferner die Anwendung der folgenden Stetigkeitskorrektur (besonders bei kleinem  $n$ ):

$$T = \frac{(|H_{10} - H_{01}| - 1)^2}{H_{10} + H_{01}} \sim \chi_1^2.$$

Dabei bezeichnen die  $H_{ij}$  die entsprechenden (absoluten) Häufigkeiten aus der zugehörigen Vier-Felder-Tafel.

- Für das Quantil  $\chi_{1,1-\alpha}^2$  gilt:  $\chi_{1,0,95}^2 = 3,84$  (d.h.: Irrtumswkt.  $\alpha = 0,05$ )
- Für das Quantil  $\chi_{1,1-\alpha}^2$  gilt:  $\chi_{1,0,99}^2 = 6,64$  (d.h.: Irrtumswkt.  $\alpha = 0,01$ )

(Literatur: Krause und Metzler, Angewandte Statistik, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1983.)

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Alters- und Geschlechtsverteilung

In die Studie wurden **82 Männer** im Alter von 6 bis 67 Jahren (Mittelwert 35 Jahre) **und 116 Frauen** im Alter von 8 bis 76 Jahren (Mittelwert 39 Jahre) einbezogen.

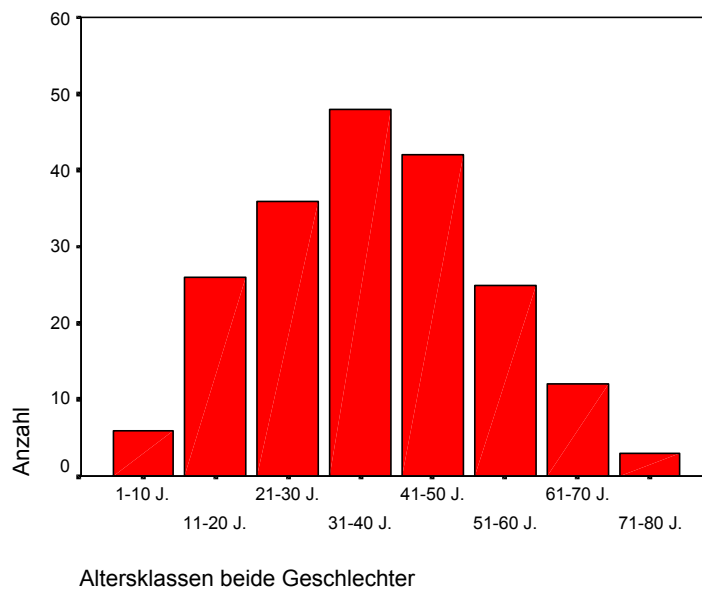


Abb. 3: Darstellung der Verteilung der Altersklassen der einbezogenen Patienten (beide Geschlechter) n= 198

Innerhalb der gesamten Untersuchungsgruppe betrug das Durchschnittsalter 37,5 Jahre.

Zur besseren Übersicht wurden die Patienten in 8 Altersgruppen unterteilt.

#### 3.2. Verursachendes Insekt

Bei Befragung nach dem auslösenden Insekt (ggf. durch tieferegehende Anamnesetechniken; vgl. 2.2. Die allergologische Anamnese bei Verdacht auf eine vorliegende Insektengiftallergie) gaben 20 Patienten (10,1 %) an, von einer Biene gestochen worden zu sein. 105 Patienten (53 %) waren sicher, bei dem verursachenden Insekt handele es sich um eine Wespe, während insgesamt 72 Patienten (36,4 %) auf

Befragung nach dem auslösenden Stichereignis keine sicheren Angaben machen konnten (s. Abb. 4) 1 Patient berichtete den Stich einer Hornisse, wobei dieser Fall aufgrund der engen Verwandtschaft der Hornisse zu den Vespiden (s. Abb. 1, Taxonomie der Hymenopteren; S. 4) mit in die Untersuchung einbezogen wurde.

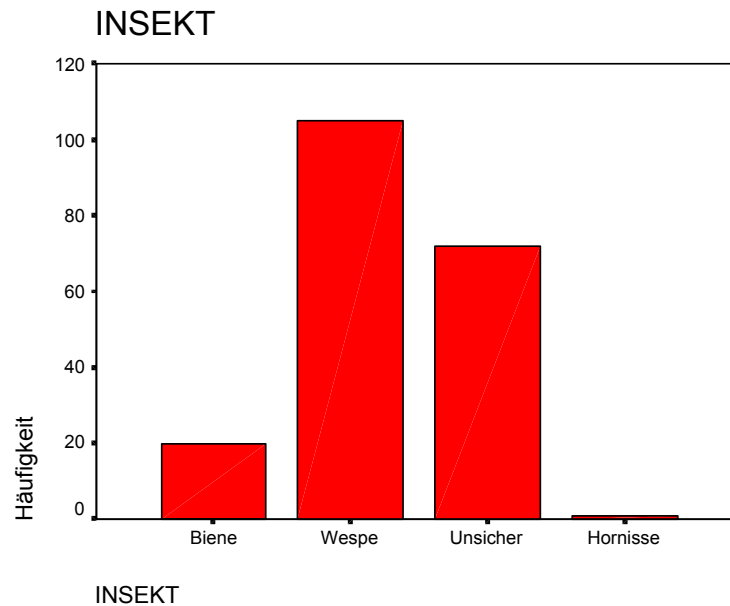


Abb. 4: Patientenangaben zu verursachendem Insekt, n=198

### 3.3. Häufigkeiten des Reaktionsgrades (Mueller-Klassifikation) bei Einteilung allergischer Reaktionen nach Hymenopterenstichen

Durch ausführliche allergologische Anamnese wurden die Symptome der allergischen Reaktion nach Hymenopterenstich in die Schweregrade I bis IV nach Mueller HL (in der Modifikation von Müller UR, 1988, Kap. 3 Klinisches Erscheinungsbild und Pathogenese, S. 33) eingeteilt. Schwere Lokalreaktionen wurden als ‚Mueller 0‘ klassifiziert. Die Verteilung der Reaktionsgrade wird in folgendem Diagramm veranschaulicht (s. Abb. 5. Die angezeigten Werte auf den Balken entsprechen der absoluten Anzahl der aufgetretenen Fälle):



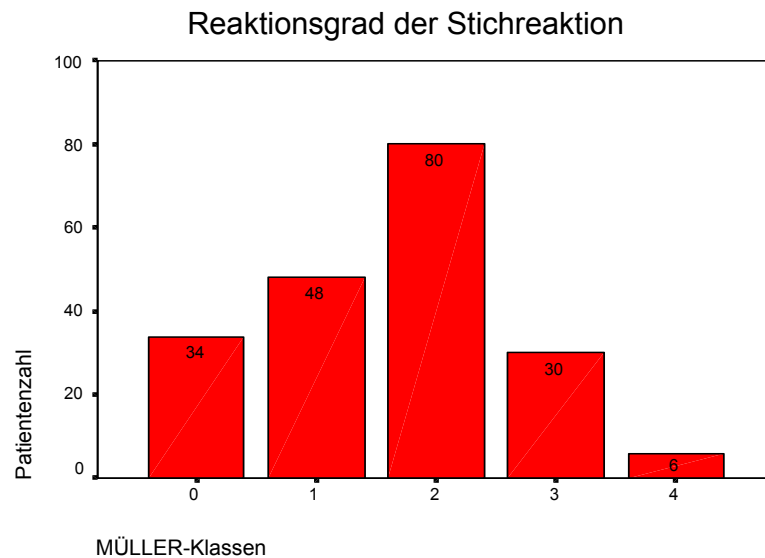


Abb. 5: Einteilung der Stichreaktionen in die Klassifikation nach MUELLER n=198

#### 3.4. Verteilung der Allergietypen

Da es sich bei dieser Arbeit um eine retrospektive Betrachtung handelt, kann auf eine bereits erfolgte Diagnosestellung des einzelnen Patienten zurückgegriffen werden. Die Diagnosestellung erfolgte jeweils nach Auswertung aller diagnostischen Mittel durch erfahrene Allergologen der Universitäts-Hautklinik Jena.

Diese Einteilung dient allerdings nur der besseren Übersicht der Ergebnisse; die Ergebnisbeurteilung aller diagnostischen Maßnahmen erfolgte sowohl im Gesamtüberblick als auch nach dieser Einteilung, so dass die Gefahr einer Ergebnisbeeinflussung nicht besteht.

Unter allen 198 Patienten wurde bei 11 (5,6 %) eine Bienengiftallergie, bei 134 Patienten (67,7 %) eine Sensibilisierung gegenüber Wespengift sowie bei weiteren 50 Patienten eine Intoleranz gegenüber beiden Giftarten im Sinne einer Doppelsensibilisierung diagnostiziert (s. Abb. 6). Bei insgesamt 3 Patienten wurden abschließend pseudoallergische Reaktionen konstatiert, die in der weiteren Diskussion (s. 4.2.6. Aussagekraft des CAST bei pseudoallergischen Patienten) ausführlich beschrieben werden.

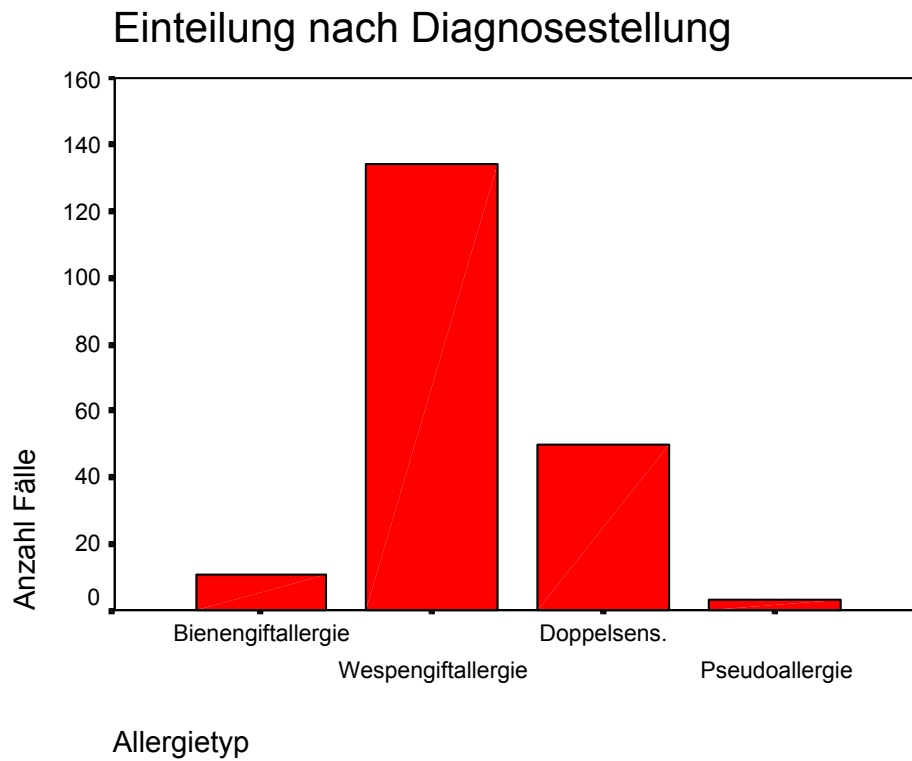


Abb. 6: Einteilung der 198 eingeschlossenen Patienten in Diagnosegruppen

Weiterführend die anamnestischen Angaben der Patienten bezüglich des verursachenden Insektes im Vergleich mit der letztlich gestellten Diagnose (s. Tab. 3).

#### INSEKT \* Allergietyp Crosstabulation

Count		Allergietyp				Total
		Bienengiftallergie	Wespengiftallergie	Doppelsensibilisierung	Pseudoallergische reaktion	
INSEKT	Biene	9	3	8		20
	Wespe		81	24		105
	Unsicher	2	49	18	3	72
	Hornisse		1			1
Total		11	134	50	3	198

Tab. 4 : Kreuztabelle zur Darstellung der späteren Diagnosegruppenzuteilung zu vermeintlich verursachendem Insekt

### 3.5. Verteilung der Reaktionsgrade auf die diagnostizierten Allergietypen

**Allergietyp \* MÜLLER Kreuztabelle**

Count		MÜLLER					Total
		0	1	2	3	4	
Allergietyp	Bienengiftallergie	2	1	5	2	1	11
	Wespengiftallergie	22	29	57	23	3	134
	Doppelsensibilisierung	10	17	16	5	2	50
	Pseudoallergische Reaktion		1	2			3
Total		34	48	80	30	6	198

Tab. 5 : Kreuztabelle zur Einteilung der Grade der Stichreaktionen auf die Diagnosegruppen

Wie bereits in Tabelle 4 wird aus Tab. 5 ersichtlich, dass ein Großteil aller sensibilisierten Patienten nach einem Stichereignis die Symptomatik entsprechend einer Reaktion nach Mueller Klasse 2 aufweisen.

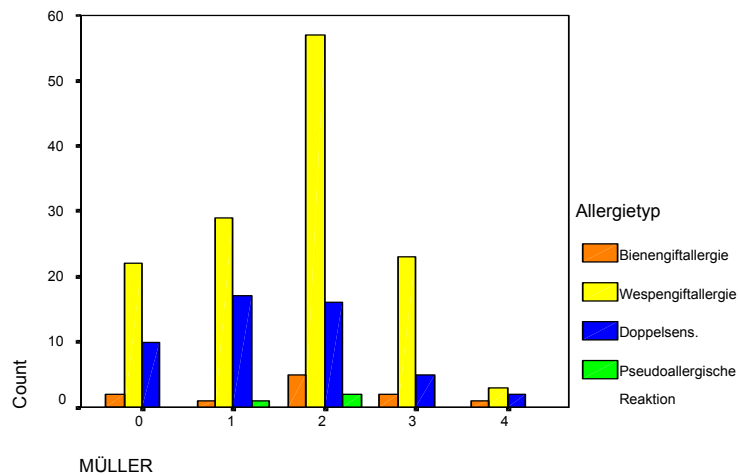


Abb. 7: Grafische Darstellung der Verteilung der Stichreaktionsgrade auf die Diagnosegruppen

### 3.6. Hautteste

Bei Verdacht auf eine vorliegende Sensibilisierung gegenüber Hymenopteregifte wurde zunächst ein Pricktest auf beide Gifte durchgeführt. Bei negativem Ausfall wurde an die Pricktestung ein Intrakutantest angeschlossen, der bei zwar größerer Gefährdung des Patienten ein verlässlicheres Ergebnis liefert. Zur Vereinfachung und besseren Vergleichbarkeit wird in den unten aufgeführten Diagrammen (Abb. 8 + 9) das Endergebnis der Hauttestung aufgeführt; als positiver Hauttest wurde gewertet, wenn der Patient in Prick- *oder* Intrakutantestung positiv reagierte, ein negativer Hauttest, wenn der Patient in beiden Testungen keine Reaktion gezeigt hat. Die Darstellung erfolgte im Vergleich der schlußendlich diagnostizierten Allergietypen.

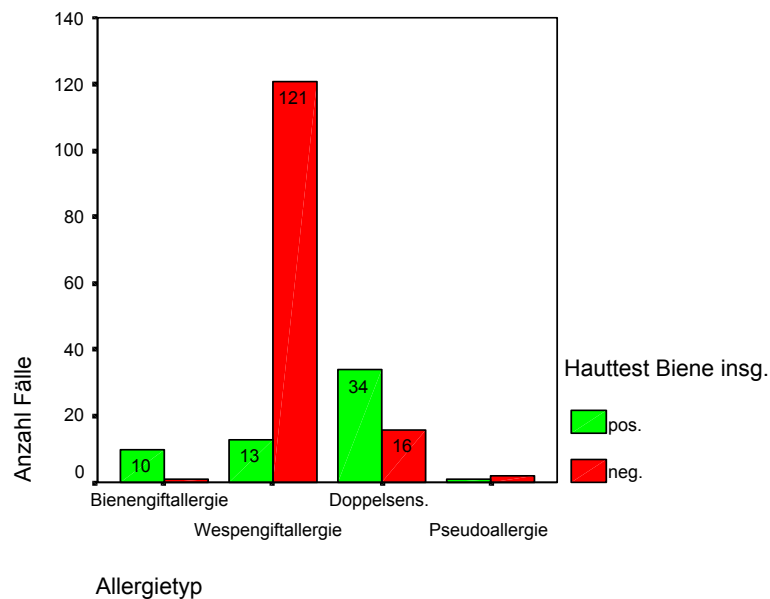


Abb. 8: Darstellung der Befunde der Hauttestung auf Bienengift; in Diagnosegruppen aufgeteilt

Bei der Hauttestung auf Bienengift reagierten insgesamt 58 Patienten (29,3 %) positiv, während 140 Patienten (70,7 %) keine Reaktion zeigten.

Der Zellantigenstimulationstest (CAST) in der Diagnostik von Allergien und Intoleranzreaktionen auf Hymenopteren gifte

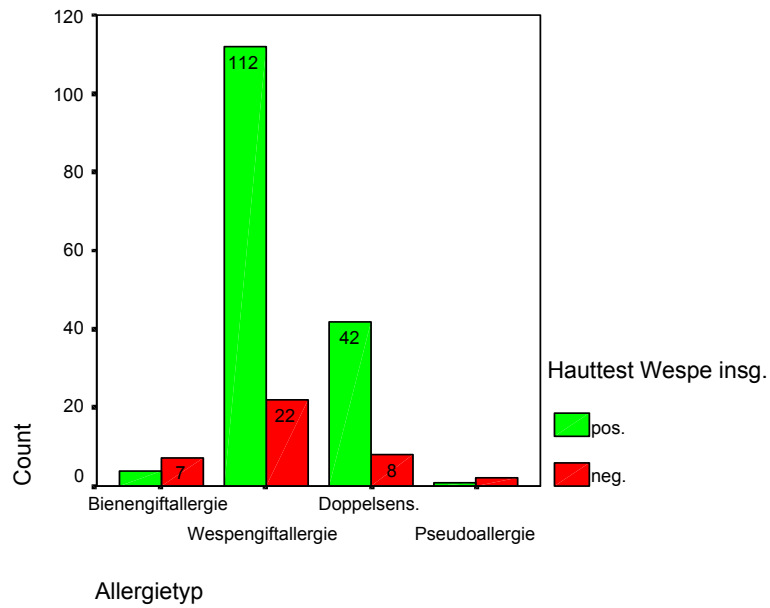
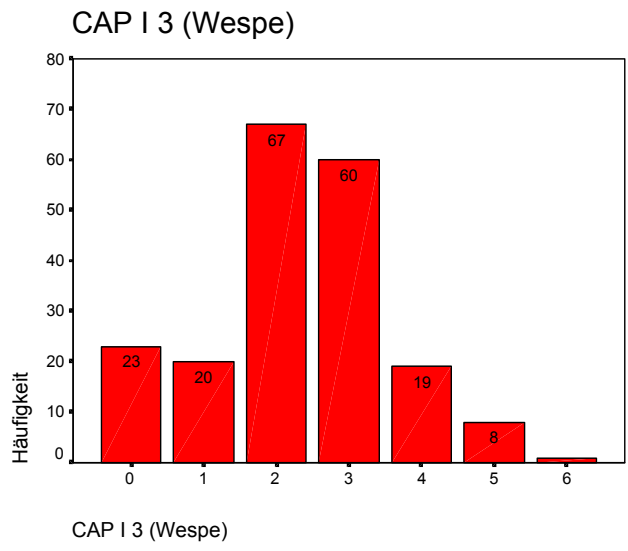


Abb. 9: Darstellung der Befunde der Hauttestung auf Wespengift; in Diagnosegruppen aufgeteilt

Bei der Testung auf Wespengift konnte bei 159 von 198 Patienten (80,3 %) ein positives, bei 39 (19,7 %) ein negatives Ergebnis erhoben werden.

3.7. Verteilung der CAP-RAST-Klassen

Wie auch die Hauttestung wurde die in-vitro-Testung mittels Pharmacia CAP System™ RAST® FEIA sowohl auf Bienen- als auch auf Wespengift durchgeführt:



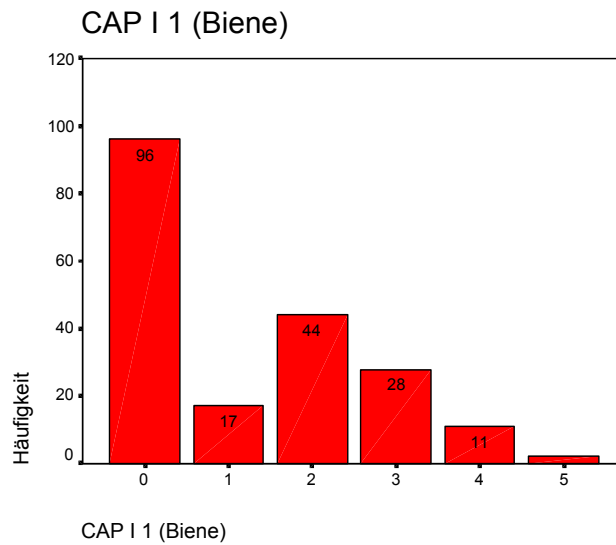


Abb. 10 (1 + 2) : Absolute Verteilung der CAP-RAST-Klassen nach Bienen- und Wespengift aufgeschlüsselt

Die augenfällig große Anzahl der Patienten mit einer CAP-Klasse 0 in der Testung auf Bienengift, also einem negativen Befund, kommt dadurch zustande, dass in diese Darstellung auch *alle Wespengiftallergiker* mit einfließen, die *keine* Doppelsensibilisierung gegenüber beiden Giftarten aufweisen (s. Abb. 10 (1+2)) Um diese Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden, wird in den folgenden Diagrammen (Abb. 11 + 12) eine Zuordnung zur späteren Enddiagnose getroffen:

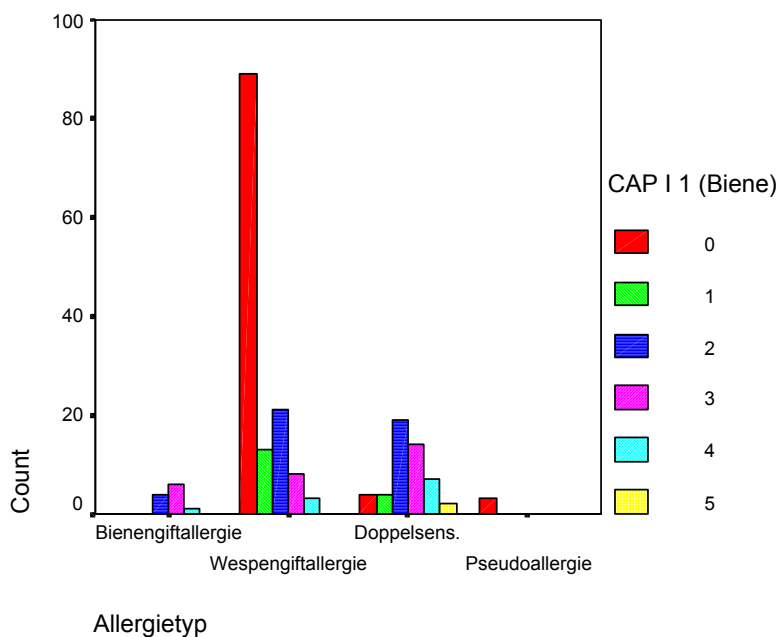


Abb. 11:  
Verteilung der CAP-Klassen (Bienengift) nach Allergietypen

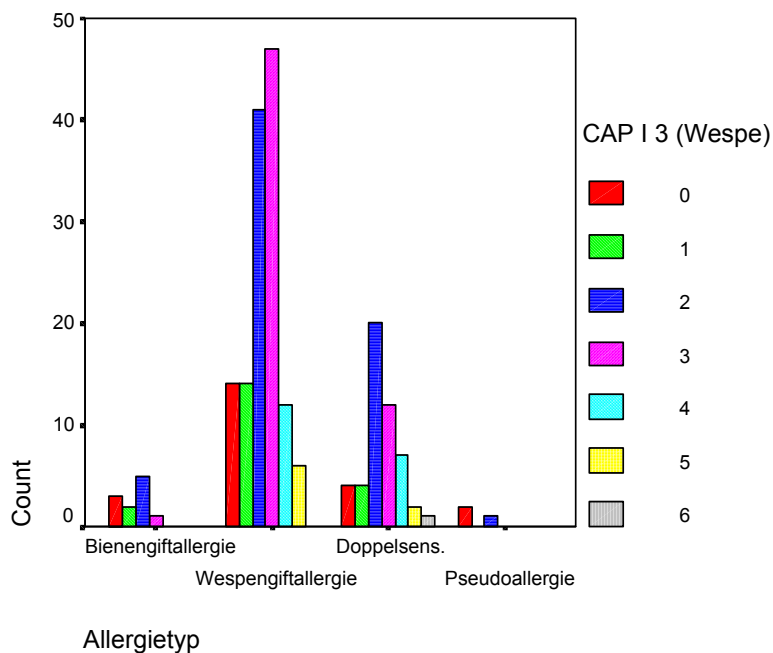


Abb.12: Verteilung der CAP-Klassen (Wespengift) nach Allergietypen

Generell kann gesagt werden, dass in diesem Kollektiv die CAP-RAST-Klassen 2 und 3 am häufigsten gefunden werden konnten, nämlich mit insgesamt 90,1 % bei der isolierten Bienengiftallergie (CAP I1), 65,7 % der Fälle bei der isolierten Wespengiftallergie (CAP I3) sowie bei den Doppelsensibilisierten mit 66 % für CAP I1 und 64 % für CAP I3 (jeweilige Häufigkeiten für Klasse 2 und 3 summiert). Die 89 Fälle, die im CAP-RAST auf Bienengift eine IgE-Ausschüttung von weniger als 0,35 kU/l aufwiesen (also ein negatives Ergebnis lieferten), ergeben sich aus dem hohen Anteil an ausschließlich gegenüber Wespengift empfindlichen Patienten, die jedoch ebenfalls dieser Untersuchung unterzogen wurden.

### 3.8. Ergebnisse des zellulären Antigen-Stimulationstestes CAST

Der untenstehende Boxplot (Abb. 13) gibt die Verteilungsbereiche der Sulfidoleukotrienausschüttung für die Untersuchungsparameter Background und Stimulationskontrolle, sowie die nach Antigen-Stimulation mit Bienen (I1)- bzw. Wespengift (I3) erhaltenen absoluten Werte für die Sulfidoleukotrienausschüttung an.

Für den Background ergibt sich ein Mittelwert von 196 pg/ml, für die Stimulationskontrolle von 2189 pg/ml. Die absolute Sulfidoleukotrienausschüttung liegt

nach Stimulation mit Bienengift (I1) (0 – 8860 pg/ml, Mittelwert 1482 pg/ml) deutlich niedriger als nach Stimulation mit Wespengift (27-15973 pg/ml, Mittelwert 3834 pg/ml). Innerhalb eines 95 % - Konfidenzintervalles des Mittelwertes bewegten sich die Werte für die Sulfidoleukotrienausschüttung bei Bienengiftstimulation zwischen 1267 und 1697 pg/ml; nach Wespengiftstimulation zwischen 3456 und 4211 pg/ml. Einzelne Proben reagierten nach der Antigenstimulation mit überschießenden Werten, im Boxplot (Abb. 13) sind sie als Ausreißer dargestellt . Die Ausreißermarkierung gibt die Identifikationsnummer der betreffenden Probe wieder.

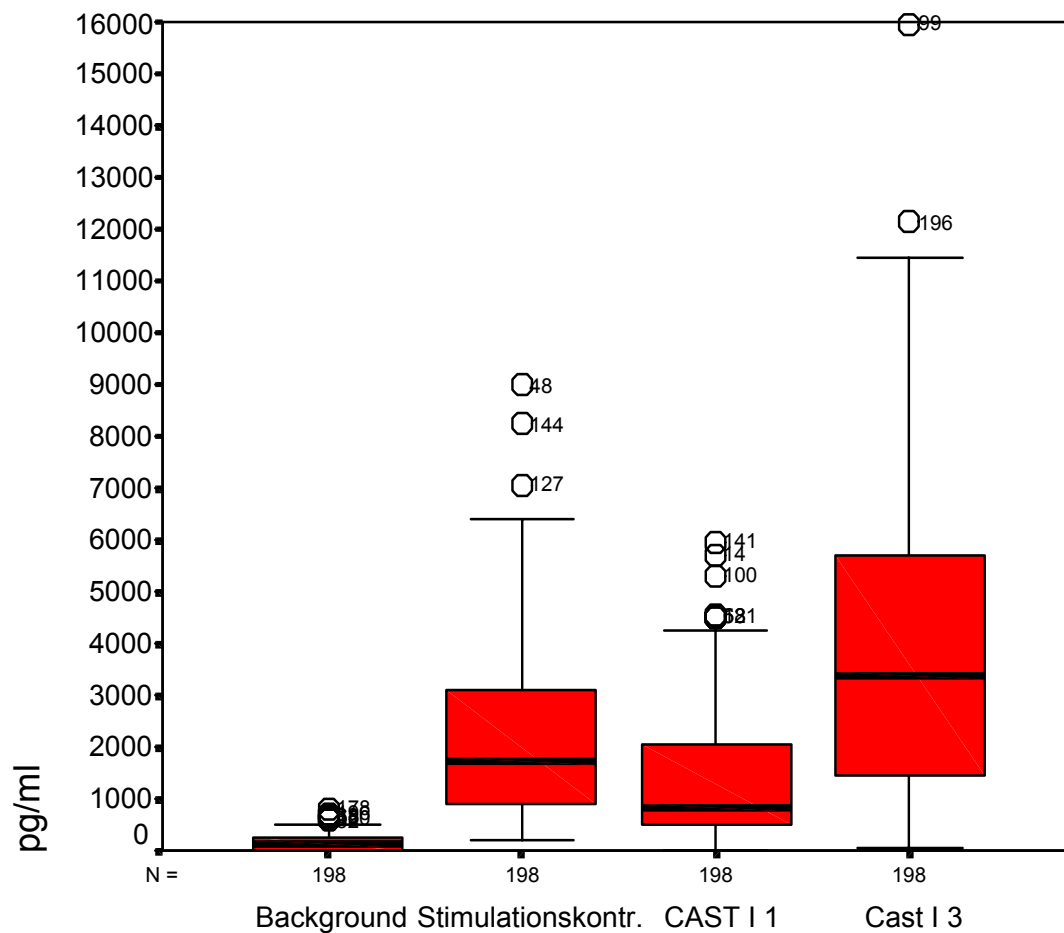


Abb. 13; Boxplot:  
Bereichsverteilung der Sulfidoleukotrienausschüttung im Zellulären Antigen-Stimulationstest CAST im untersuchten Patientenkollektiv (n=198)



Nach Angaben des Herstellers Bühlmann legten wir den Cut-off für einen positiven Ausfall des zellulären Antigen-Stimulationstestes auf 681 pg/ml für Bienengift (I1) und auf 861 pg/ml für Wespengift fest. Unter dieser Prämisse erhielten wir folgende Ergebnisse:

Der CAST auf Bienengift erbrachte bei den insgesamt 198 Patienten in 80 Fällen (40 %) eine Sulfidoleukotrienausschüttung von weniger als 681 pg/ml, wurde also als negativ gewertet, während insgesamt 118 Patienten (60 %) als positiv gewertet wurden. Bei der Stimulation mit Wespengift wurden 20 Testungen (10 %) als negativ und 178 (90 %) als positiv gewertet (vgl. Diagramme, Abb. 14 + 15).

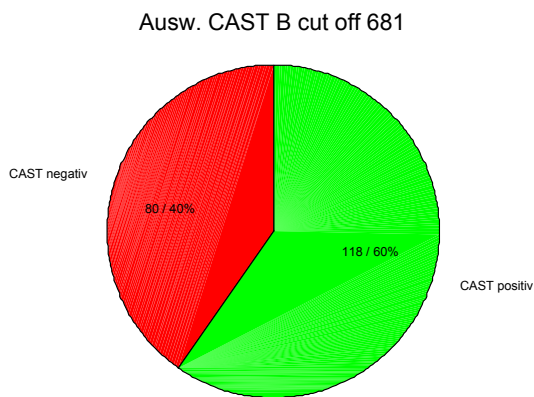


Abb. 14:  
Auswertung CAST Biene bei cut-off  
681 pg/ml

Ausw. CAST W cut off 864

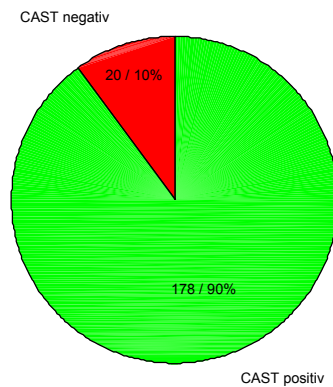


Abb. 15:  
Auswertung CAST Wespe bei  
cut-off 864 pg/ml

### 3.9. Vergleich der Ergebnisse aus Hauttestung und CAST

Im Vergleich des zellulären Antigen-Stimulationstestes CAST mit dem “Goldstandard” Hauttestung gelangten wir zu folgenden Ergebnisse (s. Tab. 5).

**Ausw. CAST B cut off 681 \* Hauttest Biene insgesamt Kreuztabelle**

			Hauttest Biene insgesamt		Gesamt
			pos.	neg.	
Ausw. CAST B cut off 681	pos.	Anzahl	46	72	118
		Erwartete Anzahl	34.6	83.4	118.0
		% von Ausw. CAST B cut off 681	39.0%	61.0%	100.0%
		% von Hauttest Biene insgesamt	79.3%	51.4%	59.6%
		% der Gesamtzahl	23.2%	36.4%	59.6%
		Residuen	11.4	-11.4	
	neg.	Anzahl	12	68	80
		Erwartete Anzahl	23.4	56.6	80.0
		% von Ausw. CAST B cut off 681	15.0%	85.0%	100.0%
		% von Hauttest Biene insgesamt	20.7%	48.6%	40.4%
		% der Gesamtzahl	6.1%	34.3%	40.4%
		Residuen	-11.4	11.4	
Gesamt	Anzahl	58	140	198	
	Erwartete Anzahl	58.0	140.0	198.0	
	% von Ausw. CAST B cut off 681	29.3%	70.7%	100.0%	
	% von Hauttest Biene insgesamt	100.0%	100.0%	100.0%	
	% der Gesamtzahl	29.3%	70.7%	100.0%	

Tab. 6: Kreuztabelle Vergleich der Befunde des CAST auf Bienengift mit den Befunden der Hauttestung auf Bienengift

Bei 46 von 58 Hauttest-positiven Patienten fiel auch der CAST positiv aus, während nur bei 68 von insgesamt 140 Hauttest-negativen Patienten auch im CAST ein negativer Befund erhoben werden konnte (Vgl. Tab. 6 und Abb. 16).

Der Zellantigenstimulationstest (CAST) in der Diagnostik von Allergien und Intoleranzreaktionen auf Hymenopteren gifte

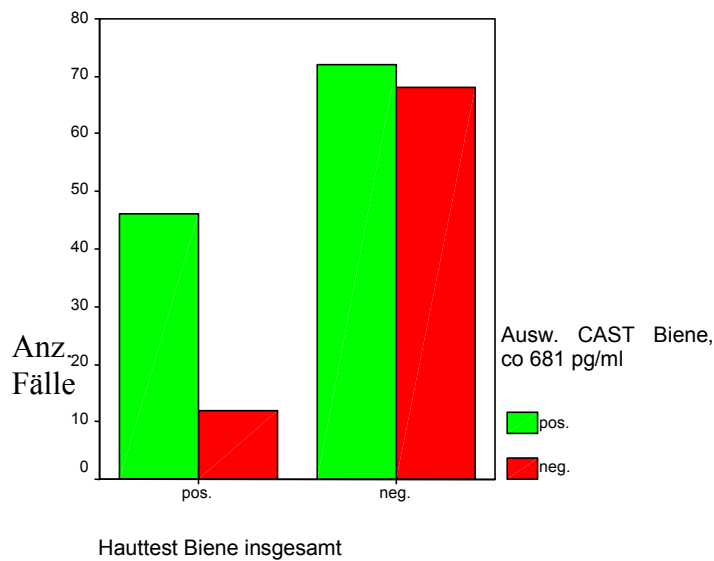


Abb. 16: Darstellung der Befunde des CAST auf Bienengift, absolute Zahlen, n=198

Es ergeben sich folgende Maßzahlen für die diagnostische Wertigkeit des CAST auf Bienengift (im Vergleich zum Hauttest Biene); Formeln zur statistischen Berechnung finden sich im Kap. 2.5., Methoden der statistischen Auswertung.

Sensitivität            SENS=             $46 / (46+12) = 0,7931 = 79,31 \%$

95%-Konfidenzintervall    =             $cu95 = 66,65 \%$              $co95 = 88,83 \%$

Spezifität            SPEZ=             $68 / (72+68) = 0,4857 = 48,57 \%$

95%-Konfidenzintervall    =             $cu95 = 40,04 \%$              $co95 = 57,16 \%$

Youden-Index            Y            =             $(0,7931+0,4857) - 1 = 0,2788$

Pos. präd. Wert            DWp=             $46 / (46+72) = 0,4067 = 38,98 \%$

95%-Konfidenzintervall    =             $cu95 = 30,14 \%$              $co95 = 48,39 \%$

Neg. präd. Wert            DWn=             $68 / (12+68) = 0,85 = 85 \%$

95%-Konfidenzintervall    =             $cu95 = 75,26 \%$              $co95 = 92,00 \%$

Signifikanzanalyse             $T = \frac{(|72 - 12| - 1)^2}{72 + 12} = 41,44 (\geq 6,64)$

Für den Vergleich CAST Wespe zum Hauttest Wespe s.Tab. 6.

**Ausw. CAST W cut off 864 \* Hauttest Wespe insgesamt Kreuztabelle**

			Hauttest Wespe insgesamt		Gesamt
			pos.	neg.	
Ausw. CAST W cut off 864	pos.	Anzahl	148	30	178
		Erwartete Anzahl	142.9	35.1	178.0
		% von Ausw. CAST W cut off 864	83.1%	16.9%	100.0%
		% von Hauttest Wespe insgesamt	93.1%	76.9%	89.9%
		% der Gesamtzahl	74.7%	15.2%	89.9%
		Residuen	5.1	-5.1	
	neg.	Anzahl	11	9	20
		Erwartete Anzahl	16.1	3.9	20.0
		% von Ausw. CAST W cut off 864	55.0%	45.0%	100.0%
		% von Hauttest Wespe insgesamt	6.9%	23.1%	10.1%
		% der Gesamtzahl	5.6%	4.5%	10.1%
		Residuen	-5.1	5.1	
Gesamt		Anzahl	159	39	198
		Erwartete Anzahl	159.0	39.0	198.0
		% von Ausw. CAST W cut off 864	80.3%	19.7%	100.0%
		% von Hauttest Wespe insgesamt	100.0%	100.0%	100.0%
		% der Gesamtzahl	80.3%	19.7%	100.0%

Tab. 7: Kreuztabelle Vergleich der Befunde des CAST auf Wespengift mit den Befunden der Hauttestung auf Wespengift

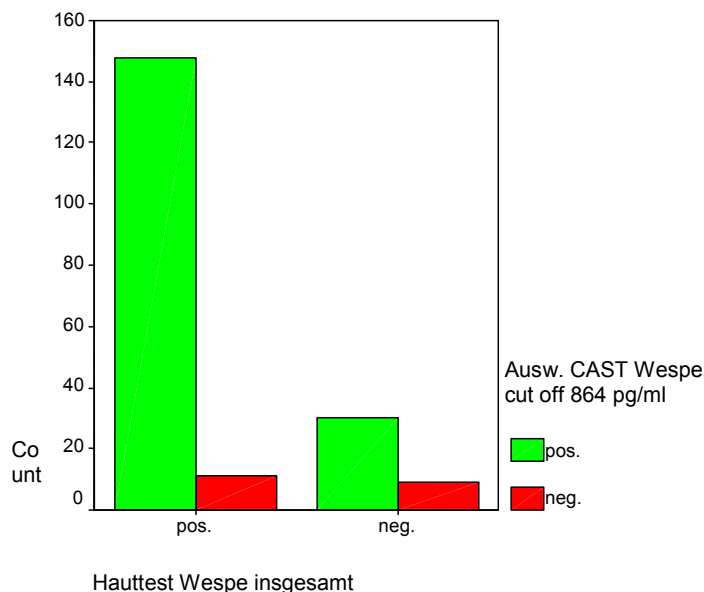


Abb. 17: Darstellung der Befunde des CAST auf Bienengift, absolute Zahlen, n=198

148 von 159 Hauttest-positiven Patienten zeigten auch im CAST auf Wespengift ein positives Ergebnis bei einem Cut-off von 864 pg/ml. Jedoch zeigten auch 30 Proben im CAST ein positives Ergebnis, obwohl die Hauttestung zu einem negativen Befund gekommen war. Nur 9 von 39 Patienten, die in der Hauttestung keine Reaktion gezeigt hatten, waren auch im CAST als negativ befundet worden.

Auch hier die Angabe der statistisch ermittelten diagnostischen Wertigkeiten des CAST auf Wespengift im Vergleich mit dem Hauttest Wespe mit Einbezug des jeweiligen 95 % - Konfidenzintervalles:

Sensitivität	SENS=	$148 / (148+11) = 0,9308 = 93,08 \%$	
95%-Konfidenzintervall	=	cu95 = 87,96 %	co95 = 96,50 %
<hr/>			
Spezifität	SPEZ=	$9 / (30+9) = 0,2307 = 23,07 \%$	
95%-Konfidenzintervall	=	cu95 = 11,13 %	co95 = 39,33 %
<hr/>			
Youden-Index	Y =	$(0,9308+0,2307) - 1 = 0,1615$	
<hr/>			
Pos. präd. Wert	DWp=	$148 / (148+30) = 0,8315 = 83,15 \%$	
95%-Konfidenzintervall	=	cu95 = 76,82 %	co95 = 92,01 %
<hr/>			
Neg. päd. Wert	DWn=	$9 / (11+9) = 0,45 = 45 \%$	
95%-Konfidenzintervall	=	cu95 = 23,06 %	co95 = 68,47 %
<hr/>			
Signifikanzanalyse		$T = \frac{( 30-11 -1)^2}{30+11} = 7,90 (\geq 6,64)$	

### 3.10 Vergleich der absoluten Sulfidoleukotrien-Ausschüttung mit den Ergebnissen aus Anamnese sowie CAP System™ RAST® FEIA-Testung

Weiterführend stellte sich die Frage, ob der CAST in der Lage sei, die momentane allergische Disposition zu messen, das heißt, ob die momentane Stimulierbarkeit der Granulozyten und damit die ausgeschüttete Menge an Sulfidoleukotrienen direkt mit der

Anamnese (dargestellt durch die Klassifikation nach Mueller, vgl. Kap. 2.2. Die allergologische Anamnese bei Verdacht auf eine vorliegende Insektengiftallergie) und der CAP-RAST-Testung korreliert. Hierzu verglichen wir die absolute Sulfidoleukotrienausschüttung für jeweils beide Stimulierungen (Bienen- und Wespengift) mit den Klassifizierungen nach Mueller sowie den Untersuchungsergebnissen des CAP System™ RAST® FEIA; ebenfalls für beide Giftarten und stellten sie in Box-Plot-Diagrammen gegenüber (Abb. 18 + 19).

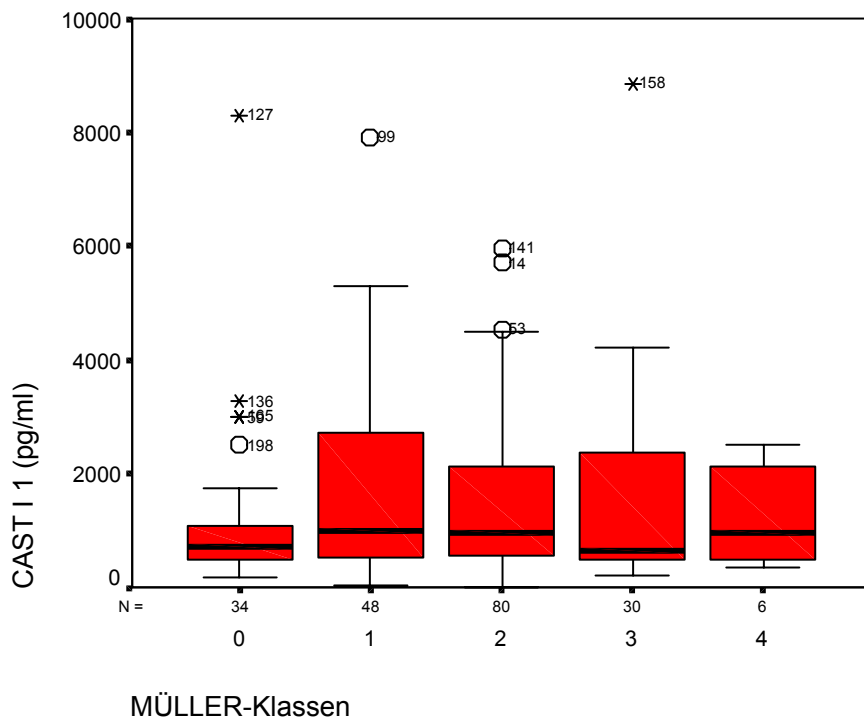


Abb. 18, Boxplot:

Verteilung der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Bienengift (I1) bezogen auf den dazugehörigen Reaktionsgrad in der Einteilung nach Mueller

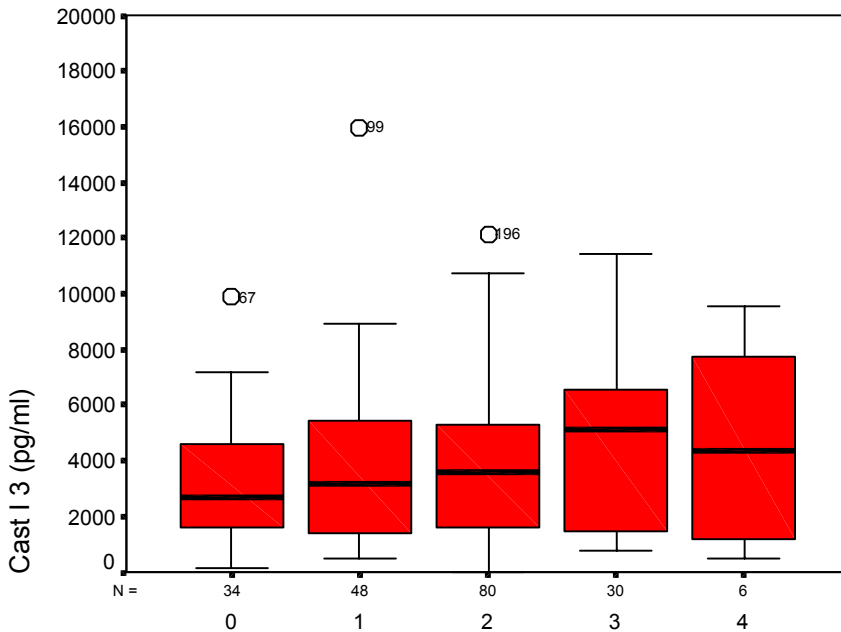
Anzahl Fälle	MUELLER	Minimum	Maximum	Mittelwert	Cu 95	Co 95
34	0	183	8300	1204,56	684,60	1724,52
48	1	35	7922	1656,69	1173,59	2139,78
80	2	0	5690	1513,23	1198,29	1828,16
30	3	225	8860	1483,60	812,37	2154,93
6	4	356	2500	1232,67	291,73	2173,60

Tab. 8:  
 Explorative Datenanalyse der Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Bienengift (I1) bezogen auf die Einteilung der Reaktionsgrade nach Müller  
 Cu95 : Untere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls des Mittelwertes  
 Co95 : Obere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls des Mittelwertes

Wie in Tab. 8 und auch im Boxplot (Abb. 18) ersichtlich, variieren die Mittelwerte der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Bienengift (I1) nur innerhalb enger Grenzen. Ein direkter Bezug zu der Stärke des Reaktionsgrades ist nicht zu erkennen. Zu beachten ist in dieser Darstellung der geringe Anteil an diagnostizierten Bienengiftallergikern (n = 11) und Doppelsensibilisierten (n = 50) im Gesamtkollektiv (n = 198).

Der weit höhere Anteil an Wespengiftallergikern an der untersuchten Population schlägt sich auch in der Darstellung der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Wespengift (I3) nieder (vgl. Abb. 19, Tab. 9).

Der Zellantigenstimulationstest (CAST) in der Diagnostik von Allergien und Intoleranzreaktionen auf Hymenopteren gifte



MÜLLER-Klassen

Abb. 19, Boxplot:

Verteilung der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Wespengift (I3) bezogen auf den dazugehörigen Reaktionsgrad in der Einteilung nach Müller

Anzahl Fälle	MUELLER	Minimum	Maximum	Mittelwert	Cu 95	Co 95
34	0	125	9877	3264,44	2463,05	4065,83
48	1	461	15973	3863,58	2983,09	4744,08
80	2	27	12130	3699,99	3164,01	4235,96
30	3	756	11427	4632,17	3502,10	5762,23
6	4	474	9515	4610,17	881,58	8338,75

Tab. 9:

Explorative Datenanalyse der Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Wespengift (I3) bezogen auf die Einteilung der Reaktionsgrade nach Müller

Cu95 : Untere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls des Mittelwertes

Co95 : Obere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls des Mittelwertes

Man beachte die gegenüber der Stimulation mit Bienengift deutlich erhöhte Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Wespengift. Die Werte lassen jedoch ähnlich wie bei der vorangegangenen Darstellung keinen Bezug zu der Verteilung der Reaktionsgrade nach Insektenstich erkennen.



Da sich die Klassifikation nach Mueller nur auf den generellen Reaktionsgrad nach einem Insektenstich bezieht, ohne zwischen den verursachenden Insekten zu differenzieren, stellten wir auch den Vergleich der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung auf jeweils beide Gifte den dazugehörigen Untersuchungsergebnissen des CAP System™ RAST® FEIA, ebenfalls auf beide Giftarten, gegenüber (vgl. Abb. 20 + 21, Tab. 10 + 11).

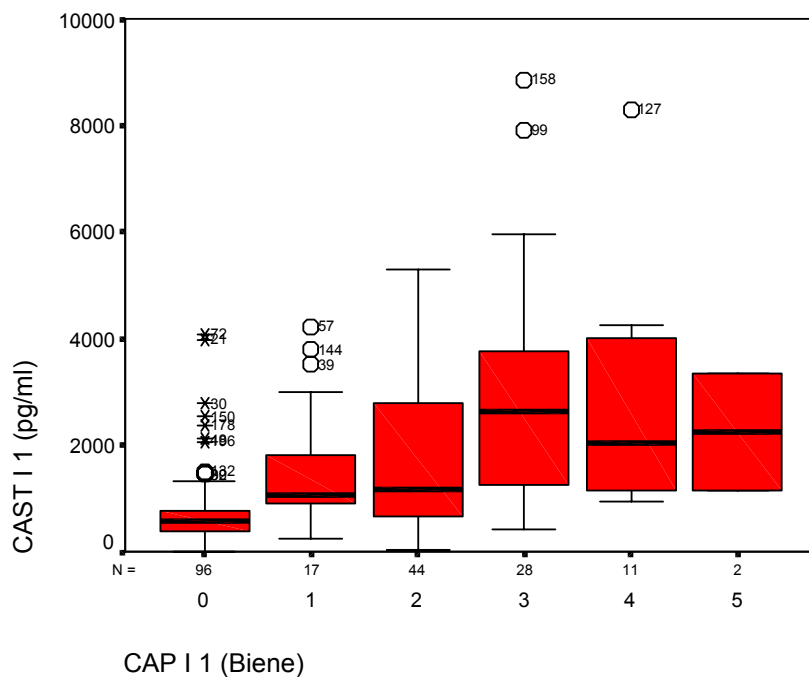


Abb. 20, Boxplot:  
Verteilung der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Bienengift (I1) bezogen auf die im CAP System™ RAST® FEIA ermittelten CAP-Klassen für Bienengift (I1)

Anzahl Fälle	CAP-Klassen	Mimumum	Maximum	Mittelwert	Cu95	Co95
96	0	0	4078	741,22	600,16	882,28
17	1	261	4220	1654,59	1026,65	2282,52
44	2	35	5313	1676,57	1266,24	2086,90
28	3	401	8860	3010,50	2188,54	3832,46
11	4	944	8300	2872,55	1382,83	4362,27
2	5	1147	3345	2246,00	---	---

Tabelle 10:  
Explorative Datenanalyse der Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Bienengift (I1) bezogen auf die im CAP System™ RAST® FEIA ermittelten CAP-Klassen für Bienengift (I1)

Der Zellantigenstimulationstest (CAST) in der Diagnostik von Allergien und Intoleranzreaktionen auf Hymenopteregifte

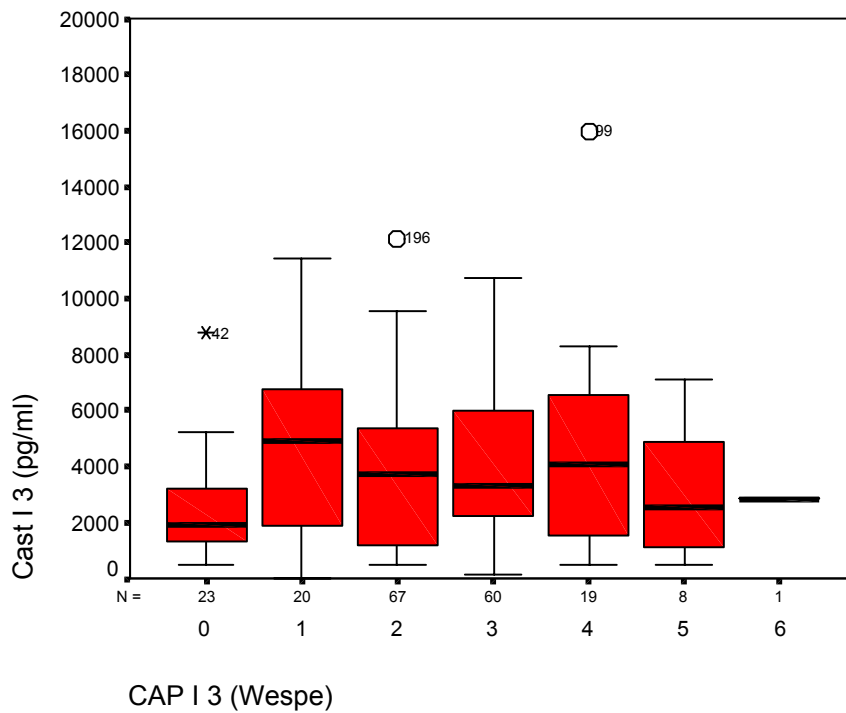


Abb 21, Boxplot:  
Verteilung der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Wespengift (I3) bezogen auf die im CAP System™ RAST® FEIA ermittelten CAP-Klassen für Wespengift (I3)

Anzahl Fälle	CAP-Klassen	Mimumum	Maximum	Mittelwert	Cu95	Co95
23	0	463	8759	2550,83	1722,62	3379,03
20	1	27	11427	4628,30	3194,85	6061,75
67	2	489	12130	3748,10	3127,98	4368,23
60	3	125	10721	4043,77	3395,37	4692,16
19	4	474	15973	4557,00	2720,43	6393,57
8	5	461	7141	3081,63	1062,27	5100,98
1	6	---	---	---	---	---

Tab. 11: Explorative Datenanalyse der Sulfidoleukotrienausschüttung nach Stimulation mit Bienengift (I1) bezogen auf die im CAP System™ RAST® FEIA ermittelten CAP-Klassen für Bienengift (I1)

### 3.11. Patienten mit pseudoallergischen Reaktionen

Insgesamt wurden im Untersuchungszeitraum bei drei Patienten pseudoallergische Reaktionen nach einem Stich von Biene oder Wespe diagnostiziert. Da sich ein solch kleines Kollektiv nicht zu Signifikanzanalysen eignet (vgl. Kap. 2.5.6. Signifikanzanalyse), werden hier alle drei Fälle vorgestellt:

Pat. P.R., männlich, 1963 geboren.

- Anfang Mai 1998 von einer Hummel in den Arm gestochen – es kam sofort zur lokalen Schwellung, Hitzegefühl und Schwindelanfällen; keine Bewusstlosigkeit. Kein Arztbesuch.
- August 1998 von einer Biene in den Arm gestochen – wiederum sofortige starke Schwellung, Schwindelerscheinungen, Schweißausbruch, Druck auf den Ohren im Sinne einer Reaktion nach Mueller 2. Unter Notfalltherapie rasche Besserung.
- Keine weiteren Allergien bekannt
- Pricktest auf Bienen- und Wespengift bei 1 bis 100 µg sämtlich negativ
- Intrakutantest mit 0,1 µg Bienengift und Wespengift ebenfalls negativ
- Gesamt-IgE-Spiegel mit 34,9 IU/ml normal
- CAP-RAST-Biene Klasse 2, Wespe negativ
- CAST I1 Biene mit 5988 pg/ml hochpositiv, CAST I3 Wespe mit 865 pg/ml positiv
- Hyposensibilisierungstherapie wurde dringend empfohlen

Pat. L.B., weiblich, 1974 geboren

- 1997 Stich einer Biene in den rechten Fuß – sofortige Ausbildung einer verstärkten ödematösen Lokalreaktion
- eine Stunde nach Stich Atemnot, Herzrasen und Schwindelgefühl im Sinne einer Reaktion nach Mueller 3
- Trotz erfolgter Diagnostik (Spez. IgE Biene CAP-Klasse 3, Wespe 0) war es 1997 nicht zu einer Behandlung gekommen
- Diagnostik 2000:
- Pricktest Biene und Wespe bis 300 µg/ml negativ
- Intrakutantest Biene und Wespe bis 1,0 µg/ml negativ
- CAP-RAST Biene Klasse 0, Wespe ebenfalls 0
- Im Western-Blot keine Bande für Wespen- oder Bienengift; Bestimmung der Mastzelltryptase ergab einen negativen Befund
- CAST I1 Biene mit 0 pg/ml negativ, CAST I3 Wespe mit 1665 pg/ml deutlich positiv
- Einleitung einer spezifischen Hyposensibilisierung zu jenem Zeitpunkt (Nov. 2000) nicht indiziert; Pat. wurde mit einem Notfallset versorgt

Pat. E.C., weiblich, 1929 geboren

- 1985 von einem Insekt (vermutlich Biene) in die seitliche Halspartie rechts gestochen worden.
- Innerhalb von Minuten Entwicklung des „Vollbildes eines anaphylaktischen Schocks“ (Mueller 3? Keine weiteren Angaben des Untersuchers)
- Pricktest Jan. 1986 Biene und Wespe bis 300 µg/ml negativ
- Intrakutantest Jan. 1986 Biene und Wespe bis 1,0 µg/ml negativ
- Wiedervorstellung 1996
- CAP-RAST 1996 Biene Klasse 0, Wespe ebenfalls 0
- CAST I 1 Biene mit 645 pg/ml leicht unterhalb des cut-offs, CAST I3 Wespe mit 1859 pg/ml positiv
- Keine Indikation zur Hyposensibilisierung, Versorgung mit Notfallset empfohlen

## 4. Diskussion

### 4.1. Genauigkeit der Verfahren und mögliche Fehlerquellen

#### 4.1.1 Anamneseerhebung

Um die Ergebnisse dieser retrospektiven Studie einschätzen zu können, ist es wichtig, die möglichen Fehlerquellen mit in Betracht zu ziehen. So wurden die Befunde dieser Studie in einem Zeitraum von 7 Jahren erhoben; während dieser Zeit wechselten die Allergiediagnostiker der Uni-Hautklinik der FSU Jena mehrfach. Zwar ist bei der Erhebung der Anamnese stets die gleiche Einteilung (die Mueller-Klassifikation) verwendet worden, jedoch kann nicht mit Gewissheit ausgeschlossen werden, dass unterschiedliche Befunder nicht auch zu unterschiedlichen Ergebnissen in der Einteilung gekommen wären. Der „Fehlerfaktor Mensch“ spielt also eine nicht unerhebliche Rolle; letztlich relativieren jedoch die Ergebnisse dieser Studie diesen Faktor, wie später ersichtlich wird.

#### 4.1.2. Qualität der Hauttestung

Reismann hat in seinem Artikel “The dilemma of the negative skin test reactor” auf die Problematik von negativen Hauttestungen bei eindeutig positiver Anamnese und positivem Rast-Test hingewiesen (Reismann, 2001). In der Diskussion der Ergebnisse unterstrich er die Notwendigkeit, dass für vergleichbare Ergebnisse für beide Tests das gleiche Gift verwendet werden müsse; ein Umstand, der in der täglichen Praxis der Allergologie-Testung nahezu unmöglich ist und speziellen Labors vorbehalten sein dürfte (z.B. Johns Hopkins Asthma and Allergy Center).

Zwar stellt er heraus, dass die meisten internationalen Studien eine Überlegenheit des Hauttestes gegenüber dem RAST erwiesen haben; jedoch haben auch wir mögliche Falsch-negative Hauttestungen in unseren Daten finden können. Klinisch relevant wird eine solche Konstellation, wenn ein Patient, der nach eigenen Angaben auf ein Insektenstichereignis allergisch reagierte, in den Hauttestungen jedoch keinen Befund zeigte und deswegen ohne Notfallset wieder nach Hause geschickt wird. Bei einem möglichen Wiederholungsstich könnten sich bei einer solchen Verfahrensweise lebensbedrohliche Symptomaten entwickeln.

Eine Grundproblematik der zur Allergiediagnose genutzten Verfahren ist die (zum jetzigen Zeitpunkt) Unmöglichkeit der absoluten Validierung. Als Beispiel einer möglichen vollkommenen Validierung sei ein Screening-Test für Tumorzellen genannt. Durch eine Probeentnahme von Gewebe des untersuchten Individuums lässt sich Sensitivität und Spezifität des Testverfahrens ohne Zweifel bestätigen. Durch inter- und intraindividuelle Reaktionen nach Stichereignissen von Hymenopteren auch in Bezug auf die IgE- und Sulfidoleukotrien-Ausschüttung lässt sich eine solch akkurate Befundung durch in vivo- oder in-vitro-Testverfahren in der Allergologie nicht gewährleisten.

Die diagnostische Genauigkeit und Aussagekraft der Hauttestung wurden in mehreren Studien untersucht. Stieger und Wüthrich fanden 1978 bei 53 anamnestisch nachgewiesenen Bienengiftallergikern in 81,1 % einen positiven Hauttest (allerdings auf Ganzkörperextraktgift, das heute nicht mehr verwendet wird), sowie bei 79% einen positiven RAST (Stieger et al., 1978). Heinig fand bei einem Vergleich zweier RAST-Methoden mit der Hauttestung bei 8 % der untersuchten Individuen mit systemischer allergischer Reaktion auf ein Stichereignis einen negativen Hauttest (Heinig et al., 1989); Blaauw und Smithuis untersuchten im Zeitraum von 1979 bis 1983 106 Patienten mit anamnestisch gesicherten Stichereignissen von Hymenopteren und erhielten bei 86 von Ihnen (81,1%) einen positiven Hauttest (Blaauw and Smithuis, 1985). Annila et al. kamen 1995 nach einer Untersuchung von 102 Bienenzüchtern aufgrund der Tatsache, dass der Hauttest bei nur 65 % der Züchter mit systemischen Reaktionen und bei 39 % der Individuen, die überhaupt keine allergische Reaktion zeigten, ein positives Ergebnis zeigte, zu dem Ergebnis, dass die Hauttestung nicht geeignet ist, zwischen allergischen und nicht-allergischen Bienenzüchtern zu unterscheiden (Annala et al., 1995).

In Bezug auf die Aussagekraft und der dabei möglichen Gefährdung des Patienten bei Anwendung des Intrakutantests (Intra-Dermal Skin Test = IDST) kommen zwei neuere Arbeiten (Wood et al., 1999 und Hamilton, 2002) zu dem Ergebnis, dass der IDST nur wenig zu der Aussagekraft des Pricktestes bei extrem erhöhter Gefährdung des Patienten hinzufügen könne und daher die Anamnese die Basis jeder allergologischen

Diagnose sein sollte. Bei negativem Pricktest oder negativer Serologie sollen diese Tests zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt werden und vom Intrakutantest Abstand genommen werden.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob der Hauttest als „Goldstandard“ der allergologischen Testung Bestand hat und – in dieser Studie als Grundlage einer objektiven Bewertung des CAST herangezogen werden sollte. Aufgrund der vorliegenden Daten verglichen wir den CAST sowohl mit der Hauttestung, dem CAP-RAST sowie der anamnestischen Allergie-Einteilung nach Mueller. Nur so kann eine annähernd unbeeinflusste Bewertung des Testverfahrens gewährleistet werden.

Des Weiteren ist zu bemerken, dass jeder Test nur so gut sein kann, wie das verwendete Allergen.

#### 4.1.3. Bewertung der Testergebnisse und Diagnose

Ein gewichtiges Problem bei der Darstellung der Daten dieser Studie ergibt sich durch die Retrospektive. Bei der Datenerhebung konnten wir uns ausschließlich auf die vorhandenen Informationen aus den Krankenblättern der Patienten beziehen. Um eine verständliche Darstellung der Daten zu gewährleisten, mussten wir die Patienten wie in den Krankenblättern in unterschiedliche Diagnosegruppen einteilen (Bienengiftallergiker, Wespengiftallergiker, Doppelsensibilisierte, Pseudoallergische Reaktionen).

Die Eingruppierung wurde letztlich durch die Zusammenstellung der Befunde aus allen Testverfahren (Anamnese, Hauttestung, CAP-RAST und CAST) getroffen, so dass alle Daten, die untersucht werden sollten, innerhalb der Gruppierung voneinander abhängig waren.

Wir legten daher besonders großen Wert darauf, uns in der abschließenden Darstellung der Vergleiche des CAST mit den unterschiedlichen Diagnoseverfahren (Mueller-Klassifikation, Hauttestung und CAP-RAST-Testung) nicht auf diese Diagnosegruppen zu beziehen – somit ist eine Einflussnahme durch Abhängigkeit der Daten vermieden worden.

#### 4.1.4. Ergebnisse des CAST

Die Ergebnisse des CAST bezogen sich in dieser Arbeit auf die vom Hersteller festgelegten cut-off-Werte für die jeweiligen Giftkonzentrationen. Der Gebrauch von verschiedenen (3 unterschiedlichen) Giftkonzentrationen erbrachte nach einer früheren Arbeit von Cahen und Mitarbeitern (Cahen et al., 1997) keine besseren Ergebnisse als die vom Hersteller angegebenen Werte. Innerhalb von 3 Standardabweichungen der angegebenen cut-offs kamen sie zu einem Durchschnittsergebnis für die Sensitivität/Spezifität des CAST (bezogen auf den Hauttest als Goldstandard) von 73% / 71%.

Aus Gründen der Reproduzierbarkeit und der Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen anderer Kliniken bezogen wir uns in dieser Arbeit ausschließlich auf die Angaben des Herstellers Bühlmann.

#### 4.2. Diskussion der erhobenen Ergebnisdaten

##### 4.2.1. Patientengut und Diagnosen

Mit insgesamt 198 in die Einschlusskriterien eingefassten Individuen ist die vorliegende Studie zum gegenwärtigen Zeitpunkt die größte retrospektive Arbeit zu vorliegendem Thema (vgl. Kap. 1.10. Ziele der Arbeit). Die Daten resultieren alle aus Untersuchungen der allergologischen Abteilung der Klinik für Dermatologie und Allergologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, so dass ein breiter praktischer Bezug gewährleistet ist.

Die Verteilung der untersuchten Patienten ist mit 116 Frauen und 82 Männern nahezu ausgeglichen. Der hohe Anteil der Wespengiftallergien lässt sich gut durch das höhere Aggressionspotential der Vespiden gegenüber den Apiden sowie des größeren Kontaktes der Menschen zu den bevorzugten Aufenthaltsorten der Wespen (Mülleimer, Rasenflächen etc.) erklären. Der Zusammensetzung der Giftarten (vgl. 1.3. Hymenopterenstiche und Giftzusammensetzung) ist ein relativ hoher Anteil an Doppelsensibilisierungen geschuldet.



#### 4.2.2. Vergleich des CAST mit der Hauttestung

Die Maßzahlen für die Validität des CASTs im Vergleich zur Hauttestung wurden anhand von Vierfeldertafeln erhoben.

Für die Leukozytenstimulierung mit Bienengift im Vergleich zur Hauttestung auf Bienengift ergaben sich mit 79,31 % für die Sensitivität vergleichsweise gute Werte, während die Spezifität des CASTs mit nur 48,57 % für ein gutes Testverfahren kaum ausreichen dürfte - mit anderen Worten: Der Test ist gemessen an den Ergebnissen der Hauttestung (Prick/Intrakutan) relativ gut in der Lage, die wirklich allergischen Individuen in der untersuchten Population herauszufinden, allerdings ist der Test nur unzureichend nützlich, gesunde Patienten gegenüber allergischem Patientengut abzugrenzen. Der CAST produziert in dieser Teiluntersuchung zu viele falsch positive Ergebnisse. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein mit dem CAST positiv getestetes Individuum auch tatsächlich krank ist (pos. Vorhersagewert) liegt daher auch nur bei 38 %, während die Wahrscheinlichkeit, dass ein negativ getestetes Individuum auch tatsächlich gesund ist (neg. Vorhersagewert) mit 85 % relativ hoch ist. Problematisch an dieser Betrachtung ist wiederum der geringe Anteil an tatsächlichen Bienengiftallergikern; es fließen hier vielmehr die Ergebnisse der Doppelsensibilisierten mit ein.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse aus dem Vergleich des CAST I3 Wespe mit der Hauttestung auf Wespengift fällt die hohe Sensitivität des CAST in dieser zahlenmäßig größeren Gruppe auf. 93 % Sensitivität sind eine gute Maßzahl für die Güte der Testung; leider sind auch hier die „falsch positiv“ getesteten Individuen in hoher Zahl vertreten, so dass die Spezifität einen nicht ausreichenden Wert von 23 % erreicht. Der positive Vorhersagewert liefert mit 83,15 % ein akzeptables Ergebnis, während der negative prädiktive Wert ebenfalls nur 45 % erreicht und damit keine gute Maßzahl für die Validität des Testes erreicht. Diese Ergebnisse spiegeln sich auch in den Youden-Indizes der beiden Testungen wider: Mit 0,28 in der Testung auf Bienengift und nur 0,16 im Wespengiftvergleich zeigt sich die nur begrenzte diagnostische Güte des CAST im Vergleich mit der Hauttestung („Perfekter Test“: Youden-Index = +1, „unbrauchbarer Test“: Youden-Index = -1).

Da sowohl die CAST-Testungen als auch die Hauttestungen bei den gleichen Individuen durchgeführt wurden, handelt es sich hierbei um sogenannte „abhängige Stichproben“ (vgl. Kap. 2.5.6. Signifikanzanalyse). Der in unseren Untersuchungen zur Signifikanzanalyse angewandte  $\chi^2$  - Test nach McNemar wurde auf einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,01$  durchgeführt. Hierbei ergaben sich nach Anwendung der Stetigkeitskorrektur folgende Werte:

$$\text{Vergleich Hauttest Biene zu CAST Biene} \quad T = \frac{(|72 - 12| - 1)^2}{72 + 12} = 41,44 (\geq 6,64)$$

$$\text{Vergleich Hauttest Wespe zu CAST Wespe} \quad T = \frac{(|30 - 11| - 1)^2}{30 + 11} = 7,90 (\geq 6,64)$$

Unter dem gegebenen Signifikanzniveau von 1 % erhält man einen kritischen  $\chi^2$  - Wert von 6,64. Unsere Werte von 41,44 sowie 7,90 übersteigen diesen Wert weit und sind somit beide auf der 1% - Stufe statistisch signifikant. Aufgrund dieser Tatsache ist innerhalb unseres Patientengutes sowohl für den CAST auf Bienengift als auch für den CAST auf Wespengift im Vergleich zur Hauttestung die Nullhypothese „**Goldstandard Hauttest und CAST sind von identischer diagnostischer Güte**“ zu verwerfen und die Alternativhypothese „**Goldstandard Hauttest und CAST sind nicht von identischer diagnostischer Güte**“ anzunehmen.

#### 4.2.3. Vergleich des CAST mit der Anamneseklassifizierung nach Mueller

Interessanterweise variiert die mittlere Sulfidoleukotrien-Ausschüttung bei der Testung auf Bienengift in Bezug auf die anamnestic getroffene Einteilung nur innerhalb sehr enger Grenzen (Mittelwerte der Sulfidoleukotrien-Ausschüttung zwischen 1204 und 1656 pg/ml innerhalb aller Mueller-Klassen bezogen auf die Bienengifttestung). Auch bei der Untersuchung der mittleren Sulfidoleukotrien-Ausschüttung nach Stimulierung mit Wespengift finden sich keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der

Ausschüttung im Vergleich mit der anamnestischen Einteilung (Mittelwerte zwischen 3264 und 4610 pg/ml), wie leicht in den Abbildungen 18 und 19 (S. 48 ff.) zu ersehen ist.

Durch diese Teiluntersuchung kann die Annahme, durch die Höhe der Sulfidoleukotrien-Ausschüttung auf die tatsächliche Reagibilität des untersuchten Individuums schließen zu können, nicht aufrecht erhalten werden. Vielmehr scheint sich die Verteilung der Sulfidoleukotrien-Ausschüttung um relativ konstante Mittelwerte herum zu bewegen (vgl. Tab.8 + 9, S. 49 f.).

#### 4.2.4. Vergleich des CAST mit den Ergebnissen der CAP System™ RAST® FEIA-Testung

Auch in diesem direkten Vergleich der Höhe der Sulfidoleukotrien-Ausschüttung im CAST mit den Ergebnissen der im CAP System™ RAST® FEIA-Testung (die ebenfalls eine quantitative Methode darstellt) erhobenen CAP-RAST-Klasse lässt sich kein deutlicher Bezug erkennen. Zwar zeigte der CAST auf Bienengift in den CAP-Klassen 0 bis 3 stetig steigende Sulfidoleukotrienwerte (Mittelwerte von 741 bis 3010 pg/ml), allerdings sank die Ausschüttung der Sulfidoleukotriene in den CAP-Klassen 4 und 5 wieder unter die Werte der CAP-Klasse 3, so dass auch hier die Korrelation zwischen den beiden Testarten nicht konstant und damit nicht aussagekräftig ist. Deutlicher zeigt sich dieses Phänomen im Vergleich der Wespengifttestung in CAP und CAST: Wie im Boxplot (Abb. 21, S. 52) deutlich ersichtlich besteht in dieser Untersuchungsgruppe (mit dem deutlich höheren Anteil an „direkten“ Allergikern im Gegensatz zur Bienengifttestung CAP/CAST) keinerlei Konstanz zwischen den CAP-Klassen und der absoluten Sulfidoleukotrien-Ausschüttung im CAST.

#### 4.2.5. Aussagekraft des CAST bei pseudoallergischen Patienten

Bisherige Untersuchungen des CAST bezüglich seiner Aussagekraft hinsichtlich einer Pseudoallergie befassen sich in der Mehrzahl mit Nahrungsmitteladditiva und Nichtsteroidalen Antirheumata (NSAR oder NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drugs)) wie z.B. Acetylsalicylsäure ASS, insbesondere bei Patienten mit chronisch-

rezidivierender Urtikaria. Die Diagnostik beruhte bisher auf aufwendigen und z.T. für den Patienten gefährlichen Provokationstestungen. Die pathophysiologischen Mechanismen der pseudoallergischen Reaktion (PSAR), die klinisch häufig IgE-vermittelte Soforttypreaktionen imitieren, sind bis heute weitgehend unverstanden (Busse et. al., 1999). Intoleranzreaktionen gegenüber NSAID sind aufgrund ihrer hemmenden Wirkung auf die Cyclooxygenase besonders häufig, da sie zu einem Ungleichgewicht des antiinflammatorischen Prostaglandins PG E<sub>2</sub> im Vergleich zu den proinflammatorischen Leukotrienen, insbesondere LT-C<sub>4</sub>, -D<sub>4</sub> und -E<sub>4</sub> führt.

In den vorliegenden Studien zur PSAR auf NSAID wurden die Leukozyten des weiteren mit C5a, einem partiellen Basophilen-Agonisten vorinkubiert, um eine gesteigerte SLT-Ausschüttung zu erhalten (erhöhte Sensitivität); eine Inkubation der Leukozyten mit den NSAID alleine erbrachte keine gesteigerte Aussagekraft des CAST (Czech et al., 1995).

Zur Etablierung von In-vitro-Tests zur Analyse von pseudoallergischen Reaktionen ist eine genaue Charakterisierung der Patienten anhand von oralen, placebokontrollierten Provokationstestungen erforderlich.

Durch den retrospektiven Charakter dieser Arbeit ist daher eine Aussage zur diagnostischen Güte des CAST bei PSAR nicht möglich, des weiteren sind durch das seltene Auftreten von Pseudoallergien der Aussagekraft dieser vergleichenden Untersuchung naturgemäß Grenzen gesetzt. Dennoch lässt sich an den drei dargestellten Fällen eine mögliche Potenz des CAST ablesen, in schwierigen diagnostischen Situationen die Richtung vorzugeben.

So waren bei allen untersuchten Individuen deutliche Symptome einer allergischen Reaktion (Mueller 2 und 3) zu finden, jedoch erbrachten die Standard-Diagnostetests keine befriedigende Aussage über die tatsächliche Allergiebereitschaft der Patienten. Erst im CAST konnte bei allen dreien eine Aussage über die Reagibilität des Immunsystems getroffen werden, das in allen Fällen zumindest zu einer Versorgung des Patienten mit einem Notfallset geführt hat, in einem Fall sogar zur dringenden Indikation einer spezifischen Hyposensibilisierungstherapie.

Wie die weiteren Untersuchungen unserer Studie gezeigt haben, ist der CAST bei hoher Spezifität (Biene 79,31 %, Wespe 93 %) gut in der Lage, wirklich erkrankte Patienten aus einem Kollektiv herauszufinden; eine Tatsache, die bei der schwierigen Diagnostik von Pseudoallergien hilfreich sein dürfte.

So ist der CAST unserer Meinung nach wohl in der Lage, dem Diagnostiker und dem Patienten in Grenzfallentscheidungen eine gute Zusatzinformation zu geben, die sich mit anderen Testverfahren nicht erzielen ließ. Eine negativer CAST-Befund schließt jedoch eine Pseudoallergie nicht aus. Ob mit Hilfe des CAST in Bezug auf Hymenopteregiftallergien in Zukunft eventuell auf die für den Patienten zum Teil nicht ungefährlichen Stichexpositionstests verzichtet werden kann, muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

## 5. Schlussfolgerungen

Hauptziel der Arbeit war die Beurteilung des CAST bezüglich seiner diagnostischen Wertigkeit und Güte im Vergleich zum „Goldstandard“ Hauttest. Mit insgesamt 198 in die Studie eingefassten Patienten ist dies die derzeit umfangreichste retrospektive Untersuchung zu vorliegendem Thema. Unsere diesbezüglichen Ergebnisse für die

Testung auf Bienengift:      Sensitivität 79,31 % / Spezifität 48,57 %

und für die

Testung auf Wespengift:      Sensitivität 93,08 % / Spezifität 23,07 %

spiegeln die für einen diagnostischen Test insgesamt nur durchschnittlichen Werte wider. Zwar ist der Test durchaus in der Lage, wirklich erkrankte Personen aus einer Population zu markieren, seine Fähigkeit, tatsächlich gesunde Individuen von erkrankten zu unterscheiden ist jedoch zu gering ausgeprägt. Nach Signifikanzanalyse ( $\alpha=0.01$ ) für beide Testgruppen (Bienen- / Wespengift) musste daher die Alternativhypothese *„Goldstandard Hauttest und CAST sind nicht von identischer diagnostischer Güte“* angenommen werden.

Allerdings ist der CAST wegen seiner hohen Sensitivität in Fällen positiver Anamnese, jedoch grenzwertiger Ergebnisse aus den herkömmlichen Testverfahren durchaus in der Lage, weiterführende Aussagen zur allergischen Disposition eines Patienten zu treffen.

Im Vergleich der absoluten Sulfidoleukotrienausschüttung mit der Anamneseklassifizierung nach Mueller konnte die Annahme, mit dem CAST eine Methode zu etablieren, die auf die tatsächliche Reagibilität des betreffenden Patienten schließen lässt, nicht aufrecht erhalten werden. Eine schwere systemisch-allergische Reaktion des Patienten geht also nicht zwingend mit einer erhöhten Sulfidoleukotrienausschüttung einher.

Ähnliche Ergebnisse erzielten wir im Vergleich der CAP System™ RAST® FEIA-Testung zum CAST: Die Korrelation der Ergebnisse aus beiden Verfahren war nicht konstant und damit nicht aussagekräftig. Die Korrelation des CAP-Systems mit der Hauttestung ist dem CAST deutlich überlegen und wird daher auch in Zukunft in der Routinediagnostik seinen etablierten Platz behalten.

Bei den pseudoallergischen Reaktionen war der CAST in der Lage, bei insgesamt negativen konventionellen Verfahren als einzige Testmethode zu einem positiven

Ergebnis zu führen. Durch das zu kleine Kollektiv ist die hier vorgestellte Arbeit jedoch nicht in der Lage, eine allgemein gültige Aussage über die Qualität des CASTs in der Diagnostik von pseudoallergischen Reaktionen zu treffen.

Vor dem Hintergrund unserer Ergebnisse schließen wir uns insgesamt den Meinungen der Untersucher vorangehender Studien an, können allerdings die Euphorie der ersten Jahre des Testverfahrens nicht mehr teilen. Ebenso wie Höxtermann, Cahen und De Weck (Höxtermann et al., 1995a; Cahen et al., 1997; De Weck et al., 1997) sehen wir den CAST als hilfreiches diagnostisches Verfahren in der Allergiediagnostik auf Hymenopteregifte, wenn die Ergebnisse der herkömmlichen Verfahren (Hauttestung, CAP-RAST, Immunoblot etc.) im Gegensatz zu einer positiven Anamnese negativ ausfallen. Jedoch finden sich in unseren Daten keinerlei Hinweise darauf, dass der CAST in der Lage ist, eine quantitative Aussage über die Stärke der allergischen Reaktion zu treffen. Aufgrund seiner hohen Kosten und des hohen Aufwandes des Verfahrens bleibt der CAST in Bezug auf Hymenopteregiftallergien nur bestimmten Fragestellungen überlassen, die jedoch in der Routinediagnostik des niedergelassenen Allergologen kaum eine Rolle spielen dürften.

Mit dem CAST-2000 ELISA ist seit einiger Zeit bereits der Nachfolger des von uns untersuchten Testverfahrens kommerziell erhältlich. Aufgrund der modifizierten Verfahrensweise und der veränderten Cut-off-Werte sind die Ergebnisse unserer Untersuchungen nicht auf den neuen Test zu übertragen; Aussagen zur diagnostischen Güte des CAST-2000 ELISA müssen daher Gegenstand weiterer Untersuchungen bleiben.

Durch die Etablierung der Bestimmung der basalen Serumtryptase mittels des UniCAP-Tryptase flourimmunoassay und der Erkenntnis, dass allergische Reaktionen auf Hymenopteregifte häufig mit einer okkulten kutanen Mastozytose einhergehen (Ludolph-Hauser, 2001a und 2001b), ist dem Diagnostiker ein weiteres Werkzeug in die Hand gegeben worden, das die Diagnosesicherheit bei Vorliegen einer Allergie auf Bienen- oder Wespengift weiter erhöhen wird.

## 6. Zusammenfassung

Allergien und Intoleranzreaktionen auf Stiche von Bienen oder Wespen (Hymenopteren = Hautflügler) sind ein relativ häufiges Geschehen in den gemäßigten Klimaten Mitteleuropas. Die Symptomatik einer allergischen Reaktion kann von einer lokalen Schwellung über die klassischen Zeichen einer Allergie wie Urticaria, Pruritus, Rhinitis sowie Blutdruckabfall, Nausea und Vomitus, Larynxödem etc. bis hin zum anaphylaktischen Schock mit generellem Kreislaufversagen und in seltenen Fällen auch letalem Ausgang reichen. Aufgrund der hohen Gefährdung der Patienten im Falle einer Re-exposition (Wiederholungsstich) eine schwere generalisierte Reaktion hervorzurufen, ergibt sich die Notwendigkeit der Abklärung auf eine vorliegende Sensibilisierung gegenüber Hymenopterengiften und gegebenenfalls die Indikationsstellung für eine Hyposensibilisierungstherapie.

Bisher standen dem Allergologen verschiedene Methoden der Allergiediagnostik wie Anamnese, die Hauttestung und einige wenige In-vitro-Teste zur Verfügung. Mit dem CAST (zellulärer Antigen-Stimulations-Test) ist seit 1992 ein neues in-vitro-Verfahren auf dem Markt, von dem sich die Diagnostiker weiterführende Informationen über die vorliegende Allergie bzw. die zu erwartende Schwere einer Reaktion nach Re-exposition des Individuums erhoffen. Im CAST-ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay) werden aus einer Patientenprobe isolierte Leukozyten unter gleichzeitiger Anwesenheit von Interleukin-3 mit dem entsprechenden Allergen bzw. Antigen (in unserem Falle Bienen- bzw. Wespengift) stimuliert. Vorwiegend basophile Zellen produzieren als Folge der Stimulation de novo allergische Entzündungsmediatoren, die Sulfidoleukotriene (sLT). Die Synthese dieser Mediatoren kann sowohl IgE-vermittelt als auch bei pseudoallergischen Patienten nicht IgE-vermittelt sein. Die freigesetzten Sulfidoleukotriene werden von den isolierten basophilen Leukozyten in die Zellüberstände abgegeben. Ihre Konzentration kann anschließend mittels Enzymimmunoassay (ELISA) bestimmt werden.

Ziel dieser retrospektiven Betrachtung der Befunde von insgesamt 198 Patienten der Universitäts-Hautklinik der Friedrich-Schiller-Universität Jena im Zeitraum vom Mai 1993 bis Februar 2001 war die Ermittlung der Validitätskriterien des CAST bei Hymenopterengiftallergien an einer großen Fallzahl sowie eine Aussage über den Stellenwert des CASTs in der allergologischen Diagnostik zu treffen.

Nach Verifizierung der Ausschlusskriterien wurden insgesamt 198 Patienten (82 Männer, 116 Frauen von 8-76 Jahren) in die Studie eingeschlossen. Alle Patienten wurden in die Anamnese-Klassifizierung nach Mueller (Mueller, 1966; Modifikation durch Müller, 1988)



eingeteilt, wurden einer Hauttestung (Prick/Intrakutantestung) sowie den in-vitro-Untersuchungen CAP-RAST-FEIA sowie CAST unterzogen.

Die Hauttestung ist nach wie vor der „Goldstandard“ der Allergiediagnose; mit dieser wurden alle Befunde des CAST verglichen, um zu einer Aussage zu gelangen. Gemessen an der Hauttestung kamen wir zu diesen Ergebnissen für die diagnostische Güte des CAST in der Testung auf Hymenopteregifte:

Testung auf Bienengift:      Sensitivität 79,31 % / Spezifität 48,57 %

Testung auf Wespengift:      Sensitivität 93,08 % / Spezifität 23,07 %

Sowohl in der Testung auf Bienengift wie auch bei den Testungen auf Wespengift ergaben sich viele „falsch“ positive Ergebnisse, so dass die Spezifität des CAST gegenüber seiner Sensitivität stark zurückbleibt. Der CAST kann also in diagnostisch schwierigen Situationen, insbesondere wenn die herkömmlichen Testverfahren zu negativen oder grenzwertig negativen Ergebnissen geführt haben, bei der Entscheidungsfindung hilfreich sein.

Des Weiteren fand sich keine direkte Korrelation zwischen der gebotenen Reaktion (Anamnese-einteilung nach Mueller) und der absoluten Sulfidoleukotrien-Ausschüttung im CAST nach Inkubation mit den Hymenopteregiften. Die bisherige Hoffnung, der CAST könnte durch die absolute Höhe der Sulfidoleukotrien-Ausschüttung die Reagibilität des patienteneigenen Immunsystems widerspiegeln und damit eine Prognose für zukünftige Stichereignisse stellen zu können, ließ sich durch unsere Daten daher nicht bestätigen.

Auch im Vergleich der CAST-Befunde mit den Ergebnissen der CAP-RAST-FEIA-Testung ließ sich keine Übereinstimmung der Ergebnisse erzielen, so dass man insgesamt davon ausgehen kann, dass die absoluten Werte der sLT-Ausschüttung patientenspezifisch und damit nicht von diagnostischer Aussagekraft sein können.

Eine eindeutige Antwort, ob der CAST bei Patienten mit Pseudoallergien als diagnostische Methode eventuell die aufwendigen und für den Patienten gefährlichen Provokationstestungen ersetzen könne, kann aufgrund des retrospektiven Charakters dieser Arbeit nicht gegeben werden.

Insgesamt kommen wir ähnlich wie vorbeschreibende Autoren zu dem Schluss, dass der CAST in schwierigen diagnostischen Situationen hilfreich und richtungsweisend sein kann; aufgrund des zu betreibenden großen Aufwandes und seiner Kosten bleibt der CAST in Bezug auf Hymenopteregiftallergien nur bestimmten und schwierigen Fragestellungen vorbehalten, so dass er sich letztlich in der täglichen Routinediagnostik in allergologisch tätigen Praxen oder kleineren Kliniken kaum durchsetzen wird.

## 7. Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Annala IT, Karjalainen ES, Morsky P and Kuusisto PA (1995) Clinical symptoms and immunologic reactivity to bee and wasp stings in beekeepers. *Allergy* 50 (7) : 568-574.
2. Barnard JH (1967) Allergic and pathologic findings in fifty insect-sting fatalities. *J Allergy* 40 (2) : 107-114.
3. Barnard JH (1973) Studies of 400 hymenoptera sting deaths in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 52 (5) : 259-264.
4. Baumgartner A, Wokalek H und Schöpf E (1989) Bienen- und Wespengiftallergie. *Fortschr Med* 107 (21) : 460-463.
5. Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SG, Rowe DS, Stanworth DR and Terry WD (1968) Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology* 15 (3): 323–324.
6. Benson RL, Semenov H (1930) Allergy in its relation to bee sting. *J Allergy* 1 : 105 – 116.
7. Blaauw PJ, Smithuis LO (1985) The evaluation of the common diagnostic methods of hypersensitivity for bee and yellow jacket venom by means of an in-hospital insect sting. *J Allergy Clin Immunol* 75 (5) : 556-562.
8. Bortz J, Lienert GA (1998) *Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg : 223 ff.
9. Braun-Fahrlander C, Wüthrich B, Sennhauser FH, Vuille C and SCARPOL Team (1997) Significant variations of skin prick test results between five fieldworkers in a multicentre study. In: Ring J, Behrendt H und Vieluf J: *Trends in Allergy IV*, Springer, Berlin : 13-15.
10. Busse A, Czech W, Schöpf E und Simon JC (1999): Der CAST-ELISA in der Diagnostik von pseudoallergischen Reaktionen gegen Nahrungsmitteladditiva und Azetylsalizylsäure. *Allergologie Jg. 22* : 393-398.
11. Cahen YD, Maly FE und Wüthrich B (1997) Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) – Verwendbarkeit in der Diagnostik von Insektengiftallergikern. *Schweiz Med Wochenschr* 127 : 5-11.

12. Case RL, Altman LC and Van Arsdell PP Jr. (1981) Roll of cell-mediated immunity in hymenoptera allergy. *J Allergy Clin Immunol* 68 (5) : 399-405.
13. Coombs RRA, Gell PGH (1963) The classification of allergic reactions underlying disease. *Clinical aspects of immunology*, eds. Gell, Coombs, Davies, Philadelphia
14. Coombs RRA, Gell PGH (1968) Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease.  
*Clinical aspects of Immunology*. Blackwell, Oxford: 587.
15. Czech W, Schöpf E and Kapp A (1995) Release of sulfidoleucotrienes in vitro: Its relevance in the diagnosis of pseudoallergy to acetylic acid. *Inflamm Res* 44: 291-295.
16. De Weck AL (1997) Zellulärer Allergen-Stimulations-Test (CAST): Eine Übersicht und kritische Auswertung der klinischen Anwendung in der Allergiediagnose. *Allergologie* Jg. 20 (10) : 487-502.
17. De Weck AL, Furukawa K, Urwyler A, Stadler BM, Dahinden CA and Maly FE (1992) Sulfidoleuktotriene-ELISA-Assay: A new cellular approach to the diagnostic of allergies. *Allergy* 47 (Suppl.) : 150.
18. De Weck AL, Stadler BM, Urwyler A, Wehner HU and Bühlmann RP (1993) Cellular antigen stimulation test: A new dimension in allergy diagnostics. *Allergy Clin Immunol News* 5 (1) : 9-14.
19. Detjen P, Greenberger PA (1993) Stinging insect allergy and venom immunotherapy. *Allergy Proc* 14 (2) : 112-113.
20. Dudler T, Schneider T, Annand RR, Gelb MH and Suter M (1994) Antigenic surface of the bee venom allergen phospholipase A2. Structural functional analysis of human IgG4 antibodies reveals potential role in protection. *J Immunol* 152 (11) : 5514 – 5522.
21. Einarsson R, Annerhed A, Karlsson R, Olsson B and Renck B (1982) Crossed immunoelectrophoresis analysis of bee venom. Enzymatic identification of antigens. *Allergy* 37 (4) : 273 – 278.
22. Einarsson R, Karlsson R, Olsson B, Uhlin T and Öhmann S (1985) Crossed immunoelectrophoresis and crossed radioimmunoelectrophoresis analysis of „yellow jacket- common wasp“ (*Vespula* spp). *Allergy* 40 (4) : 257 – 263.

23. Fischer P, Külzer R (1993) Zur Prävalenz der Insektengift-Allergie in Deutschland. *Allergo J* 2 (Suppl. 2): 53-56.
24. Forster J, Eckes A, Hauk P und Urbanek R (1991) Spezielle Probleme der Insektengiftallergie im Kindesalter. *Allerg Immunol Leipz* 37 (1) : 59-62.
25. Gemsa D (Hrsg.): *Immunologie: Grundlagen – Klinik – Praxis*. 3. Aufl. Thieme Verlag. Stuttgart, New York [Resch K: Kap. 8 Entzündung]: 139.
26. Golden DB (1989) Epidemiology of allergy to insect venoms and stings. *Allergy Proc* 10 (2) : 103 – 107.
27. Golden DB, Valentine MD, Kagey-Sobotka A and Lichtenstein LM (1982) Prevalence of Hymenoptera venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 69: 124.
28. Hamilton RG (2002) Diagnosis of Hymenoptera venom sensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2 (4): 347-351.
29. Hauk P (1995) Insektengiftallergie. *Kinderkrankenschwester* 14 (3) : 142.
30. Heinig JH, Mosbech H, Engel T, Frohland L and Svendsen UG (1989) Comparison of two RAST methods and skin prick testing in the diagnosis of wasp venom allergy. *Allergy* 44 (4) : 260-263.
31. Hellmund R, Hirsch T und Leupold W (1996) Verlauf bei Insektengiftallergie mit und ohne Hyposensibilisierung. Eine retrospektive Studie von 1974 bis 1993. *Allergologie* 19: 1-6.
32. Herbert FA, Salkie ML (1982) Sensitivity to Hymenoptera in adult males. *Ann Allergy* 48 (1) : 12-13.
33. Hilden J, Glasziou P (1996) Regret graphs, diagnostic uncertainty and Youden's index. *Statistics in Medicine* 15 (10) : 969-986.
34. Hipler UC (1995) Der zelluläre Antigenstimulationstest. *Z Dermatol* 181: 17-26.
35. Hipler UC, Schlenvoigt G, Bauer A, Gebhardt M und Elsner P (1999) Der Zellantigenstimulationstest (CAST) in der Diagnostik von Allergien und Intoleranzreaktionen auf Hymenopterengifte. *Allergologie* Jg.22 (8) : 481-486.

36. Höxtermann S, Auer TH und Altmeyer P (1995) Zellulärer Antigen-Stimulationstest und Basophiler Degranulationstest in der in-vitro-Diagnostik der Wespengiftallergie. *Z Dermatol* 181: 211.
37. Höxtermann S, Auer TH und Altmeyer P (1995a) Zelluläre In-vitro-Diagnostik mittels CAST-ELISA. Leukotriennachweis bei Wespengiftallergie. *Allergologie* 18 (7) : 287-291.
38. Institut für Biometrie der Med. Hochschule Hannover, Statistik-Glossar :  
<http://www.mh-hannover.de/institute/biometrie/JUMBO/bio/glossar.html>
39. Kiehn M, Ring J (1993) Hyposensibilisierung mit Insektengiftextrakten bei Patienten mit Hymenoptergiftallergie im höheren Lebensalter. *Allergo J* 2: 90-94 (Sonderdruck).
40. Klein J: Immunologie. Kap. 21 Allergien und andere antikörpervermittelte Hypersensibilitäten. Verlag VCH (1991): 453 ff.
41. Kramer MD, Dalkowski K: Immunologie und Immunpathologie. Kap. 3.3.2. Antigenpräsentierende Zellen. Enke-Verlag Stuttgart (1997) : 24 ff.
42. Krause B, Metzler P: Angewandte Statistik. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin (1983)
43. Lockey RF, Turkeltaub PC, Baird-Warren IA, Olive CA, Olive ES, Peppe BC and Bukantz SC (1988) The hymenoptera venom study I, 1979-1982 : Demographics and history sting data. *J Allergy Clin Immunol* 82 (3 Pt 1): 370-381.
44. Ludolph-Hauser D, Rueff F, Fries C, Schöpf P und Przybilla B (2001b) Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 357: 361-362.
45. Ludolph-Hauser D, Schöpf P, Rueff F und Przybilla B (2001a) Okkulte kutane Mastozytose. *Hautarzt* 52: 390-393.
46. Malling HJ, Djurup R, Sondergaard I and Weeke B (1985) Clustered immunotherapy with yellow jacket venom. *Allergy* 40: 373-383.
47. Maly FE, Marti-Wyss S, Blumer S, Cuhat-Stark I and Wüthrich B (1997) Mononuclear blood cell sulfidoleukotriene generation in the presence of interleukin-3 and whole blood

- histamine release in honey bee and yellow jacket venom allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 7 (4) : 217-24.
48. Maly FE, Marti-Wyss S, Blumer S, Cuhat-Stark I and Wüthrich B (1996) Interleukin-3-facilitated blood mononuclear cell sulfidoleucotriene generation and whole blood histamine release in honey bee and yellow jacket venom allergy. *Allergy Clin Immunol Intern* 8: 111-125.
49. Mosbech H (1997) Hymenoptera Immunotherapy. *Allergy* 52 (1) : 1-3.
50. Mosbech H, Malling HJ, Biering I, Böwadt H, Soborg M, Weeke B and Lowenstein H (1986) Immunotherapy with yellow jacket venom. *Allergy* 41 (2) : 95-103.
51. Mueller HL (1966) Diagnosis and Treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res* 3 : 331-333.
52. Müller U, Helbling A and Bischof M (1989) Predictive Value of venom-specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. *Allergy* 44: 412 – 418.
53. Müller UR (1988) Insektenstichallergie: Klinik, Diagnostik und Therapie. Fischer-Verlag Stuttgart, New York (Kapitelangaben im Text)
54. Nataf P, Guinépain MT and Herman D (1984) Rush venom immunotherapy: a 3-day program for Hymenoptera sting allergy. *Clin Allergy* 14 (3) : 269-275.
55. Pruzansky JJ, Zeiss CR and Patterson R (1980) A linear correlation between histamine release and degranulation of human basophils by specific antigen or the ionophore A 23187. *Immunology* 40 (3) : 411-416.
56. Przybilla B (1993) Bienen- und Wespengiftallergie. *Hautarzt* 44: 611-623.
57. Przybilla B (1995) Bienen- und Wespengiftallergie. Springer-Verlag HNO 43: 451-462.
58. Przybilla B, Ring J (1985) Diagnostik und Therapie der Allergie vom Soforttyp gegenüber Bienen- und Wespengift. *Allergologie* 8 (1.Sonderheft): 31-36.
59. Reismann RE (2001) Insect sting allergy: The dilemma of the negative skin test reactor. *J Allergy Clin Immunol* 107 : 781/782.

60. Rueff F, Przybilla B, Fuchs T, Gall H, Rakowski J, Stolz W und Vieluf D (2000) Diagnose und Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie. Positionspapier der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAI). *Allergo J* 8: 458 – 472.
61. Schäfer T, Vieluf D, Berger J und Ring J (1997) Epidemiologie von Insektengiftallergien. *Allergo J* 6 (Suppl.1): 4 – 6.
62. Siridopoulos J, Papastavrou T, Charissoulis S, Chamalidou C, Lioliou M and Panteliadis C (1995) The cellular antigen stimulation test (CAST). New perspectives in allergy diagnosis. *Allergy* 50 (Suppl. 26): 245.
63. Stieger M, Wüthrich B, Wyss S and Kopper E (1978) Clinical picture and diagnosis of bee-venom allergy. A comparison between skin tests and RAST determinations. *Hautarzt* 29 (12) : 632-637.
64. Strupler, Wüthrich B, Schindler C und Sapaldia-Team (1997) Prävalenz der Hymenoptereingiftallergien in der Schweiz: eine epidemiologische und serologische Studie der Sapaldia-Stichprobe. *Allergo J* 6 (Suppl. 1): 7 – 11.
65. Stuckey M, Cobain T, Sears M, Cheney J and Dawkins RL (1982): Bee venom hypersensitivity in Busselton. *Lancet* 2 (8288) : 41.
66. Voigtländer V und Jung EG (1995) Allergische Krankheiten. Aus: *Dermatologie* 3. Auflage, Hippokrates-Verlg. Stuttgart: 49 ff.
67. Wood RA, Phipatanakul W, Hamilton RG and Eggleston PA (1999) A comparison of skin prick tests, intradermal skin tests, and RASTs in the diagnosis of cat allergy. *J Allergy Clin Immunol* 103 (5 Pt 1) : 773-779.
68. Wüthrich B, Dietschi R, Berlinger F, Marty-Wyss S und Cuhat J (1987) Der Basophilen-Degranulationstest in der Diagnostik der Hymenoptereingift-Allergie. *Schweiz Med Wochenschr* 117 (36) : 1333-1341.
69. Youden WJ (1950) Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 3: 32-35.
70. Yunginger JW, Paull BR, Jones RT and Santrach PJ (1979) Rush venom immunotherapy program for honey bee sting sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 63: 340-347.

71. Zora JA, Swanson MC and Yunginger JW (1984) How common is unrecognized Hymenoptera venom allergy in the general population? J Allergy Clin. Immunol 73: 139.



## **Danksagung**

Für die Vergabe des Themas, die konstruktive Anleitung bei der Dissertation und die gute Betreuung danke ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. habil. P. Elsner, Direktor der Klinik für Hautkrankheiten der FSU Jena und Frau Dr. Ch. Hipler, Laborleiterin oben genannter Klinik, als Mentorin.

Besonderer Dank gilt Frau Knöll als Leitender MTA der Klinik für die Beantwortung vieler Detailfragen, Frau Dr. Hoyer und Herrn PD Dr. Dr. Guenther für die statistische Beratung und Herrn M. Schölzel für die Vermittlung des letztgenannten.

Ohne die Unterstützung, das Vertrauen und die Geduld meiner Mutter, Frau Hildegard Bonney und ohne den Motivationsschub durch meine Freundin Vicki Bizimis wäre diese Arbeit wohl nie zustande gekommen. Ihnen gebührt mein größter Dank.

Christian Bonney

# Lebenslauf

**Name** Christian Bonney

**Geburtsdatum /-ort** 04.04.1974 in Wilhelmshaven / Niedersachsen

**Schulbildung**  
1980 – 1984 Grundschule Hahn-Lehmden  
1984 – 1986 Orientierungsstufe der KGS Rastede  
1986 – 1993 Gymnasium der KGS Rastede  
28.05.1993 Allgemeine Hochschulreife

**Zivildienst**  
01.07.1993 – 30.09.1994  
Rettungsdienst Ammerland, RTW-Besatzung  
11.06.1994  
Staatliche Prüfung zum Rettungssanitäter

**Studium**  
Beginn WS 1994 (Oktober)  
Studium der Humanmedizin an der  
Friedrich-Schiller-Universität Jena  
18.09.1996 Ärztliche Vorprüfung  
28.08.1997 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
09.09.1999 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
14.12.2001 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

**Hochschulabschluss** 14.12.2001 Staatsexamen Humanmedizin FSU Jena

**Berufliche Tätigkeit**  
seit 01.01.2002 Arzt im Praktikum  
Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin  
Vereinigte Sophien-und Hufeland-Kliniken Weimar  
Seit 01.09.2003 Assistenzarzt  
Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin am  
Clemenshospital Münster

**Vollapprobation** 29.07.2003  
Münster, den 08.09.2003

Christian Bonney

# Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,  
ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,  
mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: keine,  
die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,  
dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und  
dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Münster, den 08.09.2003

Christian Bonney