

Neue Referenzwerte für die spezifische IgG-Antikörperbestimmung gegen Antigene der exogen allergischen Alveolitis

Aktuelle Daten einer deutschlandweiten Verbundstudie



Monika Raulf

Die exogen allergische Alveolitis (EAA) ist eine allergisch bedingte Entzündung der Lunge, die durch wiederholtes Einatmen von Antigenen (Allergenen) entsteht. Die EAA wird häufig durch berufliche Expositionen ausgelöst. Farmerlunge, Befeuchterlunge, Maschinenarbeiterlunge, Holzarbeiterlunge sind typische Krankheitsbilder, die als Berufskrankheit „Exogen allergische Alveolitis“ mit der BK-Nr. 4201 anerkannt werden können. Da die quantitative Bestimmung von antigenspezifischen IgG-Antikörpern ein wichtiges Kriterium in der Diagnostik der EAA darstellt und es keinen einheitlichen Cut-off Wert gibt, war es das Ziel einer Multicenterstudie für typische Umwelt- bzw. Berufsantigene, die als Auslöser einer EAA beschrieben wurden, spezifische IgG-Referenzwerte zu etablieren und bereits vorhandene Werte in einer geeigneten Gruppe gesunder Probanden zu validieren.

Die exogen allergische Alveolitis (EAA) ist eine allergisch bedingte Entzündung des Lungengewebes, die durch das wiederholte Einatmen von organischen Partikeln entsteht. Sie ist eine kombinierte verzögerte und späte Immunreaktion auf exogene Antigene (Allergene), die eingeatmet werden oder über die Blutbahn (z.B. Medikamente) ins Alveolargewebe gelangen. Diese Antigene sind zum Beispiel Bakterien, (Schimmel-)Pilze, Vogelfedern, Holzstaub aber auch Isocyanate, Säureanhydride und Metalle. 1960 gelang zum ersten Mal der Nachweis präzipitierender Antikörper (s. Infokasten) im Serum von Patienten mit „Farmerlunge gegen Antigene in schimmeligem Heu“. Zur Beschreibung der nach Exposition gegenüber verschiedenen organischen Antigenen auftretenden Beschwerden wurde der Begriff „extrinsic allergic alveolitis“ (deutsch: exogen allergische Alveolitis) (EAA) eingeführt. Da die Erkrankung nicht

nur auf die Alveolen beschränkt ist, sondern sich auch auf die Bronchiolen erstreckt (d.h. Alveolobronchiolitis), ist der Terminus „hypersensitivity pneumonitis“ – im Deutschen: Hypersensitivitätspneumonitis – besser geeignet und wird im englischen Sprachraum derzeit auch häufiger verwendet. Um mögliche Ursachen einer berufsbedingten EAA entdecken zu können, muss stets auf neue, möglicherweise ursächliche Substanzen geachtet werden.

Diagnostik der EAA – Herausforderung in der Praxis

Die EAA ist eine komplexe dynamische klinische Störung, die in ihrer Erstsymptomatik und im klinischen Verlauf sehr unterschiedlich ist. Traditionell wurde die EAA je nach Exposition und anderen klinischen Merkmalen als akut, subakut oder chronisch klassifiziert. Heutzutage geht man jedoch davon

Kurz gefasst

aus, dass sich diese drei klinischen Syndrome weitgehend überlappen. Die Diagnose der EAA stellt meist eine Herausforderung dar, da es keinen Goldstandard-Test gibt und die Diagnose anhand einer Kombination von unterschiedlichen Verfahren gestellt werden muss.

Die Bestimmung der antigenspezifischen IgG-Antikörper ist ein wichtiger Schritt in der Diagnostik der EAA, da hierdurch die Identifizierung der ursächlichen Substanz, zum Beispiel vom Arbeitsplatz, ermöglicht wird. Ein erhöhter Titer antigenspezifischer IgG-Antikörper in Verbindung mit den entsprechenden klinischen und radiologischen Merkmalen spricht stark für eine EAA. Umgekehrt kann eine Abnahme der Konzentration an spezifischem IgG nach Antigen-Vermeidung ebenfalls die Diagnose einer EAA stützen. Allerdings ist das Vorhandensein spezifischer IgG-Antikörper nicht per se ein Marker für die Erkrankung und die Abwesenheit spezifischer IgG-Antikörper schließt eine EAA nicht aus.

Darüber hinaus muss bei der Beurteilung der antigenspezifischen IgG-Antikörperkonzentrationen berücksichtigt werden, dass im Gegensatz zur spezifischen IgE-Diagnostik kein einheitlicher Cut-off Wert existiert, so dass für jedes Antigen ein spezieller Referenzwert beziehungsweise -bereich ermittelt werden muss. Ziel einer aktuell publizierten Studie war es, für typische Umwelt- bzw. Berufsantigene, die als Auslöser einer EAA beschrieben wurden, spezifische IgG (sIgG)-Referenzwerte zu etablieren und/oder bereits vorhandene Werte in einer geeigneten Gruppe gesunder Probanden zu validieren (Raulf et al. 2019).

Auswahl und Rekrutierung des Referenzkollektivs

Die Arbeitsgemeinschaft „Exogen allergische Alveolitis“ in der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), in der auch das IPA aktiv mitarbeitet, hatte 2014 die Durchführung einer multizentrischen Studie zur Bestimmung von Normwerten für spezifische IgG-Antikörper gegen potenzielle Antigene der EAA angeregt. Ein entscheidender Schritt für die Studie war die Rekrutierung eines geeigneten, möglichst repräsentativen Referenzkollektivs für die serologischen Untersuchungen. Sechs Zentren aus unterschiedlichen Regionen in Deutschland, unter

- Die Exogen allergische Alveolitis ist eine allergisch bedingte Entzündung der Lunge, die durch wiederholtes Einatmen von Allergenen entsteht.
- Eine Multicenterstudie hat nun spezifische IgG-Referenzwerte für typische Umwelt- und Berufsantigene etabliert.
- Auf den Internetseiten des IPA gibt es jetzt einen Online-Kalkulator, mit dessen Hilfe die gemessenen spezifischen IgG-Konzentrationen eingeordnet werden können.

anderem auch das IPA, beteiligten sich an der Rekrutierung und Bereitstellung der Seren (siehe Abb. 1). Studiendesign und -protokoll wurden durch die Ethik-Kommission der Universität Dresden genehmigt, zusätzlich holten die einzelnen Zentren die Zustimmungen bei den jeweiligen lokalen Ethik-Kommissionen ein.

Serologische Untersuchungen im IPA

Im IPA wurden die Seren von 121 Personen ohne Symptome einer EAA untersucht. Bei den Probanden lag keine bekannte Exposition zu möglichen Antigenen, die eine exogen allergische Alveolitis hervorrufen können, vor. Auch waren bei den Probanden keine rheumatologischen oder immunologischen Erkrankungen und keine obstruktive beziehungsweise interstitielle Lungenerkrankung bekannt. Der Anteil der Frauen lag bei 56 Prozent. Das mittlere Alter betrug 43 Jahre, bei einer Altersspanne von 21 bis 83 Jahren. 62 Prozent der Probanden waren Nieraucher und 15 Prozent aktuelle Raucher. Die sIgG-Bestimmung gegen 32 typische kommerziell verfügbare EAA-Antigene erfolgte mittels fluorimetrischem Enzymimmunoassay (FEIA) (ImmunoCAP®). Für die Validierung wurden ausgewählte Messungen wiederholt. Zusätzlich wurden das Gesamt-IgG und die unspezifische Bindung mittels humanem Serumalbumin und der Einfluss möglicher Confounder analysiert.

Spezifische IgG-Werte variieren je nach Antigen stark

Die jeweiligen spezifischen IgG-Antikörperspiegel variieren in Abhängigkeit der verschiedenen Antigene von weniger als 0,02 bis zu 726 mg_A/L. Obwohl die spezifischen IgG-Konzentrationen je nach Antigen und Individuum sehr unterschiedlich waren und einen weiten Konzentrationsbereich abdeckten, wurden absichtlich keine extrem hohen sIgG-Konzentrationen ausgeschlossen. Da die sIgG-Werte nicht normal verteilt waren, wurde zur Auswertung der Werte eine nicht-parametrische Methode verwendet und Mediane und Quantile ermittelt. Niedrige Werte zeigten sich gegen

INFO

Präzipitierende Antikörper sind in der Lage mit Antigenen, die mehrere Antikörperbindungsstellen (Epitope) haben, einen Immunkomplex zu bilden. Auf diese Weise kann ein „Netzwerk“ entstehen, das zur Verklumpung und einer anschließenden Fällung (synonym „Präzipitation“) aus einer Lösung führt.

Chemikalien und die höchsten gegenüber Pilzantigenen, hier insbesondere gegen *Aspergillus fumigatus* und *Botrytis cinerea*. Für drei Isocyanate, drei Säureanhydride, den Schimmelpilzen *Trichosporon pullulans* und *Acremonium kiliense* wurden zum ersten Mal Referenzwerte aufgestellt. Für verschiedene Vogelantigene, Schimmel und Bakterien konnten die bereits existierenden Referenzwerte ohne große Abweichungen bestätigt werden. Die 90 Prozent Quantile für sIgG gegen *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus* und Vogelantigene waren deutlich höher als die bisher existierenden Werte. Im Gegensatz dazu lag der 97,5 Prozent Quantilwert für *Candida albicans* deutlich niedriger als der von der Firma angegebene Cut-off Wert.



Abb. 1: Karte mit den Studienzentren, die sich an der Studie zur Bestimmung von Referenzwerten für spezifische IgG-Antikörper gegen potenzielle Antigene der EAA beteiligten. So konnte eine möglichst große Repräsentativität des Studienkollektivs gewährleistet werden.

Starke Korrelationen ($r_s > 0,75$ nach Spearman) wurden zwischen den sIgG-Werten für *A. fumigatus*, *P. chrysogenum*, *C. herbarum* und *B. cinerea* festgestellt. Ähnlich starke Korrelationen bestanden zwischen *M. racemosus* und *R. nigricans*, *C. albicans* und *F. proliferatum* und zwischen *T. viride* und *S. atra*. Auch für die Vogelantigene untereinander bestand ebenfalls eine sehr starke Korrelation. Diese Korrelationen geben einen Hinweis auf die Kreuzreaktivität, das heißt dass

die Antigene, an die der Antikörper bindet, untereinander identische oder ähnliche molekulare Strukturen aufweisen.

Die Untersuchungen zeigten auch, dass die spezifischen IgG-Werte nicht signifikant durch Rauchen, Alter und das Geschlecht beeinflusst werden.

Einsatz der spezifischen IgG-Referenzwerte in der Praxis

Um diese neuen sIgG-Referenzwerte in die Routinediagnostik der exogen allergischen Alveolitis zu implementieren, wird auf den Internetseiten des IPA ein Online-Kalkulator bereitgestellt, um die mit dem ImmunoCAP-System gemessenen spezifischen IgG Konzentrationen einordnen zu können.

Ausblick

Da für die spezifische IgG-Bestimmung auch andere Messmethoden in der Routine zum Einsatz kommen, wurden die im Rahmen der Studie gewonnenen Seren mit einem weiteren System (Immulate®) auf ihre Konzentration an sIgG-Antikörpern überprüft. Die hier ermittelten Werte werden zurzeit ausgewertet und mit den Daten aus dem ImmunoCAP-System verglichen. Somit werden auch für das Immulate-System zukünftig aktuelle Referenzwerte zur Verfügung stehen. Allerdings sollte bei der Bewertung und der Verwendung der ermittelten Referenzwerte beachtet werden, dass für die Festsetzung von Cut-off Werten zur Unterscheidung zwischen Gesunden und Erkrankten klinisch diagnostizierte EAA-Patienten mit eindeutig identifiziertem auslösendem Antigen benötigt werden.

Der auf den Referenzwerten aus dieser Studie basierende Online-Kalkulator kann unter folgendem Link abgerufen werden: www.ipa.ruhr-uni-bochum.de/l/204

Die Autorin:
Prof. Dr. Monika Raulf
IPA

Literatur

Raulf M, Joest M, Sander I, Hoffmeyer F, Nowak D, Ochmann U, Preisser A, Schreiber J, Sennkamp J, Koschel D. Update of reference values for IgG antibodies against typical antigens of hypersensitivity pneumonitis. *Allergo J Int* 2019; Epub ahead of Print. DOI: 10.1007/s40629-019-0099-x