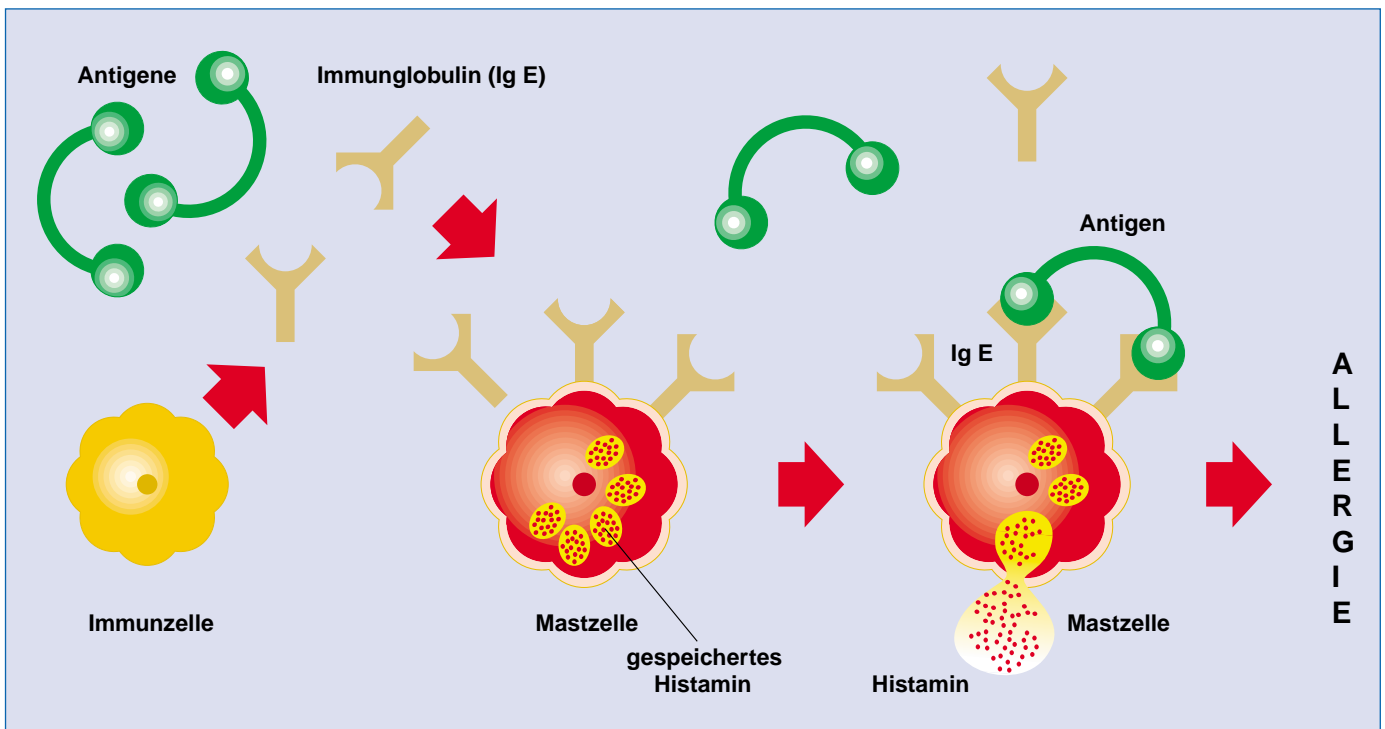


# SEMPERMED informiert

## Latexallergie bei medizinischen Handschuhen – Diagnostik und Proteinbestimmung

*Bei medizinischen Handschuhen ist das Thema Latexallergien nach wie vor brandaktuell. Nach der Europäischen Norm EN 1441 sind die Hersteller verpflichtet eine Risikoanalyse durchzuführen, die sich nach prEN 455-3 auch auf die allergene Potenz eines Handschuhs bezieht. Obwohl in dieser Norm Methoden zur Bestimmung von Proteinen in Latexhandschuhen beschrieben werden, kommen immer wieder auch andere Methoden zur Anwendung. Der Anwender weiß oft nicht, wie er die unterschiedlichen Verfahren bewerten soll. SEMPERMED informiert.*



*Wenn Antigene in den Körper eindringen, bilden Immunzellen spezifische Antikörper (Immunglobuline). Diese lagern sich an Mastzellen an und sensibilisieren sie. Bei einem nächsten Kontakt können die Mastzellen nun „ihre“ Antigene abfangen. Dabei wird Histamin ausgeschüttet – beim Allergiker ungebremst.*

Bei den umgangssprachlich oft als Latexallergie bezeichneten Reaktionen muß man zwischen pseudoallergischen (irritativen) und allergischen Reaktionen unterscheiden. Während irritative Reaktionen auf physikalische (Puderpartikel) und chemische Schädigungen (pH-Wert, Okklusion) der Haut zurückzuführen sind, stellen immunologische Überreaktionen auf Handschuhinhaltsstoffe die Ursache für die echten Allergien dar. Bei allergischen Reaktionen auf medizinische Handschuhe unterscheidet man zwischen Typ-I-Allergien und Typ-IV-Allergien.

**Typ-IV-Allergien** (zellvermittelt) sind in der Regel auf Chemikalien zurückzuführen, die im Herstellungsprozess der Handschuhe verwendet werden. Typ-IV-Allergien betreffen vornehmlich die Gruppe der Akzeleratoren (Vulkanisationsbeschleuniger) mit den Thiuramen als Hauptquelle. Viele Chemikalien kommen sowohl in Latex- als auch in latexfreien Handschuhen vor. Typ-IV-Reaktionen können daher sowohl bei Handschuhen aus Syntheselatex als auch bei Handschuhen aus Naturlatex auftreten.

**Typ-I-Allergien** (IgE-vermittelt) sind auf die in der Latexmilch vorhandenen Proteine zurückzuführen. Diese Latexproteine können zur Zeit im fertigen Handschuh nur reduziert, aber nicht vermieden werden.

Wir möchten Ihnen heute sowohl die bekanntesten Methoden zur **Diagnose** einer Latexallergie vorstellen, als auch – in einem weiteren Kapitel – die wichtigsten Methoden zur Bestimmung der **Allergen Potenz von Latexhandschuhen**.

## Diagnostik

Bei der diagnostischen Abklärung allergischer Reaktionen gegenüber Latexhandschuhen trennt man prinzipiell zwischen **In-vivo**- und **In-vitro**-Testmethoden.

### Methoden zur diagnostischen Abklärung allergischer Reaktionen gegenüber medizinischen Handschuhen

	Type IV	Typ I
In-vivo	Epikutan-Test	Prick-Test Scratch-Test Intrakutan-Test Reibe-Test Provokations-Test <small>dermal – Handschuh-Trageversuch inhalativ – mit gepuderten Handschuhen</small>
In-vitro	Lymphozyten-Transformations-Test	Bestimmung spezifischer IgE z. B. RAST, CAP FEIA Stimulations-Test z. B. Histamin Release

*Table 1* (Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit)

## Diagnose einer Typ IV Allergie

### Erscheinungsbild

Klinisch manifestiert sich die Typ-IV-Allergie als allergisches Kontaktekzem, das 24 – 48 Stunden nach dem Allergenkontakt auftritt und einen crescendo-artigen Verlauf zeigt. Weitere Kennzeichen des allergischen Kontaktekzems umfassen neben juckenden Erythemen, Papeln, Vesiculae und Schuppung insbesondere Streuphänomene, d. h. über das Kontaktareal des Allergens (z. B. Latexhandschuh) hinausreichende Hauterscheinungen. Dadurch ist es eindeutig von irritativen Hauterscheinungen abzugrenzen.

### In-vivo-Test

#### Epikutan-Test

Dieser Test wird auf normaler, entzündungsfreier Haut



*Epikutantest: Aufbringen der Testsubstanzen mit Testpflastern*

auf dem Rücken durchgeführt. Die Testsubstanzen werden in kleinen Aluminiumkammern (z. B. Finn chamber) mittels handelsüblicher Epikutan-Test-Pflaster auf der Haut aufgebracht. Die Testsubstanz bleibt dann für 48 Stunden mit

der Haut in Kontakt. Die Reaktion wird, nach 24 bzw. 48 Stunden sowie nach 72 und eventuell auch noch nach 96 Stunden, nach initialer Applikation am Rücken abgelesen. Die Interpretation erfolgt nach den Empfehlungen der ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group). Eine allergische Reaktion liegt vor, wenn die Hauterscheinungen mindestens 48 Stunden lang vorhanden sind. Bei Verdacht einer auf medizinische Handschuhe rückführbaren Allergie werden neben der Standardreihe (die wichtigsten Typ-IV-Allergene) alle wichtigen Gummi-Inhaltsstoffe sowie ein Stück Latexhandschuh getestet.

#### In-vitro-Test

Als In-vitro-Test bei Typ-IV-Allergien steht der Lymphozyten-Transformations-Test zur Verfügung, bei dem das Lymphozytenwachstum im Patientenblut durch das Allergen stimuliert wird. Dieser sehr teure und aufwendige Test wird in der Diagnostik aber nur in Ausnahmefällen angewandt.

## Diagnose einer Typ-I-Allergie

### Erscheinungsbild

Im Gegensatz zu den Typ-IV-Allergien manifestiert sich die klinische Symptomatik der Typ-I-Allergien meistens innerhalb von 5 – 30 Minuten nach dem Allergenkontakt. Deshalb bezeichnet man diesen Reaktionstyp auch als „Allergie vom Soforttyp“. Die Typ-I-Allergie umfaßt, nach von Krogh und Maibach, 4 Stadien, die bei der Latexallergie alle in klassischer Weise zu beobachten sind.

Stadium I	Lokalisierte Kontakturtikaria
Stadium II	Generalisierte Urtikaria inklusive Lidödem
Stadium III	Urtikaria und Schleimhautsymptome (Asthma bronchiale allergicum, Rhinokonjunktivitis, orolaryngeale und gastrointestinale Symptome)

Tabelle 2

## In-vivo-Test

Zu den In-vivo-Tests zählen vor allem die Hauttests, bei denen das Allergen in das mastzellenreiche Bindegewebe der Lederhaut eingebracht wird. Dort löst es eine IgE-vermittelte Reaktion vom Soforttyp aus. In diesem Zusammenhang problematisch ist die Standardisierung der unterschiedlichen Methoden, da das Testergebnis von mehreren Faktoren abhängt. Unter anderem von der Allergenmenge im ein- bzw. aufgetragenen Probeextrakt sowie von den Protein-Typen, durch die der Patient sensibilisiert wurde.

## Prick-Test

Beim Prick-Test wird die allergene Substanz auf die Haut der Unterarmbeuge-seite aufgetragen. Anschließend wird die Haut durch den Tropfen mit Hilfe einer feinen Nadel oder Lanzette kurz angestochen und angehoben, wobei es nicht bluten sollte. Nach 20 und 40 Minuten wird nach bestimmten Regeln die Testreaktion abgelesen.



Prick-Test

Beurteilung	Quaddelgröße (mm)	Erythemgröße (mm)
0	0	< 3
+	2 – 3	3 – 5
++	3	6 – 10
+++	4 – 6	11 – 20
++++	> 6 (Pseudopodien)	> 20

Tabelle 3: Beurteilung von Prick-Testreaktionen nach Ring (1988)

## Der Scratch-Test

Hierbei wird die Haut vor dem Aufbringen der allergenhaltigen Substanz mit einer Lanzette etwa 5mm lang flach (ohne Blutung) angeritzt. Abgelesen wird wie beim Prick-Test.



Scratchtest

## Intrakutan-Test

0,02 bis 0,05 ml einer stark (substanzabhängig) verdünnten Allergenlösung werden intrakutan injiziert und die Reaktionen ähnlich wie bei der Pricktestung nach 20 und 40 Minuten beurteilt. Der Intrakutan-Test kommt bei der Diagnose von Latexallergien allerdings selten zur Anwendung.



Intrakutantest

## Reibetest

Bei Risiko von starken allergischen Reaktionen (anaphylaktischem Schock) wird das Allergen zum Testen nur leicht auf der Haut verrieben. Die Reaktionen sind ähnlich zu beurteilen wie beim Prick-Test. Bei negativem Ergebnis wird man allerdings einen Prick-Test anschließen.

## Provokations-Test

Beim Provokations-Test wird der Patient unter möglichst realistischen Bedingungen mit dem allergieauslösenden Material in Kontakt gebracht. Bei einer Handschuhallergie bieten sich der Handschuh-Trageversuch und der inhalative Provokations-Test an.

### Handschuh-Trageversuch

Beim Handschuhtrageversuch werden die Handschuhe (oder auch nur ein Handschuhfinger) auf der, mit Wasser angefeuchteten, Hand angezogen und für

30 Minuten getragen. Anschließend werden die Reaktionen ähnlich wie im Pricktest beurteilt. Diese Methode kommt vor allem dann zur Anwendung, wenn die Vorgeschichte des Patienten eindeutig auf eine Latexallergie hinweist, aber keine spezifischen IgE-Antikörper im Blut nachgewiesen werden können.

## **Inhalativer Provokations-Test**

Beim inhalativen Provokations-Test werden beim Patienten Funktionsanalysen der oberen und unteren Atemwege in einer Lungenfunktionskammer unter Allergenprovokation durchgeführt. Bei Handschuhen geschieht dies in der Regel mit dem Puder der verwendeten Latexhandschuhe, das bekanntermaßen die allergenen Latexproteine transportiert. Die Reaktionen der Lungen (Spirometrie, Ganzkörper-Plethysmographie, Rhinomanometrie) werden dabei kontinuierlich registriert.

## **HINWEIS:**

Alle In-vivo-Testungen von Typ-I-Allergenen dürfen nur von erfahrenen Ärzten unter entsprechenden Notfallvorkehrungen durchgeführt werden, da es bei diesen Testungen – wenn auch selten – zu anaphylaktischen Reaktionen kommen kann. Patient und betreuendes Personal müssen dabei über die möglichen Risiken umfassend informiert sein.

## **In-vitro-Test**

Als In-vitro-Tests stehen die Bestimmung von spezifischem IgE (Immunglobuline oder Antikörper der Klasse E) sowie verschiedene Stimulations-Tests zur Verfügung.

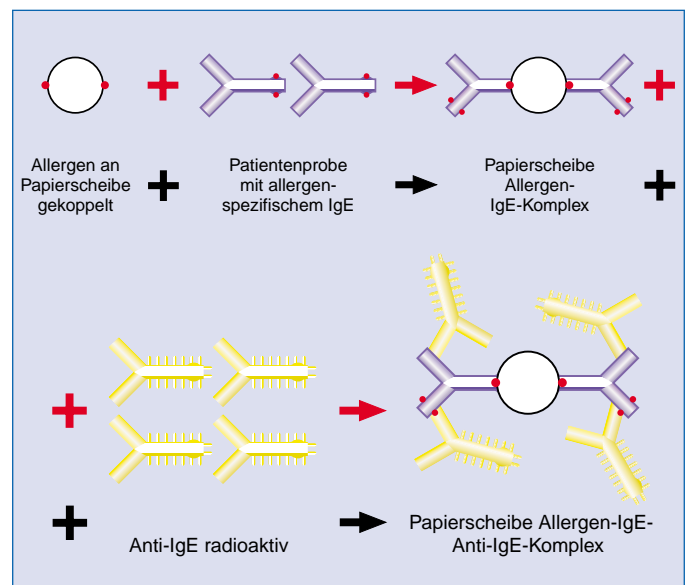
## **Bestimmung allergenspezifischer IgE-Antikörper**

### **RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test)**

Der von der Firma Pharmacia (Uppsala) entwickelte Radio Allergo Sorbent Test (RAST) war die erste Methode zur Bestimmung von allergenspezifischen IgE-Antikörpern. In der Zwischenzeit (nach Auslaufen der Patentrechte) gibt es eine ganze Reihe von anderen, gleichwertigen Methoden, die alle nach dem gleichen Grundprinzip ablaufen. Es hat sich aber eingebürgert, das Wort RAST als Synonym für die Bestimmung von allergenspezifischem IgE zu verwenden, auch wenn die Messung der Antikörper heute nicht mehr durch radioaktive Markierung erfolgt.

Bei all diesen Verfahren wird zunächst ein Allergen auf einer Festphase (Papierscheibe, Polystyrolgefäß oder

Polystyrolkugeln) gebunden. Das Patientenserum wird hinzugefügt und dabei binden sich die passenden IgE-Antikörper an das fixierte Allergen. Nach dem Abwaschen des Serums können die nun ebenfalls fixierten IgE-Moleküle mit einem entsprechend markierten Anti-Human-IgE-Antikörper detektiert werden. Diese Anti-Human-IgE-Antikörper erhält man durch Injektion menschlicher Antikörper bei Versuchstieren. Wenn diese Detektionsantikörper radioaktiv markiert sind, kann die Menge an gebundenen IgE-Antikörpern im Gammazähler bestimmt werden.

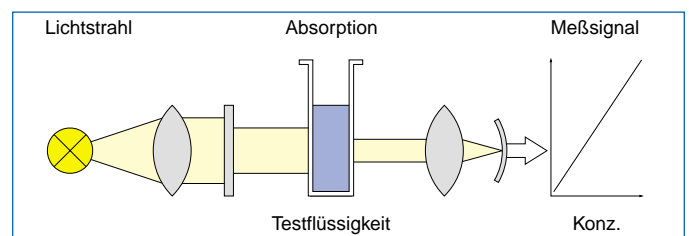


RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test)

Wenn die Detektionsantikörper durch ein Enzym markiert wurden, wird eine enzymatische Reaktion angeschlossen. Dabei wird nach Beigabe der enzym-markierten Anti-Human-IgE-Antikörper eine Lösung hinzugefügt, durch die ein Farbstoff oder ein Fluoreszenzfarbstoff entsteht. Die Farbkonzentration wird mittels Photometers gemessen.

## **Photometrie**

Das Grundprinzip der photometrischen Konzentrationsbestimmung: Ein Lichtstrahl definierter Intensität trifft auf die Testflüssigkeit, wodurch es zu einer Abschwächung dieses Lichtstrahl kommt, die gemessen wird. Mittels einer Eichkurve lässt sich so die Konzentration der Testflüssigkeit bestimmen.

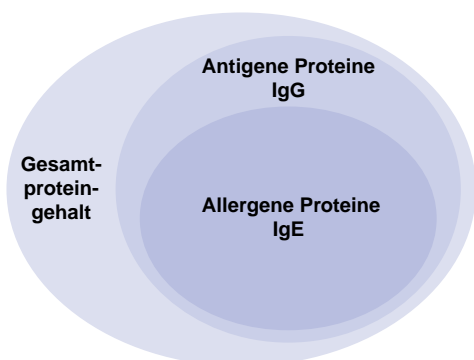


## Stimulations-Test (z. B. Histamin Release Test)

Bei diesem Testverfahren werden die Blutzellen (entweder im Vollblut oder in den isolierten Lymphozythen) mit verschiedenen Konzentrationen des Allergens inkubiert. Dadurch werden B-Lymphozyten, die das passende IgE-Molekül an der Oberfläche präsentieren, zu der bei einer Typ-I-Allergie typischen Reaktion angeregt. Dazu gehört zum Beispiel die Freisetzung von Histamin und die Neusynthese und Freisetzung von Prostaglandinen. Diese Stoffe (Mediatoren) können dann gemessen werden und geben über die Stärke der allergischen Reaktion Auskunft. Solche Verfahren sind sehr aufwendig und teuer. Daher werden sie nur in besonderen Fällen eingesetzt.

## Allergene Potenz von Latexhandschuhen

Bei den hier zur Verfügung stehenden Methoden muß vor allem zwischen der Ermittlung des Gesamtprotein-Gehaltes und des Allergen-Gehaltes von Latexhandschuhen unterschieden werden. Die unten beschriebenen Methoden nutzen die unterschiedlichen Eigenschaften der Proteine zur Feststellung der allergenen Potenz von Latexhandschuhen. Bei den Methoden zur Gesamtprotein-Bestimmung werden alle im Latexhandschuh enthaltenen, löslichen Proteine ermittelt, also auch jene, die ursprünglich nicht aus der Latexmilch stammen, sondern von einigen Herstellern beigefügt werden (z. B. Kasein).



Alle Allergene sind Antigene, aber nicht alle Antigene sind allergen.

In der Latexmilch, dem Ausgangsmaterial für Latexhandschuhe, konnten bisher 240 unterschiedliche Latexproteine identifiziert werden. Sie unterscheiden sich primär durch ihr Molekulargewicht, das von 2 bis 200 Kilo-

Dalton (kD) reicht. Diese Vielzahl von Proteinen wurde jedoch nur im Rohstoff Latexmilch nachgewiesen und nicht in den Extrakten von Latex-Handschuhen. In diesen Extrakten finden sich nur noch einige wenige der ursprünglich vorhandenen Proteine, dagegen eine Vielzahl von Peptiden mit einem Molekulargewicht <10 kD. Sie sind als Abbauprodukte der ursprünglichen Proteine anzusehen. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß, im Gegensatz zur Latexmilch, in den Handschuhen alle Latexproteine von allergologischer Relevanz sind. Einige Allergene konnten inzwischen identifiziert und ihre Primärstruktur analysiert werden.

Tabelle 4

Allergen	Mol. Gew. (kD)	Aminosäuren-Anzahl
Prohevein	20	187
Hevein (N-terminal)*	4,7	43
Hevein (C-terminal)*	14	138
REF**	14,6	137
Hevamin	29,6	273
Prenyltransferase	38	

\*aus dem ausgereiften Prohevein hervorgehend

\*\*Rubber Elongation Factor, Gummi-Verlängerungs-Faktor

Spielt v. a. bei Spina-bifida-Kinder eine bedeutende Rolle als Allergen.

kD: Kilodalton=Molekulargewicht

Teilweise bekannt in ihrer Primärstruktur sind auch ein 27 kD-, ein 36 kD und ein 100-110 kD-Protein.

## Methoden zur Bestimmung der allergenen Potenz von Latexhandschuhen

	Methoden	Einheit
Chemisch Analytische Methoden (Gesamtproteingehalt)	-Lowry -HPLC -Bradford	µg/g** µg/g
Immunologische Methoden (Allergengehalt)	-RAST Inhibition -ELISA Inhibition -LEAP	AU*/ml AU/ml µg/g

\*\* Mikrogramm Protein pro Gramm Latex

\*AU=arbitrary units (willkürliche Einheit – nicht standardisiert)

Tabelle 5 (Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit)

## Warum ist es so schwierig, die Proteine im Latexhandschuh zu messen?

Herkömmliche Methoden zur Messung von Proteinen sind dazu ausgelegt Proteine als Hauptbestandteile einer biochemischen Probe zu bestimmen. In Latexhandschuhen sind Proteine nur in Spuren vorhanden (ppm, Millionstel Teile), welche in Gegenwart einer Reihe von Chemikalien, die aber bei vielen kolorimetrischen Methoden stören, ge-

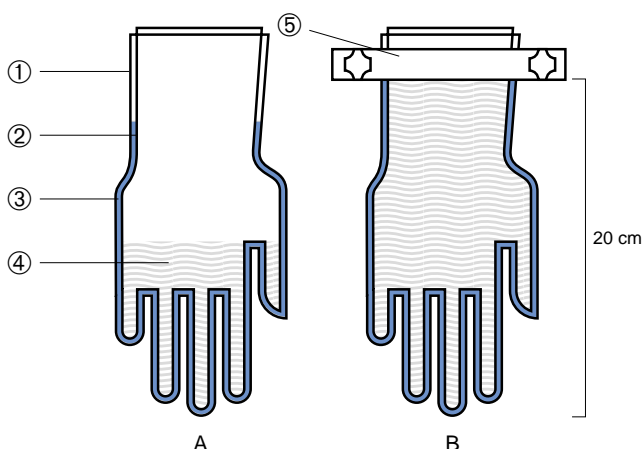
messen werden müssen. Von der Europäischen Union wurde daher ein Projekt finanziert, das die Messung von Proteinen und Vulkanisationsbeschleunigern in Latexhandschuhen sowie die allergologische Relevanz der Meßergebnisse untersuchen sollte. Dieses Projekt wurde an der Dermatologischen Klinik in Erlangen und Kopenhagen, sowie am ÖIBW in Wien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, daß die modifizierte Lowry Methode zu akzeptablen Ergebnissen führt, die recht gut mit der Klinik (Prick-Test) korrelieren.

## Extraktionsverfahren

Mindestens ebenso wichtig wie das Meßverfahren ist auch das Extraktionsverfahren, mit dem die Proteine aus den Handschuhen herausgelöst werden. In dem oben erwähnten europäischen Projekt wurde dafür eine Methode entwickelt, die auch in den Europäischen Standard (prEN 455-3) aufgenommen wurde. Dafür ist es wichtig einen Puffer zu verwenden, da gepuderte Handschuhe oft durch den Zusatz von Magnesiumoxid sehr hohe pH-Werte (bis pH 10,5) in ungepufferten Extrakten erreichen. International (CEN, ASTM, ISO) konnte man sich auf einen Puffer von pH 7,4 einigen.

prEN 455-3

Zwischen zwei ineinander gesteckte Handschuhe wird eine Extraktionsflüssigkeit gefüllt. Der innere Handschuh wird anschließend mit einer Farblösung gefüllt. Über einen Zeitraum von 2 Stunden werden bei definierter Temperatur alle wasserlöslichen Proteine aus der Innen-



1 äußerer Handschuh, 2 innerer Handschuh, 3 Extraktionspuffer, 4 Farblösung, 5 Handschuhklammer

seite des äußeren Handschuhs und der Außenseite des zweiten Handschuhs gelöst. Anschließend wird die Farblösung entfernt und der zwischen den Handschuhen

befindliche Extrakt mittels einer der unten beschriebenen Methoden bestimmt.

## Vorteil:

Dieses Extraktionsverfahren hat den Vorteil, daß

- nur die Oberfläche der Handschuhe extrahiert wird,
- sehr wenig Flüssigkeit zum Extrahieren ausreicht
- das Handschuhtragen sehr gut simuliert wird.

Da der innere Handschuh mit einer Farbstofflösung (zum Auffinden von Löchern) gefüllt ist, wird ein optimaler Kontakt des Extraktionsmittels mit der gesamten Oberfläche garantiert.

ASTM D 5712

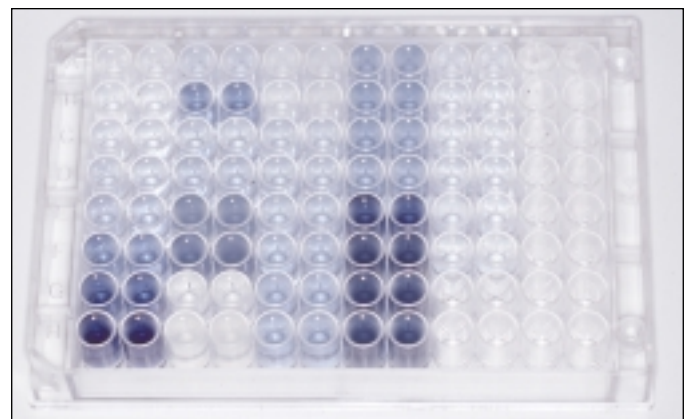
In den USA werden zur Gewinnung des Handschuh-extrakts die Handschuhe zunächst in kleine Stücke geschnitten, und anschließend in wässriger Lösung unter definierten Konditionen extrahiert.

## Chemisch-analytische Methoden

Mittels dieser Methoden wird der Gesamtprotein-gehalt aus den Extrakten von Handschuhen aus Natur-latex ermittelt.

## Die modifizierte Lowry Methode

Diese kolorimetrische Methode basiert auf einer Reaktion von Kupfer-Ionen mit den Proteinen und dem Folin's-Reagens zu einem blauen Farbstoff. Die Blaufärbung ist charakteristisch und ihre Lichtabsorption wird mit einem Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 600-750 nm gemessen (siehe Beschreibung Photometrie). Um die nur in Spuren vorhandenen Proteine messen zu können, müssen sie zuvor durch Zugabe von Säuren ausgefällt werden, um anschließend in wenig Volumen wieder gelöst und damit konzentriert zu werden. Dieser Fällungsschritt bewirkt auch eine teilweise Reinigung von



Messung der Proteine mittels modified Lowry in Mikrotiterplatten

anderen Substanzen, die in der Lowry-Methode stören.

### Vorteil:

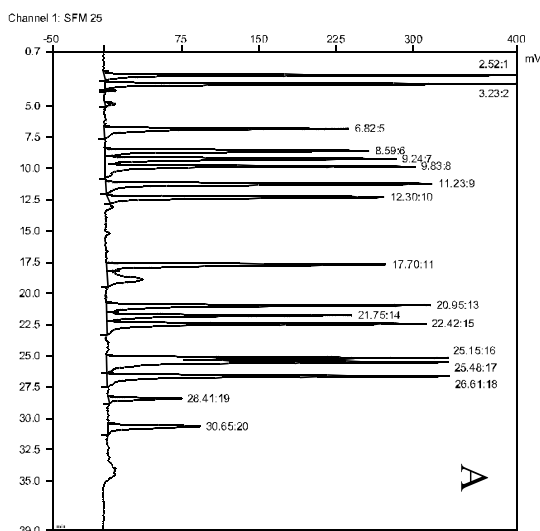
Diese Methode wird sowohl im Europäischen Standard als auch in ASTM und ISO zur Messung von Proteinen in Handschuhen vorgeschrieben. Sie ist eine relativ einfach durchzuführende Methode, die in vielen Laboratorien etabliert ist, und sie eignet sich auch zur routinemäßigen Überprüfung während des Produktionsprozesses. Außerdem zeigt sie eine akzeptable Korrelation zu den klinischen Daten der Prick-Testungen.

### Nachteil:

Leider gibt es eine Reihe von Chemikalien, die diese Farbreaktion stören können. Es hat sich aber in den letzten zwei Jahren gezeigt, daß Störsubstanzen immer seltener vorhanden sind.

## **Aminosäureanalyse mittels HPLC (High Pressure Liquid Chromatography)**

Bei dieser Methode werden die Proteine mit Hilfe von Salzsäure in die einzelnen Aminosäuren zerlegt. Diese Aminosäuren werden dann mit Hilfe der HPLC getrennt und quantitativ bestimmt. Die Summe der einzelnen Aminosäuren ergibt die Proteinkonzentration.



Jeder Peak entspricht einer Aminosäure. Über die Peakfläche können die Konzentrationen bestimmt werden.

### Vorteil:

Diese Methode hat den Vorteil, daß sie von der Struktur der Proteine vollkommen unabhängig ist und durch chemische Zusätze nicht gestört wird. Die Aminosäurebestimmung zeigte in dem oben erwähnten europäischen

Forschungsprojekt die beste Korrelation zu den Prick-Testungen.

### Nachteil:

Leider ist diese komplexe Methode sehr aufwendig und teuer, sodaß sie nicht als Routinemethode eingesetzt werden kann.

## **Immunologische Methoden**

Es gibt auch eine Reihe von immunologischen Methoden zur Bestimmung von Latexproteinen. Mit Hilfe dieser Methoden können allergene Proteine spezifischer als bei der Gesamtproteinanalyse bestimmt werden. In der Latexmilch konnten bisher über 50 verschiedene Proteine mit allergenen Eigenschaften nachgewiesen werden. In den Extrakten aus Latexhandschuhen findet man neben einigen Proteinen vor allem eine große Zahl von Proteinbruchstücken, welche die allergenen Epitope (Molekülbereiche, die die Bindung zu den IgE-Molekülen bewirken) enthalten. Aufgrund dieser großen Zahl von allergen wirksamen Proteinen und Peptiden ist es im Augenblick noch nicht möglich, immunologische Methoden so zu standardisieren und auszuarbeiten, daß weltweit in allen Laboratorien die gleichen Allergene in vergleichbaren Konzentrationen bestimmt werden.

### **RAST-Inhibition (Radio Allergo Sorbent Test)**

### **ELISA-Inhibition (Enzym Linked Immuno Sorbent Assay)**

Bei diesen Verfahren werden die bereits beschriebenen **Bestimmungsmethoden für allergenspezifische IgE-Antikörper** zur Messung von Latexproteinen herangezogen. Ein Pool aus vielen Seren latex-allergischer Patienten wird mit den Latexextrakten inkubiert (Herstellung des Latexextraktes siehe Extraktionsverfahren). Dabei binden sich die Latexallergene aus dem Handschuhextrakt an die passenden IgE-Antikörper aus dem Serum. Bei der anschließenden Messung der latexspezifischen IgE-Antikörper mittels einer der beschriebenen Methoden (z. B. RAST) werden die bereits gebundenen Antikörper nicht mehr erkannt und können daher nicht mehr gemessen werden. Aus der Verminderung des spezifischen IgE gegenüber einer, nicht mit Handschuhextrakt behandelten, Probe läßt sich dann die Konzentration von Allergenen im Extrakt über Standardkurven berechnen. Als Standard wird eine Allergenlösung aus der Latexmilch und/oder Handschuhextrakten verwendet. Diese Verfahren sind dazu geeignet allergene Proteine

in Handschuhextrakten zu messen. Die Ergebnisse sind aber von drei Komponenten abhängig, die zur Zeit noch nicht standardisiert sind. Deshalb sind die Resultate nicht vergleichbar. Diese Komponenten sind:

**- Das an die Festphase gekoppelte Allergen.**

Es muß sichergestellt sein, daß alle allergologisch wirksamen Proteine und Peptide, die in Handschuhen vorkommen können, auch tatsächlich an der Festphase gebunden sind. Die kommerziell erhältlichen Allergene sind von Hersteller zu Hersteller verschieden.

**- Der Standard zur Erstellung von Eichkurven.**

Der Standard muß alle allergologisch relevanten Proteine und Peptide enthalten.

**- Der Seren-Pool.**

Das Gemisch aus Patientenserum muß IgE-Moleküle gegen alle relevanten Proteine und Peptide in genügender Anzahl enthalten.

Vorteil:

Sowohl RAST-Inhibition als auch ELISA-Inhibition sind äußerst sensitive Testmethoden zur Ermittlung der allergenen Latexproteine.

Nachteil:

Beide Methoden sind derzeit vom menschlichen Serum als Quelle für IgE-Antikörper abhängig. Außerdem sind sie zeit- und kostenintensiv und daher für den routinemäßigen Einsatz im Produktionsprozeß nicht geeignet.

**LEAP (Latex ELISA for Antigenic Protein)**

Dieses von Beezhold entwickelte Verfahren ist eine enzym-immunologische Methode zur Bestimmung von Latexproteinen. Bei diesem Verfahren werden die Latexproteine aus dem Handschuhextrakt an der Oberfläche von Polystyrol-Mikrotiterplatten nicht-kovalent gebunden

und anschließend mit Kaninchen-Antilatax-Antikörpern inkubiert. Diese Antikörper stammen von Kaninchen, die mit gereinigten Latexproteinen immunisiert wurden und dadurch IgG-Antikörper ausbilden. Die Menge der gebundenen Kaninchen-Anti-Latexprotein-Antikörper wird „sichtbar“ gemacht, indem ein zweiter Antikörper (Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG-Antikörper) hinzugefügt wird, der mit den Kaninchen-Antikörpern reagiert.

Dieser zweite Antikörper ist mit einem Enzym markiert, das durch Zugabe eines entsprechenden Substrates mit Verfärbung reagiert. Die Farbentwicklung wird mittels Spektrophotometrie gemessen.

Vorteil:

Diese Testmethode ist sehr empfindlich. Durch die ausschließliche Verwendung von Tierseren ist keine Abhängigkeit von menschlichem Serum gegeben.

Nachteil:

Durch diesen Test werden nicht die allergenen Latexproteine, sondern nur jene Proteine, die im Kaninchen eine Immunantwort erzeugt haben (antigene Latexproteine), gemessen. Er hat außerdem den Nachteil, daß Proteine und Peptide, deren Molekulargewicht <10.000 D ist, nur unvollständig auf der Oberfläche von Polystyrol gebunden werden. Daher können in Handschuhextrakten, in denen diese kleinen Moleküle den Großteil der allergenen Proteine ausmachen, die Proteine nur unvollständig erfaßt werden.

**Kleines Glossar**

Antigen	Fremdstoff (z. B. Bakterien) der im Körper <b>Antikörper</b> generiert.
Allergen	Stoff der bei entsprechend disponierten Menschen eine Allergie auslöst.
Antikörper	Im Blutserum gebildeter Abwehrstoff – als Reaktion auf das Eindringen von Antigenen.
FEIA	Fluorescence-Enzyme-Immuno-Assay.
Inhibition	Hemmung. Einschränkung oder Verhinderung chemischer Vorgänge
Peptid	Kurzkettiges Protein.
Kasein	Protein der Kuhmilch.

## Impressum:

**Medieninhaber und Hersteller:**

SEMPERMED,  
Modecenterstraße 22, A-1031 Wien  
**Herausgeber und Redaktion:**  
Margit TÜRK, Modecenterstraße 22,  
A-1031 Wien

**Verlags- und Erscheinungsort:**  
Wien

**Text:**

Margit Türk

**Layout & Grafik:** Dr. PUTTNER BATES

**Satz + Litho:** Studio Erich C. Auböck

**Offenlegung gemäß §25 Medieng.**

**Medieninhaber:**

SEMPERMED, Modecenterstraße 22,  
A-1031 Wien

**Grundlegende Richtung:**

Unabhängige Gratisinformation aller am Unternehmen SEMPERMED Interessierten unter spezieller Berücksichtigung aller Themen aus dem Bereich medizinischer Handschuhe.

**Adresse:**

Modecenterstraße 22, A-1031 Wien  
Tel.: +43 (1) 797 77-363  
Fax: +43 (1) 797 77-630

