



MVZ Labor Dr. Limbach
HEIDELBERG

Pilzallergie

Prof. H. Hof
PEG
19./20.04.2024
Würzburg

Rolle von Pilzen als Krankheitsursache

► Infektion

Candidose
Aspergillose
Fusariose
Mucormykose
Pneumocystis Pneumonie
Dermatomykose



► Intoxikation

Ergotamin
Aflatoxin
Patulin



Mycophenolsäure
Ochratoxin
Trichothecene

► Allergie

Welche Pilze sind am häufigsten für Allergien verantwortlich?

- **Cladosporium**
- **Alternaria**
- **Penicillium**
- **Chaetomium**
- **Stachybotris**



Sporen von **Cladosporium**
(„Häschen“)

Standorte von Pilzen

Wachstum stark abhängig von Feuchtigkeit (a_w Wert);
Spezialisten

out door

- ▶ *Calosporium*
- ▶ *Alternaria*
- ▶ *Chaetomium*
- ▶ *Trichoderma*
- ▶ *Phoma*

in door

- ▶ *Asp. restrictus*
- ▶ *Asp. versicolor*
- ▶ *Stachybotrys*

Lebensmittel

- ▶ *Penicillium camemberti*
- ▶ *Penicillium roqueforti*
- ▶ *Monascus*

Feuchtigkeit

▶ A_w -Wert

<i>A. penicilliioides</i>	0.73 - 0.75
<i>A. restrictus</i>	0.71 - 0.75
<i>Eurotium spp.</i>	0.71 - 0.74
<i>Wallemia sebi</i>	0.69 - 0.75
<i>A. candidus</i>	0.75
<i>A. ustus</i>	-
<i>A. versicolor</i>	0.78
<i>A. sydowii</i>	0.78
<i>P. chrysogenum</i>	0.78
<i>P. citrinum</i>	0.80
<i>P. commune</i>	0.83
<i>P. brevicompactum</i>	0.78
<i>C. cladosporioides</i>	0.86 - 0.88
<i>Alternaria alternata</i>	0.85 - 0.88
<i>Ulocladium chartarum</i>	0.85 - 0.88
<i>Chaetomium globosum</i>	> 0.90
<i>Stachybotrys chartarum</i>	0.94
<i>Trichoderma spp.</i>	> 0.90

Stachybotrys chartarum (ein „Schwärzepilz“)

In Innenräumen nach Wasserschaden: es riecht modrig wegen MVOCs

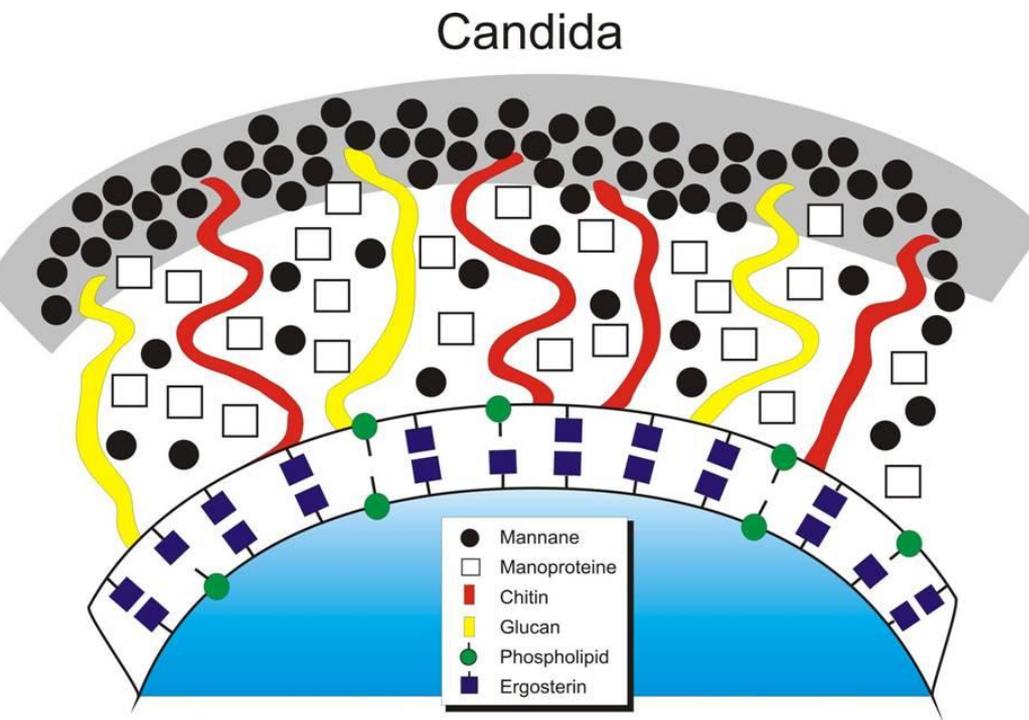


Die Konidien von Stachybotrys werden meistens nachts frei gesetzt.

Sie werden in die Luft geschleudert: **Ballistosporen**.

Übrigens: sie enthalten **Mykotoxine**

Lokalisation der Pilzallergene auf den vegetativen Pilzzellen



- ▶ Zellwangebunden:
Glycoproteine binden hauptsächlich an 1-6 β Glukan und zwar mit einem hydrophoben Anker, ähnlich dem 1-3 β Glukan werden **Proteine** mittels einem PIR Anker gekoppelt
- ▶ Intrazellulär: Proteine
- ▶ Extrazellulär: Enzyme wie z.B. **Enolase**: Kreuzreaktion möglich, denn viele Pilze haben ähnliche Enzyme (und sogar Bakterien)

Aber auch ungeschlechtliche **Konidien**
(Umgangssprache „Sporen“) enthalten Allergene

Alternaria alternata

Die Sporen sind klein und hydrophob; sie halten sich stundenlang in der Luft in einem Schwebезustand. Die Belastung der Luft kann man durch **Luftkeimmessung** belegen.



Die Pilzsporen sind jedoch keine **echten** Sporen, weil sie gegen Hitze und Desinfektionsmittel empfindlich sind

Fusarium



Die spindelförmigen Konidien von Fusarium werden auch nicht durch Luft verbreitet sondern z.B. durch Bienen, denn diese klebrigen Konidien haften an den haarigen Beinen.

Chaetomium

Die Konidien sind so groß, daß sie schnell zu Boden sinken und in der Luftkeimmessung nicht gefunden werden.

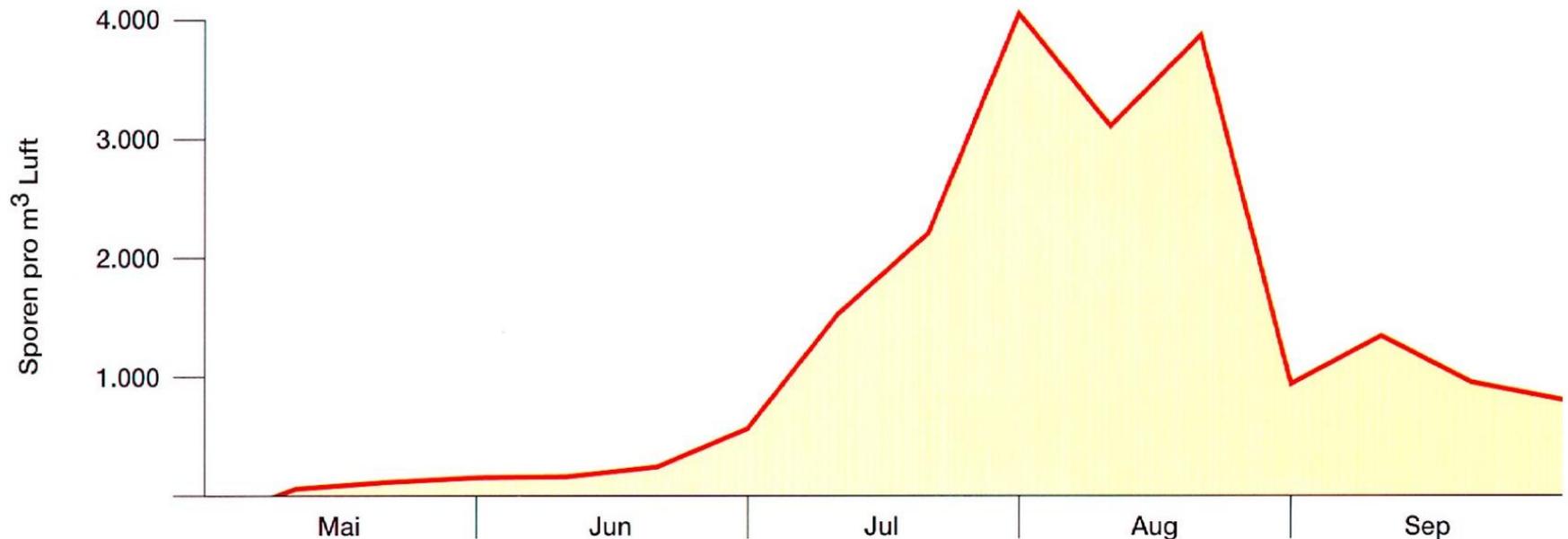
Also
„Luftkeimmessung“
entdeckt nicht alle
Pilzsporen

Saisonale Verteilung der Exposition bei **out door** Pilzen

(stark abhängig vom Wetter; Temperatur bzw. Feuchtigkeit)

Erhöhte Exposition während des Sporenflugs in der Zeit von Juni bis September

Der Sporenflug ähnelt dem Gräserpollenflug

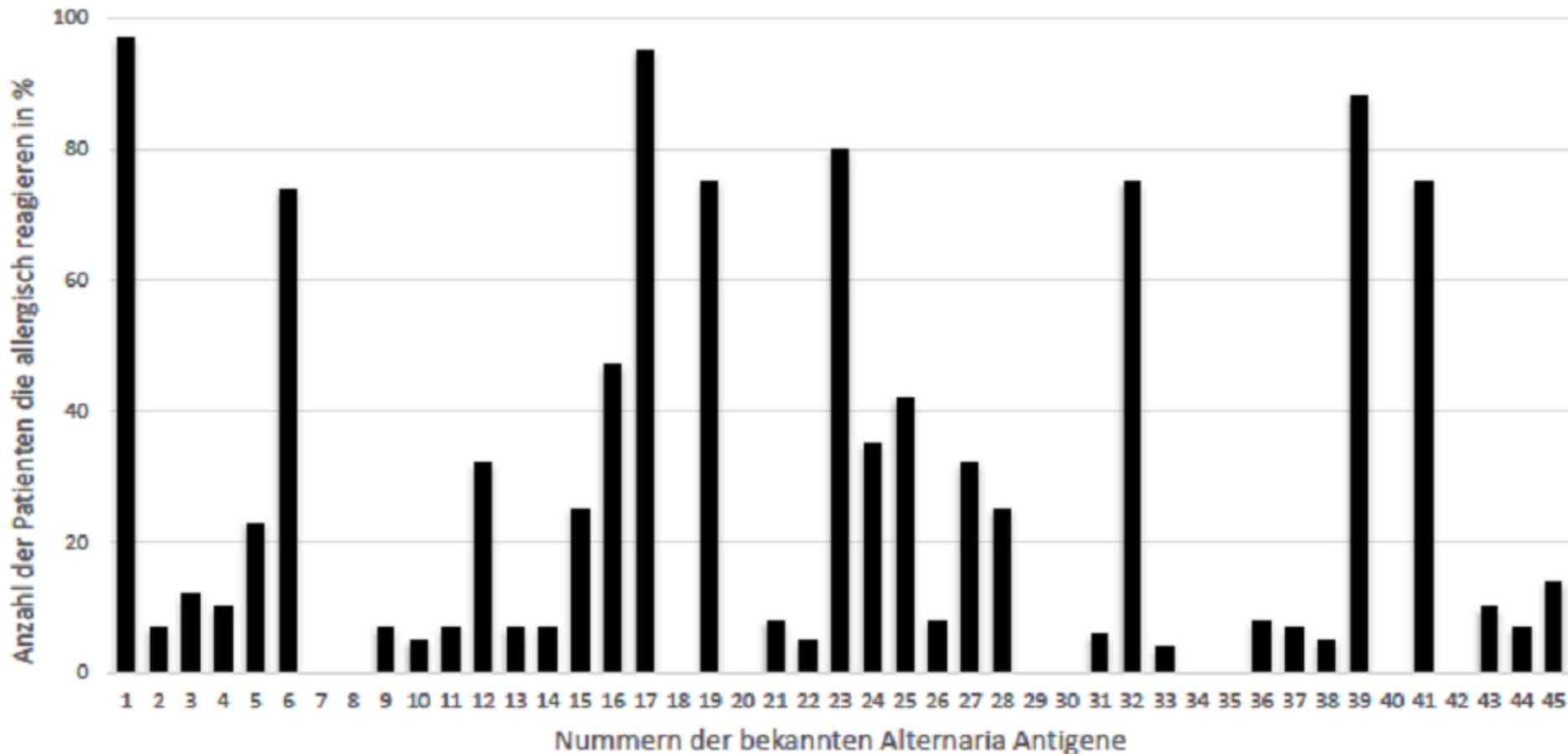


Schutz vor Exposition durch Tragen von Masken: Festanliegende FFP 1 Maske



Allergogramm von *Alternaria alternata*

Ein Pilz hat womöglich mehrere Allergene mit unterschiedlicher Potenz (major allergens)



Molekulare Eigenschaften einiger Pilzallergene (Hof, Pilzallergie. MTim Dialog, 2024)

Nicht alle Allergene stehen als Testantigene zur Verfügung!!!!

Auslöser	Allergen	Funktion
Alternaria alternata	Alt a 1	saures Glykoprotein
Alternaria alternata	Alt a 3	Heat Shock Protein 70
Alternaria alternata	Alt a 4	Disulfidisomerase
Alternaria alternata	Alt a 5	ribosomales Protein P2
Alternaria alternata	Alt a 6	Enolase
Aspergillus fumigatu	Asp f 1	Ribonuclease
Aspergillus fumigatus	Asp f 2	Fibrinogen bindendes Protein
Aspergillus fumigatus	Asp f 3	peroxysmales Membranprotein
Aspergillus fumigatus	Asp f 6	Mangan Superoxiddismutase
Aspergillus oryzae	Asp o 21	alpha Amylase
Cladosporium herbarum	Clad h 6	Enolase
Cladosporium herbarum	Clad h 8	Mannitol Dehydrogenase
Penicillium chrysogenum	Pen ch 13	alkalische Serin Protease
Stachybotrys chartarum	Sta c	Hämolyisin

Kreuzallergie

„Außenluft-Arten“: „Innenraum-Arten“	<i>Alternaria alternata</i> (n = 10)	<i>Aspergillus fumigatus</i> (n = 15)	<i>Cladosporium herbarum</i> (n = 7)	<i>Fusarium culmorum</i> (n = 3)	<i>Penicillium brevicompactum</i> (n = 1)	<i>Fusarium solani</i> (n = 1)	<i>Penicillium chrysogenum</i> (n = 3)	<i>Penicillium citrinum</i> (n = 8)
<i>Glycoprotein</i>	Alt a 1 (28)							
<i>HSP 70</i>	Alt a 2d (28)							
<i>Proteindisulfid-Isomerase</i>	Alt a 3							
<i>Enolase</i>	Alt a 4 (57)							
<i>Saures Ribosomales Protein P2</i>	Alt a 5 (45)		Clah 6 (48)					
<i>YOP4</i>	Alt a 6 (11)	Asp f 8 (11)	Clah 4 (11)	Fusc 1 (11)		Fuss 1 (65)		
<i>Enolase</i>	Alt a 7 (22)		Clah 5(22)					
<i>Aldehydehydrogenase</i>	Alt a 10 (53)	Asp f 22	Clah 3 (53)					Pen c 22 (46)
<i>Saures Ribosomales Protein P1</i>	Alt a 11 (45)		Clah 12 (11)					
<i>Vakuoläre Serinprotease</i>	Alt a 12 (11)	Asp f 18 (34)					Pen chr 18 (32)	Pen chr 2 (39)
		Asp f 1 (17)					Pen chr 13 (34)	Pen c 13
		Asp f 2 (37)						
		Asp f 3 (19)	Gah 1 (13)	Fusc 2		Fusc 2 (13)	Pen chr. 20 (68)	
		Asp f 4 (30)	Gah 2 (20-22)	Fusc 3		Fusc 3		
		Asp f 5 (42)						
		Asp f 6 (23)						
		Asp f 9 (31)						
		Asp f 10 (34)						
		Asp f 11 (19)						
		Asp f 12 (65)						
		Asp f 13 (34)						
		Asp f 15 (20)						

•Außenluft-Arten

•Innenraum-Arten

Manifestation einer Allergie nach inhalativer Exposition:

Rhinitis

Asthma pulmonale



Konsequenzen

- > Aus einer allergischen Rhinitis kann schnell ein Asthma werden, besonders, wenn sie nicht behandelt wird.
- > Bei früher Diagnose reichen meist Karenz-Empfehlungen
- > Gezielte Diagnostik erleichtert Diagnose und Anwendung der richtigen **spezifischen Immuntherapie (SIT)**
- > Die richtige Therapie verbessert schnell die Beschwerden und sorgt für mehr Lebensqualität

Allergiediagnostik

Testergebnisse mit ImmunoCAP

Gesamtextrakt

Allergen	slgE (kU _A /l)
Birke	5
Hausstaubmilbe	1
<i>Alternaria</i>	20
<i>Cladosporium</i>	1
<i>Penicillium</i>	3
<i>Aspergillus</i>	12

Die Testergebnisse zeigen Sensibilisierungen gegen mehrere Allergenquellen.

Testergebnisse mit ImmunoCAP

Allergenkomponenten

Allergen	Komponente	slgE (kU _A /l)
Birke	Bet v 1	6
<i>Alternaria alternata</i>	Alt a 1	18
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Asp f 1	2
	Asp f 2	1
	Asp f 3	0
	Asp f 4	0
	Asp f 6	0

Das Repertoire an Allergenantigenen, die getestet werden können, ist von Labor zu Labor unterschiedlich!

Allergien durch Lebensmittel

Exposition gegenüber den Allergenen durch Ingestion



Penicillium roquefortii

Der rote Farbstoff in „rotfermentiertem“ Reis



Monascus purpureus



Diagnostik

- ▶ Gesamt IgE: ELISA
- ▶ Pricktest:

Rötung, Juckreiz und Quaddelbildung treten innerhalb von 5 bis 60 Minuten auf und weisen auf eine mögliche Allergie gegen das in der Testlösung enthaltene Allergen hin. Meist wird nach 20 Minuten abgelesen. Die Stärke der Reaktion kann man **semiquantitativ** auf einer Skala 0 bis ++++ bewerten.



Zellulärer Antigenstimulationstest (CAST)

- ▶ Ein Test zur quantitativen In-vitro-Test Bestimmung von Sulfidoleukotrien LTC₄ (mit Metaboliten) und LTE₄ im EDTA-Blut.
- ▶ **Klinische Indikation:**
- ▶ Nachweis allergischer und pseudoallergischer, nicht IgE-vermittelter Reaktionen (insbesondere bei Medikamentenunverträglichkeit)
- ▶ Der zelluläre Antigenstimulationstest beruht auf dem Nachweis spezieller Entzündungsmediatoren im Blut (sog. Sulfidoleukotriene), ausgeschüttet von u.a. basophilen und eosinophilen Granulozyten nach Aktivierung durch Antigenkontakt. Bei den basophilen und eosinophilen Granulozyten handelt es sich für gewöhnlich um Zellen der Immunabwehr von Parasiten, sie werden zu den Leukozyten gezählt. Mit dem CAST können allergische sowie pseudoallergische, nicht IgE-vermittelte Reaktionen insbesondere gegenüber Medikamenten, Insektengiften, Nahrungsmitteln/Nahrungsmittelzusätzen, Inhalations- und Umweltallergenen, etc. nachgewiesen werden.
- ▶
- ▶ **Testprinzip:**
Im CAST-2000-ELISA (Fa. Bühlmann) werden sedimentierte Leukozyten mit Interleukin 3 und Antigen stimuliert und die Konzentration des synthetisierten Allergen-Mediators Leukotrien LTC₄ quantitativ gemessen.
- ▶ Die Methode ist ein Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay.

Penicillinallergie

Penicillinallergie: gibt's die?

- ▶ Viele Patienten, die angeben sie hätten eine Penicillinallergie, sind gar nicht allergisch: oft „**incorrectly and over-diagnosed**“ **Delabeling der Penicillinallergie!**
- ▶ Krishna MT, Bhogal R, Ng BY, Kildonaviciute K, Jani YH, Williams I, Sandoe JAT, Pollard R, Jones N, Dunsmure L, Powell N, Hullur C, Balaji A, Moriarty C, Jackson B, Warner A, Daniels R, West R, Thomas C, Misbah SA, Savic L. A multicentre observational study to investigate feasibility of a direct oral penicillin challenge in de-labelling 'low risk' patients with penicillin allergy by non-allergy healthcare professionals (SPACE study): Implications for healthcare systems. *J Infect.* 2024 Mar;88(3):106116.
- ▶ Koch T, Leubner H, Brehm T, Witte J. Penicillinallergie: sicher und effektiv ausschließen. *Dt. Ärzteblatt* 2023; 120: A-822/B-699
- ▶ ggf. oraler Belastungstest
- ▶ Die Kreuzallergie gg. Cephalosporine ist gering
- ▶ Verschwindet mit der Zeit

Fazit

Fazit

- ▶ ~~Im Grunde kann jeder Pilz eine Allergie auslösen (also ca. 1,4 Millionen Arten)~~
- ▶ Die Nomenklatur ist schwierig und ständig im Fluß
- ▶ Anamnese: beruflicher Umgang mit speziellen Pilzarten und damit starke Exposition
- ▶ Praktisch sind allerdings nur wenige Pilze von allgemeiner Bedeutung
- ▶ Aerogene Exposition und Lebensmittelbedingte Auslöser
- ▶ Ein Pilz kann viele verschiedene Allergene beinhalten, wovon einige dominierend sind
- ▶ Viele Kreuzreaktionen
- ▶ Gereinigte Antigene sind selten; meist werden Mischantigene für Testzwecke verwendet; nicht alle kommerziell erhältlich
- ▶ Etwa 3% der Bevölkerung haben eine manifeste Pilzallergie
- ▶ Laborteste (IgE; IgG) bzw. weitere Testverfahren
- ▶ Pricktest
- ▶ Kultureller Nachweis von Pilzen

▶ Meist draußen: Hochzeit Spätsommer/Herbst

- > Alternaria (Lebensmittel/Kartoffeln, Tapeten, Textilien, Blättern)
- > Cladosporium (Mauerwerk...)
- > Auslöser: Luftfeuchtigkeit, aufwirbeln durch Rechen, Laufen...

▶ Meist drinnen:

- > Aspergillus (auf verwesenden Pflanzenteilen)
- > Penicillium (im Boden, auf Früchten, in der Nahrung, in der Luft)
- > Auslöser: u.a. vorangeschrittene Isolierung und unzureichender Lüftung!
 - » verschlossenen Sommerhäusern
 - » feuchten Kellern
 - » Badezimmern mit schlechter Belüftung
 - » Tapeten an kalten Wänden
 - » Fensterrahmen mit häufiger Kondensation
 - » feuchter Kleidung
 - » Lebensmitteln
 - » Filter von Luftbefeuchtern, Brunnen etc.
 - » Sporen im Hausstaub, Teppichen, Polstermöbeln etc.
- > Ca. 40% der Bevölkerung weltweit soll gegen Allergene des Innenraums sensibilisiert sein.

ABPA

(**a**llergisch **b**ronchopulmonale **A**spergillose)

ABPA Klinik

- ▶ Eine besondere Stellung unter den Pilzallergien nimmt die ABPA ein. Vor allem bei Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen, wie Asthma, COPD und Mukoviszidose, werden solche Krankheitsverläufe manifest.
- ▶ Eine klinische Symptomatik kann zwar anfangs fehlen oder sich mit unspezifischen Beschwerden, wie Fatigue, äußern. Aber meist bestehen subfebrile Temperaturen, zunehmender Gewichtsverlust, Dyspnoe (Verschlechterung der Sauerstoffversorgung) und pleuritische Brustschmerzen. Das Sputum ist bräunlich-schleimige und evtl. blutig tingiert .



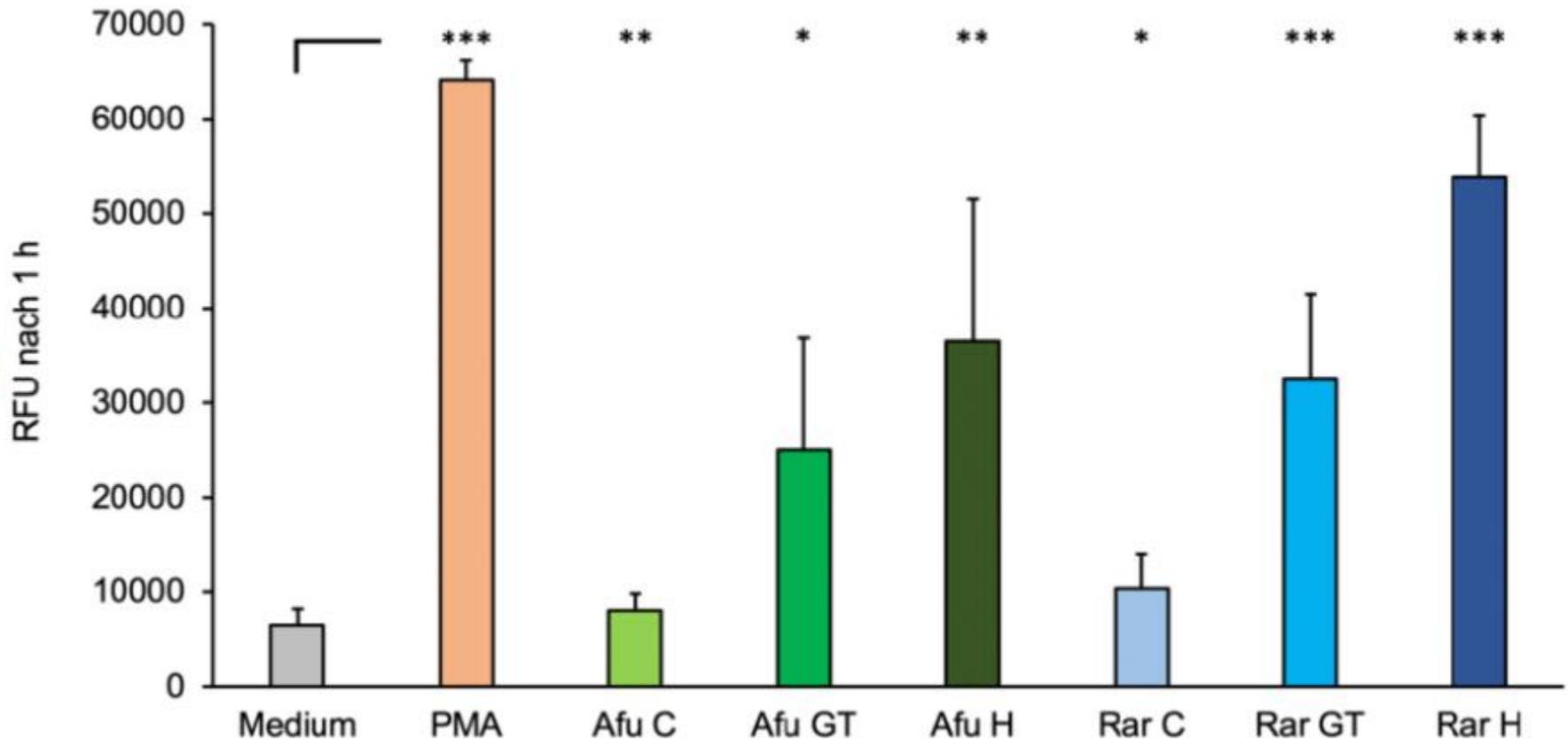
ABPA Pathogenese

- ▶ Ursache sind Kolonisierungen der Atemwege mit *Aspergillus fumigatus* (seltener sind andere Schimmelpilze die Ursache) und lokale Invasionen begleitet von heftigen Entzündungen.
- ▶ Die Immunreaktionen, charakterisiert durch eine Th2 Immunreaktion, zusammen mit direkten toxischen Effekten des Pilzes führen zur Zerstörungen der Atemwege, so dass nach Reparatur **Bronchiektasen** und Fibrosen übrig bleiben.
- ▶ Typische histologische Kennzeichen dieser Pilzerkrankung durch Hypersensibilisierung sind **eosinophile Entzündungsreaktionen**. Die eosinophilen Granulozyten schütten ROS (**reactive oxygen species**) d.h. von Sauerstoffradikalen, Zytokine (z.B. IL4) und Chemokine (z.B. CCL3) aus, welche einerseits die Invasion und Vermehrung der Aspergillen hemmen, aber andererseits auch die Entzündung verstärken.

ABPA Diagnostik

- ▶ Kultureller Nachweis der Pilze aus Sputum
- ▶ Im Blutbild typ. Eosinophilie
- ▶ Gesamt IgE im Serum erhöht
- ▶ Spezifische IgE gg. **Asp f4** und **Asp f6** im Blut mittels Immunocap^R
- ▶ Spezif. Antikörper der Klasse IgG sind ebenfalls vorhanden, was für eine Typ III Allergie spricht

Oxidativer Burst durch *A. fumigatus* bzw. *Rhizopus arrhizus* (Thiele Wzb, 2021) (neutrophile Granulozyten)



Hyphen stimulieren die Bildung von ROS=reactive oxygen species, also Sauerstoffradikale)

 MVZ Labor Dr. Limbach
HEIDELBERG