



ELISA ZUR BESTIMMUNG DES SPEZIFISCHEN IgE BEI HUNDEN KORRELATION ZUR *IN VIVO* DIAGNOSTIK

González-Arribas JL¹, Arevalo MA², Rodríguez V¹ and Rollán E¹

¹ Dpto. Patología Animal II, Hospital Clínico Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense. Madrid.

² Dpto. Macromoléculas, Instituto Cajal, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.

EINLEITUNG Die Bestimmung von IgE-induzierten Überempfindlichkeiten bei Hunden basiert auf der klinischen Vorgeschichte des Tieres, der physikalischen Untersuchung und dem Ergebnis von Allergietests mit den Allergenen, die mit der Krankheitsgeschichte korrelieren. Intrakutan-Tests (IDST) wurden lange Zeit als der "Goldene Standard" unter den Tests angesehen. Es gibt jedoch gewichtige Nachteile bei der praktischen Durchführung im Vergleich mit In-vitro Tests. Kürzlich wurde von ALERGOVET S.L. ein neuer enzymatischer Immunoassay (PET-ELISA) entwickelt, der das Allergen-spezifische IgE im Serum von Hunden bestimmt.

ZIEL DER STUDIE

Es soll untersucht werden, in wie weit die Bestimmung des spezifischen IgE von Graspollenallergenen, gemessen mit dem PET-ELISA, mit den Ergebnissen des *In-vivo Test* (IDST) bei der selben Gruppe von Gras-allergischen Hunden übereinstimmt.

MATERIAL UND METHODEN

• Patienten:

41 Hunde mit einer klinischen Vorgeschichte, die auf eine Atopie hindeutet, und positivem IDST auf Gräser wurden ausgewählt und in 3 Gruppen eingeteilt: je nach Intensität der Hautreaktion, der Anzahl von positiven Reaktionen auf eine Standardtestreihe von inhalativen Allergenen (Stallergenes) und der klinischen Vorgeschichte.

• ELISA für spezifisches IgE auf Graspollen:

Das spezifische IgE auf Graspollen im Serum der Patienten wurde mittels des PET-ELISA für Gras-Mix I (*Lolium perenne*, *Phleum pratense*, *Dactylis glomerata*, *Festuca elatior* und *Poa pratensis*) bestimmt. Seit Kurzem werden die Mikrotiterplatten mit dem Pollenextrakt beschichtet und nacheinander mit der Serumprobe inkubiert, einem Biotin markierten polyklonalen Kaninchen Anti-IgE, Peroxidase konjugiertem Streptavidin und Chromogensubstrat für dieses Enzym (*ortho*-Phenylendiamin). Die Intensität der Färbung bei der enzymatischen Reaktion verhält sich proportional zur Anzahl der spezifischen IgE-Antikörper in der Serumprobe. Die Werte für das spezifische IgE werden durch den Vergleich mit den zuvor kalibrierten Kontrollen bestimmt und in Klassen ausgedrückt: Negativ (0), Grenzwert (1), Schwach positiv (2), Positiv (3) and Stark positiv (4).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die im PET-ELISA für Gras-Mix I erhaltenen Werte, ausgedrückt in IgE-Klassen, sind in Tabelle 1 für jede Patientengruppe aufgeführt.

Nur bei 3 von 24 Hunden der Gruppe C und Kontrolle fanden sich schwach positive Ergebnisse (Klasse 2) im ELISA, kein Tier war in der Klasse 3 oder 4. In der Gruppe der eindeutig atopischen Tiere (A und B), 8 von insgesamt 33 Patienten, fanden sich Ergebnisse in den Klassen 0 – 1; 5 dieser Patienten waren grenzwertig.

Tabelle 3 zeigt die berechneten Werte, die allgemein zur Beurteilung von Labortests herangezogen werden: Sensibilität, Spezifität, für die Berechnung der positiven und negativen Ergebnisse und der diagnostischen Fähigkeit des Tests.

Aus den Ergebnissen dieser Tabellen ergibt sich, dass der ELISA zur Bestimmung des spezifischen IgE eindeutig zwischen allergischen und nicht allergischen Tieren unterscheidet. Die Spezifität des Tests ist sehr hoch (81.3%), ebenso die Sensibilität (82.9%). Desweiteren stimmen die zur Klassifizierung des spezifischen IgE verwendeten Intervalle sehr gut mit den Kriterien der Einstufung der Patienten in Untergruppen, einschließlich der klinischen Vorgeschichte, überein. Dieses, obwohl die Hunde der Gruppe A beinahe homogen verteilt in Klasse 3 und jene der Gruppe B zumeist gestreut um Klasse 2 waren.

Obwohl eine vollkommene Korrelation zwischen den Klassen des spezifischen IgE und IDST Werten nicht erwartet werden kann, da diese Methoden nicht exakt dieselben Größen messen (der ELISA bestimmt zirkulierende Antikörper, während der IDST an Mastzellen gebundenes IgE misst), konnte eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den beiden diagnostischen Methoden festgestellt werden. Wie schon erwähnt, wurde die Klassifizierung der Tiere nach den verschiedenen Gruppen auf Basis der klinischen Vorgeschichte der Atopie und Ergebnisse des IDST vorgenommen. Ungeachtet dessen ist bekannt, dass alle diagnostischen allergologischen Methoden Überempfindlichkeiten bestimmen können, die aber nicht unbedingt eine klinische Relevanz haben müssen. Folglich erbringt der IDST, als ein Hauptmerkmal seiner ausserordentlichen Sensibilität, auch positive Reaktionen bei einer sub-klinischen Überempfindlichkeit. Unter Beachtung dieser Tatsache betrachten wir die Gruppe C unserer Studie als negativ, mit einer fraglichen atopischen Diagnose. Gleichermaßen betrachteten wir die negativen Ergebnisse der Klasse 1 (Grenzwert) beim ELISA. In diesem Fall wäre die Spezifität des Assays auch größer (87.5%), siehe Werte in Klammern der Tabelle 3.

Tabelle 1: Beschreibung der 3 Patienten- und Kontrollgruppen

Gruppe	No.	Gräser IDST	Symptome
A	17	3+, 4+	Atopisches Muster von Pruritus mit starkem saisonalen Gipfel
B	16	2+, 3+	Mässiger bis schwacher Pruritus mit saisonalem Gipfel
C	8	1+, 2+	nicht gesicherte Atopie schwacher Pruritus Kein saisonaler Gipfel
Kontrolle	16	0	Negative atopische Vorgeschichte

Tabelle 2: Ergebnisse des Allergen-spezifischen IgE ELISA in den 4 Hundegruppen

Gruppe	Spezifisches IgE				
	Klasse 0	Klasse 1	Klasse 2	Klasse 3	Klasse 4
A	0	2	4	8	3
B	3	3	7	1	2
C	4	3	1	0	0
Kontrolle	13	1	2	0	0

Die Ergebnisse sind in IgE-Klassen, entsprechend der Definition in Material und Methoden, angegeben.

Tabelle 3: Berechnete Werte (in %) des spezifischen IgE im PET-ELISA bei Hunden

Sensibilität	Spezifität	Berechnete Werte		Wirksamkeit
		Positiv-Tests	Negativ-Tests	
82.9 (75.8)	81.3 (87.5)	91.9 (89.3)	65.0 (72.4)	82.5 (80.7)

In Klammern die geschätzten Werte, wenn die Kontrolle und Gruppe C und die spezifischen IgE-Klassen 0 und 1 als negativ eingestuft werden.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Studie konnte nachgewiesen werden, dass der PET-ELISA zur Bestimmung des spezifischen IgE von Hunden eine hohe Sensibilität (83%) und Spezifität (81%) im Vergleich mit dem IDST hat und zumal sehr gut mit der klinischen Vorgeschichte zur Atopie der Patienten übereinstimmt.