

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 92 (2001)
Heft: 3

Artikel: Nachweis von Nahrungsmittelallergenen als neue Aufgabe für die Lebensmittelkontrolle
Autor: Schächpi, Georg / Konrad, Verena / Imhof, Daniel
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-981914>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 30.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Nachweis von Nahrungsmittelallergenen als neue Aufgabe für die Lebensmittelkontrolle

Georg Schächli, Verena Konrad, Daniel Imhof und Rolf Etter, Kantonales Laboratorium Zürich

Brunello Wüthrich, Allergiestation der Dermatologischen Klinik, Universitätsspital Zürich

Eingegangen 12. April 2001, angenommen 7. Mai 2001

Einführung

Die Bedeutung von Nahrungsmittelallergien

In industrialisierten Ländern stellen Nahrungsmittelallergien ein bedeutendes Problem dar. Gemäss epidemiologischen Studien zur Prävalenz von Allergien auf Nahrungsmittel sind in Europa rund 2 % der Erwachsenen und 8 % der Kinder betroffen (1). Über die letzten Jahre wurde in den Notfallaufnahmen von Spitälern eine Zunahme von akuten, lebensbedrohlichen allergischen Reaktionen auf Lebensmittel festgestellt (2).

Was sind Nahrungsmittelallergien?

Nahrungsmittelallergien werden durch eine Reihe von Proteinen ausgelöst. Bei entsprechend sensibilisierten Personen reichen schon kleinste Dosen von allergieauslösenden Proteinen, um Reaktionen des Magen-Darm-Traktes (Erbrechen, Durchfall), des Atemtraktes (allergischer Schnupfen, Asthma) und der Haut (atopische Dermatitis) auszulösen. Im Extremfall kann es, wie oben erwähnt, zu lebensbedrohlichen, systemischen Reaktionen (Anaphylaxie) kommen, wobei auch immer wieder von Todesfällen berichtet wird (3). Allergische Symptome treten typischerweise schon nach wenigen Minuten nach Verzehr des Lebensmittels auf. Es gibt zwar einige vielversprechende Fortschritte im Bereich von Immuntherapien von Allergien. Bis heute ist jedoch für sensibilisierte Personen das strikte Vermeiden von Lebensmitteln, die bestimmte Allergene enthalten, das einzige Mittel, eine allergische Reaktion zu verhindern (4).

Wie entstehen Nahrungsmittelallergien?

Die Basis zur Ausbildung einer Nahrungsmittelallergie wird gelegt, wenn das Immunsystem eines Menschen mit einer genetischen Prädisposition (Atopie) in Kontakt mit einem potentiellen Allergen kommt. Der erste Kontakt führt zur Ausbildung von spezifischen Immunglobulin E (IgE) -Antikörpern, die dann bei einem zweiten Kontakt mit demselben Allergen eine mediatorgesteuerte immunologische Kaskade und schliesslich allergische Symptome auslösen können. Nahrungsmittelallergien entstehen häufig schon in früher Kindheit; sie können im Lauf des Erwachsenwerdens ausklingen, können aber auch während des ganzen Lebens anhalten. Dabei kann die Intensität der Nahrungsmittelallergie durch Kreuzreaktivitäten von Nahrungsmittelallergenen mit Pollenallergenen zusätzlich erhöht werden. In diesem Zusammenhang spricht man von pollenassozierten Nahrungsmittelallergien (5).

Nahrungsmittelallergene

Eiweisse, die eine allergische Reaktion auslösen können, sind mehrheitlich kleinmolekular (10 bis 70 kD) mit bekannten Aminosäuresequenzen und Tertiärstrukturen. Von besonderer Bedeutung hierbei sind die Epitope, also diejenigen Sequenzen der Proteine, an denen die eigentlichen Interaktionen mit den Zellen des Immunsystems stattfinden. Einige Nahrungsmittelallergene sind von besonderer Relevanz: Allergene von Erdnüssen, Baumnüssen, Soja, Sellerie, Milch, Hühneriern, Fischen und Meeresfrüchten (6, 7). Je nach Ernährungsgewohnheiten in verschiedenen Regionen sind Prävalenz und Intensität von Reaktionen auf gewisse dieser Allergene ganz unterschiedlich (6).

Unser Fallbeispiel: Erdnussallergene

Als Modellallergene wählten wir für unsere Studie die Allergene der Erdnuss (*Arachis hypogaea*). Allergische Reaktionen auf Erdnüsse sind im Vergleich ausserordentlich häufig und meist auch sehr intensiv (8). Erdnussamen enthalten im Schnitt 25 % (23–27 %) Proteine (9). Unter diesen Proteinen gibt es eine Reihe von sogenannten Hauptallergenen, auf die mehr als 50 % der sensibilisierten Personen reagieren: Ara h 1 (Vicilin, rund 20 % der gesamten Proteinmasse) mit einer Molekularmasse von 63,5 kD, Ara h 2 (ein konglutinähnliches Eiweiss, rund 10 % der gesamten Proteinmasse) mit 17 kD (10, 11), ausserdem Ara h 3 und Ara h 4, Glycininproteine mit 14 kD. Diese Hauptallergene sind molekularbiologisch gut charakterisiert und sind, was ihre biologische Funktion angeht, Speicherproteine.

Das Problem versteckter Nahrungsmittelallergene

Um allergische Reaktionen zu verhindern, müssen Allergikerinnen und Allergiker den Kontakt mit den Nahrungsmittelallergenen vermeiden, auf die sie sensibilisiert sind. Daher sind sensibilisierte Personen auf absolut verlässliche Deklarationen auf Lebensmittelverpackungen resp. Etiketten angewiesen. Es ist aber gemäss

Berichten von Betroffenen und Statistiken von Notfallaufnahmen eine Vielzahl von Produkten auf dem Markt, die allergene Bestandteile enthalten, die nicht auf Verpackungen oder Etiketten deklariert sind und bei sensibilisierten Personen heftige allergische Reaktionen auslösen können (12–15). Der Nachweis solcher versteckter Allergene als Kontaminationen in Lebensmitteln und das Ergreifen von Massnahmen zur Verbesserung diesbezüglich ungenügender Herstellungspraktiken ist deshalb eine prioritäre Aufgabe sowohl der Lebensmittelindustrie als auch der gesetzgebenden und vollziehenden Behörden. Indes, für potentielle Allergene bestehen in der Schweiz (wie auch weltweit) keine Richt- oder Höchstwerte. Dies rührt daher, dass die Empfindlichkeit auf bestimmte Allergene von Individuum zu Individuum sehr stark schwankt und auch eine Person je nach Umständen sehr unterschiedlich intensiv reagieren kann (16), was die Festlegung eines Höchstwertes stark erschwert. Ausserdem stand den Kontrollbehörden bisher auch kein routinemässig einsetzbares Analysenverfahren zur Verfügung. Für diese Studie wurde als Referenzgrösse und als Basis für ein rechtliches Vorgehen eine Limite von einem Promille undeklariertter Erdnussbestandteile festgelegt. Dabei wurden sowohl gesundheitliche als auch produktionstechnische Aspekte berücksichtigt.

Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Studie war es, eine Methodik aufzubauen, mit der routinemässig Nachweis und Identifikation von Erdnussallergenen im Rahmen der Lebensmittelkontrolltätigkeit ermöglicht würde. Weiter sollte in einer Pilotstudie eine Reihe von ausgesuchten Lebensmitteln auf nicht deklarierte Allergene untersucht werden. Letztendlich sollten aufgrund dieser Daten problematische Produkte erfasst und in Kooperation mit der Nahrungsmittelindustrie Wege zur Verbesserung der Situation gefunden werden.

Material und Methoden

Humanseren

In unseren Versuchen wurden Seren von Patientinnen und Patienten der Allergiestation des Universitätsspitals Zürich mit einer dokumentierten Erdnussallergie verwendet. Die Seren zeichneten sich mit CAP-Werten von Klasse 4 bis 6 (Pharmacia & Upjohn Diagnostics, Uppsala, Sweden) durch eine sehr hohe Reaktivität gegen Erdnussallergene aus.

Extraktion von Allergenen aus Lebensmitteln

Feste Proben werden gemahlen und während 12 h bei 4°C in Harnstoffpuffer (6 mol/l) extrahiert. Anschliessend werden die festen Bestandteile abzentrifugiert, die Überstände aliquotiert und bis zur Analyse bei –20°C gelagert. Analog werden auch die Standards unter Verwendung von im Handel erhältlichen gerösteten Erdnüssen hergestellt. Der Röstprozess verändert zwar die Proteinstruktur (Bildung

von Maillard-Reaktionsprodukten) und die Allergenizität von Erdnüssen (17). Dagegen scheint die Proteinzusammensetzung und die allergene Reaktivität verschiedener Erdnussorten vergleichbar zu sein (11). Somit erscheint es gerechtfertigt, als Standard eine Sorte gerösteter Erdnüsse als repräsentativ für eine Bandbreite von Sorten zu verwenden.

Immunoblotting

4 µl der Extrakte, von Standardverdünnungen und Negativkontrollen (Harnstoffpuffer) werden als «Dot» (Tupfer) auf eine adsorbierende Nitrocellulose-Membran (NcM, Protran BA84, Schleicher&Schuell, D-Riehn) aufgetragen und entwickelt wie bereits in (18) beschrieben. Umliegendes Membrangewebe wird während einer Stunde mit 10 % Magermilchpulver in PBS (Phosphate Buffered Saline) abgesättigt, um unspezifische Bindungsvorgänge zu vermeiden. Die NcM wird daraufhin während fünf Minuten in 0,1 % Tween 20 in PBS (TPBS) und zweimal fünf Minuten in PBS gewaschen. In einem nächsten Schritt wird die NcM während einer Stunde in Sera (1:4 verdünnt in 0,5 % Bovinem Serumalbumin, BSA in PBS) von Patienten mit einer gut dokumentierten Sensibilisierung auf Erdnussallergene inkubiert und anschliessend wieder je fünf Minuten mit TPBS und zweimal PBS gewaschen (vgl. Abb. 1).

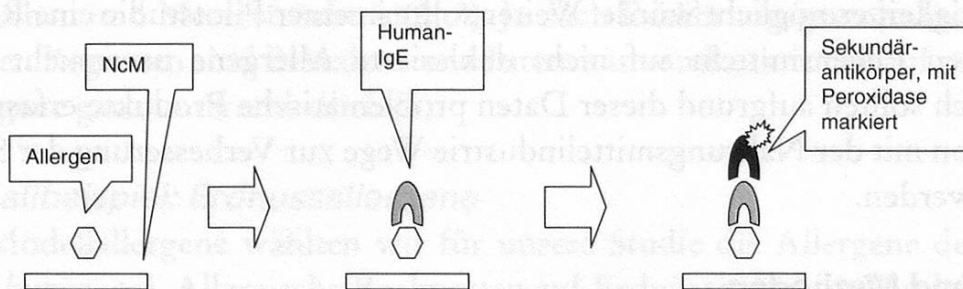


Abbildung 1 Prinzip des Dot Blot-Verfahrens. Ein auf einer Membran immobilisiertes Allergen wird von einem menschlichen Antikörper (Human-IgE) erkannt und gebunden. Human-IgE seinerseits wird mittels eines enzymmarkierten Sekundärantikörpers nachgewiesen. Das Enzym katalysiert in einem weiteren Schritt eine Farbreaktion. Weitere Erklärungen vgl. Text

Die gebundenen Antikörper werden in einem zweiten Schritt während einer Stunde mit peroxidasemarkierten Sekundärantikörpern (Antikörper von Ziegen, spezifisch für die ϵ -Kette von menschlichem IgE, SIGMA) inkubiert. Nach einem weiteren Waschgang mit TPBS und PBS wird die NcM mit 4-Chloro-1-Naphthol in Methanol (SIGMA) entwickelt. Der Farbniederschlag ist von Auge deutlich erkennbar und korreliert mit der Allergenkonzentration im entsprechenden Dot.

Das System wird mit entsprechenden Allergenextrakten standardisiert. Die Nachweisgrenze für Erdnussmaterial liegt dabei, abhängig von Stärke des Serums und untersuchter Matrix, in den meisten Fällen unter 50 mg/kg (Abb. 2).

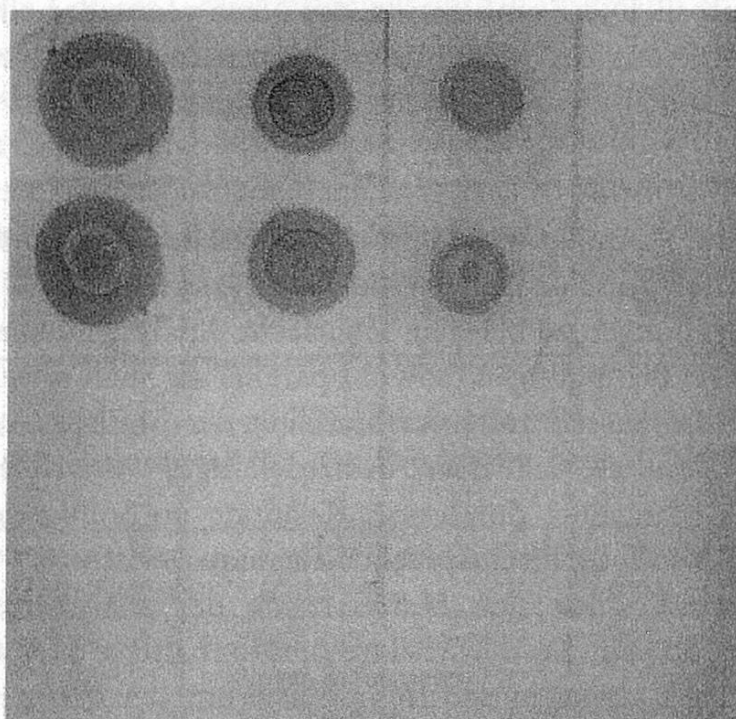


Abbildung 2 Entwickelter Dotblot; allergenpositive Proben zeigen eine Färbung mit konzentrationsabhängiger Intensität. Die sichtbaren oberen Reihen entsprechen dabei Doppelproben von 50 000, 5000, 500 und 50 mg/kg Erdnuss pro Dot

SDS-PAGE

Positive Proben werden zur Bestätigung mittels SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamid Gel-Electrophorese) analysiert. Die Proben werden dazu in Premixed Laemmli Sample Buffer (BioRad) auf zwei identischen 10%-Gelen bei 200 V konstanter Spannung (Mini-PROTEAN 3 Cell, BioRad) gemäss *Laemmli* (19) aufgetrennt. Die nach Molekularmasse aufgetrennten Proteine auf dem einen Gel werden mittels Färbung mit Coomassie Brilliant Blue sichtbar gemacht. Die Molekularmassen der einzelnen Proteinbanden werden aus dem Verhältnis zu einem Proteinstandard (Prestained Broad Range Protein Standard, Bio-Rad) ermittelt.

Immunoblotting nach SDS-PAGE

Die Proteine auf dem zweiten, identischen Gel werden mittels Transferblotting bei 100 V konstanter Spannung (Mini Trans-Blot Module, BioRad) auf NcM über-

tragen und nach oben beschriebenem Verfahren mit Humanseren entwickelt (20). Banden von allergenen Proteinen werden analog durch eine Farbreaktion identifiziert. Auf diese Weise lassen sich die Molekularmassen der Proteine ermitteln, welche mit den spezifischen Antikörpern reagiert haben. Die Molekularmasse verschiedenster Nahrungsmittelallergene ist in der Literatur gut dokumentiert und aus Datenbanken abrufbar. Die Kombination des Nachweises der allergenen Reaktivität mit der Bestimmung der Masse der reagierenden Proteine ermöglicht einen sicheren Nachweis von allergenen Proteinen in Lebensmitteln.

Validierung der Methode

Die beschriebene Methode wurde durch zahlreiche Tests validiert. So wurden Referenzproben durch verschiedene Personen analysiert, um die Übereinstimmung unabhängiger Beurteilungen zu belegen. Mehrfache Analysen desselben Probenmaterials unter gleichen Bedingungen (sowohl parallel als auch seriell) ergaben konsistente Resultate und liessen auf hohe Stabilität der Methode und gute Reproduzierbarkeit der Resultate schliessen. Aufstockungen von Referenzproben mit Erdnuss-Standards erbrachten durchwegs Resultate im Sollbereich. Die Validierungsbefunde sind der Methode entsprechend semiquantitativ.

Als Störfaktoren können sich Matrixeffekte der analysierten Lebensmittel bemerkbar machen. So kann bei der Analyse sehr fetthaltiger oder auch sehr stärkehaltiger Produkte die Extraktion und Immobilisierung der Allergene auf der NcM erschwert sein, wodurch die tatsächlichen Allergengehalte deutlich unterschätzt werden können. Beurteilungen solcher Lebensmittel müssen daher durch Aufstockungen abgesichert werden.

Seren von Patientinnen und Patienten unterliegen naturgemäss grosser Variabilität und sind nicht ohne weiteres standardisierbar. Da aber alle in dieser Studie verwendeten Seren von Patientinnen und Patienten mit einer gut dokumentierten, ausgeprägten Erdnussallergie stammten, wurden nur geringe Reaktivitätsdifferenzen festgestellt. Den variablen Reaktivitäten der Humanseren wurde überdies insofern Rechnung getragen, als dass bei jeder Analyse zur relativen Standardisierung eine Erdnussverdünnungsreihe mitgemessen wurde. Die Seren wurden sowohl individuell als auch gepoolt eingesetzt, was aber die Resultate nicht signifikant beeinflusste.

Resultate

Im Rahmen dieser Studie wurden 61 ausgewählte Produkte untersucht; 15 mit und 46 ohne deklarierte Erdnussanteile. 27 der 46 erdnussfreien Proben wiesen in der Tat keine Spuren von Erdnüssen oberhalb unserer Nachweisgrenze von 50 mg Erdnuss/kg des Produktes auf. In einer Reihe von angeblich erdnussfreien Produkten (19 von 46 untersuchten Lebensmitteln) wurden dagegen versteckte Allergene nachgewiesen. Betroffen waren vor allem Müesli und -produkte (4 positive von 10 untersuchten Proben) Backwaren (4 von 14) und Snacks (11 von 22).

Nachgewiesen wurden zwischen 50 mg/kg und einem Prozent Erdnussanteil, auf das essfertige Produkt gerechnet. Bemerkenswert dabei war die Tatsache, dass zu vielen der Produkte mit deklarierten Erdnussanteilen analoge Produkte hergestellt werden, in denen versteckte Erdnussallergene nachgewiesen werden konnten (Tabelle 1). Ein illustratives Beispiel dazu ist das Getreidestängelsortiment des Herstellers A. Die Sorte 1 dieses Getreidestängels enthält insgesamt 46 % Erdnüsse und Nüsse. In zwei verschiedenen Chargen (a und b) der Sorte 2 (ohne deklarierte Erdnüsse) wurden Erdnussallergene nachgewiesen. Eine Probe aus der Charge c dagegen war in der Tat frei von nachweisbaren Allergenen, wie auch in der Sorte 3 (ohne deklarierte Erdnüsse) keine Erdnussallergene nachgewiesen werden konnten.

Acht von 19 an sich erdnussfreien Produkten enthielten Erdnussanteile über der Limite von einem Promille und wurden beanstandet.

Tabelle 1

Proben mit deklarierten und verwandte Produkte mit versteckten Erdnussanteilen; nn = <50 mg Erdnussanteil/kg des Produktes resp. 0,005 % Erdnussanteil/Produkt

Produkt (Sorte, Charge)	Hersteller	Deklaration (Zutaten)	Erdnussgehalt	Allergenidentifikation
Getreidestängel, Sorte 1	A	Mit 46% Nüssen und Erdnüssen	> 20 %	Ara h 1,2,3
Getreidestängel, Sorte 2 Charge a	A	Keine Erdnussbestandteile	0,2–0,5 %	Ara h 1,2,3
Getreidestängel, Sorte 2 Charge b	A	Keine Erdnussbestandteile	0,05–0,1 %	Ara h 1,2,3
Getreidestängel, Sorte 2 Charge c	A	Keine Erdnussbestandteile	nn	–
Getreidestängel, Sorte 3	A	Keine Erdnussbestandteile	nn	–
Energie-Getreidestängel, Sorte 1	B	Mit Erdnüssen	10–20 %	Ara h 1,2,3,4
Energie-Getreidestängel, Sorte 2	B	Keine Erdnussbestandteile	0,2–0,5 %	Ara h 1,2,3,4
Mais-Crackers (Snacks), Sorte 1	C	Mit Erdnüssen	10–20 %	Ara h 1,2
Mais-Crackers (Snacks), Sorte 2	C	Keine Erdnussbestandteile	0,2–0,5 %	Ara h 1,2
Erdnuss-Snacks	D	Mit Erdnüssen (30%)	> 20 %	Ara h 1,2,3,4
Kartoffel-Snacks	D	Keine Erdnussbestandteile	0,2–0,5 %	Ara h 1,2

Diskussion

In industrialisierten Ländern stellen Nahrungsmittelallergien ein Problem von grosser und zudem stetig zunehmender Bedeutung dar. Zwar gibt es vielversprechende innovative Therapieansätze (21–23), die einzige Möglichkeit für sensibilisierte Personen, sich gegen allergische Reaktionen zu schützen, ist aber bis heute die strikte Vermeidung von Allergenkontakten. Im Falle von Nahrungsmittelallergien bedingt dies, dass Lebensmittel keine potentiell allergenen Bestandteile enthalten dürfen, die nicht deklariert sind. Auch die Daten der vorliegenden Studie – 19 von 46 ausgewählten Produkten enthielten nicht deklarierte Erdnusskomponenten – zeigte, dass dies heute nicht in jedem Fall gewährleistet ist. Somit müssen versteckte Allergene als erhebliches Gesundheitsrisiko für sensibilisierte Personen betrachtet werden (3). Lebensmittelproduzenten sowie Behörden sind gefordert, entsprechende Massnahmen in der Lebensmittelherstellung zu ergreifen resp. durchzusetzen und deren Erfolg kontinuierlich zu kontrollieren.

Zur Erhebung von Daten wurde in dieser Studie eine auf Immunoblotting mit Humanseren basierende Methodik aufgebaut. Zwar zeichnen sich Seren naturgemäss durch variable Reaktivitäten aus, wodurch darauf basierende Methoden beispielsweise von Labor zu Labor vorläufig schwierig standardisierbar sind. Die Verwendung von Humanseren stellt aber einen analytischen Ansatz dar, der sich stark an den immunologischen Mechanismen bei der Entstehung von Allergien orientiert. Es werden exakt jene Bestandteile von Lebensmitteln erfasst, die bei sensibilisierten Personen auch eine immunologische Reaktion auslösen können. Hierin liegt der eigentliche Vorteil gegenüber einer ausschliesslichen Verwendung von Antikörpern von Mäusen, Ziegen, Kaninchen o.ä. gegen Erdnussantigene oder gar gegen nicht antigene Erdnussbestandteile. In Tieren erzeugte Antikörper mögen zwar sehr spezifisch einzelne Antigene erkennen, nicht aber notwendigerweise auch die allergologisch relevanten. Käuflich erhältliche Kits zum Nachweis spezifischer, nicht antigenen Erdnussbestandteile sind insofern weniger geeignet, als dass sie gar keinen Bezug zu allergierelevanten Strukturen und Mechanismen aufweisen und somit keine direkte Beantwortung allergologischer Fragestellungen erlauben.

Im Zusammenhang mit den im Rahmen dieser Studie ermittelten Daten stellt sich die Frage, welche Menge nicht deklarierter Erdnussallergene aus der Sicht der Allergiker noch akzeptierbar ist. Komplizierend wirkt sich dabei aus, dass die Empfindlichkeit von Person zu Person stark variiert (16). Zusätzlich wird die Empfindlichkeit von verschiedenen komplexen Faktoren beeinflusst: synergistische resp. antagonistische Effekte weiterer Bestandteile des Lebensmittels, psychische und physische Konstitution der sensibilisierten Person zum Zeitpunkt des Allergenkontaktes usw. Um 100 % der sensibilisierten Bevölkerung zu schützen, müsste eine Nulltoleranz für versteckte Allergene angestrebt werden, da die empfindlichsten Personen schon auf kleinste Mengen von Allergenen reagieren. Eine Nulltoleranz ist aus produktionstechnischen Gründen nicht realistisch. Unter Berücksichtigung der Resultate klinischer Studien (24, 25) wurde schliesslich eine Limite von einem

Promille undeklarierte Erdnussbestandteile, auf das essfertige Produkt gerechnet, festgelegt. Ein Promille undeklarierte Erdnussbestandteile entspricht einem Gramm Erdnuss oder 0,25 g Erdnussprotein pro Kilogramm des Produktes. Dies wiederum entspricht ungefähr 0,1 g Erdnussallergen (9–11) pro Kilogramm des eigentlich erdnussfreien Lebensmittels. *Hourihane et al.* (24) führten eine Doppelblindstudie (double blind placebo controlled food challenge, DBPCFC) durch, in der sie sensibilisierte Personen mit definierten Mengen von Erdnussallergenen in Kontakt brachten und einen Schwellenwert für die subjektiven und objektiven Symptome bestimmten. Objektive Symptome wurden ab 2 mg Erdnussallergen festgestellt. Dies bedeutet, dass eine sensibilisierte Person 20 g eines Produktes mit Erdnussverunreinigungen in der Grössenordnung der vorgeschlagenen Limite konsumieren könnte, ohne objektive Symptome zu zeigen (Abb. 3). Jedoch könnten subjektive Symptome schon bei geringeren Mengen (ab 100 µg Erdnussallergen) auftreten (24). Eine andere DBPCFC mit 125 Testpersonen (25) beschreibt allergische Reaktionen auf 1 mg Erdnussallergen bei 5 % der Testpersonen; auf eine Dosis von 100 mg reagierten 36 % der Probanden. Dies wiederum bedeutet, dass die sensitivsten 5 % eines Kollektivs auf 10 g eines Produktes mit Erdnussverunreinigungen in der Grössenordnung unseres Action-Levels reagieren würden (Abb. 3).

Wir beanstandeten acht Produkte gestützt auf Artikel 2 der Lebensmittelverordnung vom 1. März 1995. In diesen Proben wurde ein Erdnussanteil von deutlich über 1 Promille nachgewiesen. Gemäss Deklaration sollten diese Produkte keine Erdnüsse enthalten und wurden somit als verunreinigt erachtet. Die mit unseren Befunden konfrontierten Produzenten konnten in den meisten Fällen die Ursachen der Verunreinigungen feststellen und geeignete Massnahmen zur Behebung dieser

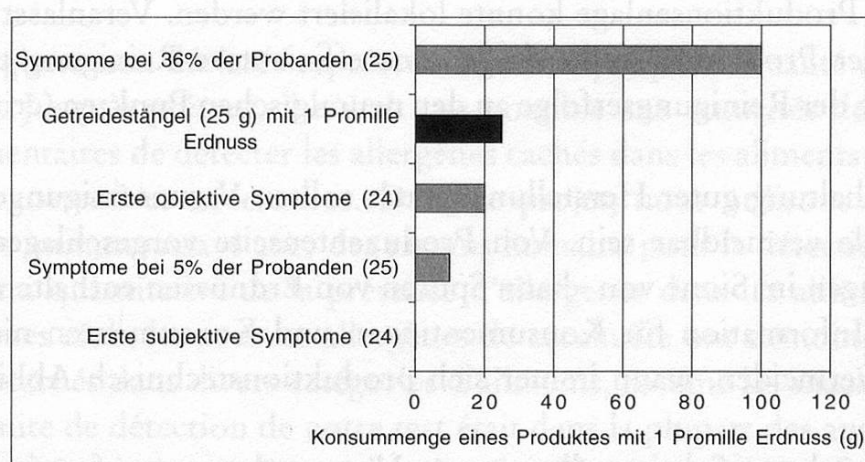


Abbildung 3 Konsummengen eines Produktes mit 1 Promille Erdnuss und beschriebene Effekte gemäss zweier DBPCFC (24, 25). Als Beispiel ist ein Getreidestängel (25 g) mit einem Promille Erdnuss angeführt

Probleme einleiten. Festgestellte Probleme und Lösungsansätze sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2

Ursachen von Kontaminationen von grundsätzlich erdnussfreien Produkten mit Erdnussmaterial und getroffene Massnahmen zur Behebung der entsprechenden Probleme

<i>Ursachen der Kontaminationen</i>	<i>Lösungsansätze</i>
Kontaminiertes Rohmaterial	Auditieren von Herstellungspraktiken und Installationen von Lieferanten Verwendung von zertifiziertem Rohmaterial
Gemeinsame Transportcontainer für Erdnüsse und andere Rohmaterialien	Getrennte resp. intensiv gereinigte Transportcontainer
Nicht separierte Produktionslinien für erdnusshaltige und -freie Produkte	Einrichten separater Produktionseinrichtungen
Produktion von erdnussfreien Produkten unmittelbar nach erdnusshaltigen	Auf gemeinsamen Produktionslinien: Herstellung erdnussfreier vor erdnusshaltigen Produkten
Ungenügende Reinigung der Produktionsanlagen	Zusätzliche Reinigungsschritte und Kontrollen

Ein illustratives Beispiel dazu ist wiederum das Getreidestängelsortiment (untersuchte Sorten 1 bis 3) des Herstellers A. Die verwandten Sorten wurden auf derselben Produktionsanlage hergestellt. Eine Probenserie zeigte, dass in der an sich erdnussfreien Sorte 2 gleich nach der Umstellung der Produktion der erdnusshaltigen Sorte 1 auf Sorte 2 Kontaminationen auftraten, die dann im Laufe der weiteren Produktion von Sorte 2 immer geringer wurden. Die Quelle der Kontamination innerhalb der Produktionsanlage konnte lokalisiert werden. Veranlasst wurde eine Umstellung der Produktionsreihenfolge, eine effizientere Reinigung und intensivere Kontrolle der Reinigungserfolge an den neuralgischen Punkten (critical control points).

Unter Einhaltung guter Herstellungspraxis sollten Verunreinigungen von über einem Promille vermeidbar sein. Von Produzentenseite vorgeschlagene Deklarationsergänzungen im Sinne von «kann Spuren von Erdnüssen enthalten» sind einer umfassenden Information für Konsumentinnen und Konsumenten nicht dienlich und sind zu vermeiden, wann immer sich produktionstechnisch Abhilfe schaffen lässt.

In einem nächsten Schritt sollen unsere Untersuchungen auf weitere relevante Nahrungsmittelallergene ausgedehnt werden. Die auf dieser Basis eingeleiteten Massnahmen der Nahrungsmittelindustrie werden dazu beitragen, die Lebensmittelqualität im Allgemeinen und die Lebensmittelsicherheit für sensibilisierte Personen im Speziellen zu erhöhen.

Dank

Die Autoren danken Frau *Doris Goudsmit* und Herrn Dr. *David Stadler* vom Kantonalen Laboratorium Zürich für die Erhebung interessanter Proben und Herrn *Wolfgang Pohl* für die technische Unterstützung bei der Dokumentation der Arbeit. Besten Dank auch an Frau *Irene Cuhat*, Frau *Suzanne Marti* und Frau *Marie-Claire Weber* von der Allergiestation am Universitätsspital Zürich für deren wertvolle Unterstützung.

Zusammenfassung

Nicht deklarierte Allergene in Lebensmitteln stellen für sensibilisierte Personen ein gesundheitliches Risiko dar. Bisher war es der Lebensmittelkontrolle in der Schweiz nicht möglich, versteckte Allergene in Lebensmitteln nachzuweisen und Massnahmen dagegen zu ergreifen. Im hier vorgestellten Projekt setzten wir Immunoassays mit Humanseren ein, die einen semiquantitativen Nachweis und eine Identifikation verschiedener Allergene in Lebensmitteln ermöglichen. Erste Untersuchungen mit Erdnussallergenen erbrachten den Nachweis versteckter Allergene in Produkten verschiedener Lebensmittelkategorien (insbesondere Backwaren und Snacks). Die Nachweisgrenze unseres Testsystems lag in den meisten Fällen unter 50 mg Erdnuss/kg resp. ca. 5 mg/kg Erdnussallergene/kg. Wir beanstandeten Produkte mit über einem Promille nicht deklariertem Erdnussanteil. Betroffene Nahrungsmittelproduzenten, die mit unseren Befunden konfrontiert wurden, reagierten kooperativ und konnten Massnahmen in die Wege leiten, die inskünftig versteckte Allergene in ihren Produkten verhindern und damit die Qualität – und für sensibilisierte Personen auch die Konsumsicherheit – ihrer Produkte erhöhen. Insgesamt stellt der Nachweis versteckter Allergene in Lebensmitteln eine wichtige neue Aufgabe der Lebensmittelkontrolle dar.

Résumé

Les allergènes non déclarés représentent un risque pour la santé des personnes sensibilisées. Jusqu'à présent, il n'était pas possible aux autorités de contrôle des denrées alimentaires de détecter les allergènes cachés dans les aliments ni de prendre les mesures correctives nécessaires. Dans ce projet, nous utilisons une méthode basée sur des immunoassays avec des sérums humains pour la détection et la détermination semi-quantitative de la présence d'allergènes dans les aliments. Les premières analyses réalisées avec les allergènes de cacahuète ont démontré la présence d'allergènes cachés dans divers catégories d'aliments, comme les snacks et les pâtisseries. La limite de détection de notre test était dans la plupart des analyses en-dessous de 50 mg cacahuète ou 5 mg allergène/kg. Nous avons contesté les produits avec une quantité d'allergènes de cacahuète non déclarés de plus d'un pour-mille. Les producteurs concernés ont réagi de manière constructive. Ils sont en train d'éliminer les allergènes cachés dans leurs produits afin d'augmenter ainsi la qualité et la sécurité de ceux-ci pour les personnes sensibilisées. La détection des allergènes

cachés dans les aliments pourrait à l'avenir représenter une part importante du contrôle des denrées alimentaires.

Summary "Allergen Detection Represents a Novel Task for Food Control Authorities"

Undeclared allergens in foodstuffs represent a major health problem for sensitised persons. Until now, the food control authorities in Switzerland were not in the situation to monitor hidden allergens and to take legal measures against their presence in foodstuffs. In this study, we employed human sera based immunoassay techniques, enabling semi-quantitative detection and identification of well defined food allergens in a variety of foodstuffs. First studies focussed on hidden peanut allergens showed the presence of undeclared allergens in products belonging to various food categories, especially cereals, cookies, cakes and snacks. The detection limit for peanut contamination was in most instances less than 50 mg/kg, i.e. approximately 5 mg/kg for peanut allergens. We legally objected to products with more than one per mill of peanut contamination. In most cases, food producers, confronted with our results, were able to detect the sources of the contamination. They implemented measures to prevent the presence of hidden peanut allergens in their products, increasing food safety for sensitised persons and overall food quality. Thus, detection of hidden food allergens represents a novel, important task for food control authorities.

Key words

Food allergens, Peanuts, Allergen detection, Action level, Food control

Literatur

- 1 Ortolani, C., Ispano, M., Scibilia, J. and Pastorello, E.A.: Introducing chemists to food allergy. *Allergy* **56** (suppl. 67), 5–8 (2001).
- 2 Sheikh, A. and Alves, B.: Hospital admission for acute anaphylaxis: time trend study. *Br. Med. J.* **320**, 1441 (2000).
- 3 Wüthrich, B.: Lethal or life-threatening allergic reactions to food. *Invest Allergy Clin. Immunol.* **10**, 59–65 (2000).
- 4 Kjellman, N.: Prediction and prevention of atopic allergy. *Allergy* **53**, 67–71 (1998).
- 5 Wüthrich, B. and Straumann, F.: Pollen cross-reactivity. Can we establish a link between the *in vitro* results and the clinical situation? *Allergy* **52**, 1187–1193 (1997).
- 6 Hourihane, J.O.B.: Prevalence and severity of food allergy – need for control. *Allergy* **53**, 84–88 (1998).
- 7 Wüthrich, B.: Zur Nahrungsmittelallergie. Häufigkeit der Symptome und der allergieauslösenden Nahrungsmittel bei 402 Patienten. *Allergologie* **16**, 280–287 (1993).
- 8 Wüthrich, B. and Ballmer-Weber, B.K.: Food-induced anaphylaxis. *Allergy* **56** (suppl. 67), 102–104 (2001).
- 9 Souci, S.W.: Food composition and nutrition tables. Medpharm Scientific Publications, Stuttgart 1994.

- 10 Burkes, A.W., Sampson, H.A. and Bannon, G.A.: Review article series II: Peanut allergens. *Allergy* **53**, 725–730 (1998).
- 11 Koppelman, S.J., Vlooswijk, R.A.A., Knol, E., Bruijnzeel-Koomen, C.A.F.M., van Reijssen, F.C., Knippels, L.M. and Hesting, M.: Quantification of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2 in peanut varieties. Oral presentation on the 8th International Symposium on immunological, chemical and clinical problems of food allergy, Venice, March 11–13, 2001.
- 12 St. Vincent, J.C.M. and Watson, W.T.A.: Unsuspected source of cow's milk protein in food. *J. Allergy Clin. Immunol.* **93**, 209 (1994).
- 13 McKenna, C. and Klontz, K.C.: Systemic allergic reaction following ingestion of undeclared peanut flour in a peanut sensitive woman. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* **79**, 234–236 (1997).
- 14 Wensing, M., Koppelman, S.J. and Penninks, A.H.: Hidden hazelnut is a threat to allergic patients. *Allergy* **56**, 191–192 (2001).
- 15 Borelli, S., Anliker, M.D. und Wüthrich, B.: Anaphylaxie auf Erdnuss: Das Problem versteckter Allergene. *Dtsch. med. Wschr.* **124**, 1197–1200 (1999).
- 16 Hourihane, J.O.B.: The threshold concept in food safety and its applicability to food allergy. *Allergy* **56** (suppl. 67), 86–90 (2001).
- 17 Chung, S.Y. and Champagne, E.T.: Allergenicity of Maillard reaction products from peanut proteins. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 5227–5231 (1999).
- 18 Schäppi, G.F., Suphioglu, C., Taylor, P.E. and Knox, R.B.: Concentrations of the major birch tree allergen Bet v 1 in pollen and respirable fine particles in the atmosphere. *J. Allergy Clin. Immunol.* **100**, 656–662 (1997).
- 19 Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* **227**, 248–254 (1970).
- 20 Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 4350–4354 (1979).
- 21 Suphioglu, C., Schäppi, G.F., Kenrick, J., Levy, D., Davies, J.M. and O'Hehir, R.E.: Identification and immunological characterization of a grass pollen allergen mimotope using phage-displayed random peptide library. *Immunology* (submitted).
- 22 Spiegelberg, H.L., Orozco, E.M. and Roman, M.: DNA-immunization: a novel approach to allergen-specific immunotherapy. *Allergy* **52**, 964–970 (1997).
- 23 Milgrom, D., Fick, R., Su, J., Reiman, J., Bush, R., Watrous, M. and Metzger, W.: Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1966–1973 (1999).
- 24 Hourihane, J.O., Kilburn, S.A., Nordlee, J.A., Hefle, S.L., Taylor, S.L. and Warner, J.O.: An evaluation of the sensitivity of subjects with peanut allergy to very low doses of peanut protein: a randomised, double-blind placebo-controlled food challenge study. *J. Allergy Clin. Immunol.* **100**, 596–600 (1997).
- 25 Rance, F., Abbal, M. and Dutau, G.: Peanut allergy in children: skin prick test, specific IgE and dose-response by double-blind placebo-controlled food challenge. *Allergy* **55** (suppl. 63), 55 (2000).

Korrespondenzadresse: Dr. Georg Schäppi, Kantonales Laboratorium Zürich, Postfach, CH-8030 Zürich, E-mail: klzh@bluewin.ch