

## **Flow Cast / Basophilen-Aktivierungs-Test (BAT) / CD63 Expression**

Die Bestimmung von Soforttypallergien und Pseudoallergien bzw. Hypersensitivitäten gegenüber einem breiten Spektrum an Allergenen kann in vitro über die Messung der Aktivierung der Basophilen erfolgen. Die Aktivierung der Basophilen wird hierbei über die Expression des CD63 Oberflächenmarkers an der Zelloberfläche mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Neben der IgE-Bestimmung und dem Pricktest liefert der CD63-Basophilentest bei verschiedenen Fragestellungen eine optimale Ergänzung für eine umfassende Allergiediagnostik.

Im Laufe der letzten Jahrzehnte ist ein deutlicher Trend der Zunahme an Allergien und Unverträglichkeiten erkennbar. Betroffen sind sowohl Erwachsene als auch Kinder. Üblicherweise erfolgt die Diagnostik mittels Hauttest oder über die Testung von spezifischen IgE-Antikörpern. Doch nicht alle potentiell allergieauslösenden Substanzen können mit diesen Testsystemen untersucht werden (Medikamente, Nahrungsmittelzusatzstoffe, toxische oder kanzerogene Substanzen). Zudem treten Fälle auf, bei denen die Reaktion ohne Antikörperbeteiligung erfolgt (Pseudoallergie) oder bei denen divergente Ergebnissen zwischen Anamnese, Hauttest und/oder spez. IgE-Testung vorliegen. Das zelluläre Testsystem Flow Cast /BAT schließt genau diese Lücke und kann für die Diagnose wichtige Zusatzinformationen liefern.

Neben IgE-vermittelten werden auch nicht IgE-vermittelten Reaktionen nachgewiesen, so dass der Basophilen-Aktivierungstest eine Ergänzung bzw. Alternative zu Pricktest oder der spezifischen IgE-Testung bietet. Zudem besteht mit dem Flow Cast die Möglichkeit der Testung von Substanzen, für die in der Routineanalytik keine Methode zur Bestimmung von spez. IgE-Antikörpern verfügbar ist. Durch die in vitro Nachahmung der allergischen Reaktion ist zudem eine Prognose der individuellen Reaktionsstärke auf das getestete Allergen zu treffen.

Die Quantifizierung der Basophilen-Aktivierung erfolgt über die durchflusszytometrische Messung der CD63-Expression:

Das Patientenblut wird mit IL-3 vorstimuliert und mit dem entsprechenden Allergen inkubiert. Beim Ablauf eines allergischen Geschehens wird durch die Kreuzvernetzung des an der Zelloberfläche gebundenen IgEs eine Signalkaskade aktiviert, welche eine Basophilenaktivierung auslöst. Im Rahmen dieser Aktivierung kommt es zu einer vermehrten Expression des Glycoproteins CD63 an der Zelloberfläche der Basophilen. Mit einem monoklonalen Antikörper gegen CD63 können die aktivierten Basophilen im Durchflusszytometer detektiert und quantifiziert werden. Die Beurteilung erfolgt anhand der Steigerung der CD63 positiven Zellen im Vergleich zum Basalwert. Als Positivkontrollen bzw. als Nachweis der Reaktionsfähigkeit der Basophilen dienen ein an den hochaffinen IgE-bindenden Rezeptor Fc $\epsilon$ RI bindender Antikörper und ein unspezifischer Zellaktivator (fMLP).

### Indikation:

- Ergänzung zu Hauttest bzw. IgE-Testung vor allem bei unklaren Ergebnissen
- Nachweis einer Typ I - Allergie gegen Antigene für die kein in vitro-Test auf spezifischer IgE-Basis (CAP/RAST) verfügbar ist (z.B. Nahrungsmittelzusatzstoffe, Medikamente)
- Nicht IgE-vermittelte pseudoallergische Reaktionen (v.a. Medikamente)
- Testung von Allergenen für die keine spezifische IgE-Testung möglich ist
- Therapiemonitoring bei Hyposensibilisierung
- Differenzierung von Hymenoptereingift-Allergie (Biene, Wespe, Hornisse)

### Vorteile gegenüber Hauttest/Provokationstest:

- Bei Urtikaria möglich
- Kein Risiko einer Anaphylaxie - trotzdem Abschätzung der individuellen Reaktionslage
- Testung toxischer und kanzerogener Substanzen möglich
- Auch bei Einnahme von Antihistaminika möglich

Vorteile gegenüber dem Leukotrien-Release (CAST Elisa):

- weniger Material benötigt
- schnellere Analytik: Ergebnis liegt spätestens am Folgetag der Blutentnahme vor
- Bessere Beurteilung der Wirkung toxischer Substanzen

Verfügbare Allergene und Profile:

**Hymenopteragifte:** Biene, Wespe

**Nahrungsmittelzusatzstoffe:** Farbstoffmischung1, Farbstoffmischung2, Natriumbenzoat, Natriumnitrit, Kaliummetabisulfit, Natriumsalicylat, Glutamat, Carboxymethylcellulose

**Medikamente:** Aspirin, Diclofenac, Ibuprofen, Phenylbutazone, Penicillin G, Penicillin V, Cephalosporin C, Cefuroxim, Ciprofloxazin, Tetracyclin, Ampicillin, Amoxicillin, Articain, Mepivacain, Lidocain, Propofol, Pantoprazol, Omeprazol, Neuromuscular Blockers Mix, Carboxymethylcellulose, Polyethylenglycol PEG-4000

**Profil Nahrungsmittelzusatzstoffe:** Farbstoffmischung1, Farbstoffmischung2, Natriumbenzoat, Natriumnitrit, Kaliummetabisulfit, Natriumsalicylat, Glutamat

**Profil Trägerstoffe:** Carboxymethylcellulose, Polyethylenglycol PEG-4000

**Anforderung:** Basophilentest CD63 – bitte Allergen bzw. Profil angeben

**Durchführung:** täglich

**Material:** EDTA-Blut (<24 Stunden), Transport bei Raumtemperatur, Füllvolumen beachten!  
+ ggf. *fragliche Allergene/Medikamente*  
*nach Kortisongabe wird eine Wartezeit von 8 Wochen, nach allergischer Reaktion oder Anaphylaxie eine Wartezeit von 4 - 12 Wochen empfohlen*

<b>Abrechnung:</b> je Allergen	GOÄ 1,15 (Privat):	38,20 €* Antigen 1 - 3 (3696)
		16,76 € ab Antigen 4 (3697)
	GOÄ 1,0 (IGeL):	33,22 € Antigen 1 - 3 (3696)
		14,57 € ab Antigen 4 (3697)
	keine Leistung nach EBM	

\*zzgl. Auslagen nach §10 der GOÄ

<b>Ansprechpartner:</b>	Frau Dr. hum. biol. M. Penz Labor	Telefon: 089 54308-0 Telefon: 089 54308-362
-------------------------	--------------------------------------	--

**Literatur:**

- O. Laborlette; Allergien auf dem Vormarsch; Spektrum Akademischer Verlag 2010  
 C. Schmidt-Leidescher; In-vitro-Verfahren zur Aktivierung basophiler Granulozyten unter Verwendung des Oberflächenmarkers CD63 bei Patienten mit Bienen- und Wespengiftallergie; Dissertation TUM 2007  
 R. Varga; Vergleich des Basophilenaktivierungstests durch Bestimmung der Aktivierungsmarker CD63 oder CD203c bei Patienten mit Insektengiftallergie; Dissertation TUM 2009  
 B. Eberlein-König et al.; Use of CD63 expression as marker of in vitro basophil activation in identifying the culprit in insect venom allergy; J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. 2004, Vol 14(1): 10-16  
 AL de Weck et al.; Diagnostik Tests Based on Human Basophils: More Potential and Perspectives Than Pitfalls. II. Technical Issues; J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. 2008, Vol 18(3): 143-155  
 P. Valent; Basophil Activation Antigens: Molecular Mechanisms and Clinical Implications; The Open Allergy Journal, 2010, 3: 52-59  
 S. Mikkelsen et al.; Basophil sensitivity through CD63 or CD203c is a functional measure for specific immunotherapy; Clinical and Molecular Allergy 2010, 8:2  
 A. Wolanczyk-Medrala et al.; A new Variant of the Basophil Activation Test for Allergen-Induced Basophil CD63 Upregulation. The Effect of Cetrizine; J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. 2009, Vol. 19(6): 465-473  
 M.L. Sanz et al.; In vitro Tests: Basophil Activation Tests; Pichler WJ; Drug Hypersensitivity. Basel, Karger 2007, pp 391-402