

Aus der
Universitäts-Hautklinik Tübingen

**Das α -Gal-Syndrom
Diagnostische Möglichkeiten in einem
 α -Gal-Allergikerkollektiv sowie in einer
Risikopopulation für Zeckenstiche**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hebsaker, Johanna

2020

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1 Berichterstatter: Professor Dr. T. Eigentler

2 Berichterstatter: Privatdozent Dr. S. Becker

Tag der Disputation: 12.10.2020

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	3
Abkürzungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis.....	6
Abbildungsverzeichnis.....	7
1.1 Einleitung	9
1.2 Zielsetzung.....	27
2. Material und Methoden.....	28
2.1 Kollektiv der α -Gal-Allergiker	28
2.2 Kollektiv der Forstmitarbeiter	29
2.3 Untersuchungsmethoden	31
2.4 Begriffserläuterungen	36
2.5 Datenschutz und Ethik.....	38
3. Ergebnisse	40
3.1 Kollektiv der α -Gal-Allergiker	40
3.2.1 Kollektiv der Forstmitarbeiter	50
3.2.2 Gegenüberstellung der sensibilisierten und nicht sensibilisierten Forstmitarbeiter	55
3.3 Vergleich α -Gal-Allergiker mit sensibilisierten Forstmitarbeitern	58
4. Diskussion.....	66
4.1 Auswahl der Studienkollektive	66
4.2 Methodische Verfahren	69
4.2.1 Serologische Untersuchungen.....	69
4.2.2 Hämagglutinationstest	69
4.2.3 Hauttestungen und orale Exposition	72
4.3 Ergebnisse und Schlussfolgerung für den Kliniker.....	75
4.3.1 Eigenschaften eines Kollektivs Erkrankter	75
4.3.2 Eine Sensibilisierung gegen α -Gal hat klinische Relevanz.....	78

4.3.3 Aussagekraft der Diagnostik zwischen Sensibilisierung und Erkrankung...	80
5. Zusammenfassung	84
6. Literaturverzeichnis	87
7. Anhänge.....	92
8. Veröffentlichungen	115
9. Erklärung zum Eigenanteil.....	116
10. Danksagung	117
11. Lebenslauf.....	118

Abkürzungsverzeichnis

α -Gal	Galaktose- α -1,3-Galaktose; ein Disaccharid
α -1,3GT	α -1,3-Galaktosyltransferase
α -Gal-IgE	IgE-Antikörper, spezifisch gegen Galaktose- α -1,3-Galaktose
B-Blutgruppe	diejenigen AB0-Blutgruppen, welche Antigen B enthalten (Blutgruppe B und AB)
Non-B-Blutgruppe	diejenigen AB0-Blutgruppen, welche kein Antigen B enthalten (Blutgruppe A und 0)
FDEIA	anstrengungsinduzierte Nahrungsmittelallergie, engl.: food-dependent, exercise-induced Anaphylaxis
FEIA	Fluoreszenz-Enzym-Immuno-Assay
Gesamt-IgE	Gesamtheit aller im Serum gemessener Antikörper der Immunglobulinklasse E; Einheit: kU/L
Ig	Immunglobulin
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
NSAR	Nicht-steroidale Antirheumatika

Einheiten

kU/L	kilo-Units pro Liter; Einheit zur Messung von Antikörper-Titern
mm	Millimeter
°C	Grad Celsius
g	g-Wert, relative Zentrifugalbeschleunigung

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schweregrade der Anaphylaxie nach Ring und Messmer ¹⁸	12
Tabelle 2: AB0-Blutgruppenverteilung in Südwestdeutschland ⁴⁷	19
Tabelle 3: Schlüssel Hämagglutination.....	33
Tabelle 4: Fleischzubereitungen Prick-zu-Prick-Testung	35
Tabelle 5: CAP-System	37
Tabelle 6: Übersicht Alpha-Gal-Allergiker	41
Tabelle 7: Orale Expositionstestung Alpha-Gal-Allergiker.....	47
Tabelle 8: Blutgruppenverteilung Alpha-Gal-Allergiker.....	49
Tabelle 9: Merkmale Alpha-Gal-Allergiker	49
Tabelle 10: Übersicht Forstmitarbeiter.....	50
Tabelle 11: Auswertung Fragebogen Allergie Forstmitarbeiter	52
Tabelle 12: Blutgruppenverteilung Forstmitarbeiter	52
Tabelle 13: Blutgruppenverteilung sensibilisierte und nicht sensibilisierte Forstmitarbeiter	56
Tabelle 14: Binäre logistische Regression Forstmitarbeiter	57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Variation der terminalen Galaktosereste im ABO-Blutgruppensystem nach Watkins ⁴⁵	19
Abbildung 2: Blutgruppenantigene und α -Gal, nach Milland und Sandrin ²⁸	22
Abbildung 3: Studienkollektive.....	28
Abbildung 4: Beispiel Ablesemuster Hämagglutination	34
Abbildung 5: Altersverteilung Alpha-Gal-Allergiker	40
Abbildung 6: Alpha-Gal-Titer Alpha-Gal-Allergiker	42
Abbildung 7: Gesamt-IgE-Titer Alpha-Gal-Allergiker.....	43
Abbildung 8: Hauttestergebnisse Alpha-Gal-Allergiker	45
Abbildung 9: Altersverteilung Forstmitarbeiter	50
Abbildung 10: Sensibilisierung gegen Alpha-Gal Forstmitarbeiterkollektiv	51
Abbildung 11: Vergleich Gesamt-IgE und Blutgruppen Forstmitarbeiter	53
Abbildung 12: Vergleich Alpha-Gal-IgE und Blutgruppen Forstmitarbeiter	54
Abbildung 13: Vergleich Gesamt-IgE sensibilisierte und nicht sensibilisierte Forstmitarbeiter	55
Abbildung 14: Vergleich Blutgruppenverteilung sensibilisierte und nicht sensibilisierte Forstmitarbeiter	56
Abbildung 15: Vergleich Gesamt-IgE sensibilisierte Forstmitarbeiter und Alpha-Gal-Allergiker	59
Abbildung 16: Vergleich Atopieneigung sensibilisierte Forstmitarbeiter und Alpha-Gal-Allergiker	60
Abbildung 17: Vergleich Alpha-Gal-IgE sensibilisierte Forstmitarbeiter und Alpha-Gal-Allergiker	61
Abbildung 18: Positive Hauttestergebnisse sensibilisierte Forstmitarbeiter.....	62
Abbildung 19: Vergleich positiver Hauttestergebnisse sensibilisierte Forstmitarbeiter und Alpha-Gal-Allergiker	63
Abbildung 20: Häufigkeit Prick-Testergebnisse in Abhängigkeit der CAP-Klasse	64
Abbildung 21: Häufigkeit Intrakutantestergebnisse in Abhängigkeit der CAP-Klasse..	65

1.1 Einleitung

Vorkommen von Galaktose- α -1,3-Galaktose

Das Kohlenhydrat Galaktose- α -1,3-Galaktose (α -Gal) ist ein Disaccharid, welches bei bestimmten Säugetierarten als Epitop gebunden an Glykoproteinen auf verschiedenen Geweben exprimiert wird¹. Dieses konnte bereits aus Nicht-Primaten (z.B. Schwein, Rind, Schaf, Maus, Hase) und Neuweltaffen (Amerika) extrahiert werden², wohingegen die meisten Altweltaffen (Asien, Afrika, Europa), zu denen die Menschenaffen und Menschen gehören, kein α -Gal-Epitop besitzen¹. α -Gal ist ein Produkt der α -1,3-Galaktosyltransferase(α -1,3GT)³. Im Zuge der Evolution ist den Altweltaffen, und somit auch den Menschen durch eine Inaktivierung des α -1,3GT-Gens die Fähigkeit abhanden gekommen, α -Gal zu produzieren¹. Wahrscheinlich bedeutete diese Inaktivierung einen selektiven Vorteil, welcher aufgrund der vorherigen geographischen Trennung der Kontinente die Neuweltaffen nicht betraf. Man vermutet, dass der Selektionsdruck durch ein endemisch vorkommendes infektiöses Virus, Bakterium oder Protozoon ausgelöst wurde, welches α -Gal oder eine zu α -Gal kreuzreagierende Kohlenhydrat-Determinante exprimierte¹. Eine wirksame Immunantwort gegen dieses Antigen konnte nur aufgebaut werden, indem das eigene α -1,3GT-Gen supprimiert wurde und das Immunsystem nun in der Lage war, α -Gal-Epitope als körperfremd zu erkennen und in diesem Zuge Antikörper gegen α -Gal zu bilden¹.

Die Eigenschaft von Menschen und Menschenaffen, Antikörper gegen α -Gal zu bilden, ist bis heute unverändert. IgG-Antikörper gegen α -Gal machen beim immunkompetenten Menschen den größten Anteil (circa 1 Prozent) von im Körper zirkulierenden Immunglobulinen aus, welcher auch durch massive Immunsuppression nicht beseitigt werden kann⁴. Diese starke Immunantwort durch Antikörperbildung gegen α -Gal ist somit zu erklären, dass sie möglicherweise gegen die physiologische Flora im menschlichen Organismus gerichtet ist⁵. α -Gal-IgG im menschlichen Organismus ist in der Transplantationsmedizin eine der wichtigsten Ursachen für die hyperakute Abstoßungsreaktion nach einer Xenotransplantation von Schweineorganen.

Cetuximab und α -Gal

In den letzten Jahren konnten einige neue Erkenntnisse zur klinischen Relevanz von α -Gal gewonnen werden.

Die Einführung von Cetuximab (Handelsname Erbitux®, Bristol-Myers Squibb and ImClone Systems), einem chimären monoklonalen Antikörper vom Typ IgG1, gerichtet gegen den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR), der seit 2005 in der Onkologie zur Krebsimmuntherapie eingesetzt wird⁶, begründete den Anfang einer langen Reihe von neuen Forschungsansätzen.

Durch die therapeutische Anwendung von Cetuximab-Infusionen in den USA wurden bei zahlreichen Patienten Minuten nach Verabreichung Unverträglichkeitsreaktionen beobachtet, welche im schwersten Fall zu einem anaphylaktischen Schock führten⁷. Auffallend war die Beobachtung, dass

22 Prozent der behandelten Patienten im Südosten der USA (North Carolina und Tennessee) eine Unverträglichkeit zeigten, wohingegen im Nordosten der USA die Rate unter ein Prozent lag⁹ (laut Gebrauchsinformation für Erbitux® 5mg/ml Infusionslösung können schwere Hypersensitivitätsreaktionen in drei Prozent der Fälle auftreten⁶). Rückblickend traten diese innerhalb von Minuten nach der erstmaligen Gabe von Cetuximab auf. Diese sofortige Reaktion auf ein Antigen ist vereinbar mit der IgE-vermittelten Anaphylaxie^{9,10,11}. Das bedeutet, dass sich die betroffenen Patienten vor der Gabe von Cetuximab mit dem die Immunantwort auslösenden Antigen sensibilisiert, und folglich schon vor der Cetuximab-Verabreichung IgE-Antikörper gegen das betreffende Antigen gebildet haben mussten. Dabei handelte es sich um IgE-Antikörper gegen einen Glycosylrest auf dem Fab-Fragment (engl. antigen-binding fragment) am Protein Asparagin auf Position 88 der schweren Kette von Cetuximab¹². Seit der Veröffentlichung der gesamten Glycosylierung von Cetuximab¹² weiß man, dass es sich bei dem relevanten Antigen um α -Gal handelt¹³.

Im Zuge dieser Beobachtung und der zeitnahen Entwicklung eines ImmunoCAP® Assays für α -Gal-spezifisches IgE (Phadia US, Portage, Mich), untersuchten Commins et al.⁷ mithilfe eines quantitativen IgE-Antikörper-Tests (ImmunoCAP®, Phadia) zahlreiche Patientenserum. Es zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem geografischen Standort der Patienten und dem Vorhan-

densein von IgE-Antikörpern gegen α -Gal (α -Gal-IgE). Diese Region ist außerdem deckungsgleich mit der Region, in welcher die Cetuximab induzierten Anaphylaxie häufig beobachtet wurde.

Chung et al.⁶ untersuchten eine Kontrollgruppe von Patienten, welche zu diesem Zeitpunkt nicht aufgrund einer Tumorerkrankung behandelt wurden, aber auch in Tennessee lebten. Ihre Ergebnisse zeigten, dass auch in 20,8 Prozent dieser Seren α -Gal-IgE vorhanden waren, welche an Cetuximab binden, wohingegen bei Kontrollgruppen aus Nordkalifornien und Boston nur in 6,1 Prozent und 0,6 Prozent α -Gal-IgE vorhanden war.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Vorhandensein von α -Gal-IgE weder durch eine Krebserkrankung noch durch die Cetuximab-Therapie bedingt ist. Vielmehr müssen die α -Gal-IgE zuvor unabhängig von der Krebserkrankung gebildet worden sein. Dies wiederum scheint in manchen Regionen wahrscheinlicher zu sein als in anderen.

Nahrungsmittelallergie

Bei der Nahrungsmittelallergie handelt es sich um eine überschießende, reproduzierbare Immunreaktion auf ein bestimmtes in der Nahrung vorkommendes Antigen¹⁴. Nach der Klassifizierung von Coombs und Gell wird diese Immunreaktion als Soforttyp-Reaktion beschrieben¹⁵. Der Kontakt mit dem Allergen führt über IgE-vermittelte Mastzellaktivierung zur Degranulation von Histamin, Leukotrienen und Zytokinen¹⁶. Histamin spielt eine Schlüsselrolle bei den sofortigen Auswirkungen der allergischen Reaktion auf den Organismus. Es wirkt dilatatorisch an Blutgefäßen und führt somit zu Schwellung und Ödembildung. Durch Nahrungsmittel verursachte Allergien gelten als Hauptauslöser für lebensbedrohliche Anaphylaxien in den Industrieländern (USA, Europa)¹⁷. Die klinischen Symptome einer Nahrungsmittelallergie sind vielseitig und von unterschiedlicher Ausprägung. Dazu zählen gastrointestinale Symptome wie Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen und Meteorismus. Möglich sind auch Hautbeteiligungen wie Pruritus, Urtikaria, Quincke-Ödem oder atopische Dermatitis.

Außerdem kann das respiratorische System betroffen sein; dies kann sich durch Rhinitis, Larynx-Ödem, Dyspnoe oder Asthma bronchiale äußern.

Im schwersten Fall reagiert das Immunsystem mit einem anaphylaktischen

Schock auf das auslösende Allergen¹⁷. Als Anaphylaxie wird eine systemische allergische Reaktion mit Multiorganbeteiligung verstanden, in welcher Ateminsuffizienz und Kreislaufstörungen mit Organversagen bis hin zu Kreislaufversagen auftreten können¹⁰. Die Anaphylaxie wird nach Ring und Messmer in vier Schweregrade unterteilt¹⁸, siehe Tabelle 1: *Schweregrade der Anaphylaxie nach Ring und Messmer*.

TABELLE 1: SCHWEREGRADE DER ANAPHYLAXIE NACH RING UND MESSMER¹⁸

°I	Hautsymptome wie Juckreiz, Flush, Urtikaria
°II	Messbare Veränderung des Herz-Kreislaufsystems mit Tachykardie und/oder Hypotonie, gastrointestinale Symptome wie Übelkeit und Erbrechen
°III	Schock, lebensbedrohlicher Bronchospasmus
°IV	Herz- und/oder Atemstillstand

Dieser Zustand ist lebensbedrohlich. Die Notfallmedikamente der 1.Wahl sind Adrenalin, ein H1-Antihistaminikum und ein Glukokortikoid¹⁹. Patienten mit bekannten schweren allergischen Reaktionen oder bestimmten Vorerkrankungen (Mastozytose, Asthma bronchiale) sollten mit einem Antihistaminikum, einem Glukokortikoid sowie einem Adrenalin-Autoinjektor ausgestattet werden, um sich nach vorausgegangener Schulung im Notfall selbst helfen zu können. Die wichtigste Therapie einer Nahrungsmittelallergie ist die Karenz des betreffenden Nahrungsmittels.

Das verursachende Allergen kann durch eine Kombination von Haut-Prick-Testung und Serumanalyse des spezifischen IgE, oder mithilfe einer oralen Expositionstestung detektiert werden.

Anstrengungsinduzierte Nahrungsmittelallergie (FDEIA)

Die anstrengungsinduzierte Nahrungsmittelallergie (engl. food-dependent, exercise-induced Anaphylaxis, kurz FDEIA) ist eine besondere Form der Nahrungsmittelallergie. Dabei tritt eine allergische Reaktion auf das betreffende Nahrungsmittel nur ein, wenn im Zeitraum der Nahrungsaufnahme oder -Verdauung eine körperliche Stresssituation bestand²⁰. Laut Wölbing et al. sind 39 Prozent aller schweren anaphylaktischen Reaktionen durch das Hinzukommen von körperlichen Stresssituationen, sogenannten Kofaktoren, entstanden²¹. Als Kofaktor wird der körperlichen Anstrengung der höchste Stellenwert zugeschrieben, gefolgt von Alkohol, nichtsteroidalen Analgetika, anderen Medikamenten und Infektionserkrankungen²¹. Auch im Zusammenhang mit einer Fleischallergie auf Rind- und Schweinefleisch wurde von einer FDEIA berichtet²². Zur Beurteilung dieser Fälle reicht eine herkömmliche Diagnostik nicht aus; vielmehr muss das individuelle Risiko einer allergischen Reaktion durch eine Mitbestimmung der möglichen Kofaktoren erfolgen²¹.

Antikörper gegen α -Gal

Die Antikörper, genannt Immunglobuline (Ig) sind Bestandteile der humoralen Immunabwehr im menschlichen Organismus. Sie lassen sich strukturell und funktionell in 5 Subklassen (IgG, IgM, IgD, IgA, IgE) einteilen. Den Hauptanteil bilden hierbei die Antikörper der Subklasse IgG. Bei Antigenbindung durch IgG erfolgt eine Aktivierung des Komplementsystems. Die Subklasse IgG lässt sich weiterhin in vier Untergruppen (IgG1-4) einteilen.

Das Immunglobulin IgM wird zusammen mit IgD vor allem in der Frühphase der Antikörperantwort gebildet. Die Blutgruppenantikörper Anti-A und Anti-B bestehen vorwiegend aus IgM²⁴.

Bei allergischen und parasitären Erkrankungen imponiert das Immunglobulin IgE. Durch Mastzellaktivierung erfolgt die Auslösung einer allergischen Reaktion²⁴.

Die Subklasse der IgA-Antikörper ist vor allem in Körpersekreten präsent²⁴. Galili et al. zeigten, dass ein Prozent der humanen IgG aus Antikörpern gegen α -Gal bestehen²⁵. Laut den Untersuchungen von McMorro et al. sind sogar 4-8 Prozent des Gesamt-IgM und 1-2,5 Prozent des Gesamt-IgG im menschlichen

Organismus gegen α -Gal gerichtet²⁶. Bei der Untersuchung der antikörperproduzierenden B-Lymphozyten im menschlichen Organismus fiel auf, dass die Anzahl der α -Gal produzierenden B-Lymphozyten viermal so hoch ist wie der Anteil der B-Lymphozyten, welcher Anti-A oder Anti-B-Antikörper produziert⁵. Die α -Gal-IgG-Antikörper werden unabhängig vom AB0-Blutgruppensystem gebildet. Die Bildung findet als Reaktion auf exogene Einflüsse statt²⁷. Aufgrund seines ubiquitären Vorkommens in Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren²⁸ ist der hohe Anteil der α -Gal-IgG-Antikörper im menschlichen Organismus nachvollziehbar. Auch aus Darmbakterien wurde α -Gal gewonnen^{28,29}. Normalerweise führt eine Exposition mit α -Gal nicht unmittelbar zur Bildung von α -Gal-IgE, sondern zur Bildung von α -Gal-IgG³⁰.

Bei einer allergischen Reaktion vom Soforttyp sind jedoch IgE-Antikörper und nicht IgG-Antikörper beteiligt. Bei Patienten mit einem α -Gal-Syndrom sind nachweislich α -Gal-IgE-Antikörper erhöht.

In der Arbeit von Rispens et al. stellt sich die Frage über einen möglichen Zusammenhang zwischen der Bildung von α -Gal-IgE und α -Gal-IgG. Probanden mit erhöhtem α -Gal-IgE-Titer hatten auch erhöhte α -Gal-IgG-Titer³⁰. Das deutet darauf hin, dass ein bestimmter Effekt auf das Immunsystem einwirken kann, sodass in beiden Antikörperklassen Antikörper gegen α -Gal gebildet werden. Die Bildung der IgE-Antikörper wird im Allgemeinen von T-Helferzellen gesteuerten Cytokinen wie IL-4 und IL-13 initiiert³¹.

Es zeigte sich, dass bei nicht sensibilisierten Probanden der größte Anteil der α -Gal-Antikörper aus IgG2 bestand³⁰. Bei den sensibilisierten Probanden mit erhöhtem α -Gal-IgE hingegen zeigte sich ein wesentlicher Anteil der α -Gal-Antikörper in der IgG1-Antikörperklasse. Interessanterweise kann aus strukturellen Gründen zwischen IgG1 und IgG2 kein Antikörperswitching stattfinden. Zusammenfassend könnte die vermehrte Bildung von α -Gal-IgG eine α -Gal-IgE-Produktion bewirken³⁰ und somit ein auslösender Faktor für das α -Gal-Syndrom sein. Es wird vermutet, dass α -Gal-IgG1 und α -Gal-IgE durch einen Antikörpersubklassenswitch aus α -Gal-IgM hervorgehen³⁰.

Das α -Gal-Syndrom

Einige Patienten, welche bei Cetuximab-Gabe eine Hypersensitivitätsreaktion erlitten hatten, berichteten zusätzlich über anaphylaktische Episoden oder die Entwicklung schwerer Angioödeme eine bis drei Stunden nach dem Verzehr von Rind, Schwein, Schaf, Hase, Pferd, Känguruh oder Kuhmilch^{3,6,32,33}.

Andere Quellen berichten bei Patienten mit erhöhten α -Gal-IgE-Titern über aufgetretene generalisierte Urtikaria und schwere Anaphylaxien drei bis sechs Stunden nach dem Verzehr von rotem Fleisch (hier Rind, Schwein, Lamm), nicht jedoch nach dem Verzehr von Geflügel oder Fisch^{3,34}. Dieser Sachverhalt bestätigt die Beobachtung, dass α -Gal auf Säugetiergewebe exprimiert wird, aber nicht in Geflügel oder Fisch vorhanden ist. Daraufhin testeten Commins et al. bekannte α -Gal-Allergiker auf α -Gal-IgE im Serum³. Tatsächlich ergab die Untersuchung, dass alle Allergiker IgE-Antikörper gegen α -Gal gebildet hatten. Die Fleischallergie ist eine Form der Nahrungsmittelallergie³⁵; sie wird auch als α -Gal-Syndrom bezeichnet.

Das α -Gal-Syndrom weicht vom gängigen Verständnis der Nahrungsmittelallergien in verschiedenen Punkten ab; die Fleischallergie entwickelt sich bei den meisten Patienten erst im Erwachsenenalter, wohingegen fast alle anderen Allergien auf Nahrungsmittel im Kindesalter auftreten. Viele α -Gal-Allergiker können sogar den Beginn ihrer Reaktionen auf rotes Fleisch auf einen bestimmtem Zeitpunkt zurückdatieren, obwohl sie zuvor keinerlei Auffälligkeiten nach dem Fleischverzehr bemerkt hatten⁷. Dieser Umstand lässt vermuten, dass ein bestimmter Umweltfaktor die Sensibilisierung gegen α -Gal beeinflusst.

Zudem entwickeln sich die Symptome einer Fleischallergie zum Teil erst einige Stunden nach dem Verzehr von rotem Fleisch^{34,36}, nicht innerhalb der ersten Stunde, wie es bei einer Nahrungsmittelallergie zu erwarten wäre³⁵. Typischerweise wachen die Betroffenen nach einer abendlichen Fleischmahlzeit nachts an ihren Beschwerden auf, und können dann den Zusammenhang mit dem Fleischverzehr leicht übersehen³. Diesem Umstand zufolge war es in der Vergangenheit erschwert, eine Nahrungsmittelallergie auf rotes Fleisch zu diagnostizieren. Fällt der Verdacht auf rotes Fleisch als Auslöser verschiedener allergischer Reaktionen, wird eine Haut-Prick-Testung durchgeführt. Untersuchungen

von Commins et al. haben allerdings gezeigt, dass die gängige Prick-Testung mit kommerziell erworbenen Allergenextrakten unzureichend für die Diagnose der Fleischallergie ist³. Viele Patienten, welche unter schweren Reaktionen nach Fleischverzehr litten, zeigten im Prick-Test nur schwache oder negative Reaktionen³. Im Umkehrschluss könnte der Prick-Test-Befund schwerwiegende Folgen haben, denn keine oder schwache Reaktionen im Prick-Test können nicht als Vorhersagewert für die Schwere einer allergischen Reaktion herangezogen werden und eine spätere Anaphylaxie keinesfalls ausschließen. Die Therapie des α -Gal-Syndroms besteht aus der absoluten Karenz von α -Gal-haltigen Substanzen. Auch wurde eine wiederkehrende Toleranz gegen rotes Fleisch beschrieben, nachdem die α -Gal-Allergiker für längere Zeit nicht von Zecken gebissen wurden⁸⁵.

Mögliche Auslöser einer Sensibilisierung gegen α -Gal

Zuerst berichteten van Nunen et al. von einem Neuauftreten einer Fleischallergie gegen rotes Fleisch bei Patienten in Australien, welche 1-6 Monate vor dem allergischen Ereignis starke Lokalreaktionen an der Einstichstelle eines Zeckenstichs entwickelt hatten³⁷. Sie alle lebten zu dem Zeitpunkt in einem Endemiegebiet verschiedener Zeckenspezies. Trotz starker Lokalreaktionen an der Einstichstelle, welche mindestens eine Woche lang anhielten, erwähnte keiner der Patienten, ähnliche Reaktionen nach einem Wespen-, Bienen-, oder Moskitostich erlitten zu haben. Nunen et al. verdächtigen die Zeckenspezies *Ixodes holocyclus*, verantwortlich für diese Lokalreaktionen und Auslöser der Fleischallergie zu sein³⁷. Auf welchem Weg die Zecke eine IgE-gesteuerte Immunreaktion im menschlichen Organismus auslöst, ist nach wie vor ungewiss. Mögliche Auslöser einer Immunantwort könnten eine Substanz im Zeckenspeichel, ein mit der Zecke übertragenes von einem vorherigen Zeckenwirt stammendes Glykoprotein, oder ein anderer mit der Zecke übertragener Mikroorganismus sein³⁶.

Commins et al. beobachteten die α -Gal-IgE-Titer von Patienten über drei Jahre hinweg. Auffallend war, dass das α -Gal-IgE nach einem Zeckenstich um das Zwanzigfache anstieg. Einige dieser Patienten litten nach besagtem Zeckenstich an generalisierter Urtikaria, die sich 3-4 Stunden nach dem Verzehr von

rotem Fleisch entwickelt hatte, obwohl bis zum Zeitpunkt vor dem Zeckenstich keine Fleischallergie gegen rotes Fleisch bekannt gewesen war⁷. Die in den USA aufgetretenen Fälle korrelieren geographisch mit der Verbreitung des Rocky-Mountain-Spotted-Fever, dessen Überträger die Zeckenspezies *Amblyomma americanum* ist⁷. Commins et al. untersuchten daraufhin die Prävalenz von α -Gal-IgE-Titern in zeckenarmen Gebieten der USA und Nordschweden und gelangten zu dem richtungsweisenden Ergebnis, dass dort keine oder nur sehr wenige Sensibilisierungen gegen α -Gal stattgefunden hatten⁷.

Im Gegensatz zu *Amblyomma americanum*, welche nur in der neuen Welt (Amerika) vorkommt, sind in Europa mehrere relevante Zeckenarten verbreitet. Am bekanntesten ist *Ixodes ricinus* als Vektor der Borreliose und der Frühsommermeningoenzephalitis (FSME). Für Europa wird die hier heimische Gattung der *Ixodes* für die Übertragung in Betracht gezogen³⁸. In Japan wurde über Immunoblotverfahren das α -Gal-Epitop im Zeckenspeichel der Gattung *Haemaphysalis longicornis* entdeckt³⁹.

Auch in Südschweden wurden Sensibilisierungen gegen α -Gal beschrieben, hier ist vornehmlich die Zeckenspezies *Ixodes ricinus* verbreitet⁴⁰. Alle gegen α -Gal sensibilisierten Patienten wiesen zusätzlich IgE-Antikörper gegen *Ixodes ricinus* auf. Bei 35 Prozent der sensibilisierten Patienten mit zusätzlichen IgE-Antikörpern gegen *Ixodes ricinus* wurden außerdem IgE-Antikörper gegen *Amblyomma americanum* gefunden, allerdings in geringerer Konzentration. Diese Tatsache könnte auf eine allergische Kreuzreaktion hinweisen, bei welcher *Ixodes ricinus* die primäre Sensibilisierungsquelle darstellt⁴⁰. Hamsten et al. fertigten Kryostat-Schnitte aus Bestandteilen der *Ixodes ricinus* an und konnten zeigen, dass Antikörper gegen α -Gal im Gastrointestinaltrakt der Zecke binden³⁸. Dieser Test bestätigt, dass das α -Gal-bindende Epitop in *Ixodes ricinus* vorhanden ist.

In Baden-Württemberg sind zahlreiche Fälle von Typ-I-Sensibilisierungen gegen α -Gal bekannt. Der Naturpark Schönbuch ist eines der wichtigsten Verbreitungsgebiete der heimischen Buntzeckenarten *Dermacentor reticulatus* (Auwaldzecke) und *Dermacentor marginatus* (Schafzecke), welche mit *Amblyom-*

ma spp. verwandt sind⁴¹. Eine kausale Beteiligung dieser Zeckenart an dem beobachteten Phänomen erscheint möglich.

Laut Milland und Sandrin könnte die Bildung von Antikörpern gegen α -Gal jedoch auch als gerichtete Immunantwort gegen Mikroorganismen oder andere Umweltantigene, zum Beispiel Pflanzen resultieren²⁸. In Zentralafrika wurden ebenfalls erhöhte IgE-Antikörper-Titer gegen α -Gal bei Patienten mit parasitären Erkrankungen (Schistosomiasis, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*) nachgewiesen⁴². Patienten mit Leishmaniose zeigten erhöhte IgG-Titer gegen α -Gal⁴³.

Aufbau der Blutgruppenantigene

Der Mediziner und Nobelpreisträger Karl Landsteiner entdeckte schon Anfang des 20. Jahrhunderts aufgrund von Agglutinationen zwischen Blutseren und Erythrozyten unterschiedlicher Spender das Vorhandensein der AB0-Blutgruppen⁴⁴. Auch benannte er in diesem Zusammenhang die Proteinstruktur als bestimmenden Faktor dieser Variationen⁴⁴. Die Blutgruppenantigene bestehen aus glykosylierten Glykoproteinen, denen jeweils ein anderer Zuckerrest angehängt ist. Hierbei handelt es sich um die Zucker N-Acetylglukosamin, Galaktose und Fucose⁴⁵, siehe auch Abbildung 1: *Variation der terminalen Galaktosereste im AB0-Blutgruppensystem nach Watkins*. Die Blutgruppenantigene, welche auf roten Blutkörperchen und anderen Körpergeweben exprimiert werden, werden mittels Transferasen durch Anhängen des Zuckers an die terminale Galaktose modifiziert⁴⁵. Dadurch entstehen die unterschiedlichen Blutgruppen. So wird dem Blutgruppe-0-Antigen durch eine Fucosyltransferase eine Fucosegruppe übertragen, Blutgruppe-A-Allele kodieren für eine α 1,3-N-Acetylgalactosaminyltransferase welche ein N-Acetylgalactosamin überträgt und dem Gruppe-B-Antigen wird durch die α -1,3-Galactosyltransferase ein Galaktoserest in α 1,3-Bindung zugefügt. Die Transferasen sind durch bestimmte Gene codiert⁴⁵.

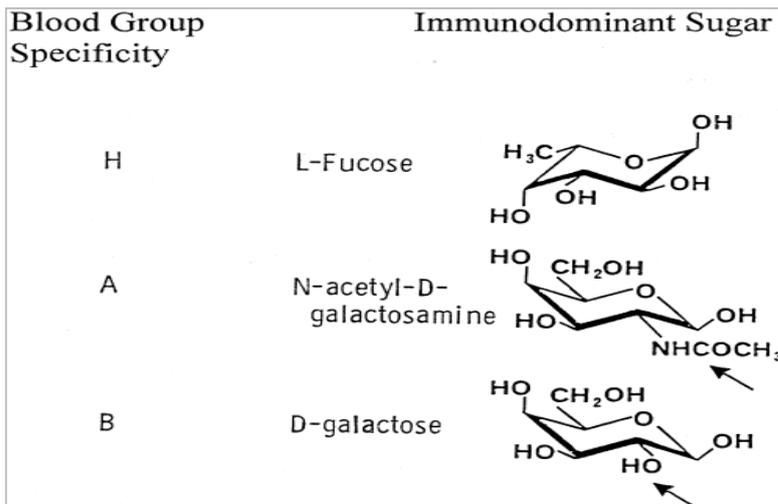


ABBILDUNG 1: VARIATION DER TERMINALEN GALAKTOSERESTE IM AB0-BLUTGRUPPENSYSTEM NACH WATKINS⁴⁵

Es existieren die Antigene A₁, A₂, B, und H (Antigen der Träger der Blutgruppe 0)⁴⁶. Die Antigeneigenschaften werden streng nach den Mendelschen Regeln vererbt, wobei Antigen A₁ über A₂ dominiert, und beide zu Antigen B kodominant sind. Die drei genannten Antigene sind über das Antigen H dominant. Daraus resultieren sechs mögliche Blutgruppen: A₁, A₂, B, A₁B, A₂B und 0 (Antigen H)⁴⁶, diese werden in der gängigen Literatur oftmals als die Blutgruppen A, B, AB und 0 zusammengefasst. Die Anteile der AB0-Blutgruppenverteilung variieren in verschiedenen Bevölkerungen (siehe Tabelle 2: *AB0-Blutgruppenverteilung in Südwestdeutschland*).

TABELLE 2: AB0-BLUTGRUPPENVERTEILUNG IN SÜDWESTDEUTSCHLAND⁴⁷

Blutgruppe	Häufigkeit in Prozent
0	41
A	43
B	11
AB	5

Der unterschiedliche Anteil von Blutgruppen in der Weltbevölkerung lässt sich durch einen Selektionsdruck in der Evolution des Menschen erklären, der abhängig von der Antikörper- und Antigenbildung die Entwicklung der Blutgruppenverteilung beeinflusste, wie Haldane schon 1949 vermutete⁴⁸.

Die Antigen determinanten der Blutgruppenantigene können nicht nur von den entsprechenden Antikörpern erkannt werden. Es wurden Erreger beschrieben, welche an Antigen-Epitope der Blutgruppen binden. So wurde gezeigt, dass eine Infektion mit dem Norwalk-Virus bei Probanden der Blutgruppe 0 häufiger auftrat als bei Probanden mit der Blutgruppe B ^{24,49}.

Diagnostische Verfahren zur Bestimmung der Blutgruppeneigenschaften

Zum einen können die Isoagglutinine (natürliche Antikörper) aus dem Blutserum des Probanden bestimmt werden. Durch das Ablesen der Agglutination aufgrund der Reaktion der im Probandenserum vorhandenen Isoagglutinine kann auf seine Blutgruppe rückgeschlossen werden.

Zu diesem Verfahren gehören der Hämagglutinationstest (Serumgegenprobe, Röhrchentest), der Gelkartentest, der AB0-linked-Immunsorbent Assay (ELISA) sowie die Durchflusszytometrie⁵⁰. Das Serum des Probanden wird mit Antigen A-, B-, und 0

-präsentierenden Testerythrozyten vermengt, und je nach Agglutinationsmuster bewertet. Erfolgt der Hämagglutinationstest bei Raumtemperatur und ohne weitere Zusatzreagenzien, so führen ausschließlich die kompletten IgM-Antikörper zur Agglutination der korrespondierenden Testerythrozyten⁴⁶. Zur Detektion einer von den inkompletten IgG-Antikörpern verursachten Agglutination muss der Erythrozytensuspension eine Hilfssubstanz zugefügt werden, wie zum Beispiel Antihumanglobulinserum oder Coombs-Reagenz ^{46,51}. Der klassische Hämagglutinationstest bleibt der Goldstandard in der klinischen Routine⁴⁹. Mithilfe der Durchflusszytometrie können die Isoagglutinine IgM und IgG zusätzlich differenziert und quantifiziert werden⁵².

Zum anderen können die roten Blutkörperchen und andere Gewebe auf ihre antigenträgenden Eigenschaften untersucht werden, um die Blutgruppe zu bestimmen. Hierbei wird die Blutprobe des Probanden jeweils mit Anti-A- und Anti-B-Antikörpern vermengt und je nach Agglutination bewertet. Hierzu zählt zum Beispiel der Bedside-Test (AB0-Identitätstest).

Anti-A und Anti-B-Antikörper

Die Anti-A und Anti-B-Antikörper der AB0-Blutgruppen werden als reguläre Isoagglutinine bezeichnet⁴⁶. Sie werden jeweils blutgruppenkonträr zur eigenen Blutgruppe gebildet.

Irreguläre Antikörper sind Immunglobuline, welche sich gegen Erythrozyten richten, aber außerhalb des AB0-Blutgruppensystems durch Antigenkontakt gebildet werden⁵³. Dazu gehören unter anderem die Antikörper des Kell-Systems oder die Anti-D-Antikörper des Rhesussystems⁴⁶. Diese können mittels Antikörpersuchtest aus dem Patientenserum detektiert werden⁵³.

Die regulären Isohämagglutinine bestehen zum größten Anteil aus IgM-Immunglobulin sowie aus IgG- und IgA-Immunglobulinen, wobei IgM-Immunglobuline durch Aktivierung des Komplementsystems direkt eine Hämolyse bewirken können^{24,49,54}.

Isoagglutinine der Subklasse IgM werden auch komplette Antikörper genannt. Aufgrund ihrer Größe und pentamerartigen Struktur sind sie in der Lage, ohne Hilfsmittel den Abstand benachbarter Erythrozyten zu überwinden und eine Agglutination zu bewirken²⁴. Inkomplette Antikörper (z.B. IgG) hingegen können ohne Zugabe von verschiedenen Hilfsmitteln keine sichtbare Erythrozytenagglutination verursachen, auch wenn eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattfindet²⁴.

Während bei den Blutgruppen A und B hauptsächlich Anti-A und Anti-B-Antikörper des IgM-Subtyps vorherrschen, bestehen die Anti-A- und Anti-B-Antikörper der Blutgruppe 0 zu großen Teilen aus IgG-Antikörpern^{49,55}.

Trotz der Spezifität der Blutgruppenantikörper auf ihr betreffendes Antigen wurde vor allem bei den IgM-Antikörpern eine zusätzliche Reaktivität gegenüber anderen Exo- und Autogenen entdeckt⁵⁶. Auch in Abwesenheit von antigenträgenden roten Blutzellen wurde eine Bildung von Blutgruppenantikörpern beobachtet⁵⁷. In Bakterien, Viren, Parasiten, Tieren und Pflanzen zeigen sich ebenfalls kohlenhydratartige Strukturen, welche mit den Epitopen der Blutgruppen identisch sind oder eine Kreuzreaktion mit den Blutgruppenisoagglutininen hervorrufen können⁵⁸.

Hierbei werden jedoch keine Antikörper gegen die jeweils eigenen Blutgrup-

penantigene produziert⁵⁷, sondern gegen die den eigenen Isoagglutininen korrespondierenden Antigenen.

Bis heute ist nicht vollständig geklärt, in welchem Maße genetische Faktoren oder exogene Umwelteinflüsse die ausschlaggebende Rolle zur Bildung der Blutgruppenantikörper einnehmen⁴⁵.

Blutgruppenantigene und α -Gal

In Abbildung 2 sind die strukturellen Merkmale der Blutgruppenantigene A und B sowie von α -Gal dargestellt. Auffallend ist die strukturelle Ähnlichkeit zwischen Antigen B und α -Gal, welche sich nur hinsichtlich einer Fucose-Gruppe unterscheiden⁵⁹.

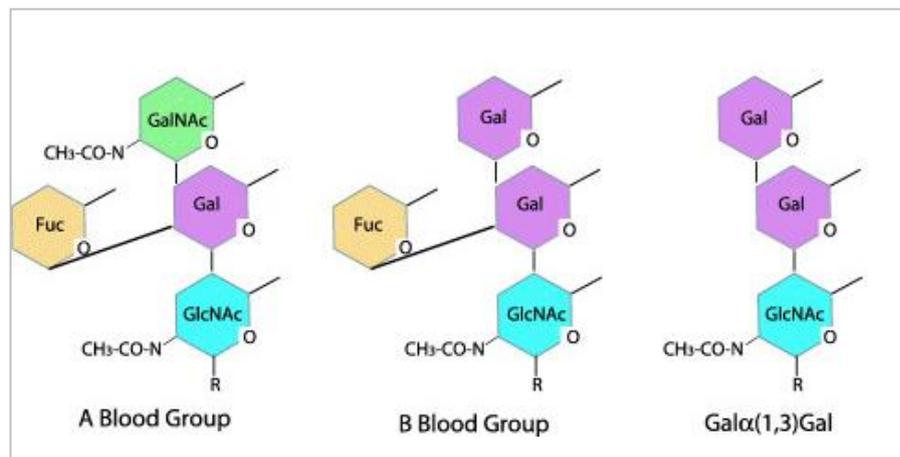


ABBILDUNG 2: BLUTGRUPPENANTIGENE UND α -GAL, NACH MILLAND UND SANDRIN ²⁸

Gal= α -Gal, *GalNAc*=N-Acetylgalactosamin, *GlcNAc*=N-Acetylglucosamin, *Fuc*=Fucose

Schon 1987 wiesen Galili et al. darauf hin, dass die Spezifität der α -Gal-Antikörper abhängig von den jeweiligen Blutgruppentypen sein könnte. Während die Blutgruppenträger A und 0 α -Gal-IgG produzierten, welche gegen α -Gal und gleichzeitig gegen das B-Antigen gerichtet sind, produzierten Träger der Blutgruppe B und AB nur α -Gal-IgG, welche ausschließlich gegen das α -Gal-Epitop gerichtet sind²⁵.

Auch McMorro et al. zeigten, dass Träger der Blutgruppen B und AB im Gegensatz zu Trägern der Blutgruppe A und 0 niedrigere Level an IgM- und IgG-Antikörpern gegen α -Gal besaßen⁵⁹.

Die Fähigkeit, Antikörper gegen ein Antigen zu bilden, welche der eigenen Blutgruppe strukturell sehr ähnlich sind, muss eingeschränkt sein⁴⁶ um eine gegen eigenes Gewebe gerichtete Autoaktivität der Antikörper zu vermeiden.

Hamsten et al. untersuchten diesbezüglich die Blutgruppen von 39 schwedischen Patienten, welche erhöhte IgE-Antikörpertiter gegen α -Gal gebildet hatten. Dabei stellte sich heraus, dass nur 5 Prozent der Probanden der Blutgruppe B oder AB angehörten, wohingegen in der schwedischen Allgemeinbevölkerung die Blutgruppen B und AB einen im Vergleich höheren Anteil von 18 Prozent ausmachten⁴⁰. Auch in einer Studie von Rispen et al. wurde gezeigt, dass Probanden mit der Blutgruppe B/AB signifikant niedrigere IgG-Titer gegen α -Gal bildeten als Probanden mit den Blutgruppen A und O³⁰.

Galili et al. untersuchten die Antikörper aus Serum von Patienten, welche nach einer Allograft-Organtransplantation eine Abstoßungsreaktion erlitten hatten⁶⁰. Es zeigte sich, dass der größte Anteil der erhöhten Antikörper durch α -Gal-IgG ausgemacht wurde. Diese α -Gal-IgG reagierten zusätzlich mit den Blutgruppenantigenen A beziehungsweise B, und wurden als verantwortliche Antikörper für die Abstoßungsreaktion bestimmt⁶⁰. Anti-A und/ oder Anti-B-Antikörper hingegen waren nur zu kleinen Teilen im Serum der Patienten erhöht. Zusätzlich hatte in manchen Fällen ein α -Gal-Antikörper-Subklassen-Switch von IgM zu IgG stattgefunden⁶⁰.

Zusammengefasst gibt es α -Gal-IgG-Antikörper, welche aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten zwischen α -Gal und den Blutgruppenantigenen beide Epitope erkennen können und somit zu Abstoßungsreaktionen bei nicht immunkompatiblen Organen führen.

Diagnostische Verfahren in der Allergologie

Beim Verdacht auf eine IgE-vermittelte Lebensmittelallergie werden verschiedene diagnostische Verfahren angewendet. Die resultierenden Ergebnisse sollten in Kombination interpretiert werden, um eine Über- oder Unterdiagnostizierung zu verhindern. Primär ist eine vollständige Anamnese zu allergiebezogenen Vorkommnissen und eventuellen Vorbefunden zu erheben. Als nächster Schritt erfolgt, sofern keine Kontraindikationen vorhanden sind, eine Hauttestung im Sinne eines Prick-Tests. Dem folgt eine Serumuntersuchung, um die

Höhe des spezifischen IgE und des Gesamt-IgE zu bestimmen. Die orale Expositionstestung ist der Goldstandard zur Diagnostik der Nahrungsmittelallergie.

Serumanalyse α -Gal- IgE

Die Bestimmung des spezifischen IgE gegen α -Gal aus dem Blut des Patienten ist ein wichtiger Bestandteil in der Diagnostik des α -Gal-Syndroms und anderen Lebensmittelallergien. Dieses als „in-vitro“ bezeichnete Testverfahren⁶¹ ist ungefährlich für den Patienten und im Klinikalltag einfach durchzuführen. Dennoch sollte es nicht als einziges diagnostisches Mittel beim Verdacht auf eine Lebensmittelallergie herangezogen werden, da es auch Patienten gibt, welche trotz hoher Werte des spezifischen IgE keinerlei klinische Anzeichen einer Lebensmittelallergie zeigen⁶². Eine Überdiagnostizierung hätte zur Folge, dass Patienten, welche hohe spezifische IgE-Titer haben, als therapeutische Maßnahme auf das Nahrungsmittel verzichten müssten, obwohl sie keinerlei körperliche Reaktionen nach dessen Verzehr zeigten. Eine Unterdiagnostizierung kann lebensgefährlich sein, und dazu führen, dass ein Patient, welcher niedrige Serumtiter des spezifischen IgE zeigt, bei der Aufnahme des Lebensmittels eine starke allergische Reaktion entwickelt⁶². Die Serumanalyse des spezifischen IgE ist besonders dann indiziert, wenn eine „in vivo“-Diagnostik nicht möglich ist oder sich Diskrepanzen aus Hauttestung und Anamnese ergeben⁶¹.

Serumanalyse Gesamt-IgE

Zusätzlich zum spezifischen IgE wird bei bestehendem Verdacht auf eine atopische Disposition das Gesamt-IgE gemessen⁶¹. Dabei handelt es sich um die Gesamtsumme von allen spezifischen Immunglobulinen der Subklasse E, welche vom Körper gebildet wurden. Obwohl sich der Gesamt-IgE-Serumtiter nach einer Allergenexposition erhöht⁶¹, ist dieser nicht beweisend für eine Allergie gegen ein spezifisches Allergen. Ebenso ist ein normwertiger Gesamt-IgE-Titer keine Garantie dafür, dass keine Allergie vorliegt⁶³.

Prick-Test

Es handelt sich hierbei um einen klinischen Haut-Test welcher zur Routinediagnostik bei allergischen IgE-vermittelten Sofort-Typ-Reaktionen gehört. Die Indikation wird gestellt, wenn eine positive Anamnese und eine allergietypische Kli-

nik bestehen⁶⁴. Die bei der Allergie vorhandenen IgE-Antikörper sind an Mastzellen gekoppelt, welche bei einer Aktivierung durch das passende Allergen Mediatoren wie Histamin freisetzen¹⁶. Hierbei kann das Ausmaß der Reaktion in Form einer Quaddel oder Rötung, welche sich an der Injektionsstelle präsentiert, abgelesen und quantitativ beurteilt werden. Prick-Tests haben eine negativ-prädiktive Vorhersagewahrscheinlichkeit von 90 Prozent und eine hohe Sensitivität⁶⁵.

Systemische Reaktionen nach Haut-Prick-Testung sind selten⁶⁶. Dennoch müssen für solche Fälle Vorkehrungen in Form einer adäquaten Notfallversorgung getroffen werden. Prick-Testungen und Serumanalysen des spezifischen IgE können aber nur Auskunft darüber geben, ob ein Proband sich gegen das betreffende Allergen sensibilisiert hat⁶². Sie sollten daher nicht zur alleinigen Diagnostik einer Lebensmittelallergie herangezogen werden. Außerdem ist eine präzise Anamnese zu betreffenden Ereignissen in der Vorgeschichte des Patienten eine wichtige Voraussetzung zur Diagnosestellung⁶².

Prick-zu-Prick-Test

Wenn für die Prick-Testung eine industriell hergestellte Testsubstanz nicht erhältlich ist oder deren Testergebnisse nicht mit dem anamnestisch/serologisch erhobenen Befund übereinstimmen, können auch die nativen Testsubstanzen des zu testenden Allergens verwendet werden^{67,68}. Dieser modifizierte Prick-Test wird Prick-zu-Prick-Test genannt. Untersuchungen ergaben, dass ein Prick-Test mit nativen Substanzen häufiger eine Reaktion hervorruft als durch die selben kommerziell hergestellten Allergene⁶⁹.

Intrakutantest

Der Intrakutantest ist neben dem Prick-Test die wichtigste Hauttestuntersuchung für IgE-vermittelte Allergien⁷⁰. Einige Untersuchungen zeigen, dass dieser Test eine höhere Sensitivität besitzt als der Prick-Test^{67,71,72}, obwohl die Testkonzentrationen für den Intrakutantest normalerweise um den Faktor 100-1000 niedriger sind als bei Pricktestlösungen⁷³. Patienten, welche beim Prick-Test keine Reaktion auf das Allergen zeigten, reagierten im Intrakutantest auf das Allergen. Dennoch scheint hier das Risiko für schwere Reaktionen erhöht

im Vergleich zur Prick-Testung⁷⁴. Deswegen wird in der Fachliteratur teilweise davon abgeraten⁷³. In den letzten Jahren wurde es zudem immer schwieriger, an die industriell hergestellten Testsubstanzen zu gelangen, da die Produktion aufgrund von Nichtwirtschaftlichkeit zunehmend eingestellt wird.

Orale Expositionstestung

Die orale Expositionstestung ist in der Allergologie nach wie vor die Methode der Wahl, um eine Lebensmittelallergie zu diagnostizieren⁷⁵. Zudem ist es das einzige Verfahren, welches die klinische Relevanz einer Sensibilisierung gegen α -Gal für jeden einzelnen Patienten individuell aufzeigen kann. Dennoch kann die Diagnosestellung durch eine Ermittlung der im Serum vorhandenen spezifischen IgE-Titer unterstützt werden⁷⁶. Orale Expositionstestungen müssen von ärztlicher Seite streng überwacht und unter stationären Bedingungen erfolgen, da starke Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock auftreten können. Durch Zuhilfenahme von Kofaktoren wie körperliche Belastung, Alkohol und nichtsteroidale Analgetika kann eine allergische Reaktion ausgelöst werden, auch wenn eine vorherige Testung ohne Kofaktoren unauffällig war⁷⁷. Kofaktoren stellen eine zusätzliche Stresssituation für den Organismus dar. Für diesen Fall müssen Notfallmedikamente in passender Dosis bereitgestellt werden⁷⁸.

1.2 Zielsetzung

Es gibt sowohl sensibilisierte Patienten mit der manifesten klinischen Symptomatik eines α -Gal-Syndroms, als auch Patienten, welche keinerlei allergiespezifische Symptome zeigen, obwohl sie im Serum erhöhte IgE-Titer gegen α -Gal-präsentieren. Das Ziel dieser Dissertation besteht darin, herauszuarbeiten, anhand welcher Merkmale sich diese beiden Patientengruppen unterscheiden. Zudem wird untersucht, ob die derzeit in der klinischen Routine angewendeten allergologischen diagnostischen Möglichkeiten eine Vorhersage bezüglich der klinischen Ausprägung der Erkrankung erlauben.

Hierzu werden demographische Daten sowie allergiespezifisch relevante Untersuchungen retrospektiv ausgewertet (Gesamt-IgE, α -Gal-IgE, Atopieneigung, Hauttestungen, orale Expositionstestung).

Außerdem wird die These, wonach die Antigen-B tragenden AB0-Blutgruppen (Blutgruppe B und AB) einen protektiven Faktor bezüglich einer Sensibilisierung gegen α -Gal darstellen, geprüft. Hierfür wurde die Hämagglutinationstestung angewendet.

Hierfür eignen sich folgende zu untersuchenden Kollektive:

Bei den Patienten mit manifester Erkrankung handelt es sich um in Behandlung befindliche Patienten der Universitäts-Hautklinik Tübingen mit einem α -Gal-Syndrom (Kollektiv der α -Gal-Allergiker).

Das zweite zu untersuchende Kollektiv ergibt sich aus einem Risikokollektiv für Zeckenstiche, da hieraus eine hohe Prävalenz einer Sensibilisierung gegen α -Gal erwartet wurde. Hierfür erfolgte die Rekrutierung von Forstmitarbeitern aus der Region Naturpark Schönbuch und den angrenzenden Waldgebieten (Kollektiv der Forstmitarbeiter).

2. Material und Methoden

Bei den zu untersuchenden Kollektiven handelt es sich zum einen um ein Kollektiv aus Forstmitarbeitern, zum anderen um ein Patientenkollektiv aus α -Gal-Allergikern (siehe Abbildung 3: *Studienkollektive*).

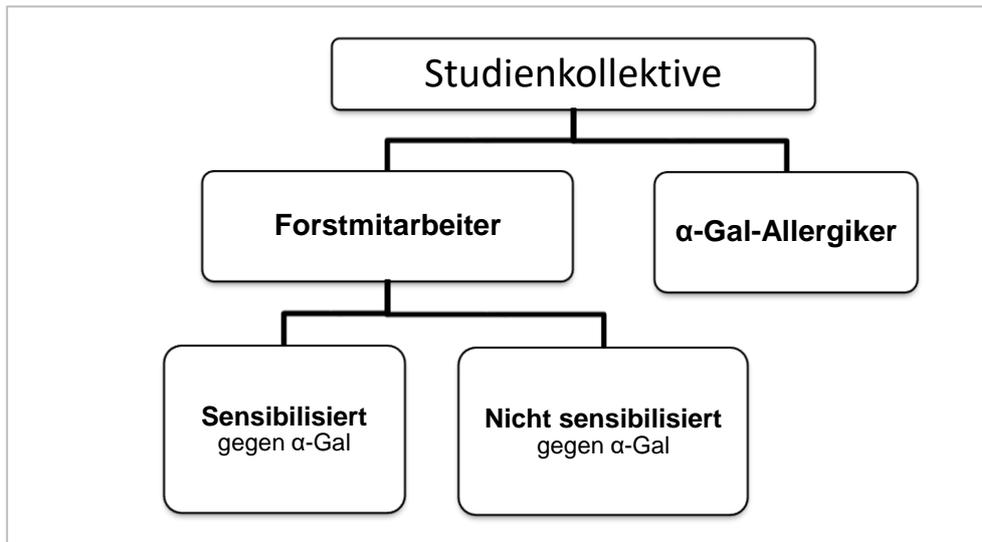


ABBILDUNG 3: STUDIENKOLLEKTIVE

2.1 Kollektiv der α -Gal-Allergiker

Die Rekrutierung des Studienkollektivs der α -Gal-Allergiker erfolgte über das schon bestehende Patientenkollektiv der allergologischen Ambulanz der Universitäts-Hautklinik Tübingen. Infrage kamen alle Patienten, welche aufgrund eines bestehenden α -Gal-Syndroms in Tübingen im Zeitraum 2/2003 bis 2/2015 in ärztlicher Betreuung gewesen waren. Hierfür wurden die Probanden nach Auffinden im Patientenverwaltungsprogramm beziehungsweise Laborinformationssystem in die Studie aufgenommen. Es handelt sich um ein 55 Patienten fassendes Kollektiv.

Demographische Daten, sowie bereits durchgeführte allergologische Tests (Prick-zu-Prick-Testung, Intrakutantestung, orale Expositionstestung) und serologische Parameter (Gesamt-IgE sowie α -Gal-IgE) wurden gesammelt und retrospektiv ausgewertet.

Zudem wurde in meinem experimentellen Teil der Dissertation aus einer bestehenden Serothek der Hämagglutinationstest mit den vorhandenen Seren der α -Gal-Allergiker durchgeführt.

Im letzten Teil wurden statistische Testverfahren angewendet, um dieses Kollektiv der am α -Gal-Syndrom Erkrankten mit der Teilgruppe der sensibilisierten Forstmitarbeiter anhand verschiedener Faktoren zu vergleichen und somit Erkenntnisse darüber zu gewinnen, welche Faktoren eine manifeste Erkrankung von einer stummen Sensibilisierung unterscheiden können.

2.2 Kollektiv der Forstmitarbeiter

Der Begriff „Forstmitarbeiter“ wird übergreifend für alle Studienteilnehmer aus diesem Kollektiv angewendet. Dieses beinhaltet Personen, welche sich aufgrund beruflicher oder privater Tätigkeiten im Naturpark Schönbuch und/oder angrenzenden Waldgebieten der Landkreise aufhalten. Das Forstmitarbeiterkollektiv ist ein wichtiger Bestandteil für meine Untersuchungen, da der Verdacht besteht, dass gehäufte Zeckenstiche mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit einer Sensibilisierung gegen α -Gal einhergehen. Die Forstmitarbeiter dienen hierbei als Risikopopulation für Zeckenstiche.

Die Rekrutierung erfolgte über ein Informationsschreiben, welches den Forstmitarbeitern über die zuständigen Landesgesundheitsämter zugesendet wurde. Nach Einwilligung in die Studie erfolgte das Ausfüllen eines Fragebogens (siehe Anhang: *Anlage 1*), sowie eine einmalige Blutentnahme zur Durchführung von Serumanalysen. Die Auswertungen der Fragebögen und die Laboruntersuchungen wurden im November 2013 abgeschlossen.

Neben dieser Dissertation leitete sich aus Teilen des Fragebogens und der Serumanalysen die Dissertationsschrift meiner Kollegin Dr.med. Elena Lupberger ab (Lupberger E, (2017), *Die Typ-I-Sensibilisierung gegen Galaktose-alpha-1,3-Galaktose bei Jägern und Forstmitarbeitern des Naturparks Schönbuch*. Medizinische Dissertationsschrift, Universität Tübingen).

Die Vorbereitung zur Rekrutierung sowie die Entwicklung des Fragebogens und die Blutentnahmen erfolgten zu gleichen Teilen durch uns beide. Die Studie

meiner Kollegin endet mit der Auswertung des Fragebogens und der Prävalenz einer Sensibilisierung gegen α -Gal-IgE im genannten Kollektiv.

In meiner Dissertationsschrift wird nun weiterführend das Kollektiv der Forstmitarbeiter betrachtet. Es erfolgt zunächst die deskriptive Erfassung demographischer Eigenschaften sowie die Auswertung des Fragebogens hinsichtlich vorhandener Allergien in der Vorgeschichte. Zusätzlich wird mit den Probandenseren ein Hämagglutinationstest zur Bestimmung der ABO-Blutgruppeneigenschaften durchgeführt. Es erfolgt die Beschreibung des Kollektivs mittels der Bestimmung des Gesamt-IgE und des α -Gal-IgE aus den Probandenseren.

Aufgrund der Höhe der α -Gal-IgE-Titer können die Forstmitarbeiter durch eine Bildung von zwei Teilgruppen weitergehend untersucht werden; diejenigen Probanden, welche sich gegen α -Gal sensibilisiert hatten (α -Gal-IgE $\geq 0,10$ kU/L), und diejenigen, welche sich nicht gegen α -Gal sensibilisiert hatten (α -Gal-IgE $< 0,10$ kU/L). Es werden mittels statistischer Methoden verschiedene Faktoren betrachtet, welche einen Einfluss auf die Bildung einer Sensibilisierung gegen α -Gal bewirken könnten. Als mögliche Faktoren sind vor allem die ABO-Blutgruppenverteilung, Alter, Geschlecht, Atopie und bestehende Allergien von Interesse.

Sensibilisierte Probanden wurden über ihren Befund informiert und auf freiwilliger Basis zur Prick-zu-Prick- und Intrakutantestung als ergänzende Untersuchung zur individuellen Abklärung eingeladen. Die Untersuchungen wurden bei 34 Forstmitarbeitern in der allergischen Ambulanz der Universitäts-Hautklinik Tübingen durchgeführt. Die Ergebnisse werden in dieser Dissertation zu einem späteren Zeitpunkt mit den Ergebnissen der Hauttestungen der α -Gal-Allergiker verglichen.

2.3 Untersuchungsmethoden

Datenerfassung

Die Datenerfassung erfolgte mithilfe des Patientenverwaltungsprogramms *LAURIS Order Communication System*® (Roche Deutschland Holding GmbH), dem Laborinformationssystem *SwissLab*® (Roche Deutschland Holding GmbH) sowie aus Patientenakten der Probanden. Die Daten wurden retrospektiv ausgewertet.

Erheben der Blutproben

Bei allen Studienteilnehmern erfolgte die Blutentnahme aus einer Armvene. Hierfür wurden EDTA-Monovetten (Sarstedt AG & Co. KG) à 7,5ml befüllt und anschließend im allergologischen Labor der Universitäts-Hautklinik zentrifugiert. Das überstehende Serum (10-12ml) wurde in Serumröhrchen abgefüllt und bis zur Messung bei -20°C eingefroren und gelagert. Das Serum wurde durch die technischen Assistentinnen des Labors ausgewertet.

Serologische Messung α -Gal-IgE

Die serologische Messung erfolgte mittels eines Fluoreszenz-Enzym-Immuno-Assays (FEIA), dem ImmunoCap® 1000 System (Phadia, Freiburg). Von Phadia hergestellte spezifische Allergene werden an die feste Phase, bestehend aus cyanobromid-aktivierter Zellulose gekoppelt⁶¹. Durch Fluorophotometrie werden die an die Allergene bindenden spezifischen IgE-Antikörper des Patientenserums ermittelt und nach WHO-IgE-Standard kalibriert und ausgewertet^{61,82}.

Serologische Messung Gesamt-IgE

Die Messung des Gesamt-IgE der Probanden erfolgte ebenfalls mithilfe eines Fluoreszenz-Enzym-Immuno-Assays (FEIA) mittels ImmunoCap® 1000 System (Phadia, Freiburg).

Hämagglutinationstestung zur Bestimmung der Blutgruppeneigenschaften

Vorbereitung:

Für die Blutgruppenbestimmung werden humane Testerythrozyten benötigt. Hier wurden DRK-BSD Reverse RedCells benutzt, in welcher die Erythrozyten

in 3%iger Suspension vorliegen. Beim Hämagglutinationstest in Form einer Serumgegenprobe reagieren die Antigene der Testerythrozyten mit den affinen Isoagglutininen des jeweiligen Probandenserums. Die Test-Erythrozyten kommen in den folgenden vier Antigen-Mustern vor:

A₁; Rh positiv; (D positiv); (CcD.ee)

A₂; Rh positiv; (D positiv); (CcD.ee)

B; Rh positiv; (D positiv); (CcD.ee)

0; Rh positiv; (D positiv); (CcD.ee)

Da Blutgruppe-A₁-Träger und Blutgruppe-A₂-Träger in der Regel gegenseitig keine Antikörper bilden⁴⁶, wurden zur Vereinheitlichung die Test-Erythrozyten mit dem Antigen-Muster *A₂; Rh positiv; (D positiv); (CcD.ee)* nicht in die Untersuchung mit einbezogen. Die Blutgruppenzugehörigkeit wurde in allen Probandenkollektiven gemessen. Zur Verhinderung eines Ablesefehlers wurden die Testergebnisse im Hämagglutinationstest stets von einer zweiten Person, dem Studienarzt, gegenkontrolliert.

Hämagglutinationstestung

Durchführung:

Die Test-Erythrozyten wurden auf Raumtemperatur gebracht und resuspendiert. Jeweils 75µl Probandenserum wurde mithilfe eines Reagenzschüttlers homogenisiert und auf eine 48-Wells-Platte in jeweils drei Vertiefungen pipettiert (manuelle Eppendorf-Einkanal-Pipette). Zu den drei pipettierten Seren eines Probanden wurde jeweils ein Tropfen (50µl) der entsprechenden Test-Erythrozytensuspension gegeben.

Nun wurde die 48-Wells-Platte bei 936 g für 20 Sekunden zentrifugiert (Thermoscientific Heraeus® Multifuge® 3 L-R). Danach wurde das Sediment vorsichtig aufgeschüttelt und auf Agglutination nach dem folgenden Muster (siehe Tabelle 3: *Schlüssel Hämagglutination*) beurteilt.

TABELLE 3: SCHLÜSSEL HÄMAGGLUTINATION

Probandenserum + jeweilige Test-Erythrozytensuspension A ₁ , B oder 0			Blutgruppe des Probanden
A ₁	B	0	
∅	a	∅	A
a	∅	∅	B
a	a	∅	0
∅	∅	∅	AB

a = agglutiniert

∅ = nicht agglutiniert

Für die Testung wurden 3 Test-Erythrozytensuspensionskits benötigt. Nicht eindeutige Ergebnisse wurden unter Benutzung eines weiteren Kits erneut getestet.

Die abgelesenen 48-Wells-Platten wurden zur Digitalisierung eingescannt. In der nachfolgenden Abbildung 4: *Beispiel Ablesemuster Hämagglutination* ist links eine eingescannte 48 Wells-Platte nach dem Hämagglutinationstest zu erkennen. Die Tabelle rechts veranschaulicht das Ablesen der Agglutination dieser Wells-Platte. Die Wells werden in Zeilen von links nach rechts abgelesen. Dabei wird immer in 3 aufeinanderfolgenden Wells das Serum eines Patienten pipettiert.

So hat zum Beispiel das Serum des ersten Probanden in den Wells C/1, C/2 und C/3 mit den Ery-Kits der Blutgruppen A₁ in Well C/1, B in Well C/2 und 0 in Well C/3 reagiert. Eine Agglutination ist in C/1 und C/2 zu erkennen. Somit besitzt der Proband laut Untersuchung die Blutgruppe 0.

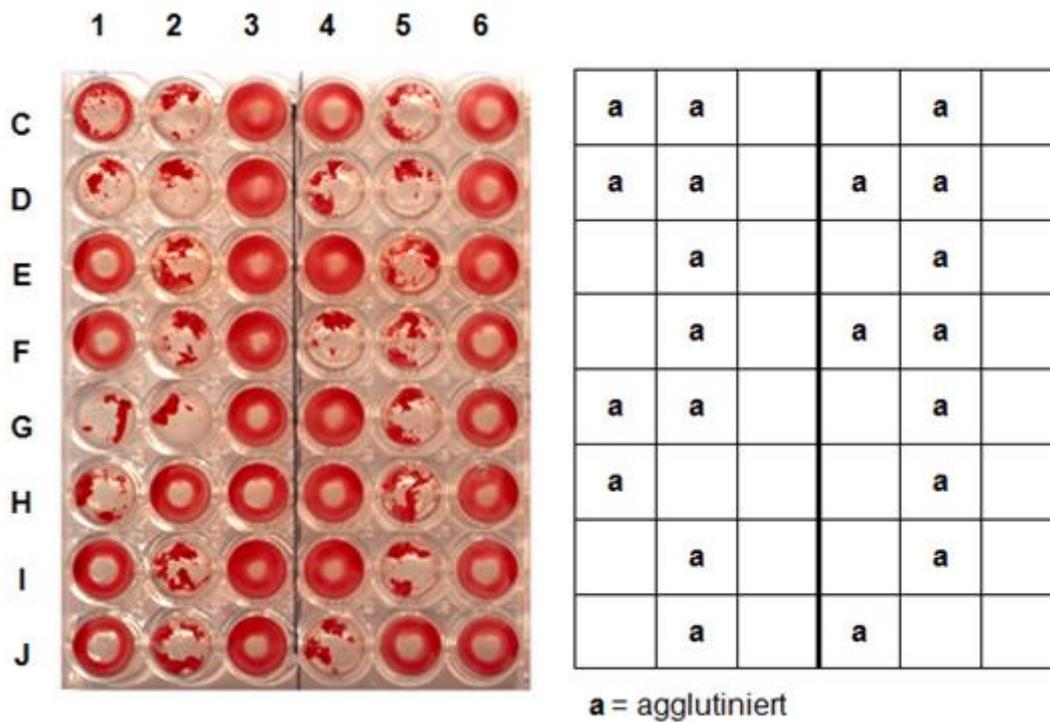


ABBILDUNG 4: BEISPIEL ABLESEMUSTER HÄMAGGLUTINATION

Prick-zu-Prick-Testung

Als Testzubereitungen dienten Schweineniere und Muskelfleisch von Rind und Schwein aus einer regionalen Metzgerei. Mit einer Lanzette wird das allergenhaltige Schweine- und Rindfleisch sowie die Schweine- und Rinderniere punktiert. Nun wird die Haut mit der mit Allergenen behafteten Lanzette wie bei einem herkömmlichen Prick-Test angestochen, und eine eventuelle Testreaktion abgelesen. Hierbei konnte das Ausmaß der Reaktion in Form einer Quaddel oder Rötung, welche sich an der Injektionsstelle präsentierte, nach 15 bis 20 min abgelesen und quantitativ beurteilt werden. Als positive Testreaktion galt beim Pricktest ein mittlerer Quaddeldurchmesser von ≥ 3 mm. Kleinere Quaddeldurchmesser waren als negatives Testergebnis abzulesen. Durch eine zusätzliche Histamin-Kontrolle wird die Anzahl der falsch-negativen Ergebnisse reduziert.

Die gekochten Testzubereitungen wurden für 10 Minuten im Wasserbad bei 95°Celsius vor der Anwendung gegart.

Bei allen Patienten wurden die Tests in derselben Reihenfolge durchgeführt und retrospektiv ausgewertet.

Für diese Studie wurden die folgenden Fleischzubereitungen getestet (Tabelle 4: *Fleischzubereitungen Prick-zu-Prick-Testung*):

TABELLE 4: FLEISCHZUBEREITUNGEN PRICK-ZU-PRICK-TESTUNG

Schwein	Rind
Muskelfleisch roh	Muskelfleisch roh
Muskelfleisch gekocht	Muskelfleisch gekocht
Niere roh	Niere roh
Niere gekocht	Niere gekocht

Intrakutantest mit Gelatine

Das Reaktionsausmaß der Probanden auf Gelatine wurde im Intrakutantest ermittelt. Es wird die zu testende Lösung, welche das Allergen enthält, mit einer Kanüle intrakutan injiziert. Ab einem Quaddeldurchmesser von ≥ 5 mm wurde die Reaktion als positiv abgelesen. Kleinere Quaddeldurchmesser wurden als negatives Testergebnis gewertet.

Als gelatinehaltige Testlösung wurde vierprozentiges Gelatinepolysuccinat (Gelafundin® 4%, B.Braun, Melsungen, Germany) verwendet. Als standardisierte Positivkontrolle diente Histamin. Die Testlösung wurde in gestaffelten, ansteigenden Konzentrationsverhältnissen verabreicht (1:1000, 1:100, 1:10, 1:1).

Orale Expositionstestung

Als Testzubereitungen dienten Schweineniere und Muskelfleisch von Rind und Schwein aus einer regionalen Metzgerei. Dabei wurde unter stationären Bedingungen und ärztlicher Supervision mit der Gabe von kleinen Dosen begonnen, welche bis zum Erreichen einer Menge entsprechend einer normalen Portion in einer Mahlzeit gesteigert werden konnten. Die verspeisten Mengen waren je Proband unterschiedlich, da der Test, sobald eine allergische Reaktion auftrat, beendet wurde. Der orale Expositionstest erfolgte zuerst ohne Zuhilfenahme von Kofaktoren. In einer weiteren Untersuchung wurde die Testung unter Einbeziehung von Kofaktoren wiederholt. Körperliche Belastung mit Hilfe eines Fahrrad-Ergometers eine Stunde nach dem Verzehr der Testsubstanz wurde als erster Kofaktor angewendet. Wurden auch hierunter keine allergischen

Symptome detektiert, kamen weitere Kofaktoren zum Einsatz; die Gabe von Acetylsalicylsäure eine Stunde vor dem Verzehr der Testsubstanz oder/und das Trinken von Alkohol (0,25l Wein oder 0,5l Bier) eine Stunde vor dem Testverzehr.

Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen erfolgten mit dem Statistikprogramm IBM® SPSS® Statistics, Version 23 für Windows. Die Schaubilder wurden mithilfe von IBM® SPSS® Statistics und Microsoft Word® für das Betriebssystem Windows 7 erstellt.

Korrelationen zwischen Gruppen mit kategorial skalierten Variablen wurden mittels des Exakt Test nach Fisher oder Chi-Quadrat-Test nach Pearson berechnet. Metrische Daten wurden im Mann-Whitney-Test verglichen.

Für die Angabe der Signifikanz wird der p-Wert angegeben. P-Werte <0,05 werden als signifikant betrachtet. Es erfolgte die binäre logistische Regressionsanalyse um eine Vorhersagewahrscheinlichkeit der abhängigen dichotomen Variable Sensibilisierung/ keine Sensibilisierung zu untersuchen.

2.4 Begriffserläuterungen

α-Gal-Syndrom:

Eine Fleischallergie besteht dann, wenn mindestens eine Überempfindlichkeitsreaktion nach dem Verzehr von rotem Säugetierfleisch (Schwein, Rind, Wild, Schaf), stattgefunden hat. Dieses Erkrankungsbild wird α-Gal-Syndrom genannt. Die am α-Gal-Syndrom erkrankten Patienten in dieser Studie werden auch als α-Gal-Allergiker bezeichnet.

Rotes Säugetierfleisch

Aufgrund seiner Färbung wird bei Fleisch von Rind, Schaf, Wild, Hase, Pferd, Känguruh und Schwein von rotem Fleisch gesprochen.

Forstmitarbeiter

Personen, welche sich aufgrund von beruflichen oder privaten Tätigkeiten (Forstarbeiter, Forstarbeitshelfer, Forstmaschinenführer, Forstwirte, Forstwirtschaftsmeister, Forsttechniker/-Ingenieure, Diplom-Forstwirte oder Forstwissenschaftler, Jäger, Reviereigentümer/Revierpächter) regelmäßig im Naturpark Schönbuch und/oder angrenzenden Waldgebieten in den Landkreisen Reutlingen, Tübingen, Böblingen, Esslingen und Stuttgart aufhalten.

CAP-System

Das CAP-System ist ein von der Firma Phadia® eingeführtes international anerkanntes Klassifikationssystem, welches in der Allergiediagnostik eine Beurteilung der unterschiedlichen Konzentrationen des quantitativ in kU/L gemessenen spezifischen IgE erlaubt. Somit kann der Sensibilisierungsgrad angegeben werden.

Der Messbereich reicht von 0,35 bis 100 kU/L und wird in 6 Klassen unterteilt (siehe Tabelle 5: CAP-System).

TABELLE 5: CAP-SYSTEM

Konzentration spez. IgE in kU/L	CAP-Klasse	Beurteilung
< 0,35	0	negativ
0,35-0,69	1	grenzwertig positiv
0,70-3,49	2	schwach positiv
3,5-17,49	3	positiv
17,5-52,49	4	stark positiv
52,5-99,99	5	sehr stark positiv
≥100	6	sehr stark positiv

Derzeit wird in mehreren wissenschaftlichen Arbeiten^{79,83} schon bei IgE-Titern von $\geq 0,10$ kU/L (entsprechend der CAP-Klasse 0) von einer Sensibilisierung gesprochen. In dieser Arbeit wird aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse ab einem α -Gal-Titer von $\geq 0,10$ kU/L eine Sensibilisierung angenommen.

Sensibilisierung gegen α -Gal

Im Serum gemessener spezifischer IgE-Antikörpertiter gegen α -Gal $\geq 0,10$ kU/L.

Keine Sensibilisierung gegen α -Gal

Im Serum gemessener spezifischer IgE-Antikörpertiter gegen α -Gal $< 0,10$ kU/L.

Studienarzt

Dr.med. Jörg Fischer, Facharzt für Dermatologie, Universitäts-Hautklinik Tübingen

2.5 Datenschutz und Ethik

Die α -Gal-Allergiker sind als reguläre Patienten im Patientenverwaltungsprogramm der Universitäts-Hautklinik eingetragen. Es gelten die Regeln des Datenschutzes der Patienten der Klinik. Von allen α -Gal-Patienten wurde die Einwilligung eingeholt, dass überschüssiges serologisches Restmaterial für klinische Forschungszwecke verwendet werden darf. Die hierfür erforderliche Aufklärung erfolgte in Anlehnung an die Entwürfe der später eingeführten Einverständniserklärung für die Biodatenbank des Universitätsklinikums Tübingen. Bei Antritt der Revierpächter/Inhaber und der Forstmitarbeiter im Studienzentrum erfolgte eine freiwillige Mitteilung der Adressdaten.

Mit diesen Daten wurde eine Adressdatenbank angelegt. Der Studienarzt besitzt Zugang zur Adressdatenbank. Die Identifikationsnummer dient der Pseudonymisierung jedes Probanden und wurde fortlaufend vergeben. Zur Probandenidentifikation wurde ausschließlich diese verwendet.

Die studienbezogenen Messungen wurden über das Patientenverwaltungsprogramm beziehungsweise über das Laborinformationssystem des Universitätsklinikums durchgeführt. Hierfür wurden die Probandendaten (Name, Vorname, Geburtsdatum) anstelle eines Pseudonyms verwendet, um den Probanden den Standard einer allgemeinen Heilbehandlung zu gewährleisten. Nur so konnte ein technisch und medizinisch validierter Befundbericht erstellt wer-

den. Dieser Befundbericht wurde in einer regulären Krankenakte der Universitäts-Hautklinik Tübingen archiviert und nach den Regeln des Datenschutzes der Patienten der Klinik behandelt.

Die Daten wurden auf dem Server des Universitätsklinikums Tübingen in einem nur für das Studienteam einsehbaren Ordner im Verzeichnis der Universitäts-Hautklinik eingetragen. Eine Archivierung der Unterlagen ist für 10 Jahre vorgesehen. Nach Ablauf dieser Frist werden die elektronischen Dateien vom Server des Universitätsklinikums Tübingen gelöscht und Papierdokumente als Datenschutzmüll entsorgt. Aus ethischen Gründen wurde bei den Forstmitarbeitern keine orale Expositionstestung durchgeführt.

Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Universitätsklinik Tübingen nach Vorlage eines Ethikantrages genehmigt (Aktenzeichen 153/2013BO2, 382/2014BO2).

3. Ergebnisse

3.1 Kollektiv der α -Gal-Allergiker

Das Kollektiv der α -Gal-Allergiker ergibt sich aus 55 Personen, bestehend aus 20 Frauen (36 Prozent) und 35 Männern (64 Prozent), im Alter zwischen 30 und 86 Jahren (Stand 11/2013). Der Altersmedian beträgt 60 Jahre. Unter den männlichen Patienten waren zum Zeitpunkt der Erhebung 86 Prozent zwischen 50 und 86 Jahren alt (siehe Abbildung 5: *Altersverteilung der α -Gal-Allergiker*).

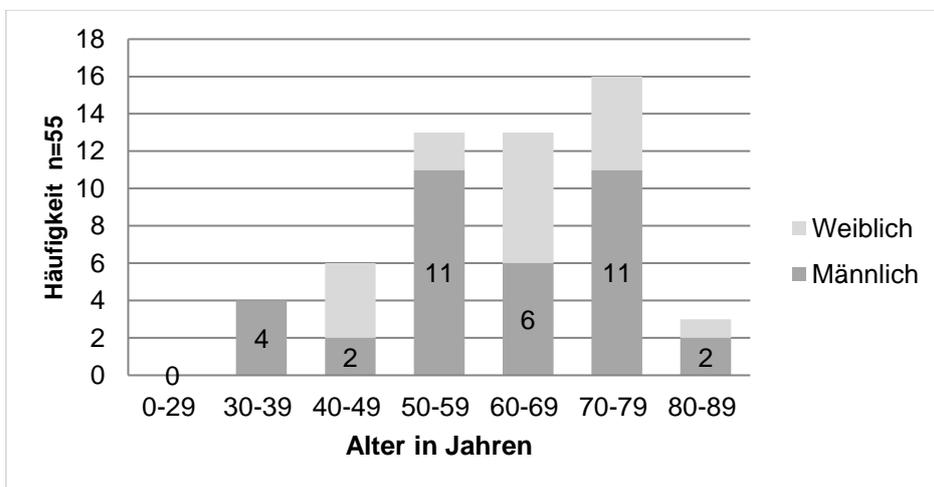


ABBILDUNG 5: ALTERSVERTEILUNG ALPHA-GAL-ALLERGIKER

In Tabelle 6 sind zusammenfassend die Eigenschaften der α -Gal-Allergiker aufgeführt.

TABELLE 6: ÜBERSICHT ALPHA-GAL-ALLERGIKER

	α-Gal-Allergiker
Geschlecht m/w (männlich)	35/20 (64%)
Alter in Jahren (Median)	30-86 (60)
α -Gal-IgE 0,10-0,34 kU/L	1 von 53 (2%)
α -Gal-IgE \geq 0,35 kU/L	52 von 53 (98%)
Gesamt-IgE \geq 150 kU/L	27 von 53 (51%)

Serologische Messung α -Gal-IgE und Gesamt-IgE

Bei 53 von 55 α -Gal-Allergikern wurde bei Erstkontakt in der Universitäts-Hautklinik Tübingen der α -Gal-IgE-Titer sowie der Gesamt-IgE-Titer aus dem Patientenserum gemessen und retrospektiv ausgewertet. Zum Zeitpunkt des Erstkontaktes der beiden nicht in die Messung miteinbezogenen Patienten war die angewandte Messmethode noch nicht verfügbar.

α -Gal-IgE

Im folgenden Schaubild werden die α -Gal-IgE-Titer des Patientenkollektivs dargestellt (Abbildung 6: *α -Gal-IgE-Titer α -Gal-Allergiker*).

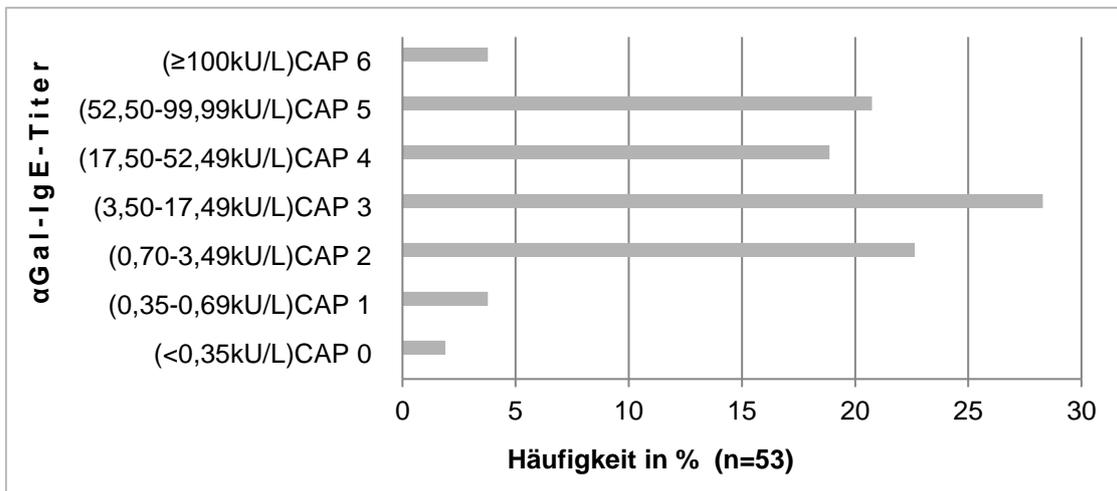


ABBILDUNG 6: ALPHA-GAL-TITER ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Die Titer variieren zwischen dem kleinsten Wert von 0,12 kU/L und dem größten Wert von 180,00 kU/L. Es zeigten sich bei allen Patienten α -Gal-IgE-Titer $\geq 0,10$ kU/L, was einer Sensibilisierung gegen α -Gal entspricht.

Der Größte Anteil der α -Gal-Allergiker (28 Prozent) zeigte Werte im Bereich der CAP-Klasse 3 entsprechend der Beurteilung *positiv*. Insgesamt zeigten sich hohe α -Gal-IgE-Titer; hiervon ließen sich 43 Prozent den CAP-Klassen 4-6 (17,5 kU/L - ≥ 100 kU/L, entsprechend der Beurteilung *stark positiv* bis *sehr stark positiv* zuweisen.

Gesamt-IgE

Die Abbildung 7: *Gesamt-IgE-Titer α -Gal-Allergiker* zeigt die Gesamt-IgE-Titer von 53 Patienten. Auch hier erfolgte die Auswertung der Daten retrospektiv, es handelt sich um die einmalig gemessenen Serومتiter bei Erstkontakt mit dem Patienten.

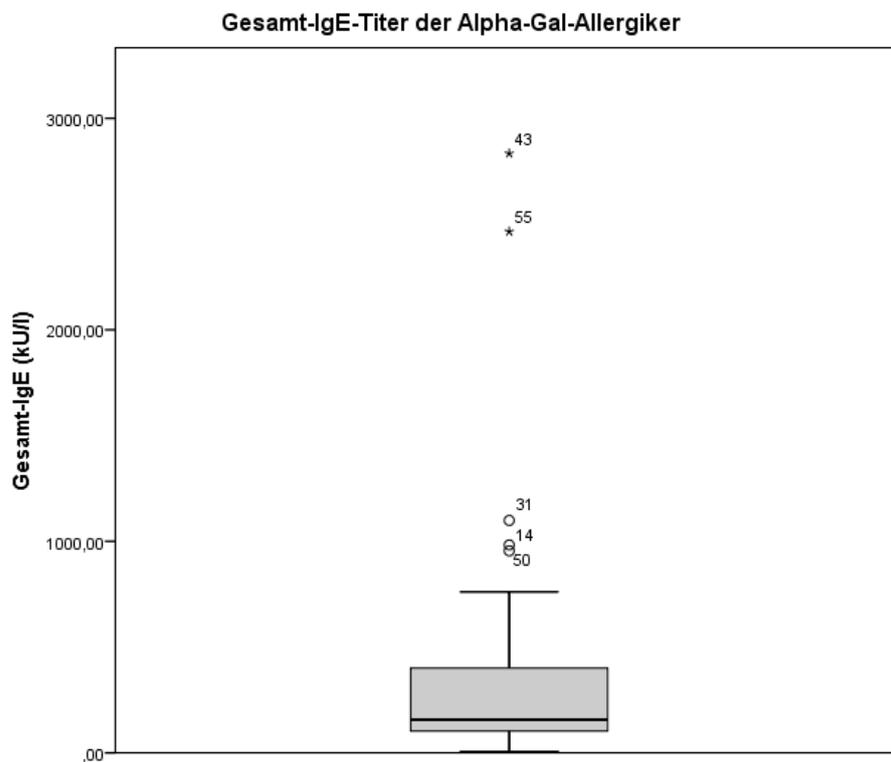


ABBILDUNG 7: GESAMT-IGE-TITER ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Der höchste gemessene Titer beträgt 2834,00 kU/L, der niedrigste 7,80 kU/L, der Median liegt bei 157,00 kU/L.

Der Anteil der Personen mit einem Gesamt-IgE-Titer ≥ 150 kU/L liegt bei 51 Prozent, somit besteht bei mindestens der Hälfte der Patienten eine Atopieneigung.

Prick-zu-Prick-Testung

Eine strukturierte Anamnese aller Probanden mit α -Gal-Syndrom ergab folgende Ergebnisse:

Unter den 55 Probanden gaben 29 Prozent an, sowohl nach dem Verzehr von rotem Muskelfleisch als auch nach dem Essen von Schweineniere eine allergische Reaktion erlitten zu haben.

Weiterhin berichteten 44 Prozent der α -Gal-Allergiker von einer isolierten Muskelfleischallergie und 15 Prozent von einer isolierten Schweinenierenallergie. Aus dem Kollektiv der 55 α -Gal-Allergiker wurden retrospektiv die Ergebnisse aus Prick-zu-Prick-Testungen von 39 α -Gal-Allergikern ausgewertet. Es zeigte sich, dass die Aussagen bezüglich des α -Gal-Syndroms im Hauttest von den anamnestischen Angaben abweichen.

Von 24 α -Gal-Allergikern, welche anamnestisch angegeben hatten, ausschließlich auf rotes Muskelfleisch allergisch zu reagieren, wurde bei 16 Probanden eine Prick-zu-Prick-Testung durchgeführt. Dabei zeigte sich bei allen 16 Probanden bei der Testung von Niere eine positive Hautreaktion. Fünf dieser Probanden zeigten ausschließlich bei Niere eine Reaktivität, 11 bei Niere und Muskelfleisch. Unter den Probanden, welche anamnestisch nur auf Muskelfleisch, nicht aber auf Niere allergisch reagierten, gab es keinen, welcher im Prick-zu-Prick-Test ausschließlich auf Muskelfleisch reagierte.

Von 15 α -Gal-Allergikern, welche ausschließlich über eine Allergie gegenüber Niere berichtet hatten, unterzogen sich 10 einem Prick-zu-Prick-Test. Bei 4 Probanden konnte die anamnestische Aussage bestätigt werden; die Hauttests zeigten nur bei Niere ein positives Ergebnis. Bei den anderen 6 Probanden, welche anamnestisch bisher nur nach dem Verzehr von Niere eine allergische Reaktion bemerkt hatten, ergaben sich positive Ergebnisse sowohl mit Niere als auch mit Muskelfleisch.

Im Anamnesegespräch hatten 16 der α -Gal-Allergiker von einer Allergie sowohl auf Schweineniere als auch auf Muskelfleisch berichtet. Von diesen 16 Probanden unterzogen sich 13 einem Prick-zu-Prick-Test. Die Ergebnisse zeigten, dass

6 der Probanden im Hauttest nur auf Niere reagierten. Bei den anderen 7 Probanden wurden die anamnestischen Angaben im Hauttest bestätigt.

Von den im Prick-zu-Prick-Test untersuchten 39 α -Gal-Allergikern deckte sich die vorausgehende anamnestische Angabe nur bei 11 Personen (28 Prozent) mit dem Testergebnis.

Die Prick-zu-Prick-Testungen wurden unter standardisierten Bedingungen bei 39 Patienten durchgeführt und retrospektiv ausgewertet. Die folgende Abbildung 8: *Reaktive Hauttestergebnisse α -Gal-Allergiker* zeigt alle reaktiven Testergebnisse zusammengefasst.

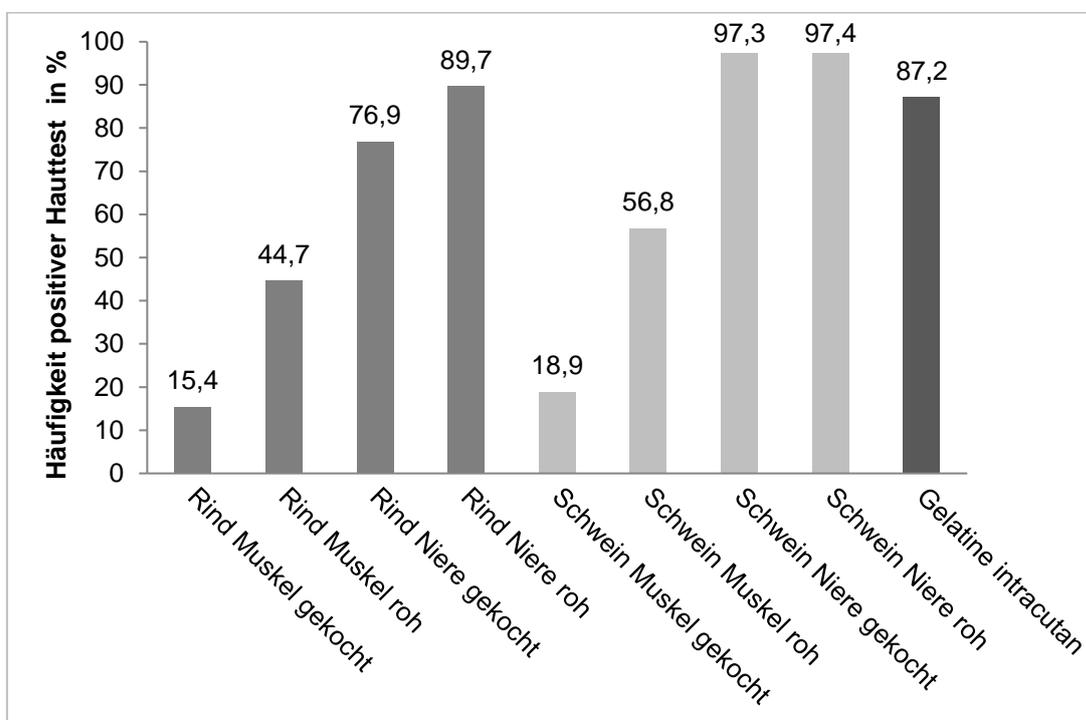


ABBILDUNG 8: HAUTTESTERGEBNISSE ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Zusammenfassend zeigten sich die wenigsten positiven Hautreaktionen auf gekochtes Muskelfleisch, unabhängig davon, ob es sich um Rind- oder Schweinefleisch handelte.

Weiterhin fällt auf, dass auf rohes Muskelfleisch deutlich mehr Patienten reagierten als auf gekochtes Fleisch, auch hier zeigen sich die positiven Hautreaktionen überwiegend unabhängig von der Tierart.

Betrachtet man die Fleischentität, zeigt sich eine deutliche Zunahme der positiven Hautreaktionen bei der Testsubstanz Niere im Gegensatz zu Muskelfleisch.

Keiner der getesteten Patienten reagierte isoliert auf Muskelfleisch. Alle α -Gal-Allergiker mit positiver Reaktion auf Muskelfleisch von Schwein oder Rind reagierten zusätzlich auf eine oder mehrere Testzubereitungen mit Niere.

Im direkten Vergleich von Schweine- bzw. Rindfleisch zeigte sich, dass ein höherer Anteil der α -Gal-Allergiker auf Schweinefleisch als auf Rindfleisch reagiert.

Somit ließ sich die höchste Sensitivität der Prick-zu-Prick-Testungen bei der Testsubstanz Schweineniere feststellen, wobei hier die Garweise (roh/gekocht) kaum die Zahl der positiven Ergebnisse beeinflusst.

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe des α -Gal-IgE und der Anzahl der positiven Hautreaktionen in der Prick-zu-Prick-Testung (Spearman-Rho, $p=0,004$). Patienten mit höheren α -Gal-IgE-Titern haben demnach ein erhöhtes Risiko für positive Reaktionen im Prick-Test.

Intrakutantest mit Gelatine

In der retrospektiven Betrachtung zeigten von 39 getesteten α -Gal-Allergikern 87 Prozent der Patienten ein positives Testergebnis. Der Anteil der positiven Hautreaktionen ist annähernd so groß wie bei der Prick-zu-Prick-Testung mit Schweineniere (siehe Abbildung 8 *Reaktive Hauttestergebnisse α -Gal-Allergiker*).

Orale Expositionstestung

Zur weiteren individuellen Risikoabschätzung für eine allergische Reaktion, auch gegebenenfalls unter Hinzunahme von zusätzlichen Stressfaktoren, erfolgte eine orale Expositionstestung bei sieben α -Gal-Allergikern unter ärztlicher und stationärer Betreuung. Die Untersuchungsergebnisse wurden retrospektiv ausgewertet. Aufgrund der erschwerten Durchführbarkeit unter stationären Bedingungen mit einhergehendem mehrtägigem Krankenhausaufenthalt wurde die Untersuchung bei einem kleinen Patientenkollektiv durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Übersicht aufgeführt (Tabelle 7: *Orale Expositionstestung α -Gal-Allergiker*).

TABELLE 7: ORALE EXPOSITIONSTESTUNG ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Patient Nr.	Expo Schweineiere ohne Kofaktoren						Expo Muskelfleisch ohne Kofaktoren			Expo Muskelfleisch mit Kofaktoren			
	Expo erfolgt	Reak- tion	Dosis insgesamt (g)	Dauer Expo ¹ (min)	Dosis zuletzt (g)	Verzö- gerung ² (min)	Expo erfolgt	Spezies	Reak- tion	Expo erfolgt	Spezies	Kofaktoren	Reaktion
1	ja	keine	190	na	95	na	ja	Schwein Rind	keine keine	nein	na	na	na
2	ja	U	80	750	40	495	nein	na	na	ja	Schwein	+ Rad	U
3	ja	U, AÖ	48	120	36	45	ja	Schwein Rind	keine U	ja	Schwein Wild	+ Rad + Rad	U keine
4	ja	U	82	600	50	240	ja	Schwein Rind	keine keine	ja	Schwein Rind	+ Rad + Rad + Rad/ Ass	keine keine keine

5	ja	U, AÖ	94	160	50	45	ja	Schwein	keine	ja	Schwein	+ Rad	keine
												+ Rad/ Ass	keine
												+ Rad/ Ass/ Alk	keine
6	ja	U	70	130	50	30	ja	Schwein	keine	ja	Schwein	+ Rad	keine
								Rind	keine			+ Rad/ Ass	keine
												+ Rad/ Ass/ Alk	keine
										Rind	+ Rad		keine
												+ Rad/ Ass	keine
												+ Rad/ Ass/ Alk	keine
9	ja	U	200	300	100	180	nein	na	na	nein	na	na	na

Expo, orale Expositionstestung; U, Urtikaria; AÖ, Angioödem; na, nicht angegeben; Rad, Fahrradergometer; Ass, Actetylsalicylsäure; Alk,Alkohol (0.25 l Wein oder 0.5 l Bier)

¹ Dauer Expo, Zeitspanne zwischen Einnahme der ersten Dosis Schweineiere bis zum Auftreten allergischer Symptome

² Verzögerung, Zeitspanne zwischen Einnahme der letzten Dosis Schweineiere bis zum Auftreten allergischer Symptom

Blutgruppeneigenschaften

Nach Verfügbarkeit und Menge des eingelagerten Patientenserums konnten bei 33 α -Gal-Allergikern mittels Hämagglutinationstestung die Blutgruppeneigenschaften analysiert werden.

Es zeigte sich die unten genannte Verteilung im Vergleich zur Normalbevölkerung (Tabelle 8: *Blutgruppenverteilung der α -Gal-Allergiker*).

Die Blutgruppe 0 wurde bei den α -Gal-Allergikern im Vergleich zur Normalbevölkerung häufiger detektiert, jedoch tendenziell eher zu Lasten der Blutgruppe A. Somit kann die These, wonach die Antigen B tragenden Blutgruppen (B und AB) in einem Kollektiv unter Erkrankten unterrepräsentiert sind, nicht unterstützt werden.

TABELLE 8: BLUTGRUPPENVERTEILUNG ALPHA-GAL-ALLERGIKER

	0	A	B	AB
Allgemeinbevölkerung ⁴⁷	41%	43%	11%	5%
α -Gal-Allergiker (n=33)	60.6%	30.3%	9.1%	0%

Zusammenfassende Merkmale der α -Gal-Allergiker

Schließlich können nach den oben genannten Betrachtungen folgende Charakteristika als bezeichnende Merkmale des α -Gal-Allergiker-Kollektivs hervorgehoben werden (siehe Tabelle 9):

TABELLE 9: MERKMALE ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Merkmal	Ausprägung α-Gal-Allergiker
Geschlecht	vorwiegend männlich (65%)
Alter	höheres Alter (86% 50-86 Jahre)
Allergieneigung	100% positive Anamnese für α -Gal-Syndrom, Gesamt-IgE bei 51% ≥ 150 kU/L (einmalige Messung)
α -Gal-IgE	stark erhöht, 43% CAP-Klasse 4-6
Hauttestungen	hohe Reaktivität in Prick-zu-Prick mit Niere und in Intrakutantest mit Gelatine

3.2.1 Kollektiv der Forstmitarbeiter

Die Anzahl der an der Studie beteiligten Forstmitarbeiter beträgt 300; davon sind 33 weiblich und 267 männlich. Die Probanden sind 18 bis 85 Jahre alt (Stand 11/2013). Der Altersmedian beträgt 52 Jahre (siehe Abbildung 9: *Altersverteilung Forstmitarbeiter*).

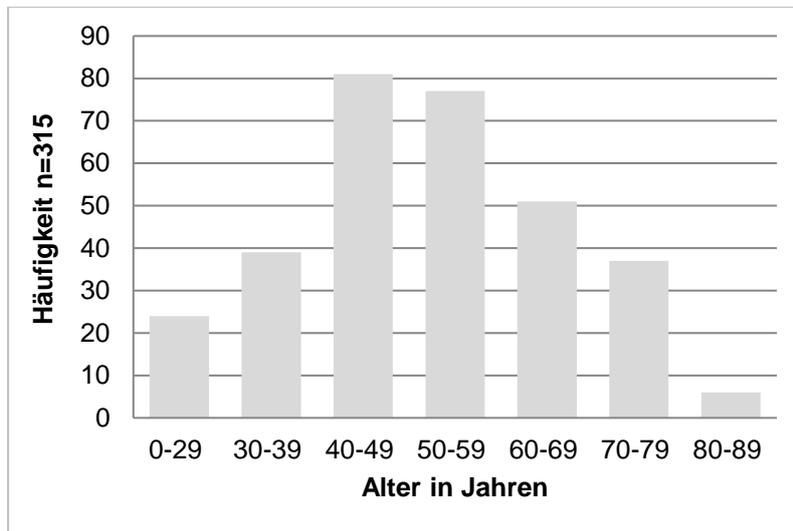


ABBILDUNG 9: ALTERSVERTEILUNG FORSTMITARBEITER

Zur Übersicht sind die Eigenschaften der Forstmitarbeiter in Tabelle 10 zusammengefasst.

TABELLE 10: ÜBERSICHT FORSTMITARBEITER

	Forstmitarbeiter (n=300)
Geschlecht m/w (männlich)	267/33 (89%)
Alter in Jahren (Median)	18-85 (52)
α -Gal-IgE 0,10-0,34 kU/L	47 von 300 (16%)
α -Gal-IgE $\geq 0,35$ kU/L	58 von 300 (19%)
tIgE ≥ 150 kU/L	52 von 300 (17%)
α -Gal-Syndrom	5 von 300 (2%)

Desweiteren erfolgte die serologische Messung des α -Gal-IgE, um die Prävalenz einer Sensibilisierung gegen α -Gal in einem Risikokollektiv für Zeckenstiche zu bestimmen. Hier zeigte sich eine höhere Prävalenz als angenommen; unter den 300 Forstmitarbeitern konnten bei 105 Probanden α -Gal-Titer $\geq 0,10$ kU/L festgestellt werden. Dies entspricht einem Anteil von 35 Prozent, siehe auch Abbildung 10: *Sensibilisierung gegen α -Gal Forstmitarbeiterkollektiv*.

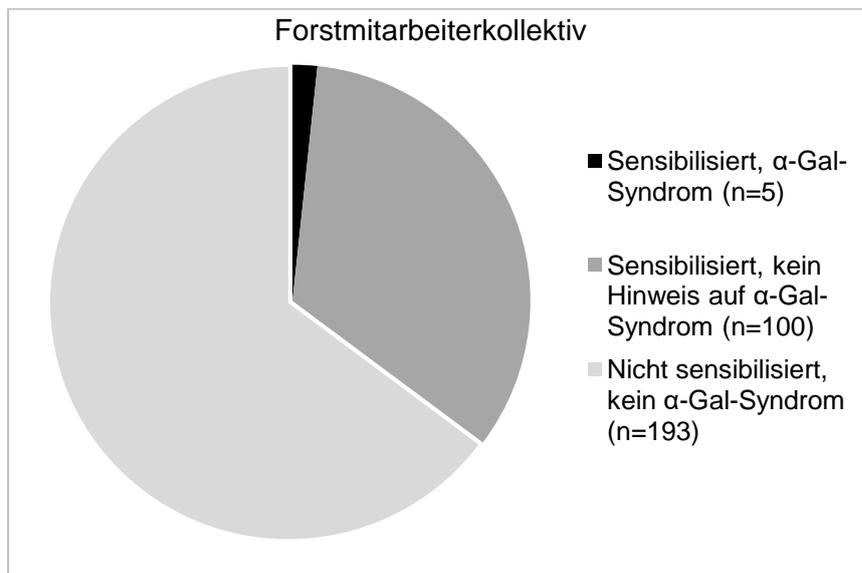


ABBILDUNG 10: SENSIBILISIERUNG GEGEN ALPHA-GAL FORSTMITARBEITERKOLLEKTIV

Anhand des Fragebogens konnte bei 5 Probanden aufgrund einer Intoleranz gegenüber dem Verzehr von Säugetierfleisch ein α -Gal-Syndrom eruiert werden, hiervon berichtete ein Proband zusätzlich von einer stattgehabten allergischen Reaktion nach der intravenösen Gabe einer gelatinehaltigen Infusion. Bei einem der fünf Probanden mit α -Gal-Syndrom war dieses bereits in der Vergangenheit diagnostiziert worden, bei den anderen 4 Probanden wurde die Erstdiagnose eines α -Gal-Syndroms gestellt.

Allergieneigung

Bei einem Gesamt-IgE von ≥ 150 kU/L, und oder dem Vorhandensein einer oder mehrerer Allergien laut Fragebogen gingen wir von einer Atopie aus. Dies traf auf 41 Prozent der Forstmitarbeiter zu. Bei 17 Prozent der Forstmitarbeiter war das Gesamt-IgE ≥ 150 kU/L.

Im Fragebogen zeigten sich die in der Tabelle 11 dargestellten Ergebnisse bezüglich einer Allergie.

TABELLE 11: AUSWERTUNG FRAGEBOGEN ALLERGIE FORSTMITARBEITER

	Anzahl der positiven Antworten
Katzenhaarallergie	18/294 (6%)
Baum-/ Gräserpollenallergie	95/298 (32%)
Insektengiftallergie (Bienen- /Wespen)	10/280 (3%)
Asthma	25/298 (8%)

Blutgruppeneigenschaften

Mithilfe des Hämagglutinationsverfahrens wurden bei 298 Probanden aus dem Serum die AB0-Blutgruppeneigenschaften bestimmt.

Hinsichtlich der Häufigkeit der AB0-Blutgruppen zeigte sich durch Bildung der Z-Differenz im Forstmitarbeiterkollektiv die Blutgruppen B und AB weniger häufig vertreten zugunsten der Blutgruppe 0 im Vergleich zur Normalbevölkerung in Süwestdeutschland⁴⁷, siehe Tabelle 12.

TABELLE 12: BLUTGRUPPENVERTEILUNG FORSTMITARBEITER

AB0-Blutgruppe	Forstmitarbeiter in % (n=298)	Bevölkerung in Südwestdeutschland (Quelle 47) in %	Z-Differenz
0	46,6	41	1,94
A	43,0	43	0
B	8,4	11	-1,62
AB	2,0	6	-4,93

Im nächsten Schritt wurden die Subgruppen B (Blutgruppe B und AB) und non-B (Blutgruppe A und 0) gebildet und hinsichtlich des Gesamt-IgE und des α -Gal-IgE miteinander verglichen.

Es zeigte sich bezüglich der Verteilung des Gesamt-IgE zwischen den beiden Subgruppen keine signifikanten Unterschiede, siehe folgende Abbildung 11.

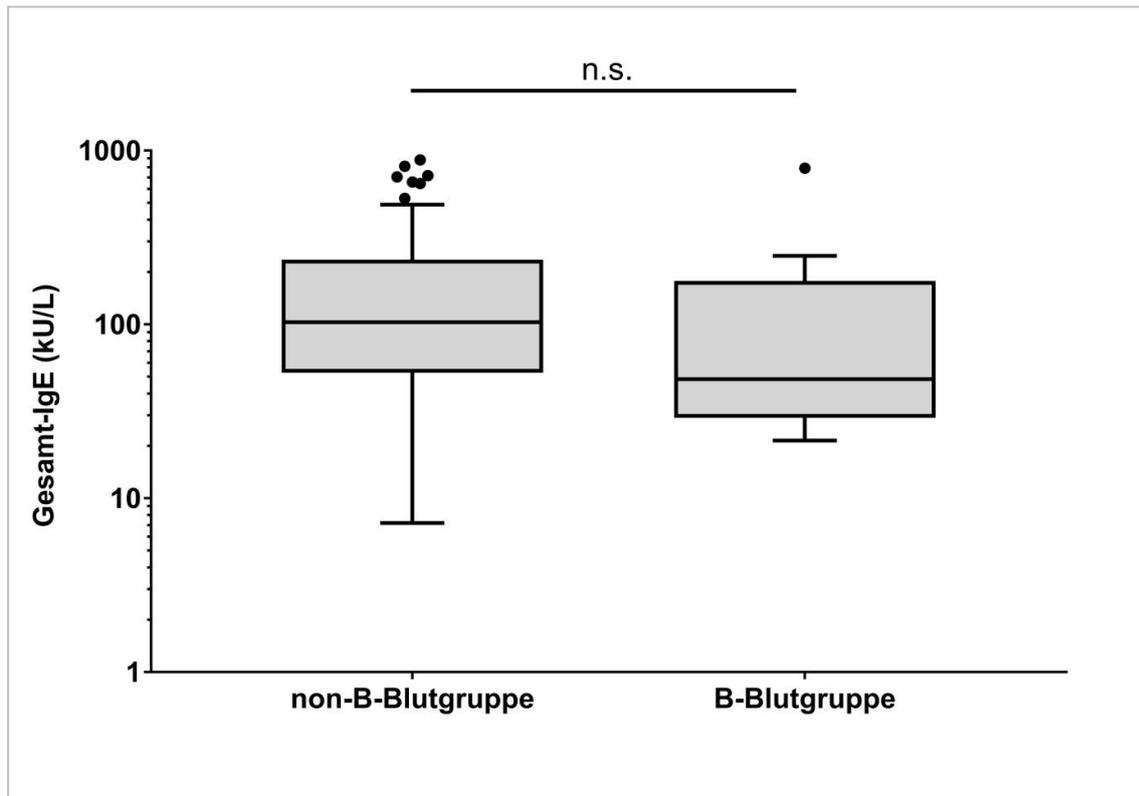


ABBILDUNG 11: VERGLEICH GESAMT-IGE UND BLUTGRUPPEN FORSTMITARBEITER

Auch im Hinblick auf die Höhe des α -Gal-IgE im Vergleich der beiden Subgruppen zeigte sich keine relevante Signifikanz, siehe folgende Abbildung 12.

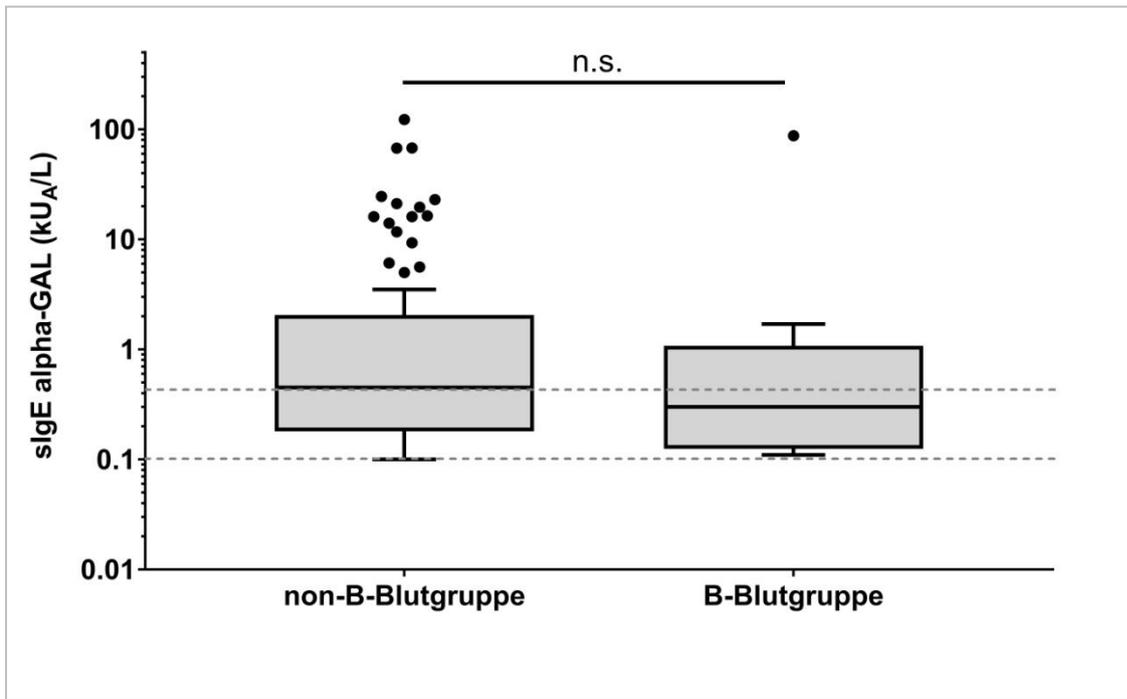


ABBILDUNG 12: VERGLEICH ALPHA-GAL-IGE UND BLUTGRUPPEN FORSTMITARBEITER

In 96 Prozent der zur Blutgruppe B zugeordneten Fälle zeigte sich eine schwache Agglutination, während die der Blutgruppe A zugeordneten Agglutinationsmuster nur in 21 Prozent schwach waren. Unter den als Blutgruppe 0 gewerteten Hämagglutinationstestungen waren nur 7 Prozent schwach agglutiniert.

3.2.2 Gegenüberstellung der sensibilisierten und nicht sensibilisierten Forstmitarbeiter

Aufgrund der möglichen Einteilung des Forstmitarbeiterkollektivs anhand der α -Gal-IgE-Titer in die Teilgruppe der sensibilisierten und nicht sensibilisierten Probanden lassen sich weitere Untersuchungen durchführen.

Das Ziel dieser Untersuchungen besteht darin, den Einfluss endogener Faktoren auf die Entwicklung einer Sensibilisierung gegen α -Gal zu untersuchen.

Gesamt-IgE

Hinsichtlich des Gesamt-IgEs hatten 90,3 Prozent der nicht Sensibilisierten ein Gesamt-IgE im Bereich unter 150 kU/L vorzuweisen (Mittelwert 71,4 kU/L), die Gesamt-IgE-Anteile bei den Sensibilisierten waren ausgeglichener (65,5 Prozent <150 kU/L und 34,5 Prozent \geq 150 kU/L, Mittelwert 182,5 kU/L), siehe Abbildung 13: *Vergleich Gesamt-IgE bei sensibilisierten und nicht sensibilisierten Forstmitarbeitern.*

Es ergab sich ein signifikanter Unterschied (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,001$) hinsichtlich der Verteilung der Gesamt-IgE-Titer beider Teilgruppen.

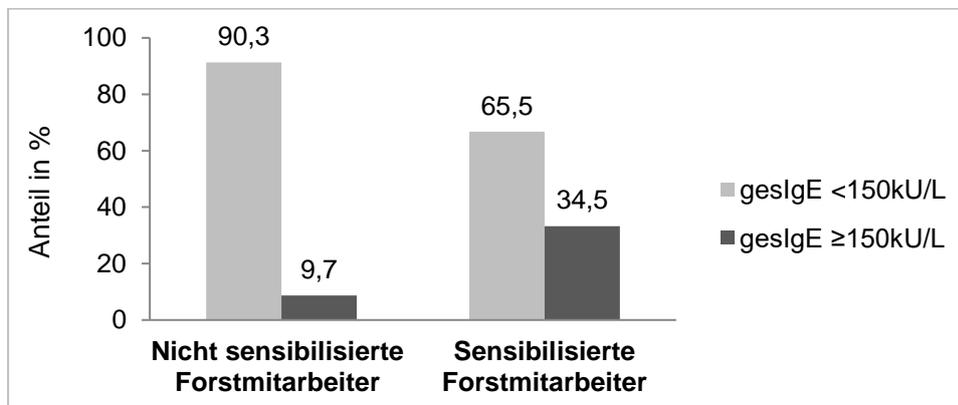


ABBILDUNG 13: VERGLEICH GESAMT-IGE SENSIBILISIERTE UND NICHT SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER

Blutgruppeneigenschaften

Bezüglich der Blutgruppenverteilungen in den beiden Teilgruppen der sensibilisierten und nicht sensibilisierten Forstmitarbeiter zeigte sich kein signifikanter Unterschied (Fisher exact test, $p > 0,05$), siehe Abbildung 14: *Vergleich Blutgruppenverteilung bei sensibilisierten und nicht sensibilisierten Forstmitarbeitern.*

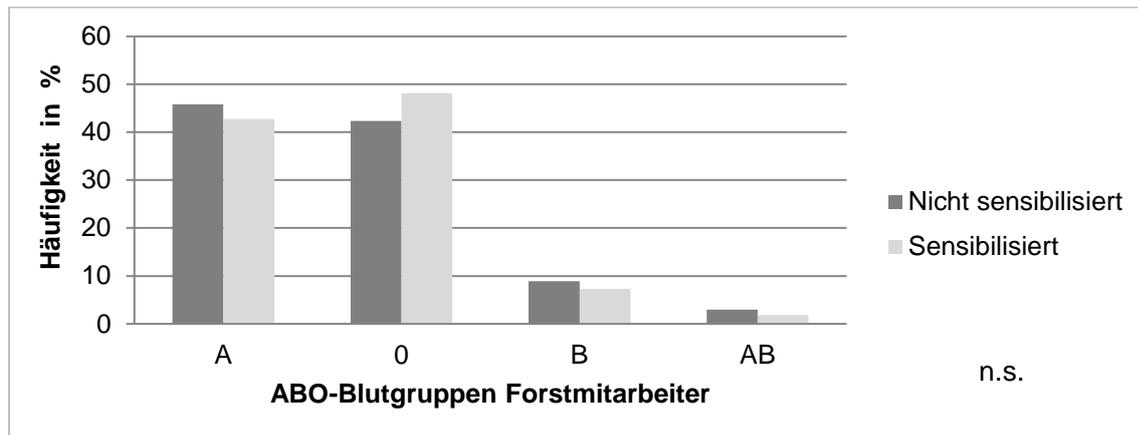


ABBILDUNG 14: VERGLEICH BLUTGRUPPENVERTEILUNG SENSIBILISIERTE UND NICHT SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER

Auch zeigten sich bezüglich der Z-Differenzen keine relevanten Abweichungen in den beiden Teilgruppen, wie in Tabelle 13 aufgezeigt.

TABELLE 13: BLUTGRUPPENVERTEILUNG SENSIBILISIERTE UND NICHT SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER

Blutgruppe	Sensibilisierte Forstmitarbeiter in % (n=105)	nicht sensibilisierte Forstmitarbeiter in % (n=193)	Z-Differenz
0	50,5	44,6	-0,95
A	41,0	44,0	-0,50
B	6,7	9,3	-0,81
AB	1,9	2,1	-0,11

Zusammenhang der endogenen Faktoren im Hinblick auf eine Sensibilisierung gegen α -Gal

Zur weiteren Beurteilung endogener Faktoren und deren möglichen Einwirkung auf eine Sensibilisierung wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse angewandt. Es wurde getestet, ob ein Zusammenhang zwischen mehreren unabhängigen Variablen (Geschlecht, Alter, Blutgruppe, Gesamt-IgE ≥ 150 kU/L, Asthma, Insektengiftallergie, Katzenhaarallergie, Gräser-/Baumpollenallergie) und einer Sensibilisierung gegen α -Gal besteht. Als abhängige binäre Variable wurde der Faktor Sensibilisierung beziehungsweise keine Sensibilisierung (α -Gal-IgE $\geq 0,1$ kU/L beziehungsweise α -Gal-IgE $< 0,1$ kU/L) eingesetzt.

Die Regressionsanalyse erwies sich als Modell im Ganzen als signifikant (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,001$), die Effektstärke nach Cohen entsprach einem starken Effekt (R-Quadrat nach Nagelkerke 0,15, Effektstärke nach Cohen 0,42).

Bei der Betrachtung der unabhängigen Variablen zeigte sich lediglich eine Signifikanz des Gesamt-IgE ≥ 150 kU/L ($p = 0,04$), siehe Tabelle 14.

TABELLE 14: BINÄRE LOGISTISCHE REGRESSION FORSTMITARBEITER

Binäre logistische Regressionsanalyse der Forstmitarbeiter, abhängige Variable: Sensibilisierung gegen α -Gal (α -Gal-IgE $\geq 0,1$ kU/L oder α -Gal-IgE $< 0,1$ kU/L)

	OR (95% Konfidenzintervall)	Signifikanz (p-Wert)
Geschlecht	0,672 (0,271-1,661)	0,389
Alter 11/2013	1,007 (0,989-1,026)	0,453
Blutgruppe B/ Non-B	0,991 (0,633-1,552)	0,969
Gesamt-IgE	1,002 (0,999-1,005)	0,197
Gesamt-IgE > 150 kU/L	3,157 (1,056-9,434)	0,040
Asthma	1,222 (0,405-3,683)	0,722
Insektengiftallergie (Biene-/Wespe)	1,874 (0,495-7,095)	0,355
Katzenhaarallergie	0,842 (0,249-2,851)	0,783
Baum-/Gräserpollenallergie	1,109 (0,577-2,131)	0,757

3.3 Vergleich α -Gal-Allergiker mit sensibilisierten Forstmitarbeitern

Im dritten und letzten Ergebnisteil werden nun die am α -Gal-Syndrom erkrankten Patienten den sensibilisierten Forstmitarbeitern gegenübergestellt. Hierdurch sollen die unterscheidenden Merkmale der beiden Kollektive herausgearbeitet werden, welche relevant für das Auftreten einer manifesten Erkrankung sein können.

Alter:

Betrachtet man das Alter der beiden Kollektive, fällt auf, dass das Kollektiv der Forstmitarbeiter durchschnittlich jünger ist als das der α -Gal-Allergiker (Mittelwert Alter Forstmitarbeiter 51,6 Jahre, Mittelwert Alter α -Gal-Allergiker: 61,8 Jahre (Stand 11/2013)). Zudem sind die Forstmitarbeiter vorwiegend männlichen Geschlechts (89 Prozent). Es handelt sich hier jedoch am ehesten um ein Bias aufgrund der berufs- und hobbygebundenen Rekrutierung aus dem Bereich des Forstwesens, in welchem vorwiegend Männer mittleren Alters angesprochen wurden. Somit wurde hier auf einen diesbezüglichen statistischen Vergleich der beiden Kollektive verzichtet.

Blutgruppeneigenschaften

Im Vergleich der Blutgruppeneigenschaften zeigten sich auf den ersten Blick voneinander abweichende Verteilungsmuster zwischen den sensibilisierten Forstmitarbeitern und den α -Gal-Allergikern. Die Ergebnisse wurden bereits separat in den vorherigen Kapiteln beschrieben. Interessant war nun der Vergleich eines erkrankten sowie eines sensibilisierten Kollektives hinsichtlich der Blutgruppen. Im statistischen Vergleich ließ sich jedoch keine signifikante Abweichung der Verteilung der Blutgruppen B und Non-B zwischen den beiden Gruppen nachweisen (Chi-Quadrat-Test, $p > 0,05$).

Gesamt-IgE

Die Verteilung des Gesamt-IgE der α -Gal-Allergiker weicht signifikant von der Gesamt-IgE-Verteilung der sensibilisierten Forstmitarbeiter ab (Mann-Whitney-Test, $p < 0,001$). Die Abbildung 15: *Vergleich Gesamt-IgE der sensibilisierten Forstmitarbeiter und α -Gal-Allergiker* zeigt, dass die Titerbereiche in den beiden Kollektiven deutlich überlappend sind. Somit kann hiermit kein Grenzbereich ermittelt werden, welcher definitiv dem Erkrankten oder dem lediglich Sensibilisierten zugeordnet werden könnte.

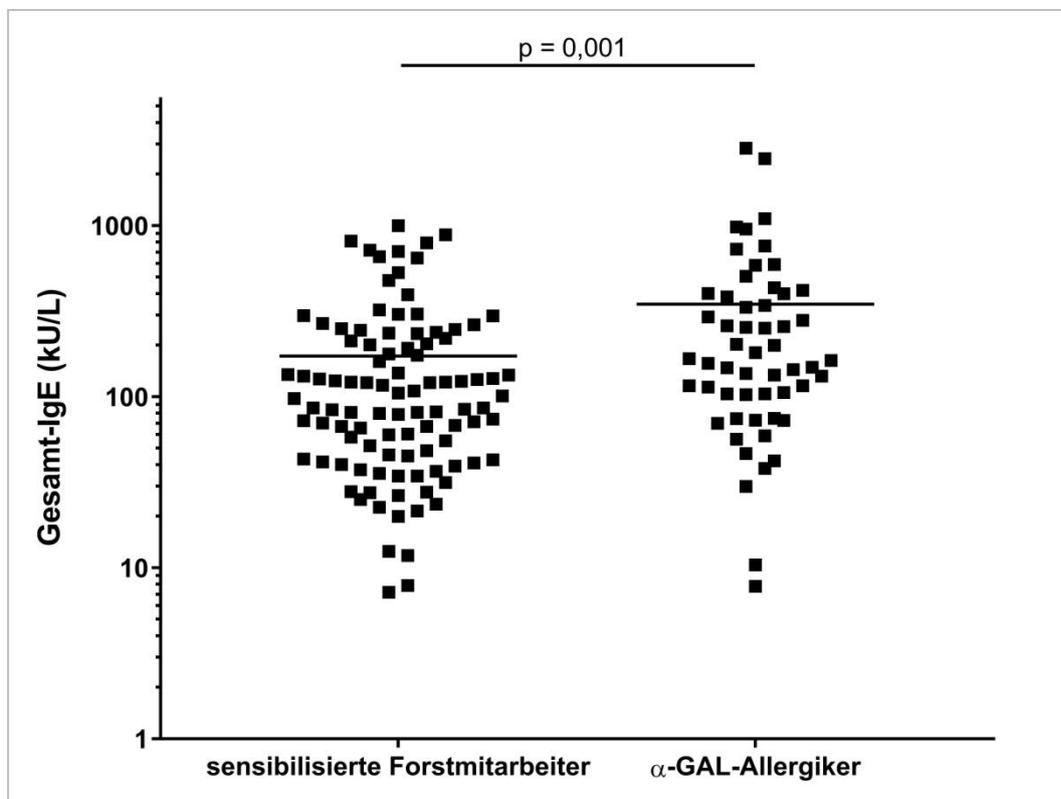


ABBILDUNG 15: VERGLEICH GESAMT-IGE SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER UND ALPHA-GAL-ALLERGIKER

In der nachfolgenden Abbildung 16: *Vergleich Atopieneigung sensibilisierte Forstmitarbeiter und α -Gal-Allergiker* werden erneut die Gesamt-IgE-Titer gegenübergestellt. Dieses wird hierbei in die beiden Gruppen <150 kU/L und ≥ 150 kU/L eingeteilt. Bei Werten ≥ 150 kU/L gehen wir von einer Atopieneigung aus. Es zeigt sich unter den α -Gal-Allergikern eine deutlich häufigere Atopieneigung im Vergleich zum Forstmitarbeiterkollektiv. Jedoch zeigt sich in beiden Gruppen eine allergierelevante Neigung, sodass anhand dieses Merkmals keine klare Trennung zwischen Erkrankten und Sensibilisierten vorgenommen werden kann.

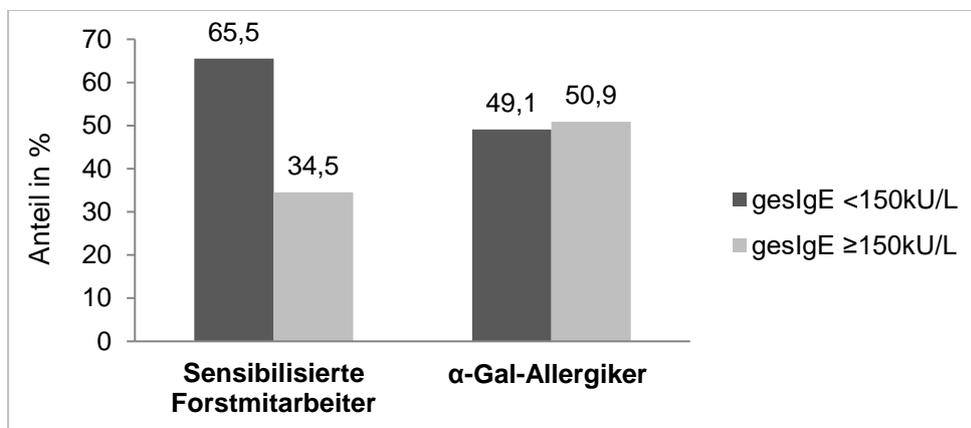


ABBILDUNG 16: VERGLEICH ATOPIENEIGUNG SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER UND ALPHA-GAL-ALLERGIKER

α -Gal-IgE:

Auch beim Vergleich der α -Gal-Titer stellte sich ein signifikanter Unterschied heraus (Mann-Whitney-Test, $p < 0,001$). Die α -Gal-Allergiker weisen im Vergleich zu den sensibilisierten Probanden höhere α -Gal-Titer auf (siehe Abbildung 17: *Vergleich α -Gal-IgE sensibilisierte Forstmitarbeiter und α -Gal-Allergiker*).

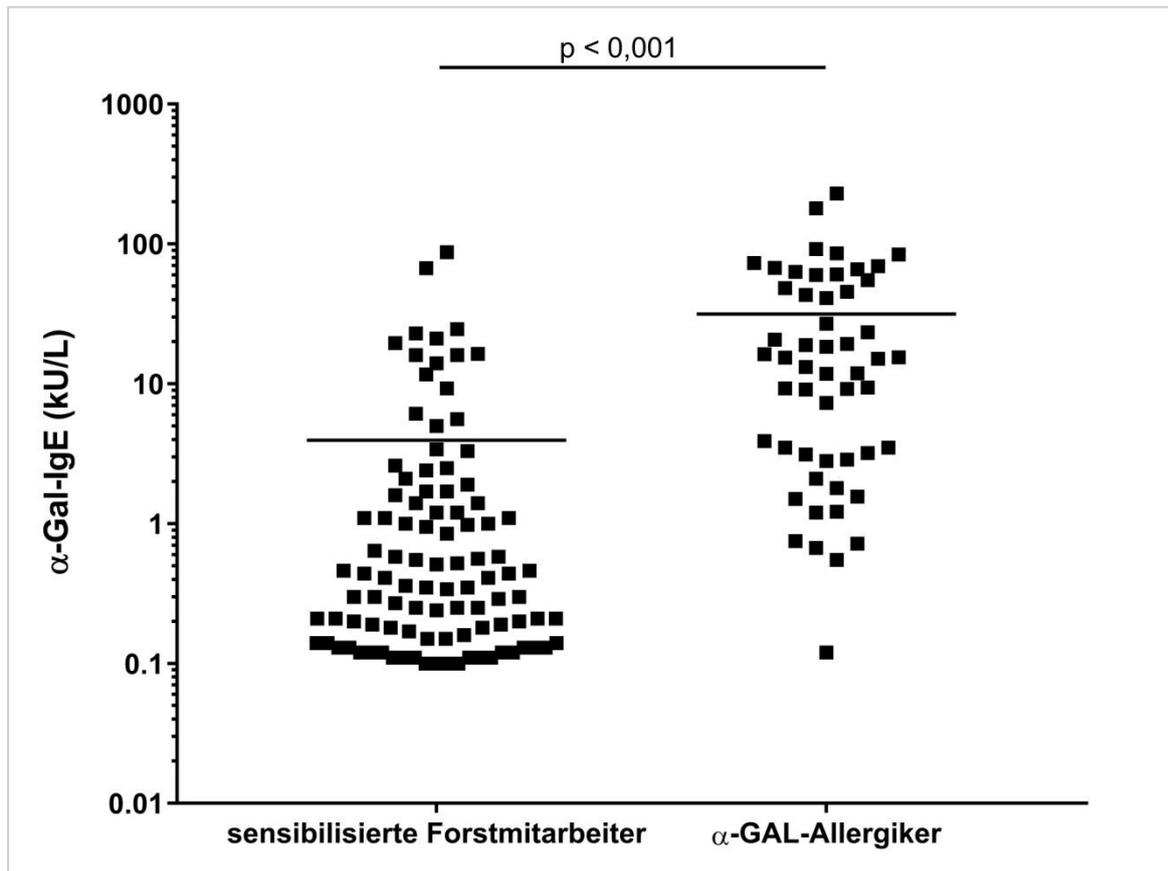


ABBILDUNG 17: VERGLEICH ALPHA-GAL-IGE SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER UND ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Hauttestungen sensibilisierte Forstmitarbeiter

Nach der Feststellung einer Sensibilisierung der Forstmitarbeiter erfolgte bei 34 Probanden im Rahmen einer freiwilligen ergänzenden Untersuchung zur individuellen Abklärung eine Prick-zu-Prick-Testung mit Rind- und Schweinefleisch, sowie eine Intrakutantestung mit Gelatine.

Die Ergebnisse der Prick-zu-Prick-Testung sind in der folgenden Abbildung 18 dargestellt. Hier zeigt sich, dass rohe und gekochte Schweineniere die größte Anzahl an positiven Hautreaktionen hervorrief.

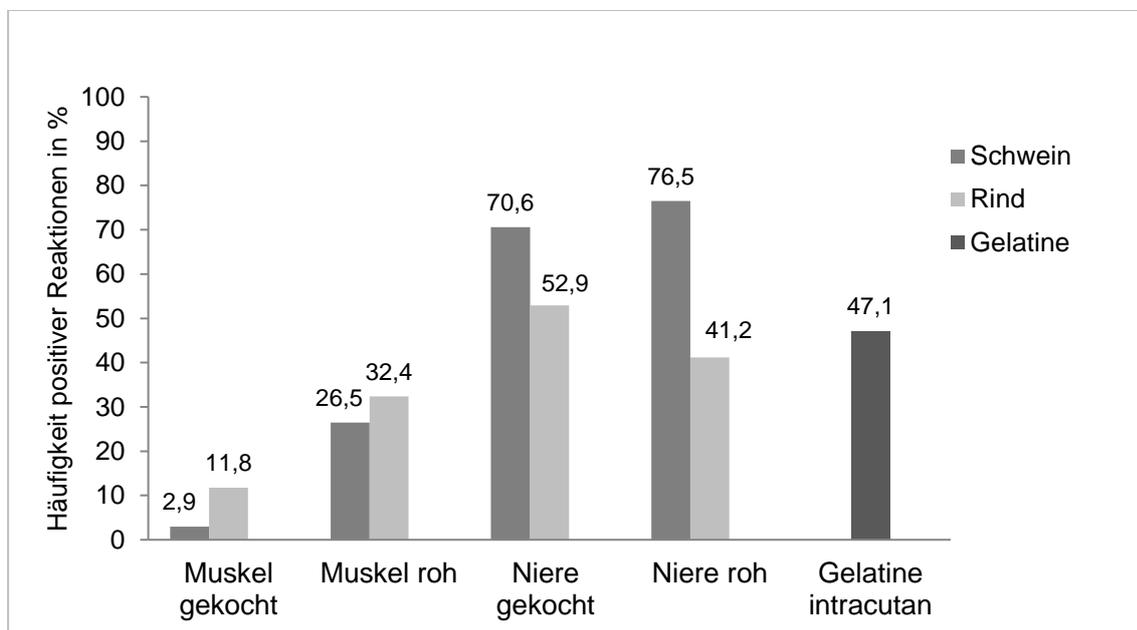


ABBILDUNG 18: POSITIVE HAUTTESTERGEBNISSE SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER

Insgesamt war die Zahl der positiven Hautreaktionen bei den sensibilisierten Forstmitarbeitern deutlich geringer als die Anzahl der positiven Reaktionen bei den α -Gal-Allergikern.

So waren bei den α -Gal-Allergikern 62 Prozent aller durchgeführten Prick-zu-Prick-Testungen positiv ausgefallen, wohingegen bei den sensibilisierten Forstmitarbeitern 39 Prozent aller Testungen mit einer positiven Hautreaktion einhergingen.

Die positiven Hauttestergebnisse der sensibilisierten Forstmitarbeiter wurden in der folgenden Abbildung 19 denen der α -Gal-Allergiker gegenübergestellt.

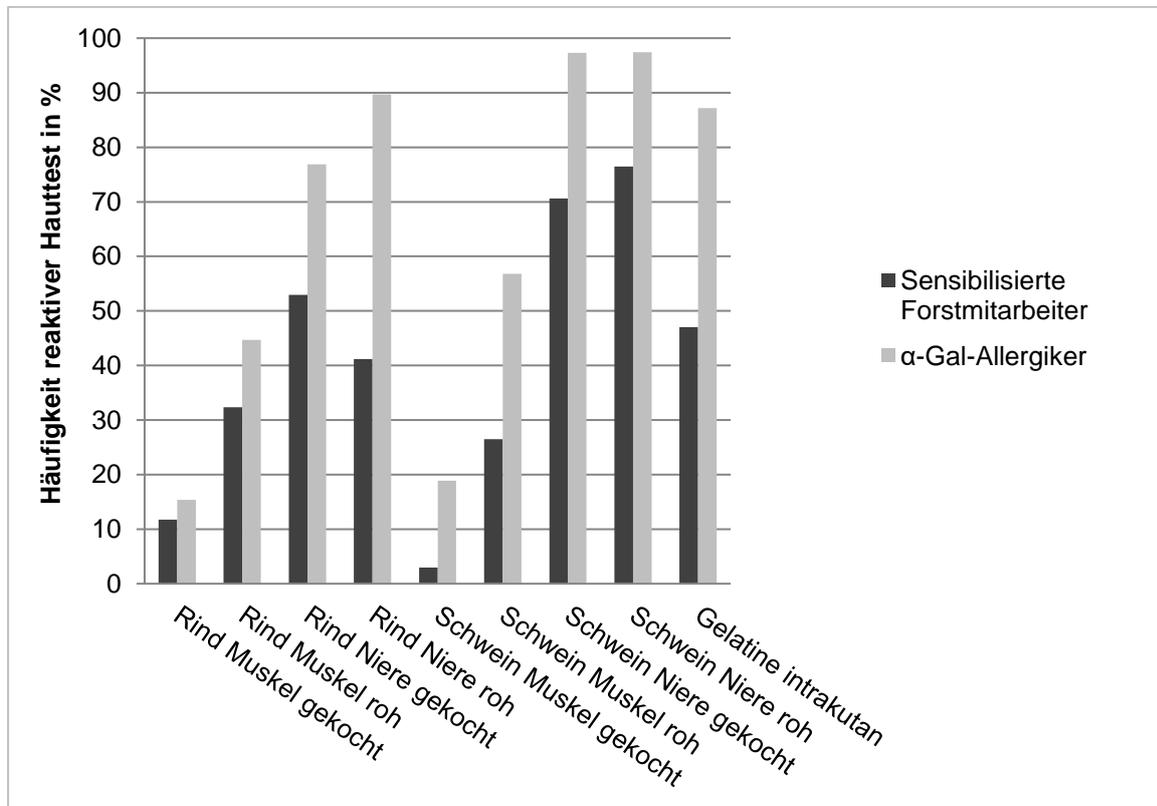


ABBILDUNG 19: VERGLEICH POSITIVER HAUTTESTERGEBNISSE SENSIBILISIERTE FORSTMITARBEITER UND ALPHA-GAL-ALLERGIKER

Bringt man nun die Anzahl der positiven Hauttestungen in einen Zusammenhang mit dem α -Gal-IgE-Titer, so fällt auf, dass sich mit ansteigendem α -Gal-IgE-Titer der sensibilisierten Forstmitarbeiter das Reaktionsverhalten im Hauttest den Ergebnissen der α -Gal-Allergikern annähert. Als Cut-Off-Wert wurde die CAP-Klasse 3 (α -Gal-IgE von 3,5-17,49 kU/L; Beurteilung: positiv) bestimmt, siehe auch Abbildung 20: *Häufigkeit positive Pricktestergebnisse in Abhängigkeit der CAP-Klasse*.

Somit ist tendenziell bei höherem α -Gal-IgE-Titer von einer höheren Reaktivität auszugehen. Da sich die sensibilisierten Forstmitarbeiter mit hohen Titern (CAP-Klasse ≥ 3) in ihrer Reaktivität fast den α -Gal-Allergikern angleichen, kann anhand der Prick-zu-Prick-Testungen nicht zwischen einer lediglich sensibilisierten und einer manifest erkrankten Person unterschieden werden.

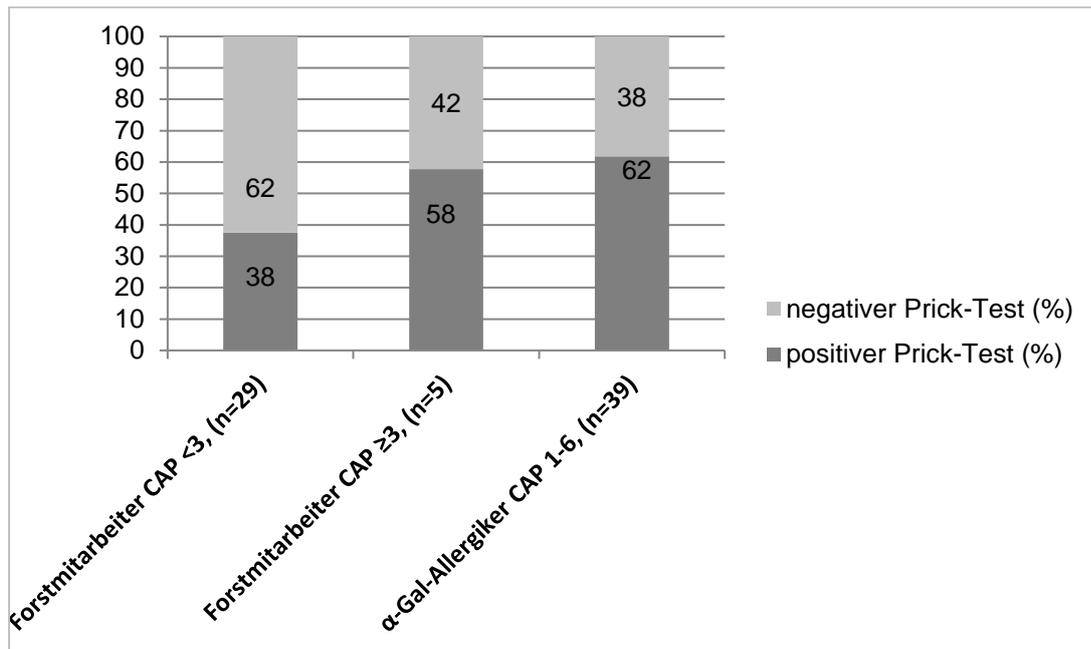


ABBILDUNG 20: HÄUFIGKEIT PRICK-TESTERGEBNISSE IN ABHÄNGIGKEIT DER CAP-KLASSE

Intrakutantest mit Gelatine

Im Intrakutantest zeigten sich die Ergebnisse im Vergleich der beiden Kollektive noch klarer voneinander abweichend; so wurde bei 87 Prozent der α -Gal-Allergiker eine Reaktivität auf Gelatine detektiert, während nur 47 Prozent der sensibilisierten Forstmitarbeiter ein positives Hauttestergebnis vorwiesen (Abbildung 19: *Vergleich positive Hauttestergebnisse sensibilisierte Forstmitarbeiter und α -Gal-Allergiker*).

Hauttestergebnisse in Abhängigkeit von α -Gal-IgE

Hinsichtlich der Häufigkeit der positiven Hautreaktionen der sensibilisierten Forstmitarbeiter und der α -Gal-Allergiker in Abhängigkeit vom α -Gal-IgE-Titer können deutliche Unterschiede aufgezeigt werden.

Die Ergebnisse im Intrakutantest der sensibilisierten Forstmitarbeiter mit einer CAP-Klasse <3 (α -Gal-IgE-Titer $<3,5$ kU/L) sind vergleichbar mit den Hauttestergebnissen aus den Prick-zu-Prick-Testungen (siehe Abbildung 20 und Abbildung 21).

Im Gegensatz hierzu hatten alle sensibilisierten Forstmitarbeiter mit höheren α -Gal-Titern (α -Gal-IgE-Titer $\geq 3,5$ kU/L; \geq CAP-Klasse 3) positiv auf Gelatine reagiert, wohingegen diese Gruppe in den Prick-zu-Prick-Testungen nur zu 58 Prozent positive Testergebnisse vorzuweisen hatte.

Auch unter den α -Gal-Allergikern hatte ein höherer Anteil auf Gelatine reagiert (87 Prozent) als auf Schweine- und Rindfleisch in den Prick-zu-Prick-Testungen (62 Prozent).

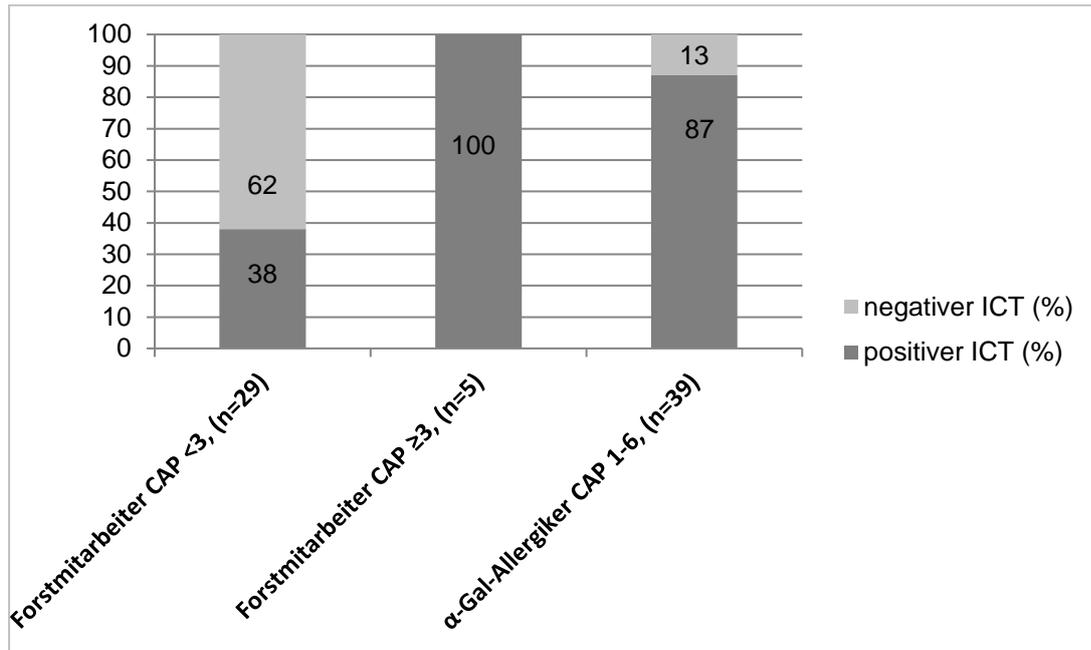


ABBILDUNG 21: HÄUFIGKEIT INTRAKUTANTESTERGEBNISSE IN ABHÄNGIGKEIT DER CAP-KLASSE

Zusammenfassend zeigte sich insgesamt eine höhere Reaktivität im Hauttest mit Gelatine im Vergleich zu den Prick-Testungen. Jedoch reagierten auch die lediglich sensibilisierten Forstmitarbeiter mit hohen CAP-Klassen ähnlich häufig positiv wie die α -Gal-Allergiker. Somit lässt sich anhand der Ergebnisse kein Rückschluss auf die Ausprägung der Erkrankung, also ob ein Patient lediglich sensibilisiert oder manifest erkrankt ist, ziehen.

4. Diskussion

4.1 Auswahl der Studienkollektive

Durch die große Fallzahl der Teilnehmer (α -Gal-Allergiker: $n=55$, Forstmitarbeiter: $n=300$) konnten retrospektiv aussagekräftige Daten über die beiden Kollektive erhoben werden. Zudem konnte im klinisch experimentellen Teil dieser Arbeit mithilfe des Hämagglutinationstests wichtige Erkenntnisse über die Blutgruppeneigenschaften der Probanden gewonnen werden.

Dennoch lassen sich die Ergebnisse nicht auf die Allgemeinbevölkerung übertragen, da beide Kollektive als Risikokollektive betrachtet werden.

α -Gal-Allergiker-Kollektiv

Durch einige Zeitschriftenartikel, die in der deutschsprachigen, nicht-medizinischen Fachpresse erschienen sind^{87,88}, stieg in den letzten Jahren das Bewusstsein für diese Erkrankung in der Bevölkerung. Trotz alledem ist das α -Gal-Syndrom in Deutschland auch unter ärztlichen Kollegen ein noch eher unbekanntes Krankheitsbild. Eine Serumdiagnostik zur Detektion einer Sensibilisierung gegen α -Gal war in ausgewählten Laboren der allergologischen Diagnostik allerdings lange nur zu Forschungszwecken möglich (Phadia[®] diagnostics, Thermo Fisher Scientific[®]). Erst in den letzten Jahren wurde ein Assay entwickelt, der auch kommerziell verfügbar ist⁸⁹. In letzter Zeit stieg zudem der Anteil der sich vegetarisch oder vegan ernährenden Bevölkerung⁹⁰ in Deutschland. Dadurch können eventuelle Fleischallergien unerkannt bleiben. Im schwerwiegendsten Fall kann bei unerkannten α -Gal-Allergikern eine allergische Reaktion nach der Gabe gelatinehaltiger Infusionen³² zur Volumenersatztherapie oder bei der Therapie mit Cetuximab oder anderen Gelatine- bzw. α -Gal-haltigen Präparaten auftreten und dann lebensbedrohlich sein.

Durch die bis zu einigen Stunden verzögerte Reaktion nach dem Verzehr von Fleisch ist das Erkennen der Erkrankung für den Patienten und den behandelnden Arzt erschwert und manchmal nicht möglich. Dadurch wird von einer großen Dunkelziffer der α -Gal-Allergiker ausgegangen⁸⁶. Es kann also davon ausgegangen werden, dass es weit mehr unwissentliche α -Gal-Allergiker gibt als vermutet. Diese Ergebnisse wurden auch in dieser Studie bestätigt; von 300 untersuchten Forstmitarbeitern litten 5 Probanden am α -Gal-Syndrom, vier davon unwissentlich. Somit ist die Dunkelziffer auch hier relativ hoch.

Ziel der Auswahl des Kollektivs der α -Gal-Allergiker in dieser Studie ist es, die klinischen Eigenschaften von Patienten mit manifester Erkrankung zu beleuchten.

Beim α -Gal-Allergikerkollektiv handelt es sich um die bis zum Februar 2015 in der Hautklinik des Universitäts-Klinikums Tübingen registrierten Patientenfälle mit α -Gal-Syndrom. Mit einer Fallzahl von 55 handelt es sich hierbei um eines der größten α -Gal-Allergikerkollektive in Europa. Je nach Untersuchung variiert die Anzahl der getesteten Patienten. Dies hat folgende Gründe: Zum einen ist das Kollektiv natürlichen demographischen Schwankungen unterzogen (Wegfall durch Alter oder Umzug, sowie Vergrößerung des Kollektives durch Stellen neuer Erstdiagnosen, Hinzugezogene, ...), da es sich um die Patienten der laufenden Klinikroutine handelt und die unterschiedlichen Untersuchungen über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden. Für die Hämagglutinationstestung war ausreichend Material von 33 Patienten aus der Serothek verfügbar. Die serologischen Messungen des α -Gal-IgE und des Gesamt-IgE waren bei zwei α -Gal-Allergikern zum Zeitpunkt des Anlegens der Patientenakten noch nicht möglich gewesen, sodass insgesamt die Daten von 53 Patienten ausgewertet wurden. Die Hauttestungen konnten bei 39 Patienten durchgeführt und retrospektiv ausgewertet werden.

Die orale Expositionstestung wurde bei sieben Probanden durchgeführt. Diese relativ kleine Untersuchungsanzahl ist begründet durch sehr aufwendige Untersuchungsbedingungen. Zum einen muss die Untersuchung im Rahmen eines mehrtätigen stationären Aufenthaltes unter ärztlicher Aufsicht durchgeführt werden, zum anderen ist das Risiko eines anaphylaktischen Ereignisses im Vergleich zu anderen Methoden erhöht.

Forstmitarbeiterkollektiv

Schon 1992 wurde von Kubo et al. gezeigt, dass Jäger im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung zu einem größeren Anteil von durch Zecken übertragener Borreliose betroffen waren⁹¹. Das zweite in meiner Studie untersuchte Kollektiv entstammt einer Risikopopulation für Zeckenstiche, es handelt sich um Forstmitarbeiter, welche im Naturpark Schönbuch tätig sind. Die bewusste Auswahl einer Risikopopulation für Zeckenstiche für diese Studie hat die folgenden Gründe:

In Europa gehört Wild zu den Zeckenhauptwirten³⁶. Aus diesem Grund sind Jäger, Förster und Reviermitarbeiter Teil einer Risikopopulation für Zeckenstiche. Aufgrund des mehrfach geäußerten Zusammenhangs zwischen Zeckenstichen und der Sensibilisierung gegen α -Gal wurde im Forstmitarbeiterkollektiv ein hoher Sensibilisie-

rungsanteil vermutet.

Zudem sollten die Faktoren, welche zu einer Sensibilisierung beitragen, untersucht werden. Dazu eignet sich ein Kollektiv, indem sowohl sensibilisierte als auch nicht sensibilisierte Personen in einer Population enthalten sind.

Die Kontaktaufnahme mit den Forstmitarbeitern erfolgte größtenteils über ein Anschreiben der Revierpächter und der im Revier tätigen Mitarbeiter im Naturpark Schönbuch. Dadurch ergibt sich ein Selektionsbias hinsichtlich des Geschlechts und des Alters der Probanden. Die Rekrutierung war über ein Beschäftigungsfeld bedingt, in welchem hauptsächlich Männer tätig sind. So sind die Frauen gegenüber den Männern unterrepräsentiert (w:m = 1:8). Aufgrund des unausgewogenen Geschlechterverhältnisses war es nicht sinnvoll, Männer und Frauen in diesem Kollektiv zu vergleichen. In ihrer Untersuchung verglichen Villalta et al. die Sensibilisierungsraten zwischen Männern und Frauen⁸³. Hier wiesen Männer insgesamt höhere α -Gal-Titer auf als Frauen; jedoch ist darauf hinzuweisen, dass Männer im Allgemeinen beruflich oder im Privatleben eher im Outdoorbereich aktiv sind. In derselben Untersuchung wurden von Männern auch anamnestisch häufiger Zeckenstiche angegeben⁸³. Für weitere Studien an einem Hochrisikokollektiv des Naturparks Schönbuch könnte eine ausgewogenere Geschlechterverteilung erreicht werden, indem beispielsweise Hundebesitzer, welche regelmäßig mit ihrem Hund im Naturpark Schönbuch sind, untersucht würden. Die Rekrutierung wäre allerdings um einiges aufwendiger. Ein weiteres Selektionsbias ergibt sich aus der freiwilligen Teilnahme der Probanden, da die Teilnahmebereitschaft bei jungen und gesunden Probanden in der Regel höher ist als bei Personen mit vorhandener gesundheitlicher Beeinträchtigung.

Im Gegensatz hierzu wurden die α -Gal-Allergiker aus einem vorhandenen Patientenkollektiv gewonnen, somit sind hier Altersverteilung und Geschlechterverhältnis deutlich ausgewogener.

4.2 Methodische Verfahren

4.2.1 Serologische Untersuchungen

Die Serumanalyse des spezifischen α -Gal-IgE erfolgte mithilfe eines Fluoreszenz-Enzym-Immuno-Assays (FEIA). Jedoch werden nicht in jeder Studie dieselben Testsysteme verwendet. Der vormals angewendete Radioallergosorbenttest (RAST) wurde in den letzten Jahren durch Assay-Verfahren der zweiten und dritten Generation abgelöst (ImmunoCAP®, IMMULITE® 2000 Allergy)⁸².

In älteren Studien wird der Grenzwert für eine Sensibilisierung bei 0,35 kU/L angesetzt^{3,6,7,32,39,93}. Dies begründet sich durch das System der CAP-Klassen, wonach vormals eine Sensibilisierung ab einem Wert von $\geq 0,35$ kU/L als grenzwertig positiv angesehen wurde.

In aktuelleren Studien wird der Grenzwert einer Sensibilisierung schon bei IgE-Titern von 0,10 kU/L genannt^{79,83}. Somit wird der Anteil der sensibilisierten Probanden höher.

Aufgrund von Entwicklungen neuer Assay-Verfahren können nun Werte erfasst werden, welche sich deutlich unter der bisherigen Nachweisgrenze von 0,35 kU/L befinden. Mithilfe dieser Meßmethoden konnten Ollert et al. in einer Untersuchung von Patienten mit allergischer Rhinitis oder/und Wespengiftallergie eine bessere Übereinstimmung zwischen Prick-Test-Ergebnissen und Messungen des spezifischen IgE nachweisen⁸². Diesem Beispiel folgend beträgt der Grenzwert des α -Gal-IgE zur Festlegung einer Sensibilisierung in dieser Studie 0,10 kU/L.

4.2.2 Hämagglutinationstest

Beim Hämagglutinationstest werden die Eigenschaften der sich im Serum des Probanden befindenden Antikörper bestimmt und je nach Agglutinationsmuster mit den jeweiligen Antigenen der Test-Erythrozyten einer bestimmten Blutgruppe zugewiesen. Somit werden genaugenommen die Antikörpereigenschaften des Probandenserums, nicht die blutgruppenbildenden Antigeneigenschaften der Probanden bestimmt. Eine Gegenprobe, mit welcher die Antigeneigenschaften der Probanden ermittelt werden können, beispielsweise ein Blutgruppenidentitätstest („Bedside-Test“) hätte die jeweilige Blutgruppe der Probanden direkt bei der Blutentnahme bestätigen

können. Dieser Schritt wäre mit einem deutlichen Mehraufwand verbunden gewesen. Bei den α -Gal-Allergikern wurden die serologischen Untersuchungen ausschließlich aus vorab eingelagerten, wiederaufgetauten Seren durchgeführt. Somit konnte die Blutgruppe der α -Gal-Allergiker nur anhand der im Serum befindlichen Blutgruppenantikörper bestimmt werden. Dennoch wäre eine Blutgruppengegentestung der Probanden sinnvoll gewesen. Durch eine Gegentestung hätte eine mögliche Ursache falscher Messungen im Hämagglutinationstest bewertet werden können.

Im Hämagglutinationstest wird die Aktivität der Blutgruppenantikörper untersucht, welche vorwiegend aus Immunglobulinen der Subklasse IgM bestehen. Aufgrund seiner pentamerartigen Struktur sind IgM-Antikörper gefährdet, durch Kryokonservierung eine Konformationsänderung einzugehen⁹⁹. Auch sind sie anderen physikalischen (Aggregation, Denaturierung) und chemischen (Oxidation, Deglycosylierung, Fragmentierung) Abbaumechanismen ausgesetzt¹⁰⁰, welche sich auf die Reaktivität der Antikörper auswirken können.

Vor allem die Antikörperaggregation bewirkt eine Aktivitätsreduktion, welche durch häufige Einfrier- und Auftauprozesse verursacht werden kann¹⁰¹. Die Probandenserum wurden zur Kryokonservierung eingefroren und teilweise für unterschiedliche Untersuchungen mehrfach aufgetaut. Aus diesem Grund ist eine Reduktion der Antikörperaktivität möglich. Eine nicht stattfindende oder sehr schwache Agglutination aufgrund stattgefundener Antikörperaggregation hätte Auswirkungen auf die Testergebnisse der Blutgruppenverteilungen. Somit hätte ein Proband mit der Blutgruppe A und schwacher Anti-B-Antikörperaktivität ohne sichtbare Agglutination im Hämagglutinationstest ein Testergebnis, ablesbar identisch mit der Blutgruppe AB. Das Selbe gilt für einen Probanden mit Blutgruppe B und schwacher Anti-A-Antikörperaktivität. Ein Proband mit der Blutgruppe 0, welcher eine nicht ablesbare Antikörperaktivität im Hämagglutinationstest vorweist, würde laut Ablesemuster ebenfalls als Proband mit der Blutgruppe AB eingestuft werden. Dies könnte zur Folge haben, dass aufgrund des Testverfahrens die Blutgruppen A, B und 0 tendenziell unterrepräsentiert und die Blutgruppen AB überrepräsentiert sind. Es zeigt sich mit Vergleich zur Allgemeinbevölkerung jedoch keine solche Verteilung in unserem Studienkollektiv.

Während in den Blutgruppen A und B vorwiegend Blutgruppenantikörper der Subklasse IgM vorliegen, dominieren in der Blutgruppe 0 Antikörper der Subklasse IgG⁵⁵. Der Hämagglutinationstest wurde bei Raumtemperatur durchgeführt. Das Isoagglutinin IgM ist in der Lage, bei Raumtemperatur in isotoner Kochsalzlösung suspensier-

te Erythrozyten zu agglutinieren, während das Isohämolysin IgG größtenteils bei 37°C und mit der Zugabe eines Antihumanglobulin- /Coombs-Serum fähig ist, Erythrozyten in vitro zu agglutinieren^{102,103}. Dies hat zu Folge, dass in unserer Untersuchung vermutlich die Agglutination von hauptsächlich IgM detektiert wurde, nicht aber die Agglutination von IgG. Dies könnte bedeuten, dass nach Ablese-schema die Probanden mit der Blutgruppe 0 zu Lasten der Blutgruppe AB unterrepräsentiert sind, da die in der Blutgruppe 0 weniger vorhandenen IgM nur zu einer schwächeren Agglutination führen und somit als Blutgruppe AB fehlinterpretiert werden könnten. Die Ergebnisse des Hämagglutinationstests zeigen allerdings eine vor allem bei den α -Gal-Allergikern auftretende Mehrverteilung der Blutgruppe 0, sowie eine verminderte Anzahl an Trägern der Blutgruppen A, B und AB im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung.

Agglutinationen, welche durch andere Faktoren als aufgrund der regulären AB0-Isoagglutinine ausgelöst werden, können ebenfalls zu einer falschen Blutgruppen-Interpretation im Hämagglutinationstest führen. So können verschiedene Erkrankungen zu nicht immunologisch bedingten Aggregationen der Erythrozyten, einer Pseudoagglutination führen, welche nur mikroskopisch von einer echten Agglutination durch die sogenannte Geldrollenbildung zu unterscheiden ist⁵³.

Auch können theoretisch irreguläre Antikörper im Probandenserum vorhanden sein, welche zur Agglutination führen und somit die Detektion der Blutgruppeneigenschaften verschleiern können⁵³. Dies hätte aufgrund des Ablesemusters im Hämagglutinationstest eine Mehrverteilung der Blutgruppe 0 auf Kosten einer kleineren Anzahl von Trägern der Blutgruppe AB. Diese These stimmt mit den Ergebnissen des Hämagglutinationstests dieser Untersuchung überein.

4.2.3 Hauttestungen und orale Exposition

Prick-zu-Prick-Testungen

Die Prick-Testung mit standardisierten, industriell hergestellten Reagenzien war in der Vergangenheit nicht weiterführend gewesen, da α -Gal-Allergiker trotz vorbekannter stark ausgeprägter klinischer Symptomatik keine adäquate Hautreaktion im Prick-Test gezeigt hatten.

Auch andere Studien zeigten bereits, dass die industriell hergestellten standardisierten Testsubstanzen keinen zuverlässigen Nachweis eines bestehenden α -Gal-Syndroms erlauben können^{3,92}. Laut Rancé et al. rufen industriell hergestellte Testsubstanzen verschiedener Allergene bei Nahrungsmittelallergien (Ei, Erdnuss und Kuhmilch) im Prick-Test weniger positive Hautreaktionen hervor als frisch zubereitete Nahrungsmittel im Prick-zu-Prick-Test⁶⁹. Zudem zeigte sich, dass die Prick-zu-Prick-Testungen mit echten Lebensmitteln in einem viel höheren Ausmaß mit den Ergebnissen einer zusätzlich durchgeführten oralen Testung übereinstimmten⁶⁹. Aus diesem Grund erfolgte die Prick-zu-Prick-Testung mit aus einer örtlichen Metzgerei bezogenen Testsubstanzen. Hieraus ergibt sich jedoch der Nachteil, dass die Testzubereitungen nicht standardisiert sind und die Reaktionsergebnisse gegebenenfalls mit einem wiederholten Prick-zu-Prick-Test nicht vergleichbar sind. Eine Testung mit den Originalsubstanzen hat zudem den Nachteil, dass sie von den Probanden aus religiösen oder ideellen Gründen abgelehnt werden kann (zum Beispiel der Verzicht auf Schweinefleisch aus religiösen Gründen oder der Verzicht auf Fleisch/tierische Produkte bei Vegetariern/Veganern).

Michel et al. versuchten, diese Probleme zu umgehen, indem der monoklonale Antikörper Cetuximab (Erbitux®) als Testreagenz angewendet wurde⁸⁹. Aufgrund der hohen Kosten des Medikamentes ist diese Methode nicht für die allgemeine Diagnostik des α -Gal-Syndroms geeignet.

Beim Ablesen der Quaddelausprägung wurde das Testergebnis ab einem Diameter von $\geq 3\text{mm}$ als positiv angesehen. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass mit einer allergemeinen Zunahme der Quaddelausprägung auch eine Zunahme der Wahrscheinlichkeit für eine Allergie auf das getestete Reagenz besteht⁶⁵, unabhängig von einem bestimmten Grenzwert, welcher in dieser Untersuchung auf $\geq 3\text{mm}$ festgelegt wurde. Eine Folge hiervon könnten ungenauere Ergebnisse sein.

Intrakutantest mit Gelatine

Der Intrakutantest mit Gelatine zeigte eine annähernde Reproduzierbarkeit der positiven Testergebnisse. Auch andere Studien belegen, dass intradermale Tests bei Nahrungsmittelallergien regelmäßig sensitiver ausfallen als Prick-Testungen^{70,71}. Gelatine kann im Gegensatz zu den Prick-zu-Prick-Testungen als standardisierte, industriell hergestellte Testsubstanz angewendet werden und ist leichter verfügbar, im Vergleich zur Prick-zu-Prick-Testung ergibt sich hier ein Vorteil in der Durchführung sowie der Auswertbarkeit der Testergebnisse.

Es besteht jedoch ein erhöhtes Risiko untersuchungsbedingter Komplikationen⁷⁴.

Orale Expositionstestung

Aufgrund der hohen Sensitivität bei positiven Untersuchungsergebnissen ist die orale Expositionstestung nach wie vor der Goldstandard in der Diagnostik der Nahrungsmittelallergie.

Mit der Aufnahme des Allergens über den Gastrointestinaltrakt bietet sich die Möglichkeit, jedoch gleichzeitig das Risiko, das Vollbild der allergischen Reaktion zu provozieren. Dies erschwert die Umsetzbarkeit im Rahmen einer klinischen Studie aufgrund der hieraus resultierenden eventuellen gesundheitlichen Beeinträchtigungen des Probanden-/Patientenguts. Hieraus ergab sich in dieser Untersuchung die Anwendung der oralen Expositionstestung nur bei Erkrankten mit bereits manifesten Symptomen. Dies erklärt die kleine Probandenzahl (n=7) trotz unseres großen Studienkollektives. Dessen Ergebnisse lassen sich nicht aussagekräftig mit den Hauttests, welche an größeren Kollektiven durchgeführt wurden, vergleichen.

Dennoch zeigte sich, dass die allergischen Reaktionen nachgestellt und iatrogen ausgelöst werden können.

Bei der Durchführung der oralen Expositionstestung erschwert die Anwendung mehrerer Testvariablen (verschiedene Testdosen, Anwendung von Kofaktoren) die Interpretation der Untersuchungsergebnisse innerhalb eines Kollektivs.

Es erfolgte die schrittweise Erhöhung der Testdosen, um die minimale kumulative Dosis zu erreichen, welche zu einer allergischen Reaktion führt. Hierbei wurde für alle Probanden dieselbe Fleischzubereitung verwendet. Eine möglicherweise verspätete allergische Reaktion des Probanden kann somit nicht auf den genauen Zeitpunkt der die Reaktion verursachenden Ingestion des Allergens schließen lassen. Kennedy et al. schlagen aus diesem Grund die einmalige Gabe der maximalen Dosis zu Beginn der Untersuchung vor⁸⁵.

Bei der sukzessiven Erhöhung der Testdosen kann es bei der Bestimmung der eine Reaktion auszulösenden Dosis zu falsch hohen Ergebnissen der kumulativen Dosis kommen, da die allergische Reaktion des Probanden gegebenenfalls auf die Gabe einer anfangs niedrigeren Dosis verspätet erfolgte.

Eine Änderung des Versuchsaufbaus hinsichtlich der Bestimmung der exakten Dosis, welche jeweils benötigt wird, um eine allergische Reaktion hervorzurufen, hätte eine erschwerte Durchführbarkeit zu Folge. Um eine stark verspätete allergische Reaktion auf die verabreichte Testdosis nicht zu übersehen, müsste nach jeder verabreichten Probe eine Pause von mindestens 6 Stunden eingehalten werden. Hieraus ergibt sich ein immenser zeitlicher Aufwand. Wenn mehrere Testdosen verabreicht werden sollen, so würde der Versuch mehrere Tage andauern. Aufgrund des Risikos einer lebensbedrohlichen anaphylaktischen Reaktion muss die orale Expositionstestung unter klinischen Bedingungen in der Anwesenheit eines Arztes erfolgen. Ein mehrtägiger stationärer Aufenthalt aufgrund einer oralen Expositionstestung geht mit einem erhöhten Aufkommen von Zeit und Ressourcen einher⁹².

Da es sich bei der Fleischallergie um eine FDEIA handelt, wurden bei Probanden, welche nach Ingestion der Testsubstanz keine allergische Reaktion zeigten, verschiedene Kofaktoren angewendet, welche eine mögliche allergische Reaktion triggern können. Erfolgte nach Anwendung des ersten Kofaktors keine allergische Reaktion, wurde ein weiterer Kofaktor angewendet. Somit konnte beim Eintreten einer allergischen Reaktion nach Gebrauch von mehr als einem Kofaktor keine Aussage dazu gemacht werden, welcher Kofaktor zu welchem Anteil an der Reaktion beteiligt war.

Nach aktueller Studienlage wird die körperliche Betätigung als der am stärksten wirksame Kofaktor angesehen, gefolgt von Alkohol, NSAR wie Acetylsalicylsäure und anderen Medikamenten, sowie durch bestehende allgemeine Infektionen²¹.

Die Auswahl der Kofaktoren wurde den aktuellen Empfehlungen angepasst, sodass körperliche Betätigung, Alkohol und die Einnahme von NSAR zur Anwendung kamen. Eine als Kofaktor wirksame bestehende latente Infektion konnte nicht ausgeschlossen werden.

4.3 Ergebnisse und Schlussfolgerung für den Kliniker

4.3.1 Eigenschaften eines Kollektivs Erkrankter

Bei der Betrachtung der α -Gal-Allergiker zeigten sich spezielle Eigenschaften innerhalb des Kollektivs. Zuerst fiel auf, dass es sich vorwiegend um männliche Probanden im höheren Alter handelt. Alle Patienten waren gegen α -Gal sensibilisiert und wiesen insgesamt sehr hohe α -Gal-IgE-Titer auf.

Auffällig ist außerdem die übermäßige Präsentation der Blutgruppe 0 bei annähernd derselben Verteilung der Blutgruppe B unter den α -Gal-Allergikern. Tendenziell entsprechen die hier gemessenen Blutgruppeneigenschaften jedoch denen der Blutgruppen in der Allgemeinbevölkerung für Südwestdeutschland. Somit kann die These, dass Antigen-B tragende Probanden in geringerem Maße von einer Antikörperbildung gegen α -Gal betroffen sind, nicht unterstützt werden.

Von den im Prick-zu-Prick-Test untersuchten α -Gal-Allergikern deckte sich die vorherige anamnestische Angabe nur bei 28 Prozent der Patienten mit dem Testergebnis. Bei den übrigen α -Gal-Allergikern waren die durch Anamnese dokumentierten allergischen Reaktionen im Prick-zu-Prick-Test nicht reproduzierbar.

Da der Verzehr von Innereien in Deutschland immer weniger verbreitet ist, könnten einige Probanden eine Allergie erworben haben ohne davon zu wissen, da sie noch nie Innereien verzehrt haben. Oder es bestand wirklich eine allergische Reaktion nach einer eingenommenen Mahlzeit, wobei aber nicht das rote Fleisch sondern eine andere Speisezutat ursächlich für die allergische Reaktion gewesen war, wie zum Beispiel α -Gal-haltige Gelatine. Andererseits könnten trotz bestehendem α -Gal-Syndrom die Testzubereitungen keine allergische Reaktion beim Probanden ausgelöst haben, weil die Allergenkonzentration zu niedrig war oder aber ausschließlich die Aufnahme über den Gastrointestinaltrakt eine allergische Reaktion triggert. Hier müsste dann die orale Expositionstestung als nächstes diagnostisches Mittel herangezogen werden. Aufgrund der unsicher reproduzierbaren anamnestischen Angaben der Probanden ist eine weitreichendere allergologische Diagnostik von Bedeutung. Interessanterweise bestand bei keinem der Patienten (entgegen anamnestischer Angaben, ausschließlich auf Muskelfleisch zu reagieren), im Prick-zu-Prick-Test eine tatsächlich isolierte Allergie auf Muskelfleisch. Die α -Gal-Allergiker, welche auf Muskelfleisch positiv reagierten, hatten ebenfalls im Prick-Test positive Ergebnisse bei

der Testung mit Niere vorgewiesen. Somit gibt es anhand der Prick-zu-Prick-Testungen keine isolierte Muskelfleischallergie.

Neben den wenig deckungsgleichen anamnestischen Angaben der α -Gal-Allergiker im Hinblick auf die darauffolgenden Prick-Test-Ergebnisse zeigte sich bei der isolierten Auswertung der Hauttestungen eine hohe Varianz der Reaktionen auf die unterschiedlichen Fleischzubereitungen (siehe Abbildung 8: *Hauttestergebnisse α -Gal-Allergiker*).

Die Testzubereitung Schweineniere zeigte unter den α -Gal-Allergikern die größte allergische Reaktivität.

Im Allgemeinen rief in der Prick-zu-Prick-Testung Nierenfleisch deutlich mehr positive Hautreaktionen hervor als Muskelfleisch. Es ist bekannt, dass α -Gal in Schweineniere in großer Konzentration vorhanden ist⁷⁷. Auch der Fettgehalt des tierischen Gewebes könnte von Bedeutung sein^{35,36}. Dies könnte erklären, dass die meisten Probanden auf Prick-zu-Prick-Testungen mit Gewebezubereitungen vom Schwein, welches einen größeren Fettgehalt enthält als Rindfleisch, eine positive Hautreaktion zeigten. Vergleicht man die positiven Reaktionen der Prick-zu-Prick-Testungen abhängig vom Garzustand der Fleischzubereitungen, so zeigt sich, dass mehr Testungen positiv ausfallen, wenn die Testzubereitung roh ist. Jedoch ließ sich im Vergleich des Garzustandes aller durchgeführten Prick-zu-Prick-Testungen die Reaktivität durch Abkochen nur um circa 25 Prozent abschwächen. Somit kann allgemein durch ein vollständiges Garen des Fleisches nur von einem leichten Abfall der allergenen Potenz ausgegangen werden.

Apostolovic et al. untersuchten, ob die α -Gal-Konzentration in verschiedenen Garzuständen von Rindfleischzubereitungen variiert⁹⁶. Es zeigte sich, dass einige, im Rindfleisch enthaltene α -Gal-haltige Antigene hitzestabil sind⁹⁶. Auch in der Arbeit von Hilger et al. wurden zwei neue α -Gal-IgE-bindende Zellmembranproteine aus Schweineniere extrahiert, welche hitzestabil waren⁹⁷. Diese Proteine werden vor allem auf Schweineniere und Rinderniere exprimiert, dahingegen nur wenig auf Muskelfleisch von Schwein und Rind. Diese Entdeckung bestätigt unsere Testergebnisse in der Prick-zu-Prick-Testung der α -Gal-Allergiker.

Es zeigte sich bei 87 Prozent der α -Gal-Allergiker eine positive Hautreaktion auf Gelatine im Intrakutantest. Damit haben annähernd so viele Probanden auf Gelatine reagiert, wie auf rohe/gekochte Schweineniere. Gelatine ist somit ein vergleichbar sensitives Testverfahren bei den α -Gal-Allergikern. Hinsichtlich des Versuchsauf-

wandes ist Gelatine im Vergleich zu den unterschiedlichen Fleischzubereitungen im Vorteil. Gelatine wird industriell hergestellt und kann somit standardisiert angewendet werden. Die Vorbereitung der Testsubstanzen für die Prick-zu-Prick-Testung ist hingegen aufwendiger, da die Zutaten frisch besorgt und vor der Testung vorbereitet und weiterverarbeitet werden müssen.

Als nächstes galt es zu überprüfen, ob das jeweilige α -Gal-IgE der α -Gal-Allergiker mit der Anzahl der positiven Testergebnisse im Prick-zu-Prick-Test vergleichbar ist. Hier reagierten die α -Gal-Allergiker mit höheren α -Gal-Titern häufiger als Probanden mit niedrigeren Serumtitern. Aufgrund der nur kleinen positiven Korrelation kann jedoch die Serumanalyse keinesfalls eine Hauttestung in der Diagnostik des α -Gal-Syndroms ersetzen.

4.3.2 Eine Sensibilisierung gegen α -Gal hat klinische Relevanz

Im Forstmitarbeiterkollektiv zeigte sich eine unerwartet hohe Prävalenz für eine Sensibilisierung gegen α -Gal; 35 Prozent der Probanden wiesen zum Zeitpunkt der Untersuchung einen α -Gal-IgE-Titer $\geq 0,10$ kU/L auf.

Zudem konnte aufgrund der serologischen Daten und des Fragebogens bei 4 Probanden die Erstdiagnose eines α -Gal-Syndroms gestellt werden, einem Probanden war bereits vor Studienteilnahme die Erkrankung bekannt. Die aus dem Forstmitarbeiterkollektiv detektierten Allergiker wurden ins Kollektiv der α -Gal-Allergiker übernommen sowie deren Untersuchungsergebnisse dort ausgewertet. Es bestätigt sich, dass die Dunkelziffer für das α -Gal-Syndrom höher ist als erwartet; es sind 1,7 Prozent der Forstmitarbeiter von einer manifesten Erkrankung betroffen.

Nichtsdestotrotz waren ebenfalls unter den sensibilisierten Forstmitarbeitern eine große Zahl (39 Prozent) aller Hauttestungen positiv, sodass auch lediglich eine Sensibilisierung gegen α -Gal eine klinische Relevanz haben muss und die Hauttestungen ein wichtiges diagnostisches Mittel bei der Detektion einer Sensibilisierung gegen α -Gal darstellen.

Insgesamt wurden die beiden aus dem Kollektiv entstandenen Teilgruppen der sensibilisierten und nicht sensibilisierten Forstmitarbeiter anhand verschiedener Faktoren auf signifikante Unterschiede hin untersucht. Interessanterweise scheint das Alter in beiden Teilgruppen hinsichtlich einer Sensibilisierung keine Rolle zu spielen (binäre logistische Regressionsanalyse).

Bei der Betrachtung der Gesamt-IgE-Titer im Forstmitarbeiterkollektiv zeigten sich bei den sensibilisierten Probanden signifikant höhere Werte als bei den nicht sensibilisierten Forstmitarbeitern (binäre logistische Regressionsanalyse für Gesamt-IgE ≥ 150 kU/L, $p=0,040$). Es zeigte sich bezüglich der allergiespezifischen Komponenten kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Sensibilisierung auf α -Gal und das Bestehen eines Asthmas, Katzenhaarallergie, Gräser- oder Baumpollenallergie oder Insektengiftallergie. Somit ist eine spezifische Allergie an sich kein Prädispositionsfaktor für eine Sensibilisierung mit α -Gal, im Gegensatz zu einer Atopie im Sinne eines erhöhten Gesamt-IgEs. Jedoch kann jede andere Art von Allergie das Gesamt-IgE beeinflussen. Zudem unterliegt der Gesamt-IgE-Titer im Serum ständigen Schwankungen und kann durch zahlreiche Faktoren beeinflusst werden. Atopische Dermatitis, zelluläre Immundefekte, Parasitosen, ein Hypereosinophiliesyndrom, In-

fektionskrankheiten, Autoimmunerkrankungen, maligne Erkrankungen, Lymphome und das Churg-Strauss-Syndrom können mit stark erhöhten Titern des Gesamt-IgE einhergehen⁶¹. Die genannten Erkrankungen wurden in unserem Probandenkollektiv nicht ausgeschlossen. Demzufolge können sich falsch-positive Gesamt-IgE-Titer ergeben haben. Auch Nikotin- und Alkoholkonsum beeinflussen die Serumkonzentrationen des Gesamt-IgE⁶¹, und können somit zu veränderten Ergebnissen führen. Dennoch kann anhand des Gesamt-IgE-Titers im Probandenserum keine weitere Aussage über die Ausprägung der Erkrankung gemacht werden. Den Untersuchungen zufolge kann ein hohes Gesamt-IgE letztendlich nicht das Vorliegen einer atopischen Erkrankung beweisen. Andererseits schließt ein normwertiger Gesamt-IgE-Titer eine Allergie nicht aus⁶³.

Bezüglich der Blutgruppen wurde geprüft, ob sich die beiden Teilkollektive (sensibilisierte und nicht sensibilisierte Forstmitarbeiter) unterscheiden. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Blutgruppenverteilung zwischen den sensibilisierten und nicht sensibilisierten Probanden (binäre logistische Regressionsanalyse $p > 0,05$, Fisher exact test, $p > 0,05$). Somit ist vorerst die Hypothese, dass die Blutgruppe B einen protektiven Faktor bei der Ausbildung einer Sensibilisierung darstellt, nicht bestätigt. Auch wenn man das Forstmitarbeiterkollektiv bezüglich der beiden Gruppen non-B-Blutgruppe (A und 0) und B-Blutgruppe (B und AB) betrachtet, zeigten sich keine relevanten Unterschiede in der Höhe der α -Gal-IgE-Titer oder der Gesamt-IgE-Titer (siehe Abbildung 11: *Vergleich Gesamt-IgE und Blutgruppen Forstmitarbeiter* und Abbildung 12: *Vergleich α -Gal-IgE und Blutgruppen Forstmitarbeiter*).

Zusammenfassend hat die Blutgruppeneigenschaft laut aktueller Untersuchung bei den Forstmitarbeitern keine Relevanz im Hinblick auf die Entwicklung einer Sensibilisierung oder Atopieneigung.

Zwar zeigte sich eine Abweichung der Blutgruppenverteilung des Forstmitarbeiterkollektivs im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung in Südwestdeutschland⁴⁷, jedoch ist eher wahrscheinlich, dass die Abweichung in der Wahl der Quellenangabe begründet ist. Die Recherche nach aktuellen Angaben zur Blutgruppenverteilung in Südwestdeutschland gestaltete sich als schwierig, zumal die Daten variierten. Die hier verwendeten Vergleichsdaten stammen aus dem Jahr 1995.

4.3.3 Aussagekraft der Diagnostik zwischen Sensibilisierung und Erkrankung

Im Vergleich der Blutgruppenverteilung der sensibilisierten Forstmitarbeiter und der α -Gal-Allergiker zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Verteilung der B- und Non-B-Blutgruppen (Mann-Whitney-Test, $p > 0,05$).

Jedoch zeigte sich bei den α -Gal-Allergikern im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung und den Forstmitarbeitern ein deutlich höherer Anteil der Blutgruppe 0. Im Hämagglutinationstest wird eine gleichzeitige Agglutination der Testerythrozyten A und B mit dem Probandenserum der Blutgruppe 0 zugeordnet. Eine Erklärung hierfür könnten allerdings auch andere agglutinierende Faktoren, eine zum Beispiel durch AB0-Blutgruppenantigen bindende Antikörper im Probandenserum zustande kommende Agglutination sein.

In einer ihrer Arbeiten untersuchten Galili et al. die Antikörpertiter von Patienten mit Zustand nach Organabstoßung bei blutgruppeninkompatibler Allograft-Nierentransplantation⁶⁰. Interessanterweise ließen sich erhöhte α -Gal-IgG-Antikörper, welche zusätzlich das Antigen A und/oder B erkennen (α -Gal-A/B-IgG), nachweisen. Durch Bindung an die blutgruppeninkompatiblen Antigene des Spenderorgans waren diese hauptverantwortlich für die Abstoßungsreaktion⁶⁰. Die vermehrte Bildung der α -Gal-A/B-IgG führen Galili et al. hierbei auf die immunologische Konfrontation mit dem blutgruppeninkompatiblen Spenderorgan zurück⁶⁰. Das bedeutet, dass die von B-Zellen produzierten α -Gal-Klone nicht nur an das ursprüngliche α -Gal-Epitop binden können, sondern zusätzlich in der Lage sind, Antigen A und/oder Antigen B zu erkennen.

Möglicherweise könnten auch im Hämagglutinationstest α -Gal-A/B-IgG als Antigen A und/oder Antigen B bindende Antikörper eine Agglutination ausgelöst haben. Dies könnte den erhöhten Anteil der aus der Hämagglutinationstestung resultierenden Blutgruppe 0 der α -Gal-Allergiker erklären.

Laut Rispen et al. gehen erhöhte α -Gal-IgE-Titer mit erhöhten α -Gal IgG-Titern einher³⁰. Bei den α -Gal-Allergikern und sensibilisierten Forstmitarbeitern könnten somit erhöhte α -Gal-IgG-Titer vorhanden sein.

Beim Ablesen der Testergebnisse zeigten sich außerdem unterschiedlich starke Agglutinationsmuster. Ungefähr 23 Prozent der Testergebnisse zeigten nur schwache Hämagglutinationen, welche durch eine wiederholte Testung mit einer anderen Erythrozytensuspension bestätigt wurden.

Beim Vergleich der Blutgruppeneinteilungen hinsichtlich ihrer Agglutinationsgrade zeigten sich 96 Prozent der zur Blutgruppe B erklärten Tests als schwach agglutiniert, während unter den zur Blutgruppe A erklärten Hämagglutinationen nur 21 Prozent eine schwache Agglutination vorwies. Die als Blutgruppe 0 abgelesenen Probanden wiesen nur zu 7 Prozent eine schwache Agglutination auf. Alle Probanden welche nach Testergebnis der Blutgruppe AB zugehörig waren, zeigten eine schwache Agglutination. Eine starke Agglutination in diesem Falle würde aber auch die Einteilung in die Blutgruppe 0 bedeuten.

Die unterschiedliche Stärke der Agglutination in Abhängigkeit von der Blutgruppe könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Blutgruppen unterschiedliche Anteile erythrozytenagglutinierender Antikörper besitzen. Ob es sich hierbei um α -Gal-A/B-Immunglobuline handelt, muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Der hohe Anteil nur schwach agglutiniertes Testergebnisses der Blutgruppe B könnte dann ein Hinweis darauf sein, dass der Anteil der α -Gal-A/B-Antikörper bei dieser Probandengruppe niedriger ist als in den Non-B-Blutgruppen A und 0, dies würde die These untermauern, dass Probanden mit der Antigeneigenschaft der Blutgruppe B/AB in einem geringeren Maße Antikörper gegen α -Gal besitzen und somit eine Sensibilisierung gegen α -Gal unwahrscheinlicher ist. Um diese These zu verstärken müsste man nachweisen, dass die Blutgruppe B/AB tragenden Probanden in geringerem Maße gegen α -Gal sensibilisiert sind, hierfür könnten Verfahren der direkten Blutgruppenbestimmung (BedSide-Test) eine wegweisendere Aussage über die Antigeneigenschaften machen.

Desweiteren stellte sich die Frage, ob eine bestimmte Höhe des α -Gal-IgE-Titers hinweisend auf ein α -Gal-Syndrom sein kann im Gegensatz zu einer klinisch unauffälligen Sensibilisierung. Hierfür wurden die α -Gal-Titer der α -Gal-Allergiker mit denen der sensibilisierten Forstmitarbeiter verglichen. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der α -Gal-Titer der beiden Studienkollektive (Mann-Whitney-Test, $p < 0,005$). Die an Fleischallergie erkrankten Probanden hatten im Vergleich zu den sensibilisierten Probanden ohne Fleischallergie höhere α -Gal-Titer.

Dennoch zeigte sich eine hohe Varianz bezüglich der α -Gal-IgE-Titer im Kollektiv der α -Gal-Allergiker. Die sensibilisierten Forstmitarbeiter zeigten im Mittel deutliche niedrige α -Gal-IgE-Titer, dennoch überlappen sich die Werte, sodass kein Grenzwert existiert, anhand dessen die beiden Untersuchungskollektive diskriminiert werden könnten (siehe Abbildung 17: *Vergleich α -Gal-IgE sensibilisierte Forstmitarbeiter und*

α-Gal-Allergiker).

Zusätzlich zeigte sich, dass die Titer je nach Zeitpunkt der Zeckenexposition variieren, so hatten die Forstmitarbeiter während der Zeckensaison insgesamt höhere α -Gal-IgE-Titer als außerhalb der Zeckensaison (Lupberger E, (2017), *Die Typ-I-Sensibilisierung gegen Galaktose-alpha-1,3-Galaktose bei Jägern und Forstmitarbeitern des Naturparks Schönbuch*. Medizinische Dissertationsschrift, Universität Tübingen).

Auch Hamsten et al. verglichen die α -Gal-IgE-Titer eines α -Gal-Allergikerkollektivs mit den Titern einer Risikopopulation für Zeckenstiche⁸¹. Es zeigte sich, dass die Kontrollgruppe signifikant niedrigere Titer aufwies als das eines α -Gal-Allergikerkollektivs.

Bezüglich des Gesamt-IgEs waren im α -Gal-Allergikerkollektiv signifikant höhere Titer ermittelt worden als bei den sensibilisierten Forstmitarbeitern (Mann-Whitney-Test, $p < 0,001$).

Auch der Anteil der Probanden mit einer relevanten Atopieneigung (Gesamt-IgE-Titer ≥ 150 kU/L) war bei den α -Gal-Allergikern vergleichsweise höher als bei den sensibilisierten Probanden aus dem Forstmitarbeiterkollektiv. Dennoch lässt sich auch hier aufgrund der hohen Varianz der Titerhöhen innerhalb beider Kollektive kein Grenzwert ermitteln, welcher einen kranken Patienten von einem sensibilisierten Probanden unterscheiden kann.

Hinsichtlich der Hauttestungen zeigten sich relevante Ergebnisse zwischen den beiden Kollektiven. Ein deutlich höherer Anteil der Pricktestungen bei den α -Gal-Allergikern fiel positiv aus im Vergleich zu den getesteten sensibilisierten Forstmitarbeitern (62 Prozent bei den α -Gal-Allergikern zu 39 Prozent bei den Forstmitarbeitern). Zudem zeichneten sich ähnliche Häufigkeitsmuster für positive Reaktionen bei den einzelnen Testzubereitungen im Vergleich der Kollektive ab (siehe Abbildung 19: *Vergleich positiver Hauttestergebnisse sensibilisierte Forstmitarbeiter und Alpha-Gal-Allergiker*). Dies lässt auf eine gute Reproduzierbarkeit der Hauttestungen schließen und zeigt wie bereits erwähnt, dass auch sensibilisierte Probanden gehäuft in den Hauttestungen reagieren. Diese Tatsache führt jedoch zugleich zu dem Problem, dass eine Unterscheidung zwischen Erkrankten und Sensibilisierten anhand der Testergebnisse erneut erschwert wird. Wider Erwarten ließen sich anhand der Testungen verschiedener Fleischzubereitungen keine weiteren Informationen über Unterschiede der Reaktionsmuster von Erkrankten und Sensibilisierten erkennen. Somit

besteht laut unseren Untersuchungen kein zusätzlicher Nutzen in der Austestung der unterschiedlichen Fleischzubereitung im Vergleich zum Intrakutantest mit Gelatine. In diesem zeigte sich wiederum eine deutlich höhere Quote an positiven Testergebnissen bei den Fleischallergikern im Vergleich zu den sensibilisierten Forstmitarbeitern.

Vor allem bei hohen α -Gal-IgE-Titern gleichen sich die Testergebnisse sowohl im Prick- als auch im Intrakutantest in beiden Kollektiven an, (siehe Abbildung 20: *Prick-Testergebnisse in Abhängigkeit der CAP-Klasse* und Abbildung 21: *Intrakutantestergebnisse in Abhängigkeit der CAP-Klasse*).

Ein Patient mit tendenziell hohen α -Gal-IgE-Titern reagiert also im Hauttest mit höherer Wahrscheinlichkeit, und es scheint hier keine Rolle zu spielen, ob er lediglich sensibilisiert oder manifest erkrankt ist. Dies ist eine Schwäche der diagnostischen Möglichkeiten im Rahmen der Hauttestungen. Zudem ist der Aufwand für die Vorbereitung der Prick-zu-Prick-Testungen mit den Fleischzubereitungen sehr hoch, so dass in Zusammenschau der Ergebnisse eine Intrakutantestung bei ähnlicher Reproduktivität im Vergleich zu den Prick zu Prick-Testungen einen Vorteil in der Durchführbarkeit bietet.

In Betrachtung aller diagnostischen Verfahren kann jedoch nur eine positive Anamnese und/oder der Nachweis einer allergischen Reaktion nach der Ingestion α -Gal-haltiger Substanzen in der oralen Expositionstestung in Kombination mit erhöhten α -Gal-IgE-Titern ein manifestes α -Gal-Syndrom bestätigen.

5. Zusammenfassung

Das α -Gal-Syndrom ist ein komplexes Krankheitsbild, welches in der Diagnostik einige Herausforderungen an den betreuenden Arzt stellt. Dennoch ist die Diagnosestellung wichtig, um zur Verhinderung eines unter Umständen verheerend verlaufenden anaphylaktischen Schocks beizutragen.

Mit dieser Untersuchung wurde die Aussagekraft verschiedener diagnostischer Tests bei α -Gal-Allergikern und bei gegen α -Gal sensibilisierten Probanden beleuchtet.

Bezüglich der AB0-Blutgruppenanteile in den Probandenkollektiven zeigten sich tendenziell ähnliche Blutgruppenverteilungen wie die der Allgemeinbevölkerung in Südwestdeutschland. Die Blutgruppe B konnte nicht als unterrepräsentierte Blutgruppe bei gegen α -Gal sensibilisierten Probanden/ α -Gal-Allergikern bestätigt werden. Zur Bestimmung der Blutgruppeneigenschaften wurde der Hämagglutinationstest angewendet. Gründe für eine falsch hohe Agglutination und somit einer tendenziellen Überverteilung der Blutgruppe 0 könnten hierbei durch AB0-Antigen-bindende Antikörper oder durch Pseudoagglutinationen verursacht worden sein.

Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung und den Forstmitarbeitern zeigte sich bei den α -Gal-Allergikern jedoch im Hämagglutinationstest ein höherer Anteil der Blutgruppe 0. Eine Erklärung hierfür könnten zusätzliche Antikörper im Patientenserum sein, welche durch Bindung an Antigen A und/oder B eine zusätzliche Agglutination auslösen, und somit im Hämagglutinationstest als Blutgruppe 0 gewertet werden.

In Abhängigkeit der Blutgruppen wurden unterschiedliche Agglutinationsgrade beobachtet. Es zeigte sich vor allem in der Antigen B tragenden Blutgruppe ein hoher Anteil an schwachen Agglutinationen. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Blutgruppen unterschiedliche Konzentrationen dieser zusätzlich agglutinierenden Antikörper besitzen. Somit hätten Träger der Blutgruppe B einen geringeren Anteil dieser Antikörper im Serum. Ob es sich dabei um α -Gal-A/B-Antikörper handelt, muss in weitergehenden Studien geklärt werden.

Mittels In-vitro-Verfahren können Aussagen über die Antikörpertiter getroffen werden. Hier existiert jedoch kein Grenzwert, der den α -Gal-Allergiker serologisch vom lediglich Sensibilisierten unterscheiden kann.

Es zeigten sich bei den α -Gal-Allergikern signifikant höhere α -Gal-IgE-Titer als bei den lediglich sensibilisierten Forstmitarbeitern. Dennoch ist die Varianz der Titer bei den α -Gal-Allergikern so hoch, dass sich die Titer-Bereiche der beiden Kollektive überlappen. Somit kann kein Grenzwert festgelegt werden, welcher zwischen

Fleischallergie und Sensibilisierung zur diagnostischen Diskriminierung herangezogen werden könnte. Zudem variieren die α -Gal-Titer saisonal.

Beim Vergleich der Gesamt-IgE-Titer zeigten sich die meisten Atopiker ($\text{gesIgE} \geq 150$ kU/L) unter den α -Gal-Allergikern, gefolgt von den sensibilisierten und nachfolgend den nicht sensibilisierten Forstmitarbeitern.

Auch hier lässt sich kein Grenzwert bestimmen, das Ergebnis zeigt aber, dass der Faktor Atopie eine Rolle bei der Entstehung einer Sensibilisierung oder der Entwicklung eines α -Gal-Syndroms einnimmt.

Es zeigte sich, dass die Prick-zu-Prick-Testung eine Sensibilisierung gegen α -Gal nachweisen kann, hierbei kann jedoch nicht zwischen einer klinisch unauffälligen Sensibilisierung und einem manifesten α -Gal-Syndrom unterschieden werden. Es zeigte sich ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen den α -Gal-Antikörpertitern und der Anzahl der positiven Prick-zu-Prick-Testungen bei den α -Gal-Allergikern. Dieser Zusammenhang ist jedoch nicht stark genug, um lediglich durch die Bestimmung der α -Gal-Titer die wahrscheinliche Reaktivität im Hauttest abschätzen zu können.

Auch ließen sich anhand der Testungen verschiedener Fleischzubereitungen wider Erwarten keine weiteren Informationen über Unterschiede der Reaktionsmuster von Erkrankten und Sensibilisierten erkennen. Aufgrund des hohen Untersuchungsaufwandes bezüglich der unterschiedlichen Zubereitungen der Fleischarten scheint der Intrakutantest mit Gelatine dem Prick-zu-Prick-Testung in der Diagnostik bei ähnlichen Untersuchungsergebnissen überlegen.

Die orale Expositionstestung ist der Goldstandard in der klinischen Diagnostik einer Nahrungsmittelallergie. Es ergibt sich jedoch aufgrund von mehreren die Reaktion beeinflussenden Testvariablen eine erschwerte Aussagekraft innerhalb eines Studienkollektivs, eine positive Testreaktion besitzt jedoch hohe Sensitivität und ist somit für den einzelnen Patienten ein wichtiges diagnostisches Mittel.

Letztendlich kann nur eine auffällige Anamnese oder eine positive Reaktion in der oralen Expositionstestung in Kombination mit erhöhten α -Gal-IgE-Titern als beweisender Faktor für die Diagnose oder den Ausschluss eines α -Gal-Syndroms herangezogen werden. Alle anderen diagnostischen Parameter müssen im Gesamtbild betrachtet werden.

Zurzeit ist die Karenz des betreffenden Allergens die einzig bekannte Therapiemöglichkeit beim Auftreten des α -Gal-Syndroms. Als Primärprophylaxe einer Sensibilisie-

rung gegen α -Gal sollten nach aktueller Studienlage Zeckenstiche vermieden werden.

Weiterhin ist es nötig, betroffenen Patienten einen Allergie-Pass auszustellen. Dieser sollte nicht nur auf die Unverträglichkeit von rotem Säugetierfleisch und gelatinehaltigen Lebensmitteln, sondern auch auf die bestehende Allergie auf α -Gal-haltige Medikamente wie Cetuximab oder gelatinehaltige Infusionen hinweisen. Insbesondere intravenös applizierte Medikamente stellen ein besonderes Risiko für eine gravierende allergische Reaktion dar.

6. Literaturverzeichnis

1. Macher, B. A. & Galili, U. The Gal-1,3Gal-1,4GlcNAc-R (α -Gal) epitope: a carbohydrate of unique evolution and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta* **1780**, 75–88 (2008).
2. Hendricks, S. P., He, P., Stults, C. L. & Macher, B. A. Regulation of the expression of Gal alpha 1-3Gal beta 1-4GlcNAc glycosphingolipids in kidney. *J. Biol. Chem.* **265**, 17621–17626 (1990).
3. Commins, S. P. *et al.* Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* **123**, 426–433 (2009).
4. A unique natural human IgG antibody with anti-alpha-galactosyl specificity. *J Exp Med* **160**, 1519–1531 (1984).
5. Galili, U., Anaraki, F., Thall, A., Hill-Black, C. & Radic, M. One percent of human circulating B lymphocytes are capable of producing the natural anti-Gal antibody. *Blood* **82**, 2485–2493 (1993).
6. Chung, C. H. *et al.* Cetuximab-Induced Anaphylaxis and IgE Specific for Galactose- α -1,3-Galactose. *N Engl J Med* **358**, 1109–1117 (2008).
7. Commins, S. P. *et al.* The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* **127**, 1286–1293.e6 (2011).
8. Brandenburger, T. & Bajorat, T. *Fallbuch Biochemie*. (Georg Thieme Verlag, 2006).
9. O’Neil, B. H. *et al.* High incidence of cetuximab-related infusion reactions in Tennessee and North Carolina and the association with atopic history. *J. Clin. Oncol.* **25**, 3644–3648 (2007).
10. Sampson, H. A. *et al.* Symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report. *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**, 584–591 (2005).
11. Joint Task Force on Practice Parameters, American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, American College of Allergy, Asthma and Immunology & Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. The diagnosis and management of anaphylaxis: an updated practice parameter. *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**, S483-523 (2005).
12. Qian, J. *et al.* Structural characterization of N-linked oligosaccharides on monoclonal antibody cetuximab by the combination of orthogonal matrix-assisted laser desorption/ionization hybrid quadrupole-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and sequential enzymatic digestion. *Anal. Biochem.* **364**, 8–18 (2007).
13. Galili, U. The alpha-gal epitope and the anti-Gal antibody in xenotransplantation and in cancer immunotherapy. *Immunol. Cell Biol.* **83**, 674–686 (2005).
14. Boyce, J. A. *et al.* Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Summary of the NIAID-Sponsored Expert Panel Report. *Nutr Res* **31**, 61–75 (2011).
15. Gell, P.G.H. and Coombs, R.R.A. (1963) The classification of allergic reactions underlying disease. In *Clinical Aspects of Immunology* (Coombs, R.R.A. and Gell, P.G.H., eds) Blackwell Science - Google-Suche. Available at: [https://www.google.de/search?tbm=bks&hl=de&q=+Gell%2C+P.G.H.+and+Coombs%2C+R.R.A.+\(1963\)+The+classification+of+allergic+reactions+underlying+disease.+In+Clinical+Aspects+of+Immunology+\(Coombs%2C+R.R.A.+and+Gell%2C+P.G.H.%2C+eds\)+Blackwell+Science](https://www.google.de/search?tbm=bks&hl=de&q=+Gell%2C+P.G.H.+and+Coombs%2C+R.R.A.+(1963)+The+classification+of+allergic+reactions+underlying+disease.+In+Clinical+Aspects+of+Immunology+(Coombs%2C+R.R.A.+and+Gell%2C+P.G.H.%2C+eds)+Blackwell+Science). (Accessed: 8th November 2013)
16. DeFranco, A., Locksley, R. & Robertson, M. *Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease*. (New Science Press, 2007).
17. Bachert, C. & Heppt, W. J. *Praktische Allergologie*. (Georg Thieme Verlag, 2010).
18. Ring, J. & Messmer, K. Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet* **1**, 466–469 (1977).
19. Ring J, Beyer K, Biedermann T, Bircher A, Duda D, Fischer J, et al. Guideline for acute therapy und management of anaphylaxis. S2 guideline of DGAKI, AeDA, GPA, DAAU, BVKJ, ÖGAI, SGAI, DGAI, DGP, DGPM, AGATE and DAAB. *Allergo J Int* 2014;
20. Barg, W., Medrala, W. & Wolanczyk-Medrala, A. Exercise-Induced Anaphylaxis: An Update on Diagnosis and Treatment. *Curr Allergy Asthma Rep* **11**, 45–51 (2011).

21. Wölbing, F., Fischer, J., Köberle, M., Kaesler, S. & Biedermann, T. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *Allergy* **68**, 1085–1092 (2013).
22. Biedermann, T., Schöpf, P., Ruëff, F. & Przybilla, B. [Exertion-induced anaphylaxis after eating pork and beef]. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **124**, 456–458 (1999).
23. Knight, M. E., Wyatt, K. & James, H. C. Exercise-induced anaphylaxis after consumption of red meat in a patient with IgE antibodies specific for galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol Pract* **3**, 801–802 (2015).
24. Kiefel, V. *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie - Methodik.* (Springer-Verlag, 2011).
25. Galili, U., Buehler, J., Shohet, S. B. & Macher, B. A. The human natural anti-Gal IgG. III. The subtlety of immune tolerance in man as demonstrated by crossreactivity between natural anti-Gal and anti-B antibodies. *J. Exp. Med.* **165**, 693–704 (1987).
26. McMorow, I. M., Comrack, C., Sachs, D. H., Monroy, R. & DerSimonian, H. Characterization of the human α 1,3Gal-reactive natural antibody population. *Transplant. Proc.* **28**, 547 (1996).
27. Galili, U., Mandrell, R. E., Hamadeh, R. M., Shohet, S. B. & Griffiss, J. M. Interaction between human natural anti- α -galactosyl immunoglobulin G and bacteria of the human flora. *Infect. Immun.* **56**, 1730–1737 (1988).
28. Milland, J. & Sandrin, M. S. ABO blood group and related antigens, natural antibodies and transplantation. *Tissue Antigens* **68**, 459–466 (2006).
29. Hamadeh, R. M. *et al.* Human natural anti-Gal IgG regulates alternative complement pathway activation on bacterial surfaces. *J Clin Invest* **89**, 1223–1235 (1992).
30. Rispens, T., Derksen, N. I. L., Commins, S. P., Platts-Mills, T. A. & Aalberse, R. C. IgE production to α -gal is accompanied by elevated levels of specific IgG1 antibodies and low amounts of IgE to blood group B. *PLoS ONE* **8**, e55566 (2013).
31. Aalberse, R. C., Stapel, S. O., Schuurman, J. & Rispens, T. Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin. Exp. Allergy* **39**, 469–477 (2009).
32. Mullins, R. J., James, H., Platts-Mills, T. A. E. & Commins, S. The relationship between red meat allergy and sensitization to gelatin and galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* **129**, 1334–1342.e1 (2012).
33. Jacquenet, S., Moneret-Vautrin, D.-A. & Bihain, B. E. Mammalian meat-induced anaphylaxis: clinical relevance of anti-galactose- α -1,3-galactose IgE confirmed by means of skin tests to cetuximab. *J. Allergy Clin. Immunol.* **124**, 603–605 (2009).
34. Commins, S. P. & Platts-Mills, T. A. E. Anaphylaxis syndromes related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant. *J Allergy Clin Immunol* **124**, 652–657 (2009).
35. Commins, S. P. & Platts-Mills, T. A. E. Allergenicity of Carbohydrates and Their Role in Anaphylactic Events. *Curr Allergy Asthma Rep* **10**, 29–33 (2010).
36. Steinke, J. W., Platts-Mills, T. A. E. & Commins, S. P. The α -gal story: lessons learned from connecting the dots. *J. Allergy Clin. Immunol.* **135**, 589–596; quiz 597 (2015).
37. Van Nunen, S. A., O'Connor, K. S., Clarke, L. R., Boyle, R. X. & Fernando, S. L. An association between tick bite reactions and red meat allergy in humans. *Med. J. Aust.* **190**, 510–511 (2009).
38. Hamsten, C. *et al.* Identification of galactose- α -1,3-galactose in the gastrointestinal tract of the tick *Ixodes ricinus*; possible relationship with red meat allergy. *Allergy* **68**, 549–552 (2013).
39. Chinuki, Y., Ishiwata, K., Yamaji, K., Takahashi, H. & Morita, E. Haemaphysalis longicornis tick bites are a possible cause of red meat allergy in Japan. *Allergy* (2015). doi:10.1111/all.12804
40. Hamsten, C. *et al.* Red meat allergy in Sweden: Association with tick sensitization and B-negative blood groups. *J. Allergy Clin. Immunol.* (2013). doi:10.1016/j.jaci.2013.07.050
41. Deplazes, P., Eckert, J., Samson-Himmelstjerna, G. von & Zahner, H. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin.* (Georg Thieme Verlag, 2012).

42. Arkestål, K. *et al.* Impaired allergy diagnostics among parasite-infected patients caused by IgE antibodies to the carbohydrate epitope galactose- α 1,3-galactose. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **127**, 1024–1028 (2011).
43. Avila, J. L., Rojas, M. & Galili, U. Immunogenic Gal alpha 1----3Gal carbohydrate epitopes are present on pathogenic American Trypanosoma and Leishmania. *J. Immunol.* **142**, 2828–2834 (1989).
44. Landsteiner, K. Individual Differences In Human Blood. *Science* 403–409 (1931).
45. Watkins, W. M. The ABO blood group system: historical background. *Transfusion Medicine* **11**, 243–265 (2001).
46. Eckstein, R. & Zimmermann, R. *Immunhämatologie und klinische Transfusionsmedizin: Theorie und Praxis kompakt.* (Elsevier, Urban&FischerVerlag, 2012).
47. Wagner, F. F., Kasulke, D., Kerowgan, M. & Flegel, W. A. Frequencies of the blood groups ABO, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinically relevant high-frequency antigens in south-western Germany. *Infusionsther Transfusionsmed* **22**, 285–290 (1995).
48. Lederberg, J. J. B. S. Haldane (1949) on infectious disease and evolution. *Genetics* **153**, 1–3 (1999).
49. Stussi, G. *et al.* Isotype-specific detection of ABO blood group antibodies using a novel flow cytometric method. *British Journal of Haematology* **130**, 954–963 (2005).
50. Hutson, A. M., Atmar, R. L., Graham, D. Y. & Estes, M. K. Norwalk Virus Infection and Disease Is Associated with ABO Histo-Blood Group Type. *J Infect Dis.* **185**, 1335–1337 (2002).
51. Coombs, R. R. A., Mourant, A. E. & Race, R. R. A New Test for the Detection of Weak and 'Incomplete' RH Agglutinins. *Br J Exp Pathol* **26**, 255–266 (1945).
52. Sharon, R. & Fibach, E. Quantitative flow cytometric analysis of ABO red cell antigens. *Cytometry* **12**, 545–549 (1991).
53. Gombotz, H. & Rump, G. *Transfusionsmedizin - klinische Hämotherapie: Kurzlehrbuch für Klinik und Praxis ; 54 Tabellen.* (Georg Thieme Verlag, 2008).
54. Branch, D. R. Anti-A and anti-B: what are they and where do they come from? *Transfusion* **55**, S74–S79 (2015).
55. Kang, S. J., Lim, Y. A. & Baik, S. Y. Comparison of ABO antibody titers on the basis of the antibody detection method used. *Ann Lab Med* **34**, 300–306 (2014).
56. Thompson, K. M. *et al.* Human monoclonal antibodies specific for blood group antigens demonstrate multispecific properties characteristic of natural autoantibodies. *Immunology* **76**, 146–157 (1992).
57. Springer, G. F. & Horton, R. E. Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. *J. Clin. Invest.* **48**, 1280–1291 (1969).
58. Storry, J. R. & Olsson, M. L. The ABO blood group system revisited: a review and update. *Immunohematology* **25**, 48–59 (2009).
59. McMorro, I. M., Comrack, C. A., Nazarey, P. P., Sachs, D. H. & DerSimonian, H. Relationship between ABO blood group and levels of Gal alpha,3Galactose-reactive human immunoglobulin G. *Transplantation* **64**, 546–549 (1997).
60. Galili, U., Ishida, H., Tanabe, K. & Toma, H. Anti-gal A/B, a novel anti-blood group antibody identified in recipients of abo-incompatible kidney allografts. *Transplantation* **74**, 1574–1580 (2002).
61. Renz, H. *et al.* [In vitro allergy diagnosis. Guideline of the German Society of Asthma and Immunology in conjunction with the German Society of Dermatology]. *J Dtsch Dermatol Ges* **4**, 72–85 (2006).
62. Lieberman, J. A. & Sicherer, S. H. Diagnosis of food allergy: epicutaneous skin tests, in vitro tests, and oral food challenge. *Curr Allergy Asthma Rep* **11**, 58–64 (2011).
63. Burney, P. *et al.* The distribution of total and specific serum IgE in the European Community Respiratory Health Survey. *J. Allergy Clin. Immunol.* **99**, 314–322 (1997).
64. Heinzerling, L. *et al.* The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy* **3**, 3 (2013).
65. Sicherer, S. H. & Sampson, H. A. Food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, S116-125 (2010).

66. Sellaturay, P., Nasser, S. & Ewan, P. The incidence and features of systemic reactions to skin prick tests. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* doi:10.1016/j.anai.2015.07.005
67. Ruëff, F. *et al.* Hauttests zur Diagnostik von allergischen Soforttyp-Reaktionen. *Pneumologie* **65**, 484–495 (2011).
68. Rosen, J. P. *et al.* Skin testing with natural foods in patients suspected of having food allergies: is it a necessity? *J. Allergy Clin. Immunol.* **93**, 1068–1070 (1994).
69. Rancé, F., Juchet, A., Brémont, F. & Dutau, G. Correlations between skin prick tests using commercial extracts and fresh foods, specific IgE, and food challenges. *Allergy* **52**, 1031–1035 (1997).
70. Klimek, L., Werfel, T., Vogelberg, C. & Jung, K. Authorised allergen products for intracutaneous testing may no longer be available in Germany: Allergy textbooks have to be rewritten. *Allergo J Int* **24**, 84–93 (2015).
71. McKay, S. P., Meslemani, D., Stachler, R. J. & Krouse, J. H. Intradermal positivity after negative prick testing for inhalants. *Otolaryngol Head Neck Surg* **135**, 232–235 (2006).
72. Wood, R. A., Phipatanakul, W., Hamilton, R. G. & Eggleston, P. A. A comparison of skin prick tests, intradermal skin tests, and RASTs in the diagnosis of cat allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **103**, 773–779 (1999).
73. Bernstein, I. L. *et al.* Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* **100**, S1-148 (2008).
74. Lockey, R. F., Benedict, L. M., Turkeltaub, P. C. & Bukantz, S. C. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J. Allergy Clin. Immunol.* **79**, 660–677 (1987).
75. Feeney, M., Marrs, T., Lack, G. & Du Toit, G. Oral Food Challenges: The Design must Reflect the Clinical Question. *Curr Allergy Asthma Rep* **15**, 51 (2015).
76. Mäkelä, M. *et al.* [Update on Current Care Guideline: Food allergy (children)]. *Duodecim* **131**, 694–695 (2015).
77. Morisset, M. *et al.* Anaphylaxis to pork kidney is related to IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *Allergy* **67**, 699–704 (2012).
78. Nowak-Węgrzyn, A. *et al.* Work Group report: oral food challenge testing. *J. Allergy Clin. Immunol.* **123**, S365-383 (2009).
79. Gonzalez-Quintela, A. *et al.* IgE antibodies to alpha-gal in the general adult population: relationship with tick bites, atopy, and cat ownership. *Clin. Exp. Allergy* **44**, 1061–1068 (2014).
80. Fischer, J. *et al.* Alpha-gal is a possible target of IgE-mediated reactivity to antivenom. *Allergy* n/a-n/a (2016). doi:10.1111/all.13073
81. Hamsten, C. *et al.* Red meat allergy in Sweden: Association with tick sensitization and B-negative blood groups. *J Allergy Clin Immunol* **132**, 1431–1434 (2013).
82. Ollert, M., Weissenbacher, S., Rakoski, J. & Ring, J. Allergen-specific IgE measured by a continuous random-access immunoanalyzer: interassay comparison and agreement with skin testing. *Clin. Chem.* **51**, 1241–1249 (2005).
83. Villalta, D. *et al.* High prevalence of sIgE to Galactose- α 1,3-galactose in rural pre-Alps area: a cross-sectional study. *Clin. Exp. Allergy* (2015). doi:10.1111/cea.12655
84. Fischer, J., Hebsaker, J., Caponetto, P., Platts-Mills, T. A. E. & Biedermann, T. Galactose-alpha-1,3-galactose sensitization is a prerequisite for pork-kidney allergy and cofactor-related mammalian meat anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **134**, 755–759.e1 (2014).
85. Kennedy, J. L. *et al.* Galactose- α 1,3-galactose and delayed anaphylaxis, angioedema, and urticaria in children. *Pediatrics* **131**, e1545-1552 (2013).
86. Jappe, U. [Update on meat allergy. α -Gal: a new epitope, a new entity?]. *Hautarzt* **63**, 299–306 (2012).
87. Ulrike Gebhardt. Spezial Biologie - Medizin - Hirnforschung 3/2013 - Spektrum der Wissenschaft, Über Nacht zum Vegetarier, S. 22ff. Available at: <http://www.spektrum.de/inhaltsverzeichnis/allergien-spektrum-der-wissenschaft-spezial-biologie-medizin-hirnforschung-3-2013/1169802>. (Accessed: 2nd December 2015)
88. Laura Höflinger. DER SPIEGEL 49/2012, Das letzte Abendmahl, S.138. Available at: <http://www.spiegel.de/spiegel/print/index-2012-49.html>. (Accessed: 2nd December 2015)

89. Michel, S., Scherer, K., Heijnen, I. a. F. M. & Bircher, A. J. Skin prick test and basophil reactivity to cetuximab in patients with IgE to alpha-gal and allergy to red meat. *Allergy* **69**, 403–405 (2014).
90. Anzahl der Veganer und Vegetarier in Deutschland. *VEBU - Vegetarierbund Deutschland* (2015). Available at: <https://vebu.de/themen/lifestyle/anzahl-der-vegetarierinnen>. (Accessed: 2nd December 2015)
91. Kubo, N. *et al.* Questionnaire surveys of cases of tick bite and Lyme borreliosis in hunters in Hokkaido with reference to detection of anti-Borrelia burgdorferi antibody. *Intern. Med.* **31**, 1163–1168 (1992).
92. Biedermann, T., Fischer, J. & Yazdi, A. Mammalian meat allergy: a diagnostic challenge. *Allergo J Int* **24**, 81–83 (2015).
93. Saleh, H., Embry, S., Nauli, A., Atyia, S. & Krishnaswamy, G. Anaphylactic Reactions to Oligosaccharides in Red Meat: a Syndrome in Evolution. *Clin Mol Allergy* **10**, 5 (2012).
94. Knight, A. K. *et al.* Skin prick test to egg white provides additional diagnostic utility to serum egg white-specific IgE antibody concentration in children. *J. Allergy Clin. Immunol.* **117**, 842–847 (2006).
95. Holford-Strevens, V., Warren, P., Wong, C. & Manfreda, J. Serum total immunoglobulin E levels in Canadian adults. *J. Allergy Clin. Immunol.* **73**, 516–522 (1984).
96. Apostolovic, D. *et al.* Immunoproteomics of processed beef proteins reveal novel galactose- α -1,3-galactose-containing allergens. *Allergy* **69**, 1308–1315 (2014).
97. Hilger, C. *et al.* Two galactose- α -1,3-galactose carrying peptidases from pork kidney mediate anaphylactogenic responses in delayed meat allergy. *Allergy* **71**, 711–719 (2016).
98. Takahashi, H., Chinuki, Y., Tanaka, A. & Morita, E. Laminin γ -1 and collagen α -1 (VI) chain are galactose- α -1,3-galactose-bound allergens in beef. *Allergy* **69**, 199–207 (2014).
99. Commins, S. P. *et al.* Galactose- α -1,3-Galactose-Specific IgE Is Associated with Anaphylaxis but Not Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **185**, 723–730 (2012).
100. Surovtsev, V. I., Kosarev, I. V., Mogutnova, V. A., Riazantsev, S. N. & Sukhomudrenko, A. G. [Conformation changes in the mechanism of cryoprecipitation of human monoclonal immunoglobulin M]. *Biokhimiia* **52**, 1965–1976 (1987).
101. Mueller, M. *et al.* Liquid Formulations for Stabilizing IgMs During Physical Stress and Long-Term Storage. *Pharm Res* **30**, 735–750 (2013).
102. Wang, W., Singh, S., Zeng, D. L., King, K. & Nema, S. Antibody structure, instability, and formulation. *J. Pharm. Sci.* **96**, 1–26 (2007).
103. McDevitt, D. G. The relevance of the anti-human globulin (Coombs) test and the complement-fixation test in the diagnosis of brucellosis. *J Hyg (Lond)* **68**, 173–187 (1970).
104. Contreras, M. & Mollison, P. L. ABC of transfusion. Testing before transfusion, and blood ordering policies. *BMJ* **299**, 1446–1449 (1989).

7. Anhänge

Anlage 1: Epidemiologischer Fragebogen Forstmitarbeiter



Universitäts-Hautklinik,
Liebermeisterstraße 25, 72076 Tübingen



Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg,
Nordbahnhofstraße 135, 70191 Stuttgart

ID-Nr.: _ _ _ _

Fragebogen-Nr. 0265

Fragebogen zu Umwelteinflüssen

Sehr geehrte/r Studienteilnehmer/in,

Ziel dieser Befragung ist es, Hinweise zu sammeln, welche Umwelteinflüsse an der Entstehung einer Reaktion des Immunsystems (Sensibilisierung) auf die Zuckerkette *Galaktose-alpha-1,3-galaktose (alpha-GAL)* beteiligt sein können.

Bitte beantworten Sie jede Frage so gut Sie können und lassen Sie keine Frage aus. Der Zeitaufwand beträgt in etwa 30 Minuten. Markieren Sie bitte die auf Sie zutreffende Antwort durch Ankreuzen des jeweiligen Kästchens. Falls mehrere Antwortmöglichkeiten einer Frage auf Sie zutreffen sollten, so kreuzen sie bitte stets ALLE auf Sie zutreffenden Antworten an.

I Aufenthalt in der Natur

Im Folgenden möchten wir erfahren, in welchem Umfang Sie sich im Freien aufhalten und welche Flächen Sie dabei aufsuchen.

Beruflicher Aufenthalt in der Natur

Denken Sie bitte an Ihre berufliche Tätigkeit.

Frage 1: Stellt die Arbeit in freier Natur einen wesentlichen Bestandteil Ihrer aktuellen beruflichen Tätigkeit dar?

JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 10)

Frage 2: Seit wie vielen Jahren üben Sie diese berufliche Tätigkeit aus?

Seit _____ Jahren

Frage 3: Sind Sie im Forstwesen tätig?

JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 5)

Frage 4: Welche Berufsbezeichnung trifft auf Sie zu?

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Waldarbeiter/in | <input type="checkbox"/> Forsthelfer/in |
| <input type="checkbox"/> Forstmaschinenführer/in | <input type="checkbox"/> Forstwirt/in |
| <input type="checkbox"/> Forstwirtschaftsmeister/in | <input type="checkbox"/> Forsttechniker/in |
| <input type="checkbox"/> Forstingenieur/in (FH) | <input type="checkbox"/> Forstwissenschaftler/in (Dipl.) |
| <input type="checkbox"/> andere: _____ | |

Frage 5: Sind Sie beruflich in der Landwirtschaft tätig?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 7)

Frage 6: Welche Bezeichnung beschreibt den Betrieb in dem Sie tätig sind am besten? (Mehrfachnennung möglich)

- Futterbaubetrieb
 Viehhaltungsbetrieb
 Marktfruchtbetrieb (z.B. Weizen, Kartoffeln, Zuckerrüben, Feldgemüse etc.)
 Sonderkulturbetrieb (Wein-, Hopfen-, Obstanbau, etc.)
 andere: _____

Frage 7: Sind Sie beruflich im Bereich Gartenbau / Landschaftspflege tätig?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 9)

Frage 8: Mit welchem Schwerpunkt sind Sie im Bereich Gartenbau / Landschaftspflege tätig?

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Baumschule | <input type="checkbox"/> Gemüse- / Obstbau |
| <input type="checkbox"/> Friedhofsgärtnerei | <input type="checkbox"/> Stauden-/ Zierpflanzenbau |
| <input type="checkbox"/> Garten- und Landschaftsbau | <input type="checkbox"/> Greenkeeping |
| <input type="checkbox"/> Verkaufsgärtner | <input type="checkbox"/> andere: _____ |

Frage 9: Sind Sie beruflich in einem anderen Bereich im Freien tätig?

- Natur- und Wildnispädagogik
- Natur- und Fremdenführer
- Berufssoldat
- Straßendienst
- andere: _____

Gestaltung von Freizeit in der Natur

Denken Sie nun an Ihre **Freizeit**.

Frage 10: Halten Sie sich in Ihrer Freizeit in freier Natur auf?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr.20)

Frage 11: Besitzen Sie einen Jagdschein?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr.16)

Frage 12: Seit wie vielen Jahren besitzen Sie einen Jagdschein?

Seit _____ Jahren

Frage 13: Waren Sie in den letzten zwölf Monaten mindestens vier Mal auf der Jagd?

- JA NEIN

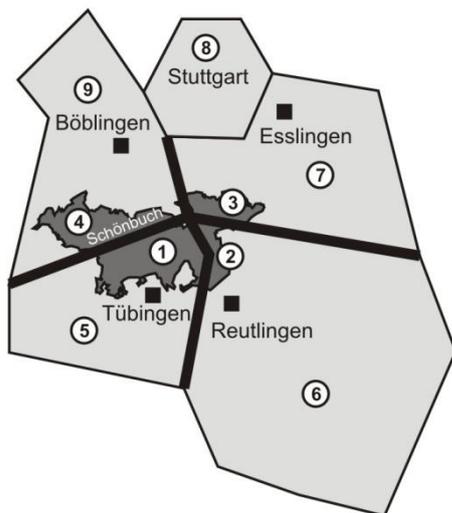
Frage 14: Auf welcher Grundlage sind Sie als Jäger in der Region tätig?

- vier
- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> eigenes Jagdrevier | <input type="checkbox"/> als Jagdpächter |
| <input type="checkbox"/> Begehungsrecht in einem Revier | <input type="checkbox"/> Begehungsschein in einem Re- |
| <input type="checkbox"/> Einladung zur Jagd | <input type="checkbox"/> andere: _____ |

Frage 15: Welche Region suchen Sie überwiegend zur Jagd auf?

Bitte lokalisieren Sie die Gebiete auf der Karte und tragen Sie die zugehörige Ziffer ein. Wenn Sie in mehreren Gebieten aktiv sind, entscheiden Sie sich bitte für das Gebiet, dass Sie in den letzten 12 Monaten am häufigsten aufgesucht haben.

Ziffer: _____



Erläuterung:

- 1 – Schönbuch Landkreis Tübingen
- 2 – Schönbuch Landkreis Reutlingen
- 3 – Schönbuch Landkreis Esslingen
- 4 – Schönbuch Landkreis Böblingen
- 5 – anderes Gebiet Landkreis Tübingen
- 6 – anderes Gebiet Landkreis Reutlingen

Frage 16: Welchen Freizeitaktivitäten gehen Sie in der Natur nach?

(Mehrfachnennung möglich)

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Wandern | <input type="checkbox"/> Spaziergehen |
| <input type="checkbox"/> Ausführen eines Hundes | <input type="checkbox"/> Radfahren/ Mountainbiking |
| <input type="checkbox"/> Grillen/ Picknick | <input type="checkbox"/> Camping |
| <input type="checkbox"/> Pilze/Beeren sammeln | <input type="checkbox"/> Imkerei |
| <input type="checkbox"/> Reiten | <input type="checkbox"/> Joggen |
| <input type="checkbox"/> Schwimmen in Naturgewässern | <input type="checkbox"/> Fotografie |
| <input type="checkbox"/> Naturbeobachtung | <input type="checkbox"/> Golfen |

- Kanu-/Bootfahren Ehrenamtliche Tätigkeit im Naturschutz
 Angeln andere: _____

Frage 17: Bewirtschaften Sie einen Garten oder halten Sie sich mindestens einmal im Monat von März bis Oktober in einem Garten länger als zwei Stunden auf?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 20)

Frage 18: Wo ist dieser Garten gelegen?

- in Siedlungsgebieten außerhalb von Siedlungsgebieten

Frage 19: Wie nutzen Sie diesen Garten?

(Mehrfachnennung möglich)

- Pflege einer Rasenfläche Anbau von Gemüse oder Obst
 Pflanzung von Ziergewächsen Züchten von Kleinvieh
 Freizeitgestaltung (z.B. Grillen) andere: _____

Zeitlicher Aufenthalt in der Natur

Überlegen Sie nun in welchem **zeitlichem Umfang** Sie sich in der Natur aufhalten. Beruflich bedingte und Freizeit bedingte Aufenthalte werden hier **als Einheit** betrachtet.

Zeitlicher Aufenthalt im Wald

Frage 20: An wie vielen Tagen im Monat suchen Sie durchschnittlich in den Monaten März bis Oktober ein Waldgebiet auf?

- an bis zu 30 Tagen (täglich)

- an bis zu 20 Tagen (werktätlich)
- an bis zu 10 Tagen (regelmäßig)
- an bis zu 5 Tagen (gelegentlich)
- nie

Frage 21: Wie viele Stunden verbringen Sie durchschnittlich an einem solchen Tag im Wald?

- 0 Stunden
- bis 1 Stunden
- bis 2 Stunden
- bis 4 Stunden
- bis 8 Stunden
- mehr als 8 Stunden

Frage 22: Kommt in dieser Zeit ihre Haut oder ihre Kleidung mit Vegetation (Gras, Büsche, Bäume) in Kontakt?

- JA
- NEIN

Zeitlicher Aufenthalt auf Wiesen-/Grasflächen

Frage 23: An wie vielen Tagen im Monat suchen Sie durchschnittlich in den Monaten März bis Oktober Wiesen-/Grasflächen auf?

- an bis zu 30 Tagen (täglich)
- an bis zu 20 Tagen (werktätlich)
- an bis zu 10 Tagen (regelmäßig)
- an bis zu 5 Tagen (gelegentlich)
- nie

Frage 24: Wie viele Stunden verbringen Sie durchschnittlich an einem solchen Tag auf Wiesen und Grasflächen?

- 0 Stunden
- bis 1 Stunden
- bis 2 Stunden

- bis 4 Stunden
- bis 8 Stunden
- mehr als 8 Stunden

Frage 25: Kommt in dieser Zeit ihre Haut oder ihre Kleidung mit Vegetation (Gras, Büsche, Bäume) in Kontakt?

- JA
- NEIN

Zeitlicher Aufenthalt im Garten

Frage 26: An wie vielen Tagen im Monat suchen Sie durchschnittlich einen Garten (Zier- oder Nutzgarten) während der Saison von März bis Oktober auf?

- an bis zu 30 Tagen (täglich)
- an bis zu 20 Tagen (werktätlich)
- an bis zu 10 Tagen (regelmäßig)
- an bis zu 5 Tagen (gelegentlich)
- nie

Frage 27: Wie viele Stunden verbringen Sie durchschnittlich an einem solchen Tag im Garten?

- 0 Stunden
- bis 1 Stunden
- bis 2 Stunden
- bis 4 Stunden
- bis 8 Stunden
- mehr als 8 Stunden

Frage 28: Kommt in dieser Zeit ihre Haut oder ihre Kleidung mit Vegetation (Gras, Büsche, Bäume) in Kontakt?

- JA
- NEIN

II. Erfahrungen mit Zecken

In diesem Abschnitt möchten wir etwas über Ihren bisherigen Kontakt mit Zecken erfahren.

Frage 29: Wie viele Zeckenstiche haben Sie geschätzt bislang in Ihrem GESAMTEN LEBEN gehabt?

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> keine Stiche (→ weiter mit Frage Nr. 37) | <input type="checkbox"/> 21-30 Stiche |
| <input type="checkbox"/> 1-5 Stiche | <input type="checkbox"/> 31-50 Stiche |
| <input type="checkbox"/> 6-10 Stiche | <input type="checkbox"/> 51-100 Stiche |
| <input type="checkbox"/> 11-20 Stiche | <input type="checkbox"/> >100 Stiche |

Frage 30: Wie viele Zeckenstiche haben Sie geschätzt bislang in den LETZTEN 10 JAHREN gehabt?

- | | |
|---------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> keine Stiche | <input type="checkbox"/> 21-30 Stiche |
| <input type="checkbox"/> 1-5 Stiche | <input type="checkbox"/> 31-50 Stiche |
| <input type="checkbox"/> 6-10 Stiche | <input type="checkbox"/> 51-100 Stiche |
| <input type="checkbox"/> 11-20 Stiche | <input type="checkbox"/> >100 Stiche |

Frage 31: Wurden Sie in den letzten zwölf MONATEN von einer Zecke gestochen?

- JA NEIN

Frage 32: Wie häufig wurden Sie in den letzten zwölf MONATEN gestochen?

_____ - mal

Frage 33: Sind zu irgendeinem Zeitpunkt eine oder mehrere der unten genannten Beschwerden örtlich an der Stichstelle einer Zecke oder am gesamten Körper aufgetreten?

(Mehrfachnennung möglich)

- Schwellung, Rötung, Juckreiz an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schmerzen, Taubheitsgefühl an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schwellung und Entzündung der Stichstelle mit $\varnothing > 25$ mm (= 2 Euro-Stück)
- Auftreten eines schwarzen Schorfs im Zentrum der Stichstelle (Nekrose)
- Auftreten eines roten Streifens, der von der Stichstelle wegführt (Lymphangitis)
- Schmerzhaftes Schwellen von Lymphknoten (z.B. in Achseln, Leiste)
- Mitreaktion einer früheren Stichstelle (z.B. Juckreiz oder Rötung)
- Auftreten eines Nesselausschlages (Quaddeln) am Körper nach Zeckenstich
- Auftreten einer Schwellung von Augenlidern u. Lippen nach Zeckenstich
- Auftreten einer Atemnot nach Zeckenstich
 - Auftreten einer Kreislaufschwäche nach Zeckenstich
 - Auftreten von Bewusstlosigkeit nach Zeckenstich
 - andere** Beschwerden: _____
 - keine** Beschwerden

Frage 34: In welcher Jahreszeit kam es gehäuft zu Stichen?

(Mehrfachnennung möglich)

- Januar – März
- April – Juni
- Juli – September
- Oktober – Dezember

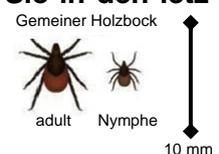
Frage 35: Wo haben Sie die Zecke vermutlich aufgesammelt?

(Mehrfachnennung möglich)

- in einem Waldgebiet
- auf einer Wiese/ Grünfläche
- in einem Garten
- andere: _____
- keine Angabe möglich

Frage 36: In welchem Entwicklungsstadium waren die Zecken, die Sie in den letzten zwölf MONATEN gestochen haben?

- Nymphen: _____ - mal
- ausgewachsene Zecken: _____ - mal
- keine Angabe möglich



Frage 37: Waren Sie zu irgendeinem Zeitpunkt an Borreliose erkrankt oder wurden Sie bei Verdacht auf Borreliose mit einem Antibiotikum behandelt?

JA NEIN

Frage 38: Waren Sie zu irgendeinem Zeitpunkt nach einem Zeckenstich an Früh-sommer-Meningoenzephalitis (FSME) erkrankt oder bestand Verdacht auf diese Erkrankung?

JA NEIN

Frage 39: Sind Sie gegen Früh-sommer-Meningoenzephalitis (FSME) geimpft?

JA NEIN

Frage 40: Tragen Sie in der Regel zeckenabweisende imprägnierte Kleidung in Waldgebieten?

JA NEIN

Frage 41: Tragen Sie vor dem Aufsuchen von Waldgebieten zeckenabwehrende Repellents (Anti-Zecken-Spray etc.) auf Haut oder Kleidung auf?

JA NEIN

III. Erfahrungen mit stechenden Insekten

In diesem Abschnitt möchten wir etwas über Ihren bisherigen Kontakt mit stechenden Insekten erfahren.

Frage 42: Wurden Sie in ihrem gesamten Leben schon einmal von einer Stechmücke gestochen?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 45)



Frage 43: Wurden Sie in den letzten zwölf Monaten von einer Stechmücke gestochen?

- JA NEIN

Frage 44: Sind nach dem Stich einer Stechmücke zu irgendeinem Zeitpunkt unten genannte Beschwerden örtlich an der Stichstelle oder am gesamten Körper aufgetreten? (Mehrfachnennung möglich)

- Schwellung, Rötung, Juckreiz an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schmerzen, Taubheitsgefühl an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schwellung und Entzündung der Stichstelle mit $\varnothing > 25$ mm (= 2 Euro-Stück)
- Auftreten eines schwarzen Schorfs im Zentrum der Stichstelle (Nekrose)
- Auftreten eines roten Streifens, der von der Stichstelle weggeführt (Lymphangitis)
- Schmerzhaftes Schwellen von Lymphknoten (z.B. in Achseln, Leiste)
- Mitreaktion einer früheren Stichstelle (z.B. Juckreiz oder Rötung)
- Auftreten eines Nesselausschlages (Quaddeln) am Körper nach Stich
- Auftreten einer Schwellung von Augenlidern u. Lippen nach Stich
- Auftreten einer Atemnot nach Stechmückenstich
 - Auftreten einer Kreislaufschwäche nach Stechmückenstich
 - Auftreten einer Bewusstlosigkeit nach Stechmückenstich
 - andere** Beschwerden: _____
 - keine** Beschwerden

Frage 45: Wurden Sie in ihrem gesamten Leben schon einmal von einer Bremse gestochen?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 48)



Frage 46: Wurden Sie in den letzten zwölf Monaten von einer Bremse gestochen?

- JA NEIN

Frage 47: Sind nach einem Bremsenstich zu irgendeinem Zeitpunkt unten genannte Beschwerden örtlich an der Stichstelle oder am gesamten Körper aufgetreten? (Mehrfachnennungsmöglich)

- Schwellung, Rötung, Juckreiz an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schmerzen, Taubheitsgefühl an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schwellung und Entzündung der Stichstelle mit $\varnothing > 25$ mm (= 2 Euro-Stück)
- Auftreten eines schwarzen Schorfs im Zentrum der Stichstelle (Nekrose)
- Auftreten eines roten Streifens, der von der Stichstelle wegführt (Lymphangitis)
- Schmerzhaftes Schwellen von Lymphknoten (z.B. in Achseln, Leiste)
- Mitreaktion einer früheren Stichstelle (z.B. Juckreiz oder Rötung)
- Auftreten eines Nesselausschlages (Quaddeln) am Körper nach Bremsenstich
- Auftreten einer Schwellung von Augenlidern u. Lippen nach Bremsenstich
- Auftreten einer Atemnot nach Bremsenstich
- Auftreten einer Kreislaufschwäche nach Bremsenstich
- Auftreten einer Bewusstlosigkeit nach Bremsenstich
- andere** Beschwerden: _____
- keine** Beschwerden

Frage 48: Wurden Sie in ihrem gesamten Leben schon einmal von einer Biene gestochen?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 51)

Frage 49: Wurden Sie in den letzten zwölf Monaten von einer Biene gestochen?

- JA NEIN

Frage 50: Sind nach einem Bienenstich zu irgendeinem Zeitpunkt unten genannte Beschwerden örtlich oder am gesamten Körper aufgetreten? (Mehrfachnennung möglich)

- Schwellung, Rötung, Juckreiz an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schmerzen, Taubheitsgefühl an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schwellung und Entzündung der Stichstelle mit $\varnothing > 25$ mm (= 2 Euro-Stück)
- Auftreten eines schwarzen Schorfs im Zentrum der Stichstelle (Nekrose)
- Auftreten eines roten Streifens, der von der Stichstelle wegführt (Lymphangitis)
- Schmerzhaftes Schwellen von Lymphknoten (z.B. in Achseln, Leiste)
- Mitreaktion einer früheren Stichstelle (z.B. Juckreiz oder Rötung)
- Auftreten eines Nesselausschlages (Quaddeln) am Körper nach Bienenstich
- Auftreten einer Schwellung von Augenlidern u. Lippen nach Bienenstich
- Auftreten einer Atemnot nach Bienenstich
 - Auftreten einer Kreislaufschwäche nach Bienenstich
 - Auftreten einer Bewusstlosigkeit nach Bienenstich
 - andere** Beschwerden: _____
 - keine** Beschwerden

Frage 51: Wurden Sie in ihrem gesamten Leben schon einmal von einer Wespe gestochen?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 54)

Frage 52: Wurden Sie in den letzten zwölf Monaten von einer Wespe gestochen?

- JA NEIN

Frage 53: Sind nach einem Wespenstich zu irgendeinem Zeitpunkt unten genannte Beschwerden örtlich an der Stichstelle oder am gesamten Körper aufgetreten? (Mehrfachnennung möglich)

- Schwellung, Rötung, Juckreiz an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schmerzen, Taubheitsgefühl an der Stichstelle in den ersten 3 Tagen
- Schwellung und Entzündung der Stichstelle mit $\varnothing > 25$ mm (= 2 Euro-Stück)
- Auftreten eines schwarzen Schorfs im Zentrum der Stichstelle (Nekrose)
- Auftreten eines roten Streifens, der von der Stichstelle wegführt (Lymphangitis)
- Schmerzhaftes Schwellen von Lymphknoten (z.B. in Achseln, Leiste)

- Mitreaktion einer früheren Stichstelle (z.B. Juckreiz oder Rötung)
- Auftreten eines Nesselausschlages (Quaddeln) am Körper nach Wespenstich
- Auftreten einer Schwellung von Augenlidern u. Lippen nach Wespenstich
- Auftreten einer Atemnot nach Wespenstich
 - Auftreten einer Kreislaufschwäche nach Wespenstich
 - Auftreten einer Bewusstlosigkeit nach Wespenstich
 - andere** Beschwerden: _____
 - keine** Beschwerden

IV. Erfahrungen mit Allergien

In diesem Abschnitt möchten wir erfahren, ob Sie möglicherweise unter Allergien leiden.

Erfahrungen mit Pollen und Tierhaaren

Frage 54: Treten gesundheitliche Beschwerden auf, wenn Sie sich im Frühjahr zur Zeit der Baumblüte (von März bis Mai) im Freien aufhalten? (Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Ekzeme (Hautausschläge)
- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Frage 55: Treten gesundheitliche Beschwerden auf, wenn Sie sich im Sommer zur Zeit der Gräserblüte (von Mai bis August) im Freien aufhalten? (Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Ekzeme (Hautausschläge)
- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Frage 56 a: Halten Sie ein Tier zu hause? (Mehrfachnennung möglich)

- Hund
- Vögel (z.B. Wellensittich)
- Katze
- Pferd
- Kaninchen, Hase
- Fische

- Meerschweinchen, Hamster Reptilien (z.B. Leguan)
 Mäuse, Ratten andere: _____

Frage 56 b: Bekommen Sie gesundheitliche Beschwerden, wenn Sie sich in der Nähe einer Katze aufhalten oder diese streicheln? (Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
 Husten oder Atemnot
 Ekzeme (Hautausschläge)
 Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Erfahrungen mit Nahrungsmitteln

Frage 57: Bekommen Sie gesundheitliche Beschwerden, wenn Sie einen rohen Apfel, Karotte, Sellerie, Kirschen oder Haselnüsse essen?

(Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
 Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
 Husten oder Atemnot
 Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
 Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
 Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit

Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Frage 58: Bekommen Sie gesundheitliche Beschwerden, wenn Sie Milch oder Milchprodukte (Sahne, Joghurt, Käse) zu sich nehmen?

(Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
 Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
 Husten oder Atemnot
 Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht

- Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
- Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit

- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Frage 59: Bekommen Sie gesundheitliche Beschwerden, wenn Sie Honig essen?
(Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 - Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
- Niesanfalle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
- Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
- Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit

- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Erfahrungen mit Fleisch

Frage 60: Haben Sie in den letzten zehn Jahren Rind-/Schweinefleisch oder Wild gegessen?

- JA
- NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 62)

Frage 61: Sind innerhalb der letzten zehn Jahren beim Verzehr von Rind-/Schweinefleisch oder Wild gesundheitliche Beschwerden aufgetreten? (Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 - Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums

- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
- Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
- Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit

- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Frage 62: Haben Sie in den letzten zwölf Monaten Niere (z.B. saure Nierle), Leber oder andere Innereien von Rind, Schwein oder Wild gegessen?

- JA NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 64)

Frage 63: Bekommen Sie gesundheitliche Beschwerden, wenn Sie Niere, Leber oder andere Innereien von Rind, Schwein oder Wild essen?

(Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 - Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
- Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
- Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit

- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

Frage 64: Haben Sie jemals auf den Verzehr gelatinehaltiger Produkte (Sülze, Gummibärchen, Pudding, Süßspeisen und Torten) mit gesundheitlichen Beschwerden reagiert?

- Juckreiz und Tränen der Augen
 - Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung

- Husten oder Atemnot
 - Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
 - Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
 - Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit
- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

V. Medizinische Behandlungen als Quelle der Sensibilisierung

In diesem Abschnitt möchten wir erfahren, ob möglicherweise medizinische Behandlungen Ursache einer Sensibilisierung auf alpha-GAL sein könnten.

Frage 65: Hatten Sie jemals einen schweren Unfall, schwere Verletzungen oder Komplikationen einer Operation mit hohem Blutverlust und waren Sie dabei in notfallmäßiger oder intensivmedizinischer Betreuung?

- JA NEIN nicht erinnerlich

Frage 66: Haben Sie jemals im Rahmen einer Schock-/ Intensivbehandlung oder Operation eine gelatinehaltige Infusion erhalten?

- JA NEIN nicht erinnerlich

Frage 67: Haben Sie jemals wegen eines dauerhaften Ohrgeräusches (Tinnitus) gelatinehaltige Infusionen erhalten?

- JA NEIN nicht erinnerlich

Frage 68: Haben Sie jemals eine Bluttransfusion erhalten?

- JA NEIN nicht erinnerlich

Frage 69: Falls JA: Traten jemals bei einer Infusion oder Operation allergische Reaktionen auf?

- Juckreiz und Tränen der Augen
 - Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
- Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
- Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit

- Nein – es kommt zu keiner allergischen Reaktion

Frage 70: Wurden Sie jemals von einer Giftschlange gebissen und erhielten darauf eine Therapie mit einem entsprechenden Gegengift?

- JA
- NEIN
- nicht rememberlich

Frage 71: Waren oder sind Sie von Krebserkrankungen (Tumorerkrankung) betroffen?

- JA
- NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 75)
- keine Antwort gewünscht

Frage 72: Von welcher Krebserkrankung waren/sind Sie betroffen?

(Mehrfachnennung möglich)

- Dick-/Enddarmkrebs
- Kopf-/ Halstumor (Plattenepithel-Ca)
- Lungenkrebs
- Brustkrebs
- Prostatakrebs
- andere: _____

Frage 73: Haben Sie jemals in Ihrem Leben im Rahmen einer Krebsbehandlung das Medikament Cetuximab (Handelsname: Erbitux®) erhalten?

- JA
- NEIN (→ weiter mit Frage Nr. 75)

nicht erinnerlich (→ weiter mit Frage Nr. 75)

Frage 74: Falls JA: Kam es unter der Medikamenteneinnahme zu unten aufgeführten Nebenwirkungen oder Unverträglichkeiten?

(Mehrfachnennung möglich)

- Juckreiz und Tränen der Augen
 - Brennen und Jucken des Hals-/Rachenraums
- Niesanfälle, Naselaufen und Behinderung der Nasenatmung
- Husten oder Atemnot
- Hautausschläge (Quaddeln) an Haut oder Gesicht
- Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen oder Durchfall
- Kreislaufprobleme oder Bewusstlosigkeit
- akneartige Hautveränderungen
- Hautabschuppung, trockene Haut
- andere : _____
- Nein – es kommt zu keinen gesundheitlichen Beschwerden

VI. Auslandsaufenthalte & Lebenssituation

In diesem Abschnitt möchten wir u.a. erfahren, ob möglicherweise Auslandsaufenthalte Ursache einer Sensibilisierung auf alpha-GAL sein könnten.

Frage 75: Haben Sie sich jemals für mindestens 3 Monate in einem anderen Land als Deutschland aufgehalten?

- JA NEIN

Falls, JA: wo haben Sie sich aufgehalten?

Südstaaten der USA (Alabama, Arkansas, Georgia, Kentucky, Louisiana, Mississippi, North Carolina, South Carolina, Tennessee, Virginia, West Virginia)

- Westafrika, Zentralafrika, Ostafrika oder im südliche Afrika
- Australien
- Andere Region/ Land: _____

Frage 76: Über welches Nettojahreseinkommen können Sie als Haushalt verfügen?

- bis 10.000 €
- bis 20.000 €
- bis 40.000 €
- bis 60.000 €
- bis 80.000 €
- > 80.000 €
- keine Antwort gewünscht

Geschafft!

**Wir bedanken uns herzlich für die Bearbeitung des Fragebogens
und für Ihre Unterstützung!**

Ihr Forscherteam

8. Veröffentlichungen

Fischer J, Hebsaker J, Caponetto P, Platts-Mills TA, Biedermann T: *Galactose-alpha-1,3-galactose sensitization is a prerequisite for pork-kidney allergy and cofactor-related mammalian meat anaphylaxis*. J Allergy Clin Immunol. 2014 Sep; 134(3):755-759.

Cabezas-Cruz A, de la Fuente J, Fischer J, Hebsaker J, Lupberger E, Blumenstock G, Aichinger E, Yazdi AS, Enkel S, Oehme R, Biedermann T.: *Prevalence of type I sensitization to alpha-gal in forest service employees and hunters: Is the blood type an overlooked risk factor in epidemiological studies of the α -Gal syndrome?* Allergy. 2017 Dec;72(12):2044-2047.

Fischer J, Lupberger E, Hebsaker J, Blumenstock G, Aichinger E, Yazdi AS, Reick D, Oehme R, Biedermann T.: *Prevalence of type I sensitization to alpha-gal in forest service employees and hunters*. Allergy. 2017 Oct;72(10):1540-1547.

Fischer J, Huynh H, Hebsaker J, Forchhammer S, Yazdi A (2019): *Prevalence and impact of type I sensitization to alpha-gal in patients consulting an allergy unit*. International Archives of Allergology and Immunology, zur Publikation angenommen.

9. Erklärung zum Eigenanteil

Die Vorbereitungen zur Rekrutierung der Probandengruppe der Forstmitarbeiter sowie die Entwicklung der Fragebögen erfolgte in gemeinsamer Arbeit und zu gleichen Teilen mit Dr. med. Elena Fischer (geb. Lupberger), Die Rekrutierung selbst erfolgte durch die jeweiligen Gesundheitsämter der Kreisbezirke Reutlingen, Tübingen, Böblingen, Esslingen und Stuttgart.

Die Blutentnahmen erfolgten durch mich, Dr. med. Lupberger und Dr. med. Fischer sowie durch die ärztlichen Mitarbeiter des Landesgesundheitsamtes Stuttgart. Die Aufbereitung und Kategorisierung der abgenommenen Blutproben erfolgte durch mich, die weitere Auswertung (Gesamt-IgE und α -Gal-IgE mittels Fluoreszenz-Enzym-Immuno-Assay) erfolgte durch die labortechnischen Mitarbeiterinnen Cornelia Grimmel, Uta Hamacher und Bettina Keller im allergologischen Labor der Universitäts-Hautklinik Tübingen.

Die Hämagglutinationstestung wurde vollständig von mir durchgeführt und ausgewertet.

Die Hauttestungen (Prick-zu-Prick und Intrakutantest mit Gelatine) sowie der orale Provokationstest wurden im Rahmen der ambulanten klinischen Versorgung durch den Studienarzt und die in der Allergologischen Ambulanz tätigen Fachangestellten durchgeführt. Die Auswertung aller Ergebnisse erfolgte durch mich.

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt den labortechnischen Assistentinnen der Universitäts-Hautklinik-Tübingen Cornelia Grimmel, Uta Hamacher und Bettina Keller für die freundliche Einarbeitung und fachkundige Begleitung im allergologischen Labor. Außerdem danke ich Dr. med. Jörg Fischer für die umfassende und gute Betreuung. Ebenso danke ich meiner Kollegin Dr. med. Elena Lupberger für die gute gemeinsame Zusammenarbeit.

Für das stetige Vertrauen in mich und die beständige Unterstützung danke ich von Herzen meinem Mann und meinen Eltern. Johanna Hebsaker, geboren am 13.07.1987 in Reutlingen

11. Lebenslauf

Schulische Ausbildung

- 1994-1998 Grundschule, Hofschule Reutlingen-Altenburg
- 1998–2007 Gymnasium, Bildungszentrum Reutlingen Nord,
allgemeine Hochschulreife

Akademische Laufbahn

- 2008-2010 Studium der Humanmedizin am Universitätsklinikum Hamburg Ep-
pendorf, Erstes Staatsexamen am 17.09.2010
- 2010-2015 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübin-
gen, Zweites Staatsexamen am 10.04.2014, Drittes Staatsexamen
am 08.05.2015

Berufserfahrung

- 2015-2016 Assistenzärztin für Gefäßchirurgie, Klinikum am Steinenberg
Reutlingen
- seit 2017 Assistenzärztin für Innere Medizin,
Ermstaklinik Bad Urach