

# Nicht-invasive Methoden zum Nachweis des berufsbedingten allergischen Asthmas

Bedeutung für Forschung und Praxis



Monika Raulf-Heimsoth, Vera van Kampen, Rolf Merget

Die Lunge stellt die Eintrittspforte für viele Umwelt- und berufsbedingte Schadstoffe dar, die Entzündungsprozesse hervorrufen können. Nicht-invasive Methoden wie die Gewinnung und Analyse von induziertem Sputum oder Atemkondensat können helfen, entzündliche Veränderungen möglichst frühzeitig zu erkennen. Ziel des am IPA durchgeführten Projektes war es, die Eignung unterschiedlicher nicht-invasiver Methoden zur Unterstützung der Diagnose eines allergischen Asthmas zu untersuchen.

Mittlerweile konnten mehr als 250 Arbeitsstoffe beschrieben werden, die allergisierend wirken und berufsbedingte allergische Atemwegserkrankungen auslösen können. In der Berufskrankheiten-Verordnung wird das Berufsasthma unter der Ziffer 4301 (BK 4301) eingeordnet. Es zählt nach den Berufskrankheiten „Haut“ (BK 5101), „Lärm“ (BK 2301), „Lendenwirbelsäule“ (BKEN 2108, 2110), „Asbestose“ (BK 4103), „Lungen- und Kehlkopfkrebs, Asbest“ (BK 4104) bei den Verdachtsanzeigen zu den am häufigsten gemeldeten Berufskrankheiten. Beim Berufsasthma nicht anders als beim *Asthma bronchiale* verursacht durch ubiquitäre Allergene und auch bei der chronisch-obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) werden sehr häufig Zellen und Mediatoren im induzierten Sputum (IS) analysiert. Diese Methode hat sich als sicher, repro-

duzierbar und valide für die Untersuchung von Entzündungen der Atemwege erwiesen (Quirce et al. 2010). Neben der Bestimmung der zellulären Zusammensetzung können noch eine ganze Reihe von Mediatoren im zellfreien Überstand des IS durch den Einsatz von Immunoassays analysiert werden. Die Mediatorenkonzentrationen und die zelluläre Zusammensetzung spiegeln dabei verschiedene Aspekte der Atemwegsentzündungen inklusive der strukturellen Umbauprozesse in Form von Eosinophilenaktivierung und/oder der mikrovaskulären Permeabilität wider.

Im Fall des berufsbedingten allergischen Asthmas, hervorgerufen durch hochmolekulare Substanzen mit sensibilisierendem Potenzial, entwickelt der Großteil der betroffenen Personen eine eosino-

nophile Entzündung nach Exposition mit dem relevanten Stoff. Daher heißt es im Task Force Konsensus-Papier der European Academy of Allergy and Clinical Immunology (► IPA-Journal 02/2010) zur Bedeutung von nicht-invasiven Methoden, dass ein Anstieg der Eosinophilen im Sputum von mehr als 3 Prozent nach arbeitsplatzbezogener Exposition ein geeigneter Parameter im Diagnosealgorithmus des Berufsasthmas darstellt. Darüber hinaus kann ein Eosinophilenanstieg von mehr als 3 Prozent ein Indikator für funktionelle Veränderungen nach weiterer Exposition sein (Quirce et al. 2010).

Beim Atemkondensat (engl. Exhaled Breath Condensate, kurz EBC) handelt es sich um die flüssige Phase der Ausatemluft, die durch Kühlung der ausgeatmeten Luft gewonnen werden kann. EBC enthält keine zellulären Komponenten dafür aber Stoffwechselprodukte und Mediatoren, die von den Zellen freigesetzt werden oder Substanzen, die von Entzündungsreaktionen der Atemwegsschleimhaut herrühren (Hoffmeyer et al. 2009). Das EAACI Konsensus-Papier resümiert für die Analyse des EBCs, dass es ein gutes Forschungsinstrument darstellt, in arbeitsplatzbezogenen Untersuchungen aber nur dann sinnvoll einsetzbar ist, wenn die Messungen mehrfach an einer Person zum Beispiel vor und nach einer Exposition erfolgen können, da die interindividuellen Schwankungen sehr groß sind.

Ziel der im IPA durchgeführten Untersuchungen war die Bewertung der zwei dargestellten nicht-invasiven Methoden zur Unterstützung der Diagnosestellung eines allergischen Asthmas (Raulf-Heimsoth et al. 2013).

### Studienkollektiv und Studiendesign

Für die Untersuchungen wurden Daten einer Querschnittsstudie ausgewertet, die von 2005 bis 2007 im IPA durchgeführt wurde (Merget et al. 2010). In der Querschnittsstudie wurde die Hypothese geprüft, ob 10 Jahre nach der Eliminierung von gepuderten Latexhandschuhen aus den Krankenhäusern für ehemals gegen Latex Sensibilisierte keine Gefahr mehr an ihren Arbeitsplätzen besteht. Untersucht wurden in der Studie 91 Beschäftigte aus dem Gesundheitswesen, mit Verdacht auf eine Latex-Allergie. Das durchschnittliche Alter lag bei 43 Jahren. 15 Prozent waren aktuell Raucher. Der Anteil der Frauen betrug 92 Prozent. Bei 67 Prozent der untersuchten Personen lag eine aktuelle Sensibilisierung gegen Latex vor. 66 Prozent waren Atopiker. Um den Einfluss des Rauchens auszuschließen, wurden in die hier vorgestellte Auswertung nur die 77 Nichtraucher einbezogen.

Die Probanden wurden im IPA einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Dazu gehörte ein ausführlicher Fragebogen, Lungenfunktionstest, Hautpricktestungen und Bestimmung des spezifischen IgEs gegen Umweltallergene und Naturlatex.

Die Gewinnung von induziertem Sputum wurde durch die Inhalation einer dreiprozentigen Salzlösung induziert. Sie erfolgte jeweils für fünf Minuten über den Zeitraum einer halben Stunde. Dabei wurde die Konzentration der Salzlösung in einprozentigen-Schritten alle

### Die Vierfeldertafel

Mittels Vierfeldertafel können Spezifität [ $rp/(rp+fn)$ ], Sensitivität [ $rn/(rn+fp)$ ], Testeffizienz [ $(rp+rn)/(rp+fp+rn+fn)$ ], sowie positiver prädiktiver [ $rp/(rp+fp)$ ] und negativer prädiktiver Wert [ $rn/(rn+fn)$ ] bestimmt werden. Richtig Positive (rp) sind in dieser Studie Personen mit asthmatischen Symptomen und Werten für die entsprechenden Parameter über dem Cut-off Wert; richtig Negative (rn) sind Personen ohne asthmatische Beschwerden und Werten für den entsprechenden Parameter unterhalb des jeweiligen Cut-off-Wertes. Falsch Positive (fp) sind Personen mit asthmatischen Symptomen und Testwerten unterhalb des Cut-off und falsch Negative (fn) sind Personen ohne asthmatische Symptome und Testwerten oberhalb des Cut-off. Als optimaler Cut-off Wert wird der Testwert mit dem höchsten Youden-Index gesucht. Dieser berechnet sich aus [Sensitivität+Spezifität -1].

zehn Minuten erhöht. Währenddessen wurde die Lungenfunktion überwacht, die Inhalation endete nach 30 Minuten oder wenn das forcierte expiratorische Volumen um mehr als 20 Prozent gefallen war.

Exhaliertes Atemkondensat (EBC) wurde mit dem kommerziell erhältlichen EcoScreen Gerät nach der von Hoffmeyer et al. (2007) beschriebenen Methode gesammelt.

Im induzierten Sputum und im exhalieren Atemkondensat wurden folgende Entzündungsmarker bestimmt: Leukotrien (LT)<sub>4</sub> und 8-isoPGF<sub>2α</sub>, Interleukine (IL-1β, IL-5, IL-8), NO-Metabolite (NOx) und Gesamtprotein sowie das eosinophile kationische Protein (ECP). Vom EBC wurde darüber hinaus auch der pH-Wert bestimmt.

### Ergebnisse

Von den 77 Nichtrauchern, die in dieser Auswertung berücksichtigt wurden, berichteten 29 über anhaltende asthmatische Symptome. 21 Probanden hatten zusätzlich noch eine Rhinitis. Die 77 Nichtraucher wurden für die weitere Auswertung in zwei Gruppen geteilt: 29 mit fortbestehenden Asthmasymptomen und 48 symptomfreie Probanden.

Im Atemexhalat (EBC) waren die Konzentrationen des LTB<sub>4</sub> und der NO-Metabolite (NOx) signifikant höher in der Gruppe der Asthmatiker. Für die beiden anderen im EBC untersuchten Parameter (pH, 8-isoPGF<sub>2α</sub>) ergaben sich in den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Im induzierten Sputum der Personen mit asthmatischen Symptomen waren die Anzahl und der Prozentsatz der Eosinophilen sowie die Konzentration von IL-5 signifikant höher als bei den Personen ohne Symptome. Für die anderen untersuchten Parameter (ECP, IL-8, IL-6, Anzahl/Prozentsatz von Neutrophilen) ergaben sich zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Um die geeigneten Parameter mit dem optimalen Cut-Off-Wert für die Diagnose des allergischen Asthmas durch den Einsatz nicht invasiver Methoden zu ermitteln, wurden die Sensitivität, die Spezifität, der positive prädiktive Wert, der negative prädiktive Wert, die Testeffizienz und der Youden-Index ermittelt. Als Goldstandard diente die Angabe der asthmatischen Symptome. Der maximale Youden-Index für  $LTB_4$  und NOx im EBC wird ab einer Konzentration  $\geq 17,64$  pg/mL beziehungsweise  $\geq 32,1$   $\mu$ M erreicht, wobei die Testeffizienzen bei 0,69 beziehungsweise 0,67 lagen. Die höchste Testeffizienz im Rahmen dieser Auswertung wurde für die Anzahl an eosinophilen Granulozyten im induzierten Sputum mit 0,72 ermittelt und zwar für einen Youden-Index von  $\geq 3,5 \times 10^4$ . Eine Kombination der Parameter aus dem EBC mit denen aus dem induzierten Sputum erhöhte die Testeffizienz nicht.

### Diskussion

Die Induktion von Sputum mit hypertoner Salzlösung erwies sich bei den im IPA durchgeführten Untersuchungen als sicher und hatte keine negativen Effekte bei den Probanden. Die Anzahl an Eosinophilen und die Konzentration von IL-5 im IS sowie die Konzentration von  $LTB_4$  und NOx im EBC waren bei Personen mit aktuellen asthmatischen Symptomen signifikant erhöht. Diese Parameter wurden deshalb zur Unterscheidung zwischen asthmatischen und nicht-asthmatischen Personen eingesetzt und auf ihre Wertigkeit für eine Vorhersage (prädiktive Bedeutung) untersucht.

IL-5 im Sputum,  $LTB_4$  und NOx-Konzentrationen im EBC sind adäquate Parameter, um die Diagnose des Asthmas zu unterstützen. Als optimaler Parameter in der IPA Studie, um eine Asthmadignose zu unterstützen, erwies sich die Anzahl der Eosinophilen mit dem Cut-off-Wert von  $\geq 3,5 \times 10^4$ .

Für alle Parameter lag die Spezifität bei  $> 0,8$ , was als zufriedenstellend betrachtet werden kann. Die Sensitivität lag dagegen für die untersuchten Parameter nur zwischen 0,22 und 0,59. Somit muss davon ausgegangen werden, dass nicht alle Personen mit asthmatischen Symptomen durch die getesteten Kriterien erfasst werden können. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss der gewählte „Goldstandard“ berücksichtigt werden. Hier wurde die Angabe „aktuelle Asthmasymptome“ aus dem ärztlichen Fragebogen-Interview für die Einteilung gewählt.

Die Ergebnisse dieser Studie haben die in der Literatur benannte Bedeutung der eosinophilen Entzündungsreaktion beim allergischen Asthma, hervorgerufen durch hochmolekulare berufliche Substanzen, bestätigt. Außerdem zeigte die Untersuchung die gute Korrelation zwischen dem Gesamtproteingehalt und den meisten löslichen Entzündungsmarkern im induzierten Sputum. Dies zeigt einmal mehr, dass der Entzündungsprozess durch eine Vielzahl von Mediatoren charakterisiert ist, die von verschiedenen Zellen freigesetzt werden.

Fazit für die Praxis: Bei der Begutachtung von Versicherten unter der Fragestellung eines berufsbedingten allergischen Asthmas können

nicht-invasive Methoden zur Abklärung der Diagnose eingesetzt werden. Insbesondere der Nachweis einer eosinophilen Inflammation ist zielführend und erkrankungsspezifisch. Die prädiktive Bedeutung anderer entzündlicher Parameter für den Krankheitsverlauf bedarf weiterer Abklärung.

Beitrag als PDF



Die Autoren:

Dr. Vera van Kampen, Prof. Dr. Rolf Merget,  
Prof. Dr. Monika Raulf-Heimsoth  
IPA

### Literatur

1. Broding HC, Michalke B, Göen T, Drexler H.: Comparison between exhaled breath condensate analysis as a marker for cobalt and tungsten exposure and biomonitoring in workers of a hard metal alloy processing plant. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009 Apr;82(5):565-73
2. Hoffmeyer F, Harth V, Merget R, Goldscheid N, Heinze E, Degen P, Pesch B, Bünger J, Brüning T, Raulf-Heimsoth M: Exhaled breath condensate analysis: evaluation of a methodological setting for epidemiological field studies. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 289-298
3. Hoffmeyer F, Raulf-Heimsoth M, Brüning T: Exhaled breath condensate and airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 16-22
4. Merget R, van Kampen V, Sucker K, Heinze E, Taeger D, Goldscheid N, Haufs MG, Raulf-Heimsoth M, Kromark K, Nienhaus A, Brüning T: The German experience 10 years after the latex allergy epidemic: Need for further preventive measures in healthcare employees with latex allergy. *Int Arch Occup Environ Health* 2010; 83: 895-903
5. Quirce S, Lemièrre C, de Blay F, del Pozo V, Gerth Van Wijk R, Maestrelli P, Pauli G, Pignatti P, Raulf-Heimsoth M, Sastre J, Storaas T, Moscato G: Noninvasive methods for assessment of airway inflammation in occupational settings. *Allergy* 2010; 65: 445–457
6. Raulf-Heimsoth M, van Kampen V, Heinze E, Bernard S, Borowitzki G, Freundt S, Sucker K, Eliakopoulos C, Nienhaus T, Brüning T, Merget R: Comparison of different non-invasive methods for detection of allergic asthma. *Adv Exp Med Biol* 2013; 755: 55-63