

RIDASCREEN[®] Spec. IgG

Art. No.: A0020 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Reagents

Art. No.: A0021 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Reagents

applies also to:

Art. No.: A0049 RIDASCREEN[®] Allergen Disc

Art. No.: A0629 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Allergen Disc

Art. No.: A0630 RIDASCREEN[®] Spec. IgG Allergy Panel, Customized



R-Biopharm AG, An der Neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany,
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Spec. IgG ist ein Enzymimmunoassay (EIA) zum quantitativen Nachweis von spezifischen IgG-Antikörpern in humanem Serum. Der Test sollte bei begründetem Verdacht auf eine Typ III-Allergie eingesetzt werden. Aber auch zur Verlaufskontrolle einer Hyposensibilisierung gegen beispielsweise Hymenopterengifte ist dieser Test einzusetzen. Dieser Test ist nicht für HSA-Allergene geeignet.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Durch die Bestimmung von spezifischen IgG-Antikörpern kann eine Typ III-Allergie und deren Auslöser bestimmt werden. Typ III-Allergien sind durch die Bildung von Immunkomplexen aus freien Allergenen und den spezifischen IgG-Antikörpern charakterisiert. Diese Immunkomplexe können durch externe Allergene auch auf Körperoberflächen, beispielsweise der Lunge, gebildet werden und führen zum klinischen Bild der exogen allergischen Alveolitis. Bei permanentem Einatmen von beispielsweise Pilzen aus schimmeligem Heu oder Taubenantigenen entsteht die Farmerlunge bzw. die Taubenzüchterlunge.

Aber auch durch die Penetration von Nahrungsmitteln bzw. Nahrungsmittelbestandteilen durch die Darmwand können diese Immunkomplexe entstehen, die sich im Gewebe ablagern und zu Entzündungsreaktionen und damit zu den verschiedensten Krankheitsbildern führen können.

Der Nachweis von IgG-Antikörpern dient aber auch der Therapiekontrolle bei Allergien gegen Hymenopterengifte.

Der Test ist ein Enzym-Allergo-Sorbent-Test (EAST) auf der Basis von Zellulosescheiben. Alle unter Punkt 4. aufgeführten Reagenzien (A0021) sind mit den Allergenscheiben der Firma R-Biopharm (A0049) validiert worden. Bei Einsatz dieser Reagenzien in Verbindung mit Scheiben anderer Hersteller obliegt dem Anwender die Pflicht der Testvalidierung.

3. Testprinzip

Die Allergene sind an Zellulosescheiben gebunden. Zur Durchführung der Testung werden die Allergenscheiben in die Kavitäten einer Mikrotiterplatte gelegt bzw. sind entsprechend nach Anforderung des Arztes vorbelegt.

Bei RIDASCREEN® Spec. IgG Allergy Panel, Customized (Art. Nr. A0630) sind die Allergenscheiben ebenfalls in die 16er-Mikrotiterstreifen bereits eingelegt. 5 16er-Mikrotiterstreifen verschiedener Zusammensetzungen können in einem Rahmen zu einer kompletten Platte kombiniert werden, wobei die ersten beiden Spalten A und B immer mit Standards und Kontrollen belegt sein müssen.

Patientenseren, Standardseren, Negativ- und Positiv-Kontrollen werden auf die entsprechenden Allergenscheiben pipettiert und bei 37 °C inkubiert. Dabei binden die allergenspezifischen IgG-

Antikörper an das Allergen. Nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Danach erfolgt die Zugabe eines mit alkalischer Phosphatase konjugierten anti-human-IgG-Antikörpers. Nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe von Substrat, das durch das konjugierte Enzym in ein gelbgefärbtes Produkt dephosphoriliert wird. Die Intensität der Gelbfärbung ist proportional der Menge an allergenspezifischen IgG-Antikörpern im Serum.

Die Messung erfolgt photometrisch bei 405 nm und der Referenzwellenlänge von 620 nm.

4. Packungsinhalt

Tab.1: Packungsinhalt RIDASCREEN® Spec. IgG Reagents (Art. No. A0021)

Plate	1-96 Best.	1 Mikrotiterplatte
DiscS	8	Standardscheiben
DiscC	4	Kontrollscheiben
DiscA		Allergenscheiben, Anzahl nach Kundenwunsch, Nicht Bestandteil des Reagenziensatzes A0021
Diluent	120 ml	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig
AllergyWB	60 ml	Waschpuffer, 16-fach konzentriert, 0,9 % NaN ₃ , Deckelfarbe: transparent
Standard 1	250 µl	Standardserum 1, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 2,5 ; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 2	250 µl	Standardserum 2, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 10; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 3	250 µl	Standardserum 3, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 40; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 4	250 µl	Standardserum 4, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 200; in stabilisierter Proteinlösung
Control high	250 µl	Hohe Kontrolle IgG, Humanserum, gebrauchsfertig, Konzentration: siehe beiliegendes Zertifikat; in stabilisierter Proteinlösung
Control low	250 µl	Niedrige Kontrolle IgG, Humanserum, gebrauchsfertig, Konzentration: siehe beiliegendes Zertifikat; in stabilisierter Proteinlösung
Conjugate	6 ml	anti-human-IgG-Konjugat, (Ziege); gebrauchsfertig; alkalische Phosphatase-konj. Antikörper in stabilisierter Proteinlösung, Deckelfarbe: weiß

AllergySub S	12 ml	Substrat, pNPP-Lösung, gebrauchsfertig, Deckelfarbe: braun
AllergyStop R	12 ml	Stopp Reagenz, gebrauchsfertig Deckelfarbe: grün

Tab.2: Packungsinhalt RIDASCREEN® Spec. IgG Reagents (Art. No. A0020)

Plate	1-192 Best.	2 Mikrotiterplatten
DiscS	16	Standardscheiben
DiscC	8	Kontrollscheiben
DiscA		Allergenscheiben, Anzahl nach Kundenwunsch Nicht Bestandteil des Reagenziensatzes A0020
Diluent	2 x 120 ml	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig
AllergyWB	2 x 60 ml	Waschpuffer, 16-fach konzentriert, 0,9 % NaN ₃ , Deckelfarbe: transparent
Standard 1	250 µl	Standardserum 1, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 2,5 ; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 2	250 µl	Standardserum 2, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 10; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 3	250 µl	Standardserum 3, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 40; in stabilisierter Proteinlösung
Standard 4	250 µl	Standardserum 4, verd. Humanserum; Konzentration (in µg IgG/ml): 200; in stabilisierter Proteinlösung
Control high	250 µl	Hohe Kontrolle IgG, Humanserum, gebrauchsfertig, Konzentration: siehe beiliegendes Zertifikat; in stabilisierter Proteinlösung
Control low	250 µl	Niedrige Kontrolle IgG, Humanserum, gebrauchsfertig, Konzentration: siehe beiliegendes Zertifikat; in stabilisierter Proteinlösung
Conjugate	12 ml	anti-human-IgG-Konjugat, (Ziege); gebrauchsfertig; alkalische Phosphatase-konj. Antikörper in stabilisierter Proteinlösung, Deckelfarbe: weiß
AllergySub S	2 x 12 ml	Substrat, pNPP-Lösung, gebrauchsfertig, Deckelfarbe: braun
AllergyStop R	2 x 12 ml	Stopp Reagenz, gebrauchsfertig, Deckelfarbe: grün

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Der Testkit ist bei 2 - 8 °C zu lagern und ist auch nach dem Öffnen bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendbar. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C maximal 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfalldatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Eine Kontamination der Substratlösung mit Konjugat ist unbedingt zu vermeiden, da dies eine Verfärbung des Substrats zur Folge hat. Ebenso ist eine direkte Lichteinwirkung auf das Substrat zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Verfärbung durch Hydrolyse vorzubeugen. Bei aufgetretener Verfärbung darf das Substrat nicht mehr verwendet werden. Siehe auch Punkt 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- Photometer für Mikrotiterplatten (mit 405 und 620 nm-Filter), Messbereich 0 bis 3,5 OD.
- Waschautomat für Mikrotiterplatten oder Handwaschgerät (Waschkamm, Pumpe, Puffervorrats- und Abfallbehälter)
- 37 °C-Inkubator
- Mikropipette 10 – 100 µl
- Mikropipette variabel bis 1000 µl
- Eppendorf Tubes
- 8-Kanal- oder Multi-Step-Pipette
- Messzylinder (1000 ml)

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhaut vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.

In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Die im Kit befindlichen Kontrollseren (Standardseren, hohe und niedrige Kontrolle) wurden auf HIV- und HCV-Ak sowie HbsAg und Syphilis CFR 21.640 untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten sie, ebenso wie die Patientenproben und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, als potentiell infektiös behandelt und entsprechend den jeweiligen nationalen Sicherheitsbestimmungen gehandhabt werden.

Das Waschpufferkonzentrat enthält als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Bei Kontakt mit Blei- oder Kupferrohren können explosive Metallazide entstehen.

Alle Bestandteile des Kits müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder für mindestens 1 Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Der Test ist für die Untersuchung von humanem Serum entwickelt worden. Nach der Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Die Proben sind bis zur Testung kühl oder gefroren zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen des Serums ist unbedingt zu vermeiden, ebenso mikrobielle Kontamination. Die Verwendung von Hitze-inaktivierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder trüben Seren kann zu verfälschten Ergebnissen führen.

Tab. 3: Probenlagerung

unverdünntes Serum		verdünntes Serum
2-8 °C	-20 °C	2-8 °C
1 Woche	> 1 Woche	7 Stunden

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien, Patientenseren und die Mikrotiterplatte/ Allergenscheiben auf Raumtemperatur (20-25 °C) zu bringen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch ist das Kit sofort wieder bei 2-8 °C zu lagern.

Die Standard-, Kontroll- und Allergenscheiben können nicht mehrfach verwendet werden. Reagenzien und Scheiben dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Ein Austausch oder Kombinieren von Kitkomponenten aus Kits verschiedener Chargennummern ist nicht zulässig.

Eine Abweichung von vorgegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen führt zu einer Verschiebung der Standardkurve im Vergleich zum Zertifikat. Starke Verschiebungen der Standardkurvenwerte führen zu invaliden Testergebnissen.

Direkte Sonneneinstrahlung ist während der Durchführung des Testes zu vermeiden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte abzudecken.

Für die Inkubationen der Mikrotiterplatte darf keine feuchte Kammer verwendet werden!

9.2. Herstellung des Waschpuffers

Jede Flasche Waschpufferkonzentrat **AllergyWB** wird mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) lösen.

9.3. Belegen der Mikrotiterplatte mit den Allergenscheiben

Bei Lieferung der Mikrotiterplatte **Plate** sind alle Scheiben **DiscS**, **DiscC** und **DiscA** bereits nach Kundenprotokoll eingelegt.

Bei Lieferung von Allergenscheiben in brechbaren Riegeln (A0049) sind die Kavitäten mit den Allergenscheiben **DiscA** durch Brechen der Riegel dem Abarbeitungsprotokoll entsprechend in den Halterahmen aus dem Reagenzienkit einzusetzen. Im Halterahmen aus dem Reagenzienkit sind die Standardscheiben **DiscS** und die Kontrollscheiben **DiscC** bereits an der richtigen Position vorhanden.

Bei dem Paneltest (A0630) sind die Panels á 16 Allergene bereits in den Rahmen eingesetzt. Es können verschiedene Panels miteinander im gleichen Rahmen abgearbeitet werden. Dazu müssen aus der gelieferten Platte Panels entnommen und gegen die gewünschten Panels ausgetauscht werden.

Bitte beachten Sie, dass nur komplette Platten abgearbeitet werden sollten, da die Reagenzienmenge darauf abgestimmt ist.

9.4. Vorbereitung der Patientenseren

Die Patientenseren sind 1:100 mit dem Probenverdünnungspuffer **Diluent** zu verdünnen. Es wird empfohlen mindestens 10 µl Serum einzusetzen.

9.5. Erste Inkubation

Die Folie von der Platte entfernen. Dabei darauf achten, dass keine Allergenscheiben an der Folie haften und mit der Folie entfernt werden.

Der in den Kavitäten vorhandene Puffer muss durch Absaugen komplett entfernt werden. In die entsprechenden Kavitäten werden je 50 µl der Standardseren **Standard 1**, **Standard 2**, **Standard 3** und **Standard 4**, der hohen Kontrolle **Control high** und der niedrigen Kontrolle **Control low** und der verdünnten Patientenseren entsprechend dem Protokoll pipettiert. Anschließend wird die Platte **Plate** abgedeckt für 60 min bei 37 °C inkubiert.

9.6. Waschen

Die Kavitäten werden 6-mal durch Füllen mit verdünntem Waschpuffer und folgendem Absaugen gewaschen. Das letzte Absaugen sollte möglichst quantitativ erfolgen, wobei die Scheiben in den Vertiefungen bleiben.

Bei Verwendung eines Waschautomaten (empfohlen) wird mit jeweils 700 µl verdünntem Waschpuffer bei gleichzeitigem Absaugen (geeignete Overflow-Einstellung) gewaschen. Die korrekte Einstellung des Gerätes auf die Abmessungen des verwendeten Plattentyps muss zuvor sichergestellt werden.

Bei Verwendung einer manuellen Waschvorrichtung wird in jedem Waschschrift mit maximalem Füllvolumen gearbeitet. Keine Pipetten zum Waschen verwenden!

Sowohl beim automatischen als auch beim manuellen Waschen sollte der Flüssigkeitsstrahl auf den Scheibenrand gelenkt werden, so dass sich die Scheiben während der Waschpufferzugabe um die eigene Achse drehen, wodurch eine bessere Waschleistung erzielt wird.

Weder darf die Anzahl der Waschschriftre noch das Volumen des Waschpuffers verringert werden.

9.7. Zweite Inkubation

Zugabe von 50 µl Konjugat **Conjugate** in die belegten Kavitäten. Anschließend wird die Platte abgedeckt für 60 min bei 37 °C inkubiert.

9.8. Waschen

Waschen gemäß Pkt. 9.6.

9.9. Dritte Inkubation und Messung

100 µl der Substratlösung **AllergySub S** zügig in alle belegten Kavitäten pipettieren. Anschließend die Platte abgedeckt für 30 min bei 37 °C inkubieren. Durch Zugabe von 50 µl Stopp Reagenz **AllergyStop R** in jede Kavität wird die Reaktion beendet. Die Messung der Extinktion erfolgt bei 405 nm gegen die Referenzwellenlänge von 620 nm durch die Allergenscheiben hindurch. Die Platte kann innerhalb von 24 Stunden erneut gemessen werden, wenn sie kühl und zugedeckt gelagert wird.

10. Qualitätskontrolle - Anzeichen für Reagenzienverfall

Bei jeder Testdurchführung sind auf jeder Platte die Standards 1-4 sowie für die Qualitätskontrolle eine hohe und eine niedrige Kontrolle (jeweils in Doppelbestimmung) mitzuführen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der $OD_{405/620}$ –Wert für den Standard 4 $> 1,0$ ist und die ermittelten IgG-Klassen der Kontrollen bei 405/620 nm in dem Wertebereich liegen, der auf dem beigefügten Zertifikat angegeben ist.

Eine Abweichung von den geforderten Werten sowie eine Reagenzienrübung oder Gelbfärbung des Substrates vor Zugabe in die Kavitäten können ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine gelblich gefärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind nach Testwiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.

Es wird empfohlen, eigene, bereits vorbefundete Seren als Kontrollen ständig mitzuführen und die jeweils ermittelten Konzentrationen in µg/ml bzw. in IgG-Klassen zu dokumentieren.

11. Auswertung und Interpretation

11.1. Berechnungsgrundlagen

Für die Testauswertung ist die Erstellung der Referenzkurve notwendig. Dazu werden die Standards in Doppelbestimmung auf jeder Platte mitgeführt. Zur Erstellung der Referenzkurve werden die Mittelwerte der Extinktionen aus den Doppelbestimmungen der Standards als Funktion der zugehörigen Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) halblogarithmisch (y-lin-/x-log-Darstellung) in einer point-to-point-Darstellung aufgetragen. Die Konzentrationen der spez. IgG-Antikörper können anhand der Standardkurve aus den gemessenen OD-Werten ermittelt und anschließend in IgG-Klassen umgerechnet werden (siehe Tab. 4). Die Auswertung kann auch durch entsprechende Software durchgeführt werden.

Die Kalibrierung der Standardkurve des RIDASCREEN® Spec. IgG erfolgt an der internationalen Referenzpräparation „1st WHO IRP 67/86 for human IgG“.

11.2. Konzentrationen, IgG-Klassen, Bewertungen

Tab. 4: Zusammenhang zwischen ermittelten $\mu\text{g/ml}$, IgG-Klassen und allergenspezifischen IgG-Titern des Patientenserums

$\mu\text{g / ml}$	IgG-Klasse	Allergenspezifischer IgG-Gehalt
< 7,49	0 (0,0 – 0,9)	negativ
7,5 – 12,49	1 (1,0 – 1,9)	niedrig
12,5 – 19,99	2 (2,0 – 2,9)	erhöht
20 – 49,99	3 (3,0 – 3,9)	hoch
50 – 200	4 (4,0 – 4,9)	sehr hoch

11.3. Interpretation der Ergebnisse bei Multiallergenscheiben

Tab. 5: Zusammenhang zwischen ermittelten $\mu\text{g/ml}$ und Bewertung des Patientenserums bei Multiallergenscheiben

$\mu\text{g / ml}$	Bewertung
<10	negativ
≥ 10	positiv

Bei einem positiven Ergebnis sollte das betreffende Serum auf spezifische Reaktionen auf die entsprechenden Einzelallergene getestet werden.

12. Grenzen der Methode

Die mit diesem Testsystem ermittelten IgG-Konzentrationen lassen eine Aussage über den Sensibilisierungsgrad des Patienten hinsichtlich der überprüften Einzelallergene zu.

Ein Zusammenhang zwischen der Höhe einer ermittelten IgG-Konzentration und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem vollständigen klinischen Bild zu interpretieren.

Bei Nahrungsmitteln können trotz vorliegender Symptomatik beim Verzehr dieser Nahrungsmittel keine erhöhten IgG-Titer gefunden werden. Dies kann darin begründet sein, dass IgG-Antikörper gegen Epitope gerichtet sind, die erst während des Verdauungsprozesses oder während der industriellen Verarbeitung der Nahrungsmittel entstehen und somit nicht auf der Allergenscheibe präsent sind.

Mit diesem Test können keine IgG-Subklassen bestimmt werden.

Positive Testergebnisse können durch Kreuzreaktivität des getesteten Allergens mit anderen Allergenen fälschlicherweise zustande kommen.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass bei der Herstellung der Allergenscheiben allergen wirkende Epitope fehlen, was zu falsch negativen Ergebnissen führen kann.

13. Leistungsmerkmale

Tab. 6: Intra-Assay-Varianz, alle Berechnungen haben die ermittelten OD-Werte zur Grundlage.

Intra-Assay	unterer Bereich	mittlerer Bereich	oberer Bereich
getestete Allergene	A70, B7, E78, F1, F13, F33, F4,	E78, E11, E7, F183, I1, I3, M20	B7, F1, F4, F17, F2, M19, M2
Anz. Repl. / Allergen	24	24	24
Arithm. Mittel der VKs	7,68 %	6,72 %	5,22 %

Tab. 7: Inter-Assay-Varianz, alle Berechnungen haben die ermittelten OD-Werte zur Grundlage.

Inter-Assay	unterer Bereich	mittlerer Bereich	oberer Bereich
getestete Allergene	A70, B7, E78, F1, F13, F33, F4, M19	B7, E11, E7, E78, F2, I1, I3, M20	F1, F17, F183, F4, M2
Anz. Repl. / Allergen	4 x 4	4 x 4	4 x 4
Arithm. Mittel der VKs	8,30 %	8,47 %	5,54 %

Literatur

1. Harald Renz, Wolf-Meinhard Becker, Albrecht Bufe, Jörg Kleine-Tebbe, Monika Raulf-Heimsoth, Joachim Saloga, Thomas Werfel, Margitta Worm: In-vitro-Allergiediagnostik Positionspapier der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie. Allergo Journal 2002; 11; 492-506.