

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Martin Canis

Evaluierung diagnostischer Möglichkeiten
des Sensibilisierungsnachweises von Aeroallergenen
in der klinischen Routine



Kumulative Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia Legendi
im Fach Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

vorgelegt von
Dr. med. Katharina Eder
München 2022

Meiner Familie

Zusammenfassende Einleitung

Die Prävalenz allergischer Erkrankungen ist über die letzten Jahre gestiegen und Sensibilisierungsraten gegen z.B. Gräser, Bäume und Hausstaubmilben für die Gesamtbevölkerung in Deutschland werden je nach Allergen zwischen 15 und knapp 20% angegeben. Aus diesen Zahlen wird deutlich, dass Atemwegsallergien in der klinischen Routine eine erhebliche Bedeutung haben und damit auch ein breites Feld für die Wissenschaft darstellen. In der allergologischen Diagnostik steht in Bezug auf einen Sensibilisierungsnachweis gegen ein Aeroallergen ein *in vivo* Test zur Verfügung, der sog. Pricktest, bei dem eine standardisiert hergestellte Lösung eines nativen Allergenextraktes Verwendung findet. Ebenso stehen unterschiedliche molekularbiologische *in vitro* Testverfahren zur Verfügung. Dies ist in erster Linie der Nachweis allergenspezifischer IgE im Serum, entweder gerichtet gegen das native Gesamtallergenextrakt oder auch seit Neuerem gegen einzelne sog. Allergenkomponenten mittels eines Fluoreszenz-Enzym-Immunoassays. Bei den Komponenten handelt es sich in der Regel um einzelne Proteinmoleküle einer Allergenquelle. Diese werden unterteilt in Major-Allergene, wenn mehr als 50% der gegen das Allergen sensibilisierte Patienten spezifische IgE gegen diese Komponente aufweisen, und Minor-Allergene, wenn entsprechend weniger als 50% der sensibilisierten Patienten spezifische IgE gegen diese Komponente aufweisen. So wurden z.B. für die Birke (*Betula verrucosa*) bisher 8 Komponenten identifiziert: Bet v 1, das Major-Allergen, und Bet v 2 – 8 als Minor-Allergene. Darüber hinaus können bestimmte Komponenten über die einzelne Allergenquelle hinweg basierend auf ihren molekularen Eigenschaften in Gruppen eingeteilt werden. So ist z.B. Bet v 1 ein sog. PR-10 Protein (Pathogenesis-Related Protein), genauso wie das Major-Allergen des Apfels Mal d 1. Diese Allergenkomponenten weisen eine starke Strukturhomologie auf und sind damit hoch kreuzreaktiv, und somit kann beispielsweise ein primärer Birkenpollenallergiker bei dem Verzehr eines Apfels allergische Symptome an der Mundschleimhaut verspüren. Ebenso wird diese Homologie in der Diagnostik genutzt: Das Major-Allergen der Esche Fra e 1 und das Major-Allergen der Olive Ole e 1 sind so kreuzreaktiv, dass die Diagnostik einer Sensibilisierung gegenüber der Esche mit dem Antikörpernachweis gegen Ole e 1

der Olive durchgeführt werden kann. Zudem können unterschiedliche Komponenten allergische Beschwerden unterschiedlicher Ausprägung hervorrufen. Zusammenfassend wird der komponentenbasierten molekularen Diagnostik zugeschrieben zwischen genuiner, also spezifischer Sensibilisierung und Kreuzreaktion unterscheiden zu können. Ebenso soll das genaue komponentenbasierte Profil eines Allergikers hinweisend sein für die optimale Therapiestrategie.

Durch die stetige Identifikation „neuer“ Allergenkomponenten erweitert sich die molekulare Komplexität von Allergenquellen laufend. Dementsprechend nehmen auch diagnostische Möglichkeiten stetig zu, indem diese Einzelkomponenten dann im Verlauf zur komponentenbasierten Allergiediagnostik kommerziell angeboten werden. Damit einher geht ein regulatorisch getriebener Prozess, sowohl Therapielösungen als auch Diagnostika immer besser zu standardisieren. Dies ist mit deutlich höheren Kosten für die reine Diagnostik verbunden und führt hierdurch zur Reduktion verfügbarer Diagnostik-Lösungen für den Pricktest, da die neuen regulatorischen Vorgaben für die Herstellung einer Lösung kaum kostendeckend erfüllt werden können. Somit hat sich die Anzahl verfügbarer Lösungen für den Pricktest mehr als halbiert (Klimek et al. 2016, Klimek et al. 2021).

In der allergologischen Diagnostik folgt dem Sensibilisierungsnachweis die Überprüfung der klinischen Relevanz, denn nicht jeder Patient mit einer Sensibilisierung gegen ein bestimmtes Allergen hat auch klinische Symptome bei Kontakt mit diesem Allergen. So kann zwar z.B. bei einem ausschließlich Birken-sensibilisierten Patienten mit allergischen Symptomen zur Blütezeit der Birke eine Allergie angenommen und nach aktueller Leitlinie eine kausale spezifische Immuntherapie ohne weitere Diagnostik begonnen werden, jedoch ist eine Überprüfung der klinischen Relevanz mit einer sog. Provokationstestung v.a. bei ganzjährig relevanten Allergenen oder auch poly-sensibilisierten Patienten unabdingbar. Auch in Bezug auf eine mögliche Aussagekraft hinsichtlich der klinischen Relevanz wird derzeit die molekularbiologische Diagnostik von vielen Forschungsgruppen untersucht.

Fragestellung

Ziel der Habilitation ist es, neuere molekularbiologische Möglichkeiten der Komponentendiagnostik und etablierte diagnostische Tests zum Sensibilisierungsnachweis von Aeroallergenen in Bezug auf die folgenden Fragestellungen zu vergleichen und damit einen Beitrag zur Translation wissenschaftlicher Grundkenntnisse in die klinische Routine zu leisten:

1. Vergleich des Sensibilisierungsnachweises durch Pricktest und spezifische IgE gegen native Allergenextrakte versus Nachweis durch spezifisches IgE gegen Einzelkomponenten dieser Allergene
2. Untersuchung der Aussagekraft komponentenbasierter molekularer Diagnostik hinsichtlich der klinischen Relevanz
3. Evaluation der Reduktion des Pricktest-Panels basierend auf dem Prinzip homologer Gruppen

Zusammenfassung der Teilprojekte

1. Vergleich des Sensibilisierungsnachweises durch Pricktest und spezifische IgE gegen native Allergenextrakte versus Nachweis durch spezifisches IgE gegen Einzelkomponenten dieser Allergene

Diese Fragestellung wurde an mehreren Beispielen für Aeroallergene überprüft. Sensibilisierungsraten für unterschiedliche Allergene und deren Einzelkomponenten können regional sehr unterschiedlich sein je nach Vorkommen der entsprechenden Allergene, so dass Studien in unterschiedlichen Ländern bzw. Regionen sinnvoll sind. Allergene der Katze sind neben denen der Hausstaubmilbe die häufigsten Innenraumallergene, und eine Sensibilisierung gilt als Risikofaktor für eine allergische Rhinitis, bronchiale Hyperreagibilität und Asthma bronchiale. In einer von uns publizierten Studie wurde an 70 Patienten mit positivem Pricktest mit nativem Katzenallergen die Prävalenz spezifischer IgE gegen natives Katzenallergen (*Felis catus*) gewonnen aus Katzenschuppen, und auch gegen die damals erhältlichen Einzelkomponenten, das Major-Allergen Fel d 1, ein Uteroglobulin, und die Minor-Allergene Fel d 2, ein Serum-Albumin, und Fel d 4, ein Lipocalin, im Serum

untersucht (Eder et al. 2016). Bei der Unterscheidung dieser Patienten in Allergiker und klinisch stumm Sensibilisierte ohne relevante Symptome in der Provokationstestung und/oder in der Anamnese konnte gezeigt werden, dass 100% der Allergiker mit der Untersuchung von spezifischem IgE gegen das native Extrakt erkannt worden wären. Jedoch wurden mittels Testung auf spezifisches IgE gegen das native Extrakt nur 77% aller klinisch stummen Patienten identifiziert. Die „verpassten“ Patienten hatten allerdings alle einen positiven Pricktest größer 1 mit nativem Katzenextrakt. Betrachtet man die Detektionsrate auf Komponentenebene von im Pricktest sensibilisierten Patienten, so zeigte sich Folgendes: spezifisches IgE gegen das Major-Allergen rFel d 1 konnte in der Allergiker-Gruppe nur in 91% der Patienten nachgewiesen werden, in der klinisch stummen Gruppe nur in 74% der Fälle. Allerdings war die Korrelation von spezifischem IgE gegen Fel d 1 und nativem Extrakt im Gesamtkollektiv sehr hoch und statistisch signifikant mit $r = 0,896$ und $p < 0,001$. Darüber hinaus zeigte sich, dass eine Sensibilisierung gegen die Minor-Komponenten Fel d 2 oder Fel d 4 mit Sensibilisierungsraten zwischen 3 und 17% in der klinischen Routine keine Rolle spielt, da alle diese Patienten auch gegen das Major-Allergen sensibilisiert waren (Eder et al. 2016).

Ähnliches konnte in einer weiteren Studie für die Esche, ein Mitglied der Oleaceae (Ölbaumgewächse), gezeigt werden. Die Prävalenz der Eschensensibilisierung wird in Deutschland mit 10% angegeben. Die verfügbare Komponentendiagnostik läuft allerdings aufgrund der wie oben beschriebenen hohen Kreuzreaktivität über Allergenkomponenten der Olive (*Olea Europaeae*) als Hauptvertreter der Oleaceae. In einer Studie mit 113 Patienten mit Sensibilisierung gegen die Esche im Pricktest wurde das Sensibilisierungsprofil im Hinblick auf die Komponenten Ole e 1, Ole e 7 und Ole e 9 untersucht (Eder et al. 2018). Hier konnte gezeigt werden, dass spezifisches IgE gegen die Minor-Allergene Ole e 7, ein Lipid-Transfer-Protein, und Ole e 9, eine 1,3-beta Glucanase, nur bei einzelnen Patienten nachweisbar waren und somit diese Einzelkomponenten in der klinischen Routine zumindest im süddeutschen Raum keine Rolle spielen. Auch in dieser Studie zeigte sich, dass der Sensibilisierungsnachweis durch Diagnostik mit dem nativen Extrakt der Esche in der Serologie sensitiver ist als der Nachweis von spezifischem IgE gegen die Major-Komponente Ole e 1. 99% der Patienten zeigten spezifisches IgE gegen das native

Extrakt, hingegen nur 88% der Patienten gegen die Einzelkomponente Ole e 1. Trotzdem war die Korrelation der Titer beider IgE hoch mit $r = 0,83$ und statistisch hoch signifikant mit $p < 0,0001$ (Eder et al. 2018).

In einer weiteren Studie an Patienten mit Sensibilisierung gegen Birkenpollen (*Betula verrucosa*) wurde die Bedeutung einer relativ neu erhältlichen Minor-Komponente, des Bet v 6, an einer Patientengruppe mit spezifischem IgE gegen das native Birkenextrakt ohne Nachweis von spezifischem IgE gegen das Major-Allergen Bet v 1 oder die Komponenten Bet v 2 und Bet v 4 untersucht (Gellrich et al. 2017). In einer repräsentativen Kontrollgruppe mit spezifischem IgE gegen das native Birkenextrakt ohne Spezifikation des Einzel-Komponentenprofils zeigte sich, dass in unseren Breitengraden nur von einer Sensibilisierung gegen Bet v 6 von ca. 5% unter den Birkenpollensensibilisierten ausgegangen werden muss. Darüber hinaus wurde diskutiert, dass eine Bet v 6-Sensibilisierung ggf. nur als Folge einer Kreuzreaktion zu sehen ist und somit auch die Bestimmung spezifischer IgE gegen die Einzelkomponente Bet v 6 keinen zusätzlichen Nutzen in der klinischen Routine hat (Gellrich et al. 2017).

Eine weitere Untersuchung unserer Arbeitsgruppe hat wiederum für ein kleines Kollektiv an Hausstaubmilbenallergikern mit positivem Pricktest mit *Dermatophagoides pteronyssinus* und spezifischen IgE Antikörpern gegen das native Hausstaubmilbenextrakt gezeigt, dass durchaus die molekularbiologische Testung unterschiedlicher spezifischer IgE Antikörper gegen Einzelkomponenten sinnvoll sein kann. So konnte z.B. gezeigt werden, dass einige dieser Patienten ohne Sensibilisierung gegen die beiden Major-Allergene Der p 1 (Cystein Protease) und/oder Der p 2 (NPC2 Family) allein gegen Der p 23 (eine Peritrophin-like Protein Domain) sensibilisiert waren (Becker et al. 2016). Studien aus anderen Ländern haben sogar gezeigt, dass Der p 23 als 3. Major-Allergen der Hausstaubmilbe gewertet werden sollte (Weghofer et al. 2013, Gonzales Perez et al. 2019, Soh et al. 2015, Mueller et al. 2016). Allerdings zeigten in unserer Studie auch 10% der Patienten keinerlei Sensibilisierung gegen die möglich zu testenden Einzelkomponenten und wären somit durch eine alleinige Komponentendiagnostik übersehen worden (Becker et al. 2016). Basierend auf dieser Studie haben wir die Prävalenz dieser Einzelkomponenten an einem größeren Patientenkollektiv aus 474

Patienten überprüft (Eder et al. 2020). Hier wurde gezeigt, dass die Sensibilisierungsraten gegen Der p 1 und Der p 2 mit 61% bzw. 76% und Der p 23 mit 42% zwar relevant sind, jedoch in einer isolierten Komponentendiagnostik 12% der Patienten mit Sensibilisierungsnachweis gegen natives Hausstaubmilbenextrakt nicht erkannt worden wären (Abb. 1; aus Copyright-Gründen anders abgebildet als in der Originalarbeit) (Eder et al. 2020).

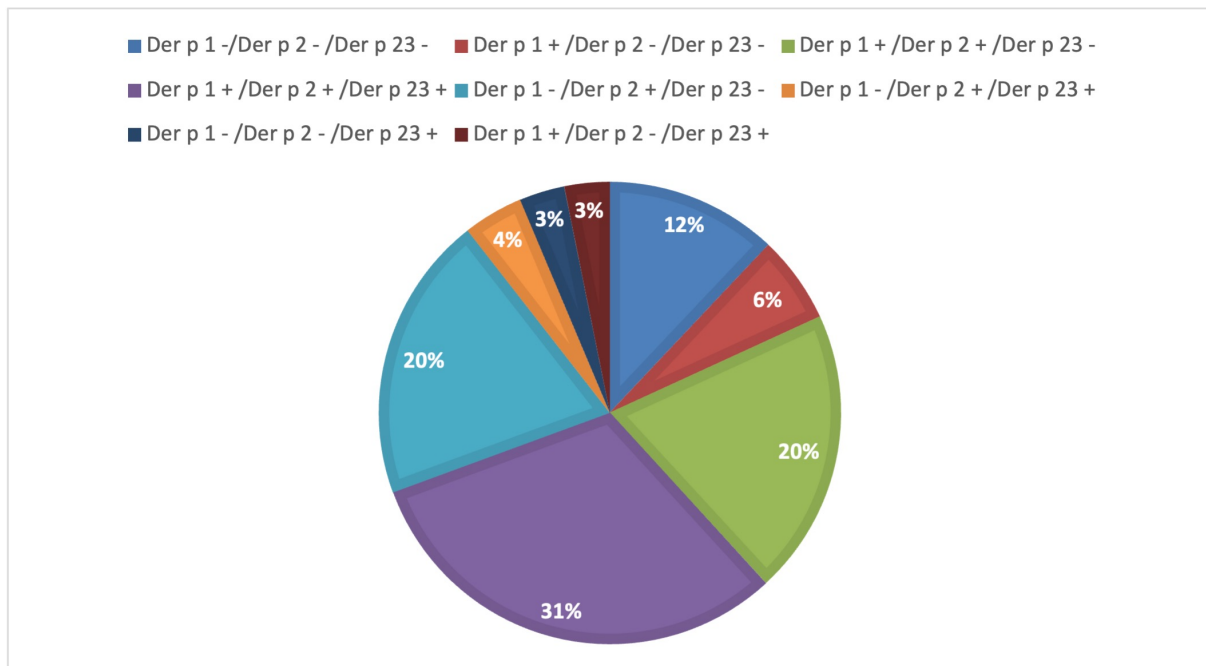


Abbildung 1 zeigt die IgE-Profile (Kombinationen aus Der p 1, Der p 2 und Der p 23) eines 474 Patienten großen Patientenkollektivs mit Sensibilisierung gegen *Dermatophagoides pteronyssinus*: 12% der Patienten sind gegen keine der Komponenten sensibilisiert, 3% alleinig gegen Der p 23.

Zuletzt wurde die Frage der Komponentendiagnostik auch noch an *Aspergillus fumigatus* sensibilisierten Patienten untersucht (Volgger et al. 2021). Hier wurden in einer retrospektiven Arbeit an 78 Patienten mit *Aspergillus*-Extrakt spezifischen IgE die Sensibilisierungsprävalenzen für die Einzelkomponenten Asp f 1, 2, 3, 4 und 6 untersucht. Diese waren vergleichsweise gering. Eine Sensibilisierung gegen das Einzel-Allergen Asp f 1 zeigte sich in 27% der Patienten, gegen Asp f 2 in 24%, gegen Asp f 3 in 19%, gegen Asp f 2 in 10% der Fälle und gegen Asp f 6 in 6% der Fälle. Zudem zeigten sich unterschiedliche Sensibilisierungsmuster bzw. Kombinationen, allerdings waren auch 50% der Patienten mit spezifischem IgE gegen das Extrakt gegen keine der getesteten Einzelkomponenten sensibilisiert, so dass diese durch

eine reine komponentenbasierte Diagnostik nicht entdeckt worden wären. Allerdings wurde hier geschlussfolgert, dass ggf. eine hohe Kreuzreaktivität zu anderen Allergengruppen die hohe Differenz zwischen der Sensibilisierung gegen das Gesamtextrakt versus gegen die Einzelkomponenten bedingt und somit eine komponentenbasierte Diagnostik durchaus einen Mehrwert zeigen könnte, aber erst im 2. Schritt nach der Extrakt-basierten Diagnostik (Volgger et al. 2021).

Auch wenn der Sensibilisierungsnachweis suffizient durch die Diagnostik mit nativen Allergenextrakten in der klinischen Routine gelingt, ist dennoch die Frage, ob im Hinblick auf die Bewertung der klinischen Relevanz eine komponentenbasierte Diagnostik doch zusätzlichen Nutzen aufweisen könnte. Dies ist ein weiterer Teilaspekt dieser Habilitation.

2. Untersuchung der Aussagekraft komponentenbasierter molekularer Diagnostik hinsichtlich der klinischen Relevanz

Diese Fragestellung wurde ebenso anhand diverser Beispiele in unserer Arbeitsgruppe bearbeitet. In der bereits erwähnten Studie zur Sensibilisierung gegen Katzenallergene konnte gezeigt werden, dass zwar der Median der Reaktion im Pricktest als auch der Median des spezifischen IgE gegen das native Allergenextrakt signifikant höher waren in Patienten mit Katzenallergie versus Patienten mit Sensibilisierung gegen die Katze ohne klinische Relevanz, jedoch war die Differenz zu gering, als dass darüber ein Cut-off value definiert werden hätte können, der zuverlässig eine Allergie anzeigen würde (Eder et al. 2016). Darüber hinaus war die Höhe des spezifischen IgE gegen die Major-Komponente Fel d 1 noch weniger zuverlässig in der Unterscheidung eines Allergikers zu einem klinisch stumm Sensibilisierten, hier ergab sich kein signifikanter Unterschied (Abb. 2; aus Copyright-Gründen anders abgebildet als in der Originalarbeit) (Eder et al. 2016).

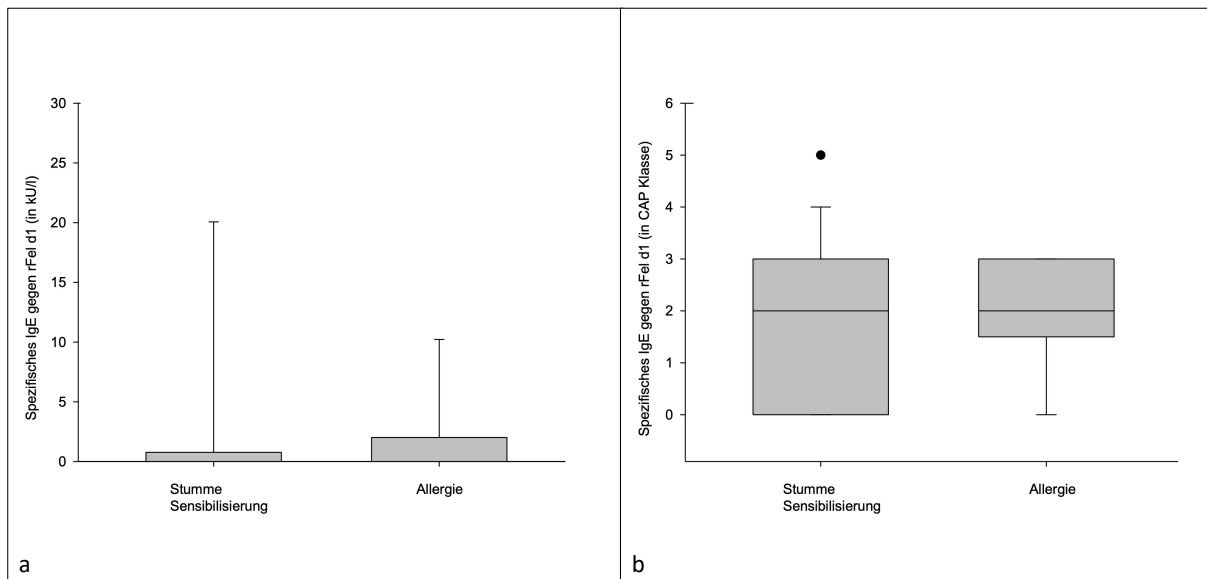


Abbildung 2 zeigt das spezifische IgE gegen r Fel d 1 als Median in kU/l (a) und in CAP-Klasse (b) sowohl in klinisch stumm Sensibilisierten (jeweils links) als auch in Allergikern (jeweils rechts). Daran lässt sich kein Unterschied in Bezug auf die klinische Relevanz ableiten.

Genauso wenig zeigte sich in der ebenfalls im ersten Abschnitt bereits erläuterten Studie an gegen Esche sensibilisierten Patienten in Bezug auf die Komponentendiagnostik ein signifikanter Unterschied: Hier fand sich kein Unterschied in der Höhe des Titers an spezifischen Antikörpern gegen Ole e 1 zwischen Patienten mit Sensibilisierung gegen die Esche ohne klinische Symptome versus Patienten mit allergischen Symptomen. Die Einzelkomponenten Ole e 7 und Ole e 9 sollen in Bezug auf ein allergisches Asthma eine Rolle spielen (Barber et al. 2008, Quiralte et al. 2007). Allerdings sind diese Einzelkomponenten v.a. bei Sensibilisierung durch die Olive selbst relevant und nicht bei Sensibilisierung durch die Esche, die in unseren Breitengraden den wichtigsten Vertreter der Familie der Oleaceae darstellt (Rodriguez et al. 2001), so dass auch aufgrund der geringen Sensibilisierungsraten gegen Ole e 7 und Ole e 9 keine klinische Bewertung getroffen werden konnte (Eder et al. 2018).

Zusammenfassend kann bei den aufgezählten untersuchten Allergenen die komponentenbasierte Diagnostik im Hinblick auf eine Unterscheidung zwischen Allergiker und klinisch stumm Sensibilisiertem den Goldstandard einer Provokationstestung bisher nicht ersetzen.

Demgegenüber zeigte eine weitere Untersuchung unserer Arbeitsgruppe durchaus eine klinische Aussagekraft der Komponentendiagnostik. Hier wurde eine Sensibilisierung gegen sog. Panallergene, Profilin und/oder Polcalcin (die Einzelkomponenten der Birke bzw. des Lieschgrases (*Phleum pratense*) Bet v 2 bzw. Phl p 12 und Bet v 4 bzw. Phl p 7) untersucht (San Nicolás et al. 2016). Eine Sensibilisierung gegen diese Minor-Komponenten ohne simultane Sensibilisierung gegen die entsprechenden Leitallergene der Birke bzw. des Lieschgrases war in diesem Patientenkollektiv nie klinisch relevant, d.h. Patienten mit isolierter Sensibilisierung gegen Profilin und/oder Polcalcin wiesen nie rhinitische Beschwerden, also eine Allergie auf. So konnte geschlussfolgert werden, dass eine komponentenbasierte Diagnostik durchaus Sinn macht, und bei dem Vorliegen allergischer Symptome und reiner Sensibilisierung auf diese Panallergene, das auslösende Allergen ggf. noch nicht gefunden ist und folglich eine Allergen-Immuntherapie mit einer Birken- oder Lieschgras-basierten Lösung trotz eines positiven Pricktests mit Birken- oder Gräserextrakt eher keinen Therapieerfolg zeigen wird (San Nicolás et al. 2016).

Auch in der bereits im ersten Abschnitt beschriebenen Untersuchung zu der Einzelkomponente Bet v 6 der Birke wurde in gegen die Birke sensibilisierten Patienten gezeigt, dass Bet v 6 klinisch stumm bleibt und möglicherweise eine kreuzreaktive Komponente darstellt, allerdings war die Prävalenz insgesamt hier mit 5% sehr gering (Gellrich et al. 2017).

Als Letztes wurde auch anhand der Hausstaubmilbe eine Fragestellung in Bezug auf die klinische Relevanz der Komponentendiagnostik untersucht. Posa et al. sowie Resch et al. publizierten den Zusammenhang einer spezifischen Sensibilisierung gegen Der p 23 der Hausstaubmilbe und dem Auftreten von Asthma (Posa et al. 2017, Resch et al. 2015). In der bereits oben genannten Untersuchung unserer Arbeitsgruppe an 474 Hausstaubmilben sensibilisierten Patienten konnte tatsächlich bestätigt werden, dass eine signifikant höhere Anzahl an Patienten mit Der p 23 Sensibilisierung anamnestisch ein Asthma bronchiale berichtet als Patienten ohne Sensibilisierung gegen Der p 23 (Eder et al. 2020). Als weiterer Unterschied fand sich eine höhere Prävalenz anderer Sensibilisierungen z.B. gegen Gräser, Bäume, Tiere oder Schimmelpilze bei Patienten mit Sensibilisierung gegen

Der p 23, so dass Der p 23 zwar als Marker für einen schweren Verlauf der Atemwegsallergie mit auch Entwicklung eines allergischen Asthmas bronchiale gesehen werden kann, nicht aber unbedingt kausal für diesen Verlauf verantwortlich sein muss. Dadurch könnte zudem der gefundene höhere Anteil an Allergikern in der Der p 23-positiven Population versus der Der p 23-negativen Population erklärt werden. Der Titer an spezifischem IgE gegen Der p 23 an sich zeigte jedoch auch keine Aussagekraft bzgl. der klinischen Relevanz der Sensibilisierung. Hier wurde das spezifische IgE in kU/l einerseits in Relation zum Gesamt-IgE gesetzt, als Zweites in Relation zum spezifischen IgE gegen das Allergenextrakt *D. pter.* Letztere Betrachtung zeigte zwar einen signifikanten Unterschied zwischen Allergikern und stumm Sensibilisierten, allerdings war der Unterschied viel zu gering, als dass hierdurch eine Differenzierung zwischen Allergie und klinisch stummer Sensibilisierung möglich wäre (Eder et al. 2020).

3. Evaluation der Reduktion des Pricktest-Panels basierend auf dem Prinzip homologer Gruppen

Wie bereits in der Einleitung angesprochen, führen regulatorische Vorgaben innerhalb der Europäischen Union und auch ökonomische Aspekte derzeit dazu, dass es zu einer Rationalisierung diagnostischer Allergenlösungen kommt, obwohl sich auf der anderen Seite molekularbiologisch das Spektrum an Allergenkomponenten stetig erweitert. Das Prinzip homologer Gruppen besagt, dass unterschiedliche Aeroallergene aufgrund von Sequenzhomologie und Kreuzreaktivität in Gruppen eingeteilt werden können. Die molekularbiologische Ähnlichkeit der einzelnen Allergenkomponenten zwischen den individuellen Vertretern innerhalb einer Gruppe ist entsprechend groß und wurde von Lorenz et al. in einer Übersichtsarbeit zusammengefasst (Lorenz et al. 2009). So gehören z.B. die europäische Hausstaubmilbe *Dermatophagoides pteronyssinus* und die amerikanische Hausstaubmilbe *Dermatophagoides farinae* zu einer homologen Gruppe. Ebenso gibt es die homologe Gruppe der Frühblüher mit dem Hauptvertreter der Birke (*Betula verrucosa*) und die homologe Gruppe der Gräser mit dem Hautvertreter des Wiesenlieschgrases (*Phleum pratense*). Das Prinzip homologer Gruppen wird in

Studien zur Wirksamkeit der spezifischen Immuntherapien angewendet, z.B. untersuchten Couroux et al. in einer randomisierten, doppel-blind Studie die Wirksamkeit einer Tablette zur sublingualen Immuntherapie mit Birkenpollenallergen hinsichtlich des therapeutischen Effektes bei Exposition mit Birkenpollen, aber genauso auch Eichenpollen, einem Mitglied der Frühblüher-homologen Gruppe, und fanden eine Reduktion der klinischen Symptomatik in Bezug auf beide Allergene (Couroux et al., 2019). Genauso ist von regulatorischer Seite anerkannt, dass die Zulassung spezifischer Immuntherapeutika für Allergene bzw. Allergenmischungen einer homologen Gruppe basierend auf Zulassungsstudien für nur ein Allergen der homologen Gruppe erteilt werden.

Vor diesem Hintergrund sollte überprüft werden, ob das von der derzeitigen Leitlinie vorgeschlagene Pricktest-Panel (Ruëff et al. 2009), das für die Milben *Dermatophagoides pteronyssinus* und *farinae*, für die Frühblüher Birke, Erle und Hasel und für die Gräser einen Grasmix und bis vor kurzem auch Roggen vorsah, reduziert werden kann. Im Rahmen einer Detektionsanalyse an Daten von > 1000 Pricktests wurde untersucht, inwieweit ein alleiniger Pricktest mit *Dermatophagoides pteronyssinus*, Birke und Gräsern ausreicht, um andere Sensibilisierungen innerhalb der jeweiligen homologen Gruppen, nämlich gegen *Dermatophagoides farinae*, Hasel und Erle bzw. Roggen anzeigen kann (Eder et al. 2021). Entsprechend der Tabelle 1 wurden 4 Gruppen gebildet: 1. Gräser/Roggen-Gruppe (1101 Patienten), 2. Birke/Hasel-Gruppe (1131 Patienten), 3. Birke/Erle-Gruppe (1131 Patienten) und 4. Milbengruppe (*D. pter*/*D. farinae*) (1068 Patienten) (Tabelle 1 aus Copyright-Gründen anders abgebildet als in der Originalarbeit).

Gruppe	Sensibilisierung in Anzahl Patienten (%)			
	+/+	-/-	+/-	-/+
Gräser/Roggen	547 (49,7)	491 (44,6)	57 (5,2)	6 (0,5)
Birke/Hasel	460 (40,7)	580 (51,3)	70 (6,2)	21 (1,8)
Birke/Erle	493 (43,6)	546 (48,3)	37 (3,3)	55 (4,9)
D. pter/D. farinae	422 (39,5)	603 (56,5)	14 (1,3)	29 (2,7)

Tabelle 1 zeigt die korrespondierenden Sensibilisierungsraten und Anzahl an Patienten für 4 Patientengruppen: +/+ entspricht positivem Pricktest für beide Allergen-Extrakte der jeweiligen Gruppe, -/- entspricht einem jeweils negativem Pricktest beider Allergen-Extrakte der jeweiligen Gruppe, +/- bzw. -/+ entspricht einem positivem Pricktest des erstgenannten Allergens der jeweiligen Gruppe und negativem Pricktest des zweitgenannten Allergens bzw. andersrum.

In der Korrelationsanalyse der Pricktest-Ergebnisse der homologen Allergene zeigten alle Gruppen eine starke Korrelation mit einer statistischen Signifikanz $p < 0,001$. In allen 4 Gruppen lieferten die Pricktests mit den jeweils 2 homologen Allergenextrakten in 92-95% der Fälle das gleiche Ergebnis, was am Beispiel der Gräser/Roggen-Gruppe veranschaulicht werden soll: 547 Patienten (49,7%) hatten sowohl einen positiven Pricktest mit Gräserallergen als auch einen positiven Pricktest mit dem Roggenallergen und 491 Patienten (44,6%) waren im Pricktest mit beiden Allergenen negativ, in Summe also 94,3%. In der Birke/Hasel-Gruppe waren es analog 92,0%, in der Birke/Erle-Gruppe 91,8% und in der Milbengruppe 96%. In 5-8% der Fälle aber zeigten die Pricktests nicht das gleiche Ergebnis an. Basierend auf diesen Werten wurde eine Detektionsanalyse durchgeführt, um die Sensitivität des jeweils führenden Allergens der homologen Gruppe zu bestimmen, genauso wie die falsch-negativ-Rate. Hier zeigte sich für den Gräser-Pricktest eine Sensitivität von 98,9%, sowohl Gräser- also auch Roggen-Sensibilisierte Patienten zu erkennen, die falsch-negativ-Rate war entsprechend 1,1%. Es wären mit dem reinen Gräser-Pricktest also lediglich etwa 1% der Roggen-sensibilisierten Patienten „verpasst“ worden. Für die Birke/Hasel-Gruppe und Birke/Erle-Gruppe lag die Sensitivität bei 95,6% bzw. 90,0% und die falsch-negativ-Rate entsprechend bei 4,4% bzw. 10,0%. Hier wären also 4 bzw. 10% der sensibilisierten Patienten übersehen worden. Für

die Milbengruppe lag die Sensitivität bei 93,6%, die falsch-negativ-Rate entsprechend bei 6,4%. Aus anamnestischen Daten konnte allerdings ermittelt werden, dass nur bei wenigen der falsch-negativen Patienten tatsächlich eine Allergie vorlag. In der Gruppe der Gräser/Roggen-Sensibilisierten gaben lediglich 3 von 6 der nicht detektierten Patienten allergische Beschwerden an; in der Birke/Hasel-Gruppe waren es 4 von 21 Patienten, in der Birke/Erle-Gruppe 10 von 55 Patienten und in der Milbengruppe 9 von 29 Patienten. Allerdings handelte es sich hier um rein anamnestische Angaben, die allerdings für gewöhnlich eher höher liegen als die Rate in der Provokationstestung tatsächlich bewiesener Allergien. Somit konnte geschlussfolgert werden, dass eine Sensibilisierung gegen Roggen sicher mit dem Gräser-Pricktest erkannt werden kann und Roggen somit in der Routine nicht mehr individuell mittels Pricktest untersucht werden muss. In Bezug auf Hasel ist die falsch-negativ-Rate mit 4,4% etwas höher und bei der Erle mit 10% so hoch, dass hier sicher nicht geschlussfolgert werden darf, dass auf einen Pricktest mit der Erle in der Routine ohne Weiteres verzichtet werden kann. Für *Dermatophagoides farinae* gilt dies gleichermaßen. Hier werden weitere Studien auch im Hinblick auf die klinische Relevanz zeigen, wie in Zukunft mit dem Pricktest zu verfahren sein wird (Eder et al. 2021).

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass zum reinen Sensibilisierungsnachweis in der klinischen Routine die Diagnostik über native Allergenextrakte entweder *in vivo* über den Pricktest oder *in vitro* über die Bestimmung spezifischer IgE eine gute Orientierung bietet und nicht durch die molekulare, komponentenbasierte Diagnostik allein ersetzt werden kann. Die komponentenbasierte Diagnostik kann neben wissenschaftlichen Fragestellungen aber in der klinischen Routine gerade in Bezug auf individuelle Aspekte wie klinische Relevanz, Auftreten von Asthma und v.a. bei polysensibilisierten Patienten auch im Hinblick auf eine eventuelle Immuntherapie eine sinnvolle Ergänzung darstellen. Der Pricktest als Standard in der allergologischen Diagnostik findet somit weiterhin Anwendung, kann aber ggf. basierend auf dem Prinzip homologer Gruppen in Bezug auf die Anzahl unterschiedlicher zu testender Allergenextrakte in Zukunft weiter reduziert werden.

Referenzen

Barber D, de la Torre F, Feo F, Florido F, Guardia P, Moreno C, Quiralte J, Lombardero M, Villalba M, Salcedo G, Rodríguez R; Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*, 2008. 63(11): p. 1550-8.

Becker S, Schleder T, Kramer MF, Haack M, Vrtala S, Resch Y, Lupinek C, Valenta R, Gröger M; Real-Life Study for the Diagnosis of House Dust Mite Allergy - The Value of Recombinant Allergen-Based IgE Serology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;170(2):132-7.

Couroux P, Ipsen H, Stage BS, Damkjaer JT, Steffensen MA, Salapatek AM, Lund K, Wurtzen PA; A birch sublingual allergy immunotherapy tablet reduces rhinoconjunctivitis symptoms when exposed to birch and oak and induces IgG4 to allergens from all trees in the birch homologous group. *Allergy*. 2019 74 (2):361-369.

Eder K, Becker S, San Nicolás M, Berghaus A, Gröger M; Component Resolved Analysis of Cat Allergy in Clinical Routine. *Allergy, Asthma Clin Immunol* 2016; 12:58

Eder K, Gellrich D, Meßmer C, Canis M, Gröger M; Component resolved analysis of ash pollen allergy in Bavaria. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018 Nov 8; 14:76

Eder K, Becker S, Gellrich D, Ziegelmayer P, Gröger M; The role of Der p 23 Sensitization – an analysis of 474 patients sensitized to mite. *Int Arch Allergy Immunol*. 2020 Jun 17:1-10.

Eder K, Markmann S, Gellrich D, Mann SL, Högerle C, Gröger M; Does the principle of homologous groups allow a reduction of allergens in the skin prick test panel? *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2021 Jan;278(1):117-125.

Gellrich D, **Eder K**, San Nicolás M, Berghaus A, Gröger M; The Clinical Impact of Bet v 6 in Birch Pollen-Sensitized Patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2017;173:34-43

Gonzalez-Perez R, Pineda F, Poza-Guedes P, Castillo M, Matheu V, Sanchez-Machin I; Molecular allergen profiling of dual mite sensitization in severe allergic rhinitis. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2020;30(6):421-429

Klimek L, Hoffmann HJ, Kugler A, Muraro A, Hellings PW; Impact of changed legislation on skin tests: the present and future. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016; 16 (5):465-468.

Klimek L, Hoffmann HJ, Kalpaklioglu AF, Demoly P, Agache I, Popov TA, Muraro A, Schmid-Grendelmeier P, Bonini S, Bonertz A, Mahler V, Vieths S, Pfaar O, Zuberbier T, Jutel M, Schmidt-Weber C, Hellings PW, Dreborg S, Bonini M, Brough HA, Bousquet J, Hoffmann-Sommergruber K, Palomares O, Ollert, Shamji MH, Cardona V; In-vivo diagnostic test allergens in Europe: A call to action and proposal for recovery plan-An EAACI position paper; *Allergy*. 2020 Sep;75(9):2161-2169. doi: 10.1111/all.14329

Lorenz AR, Luttkopf D, May S, Scheurer S, Vieths S; The principle of homologous groups in regulatory affairs of allergen products-a proposal. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009; 148 (1):1-17.

Mueller GA, Randall TA, Glesner J, Pedersen LC, Perera L, Edwards LL, DeRose EF, Chapman MD, London RE, Pomés A; Serological, genomic and structural analyses of the major mite allergen Der p 23. *Clin Exp Allergy*. 2016;46(2):365-76.

Posa D, Perna S, Resch Y, Lupinek C, Panetta V, Hofmaier S, Rohrbach A, Hatzler L, Grabenhenrich L, Tsilochristou O, Chen KW, Bauer CP, Hoffman U, Forster J, Zepp F, Schuster A, Wahn U, Keil T, Lau S, Vrtala S, Valenta R, Matricardi PM; Evolution and predictive value of IgE responses toward a comprehensive panel of house dust mite allergens during the first 2 decades of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(2):541-9 e8.

Quiralte J, Palacios L, Rodríguez R, Cárdena B, Arias de Saavedra JM, Villalba M, Florido JF, Lahoz C; Modelling diseases: the allergens of *Olea europaea* pollen. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2007. 17 Suppl 1: p. 24-30.

Resch Y, Michel S, Kabesch M, Lupinek C, Valenta R, Vrtala S. Different IgE recognition of mite allergen components in asthmatic and nonasthmatic children. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(4):1083-91.

Rodríguez R, Villalba M, Monsalve RI, Batanero E; The spectrum of olive pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol*, 2001. 125(3): p. 185-95.

Rueff F, Bergmann KC, Brockow K, Fuchs T, Gröbl A, Jung K, Klimek L, Müsken H, Pfaar O, Przybilla B, Sitter H, Wehrmann W; Hauttests zur Diagnostik von allergischen Soforttypreaktionen. *Allergo J*. 2010; 19:402-415.

San Nicolás M, Braun T, **Eder K**, Berghaus A, Gröger M; Clinical Relevance of IgE to Profilin and/or Polcalcin in Pollen-Sensitized Patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;169(2):101-7

Soh WT, Le Mignon M, Suratannon N, Satitsuksanoa P, Chatchatee P, Wongpiyaboron J, Vangveravong M, Rerkpattanapipat T, Sangasapaviliya A, Nony E, Piboonpocanun S, Ruxrungtham K, Jacquet A, Mite Allergy Research Cohort (MARC) Study Team; The House Dust Mite Major Allergen Der p 23 Displays O-Glycan-Independent IgE Reactivities but No Chitin-Binding Activity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168(3):150-60.

Volgger V, Louza J, Gellrich D, **Eder K**, Gröger M; Value of Component Resolved Diagnostics to *Aspergillus fumigatus* in Patients with Upper Airway Complaints. Int Arch Allergy Immunol 2021;182:120–130

Weghofer M, Grote M, Resch Y, Casset A, Kneidinger M, Kopec J, Thomas WR, Fernández-Caldas E, Kabesch M, Ferrara R, Mari A, Purohit A, Pauli G, Horak F, Keller W, Valent P, Valenta R, Vrtala S; Identification of Der p 23, a peritrophin-like protein, as a new major Dermatophagoides pteronyssinus allergen associated with the peritrophic matrix of mite fecal pellets. J Immunol. 2013;190(7):3059-67.

Danksagung

Den vielen Menschen, die mich auf dem Weg dieser Arbeit begleitet und unterstützt haben, möchte ich herzlichst danken.

Mit großem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. med. Martin Canis als Direktor der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde der LMU München verbunden. Er übernahm die Geschäftsführung des Fachmentorats und hat mich schon von frühen Jahren an unterstützt und mir wissenschaftliches Arbeiten nähergebracht. Genauso möchte ich diesbezüglich Herrn Prof. Dr. med. Alexander Berghaus danken unter dessen vorheriger Klinikleitung ich auch im Rahmen des klinischen Alltags Raum bekommen habe, Forschungsprojekte zu verfolgen.

Ebenfalls möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Denis Nowak danken, dafür dass er als Fachmentor meine Habilitation begleitet und unterstützt hat.

Ganz besonders danke ich Herrn PD Dr. med. Moritz Gröger, nicht nur als Fachmentor, sondern weit darüber hinaus: ohne seine Ideen, konstruktive Kritik und erhebliche Zeit - die im Klinikalltag schwer zu finden ist - wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Innerhalb der allergologischen Arbeitsgruppe der HNO-Klinik möchte ich allen beteiligten Personen danken, allen voran Frau PD Dr. med. Donata Gellrich. Der wissenschaftliche Austausch mit ihr hat mich immer weiter- und wertvolle Anregungen gebracht. Zudem möchte ich ihr für die kollegiale Zusammenarbeit in jeder Hinsicht danken. Außerdem ein großes Dankeschön an Gabriele Bähr und Elisabeth Pfrogner für ihre Arbeit im Labor, mit der Datenbank und für die Unterstützung in der klinischen Sprechstunde. Außerdem möchte ich weiteren Kolleg*innen der allergologischen Arbeitsgruppe für die konstruktiven Diskussionen in diversen Projekten und die Zusammenarbeit danken: Frau Dr. med. Marion San Nicoló, Frau Dr. med. Catalina Högerle, Herrn Prof. Dr. med. Sven Becker, Frau Dr. med. Veronika Volgger und Frau Dr. med. Sabine Markmann.

In Dankbarkeit verbunden bin ich Frau Prof. Dr. med. Maria-Elke Schuster, die mich außerhalb meiner allergologischen Tätigkeit stets unterstützt und mir eine geschätzte Mentorin ist. Genauso gilt dieser Dank Herrn Prof. Dr. med. Sebastian Strieth, der mir zu Beginn der Tätigkeit an der HNO-Klinik klinisch-

wissenschaftliches Arbeiten gelehrt und mich gerade in den ersten Jahren sehr unterstützt hat.

Von Herzen danke ich meinen Eltern, meinem Mann, meinen Kindern, Frau Brigitte Schwarz und meinen Freunden für die unermüdliche direkte und indirekte Unterstützung auf allen Ebenen – ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Schriftenverzeichnis

(seitlich markiert sind Publikationen der kumulativen Habilitation)

1. Originalarbeiten als Erst- oder Letztautorin

Eder K, Polterauer D, Semmelbauer S, Schuster M, Rader T, Hoster E, Flatz W; Comparison of ABR and ASSR using narrow-band-chirp-stimuli in children with cochlear malformation and/or cochlear nerve hypoplasia suffering from severe/profound hearing loss. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2021 doi.org/10.1007/s00405-021-06990-4

Eder K, Markmann S, Gellrich D, Mann SL, Högerle C, Gröger M; Does the principle of homologous groups allow a reduction of allergens in the skin prick test panel? Eur Arch Otorhinolaryngol. 2021 Jan;278(1):117-125.

Eder K, Becker S, Gellrich D, Zieglmayer P, Gröger M; The role of Der p 23 Sensitization – an analysis of 474 patients sensitized to mite. Int Arch Allergy Immunol. 2020 Jun 17:1-10. doi: 10.1159/000508522.

Eder K, Schuster ME, Polterauer D, Neuling M, Hoster E, Hempel JM, Semmelbauer S.; Comparison of ABR and ASSR using NB-chirp-stimuli in children with severe and profound hearing loss. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2020 Jan 7;131: 109864.

Strieth S, Ernst BP, Both I, Hirth D, Pfisterer LN, Künzel J, **Eder K**; Randomized controlled single-blinded clinical trial of functional voice outcome after vascular targeting KTP laser microsurgery of early laryngeal cancer. Head Neck. 2019 Apr;41(4):899-907

Eder K, Gellrich D, Meßmer C, Canis M, Gröger M; Component resolved analysis of ash pollen allergy in Bavaria. Allergy Asthma Clin Immunol. 2018 Nov 8; 14:76

Eder K, Becker S, San Nicolás M, Berghaus A, Gröger M; Component Resolved Analysis of Cat Allergy in Clinical Routine. Allergy, Asthma Clin Immunol 2016; 12:58

Eder K, Dietzel S, Harreus U, Mack B, Gühlich M, Eggert C, Berghaus A, Gires O, Canis M; An Intravital Multiphoton Microscopy Model for visualization of tumor cell dissemination and lymphatic vasculature. Cancer Research Frontiers. 2015 Apr; 1(2): 200-207. doi: 10.17980/2015.200

2. Originalarbeiten als Koautorin

Englhard AS, Holzer M, **Eder K**, Gellrich D, Gröger M; How reliable is anamnestic data in predicting the clinical relevance of house dust mite sensitization? Eur Arch Otorhinolaryngol. 2021 doi.org/10.1007/s00405-021-06862

Volgger V, Louza J, Gellrich D, **Eder K**, Gröger M; Value of Component Resolved Diagnostics to *Aspergillus fumigatus* in Patients with Upper Airway Complaints. *Int Arch Allergy Immunol*. 2021;182(2):120-130.

Gellrich D, **Eder K**, Högerle C, Becker S, Canis M, Gröger M; De novo sensitization during subcutaneous allergen specific immunotherapy - an analysis of 51 cases of SCIT and 33 symptomatically treated controls. *Sci Rep*. 2020; 10: 6048.

Gellrich D, **Eder K**, Englhard AS, Gröger M; Trends in aeroallergen sensitization in Germany – An analysis of 2919 serological data sets of a university ENT department. *Acta Oto-Laryngologica*. 2020 DOI: 10.1080/00016489.2020.1721559

San Nicolás M, Högerle C, Gellrich D, **Eder K**, Pfrogner E, Gröger M.; The time course of nasal cytokine secretion in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD) undergoing aspirin desensitization: preliminary data. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020 Feb;277(2):445-452

Gellrich D, **Eder K**, San Nicolás M, Berghaus A, Gröger M; The Clinical Impact of Bet v 6 in Birch Pollen-Sensitized Patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2017;173:34-43

San Nicolás M, Braun T, **Eder K**, Berghaus A, Gröger M; Clinical Relevance of IgE to Profilin and/or Polcalcin in Pollen-Sensitized Patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;169(2):101-7

Becker S, Rasp J, **Eder K**, Berghaus A, Kramer MF, Gröger M; Non-allergic rhinitis with eosinophilia syndrome is not associated with local production of specific IgE in nasal mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016 Jun;273(6):1469-75

König K, Klemens C, **Eder K**, San Nicolás M, Becker S, Kramer MF, Gröger M; Cytokine profiles in nasal fluid of patients with seasonal or persistent allergic rhinitis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2015 Sep 22;11(1):26

Unger J, Lohscheller J, Reiter M, **Eder K**, Betz CS, Schuster M; A noninvasive procedure for early-stage discrimination of malignant and precancerous vocal fold lesions based on laryngeal dynamics analysis. *Cancer Res*. 2015 Jan 1;75(1):31-9.

Mack B, Eggert C, **Eder K**, Imrich S, Baumeister P, Harréus U, Gires O; Rapid and non-enzymatic in vitro retrieval of tumour cells from surgical specimens. *PLoS One*. 2013;8(1)

Mazo IB, Honczarenko M, Leung H, Cavanagh LL, Bonasio R, Weninger W, **Engelke K**, Xia L, McEver RP, Koni PA, Silberstein PA, von Andrian UH; Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory CD8⁺ T cells. *Immunity*. 2005 Feb;22(2):259-70

Wolf K, Mazo I, Leung H, **Engelke K**, von Andrian UH, Deryugina EI, Strongin AY, Brouckebach EB, Friedl P; Compensation mechanism in tumor cell migration: mesenchymal-amoeboid transition after blocking of pericellular proteolysis. J Cell Biol. 2003 Jan 20;160(2):267-77

3. **Case Reports**

Ledderose GJ, Patscheider M, **Engelke K**, Suckfüll M; Recurrent serious posttonsillectomy hemorrhage. Laryngorhinootologie. 2010 Nov;89(11):664-5

4. **Reviews**

Keine

5. **Buchkapitel**

Keine

6. **Sonstige Veröffentlichungen**

Berghaus A., **Engelke K**; Therapien bei Tumoren der Mundhöhle. Münchner Merkur Nr. 294, 12/2009

7. **Zur Publikation angenommene Manuskripte**

Keine

Im Anhang die der Habilitation zu Grunde liegenden Publikationen:

<https://doi.org/10.1007/s00405-020-06264-5>

<https://doi.org/10.1159/000508522>

<https://doi.org/10.1186/s13223-018-0291-4>

<https://doi.org/10.1186/s13223-016-0163-8>

<https://doi.org/10.1159/000510285>

<https://doi.org/10.1159/000470843>

<https://doi.org/10.1159/000444279>