

» Die allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA)

Zusammenfassung: Die allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA) ist die häufigste allergische bronchopulmonale Mykose bei Menschen. Die Diagnose des komplexen Krankheitsbildes basiert auf dem Nachweis definierter Kriterien. 5 klinische Stadien der ABPA werden unterschieden. Der Nachweis bzw. die Ausprägung der definierten Kriterien ist in den verschiedenen klinischen Stadien unterschiedlich. Dies kann die Diagnose der ABPA erschweren. Insbesondere ist die Unterscheidung der ABPA in der Remission (Stadium II) vom allergischen Asthma mit *Aspergillus fumigatus* Sensibilisierung schwierig und kann ein wichtiges Problem sein. Die frühe Diagnose der ABPA in einem Stadium noch ohne persistierende Veränderungen der Bronchialwand und Destruktionen des Lungparenchyms ist sehr wichtig, um die schweren Endstadien der Erkrankung zu verhindern. Die bisher in der Diagnostik benutzten, kommerziellen Allergenextrakte sind nicht optimal standardisiert, zeigen „batch to batch“-Variationen, was zu einem Mangel an Reproduzierbarkeit der Untersuchungen führen kann. Die Möglichkeiten und Grenzen der bisher durchgeführten diagnostischen Verfahren zur Diagnose der ABPA werden beschrieben. Die Produktion einer Anzahl rekombinanter Allergene des *Aspergillus fumigatus* und ihre In-vivo- und In-vitro-Evaluation bringt die frühe und präzise Diagnose der ABPA einen wichtigen Schritt weiter. Die für die präzise Diagnostik wichtigen rekombinanten Allergene sind jetzt für die Routinebestimmung im CAP-System erhältlich.

Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis (ABPA): ABPA is the most common allergic bronchopulmonary mycosis in humans. The diagnosis of the complex disease is based on defined criteria. Five clinical stages of ABPA were proposed. The extend of the defined criteria varies in the different stages, thus making diagnosis difficult. Particularly the discrimination of ABPA in remission stage (stage II) and allergic asthma with A – sensitization may be an important problem. Early diagnosis in stages without persistent changes of bronchial wall and lung parenchyma is needed to prevent severe end stages of ABPA. The up to now widely used commercial (crude) allergen extracts for in vitro and in vivo diagnosis show batch to batch variation, insufficient standardization and lack of reproducibility. Potentials and limitations of routine diagnostic procedures in ABPA are described. The production of a panel of recombinant allergens of *A. fumigatus* and their evaluation for in vivo and particularly

G. Menz¹, G. Willer¹, R. Cramer²

¹ Hochgebirgsklinik Davos Wolfgang/Schweiz, Abteilung Pneumologie II (Chefarzt: Dr. med. G. Menz)

² Schweizerisches Institut für Allergie- und Asthmaforschung (SIAF), Davos/Schweiz (Direktor: Prof. Dr. phil II K. Blaser)

in vitro use has brought an important step forward in the early and precise diagnosis of ABPA. A panel of recombinant allergens is now available for routine assay in CAP-System.

Einleitung

Aspergillus (A.) gehört zu den ältesten und am häufigsten vorkommenden Pilzspezies [1,2,3]. Diese Untergruppe der Ascomyceten wurde namentlich erstmals 1792 von Micheli beschrieben (*aspergere* = zerstreuen, ausstreuen) [4].

Die mehreren hundert verschiedenen *Aspergillus*-Spezies kommen ubiquitär vor, von der Arktis bis zu den Tropen [5,6]. Sie sind in der Regel wenig pathogen. Nur wenige, unter ihnen *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* und *A. terreus*, können Krankheiten bei Mensch und Tier verursachen. Der Nachweis von *Aspergillen* im Sputum gesunder Menschen ist nichts ungewöhnliches [7]. Bei normaler Immunitätslage des befallenen Organismus werden die inhalierten Sporen durch Alveolarmakrophagen und die mukoziliäre Clearance eliminiert. Ganz anders ist die Situation bei immunsupprimierten Menschen, bei Allergikern oder auch bei besonders intensiver Exposition gegenüber pathogenen *Aspergillen*. Dabei können *Aspergillen* ihre pathogene Wirkung entfalten und sehr unterschiedliche Krankheitsbilder hervorrufen.

Aspergillus-assoziierte Erkrankungen des Respirationstraktes

Die klinische Manifestation der Erkrankung ist abhängig vom Immunstatus des Wirtsorganismus, von bereits vorhandenen Schädigungen der Lungenarchitektur oder Störungen der mukoziliären Clearance sowie der Intensität der Exposition.

Aspergillus-assoziierte Erkrankungen des Respirationstraktes können so unterteilt werden in invasive (Infektions-)Erkrankungen, allergische Erkrankungen und saprophytische Kolonisation (Tab. 1).

Allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA)

Definition und Häufigkeit

Die ABPA ist die häufigste bronchopulmonale Mykose bei Menschen. Sie wird üblicherweise durch *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*), seltener auch von anderen *Aspergillus*-Spezies verursacht [8].

Tab. 1 Aspergillus assoziierte Erkrankungen der oberen und unteren Atemwege

	Immunstatus
Invasive pulmonale Aspergillose [84–90]	immunsupprimiert
Chronische nekrotisierende Pneumonie [91,92]	nicht-immunsupprimiert
Invasive Aspergillus-Sinusitis [93]	immunsupprimiert
Nicht-invasive Aspergillus-Sinusitis [93]	nicht-immunsupprimiert
Aspergillom [94–99]	nicht-immunsupprimiert/ Kavernen
Allergische Rhinitis [100]	nicht-immunsupprimiert/ Atopiker
Allergische Aspergillus-Sinusitis [101–106]	nicht immunsupprimiert/ Atopiker/Nasenpolypen
Exogen Allergische Alveolitis (EAA) [107–111]	nicht-immunsupprimiert
Allergisches Asthma bronchiale (IgE vermittelt) [91]	nicht-immunsupprimiert/ Atopiker
Allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA) [28,40,112–116]	Atopiker/CF/Bronchiektasen

Die ABPA wurde 1952 von Hinson et al. erstmals als Krankheitsentität beschrieben [9] und in den folgenden Jahren zunächst als selten erachtet [10]. Heute wird die ABPA durch das zunehmende Verständnis der zugrundeliegenden Pathomechanismen und die verbesserten serologischen [11–16] und radiologischen [17–22] Untersuchungsmethoden besser definiert und auch etwas häufiger diagnostiziert [23]. Bei Patienten mit Mukoviszidose wurde die ABPA erstmals 1965 beschrieben [24].

Bis heute stellt die ABPA jedoch ein klinisches Syndrom dar, dessen Diagnose durch den Nachweis einzelner typischer Kriterien, klinischer, labortechnischer und radiologischer Art (siehe unten) gestellt werden muss. Dies kann in weniger akuten Krankheitsstadien schwerfallen. Moderne Methoden der Molekularbiologie mit der Möglichkeit der Produktion rekombinanter Allergene und ihre Anwendung in der Diagnostik der ABPA eröffnen uns hier neue Möglichkeiten [14–16,25]. Wir werden in diesem Artikel später genauer darauf eingehen.

Aus Deutschland und Mitteleuropa liegen keine Angaben zur Prävalenz der ABPA vor. Untersuchungen aus den USA ergaben bei unausgewählten Asthmatikern eine Prävalenz von 7 bis 14% [26]. Bei Patienten mit steroidpflichtigem Asthma und *A. fumigatus*-Sensibilisierung soll nach englischen Angaben der Anteil 15 bis 22% betragen [27].

Eine weitere prädisponierte Gruppe neben den Asthmatikern sind Patienten mit Mukoviszidose (cystische Fibrose = CF). Hier wird die Prävalenz unter den Patienten mit *A. fumigatus*-Sensibilisierung mit bis zu 23% angegeben [28,29,30,31].

Die Diagnose der Erkrankung, die sich bereits im Kindesalter, aber auch im Jugendlichen- oder Erwachsenenalter manifestieren kann, wird häufig erst Jahre nach Beginn der Erkrankung gestellt [32,33]. Insbesondere wegen des potentiell

schweren, progredienten Verlaufes ist eine frühzeitige Diagnosestellung wichtig, da sie unbehandelt zu schwerer Destruktion der Lunge führt.

Pathomechanismen

Die Krankheitsentität ABPA ist das Resultat immunologischer Entzündungsreaktionen im Bereich der Bronchien und dem umgebenden Lungenparenchym.

Immunologisch aktiv sind im Bronchialbaum mehrerer Antigene, die von *A. fumigatus* freigesetzt werden. Die Aspergillen wachsen in mukösen Pfröpfen in den Atemwegen von Asthmatikern und Mukoviszidose-Patienten, Mycelien wachsen auch in der Schleimhaut.

Die immunologisch aktiven Substanzen, die vom Wirtsorganismus produziert werden, umfassen IgE-, IgG- und IgA-Antikörper [34,35], die in die bronchiale Mukosa und ins Bronchiallumen gelangen. Dieses Nebeneinander von Antigenen und den reaktiven Produkten des Wirtsorganismus in den Bronchien und dem umgebenden Lungenparenchym resultiert in zumindest zwei Typen einer allergischen Reaktion: Erstens die IgE-vermittelte Reaktion (Typ-I nach Coombs und Gell) [36], die Mastzellen und zusätzlich eosinophilen Leukozyten, T-Lymphozyten und Makrophagen involviert. Diese werden durch Freisetzung von Mediatoren rekrutiert. Weiter resultiert die toxische Reaktion von Antigen-Antikörperkomplexen mit Komplement (Typ-III nach Coombs und Gell).

Diese beiden Typen der allergischen Reaktion laufen wohl gleichzeitig ab [37]. Die immunologisch-entzündlichen Vorgänge zerstören das Bronchialepithel, die bronchiale Submukosa und das umliegende Lungenparenchym. Bei der unbehandelten ABPA entsteht so die zentrale (proximale) Bronchiektasie und die Fibrosierung des Lungenparenchyms [37], aber auch bei vermeintlich adäquater Behandlung können irreversible Organschäden eintreten.

Das klinische Krankheitsbild

Die Diagnose der ABPA wird aus Anamnese, klinischen Befunden, Hauttests, serologischen Untersuchungen und radiologischen Veränderungen gestellt.

Es hat sich bewährt, die diagnostischen Kriterien von Henderson, Patterson und Greenberger zu verwenden. Diese sind gegenüber der Beschreibung von Safirstein et al. [38] und Rosenberg et al. [39] modifiziert und etwas erweitert (Tab. 2).

Von Pädiatern werden die Kriterien nach Nelson et al. [40] für die klinische Diagnose der ABPA bei CF häufig verwendet. Sie umfassen „wheezing“, Lungeninfiltrate, positive Sputumkultur auf *A. fumigatus*, Sofortreaktion im Hauttest auf *A. fumigatus*, erhöhtes Gesamt-IgE, spezifisches IgE und spezifisches IgG gegen *A. fumigatus* und den Nachweis von Präzipitinen gegen *A. fumigatus*. Für die Diagnosestellung sollten sechs der sieben Kriterien nachweisbar sein.

Die Anzahl der positiven Kriterien und die Ausprägung sind abhängig vom Stadium der Erkrankung. Hierdurch kann die Diagnose erschwert sein und insbesondere die Abgrenzung

Tab. 2 Kriterien der ABPA

Hauptkriterien	
1	Asthma bronchiale/zystische Fibrose
2	akute/vorbeschriebene Lungeninfiltrate
3	Sofortreaktion im Hauttest auf A. fum.
4	erhöhtes Gesamt-IgE
5	Präzipitine gegen A. fum.
6	Bluteosinophilie
7	zentrale Bronchiektasen
8	spezifisches IgE und spezifisches IgG gegen A. fum.
Nebenkriterien	
Aspergillus-Nachweis im Sputum	
Expektorat von braunen Sputumpfropfen	
Spätreaktion im Hauttest auf A. fum.	

Modifiziert nach Safirstein et al. [38], Rosenberg et al. und Patterson et al. [39]

vom allergischen Asthma bronchiale mit A. fumigatus-Sensibilisierung Probleme bereiten. Das Gleiche gilt für die Differentialdiagnose zwischen ABPA bei CF und CF mit A. fumigatus-Sensibilisierung, insbesondere in der Phase der Remission der ABPA.

Wir verwenden die klinische Stadieneinteilung nach Patterson et al. [41].

Die Erstmanifestation der ABPA wird als Stadium I bezeichnet. Bei zwei Drittel der Patienten sind akutes Auftreten von Symptomen und schubartiger Verlauf typisch, bei einem weiteren Drittel verläuft die Erkrankung in diesem Stadium subklinisch und relativ asymptomatisch. Symptome der akuten Manifestation sind die Zunahme der bronchialen Obstruktion, Fieber über mindestens 3 Tage, purulentes Sputum, Thoraxschmerzen und zähes bräunlich verfärbtes Sputum [39,40]. Hämoptysen, Pleuritis sicca, Pleuraergüsse und Pneumothorax sind selten [43].

Stadium II der Erkrankung ist die Remission. Sie ist gekennzeichnet durch einen Rückgang des während Stadium I stark erhöhten Gesamt-IgE und des spezifischen IgG gegen A. fumigatus [44], durch Symptomregredienz und Rückbildung der flüchtigen radiologischen Veränderungen [19].

Die Exazerbation der ABPA wird als Stadium III bezeichnet. Dieses Stadium ist durch die Anamnese von Stadium I zu differenzieren. Exazerbationen können auch nach Jahren der Remission unvermittelt auftreten [45].

Patterson et al. definieren Stadium IV als kortikoidpflichtiges Asthma [26,46]. Heute, das viele früher systemisch-steroidpflichtige Asthmatiker unter hochdosierter Medikation mit modernen inhalativen Steroiden ohne systemische Steroide auskommen, ist diese Definition eines ABPA-Stadiums kritisch zu sehen, evtl. auch irreführend.

Das Endstadium der ABPA kann Stadium V, die Fibrose darstellen [47]. Pulmonale Insuffizienz und Cor pulmonale führen zu schwerstem Krankheitsverlauf und schließlich zum Exitus letalis.

In den letzten Jahren wurde mit dem Begriff der „seropositiven ABPA“ (ABPA-S) ein weiteres Stadium eingeführt [48]. Bei diesem Stadium ist die zentrale Bronchiektasie noch nicht nachweisbar (HR-CT-Untersuchung). Alle diagnostischen Möglichkeiten sollten heute deswegen genutzt werden, um insbesondere dieses frühe Stadium zu erkennen und durch konsequente Therapie eine Progredienz aufzuhalten (Tab. 3).

Radiologie der ABPA

Die radiologischen Veränderungen der ABPA können in akute (flüchtige) und bleibende Veränderungen eingeteilt werden. Akute Veränderungen sind z.B. flüchtige Lungeninfiltrate und/oder homogene Konsolidierungen [19,20].

Gloved-finger shadows (Fingerhandschuh-Schatten) sind Darstellungen erweiterter und mit Sekret gefüllter Bronchien.

diagnostische Kriterien	ABPA-S	Stadien				
		I akut	II Remission	III Exazerbation	IV kortikoidpflichtiges Asthma	V Fibrose
1. Asthma	+	+	+	+	+	+
2. röntgenolog. Infiltrate/ Abnormalitäten	±	+	±	+	±	+
3. kutane Sofortreaktion auf Aspergillus fumigatus	+	+	+	+	+	+
4. hohes total-Serum IgE	++	+++	±	+++	±	±
5. Präzipitine auf A. f.	+	+	±	+	±	±
6. periphere Bluteosinophilie	±	+	-	+	±	-
7. proximale Bronchiektasie	-	+	+	+	+	+
8. erhöhtes Serum IgE A. f. und IgG A. f.	+	+	±	+	±	±

Tab. 3 Diagnostische Kriterien der ABPA in den Stadien der Erkrankung

Tooth-paste shadows (Zahnpasta-Schatten) sind 2 bis 3 cm lange Darstellungen von gering erweiterten Bronchien mit Sekretfüllung. Beide Veränderungen sind Manifestationen von mucoid-impaction, die nach Hustenattacken und/oder Behandlung mit systemischen Steroiden verschwinden können.

Weitere typische Veränderungen sind perihiläre Infiltrate, der Adenopathie nicht unähnlich, während Pleuraergüsse und Pneumothorax sehr selten gesehen werden [43, 49].

Eine bleibende Veränderung sehr typischer Art ist die zentrale (proximale) Bronchiectasie. Auf der konventionellen Thoraxübersichtsaufnahme können dabei proximale tubuläre Schatten oder Ringschatten gesehen werden, in der Computertomographie Siegelringzeichen oder das Perlschnurphänomen (Abb. 1). Die zentrale Bronchiectasie gilt als pathognomonisch für die ABPA. Sie bevorzugt die mittleren und besonders die oberen Etagen der Lungen [19, 50]. Eine unauffällige konventionelle Röntgenaufnahme schließt das Vorhandensein von bronchialdeformierenden Prozessen nicht sicher aus. Die radiologische Untersuchungsmethode mit der höchsten Nachweisquote ist die High-resolution-Computertomographie (HR-CT), die auch gegenüber der konventionellen Computertomographie Vorteile aufweist [17] (Tab. 4).

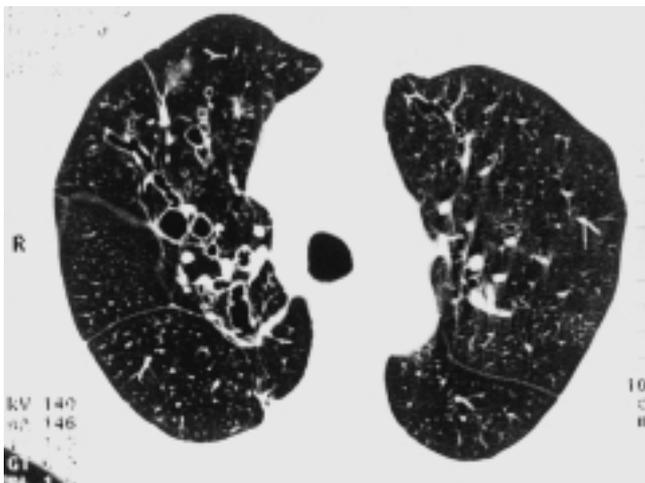


Abb. 1 Projektionsabhängige Darstellung zentraler Bronchiectasie bei ABPA.

Allergologische In-vivo- und In-vitro-Diagnostik

Hauttests sind etablierte diagnostische Screeningverfahren. IgE-vermittelte allergische Sofortreaktionen [51] werden sowohl bei einem Asthma mit *A. fumigatus*-Sensibilisierung wie auch bei der ABPA beobachtet. Eine kutane Spätreaktion ist jedoch bei der ABPA häufiger zu sehen.

Wie die serologischen Untersuchungsmethoden sind Prick- und Intrakutantestung stark abhängig von Standardisierung und Konstanz der verwendeten Allergenextrakte [52], was besonders bei Schimmelpilzextrakten bekannterweise ein Problem sein kann (siehe unten). Wird klinisch und radiologisch eine ABPA vermutet, aber Hauttest und auch Serologie sind negativ, muss an die Möglichkeit einer durch einen anderen Pilz als *A. fumigatus* verursachten allergischen bron-

Tab. 4 Radiologie der ABPA [19, 55, 79]

Akute (flüchtige) Veränderungen

Infiltrate
homogene Konsolidierungen
tram-line shadows
toothpaste shadows
gloved finger shadows
perihiläre Infiltrate
Pneumothorax (selten)
Pleuraerguss (selten)

Bleibende Veränderungen

proximale (zentrale) Bronchiectasen
lokales Emphysem
Lungenschrumpfung
Fibrose

chopulmonalen Mykose (ABPM) gedacht werden [53–58]. Die Diagnosestellung kann hierbei aufgrund der großen Zahl der infrage kommenden Allergene und dem Fehlen standardisierter Allergene erhebliche Probleme bereiten.

Aktueller Stand der serologischen Routinediagnostik

Das Prinzip der In-vitro-Immundiagnostik basiert allgemein auf dem Nachweis zirkulierender Antikörper gegen spezifische Antigene/Allergene. Der positive Nachweis und die Konzentration verschiedener Immunglobulin-Isotypen spiegeln die immunologische Antwort des Patienten gegenüber der Exposition wider. Für eine zuverlässige und reproduzierbare serologische Diagnostik sind standardisierte Allergene erforderlich [59, 60].

Die Herstellung standardisierter Allergenextrakte von *A. fumigatus* aus natürlichen Quellen wird durch eine Vielzahl verschiedener Probleme erschwert.

Ein wichtiger Grund hierfür ist die zeitabhängige Expression verschiedener Proteine während des Pilzwachstums [61]. Eine weitere Komplikation stellt die rapide Änderung IgE-bindender Komponenten während der Fermentation dar [62].

A. fumigatus produziert mehr als 70 verschiedene Allergene [63–65]. Die Optimierung der Wachstumsbedingungen für die Produktion einer großen Zahl von Proteinen ist also nur schwer möglich. Immunoblots mit Seren von Patienten, die an unterschiedlichen *A. fumigatus*-assoziierten Erkrankungen litten, zeigten, dass die Patienten sehr unterschiedliche Konstellationen „erkannten“ (Immunopattern) [13, 66]. Auch produziert *A. fumigatus* zwei bis drei verschiedene Proteasen in einer pH-Bandbreite von 2 bis 10. Diese sind aktiv in den Extrakten. Deshalb sind sogar möglicherweise weitgehend standardisierte Extrakte über eine längere Zeit sicherlich nicht stabil, was mit dem Gehalt an proteolytischen Enzymen zusammenhängt. Neben diesen Problemen werden Qualität und Stabilität von Extrakten auch noch durch weitere Faktoren beeinflusst (Tab. 5).

Die in der klinischen Routinediagnostik bisher genutzten, kommerziell erhältlichen *A. fumigatus*-Gesamtextrakte sind in der In-vivo- und In-vitro-Diagnostik aus genannten Gründen nur begrenzt zuverlässig. Für die meisten Untersucher aber gibt es z.Z. noch keine echte Alternative [67]. Aufgrund der dargestellten Komplexität und Variabilität von Schimmelpilzallergenen im allgemeinen und *A. fumigatus*-Allergenen im besonderen ist die Standardisierung solcher Präparate eine außerordentlich anspruchsvolle und verantwortungsvolle Aufgabe. Die Lösung fordert von den Herstellern kommerzieller Extrakte intensive Forschungs- und Entwicklungsarbeiten. Die Produktion relevanter rekombinanter Allergene wird dabei in der Zukunft eine wichtige Rolle spielen.

Tab. 5 Einflüsse auf Qualität und Standardisierung von Allergenextrakten

Faktor

Unterschiede zwischen Isolaten
Kulturmedium
Batch to batch Variationen
zeitabhängige Genexpression
Wachstumszeit und Erntezeitpunkt
biochemische Aufarbeitungsmethoden
Proteasengehalt
Aufbewahrungsbedingungen

Erst dann werden unterschiedliche Laborverfahren besser miteinander korrelieren und somit als gesicherte und reproduzierbare Kriterien für die Diagnostik gelten können.

Derzeit sollte in Fällen mit begründetem Zweifel an der Richtigkeit der Diagnose mit kommerziellen Extrakten ein Referenzlabor zu Rate gezogen werden, das mit biochemisch hochgereinigten Substanzen arbeiten kann oder noch besser das in der Lage ist, rekombinante Allergene zu verwenden (Tab. 6).

Die Produktion biochemisch gereinigter Substanzen als Pilzkulturen wird insbesondere durch die sehr geringe Menge an hergestelltem Allergen limitiert. Einige Allergene werden von Pilzen nur in sehr geringen Mengen produziert und sind nur im Immunoblot nachweisbar.

Darüber hinaus können selbst solche biochemisch hochgereinigten Substanzen mit IgE-bindenden Komponenten kontaminiert sein, was z.B. bei dem *A. fumigatus*-Allergen 1 (rAspf 1) [68] demonstriert werden konnte [69]. Obwohl einige hochgereinigte Allergene und Allergenfraktionen von *A. fumigatus* beschrieben worden sind [70–72] und auch gezeigt werden konnte, dass sie in der Diagnostik *A. fumigatus*-assoziiierter Erkrankungen brauchbar sein können, sind sie für die allgemeine Routinediagnostik nicht erhältlich.

Die derzeit meist verwendete serologische Routinediagnostik ist in Tab. 7 zusammengefasst. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass negative *A. fumigatus*-Präzipitine unter einer systemischen Steroidtherapie der ABPA vorkommen können. Sehr typisch für die ABPA ist der Abfall des Gesamt-

Tab. 6 Forderungen an Hersteller von Schimmelpilzextrakten

Sicherung der maximalen Identität des Rohmaterials
Etablierung standardisierter Herstellungsverfahren
Identifizierung der allergenen Komponenten (im Extrakt), die das Sensibilisierungsspektrum von Patienten abdecken
Verwendung rekombinanter Allergene als Referenzstandard, besser noch in der direkten Diagnostik

Tab. 7 Routinediagnostik-Interpretation

Befund (Labor, Radiologie, Klinik)	diagnostischer Wert
Asthma/CF	ABPA möglich
Eosinophilie	ABPA möglich
flüchtige pulmonale Infiltrate	ABPA möglich
zentrale Bronchiektasie	ABPA fast sicher
Serologie	diagnostischer Score der kompletten Serologie
1. Präzipitine gegen <i>A. fumigatus</i> pos.	4 Tests positiv = Diagnose sicher
2. <i>A. fum.</i> -IgE-Antikörper > 2fach-Asthmakontrolle ¹	3 Tests positiv = Diagnose sehr wahrscheinlich
3. <i>A. fum.</i> -IgG-Antikörper > 2fach-Asthmakontrolle ¹	2 Tests positiv = Diagnose möglich
4. Gesamt-Serum-IgE > 1000	

Asthmakontrolle¹: Asthmatiker sensibilisiert auf *A. fumigatus* [48]

IgE um 50 bis 75% nach einer hochdosierten Steroidtherapie. Sind alle vier Tests, die in Tab. 6 aufgeführt sind, positiv, kann die Diagnose als sicher wahrgenommen werden, sind drei der vier Tests positiv, ist die Diagnose sehr wahrscheinlich; bei zwei positiven Tests ist die Diagnose möglich [48].

Die Verwendung rekombinanter *A. fumigatus*-Allergene für die Diagnostik der ABPA

Unserer Arbeitsgruppe gelang es zuerst, das *A. fumigatus*-Hauptallergen 1 (rAspf 1) zu sequenzieren und zu klonen und sowohl in vitro als auch in vivo zu prüfen [15]. rAspf 1 ist ein Protein aus der Familie der Ribotoxine mit einem Molekulargewicht von 18 kD. Es zeigt zytotoxische Eigenschaften und ist einer der potentesten und spezifischsten Inhibitoren der eukaryotischen Translation. Es führt zu einer enzymatischen Spaltung der 28 rRNA und damit zur irreversiblen Inaktivierung der Ribosomen in der Zelle. Das klonierte rAspf 1-Gen wird von *E. coli* mit einer Ausbeute von 15 g reinem Protein auf 100 l Fermentationsmedium produziert und ist damit in praktisch unbegrenzter Menge verfügbar.

Das Protein wurde bei allergischen Asthmatikern mit *A. fumigatus*-Sensibilisierung [15], Patienten mit Mukoviszidose [25] und Patienten mit atopischer Dermatitis [73] auf seine diagnostische Aussagefähigkeit untersucht. Für Patienten mit allergischem Asthma und *A. fumigatus*-Sensibilisierung, Patienten mit ABPA, Patienten mit Mukoviszidose und *A. fumigatus*-Sensibilisierung ist rAspf 1 ein Hauptallergen.

Im Gegensatz dazu zeigen Patienten mit atopischer Dermatitis (ohne Lungenerkrankung) keine Sensibilisierung gegen rAspf1 [73]. Mit Hilfe der spezifischen Serologie unter Verwendung des rekombinanten Hauptallergens rAspf1 konnte bei CF-Patienten eine gute Übereinstimmung gezeigt werden. Das spezifische IgE gegen rAspf1 war bei CF mit ABPA 10× höher als bei CF mit *A. fumigatus*-Sensibilisierung oder CF-Kontrollen. Für spezifisches IgG 1 war das Verhältnis 5:1, für IgG 4 4:1 [25].

Ohne Kenntnis der klinischen Daten konnten mit dieser spezifischen Serologie in der Untersuchung alle ABPA-Patienten richtig identifiziert werden.

Die Identifizierung eines Allergens und der Immunantwort gegen dieses ermöglicht, wie bei der Komplexität der Krankheitsbilder schon vermutet, nicht die Diagnose aller *A. fumigatus*-sensibilisierten Individuen [15]. Auch die Differenzierung zwischen ABPA und allergischem *A. fumigatus*-assoziierten Asthma alleine mit diesem Hauptallergen ist nicht sicher möglich, da rAspf1 sowohl von allergischen Asthmatikern als auch Patienten mit ABPA „erkannt“ wird. Für eine zuverlässige Diagnosestellung ist also eine repräsentative Anzahl weiterer relevanter Allergene erforderlich.

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass sowohl ABPA-Patienten als auch entsprechend sensibilisierte Allergiker etwa 30 IgE-bindende Komponenten im Extrakt „erkennen“ [13].

Kürzlich konnten Cramer u. Mitarb. 73 verschiedene IgE-bindende Klone als das Allergenrepertoire von *A. fumigatus* identifizieren [64].

Die Entwicklung eines neuen Klonierungssystems (pJuf0) (Cramer et al.) führte zu einer schnelleren Isolierung und Charakterisierung von *A. fumigatus*-Allergenen. Vier dieser Allergene wurden immobilisiert und auf ihren routinemäßigen Einsatz im Immuno-CAP-System untersucht. Unsere angeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass rekombinante Allergene für die In-vitro und In-vivo Diagnostik allergischer Erkrankungen geeignet sind. Die exakte Übereinstimmung zwischen Hauttestergebnissen und Serologie [74] zeigt die Möglichkeiten und das Potential rekombinanter Allergene in der Diagnostik allergischer Erkrankungen.

Welche *A. fumigatus*-Allergene sind für die Diagnose und Differentialdiagnose der ABPA von entscheidender Bedeutung?

Wie oben bereits angeführt, ließ die Verwendung von rAspf1 alleine eine sichere Unterscheidung zwischen ABPA und *A. fumigatus*-Sensibilisierung (z.B. bei Asthma) nicht zu, da Seren von ABPA-Patienten und auch nicht ABPA-Patienten IgE-Antikörper gegen Aspf1 enthalten können [15].

Nachdem die gentechnische Produktion weiterer *A. fumigatus*-Allergene gelungen war, dehnten wir die In-vivo- und In-vitro-Untersuchungen zunächst auf rAspf3 aus [75]. rAspf3 ein 18,5 kD peroxisomales Protein ist ein Major-Allergen von *A. fumigatus*. 84% der Asthmapatienten mit *A. fumigatus*-Sensibilisierung zeigten eine positive Prick-Test-Reaktion. Die in vivo-Testung und die In-vitro-Untersuchung mit Immuno-CAP zeigten eine 100%ige Korrelation. Es gab keine falsch-positiven oder falsch-negativen Resultate.

Eine Diskriminierung von ABPA und *A. fumigatus*-sensibilisierten Allergikern ist jedoch wie schon mit rAspf1 auch mittels rAspf3 nicht möglich [76] (Abb. 2).

rAspf4 und rAspf6 ermöglichen die Differentialdiagnose von ABPA mit einer Spezifität von 100% und einer Sensitivität von über 90% [76, 77]

Im Unterschied zu den oben erwähnten Untersuchungen mit rAspf1 und rAspf3 zeigten die serologischen Tests unter Benutzung von rAspf4, einem 34 kD-Protein unbekannter biologischer Funktion und Verwendung von rAspf6, der Mangan-Superoxiddismutase, eine klare Trennung zwischen den Patientengruppen. Spezifisches Serum IgE gegen beide Allergene konnte nur bei den ABPA-Patienten nachgewiesen werden [76, 77] (Abb. 3).

So ist die Diagnose der ABPA allein durch diese spezifische serologische Untersuchung auch in der Remissionsphase der Erkrankung möglich!

Bei Mukoviszidose, wo eine Unterscheidung zwischen ABPA und *A. fumigatus*-Sensibilisierung (ohne ABPA) besonders schwierig und besonders bedeutsam ist, reichen die Allergene rAspf4 und rAspf6 aus, um eine serologische Diagnose mit nahezu 100%iger Sensitivität zu stellen [78].

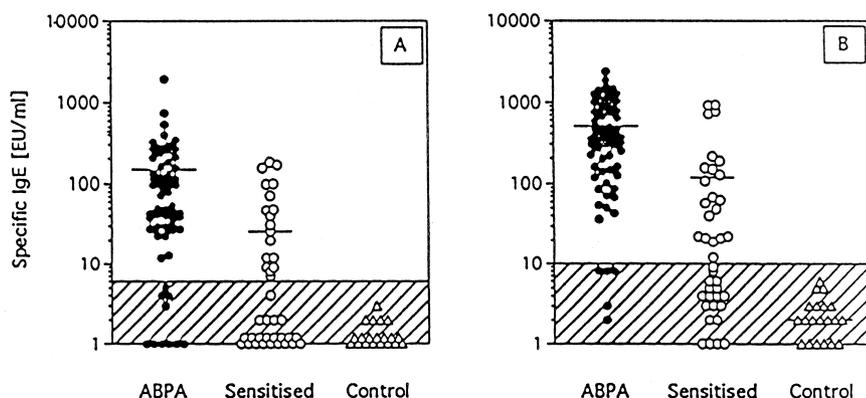


Abb. 2 Spezifische IgE-Antikörper gegen rAspf1 (A) und rAspf3 (B) in Seren von 20 gesunden Kontrollindividuen (Controls), 40 *A. fumigatus*-sensibilisierten Asthmatikern ohne ABPA und 60 *A. fumigatus*-sensibilisierten mit ABPA. Die IgE-Bindung gegenüber dem Allergen wurde mit einem antigen-spezifischen ELISA bestimmt und verglichen mit der IgE-Bindung eines Referenzserums, das auf 100 EU/ml eingestellt ist. Die Mittelwerte sind mit Linien dargestellt. Die gestrichelte Fläche repräsentiert den cut-off-Wert, der durch Hauttests ermittelt wurde.

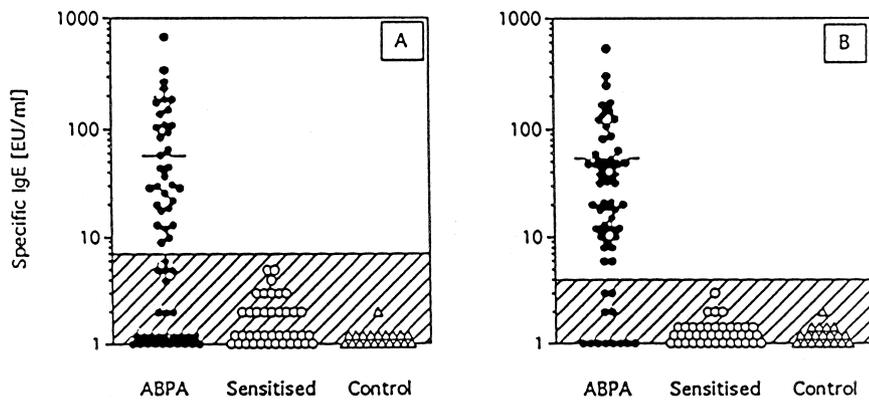


Abb. 3 Spezifische IgE-Antikörper gegen rAspf6 (A) und rAspf4 (B) in Seren von gesunden Kontrollindividuen und A. fumigatus-sensibilisierten Asthmatikern mit oder ohne ABPA. Weitere Erklärungen unter Abb. 2. Die Daten zeigen, dass diese beiden Allergene hochspezifisch sind für Seren von Patienten mit ABPA. Von den 60 Patienten mit ABPA zeigten 48 (80%) eine IgE-Antwort gegenüber rAspf4, 33 (55%) gegenüber rAspf6 und 54 (90%) erkannten wenigstens eines der beiden Allergene. Damit erreicht die Sensitivität für die Diagnose der ABPA 90% und die Spezifität 100%.

Die beschriebenen Aspergillus-Allergene gehören zwei verschiedenen Gruppen an: Sekretierten und zytoplasmatischen Proteinen. Während die sekretierten Allergene (z.B. rAspf1 und rAspf3) sowohl von IgE-Antikörpern A. fumigatus-sensibilisierter Individuen mit ABPA als auch ohne ABPA erkannt werden, werden die nicht-sekretierten Allergene ausschließlich von IgE von ABPA-Patienten gebunden [77].

So ist zum Beispiel rAspf6 (Mangansuperoxiddismutase) ein strikt intrazelluläres Protein, wie auch rAspf4. Beide Proteine werden vom Schimmelpilz nicht sekretiert und wirken so nicht als Aero-Allergen, was die negativen Resultate bei den A. fumigatus-sensibilisierten Asthmatikern erklärt. Bei den ABPA-Patienten kommt es jedoch zum Wachstum des Pilzes in den Bronchien und der Lunge [79,80]. Die zelluläre Immunabwehr des Wirtsorganismus führt dann zur Zerstörung der Pilzstrukturen und damit zur Exposition gegenüber nicht sekretierten Antigenen/Allergenen [77,78].

Die rekombinanten Aspergillus-Allergene 1, 2, 3, 4 und 6 sind jetzt im Jahre 2000 kommerziell im CAP-RAST-FEIA-System (Fa. Pharmacia) erhältlich.

Therapie der ABPA

Die beschriebene Stadieneinteilung hilft bei der Therapieplanung. Kortikosteroide (Prednison/Methylprednisolon) sind Mittel der Wahl in der Behandlung akuter Lungeninfiltrate in Stadium I (akute Erstmanifestation) und Stadium III (Exazerbation) und in Stadium IV (kortikoidpflichtiges Asthma). Eine Dosis von 0,5 mg/kg/Tag wird allgemein initial über 2 Wochen empfohlen [81].

Bei den meisten Patienten wird damit eine Remission eingeleitet, die Infiltrate verschwinden, die klinischen Symptome sind unter Kontrolle und das Gesamt-IgE beginnt drastisch zu fallen [44]. Gewöhnlich sind 2 bis 4 Wochen einer täglichen Steroidtherapie in angepasster Dosierung zwischen 0,25 mg/kg/Tag und 0,5 mg/kg/Tag ausreichend. Neu diagnostizierte Fälle in Stadium IV und besonders Stadium V können jedoch initial höhere Dosierungen erforderlich machen.

Falls eine adäquat durchgeführte Steroidtherapie nicht innerhalb von 4 bis 6 Wochen zum Rückgang der Lungeninfiltrate bzw. anderer flüchtiger Lungenveränderungen und Besserung der klinischen Symptomatik führt, muss zum einen an eine mangelhafte Compliance seitens des Patienten, zum anderen

an eine die ABPA komplizierende zusätzliche Lungenerkrankung gedacht werden.

Im Stadium V können Infiltrate nicht selten Zeichen einer bakteriellen Pneumonie sein und erfordern neben der Steroidtherapie eine Antibiose.

Ein komplettes Programm zur optimalen Sekretdrainage ist bei allen ABPA-Patienten mit Bronchiektasie genau wie bei anderen Krankheitsbildern mit Bronchiektasie erforderlich.

Röntgenologische Kontrollen sind nach Therapieeinleitung zumindest nach 2 und 4 Wochen notwendig. Falls keine ausreichende Rückbildung der flüchtigen röntgenologischen Veränderungen zu verzeichnen ist, muss die Kortikosteroiddosis erhöht werden. Wie das Gesamt-IgE fällt auch das spezifische IgG-A. fumigatus bei einer erfolgreichen Remissionsinduktion deutlich ab.

Wenn dieser Abfall ausbleibt, muss eine aktuell starke Besiedlung mit A. fumigatus angenommen werden. Wir haben in diesen seltenen Fällen dann mit einer Therapie mit Itraconazol 200 mg 2 × tgl. über mehrere Wochen zusätzlich zur Steroidtherapie Erfolg gehabt. Kontrollierte Untersuchungen über den Einsatz von Itraconazol oder auch anderen Mykostatika fehlen jedoch noch [81]. Die systemische Steroidtherapie kann bis auf die Fälle in Stadium IV (und V) meist innerhalb von 2 bis 3 Monaten ausgeschlichen werden.

Kontrollen des Gesamt-IgE, des spezifischen IgG und auch der Eosinophilen sind als Marker in dieser Reduktions- und Ausschleichphase nützlich. Sie sind ebenfalls wertvoll in der Überwachung der Remissionsphase [82].

Exazerbationen können sich im Ansteigen der immunologischen Marker deutlich vor klinischen und radiologischen Veränderungen ankündigen [82,83].

Die Zukunft wird zeigen, ob eine bessere Überwachung der asymptomatischen Patienten mittels „immunologischem Fingerabdruckes“ (Immunoprint) möglich sein wird (Verwendung der „rekombinanten Serologie“).

Die Frühdiagnostik der ABPA, möglichst in Phasen noch ohne bleibende Veränderungen von Bronchialsystem und Lung parenchym, die adäquate und konsequente Therapieeinlei-

tung und Überwachung der Remissionsphase, werden die progrediente Entwicklung der Endstadien verhindern helfen.

Zusammenfassung

Die allergische bronchopulmonale Aspergillose (ABPA) muss heute noch als ein klinisches Syndrom aufgefasst werden.

Die Diagnose basiert auf dem Nachweis definierter Kriterien. Diese Kriterien können in den unterschiedlichen Phasen, Stadien der Erkrankung, verschieden ausgeprägt nachgewiesen werden. Die Differentialdiagnose der ABPA gegenüber dem Asthma bronchiale mit *A. fumigatus*-Sensibilisierung macht besonders im Stadium der Remission (II) Mühe.

Die In-vivo- und In-vitro-Diagnostik der ABPA mit kommerziellen Gesamtextrakten von *A. fumigatus* ist durch die wechselnde Qualität und mangelnde Standardisierung der Extrakte erschwert und deshalb unzureichend reproduzierbar. Die Möglichkeiten und Grenzen der Diagnostik mit diesen kommerziellen Extrakten wurden aufgezeigt. Die Produktion rekombinanter Allergene von *A. fumigatus* und ihre Anwendung, die im CAP-System jetzt auch für die Routinediagnostik möglich geworden ist, bringt uns in der Diagnostik des komplexen Krankheitsbildes ABPA entscheidenden Fortschritt.

Literatur

- 1 Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi Ed 3 Burgess Publ Co. Minneapolis, 1972
- 2 Muccin J, Harvey F, Seaton A. Sorces and incidence of airborne *Aspergillus fumigatus*. Clin Allergy 1976; 6: 209
- 3 Rose HD, Sternberg HS. Mechanical control of hospital ventilation and *Aspergillus* infections. Am Rev Resp Dis 1972; 105: 306
- 4 Micheli PA. Nova planatarum genera juxta tournefortii methodum disposita. Italy: Florenze, 1729
- 5 Brocket RM, Ferguson JK, Henny MR. Prevalence of fungi during Skylab missions. Appl Environ Mikrobiol 1978; 36: 243
- 6 Sporik RB, Arruda LK, Woodfolk J, Chapman MD, Platts-Mills TA. Environmental exposure to *Aspergillus fumigatus* Allergen (Aspf1). Clin and Exp Allergy 1993; 23: 326–331
- 7 Comstock GW, Palmer LC, Stone RW, Goodman NL. Fungi in the sputum of normal men. Mycopathol Mycol Appl 1974; 54–55
- 8 Muscat J, Oxborrow S, Siddorn J. Allergic bronchopulmonary mycosis. Lancet 1981; 36: 1341
- 9 Hinson KFW, Moon AJ, Plummer NS. Bronchopulmonary aspergillosis. Thorax 1952; 7: 317–333
- 10 Slavin RG, Stanczyk DJ, Lonigro AJ, Brown GS. Allergic bronchopulmonary Aspergillosis – A North American rarity. Am J Med 1969; 47: 306–313
- 11 Greenberger PA, Patterson R. Application of enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) in diagnosis of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. J Lab Clin Med 1982; 99: 288–293
- 12 Knutsen AP, Hutcheson PS, Mueller KR, Slavin RG. Serum immunoglobulins E and G anti-*Aspergillus fumigatus* antibody in patients with cystic fibrosis who have ABPA. J Lab Clin Med, 1990
- 13 Leser C, Kauffmann HF, Virchow C, Menz G. Specific serum immunopatterns in clinical phases of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. J Allergy Clin Immunol 1992; 90: 589–599
- 14 Moser M, Cramer R, Menz G, Suter M. Recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen I/a (r AspfI/a) in the diagnosis of *Aspergillus* related diseases. Agents Actions 1993; 43: 131–137
- 15 Moser M, Cramer R, Brust E, Suter M, Menz G. Diagnostic value of recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen I/a for skin testing and serology. J Allergy Clin Immunol 1994; 93: 1–11
- 16 Moser M, Menz G, Blaser K, Cramer R. Recombinant Expression and Antigenic Properties of a 32-Kilodalton Extracellular Alkaline Protease, Representing a Possible < virulence Factor from *Aspergillus fumigatus*. Infection and Immunity 1994; 62: 936–942
- 17 Currie DL, Goldman JM, Cole PJ. Comparison of narrow section computed tomography and plain chest radiography in Allergic bronchopulmonary Aspergillosis. Clin Radiol 1987; 38: 593–596
- 18 Fisher MR, Mendelson EB, Mintzer RA. Use of linear tomography to confirm the diagnosis of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. Chest 1985; 87: 499–502
- 19 Menz G, Virchow C. Röntgendiagnostik bei Allergischer bronchopulmonaler Aspergillose unter Berücksichtigung der Computertomographie. Atemw und Lungenkr 1987; 13: 140–144
- 20 Mintzer RA, Rogers LF, Kruglik GD. The spectrum of radiologic findings in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. Radiology 1978; 127: 301–307
- 21 Neeled DA, Goodman LR, Gurney JW. Computerized tomography in the evaluation of Allergic bronchopulmonary Aspergillosis. Am Rev Resp Dis 1990; 142: 1200–1205
- 22 Silverman PM, Godwin JD. CT/bronchographic correlation in bronchiectasis. J Comput Assist Tomogr 1987; 11: 52–56
- 23 Hoehne JH, Reed LE, Dickie HA. Allergic bronchopulmonary Aspergillosis is not rare. Chest 1973; 63: 177–182
- 24 Mearns M, Young W, Batten J. Transient pulmonary infiltrations in cystic fibrosis due to allergic aspergillosis. Thorax 1965; 20: 385–392
- 25 Nikolaizik WH, Moser M, Cramer R, Little S, Warner JO, Blaser K, Schöni MH. Identification of allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis patients by recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen I/a-specific serology. Am J Respir Crit Care Med 1995; 152: 634–639
- 26 Basica JE, Graves TS, Baz MN. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in corticosteroid dependent asthmatics. J Allergy Clin Immunol 1981; 68: 98–102
- 27 Henderson AH, English MP, Vecht RJ. Pulmonary aspergillosis: a survey of its occurrence in patients with chronic lung Disease and a discussion of the significance of diagnosis tests. Thorax 1968; 68: 513–518
- 28 El Dahl JM, Fink R, Selden R, Arruda LK, Platt-Mills TA, Heymann PW. Development of Immune Responses to *Aspergillus* at an Early Age in Children with Cystic Fibrosis. Am J Resp Care Med 1994; 150: 1513–1518
- 29 Laufer P, Fink JN, Bruns WT. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in cystic fibrosis. J Allergy Clin Immunol 1984; 73: 44–48
- 30 Nikolaizik WH, Brueton MJ, Warner J. *Aspergillus* allergy and ABPA in cystic fibrosis. Pediatr Allergy Immunol 1991; 2: 83–86
- 31 Shapira E, Wilson GB. Immunologic aspects of cystic fibrosis. Boca Raton Florida: CRC Press, 1985
- 32 Glancy JJ, Elder JL, Mc Aleer R. Allergic bronchopulmonary fungal disease without clinical asthma. Thorax 1981; 36: 345–349
- 33 Kirsten D, Nowak D, Rabe KF, Magnussen H. Diagnose Allergische Bronchopulmonale Aspergillose (ABPA) wird oft zu spät gestellt. Medizinische Klinik 1993; 88: 353–356
- 34 Patterson R, Rosenberg M, Roberts M. Evidence that *Aspergillus fumigatus* in the airway of men can be a potent stimulus of specific and non-specific IgE formation. Am J Med 1977; 63: 257–262
- 35 Patterson R, Fink JN, Pruzansky JJ. Serum immunoglobulin levels in pulmonary allergic aspergillosis and certain other

- diseases with special reference to immunoglobulin E. *Am J Med* 1973; 54: 16–22
- 36 Coombs RRA, Gell PGH. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. Chapter 25 in *Clinical Aspects of Immunology* 3rd ed. Blackwell Scient Publ. 1975: 761–781
- 37 Patterson R, Grammer LC. Immunopathogenesis of Allergic bronchopulmonary Aspergillosis. In: Patterson, Greenberger, Roberts (ed). *Allergic bronchopulmonary Aspergillosis*. Providence, Rhode Island: OceanSide Publ, 1995; Chapter VII: 35–38
- 38 Safirstein BH, D Souza MF, Simon G et al. Five-year follow-up of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am Rev Resp Dis* 1973; 108: 450–459
- 39 Rosenberg M, Patterson R, Mintzer MD, Cooper BJ, Roberts M, Harris KE. Clinic and immunologic criteria for the diagnosis of ABPA. *Ann Int Med* 1977; 86: 405–414
- 40 Nelson LA, Callerane MC, Schwartz RH. Aspergillosis and atopy in cystic fibrosis. *Am Rev Resp Dis* 1979; 20: 863–873
- 41 Patterson R, Greenberger PA, Radin RC, Roberts M. Allergic bronchopulmonary Aspergillosis: staging as an aid to management. *Am Int Med* 1982; 96: 286–291
- 42 Bosken C, Myers J, Greenberger PA, Katzenstein A-L. Pathologic features of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *Am J Surg Pathol* 1980; 12: 216–222
- 43 Ricketti AJ, Greenberger PA, Glassroth J. Spontaneous pneumothorax in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *Arch Int Med* 1984; 144: 181
- 44 Rosenberg M, Patterson R, Roberts M. Immunologic responses to therapy in ABPA: serum IgE value as an indicator and predictor of disease activity. *J Ped* 1977; 91: 405–414
- 45 Hallwig JM, Greenberger PA, Levine M, Patterson R. Recurrence of ABPA after seven years of remission. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74: 738–740
- 46 Patterson R, Greenberger PA, Lee TM, Liotta JL, O'Neill EA, Roberts M, Sommers H. Prolonged evaluation of patients with corticosteroid-dependent asthma stage of Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80: 663–668
- 47 Lee TM, Greenberger PA, Patterson R, Roberts M, Liotta JL. Stage V (Fibrotic) ABPA: A review of 17 cases followed from diagnosis. *Arch Intern Med* 1987; 147: 319–323
- 48 Patterson R. Potential Errors in the Diagnosis and Management of ABPA. In: Patterson, Greenberger, Roberts (ed). *Allergic bronchopulmonary Aspergillosis*. Providence, Rhode Island: OceanSide Publ, 1995; Chapter VI: 29–33
- 49 Berklin KE, Vernon DRH, Kerr JW. Lung collapse caused by allergic bronchopulmonary aspergillosis in non asthmatic patients. *Br Med J* 1982; 285: 552–553
- 50 Greenberger PA, Miller TP, Roberts M, Smith LL. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in patients with and without evidence of bronchiectasis. *Ann Allergy* 1993; 70: 333–338
- 51 Ricketti AJ, Greenberger PA, Patterson R. Immediate-type reactions in patients with Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 74: 541–545
- 52 Bush RK. Fungal Extracts in Clinical Practics. *Allergy Proc* 1993; 14: 385–390
- 53 Halloran TJ. Allergic bronchopulmonary helminthosis. *Am Rev Resp Dis* 1983; 3: 578
- 54 Lee TM, Greenberger PA, Oh S, Patterson R, Roberts M, Liotta JL. Allergic bronchopulmonary candidiasis: case report and suggested diagnostic criteria. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80: 816–820
- 55 Matthieson AM. Allergic bronchopulmonary-disease caused by fungi other than aspergillus. *Thorax* 1981; 36: 719
- 56 Mc Aleer R, Kroenert DB, Elder JL, Froudust JH. Allergic bronchopulmonary disease caused by *Curvularia lunata* and *Drechslera hawaiiensis*. *Thorax* 1981; 36: 338–344
- 57 Patterson R. Other allergic bronchopulmonary Mycoses. In: Patterson, Greenberger, Roberts (ed). *Allergic bronchopulmonary Aspergillosis*. Providence, Rhode Island: OceanSide Publ, 1995; Chapter XI: 57–59
- 58 Sennekamp HJ, Bergmann K-C. Allergische bronchopulmonale Mykosen. In: Fuchs E, Schulz K-H. *Manuale allergologicum*. Deisenhofen: Dustrri-Verlag, Dr. Karl Feistle, 1987; V 10: 1–13
- 59 Dreborg S, Frew W. Position Paper: Allergen standardization and skin tests. *Allergy* 1993; 48: 49–82
- 60 Platt-Mills TA, Chapman MD. Allergen standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 621–625
- 61 Kauffmann HF, Van der Heide S, De Vries K. Antigenic composition of *Aspergillus fumigatus* in relation to the conditions of growth. In: Poucard T, Dreborg S eds. *Mould Allergy workshop*, Uppsala, Sweden. Pharmacia, 1994: 43–44
- 62 Kauffmann HF, Van der Heide S, Van der Laan S, Hovenga H, Beaumont F, De Vries K. Standardization of allergenic extracts of *Aspergillus fumigatus*. Liberation of IgE-binding components during cultivation. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985; 76: 168–173
- 63 Borge A. Allergens of *Aspergillus fumigatus*. Stockholm: PhD Thesis, Karolinska Institute, Repro Print AB, 1990
- 64 Cramer R, Walter G. Selective enrichment and high-throughput screening of phage surface-displayed cDNA libraries from complex allergenic systems. *Combin. Chem. High Throughput Screen* 1999; 2: 63–72
- 65 Wellenbeck I, Aukustr L, Einarsson R. Antigenic variability of different strains of *Aspergillus fumigatus*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1984; 73: 166–172
- 66 Bernstein JA, Zeiss CR, Greenberger PA, Patterson R, Marhoul JF, Smith LL. Immunoblot analysis of sera from patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis: Correlation with disease activity. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 532–539
- 67 Kurup VP, Kumar A. Immunodiagnosis of Aspergillosis. *Clin Mikrobiol Rev* 1991; 4: 439–456
- 68 King TP, Hoffman D, Lowenstein H, Marsh DG, Platt-Mills TA, Thomas W. Allergen nomenclature. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 5–14
- 69 Moser M, Cramer R, Menz G, Schneider T, Virchow CH, Gmachl M, Blaser K, Suter M. Cloning and expression of recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen 1 (rAsp f1/a) with IgE binding and type I skin test activity. *J Immunol* 1992; 41: 454–460
- 70 Arruda KL, Platts-Mills TAE, Longbottom JL, El-Dahr JM, Chapman MD. *Aspergillus fumigatus*: identification of 16 kD, 18 kD, 45 kD antigens recognized by human IgG and IgE antibodies and mureine monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 1166–1176
- 71 Harvey C, Longbottom JL. Development of a sandwich ELISA to detect IgG and IgG subclass-antibodies for a major antigen (Ag 7) of *Aspergillus fumigatus*. *Clin Allergy* 1986; 16: 323–330
- 72 Longbottom JL. Antigens and allergens of *Aspergillus fumigatus* II. Their further identification and partial characterization of a major allergen (Ag 3). *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 18–24
- 73 Disch R, Menz G, Blaser K, Cramer R. Different reactivity to recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen 1/a in patients with atopic dermatitis or allergic asthma sensitized to *Aspergillus fumigatus*. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 108: 89–94
- 74 Cramer R, Lidholm J, Grönlund H, Stüber D, Blaser K, Menz G. Automated specific IgE assay with recombinant allergens: evaluation of the recombinant *Aspergillus fumigatus* allergen 1 in the Pharmacia CAP System. *Clin and Experimental Allergy* 1996; 26: 1411–1419
- 75 Hemann S, Menz G, Ismail C, Blaser K, Cramer R. Skin test reactivity to two recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens in A *Aspergillus fumigatus* – sensitised asthmatic subjects allows diagnostic separation of allergic bronchopulmonary

- aspergillosis from fungal sensitisation. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 478–484
- ⁷⁶ Cramer R, Hemmann S, Ismail C, Menz G, Blaser K. Disease-specific recombinant allergens for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Int Immunol* 1998; 10: 1211–1216
- ⁷⁷ Cramer R. Recombinant *Aspergillus fumigatus* Allergens: From the Nucleotide Sequences to Clinical Applications. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 115: 99–114
- ⁷⁸ Hemmann S, Nikolaizik WH, Schöni MH, Blaser K, Cramer R. Differential IgE recognition of recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens by cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis or *Aspergillus* allergy. *Eur J Immunol* 1998; 28: 1155–1160
- ⁷⁹ Menz G, Ismail C, Cramer R. Die allergische bronchopulmonale Aspergillose. *Pneumologie* 1996; 6: 419–427
- ⁸⁰ Slavin RG, Knutsen AP. Purified *Aspergillus* proteins: Going where no one has gone before. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 380–381
- ⁸¹ Greenberger PA, Patterson R. Diagnosis and management of Allergic bronchopulmonary Aspergillosis. *Ann Allergy* 1986; 56: 444–453
- ⁸² Ricketti AJ, Greenberger PA, Patterson R. Serum IgE as an important aid in management of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74: 68–71
- ⁸³ Ismail C, Cramer R, Menz G. Serologische und klinische Verlaufparameter der Allergischen bronchopulmonalen Aspergillose (ABPA). Eine Längsschnittuntersuchung. *Atemw- und Lungenkr* 1995; 11: 573
- ⁸⁴ Denning DW, Ward PN, Fenelon LE, Benebow EW. Lack of vessels wall elastolysis in human invasive pulmonary aspergillosis. *Infect human* 1992; 60: 5153–5156
- ⁸⁵ Denning DW, Follansbee SE, Scolaro M, Norris S, Edelstein H, Stevens DA. Pulmonary aspergillosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1989; 324: 654–662
- ⁸⁶ Gerson SL, Talbot GH, Lusk E, Hurwitz S, Strom BL, Cassileth PA. Invasive pulmonary aspergillosis in adult leukemia: clinical clues to its diagnosis. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1109–1116
- ⁸⁷ Kahn FW, Jones JM, England DM. The role of broncho-alveolar lavage in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Clin Pathol* 1986; 86: 518–523
- ⁸⁸ Peterson PK, Mc Glave P, Ramsey NK, Rhame F, Cohen E, Perry S, Goldman AJ, Kersey Y. A prospective study of infections diseases following bone marrow transplantation emergence of *Aspergillus* and cytomegalovirus as the major cause of mortality. *Infect control* 1983; 4: 81–89
- ⁸⁹ Seral R. Candida and *Aspergillus* Infections in Immunocompromised Patients. An Overview Reviews of Infections Diseases 1991; 13: 487–492
- ⁹⁰ Schwarz RS, Mackintosh FR, Schrier SL, Greenberger PA. Multivariate analysis of factors associated with invasive fungal disease during remission induction therapy for acute myelogenous leukemia. *Cancer* 1984; 53: 411–419
- ⁹¹ Bardana EJ. The clinical spectrum of Aspergillosis Part 2. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1980; 13: 85–159
- ⁹² Rubin RH. Fungal Infections in the Immunocompromised Host. *Pulmonary Diseases and Disorders Vol 2*, ed Alfred P. Fishman 1988; 110: 1761–1767
- ⁹³ Morgan MA, Wilson WR, Neel HB, Roberts G. Fungal sinusitis in healthy and immunocompromised individuals. *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 597–601
- ⁹⁴ British thoracic and tuberculosis association. Aspergilloma and residual cavities: the result of a survey. *Tubercule* 1970; 51: 227–245
- ⁹⁵ Israel HL, Ostrow A. Sarcoidosis and aspergillosis. *Am J Med* 1969; 47: 243–250
- ⁹⁶ Israel HL, Lechner GS, Atkinson GW. Sarcoidosis and aspergilloma. The role of surgery. *Chest* 1982; 82: 430–432
- ⁹⁷ Jatou-Ogay K, Suter M, Cramer R, Falchetto R, Faith A, Monod M. Nucleotid sequence of a genomic and a cDNA clone encoding an extracellular Protease of *Aspergillus fumigatus*. *FEMS Microbiol Lett* 1992; 92: 163–168
- ⁹⁸ Jewkes J, Kay PH, Paneth M, Citron KM. Pulmonary aspergilloma: analysis of prognosis in relation to haemoptysis and survey of treatment. *Thorax* 1983; 38: 572–578
- ⁹⁹ Mc Carthy DS, Pepys J. Pulmonary aspergilloma in clinical immunology. *Clin Allergy* 1973; 3: 57
- ¹⁰⁰ Burge HA. Airborne allergenic fungi. *Immunol Allergy Clin North Am* 1989; 9: 307–319
- ¹⁰¹ Gourley DS, Whisman BA, Jorgensen NL, Martin ME, Reid MJ. Allergic Bipolaris sinusitis: clinical and immunopathologic characteristics of allergic fungal sinusitis by *Bipolaris spicifera*. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85: 583–591
- ¹⁰² Gourley DS. Allergic fungal sinusitis. *Insights Allergy* 1989; 4: 1–7
- ¹⁰³ Katzenstein A-L, Sale S, Greenberger PA. Pathologic findings in allergic bronchopulmonary aspergillus sinusitis. A newly recognized form of sinusitis. *Am J Surg Pathol* 1983; 7: 439–443
- ¹⁰⁴ Mannings S, Schäfer S, Close L, Vuitch F. Culture-positive allergic fungal sinusitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117: 174–178
- ¹⁰⁵ Schwarz H, Witt W, Sher T. ABPA and allergic aspergillus sinusitis: Case report. *Ann Allergy* 1992; 69: 447–448
- ¹⁰⁶ Schwietz LA, Courley DS. Allergic fungal Sinusitis. *Allergy Proc* 1992; 13: 1–6
- ¹⁰⁷ Batten J. Clinical aspects of *Aspergillus* infection in man. In: De Haller R, Suter F. *Aspergillosis and Farmer's Lung in Man and Animal*. Bern: Huber, 1974: 61–68
- ¹⁰⁸ Fruhmant G. Berufsbedingte exogen allergische Alveolitis. *Arbeitsmed Sozialmed Präventivmed* 1988; 23: 109
- ¹⁰⁹ Kurup VP, Barboriak JJ, Fink JN. Mould allergy. In: Al-Doory Y, Domson JF. Philadelphia
- ¹¹⁰ Scherrer M, Zeller C. Allergische Alveolitis. *Atemw und Lungenkr* 1982; 8: 316
- ¹¹¹ Vincken W, Roels P. Hypersensitivity pneumonitis due to *Aspergillus fumigatus* in compost. *Thorax* 1984; 39: 74–75
- ¹¹² Campbell MJ, Clayton YM. Bronchopulmonary Aspergillosis; a correlation of the clinical and laboratory findings in 272 patients investigated for bronchopulmonary aspergillosis. *Am Rev Resp Dis* 1964: 186–196
- ¹¹³ Fink JN. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Hosp Pract* 1988; 23: 105–128
- ¹¹⁴ Greenberger PA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and fungoses. *Clin Chest Med* 1988: 599–608
- ¹¹⁵ Schonheyder H, Jensen T, Hoiby N, Koch. Clinical and serological survey of pulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988; 85: 472–477
- ¹¹⁶ Cramer R, Blaser K, Menz G. Rekombinante Allergene und ihr Potential für die allergologische Diagnostik. *Pneumologie* 1996; 6: 387–393

Dr. med. G. Menz

Hochgebirgsklinik Davos-Wolfgang
Abt. Pneumologie II
7265 Davos Wolfgang
Schweiz