Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 93 (2002)

Heft: 6

Artikel: Methoden zum Nachweis von Allergenen in Lebensmitteln : Anforderungen, Grenzen und Möglichkeiten

Autor: Schäppi, Georg

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-981737

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 15.07.2025

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

Methoden zum Nachweis von Allergenen in Lebensmitteln. Anforderungen, Grenzen und Möglichkeiten*

Georg Schäppi, Kantonales Laboratorium Zürich, Zürich

Hintergrund

Nahrungsmittelallergien stellen in industrialisierten Ländern ein bedeutendes Problem dar. In Europa sind rund 2% der Erwachsenen und 8% der Kinder von Allergien auf Nahrungsmittel betroffen (1). In Notfallaufnahmen von Spitälern wurde über die letzten Jahre eine Zunahme von akuten, lebensbedrohlichen allergischen Reaktionen auf Lebensmittel festgestellt (2). Bei sensibilisierten Personen können schon kleinste Dosen von allergieauslösenden Proteinen Reaktionen des Gastrointestinaltraktes, des Atemtraktes respektive der Haut auslösen. Im schlimmsten Fall kann es zu lebensbedrohlichen, systemischen Reaktionen oder sogar zu Todesfällen kommen (3). Allergische Symptome treten typischerweise schon wenige Minuten nach Verzehr des Lebensmittels auf.

In Prophylaxe und Therapie von Nahrungsmittelallergien konnten während der letzten Jahre ermutigende Fortschritte erzielt werden (4–6). Dennoch stellt das Umgehen jeden Kontaktes mit dem jeweiligen Allergen für sensibilisierte Personen nach wie vor die einzige wirklich verlässliche Möglichkeit dar, allergische Reaktionen zu vermeiden (7).

Die Problematik der versteckten (nicht deklarierten) Allergene

Die Vermeidung von Allergenkontakten erfordert eine zuverlässige, vollständige Deklaration aller Zutaten von Lebensmitteln. Eine besondere Bedeutung kommt allergenen Bestandteilen zu, die als Verunreinigungen in Lebensmittel gelangen und daher von Zutatenlisten in der herkömmlichen Form nicht erfasst werden. Wie zahlreiche Berichte und Statistiken von Kliniken zeigen, sind solche

* Vortrag gehalten an der 114. Jahresversammlung der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Zürich, 29. August 2002

versteckten Allergene immer wieder Ursachen von unter Umständen schweren allergischen Reaktionen (8–11). Eigene Studien belegten, dass auch in der Schweiz Lebensmittel mit versteckten Allergenen im Handel sind (12). Weiterführende Untersuchungen zeigten eine Reihe von möglichen Ursachen in Produktion und Logistik auf: verunreinigte Rohstoffe, Produktions- und Transportinfrastrukturen, die für allergenhaltige und vermeintlich allergenfreie Lebensmittel in Folge verwendet werden, Transferprozesse via Lüftungsanlagen oder Arbeitskleider, ungenügende Reinigungsprozeduren etc.

Gesetzliche Regelungen zum Thema Nahrungsmittelallergene in der Schweiz

Eine Reihe von Lebensmitteln zeichnet sich durch ein besonders hohes allergenes Potential aus (13, 14). Dazu gehören Milch, Eier, Fische, Krebstiere, Soja, Erdnüsse, Nüsse, Sesam und Sellerie. Per 1. Mai 2002 sind denn auch folgende Bestimmungen in die schweizerische Lebensmittelgesetzgebung eingeflossen: die oben erwähnten Lebensmittel und jeweils daraus hergestellte Produkte müssen in jedem Fall deklariert werden, wenn sie als Bestandteil von zusammengesetzten Lebensmitteln vorliegen (Art. 30 Abs. 2 LMV) und müssen auch dann deklariert werden, wenn sie als Kontaminantien mit einem Gehalt von über 1 ‰ (Art. 28 Abs. 1bis LMV) im Produkt vorliegen.

Lösungsansätze zur Problematik der versteckten Allergene

Zahlreiche Nahrungsmittelbetriebe konnten logistische und produktionstechnische Massnahmen einleiten, die zu einer nachhaltigen Verminderung oder gar Vermeidung von allergenen Kreuzkontaminationen geführt haben. So wurden entsprechende Bestimmungen in die Zertifizierungsverfahren für Rohstoffe integriert, Produktionsbereiche und -infrastruktur für allergenhaltige Produkte ausgeschieden, neue Produktionsfahrpläne entwickelt, Reinigungsprozeduren optimiert und Personal entsprechend geschult. Der Erfolg ergriffener Massnahmen wurde und wird im Rahmen der Qualitätssicherung in einigen Betrieben auch analytisch regelmässig überprüft.

Mangels besserer Alternativen haben indes einige lebensmittelproduzierende Betriebe Massnahmen zur Lösung der Problematik der versteckten Allergene ergriffen, die zumindest zum Teil als fragwürdig bezeichnet werden müssen. So dient das vieldiskutierte «kann enthalten» oft nicht einer zweckmässigen Information der Konsumentinnen und Konsumenten. Diese Formulierung darf keinesfalls als Billigvariante zur strikten Einhaltung guter Herstellungspraxis und zu einer stetigen Optimierung von Logistik und Produktion missbraucht werden. Ebenfalls keineswegs im Interesse der Konsumentenschaft ist auch der Ansatz, die Rezeptur und damit auch die Deklaration heikler Produkte um Standardzugaben allergener Ingredientien zu ergänzen, um allfällige Verunreinigungen sozusagen mit höherdosierten (ansonsten unnötigen) Zutaten zu überdecken.

Möglichkeiten zum Nachweis versteckter Nahrungsmittelallergene

Der Nachweis versteckter Allergene in Lebensmitteln und das Ergreifen von Massnahmen zur Verbesserung ungenügender Herstellungspraktiken ist vor diesem Hintergrund eine prioritäre Aufgabe sowohl der Lebensmittelindustrie als auch der vollziehenden Behörden. Eine umfassende Qualitätssicherung in der Lebensmittelindustrie, aber auch das Erfüllen des gesetzlichen Auftrages der Lebensmittelkontrolle bedingt indes die Verfügbarkeit validierter Methoden, mit denen Allergene in Lebensmitteln zuverlässig und präzise identifiziert und quantifiziert werden können. Ohne jeden Anspruch auf Vollständigkeit sollen im Rahmen dieser Arbeit einige häufig genutzte und etablierte analytische Möglichkeiten erwähnt werden.

Ausgewählte Methoden zum Nachweis von versteckten Allergenen

Anforderungen an eine Analytik von Allergenen in Lebensmitteln

Selbstverständlich gelten auch für analytische Methoden zum Nachweis von Lebensmitteln die allgemein anerkannten Anforderungen wie Selektivität, Sensitivität, Reproduzierbarkeit, Robustheit usw. Zusätzlich muss aber in den folgenden Betrachtungen die Tatsache berücksichtigt werden, dass Laboratorien einerseits und Lebensmittelproduzenten andererseits für die Überwachung der Produktion im Betrieb sehr unterschiedliche Ansprüche an einen Nachweis von Allergenen stellen. So stehen in spezialisierten Laboratorien zusätzlich zu den oben erwähnten Kriterien Aspekte wie Flexibilität und Ausbaubarkeit einer Methode auf weitere Analyten und eine möglichst tiefe Nachweisgrenze im Vordergrund. In Betrieben soll eine Methode spezifische, eng gefasste Fragestellungen beantworten, eine ausreichende Sensitivität aufweisen und mit möglichst geringem Aufwand (Zeit, Material, Ausbildung) durchgeführt werden können.

Zur Verwendung von Humanseren in der Allergenanalytik

Einige der in der Folge erwähnten Verfahren können unter Verwendung von tierischen mono- oder polyklonalen Antikörpern durchgeführt werden. Mit diesen Antikörpern werden streng genommen nicht Allergene, sondern Antigene (mit Antikörpern reagierende Strukturen) nachgewiesen. Möglich ist aber auch der Einsatz von menschlichen Antikörpern. Mit Antikörpern aus dem Serum von entsprechend sensibilisierten Personen lassen sich definitionsgemäss Allergene (Antigene, auf die sensibilisierte Personen auch tatsächlich reagieren) nachweisen. Zwar zeichnen sich Humanseren naturgemäss durch variable Reaktivitäten aus, wodurch darauf basierende Methoden vorläufig schwierig standardisierbar sind. Es ist kein einfaches Unterfangen, einem Laboratorium geeignete Seren in genügender Menge verfügbar zu machen. Ausserdem stellt der Einsatz von menschlichen Seren hohe Ansprüche an das Handling im Laboratorium und dem Datenschutz muss strikte Rechnung getragen werden. Die Verwendung von Humanseren stellt aber einen analytischen Ansatz dar, der sich stark an den immunologischen Mechanismen bei

der Entstehung von Allergien orientiert und daher für viele Fragestellungen von grösstem Interesse ist.

Einsatz von radioaktiv markierten vs. enzymmarkierten Nachweisreagentien

Einige der unten erwähnten Verfahren wurden ursprünglich mit radioaktiv markierten Nachweisreagentien durchgeführt. Es sei auf entsprechende Bezeichnungen von einzelnen Verfahren (RIA, Radioimmuno-Assay; RAST, Radioallergosorbent-Test usw.) verwiesen. Diese radioaktiven Marker sind im Laufe der Zeit wo immer möglich durch Enzymmarker (EIA, Enzymimmuno-Assay; EAST, Enzymallergosorbent-Test usw.) ersetzt worden, um einen Umgang mit radioaktiven Substanzen im Laboratorium weitgehend zu vermeiden.

Extraktionsverfahren

Feste Proben werden gemahlen oder zerstossen und während weniger Minuten bis 24 Stunden bei 4°C bis 60°C in verschiedene Puffer (PBS, PBS/BSA, PBS/Tween, unter Zugabe von NaCl usw.) extrahiert. Anschliessend werden die festen Bestandteile abzentrifugiert und die Überstände der weiteren Analytik zugeführt. Analog werden meist auch die Standards unter Verwendung von im Handel erhältlichen Ausgangsrohprodukten hergestellt. Erfahrungsgemäss stellen einige Matrizes spezielle Anforderungen an eine effiziente Extraktion. So bedarf beispielsweise eine Extraktion von Allergenen aus Schokolade einer hoch dosierten Zugabe von Milchpulver oder Gelatine.

Separative und präparative Verfahren

Gelelektrophorese

Häufig werden Probenextrakte mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Das meistbenutzte Verfahren, die SDS-PAGE, beruht darauf, dass die Proteine zunächst durch SDS denaturiert (Verlust der Sekundär- und Tertiärstruktur) und mit einer negativen Ladung versehen werden. Die Separation der Proben nach molekularer Masse erfolgt gemäss *Laemmli* (15) auf Polyacrylamidgel bei definierter Spannung. Die aufgetrennten Proteine können beispielsweise mittels Coomassie Brilliant Blue- oder Silberfärbung sichtbar gemacht werden. Letztere Variante ist zwar ungleich aufwendiger, dafür auch um einiges empfindlicher. Die Molekularmassen der einzelnen Proteinbanden werden aus dem Verhältnis zu kommerziell erhältlichen Proteinstandards ermittelt. Zur Durchführung dieser etablierten Methodik sind von verschiedenen Anbietern Geräte auf dem Markt. Erhältlich sind ebenfalls bereits vorgefertigte Gels (Readygels) in verschiedenen Grössen. Diese haben gegenüber von Hand gegossenen Gels den Vorteil, dass sie standardisiert und von (meist) gleichbleibender Qualität sind und dem anwendenden Laboratorium Zeitersparnis

bringen können. Andererseits verteuern sie die Analytik und lassen weniger Spielraum für Adaptationen («fine tuning») an spezifische Fragestellungen.

2D-Gel Elektrophorese

Unter 2D-Elektrophorese versteht man ein Verfahren, in dem die in einer Dimension aufgetrennten Proteinbanden (Auftrennung nach dem isoelektrischen Punkt (pI) der Proteine) einer zweiten Trennung mittels Gelelektrophorese unterzogen werden. Dabei werden die Proteine in einer Umgebung mit definiertem pH-Gradient unter Spannung gesetzt, so nach pI separiert, anschliessend einer SDS-PAGE unterzogen und mittels Färbung (meist Silberfärbung) visualisiert. Diese Auftrennung erlaubt eine sehr spezifische Identifizierung der Proteine, indem die ermittelten Parameter (molekulare Masse und pI) mit Datenbankinformationen verglichen werden können. Auch für die 2D-Elektrophorese sind Installationen und Kits käuflich zu erwerben.

Gel Elution

Sollen die mittels Gelelektrophorese aufgetrennten Proteine einer weiteren Analytik verfügbar gemacht werden, bieten sich sogenannte «Whole Gel Eluter» an. Mit diesen lassen sich die einzelnen Proteinbanden mittels Extraktionspuffer senkrecht zur Gelfläche aus den Gels herausextrahieren, separat auffangen und weiterverwenden.

Immunoaffinitätschromatographie

Das Prinzip dieser separativ/präparativen Methode beruht auf Interaktionen von reaktiven (allergenen) Proteinen mit spezifischen Antikörpern. Je nach Fragestellung werden reaktive Proteine resp. Antikörper an eine Säulenmatrix gekoppelt. In einem Laufpuffer werden daraufhin im ersten Fall Antikörper, im zweiten Fall Proteine in die Säule injiziert. Aufgrund der hochspezifischen Bindungsvorgänge zwischen reaktiven Proteinen und Antikörpern werden nun die Zielmoleküle adsorbiert und anschliessend mittels eines Elutionspuffers wieder aus der Säule gewaschen. Damit lassen sich je nach Kombination allergenspezifische Antikörper oder antikörperspezifische Allergene gewinnen und weiterverwenden.

Gelpermeationschromatographie

Dieses Verfahren trennt Allergen- resp. Antikörperlösungen streng gemäss Molekülgrösse auf. Hierbei werden zu analysierende Lösungen über eine poröse Matrix geleitet. Die Moleküle werden je nach Grösse von den Poren ausgeschlossen oder können in diese eindringen. Unter der Voraussetzung, dass hierbei keine weiteren Wechselwirkungen stattfinden, lässt sich dadurch ein Molekülgrössengradient im intervallweise aufgefangenen und weiterverwendbaren Eluat erreichen (16).

Dotblotting mit Immundetektion

Das Prinzip des Dotblotting beruht darauf, dass auf ein Substrat (z.B. Nitrocellulose) aufgetragene Antigene von antigenspezifischen Nachweisantikörpern erkannt werden. Letztere werden ihrerseits von enzymmarkierten Sekundärantikörpern detektiert, was mit einer Farbreaktion sichtbar gemacht werden kann (Immundetektion). Der Farbniederschlag ist von Auge deutlich erkennbar und korreliert mit der Allergenkonzentration in der entsprechenden Probe. Der Test wird mit Allergenextrakten standardisiert und kann semiquantitativ (bei einer Nachweisgrenze von ca. 10–50 mg/kg) ausgewertet werden (17, 18).

Western Blotting

Zur Identifizierung reaktiver Proteine können die Proben vor der Immundetektion mittels Gelelektrophorese (SDS-PAGE) aufgetrennt, mittels Transferblotting auf ein Substrat übertragen und auf diesem immobilisiert werden (19). Anschliessend wird analog zum zuvor beschriebenen Verfahren eine Immundetektion durchgeführt (20). So lassen sich die Molekularmassen der mit den spezifischen Antikörpern reagierenden Proteine bei einer Nachweisgrenze von ca. 10–200 mg/kg ermitteln. 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.

ELISA

ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay) ist eines der meistangewandten Verfahren zur Quantifizierung von Antigenen. Diese Methodik erlaubt auf der Basis von Antigen-Antikörper-Interaktionen eine sehr sensitive (Nachweisgrenze ca. 1 mg/kg) und spezifische Quantifizierung von Proteinen. Je nach analytischer Fragestellung resp. Verfügbarkeit von spezifischen Antikörpern kommen verschiedene Varianten und Kombinationen von Antikörpern zur Anwendung (21–23). Für Ei, Milch und Erdnuss sind von verschiedenen Herstellern Nachweiskits erhältlich. Dies sind einerseits standardisierte Verfahren für spezialisierte Labors, andererseits Verfahren, die den Anforderungen der Lebensmittelindustrie entsprechen (24).

Im Rahmen sogenannter Inhibition- resp. Competition-Assays werden die verwendeten Antikörper (im ersten Fall) vor der eigentlichen Reaktion einem ersten definiert antigenhaltigen Extrakt ausgesetzt resp. (im zweiten Fall) zeitgleich mit einem anderen definiert antigenhaltigen Extrakt eingesetzt (21). Diese Assays lassen Rückschlüsse auf Kreuzreaktivitäten zwischen verschiedenen Antigenen und indirekte Quantifizierungsaussagen zu.

Weitere Methoden zur Quantifizierung und Identifizierung von Allergenen

In der Fachliteratur finden sich im Weiteren einzelne Studien, die auf der Anwendung von PCR (Polymerase chain reaction) (25), RIE (Rocket-Immunoelectrophoresis) (26) und Biosensoring (27) zum Nachweis von Allergenen beruhen. Diese Verfahren sind auch deshalb interessant, da sie im Vergleich zu älteren Methoden zumindest teilweise tiefe Nachweisgrenzen für einige Allergene aufweisen und das Analytenspektrum erweitern.

Fazit

In industrialisierten Ländern stellen Nahrungsmittelallergien ein Problem von grosser und zudem zunehmender Bedeutung dar (1–3, 28). Zwar gibt es vielversprechende innovative Therapieansätze (4–6). Die einzige Möglichkeit für sensibilisierte Personen, sich gegen allergische Reaktionen zu schützen, ist aber bis heute die strikte Vermeidung von Allergenkontakten (7, 29). Im Falle von Nahrungsmittelallergien bedingt dies, dass Lebensmittel keine potentiell allergenen Bestandteile enthalten dürfen, die nicht deklariert sind. Zahlreiche Berichte aus Kliniken-, aber auch eigene Untersuchungen zeigen, dass dies nicht in jedem Fall gewährleistet ist (8–12). Somit müssen versteckte Allergene als erhebliches Gesundheitsrisiko für sensibilisierte Personen betrachtet werden (3, 30, 31). Lebensmittelproduzenten sowie Behörden sind gefordert, entsprechende Massnahmen in der Lebensmittelherstellung zu ergreifen resp. durchzusetzen und deren Erfolg kontinuierlich zu kontrollieren. Dies bedingt die Verfügbarkeit validierter, standardisierter Methoden. Eine Reihe für unterschiedlichste Fragestellungen geeigneter Methoden wurde in diesem Artikel kurz erwähnt. Zusammenfassend lässt sich konstatieren, dass heute für einige Allergene durchaus valable Nachweismethoden zu Verfügung stehen. Nach wie vor besteht jedoch grosser Handlungsbedarf darin, einerseits das Analytenspektrum zu erweitern, andererseits Methoden weiterzuentwickeln, zu standardisieren, zu validieren und einer praktikablen Routineanalytik zugänglich zu machen.

Abkürzungen

LMV	Lebensmittelverordnung vom 1. März 1995
PBS	Phosphate Buffered Saline
BSA	Bovines Serum-Albumin
IgE, IgG	Immunglobulin E, G
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamid Gel-Elektrophorese
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Zusammenfassung

Nicht deklarierte Allergene in Lebensmitteln stellen für sensibilisierte Personen ein gesundheitliches Risiko dar. Auch in der Schweiz sind gemäss eigenen Untersuchungen Lebensmittel mit versteckten Allergenen im Handel. Per 1. Mai 2002 sind

diesbezügliche Bestimmungen in die Lebensmittelgesetzgebung eingeflossen. Allergene Lebensmittel müssen demnach auch dann deklariert werden, wenn sie als Kontaminantien (mit einem Gehalt von über 1‰) im Produkt vorliegen. Zahlreiche Nahrungsmittelbetriebe konnten logistische und produktionstechnische Massnahmen einleiten, die zu einer nachhaltigen Verminderung oder gar Vermeidung von allergenen Kreuzkontaminationen geführt haben. Eine umfassende Qualitätssicherung in der Lebensmittelindustrie, aber auch das Erfüllen des gesetzlichen Auftrages der Lebensmittelkontrolle setzt die Verfügbarkeit validierter Methoden zum Nachweis von Allergenen voraus. Für einige Allergene (v. a. Allergene von Erdnüssen und Haselnüssen) stehen Nachweismethoden zur Verfügung. Das Spektrum erfassbarer Allergene muss jedoch dringend erweitert werden; bestehende Methoden müssen weiterentwickelt, standardisiert, validiert und einer praktikablen Routineanalytik zugänglich gemacht werden.

Résumé

Les allergènes non déclarés dans des aliments constituent un risque pour la santé des gens sensibilisés. En Suisse aussi selon nos recherches, il y a des allergènes cachés dans les produits du commerce. Depuis le 1er mai 2002 existent de nouvelles ordonnances à ce sujet. Les allergènes doivent être déclarés quand ils sont présents comme contaminations dans le produit (avec une teneur de plus d'un pour mille). Plusieurs entreprises alimentaires ont pris des mesures logistiques et techniques, qui ont diminué ou même évité durablement la contamination des produits. Une grande assurance de qualité dans l'industrie alimentaire, mais aussi l'exécution de la mission fixée par la loi sur les denrées alimentaires, suppose la disponibilité de méthodes validées pour la détermination des teneurs en allergènes. Pour quelques allergènes (arachides, noix) des méthodes sont à notre disposition. Mais le nombre d'allergènes contrôlables doit absolument être étendu. Les méthodes qui existent doivent être perfectionnées, standardisées, validées et être accessibles et utilisables par les laboratoires d'analyse de routine.

Summary "Detection Methods for Allergens in Foods"

Undeclared allergens in foods present a major health problem for sensitised persons. On the Swiss food market, there are products with hidden allergens. As of 1st May 2002, the Swiss food law contains a paragraph on hidden allergens. Based on this regulation, allergenic compounds have to be labelled as well, if they are present in the product as contaminants with a concentration higher than one per mill. Numerous food producers were able to optimize logistics and production parameters in order to minimize or even avoid allergenic cross-contaminations. An integral quality assurance within food industry and the activity of the food control authorities are dependent on the availability of validated allergen detection methods. There are methods for the detection of some of the important allergens (i.e. peanut and nut allergens). Yet, the applicability of the methods has to be extended to other aller-

gens. Allergen detection methods have to be further developed, validated, and standardized internationally.

Key words

Food allergens, Hidden allergens, Methods, Allergen detection, Food immunology, Food quality

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 *Suphioglu, C., Schäppi, G.F., Kenrick, J., Levy, D., Davies, J.M.* and *O'Hehir, R.E.:* A novel grass pollen allergen mimotope identified by phage display peptide library inhibits allergen-human IgE antibody interaction. FEBS letters **25072**, 1–7 (2001).

5 *Spiegelberg, H.L., Orozco, E.M.* and *Roman, M.:* DNA-immunization: a novel approach to allergen-specific immunotherapy. Allergy **52**, 964–970 (1997).

6 *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).

7 *Kjellman, N.:* Prediction and prevention of atopic allergy. Allergy **53**, 67–71 (1998).

8 *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).

9 *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).

10 *Wensing, M., Koppelman, S.J.* and *Penninks, A.H.:* Hidden hazelnut is a threat to allergic patients. Allergy **56**, 191–192 (2001).

11 *Borelli, S., Anliker, M.D.* und *Wüthrich, B.:* Anaphylaxie auf Erdnuss: Das Problem versteckter Allergene. Dtsch. Med. Wschr. **124**, 1197–1200 (1999).

12 *Schäppi, G., Konrad, V., Imhof, D., Wüthrich, B.* und *Etter, R.:* Nachweis von Nahrungsmittelallergenen als neue Aufgabe für die Lebensmittelkontrolle. Mitt. Lebensm. Hyg. **92**, 277–289 (2001).

13 *Hourihane, J.O.B.:* Prevalence and severity of food allergy – need for control. Allergy **53**, 84–88 (1998).

14 *Wüthrich, B.:* Zur Nahrungsmittelallergie. Häufigkeit der Symptome und der allergieauslösenden Nahrungsmittel bei 402 Patienten. Allergologie **16**, 280–287 (1993).

15 *Laemmli, U.K.:* Cleavage of structural proteins during assembly of the head of the bacteriophage T4. Nature **227**, 248–254 (1970).

16 *Dauwe, C.* und *Reinhold, G.:* GPC von Proteinen und Immunglobulinen. CLB **12**, 444–448 (2001).

17 *Blais, B.W.* and *Philippe, L.M.:* A cloth-based enzyme immunoassay for detection of peanut proteins in foods. Food Agric. Immunol. **12**, 243–248 (2000).

18 *Schäppi, G., Konrad, V., Imhof, D., Etter, R.* and *Wüthrich, B.:* Hidden peanut allergens detected in various food: findings and legal measures. Allergy **56**, 1216–1220 (2001).

19 *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).

20 *Ong, E.K., Suphioglu, C., Singh, M.B.* and *Knox, R.B.:* Immunodetection methods for grass pollen allergens on western blots. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. **93**, 338–343 (1990).
21 *Holzhauser T.* and *Vieths, S.:* Indirect competitive ELISA for determination of traces of peanut *(Arachis hypogaea)* protein in complex food matrices. J. Agric. Food Chem. **47**, 603–611 (1999).
22 *Holzhauser T.* and *Vieths, S.:* Quantitative sandwich ELISA for determination of traces of hazelnut *(Corylus avellana)* protein in complex food matrices. J. Agric. Food Chem. **47**, 4209–4218 (1999).
23 *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).
24 *Baumgartner, S., Steiner, I., Kloiber, S., Hirmann, D., Krska, R.* and *Yeung, J.:* Towards the development of a dipstick immunoassay for the detection of trace amounts of egg proteins in food. Eur. Food Res. Technol. **214**, 168–170 (2002).
25 *Holzhauser T., Wangorsch, A.* and *Vieths, S.:* PCR for detection of potentially allergenic hazelnut residues in complex food matrices. Eur. Food Res. Technol. **211**, 360–365 (2000).
26 *Holzhauser T., Dehne, L.I., Hoffmann, A., Haustein, D.* and *Vieths, S.:* Rocket immunoelectrophoresis (RIE) for determination of potentially allergenic peanut proteins in processed foods as a simple means for quality assurance and food safety. Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A **206**, 1–8 (1998).
27 *Haasnoot, W., Olieman, K., Cazemier, G.* and *Verheijen, R.:* Direct biosensor immunoassays for the detection of nonmilk proteins in milk powder. J. Agric. Food Chem. **49**, 5201–5206 (2001).
28 *Wüthrich, B.* and *Ballmer-Weber, B.K.:* Food-induced anaphylaxis. Allergy **56** (suppl. 67), 102–104 (2001).
29 *Hourihane, J.O.B.:* The threshold concept in food safety and ist applicability to food allergy. Allergy **56** (suppl. 67), 86–90 (2001).
30 *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).
31 *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).

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