Aus der Klinik für Dermatologie und Allergologie

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Michael Hertl

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg in Zusammenarbeit
mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

Detektion einer Hymenopterengiftallergie durch eine elektronische Nase (eNose)

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Maria Walburga Richter

aus Neumarkt i.d.OPf.
Marburg, 2025

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 12. September 2025
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan:	Herr Prof. Dr. Michael Hertl
Referent:	Herr Prof. Dr. Wolfgang Pfützner
Korreferent:	Herr Prof. Dr. Andreas Rembert Koczulla

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS IV
TABELLENVERZEICHNIS VI
ZUSAMMENFASSUNG VII
SUMMARY IX
1. EINLEITUNG 1
1.1. Geruch von Krankheiten 1
1.2. Hymenopterengiftallergie 1
1.2.1. Epidemiologie 2
1.2.2. Symptome und Anaphylaxie 2
1.2.2.1. Lokalreaktion 2
1.2.2.2. Systemische Reaktion 3
1.2.3. Diagnostik 6
1.2.3.1. Anamnese 6
1.2.3.2. Hauttests 6
1.2.3.3. Serologie 7
1.2.3.4. Kreuzreaktionen 10
1.2.4. Therapie 11
1.2.4.1. Akuttherapie 11
1.2.4.1.1. Therapie der Lokalreaktion 12
1.2.4.1.2. Therapie der systemischen Reaktion 12
1.2.4.2. Allergenspezifische Immuntherapie – AIT 12
1.2.4.2.1. Indikationen 13
1.2.4.2.2. Kontraindikationen 13
1.2.4.2.3. Durchführung 14
1.2.4.2.4. Erfolgsparameter 16
1.2.4.2.4.1. Stichprovokation 16
1.2.4.2.4.2. Hauttestung und allergenspezifische IgE-Antikörper 16

1.3. Elektronische Nase – eNose 17
1.3.1. Volatile organische Substanzen – VOCs 17
1.3.2. Funktionsweise einer eNose 18
1.3.3. Bisherige klinische Anwendungen der eNose 20
2. MATERIAL 24
2.1. Probandenrekrutierung 24
2.2. Patientenmaterial 25
2.3. Geräte 25
2.4. Verbrauchsmaterial 25
2.5. Software 26
3. METHODEN 27
3.1. Patientenaufnahme 27
3.2. Anamnese 27
3.3. Hauttests 27
3.4. Serologie 28
3.5. Lungenfunktionstestung 29
3.6. Atemluft-Messung mit der eNose 29
3.6.1. Vorbereitungen und Versuchsaufbau 29
3.6.2. Messablauf 31
3.7. Statistik 32
4. ERGEBNISSE 35
4.1. Klinische Merkmale der Studienpopulation 35
4.1.1. Patientenkollektive 35
4.1.2. Anamnese 36
4.1.3. Spirometrie 37
4.1.4. Pricktest 37
4.1.5. Serologie 38
4.2. Auswertung der eNose-Messergebnisse 41
4.2.1. Vergleich der gesunden Kontrollgruppe mit dem Gesamtkollektiv an Insektengiftallergikern 42
4.2.2. Subgruppenanalytik 45
4.2.2.1. Vergleich der gesunden Kontrollgruppe mit der Subkohorte IgE-positiver Insektengiftallergiker 45
4.2.2.2. CAP-Klassen 48

4.2.2.3. Vergleich IgE-positiver Bienen- und Wespengiftallergiker 51
4.2.2.4. Geschlecht 52
5. DISKUSSION 53
5.1. Bewertung der Aussagekraft der Messergebnisse 54
5.1.1. Breathprints 55
5.1.2. Immunologischer Status 56
5.1.3. Gegenüberstellung der eNose-Diagnostik zur etablierten Allergiediagnostik 60
5.2. Limitationen 62
5.2.1. Studienpopulation 62
5.2.2. Mögliche Störfaktoren bei der eNose-Messung 64
5.3. Ergebnisse der Partnerstudie „Allergische Rhinokonjunktivitis“ 68
5.4. Ausblick und weitergehende Fragestellung 70
LITERATURVERZEICHNIS XI
VERZEICHNIS AKADEMISCHER LEHRER XXV
DANKSAGUNG XXVI

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAT	Alpha-1-Antitrypsinmangel
Abb.	Abbildung
ACE	engl.: *angiotensin converting enzyme*, Angiotensinkonversions-enzym
ad	engl.: *Alzheimer's disease*, Alzheimererkrankung
AIT	allergenspezifische Immuntherapie, engl.: *specific immunotherapy (SIT)*
AR	allergische Rhinokonjunktivitis
bspw.	beispielsweise
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CAP	engl.: *carrier polymer system*, Träger-Polymer-System
CCD	engl.: *cross reactive carbohydrate determinants,* kreuzreaktive Kohlenhydratseitenketten
cm	Zentimeter
CO_2	Kohlenstoffdioxid
COPD	engl.: *chronic obstructive pulmonary disease,* chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CT	Computertomografie
CVV	engl.: *cross validation value*, Kreuzvalidierungswert
d. h.	das heißt
et al.	lat.: *et alii,* und andere
eNose	engl.: *electronic nose*, elektronische Nase
evtl.	eventuell
FEV_1	forciertes exspiratorisches Volumen, exspiratorische Einsekundenkapazität
G	Gauge
ggf.	gegebenenfalls
HC	engl.: *healthy controls,* gesunde Kontrollprobanden

HG	Hymenopterengiftallergiker
i. d. R.	in der Regel
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
IMS	Ionenmobilitätsspektrometrie
insb.	insbesondere
k	kilo
kU	engl.: *kilounits*, 10^3 Einheiten
l	Liter
LAN	engl.: *local area network*, lokales Netzwerk
LD	engl.: *linear discriminant analysis,* lineare Diskriminanzanalyse
LLR	engl.: *large local reaction*, übersteigerte Lokalreaktion
m	männlich
Max.	Maximum
MD	engl.: *Mahalanobis distance*, Mahalanobiskonstante
µg	Mikrogramm, 10^{-6} Gramm
mg	Milligramm, 10^{-3} Gramm
MHC	engl.: *major histocompatibility complex,* Haupthistokompatibilitäts-komplex
Min.	Minimum
min.	Minute
mind.	mindestens
ml	Milliliter, 10^{-3} Liter
mm	Millimeter, 10^{-3} Meter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MS	Massenspektrometrie
n	engl.: *number,* Anzahl
NaCl	Natrium-Chlorid, Kochsalz
NPV	engl.: *negative predictive value,* negativer prädiktiver Wert
NSAR	nicht-steroidale Antirheumatika
o. g.	oben genannt
OSAS	obstruktives Schlafapnoesyndrom
p	p-Wert, Irrtumswahrscheinlichkeit

Pa	Pascal
PCA	engl.: *principal component analysis,* Hauptkomponentenanalyse
pd	engl.: *Parkinson's disease*, Parkinsonerkrankung
ppm	engl.: *parts per million,* Millionstel, 10^{-6}
ppt	engl.: *parts per trillion*, Trillionstel, 10^{-12}
PPV	engl.: *positive predictive value,* positiver prädiktiver Wert
R	Widerstand
RAST	Radio-Allergo-Sorbent-Test
s	Sekunde
sog.	sogenannt
t	Zeit
Tab.	Tabelle
U	engl.: *unit,* Einheit
u. a.	unter anderem
UKGM	Universitätsklinikum Gießen und Marburg
v. a.	vor allem
vgl.	vergleiche
VOC	engl.: *volatile organic compound,* flüchtige organische Verbindung
vs.	versus
w	weiblich
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

In der Arbeit genannte englische Bezeichnungen (z. B. Eigennamen) sind *kursiv* dargestellt.

Das in dieser Arbeit gewählte generische Maskulinum bezieht sich zugleich auf die männliche, die weibliche und andere Geschlechteridentitäten. Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Sämtliche Formulierungen gelten gleichermaßen für alle Geschlechteridentitäten.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Cyranose® 320 17

Abb. 2: Funktionsweise der Cyranose® 320 19

Abb. 3: Entstehung eines *breathprints* basierend auf den Widerstandsänderungen der Einzelsensoren 20

Abb. 4: *breathprint* von Patienten mit Lungenkrebs über sechs Monate 21

Abb. 5: Lineare Diskriminanzanalyse der Atemanalysen mittels eNose von COPD-Patienten mit und ohne Alpha-1-Antitrypsinmangel verglichen mit gesunden Kontrollprobanden 22

Abb. 6: Lineare Diskriminanzanalyse zur eNose-Untersuchung von Patienten mit zwei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden 23

Abb. 7: Versuchsaufbau 31

Abb. 8: Veranschaulichung der Hauptkomponentenanalyse 33

Abb. 9: Single-Boxplot der Spirometrie der Hymenopterengiftallergiker 37

Abb. 10: Gesamt-IgE der Hymenopterengiftallergiker im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden 39

Abb. 11: Spezifisches IgE gegen Bienen- und Wespengift in der Kohorte der Hymenopterengiftallergiker 41

Abb. 12: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse der Hymenopterengiftallergiker verglichen mit den gesunden Kontrollprobanden 43

Abb. 13: *breathprint*: Vergleich der gesunden Kontrollprobanden mit der Hymenopterengiftallergikerkohorte 45

Abb. 14: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse der Hymenopterengiftallergiker mit spezifischem IgE verglichen mit den gesunden Kontrollprobanden ohne spezifisches IgE 47

Abb. 15: Prozentuale Verteilung der gesamten Allergikerkohorte anhand der CAP-Klassifikation spezifischer IgE-Antikörper für Bienen- und/oder Wespengift 49

Abb. 16: Prozentuale Verteilung der Patienten anhand der CAP-Klassifikation Bienengift-spezifischer IgE-Antikörper 49

Abb. 17: Prozentuale Verteilung der Patienten anhand der CAP-Klassifikation Wespengift-spezifischer IgE-Antikörper 50

Abb. 18: Lineare Diskriminanzanalyse anhand des IgE-Status (mono- und doppelsensibilisiert) von Bienen- und Wespengiftallergikern 52

Abb. 19: Kapnografie eines Atemzugs zur Identifizierung und Sammlung der alveolären Ausatemluft 67

Abb. 20: *breathprints*: Vergleich der beiden Allergikerkohorten mit der gesunden Kontrollgruppe 69

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Einteilung der anaphylaktischen Reaktion nach Ring und Messmer 1977 ____ 4

Tab. 2: Risikofaktoren für schwere Anaphylaxie ____ 5

Tab. 3: Einzelallergene des Bienen- und Wespengifts ____ 8

Tab. 4: CAP-Klassifikation zur Einteilung der spezifischen IgE-Werte ____ 9

Tab. 5: Gegenüberstellung der Hymenopterengiftallergiker zu den gesunden Kontrollprobanden ____ 35

Tab. 6: Schweregrad der Stichreaktion der Hymenopterengiftallergiker nach Ring und Messmer ____ 36

Tab. 7: Auswertung: Gesunde Kontrollprobanden – Hymenopterengift-allergiker ____ 44

Tab. 8: Aufteilung der Gruppen nach Vorhandensein von insektengift-spezifischem IgE ____ 46

Tab. 9: Auswertung: Gesunde Kontrollprobanden mit negativem spezifischen IgE – Hymenopterengiftallergiker mit positivem spezifischen IgE ____ 48

Tab. 10: Mahalanobiskonstanten des Vergleichs der Hymenopterengift-allergiker nach den zugeteilten CAP-Klassen entsprechend der Konzentration allergenspezifischer IgE-Antikörper ____ 50

Tab. 11: Mahalanobiskonstanten des Vergleichs der Hymenopterengift-allergiker nach spezifischem IgE gegen Bienengift, Wespengift und Doppelsensibilisierung ____ 51

Tab. 12: Sensitivität und Spezifität der beiden Partnerstudien im Vergleich ____ 70

ZUSAMMENFASSUNG

Insektenstiche durch Bienen oder Wespen, die beide der Gattung der Hymenoptera (Hautflügler) zugeordnet werden, sind ein häufiger Auslöser allergischer Reaktionen. Als Soforttypallergie können die Symptome vielfältig sein – in der maximalen Ausprägungsform auch in einen anaphylaktischen Schock münden. Daher ist es wichtig, Insektengiftallergien zuverlässig und sicher diagnostizieren zu können. Hierdurch werden für die betroffenen Patienten die Grundlage einer Versorgung mit einem Notfallset für den Fall zukünftiger Stichreaktionen und auch die Möglichkeit einer kausalen Therapie durch Erzielung einer Allergentoleranz mittels allergenspezifischer Immuntherapie (AIT) geschaffen.

In der vorliegenden Pilotstudie wurde durch ein elektronisches Messinstrument, die sog. elektronische Nase (eNose), die Ausatemluft von Bienen- und Wespengiftallergikern (HG) untersucht. Ziel war es, herauszufinden, ob die Proben sich von denen gesunder Kontrollprobanden (HC) unterscheiden lassen. Die eNose registriert dabei kleine Partikel der Ausatemluft, sog. *volatile organic compounds* (VOCs). Technische Grundlage des Geräts ist die Reaktion der Partikel mit Polymersensoren. Die hierdurch erzeugte chemische Veränderung wird in ein elektrisches Signal in Form einer Widerstandsänderung umgewandelt, die wiederum gemessen werden kann. Dadurch entstehen klassische Muster, welche mittels multivarianter Analysemethoden bewertet wurden. Als signifikant galt eine Mahalanobiskonstante (MD) ab 1,96.

An der Studie nahmen 16 Bienen- und/oder Wespengiftallergiker teil. Durch eine positive Anamnese bezüglich einer allergischen Reaktion sowie einer positiven Hauttestung und/oder dem Nachweis von spezifischem Immunglobulin E (IgE) für Insektengifte wurden diese vorab diagnostiziert. Als gesunde Kontrollgruppe fungierten Probanden, bei denen die Anamnese für eine allergische Reaktion auf Insektenstiche negativ war. Ausschlusskriterien in beiden Kohorten waren v. a. das Vorliegen pulmonaler Vorerkrankungen, Zigarettenrauchen oder eine positive Anamnese für Atemwegsallergien.

Durch die eNose gelang keine signifikante Unterscheidung der Ausatemluft von Insektengiftallergikern und gesunden Probanden. Es zeichnete sich lediglich eine Tendenz zur Unterscheidung ab (MD 1,141; Sensitivität 81 %). In einer Analyse unter Berücksichtigung des spezifischen IgE gegen Bienen- oder Wespengift zeigte sich der Unterschied etwas deutlicher, war aber weiterhin nicht signifikant (MD 1,361; Sensitivität 80 %).

Es ergab sich also lediglich eine nicht signifikante Tendenz zur Detektion eines Unterschieds der Ausatemluft von Insektengiftallergikern und nicht allergischen Probanden mittels eNose.

Die eNose ist somit im klinischen Alltag zur Diagnostik einer Hymenopterengiftallergie nicht geeignet. Als limitierende Faktoren lassen sich v. a. eine hohe Anfälligkeit für Störeinflüsse, insb. ungewollte Geruchspartikel, sowie die besondere Herausforderung in der klinischen Anwendbarkeit benennen. Aktuell dient die eNose daher wissenschaftlichen Zwecken und kann für weitere Fragestellungen verwendet werden.

In folgenden, umfangreicheren Studien sollten weitere Parameter, die Einfluss auf das Messergebnis nehmen können, untersucht werden.

SUMMARY

Insect stings by bees or wasps, both belonging to the species of hymenoptera, are one of the most common causes for immediate type allergic reactions. Symptoms vary, but in the worst case, they can lead to an anaphylactic shock. Thus, it is important to utilize reliable tests for diagnosing insect venom allergies. Affected patients are provided with an emergency kit, as well as access to a causal allergy therapy known as allergen specific immunotherapy (AIT). Through this treatment, allergic patients receive repeated injections of initially increasing doses of allergen, leading to allergen tolerance. In case of insect venom allergy this therapy may be lifesaving.

In this pilot study an electronic device, the electronic nose, also called eNose was used to examine the exhaled breath from allergic subjects. The aim was to find out whether it is possible to differentiate them from healthy controls. The eNose recognizes small particles from the exhaled breath called volatile organic compounds (VOCs). The process is based on a reaction of the particles with polymer sensors inside the eNose. The elicited chemical reaction is translated into an electrical signal, which is measured by a change in electrical resistance. Through that classic patterns are created, which are valued by mathematical analyses. As a significant result a Mahalanobis distance (MD) from 1,96 was predefined.

In this study 16 subjects with history of insect venom allergy participated. They were diagnosed by a positive history of an allergic sting reaction and a positive skin test reaction or the proof of allergen-specific IgE antibodies. Healthy controls showed a negative history for insect venom allergy. Exclusion criteria were especially the presence of chronic pulmonary diseases, smoking or positive history for respiratory allergies.

There was no significant discrimination of the two groups by the eNose. Only a tendency for distinguishing both cohorts was measured (MD 1,141; sensitivity 81 %). In a further analysis considering the specific IgE levels for bee and/or

wasp venom the difference became more distinct, but was still not significant (MD 1,361; sensitivity 80 %).

Thus, only a non-significant difference between the exhalated breath of insect venom allergy individuals and non-allergic controls could be detected by eNose.

The eNose is not a practical tool for diagnosing insect venom allergies in clinical practice. However, it might serve scientific purposes. Limiting factors are especially the high sensitiveness for cofounders like other inadvertent olfactory particles but also the application in clinical practice would be challenging.

Further comprehensive studies are recommended to investigate parameters which might influence the eNose results.

1. EINLEITUNG

1.1. Geruch von Krankheiten

Sind Krankheiten (er)riechbar? Mit dieser Frage beschäftigen sich Mediziner bereits seit der Antike. Schon Hippokrates nutzte ca. 400 vor Christus den Atem seiner Patienten, um dabei z. B. den süßlich-fruchtigen Geruch von Diabetes mellitus festzustellen. Darüber hinaus gibt es zahlreiche weitere Beispiele, die auch in der heutigen Diagnostik von Krankheiten noch eine Rolle spielen. Der klassische *Foetor hepaticus* als Hinweis auf eine schwere Lebererkrankung bzw. auf das *Coma hepaticum* ist eines der berühmtesten davon. Über portokavale Anastomosen gelangen dabei Stoffwechselprodukte in die Lunge und werden abgeatmet. Ein weiteres Beispiel ist der typische Azetongeruch des Atems im Rahmen einer hyperglykämischen Krise oder *Foetor uraemicus* bei terminaler Niereninsuffizienz (Herold, 2016).

Die genannten Gerüche sind einfache, aber wichtige Wegweiser im Hinblick auf die Erkennung von systemischen Krankheiten. Sie sind durch den Arzt ohne weitere apparative diagnostische Mittel nicht-invasiv aus der Atemluft abzuleiten.

Die Ausatemluft beinhaltet jedoch noch viele weitere Informationen, wie etwa Geruchspartikel, die in so niedrigen Konzentrationen vorkommen können, dass die menschliche Nase an ihre Grenzen stößt. Um diese zu detektieren, werden künstliche elektronische Nasen, sog. eNoses, benötigt. Durch Imitation des menschlichen Riechens sind sie in der Lage, aus der Ausatemluft von Patienten Systemkrankheiten zu erkennen.

Diese Arbeit geht der Frage nach, ob eine eNose auch im Rahmen der Allergiediagnostik von Insektengiftallergien einsetzbar ist.

1.2. Hymenopterengiftallergie

Allergische Reaktionen nach Insektenstichen spielen im klinischen Alltag eine große Rolle. Vor allem aufgrund der möglichen systemischen Sofortreaktion, die unter Umständen tödlich verlaufen kann, ist die Erkrankung insb. notfall- bzw. intensivmedizinisch relevant.

Symptome treten nach Insektenstichen durch Hymenoptera (Hautflügler) auf, von denen in Mitteleuropa am häufigsten Bienen (insb. die Honigbiene, *Apis mellifera*) sowie Wespen (insb. Faltenwespen, *Vespula vulgaris*, *Vespula germanica*) vertreten sind. Seltener dagegen sind andere Hymenoptera wie Hummeln (*Bombus spp.*) oder Hornissen (*Vespa crabro*) für allergische Stichreaktionen verantwortlich (Przybilla et al., 2011).

1.2.1. Epidemiologie

International sind ca. 40 % der Bevölkerung auf Insektengifte sensibilisiert, wobei nur ungefähr 1,5 – 3 % der Bevölkerung tatsächlich von systemischen Folgereaktionen berichten (Golden et al., 1989; Ruëff et al., 2023; Schäfer, 2009; Schäfer & Przybilla, 1996). Die Prävalenz der Hymenopterengiftallergie ist dabei u. a. von der Exposition abhängig. In ländlichen Regionen ist sie bspw. höher als in Städten (Golden, 2015; Jennings et al., 2010). Zudem treten allergische Reaktionen auf Bienengift aufgrund der erhöhten Frequenz an Stichen gehäuft unter Imkern auf (Müller, 2005). Außerdem besteht ein unterschiedliches Sensibilisierungsspektrum im ländlichen im Vergleich zum städtischen Raum, wobei in ländlichen Regionen eher die Bienengiftallergie und in Städten eher die Wespengiftallergie vorherrschend ist. Laut Statistischem Bundesamt versterben in Deutschland rund 20 Einwohner pro Jahr infolge eines Stichs durch Bienen, Wespen oder Hornissen (Schäfer, 2009). Wahrscheinlich wird jedoch die tatsächliche Mortalität aufgrund nicht erkannter Anaphylaxie unterschätzt (Schwartz et al., 1986).

1.2.2. Symptome und Anaphylaxie

Reaktionen nach einem Hymenopterenstich lassen sich klassifizieren in eine normale Lokalreaktion, eine übersteigerte Lokalreaktion, eine anaphylaktische Reaktion, eine systemische toxische Reaktion und eine ungewöhnliche Stichreaktion (Bilò et al., 2005; Mueller, 2009).

1.2.2.1. Lokalreaktion

An der Einstichstelle kommt es durch das injizierte Gift zu einer örtlichen Reaktion mit schmerzhafter Rötung und Schwellung, die üblicherweise weniger als

10 cm im Durchmesser beträgt und innerhalb eines Tages rückläufig ist (normale Lokalreaktion).

Jedoch kann auch eine übersteigerte Lokalreaktion (*large local reaction,* LLR) mit über 24 Stunden persistierender Schwellung, einer Größe von mehr als 10 cm im Durchmesser und möglicherweise folgender nichtinfektiöser Lymphangitis sowie milden Allgemeinbeschwerden auftreten. Der zugrundeliegende Mechanismus der LLR ist noch nicht vollständig bekannt. Die Pathogenese scheint nicht zwangsläufig ein Immunglobulin-E-(IgE)-vermittelter Prozess zu sein, sondern kann auch auf einem zellvermittelten Geschehen bzw. einer Kombination aus beidem beruhen. Der Freisetzung von Entzündungsmediatoren, wie Histamin und Leukotriene, muss keine Soforttyp-Sensibilisierung gegen das Insektengift vorausgehen, vielmehr kommt es zu Sekretion proinflammatorischer Zytokine, was zu einer Entzündungssymptomatik im Gewebe führt (Hof et al., 2014; Pesek & Lockey, 2013; Przybilla et al., 2011; Schiener et al., 2017).

1.2.2.2. Systemische Reaktion

Treten Symptome auf, die sich fernab von der Einstichstelle äußern, wird von einer systemischen Reaktion gesprochen. Die systemische Soforttypreaktion (Anaphylaxie) ist dabei die bedeutendste Form der Allgemeinreaktion. In Tab. 1 sind die unterschiedlichen Schweregrade einer Anaphylaxie aufgeführt. Maßgebend ist jeweils das schwerste Symptom, wobei kein bestimmtes Symptom zwingend vorliegen muss (Przybilla et al., 2011).

Tab. 1: Einteilung der anaphylaktischen Reaktion nach Ring und Messmer 1977 (modifiziert nach Przybilla et al., 2011)

Grad	**Haut**	**Abdomen**	**Respirations-trakt**	**Herz-Kreislauf-System**
I	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	-	-	-
II	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	Nausea Krämpfe	Rhinorrhoe Heiserkeit Dyspnoe	Tachykardie *(Anstieg ≥ 20/min.)* Hypotonie *(Abfall ≥ 20 mmHg systolisch)* Arrhythmie
III	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	Erbrechen Defäkation	Larynxödem Bronchospas-mus Zyanose	Schock
IV	Juckreiz Flush Urtikaria Angioödem	Erbrechen Defäkation	Atemstillstand	Kreislaufstillstand

Es handelt sich um eine IgE-vermittelte Immunreaktion. Hierfür muss zunächst eine Sensibilisierung gegen das Insektengiftallergen stattgefunden haben. Dieses wird hierbei in eine Antigen-präsentierende Zelle aufgenommen. Über MHC-Moleküle (engl.: *major histocompatibility complex,* Haupthistokompatibilitätskomplex) auf der Zellmembran werden Teile des Allergens als Antigene präsentiert. Dadurch kommt es zu einer Bindung von antigen-spezifischen T-Helferzellen, welche so aktiviert werden und Zytokine ausschütten. Die Zytokine wiederum aktivieren B-Zellen, die zu Plasmazellen reifen und allergenspezifische IgE-Antikörper produzieren. Die IgE-Antikörper können nun an die Oberfläche von Mastzellen binden. Bei erneutem Allergenkontakt bindet das Allergen an diese IgE-Antikörper. Kommt es zu einer

Vernetzung von zwei benachbarten IgE-Antikörpern (*cross linking*), wird die Mastzelle aktiviert und degranuliert. Dabei werden Entzündungsmediatoren (v. a. Histamin und Prostaglandine) freigesetzt, woraufhin es zu klinischen Symptomen einer allergischen bzw. anaphylaktischen Reaktion kommt (Hof et al., 2014). Diskutiert wird, ob entsprechende Beschwerden auch IgE-unabhängig, bspw. vermittelt durch IgG-Antikörper oder Komplementaktivierung ausgelöst werden können (Bilò et al., 2005).
Schwere Anaphylaxien können v. a. bei Vorliegen bestimmter Risikofaktoren auftreten, die anamnestisch eruiert werden sollten (vgl. Tab. 2; Przybilla et al., 2011; Ruëff et al., 2009; Schäfer, 2009).

Tab. 2: Risikofaktoren für schwere Anaphylaxie (modifiziert nach Przybilla et al., 2011)

Risikofaktoren für schwere Anaphylaxie	Anamnestisch stattgehabte Reaktion vom Schweregrad III, IV oder II mit bedeutsamer Atemwegsobstruktion
	Alter > 40 Jahre
	Kardiovaskuläre Vorerkrankung
	Asthma bronchiale
	Medikamenteneinnahme (z. B. β-Blocker, ACE-Hemmer, NSAR)
	Physische oder psychische Belastungssituation
	Mastozytose bzw. basale Serumtryptasekonzentration > 11,4 µg/l

Mögliche Folgen einer schweren systemischen Reaktion sind bspw. eine hypoxische Hirnschädigung, permanente neurologische Defizite sowie ein kardiopulmonaler Arrest. Durch den emotionalen Stress, den die ständige Angst vor einem erneuten Stichereignis mit lebensgefährlichen Folgen hervorruft, sind Patienten nach stattgehabter Allgemeinreaktion in ihrer Lebensqualität eingeschränkt (Bilò et al., 2005).
Neben der Anaphylaxie kann es zudem sehr selten zu pathogenetisch ungeklärten, sog. ungewöhnlichen Stichreaktionen kommen. Dabei zeigen sich u. a.

renale und neurologische Erkrankungen sowie Vaskulitiden (Przybilla et al., 2011).

1.2.3. Diagnostik

Die Diagnostik einer Hymenopterengiftallergie umfasst die Anamneseerhebung und damit die Ermittlung des Schweregrads der allergischen Reaktion (vgl. 1.2.2.2.), Hauttests (Prick- und Intrakutantest) sowie die Untersuchung auf allergen-spezifische IgE-Serumantikörper. Da die Anamnese subjektiv durch den Patienten beeinflusst sein kann und eine positive Hauttestung und/oder Serologie zunächst einmal lediglich eine Sensibilisierung nachweisen, die nicht zwingend klinisch relevant ist, gestaltet sich eine sichere Diagnosestellung in manchen Fällen schwierig. Des Weiteren werden sowohl Prick- als auch Intrakutantest mit Insektengiftextrakten durchgeführt, weshalb das Risiko, ggf. eine anaphylaktische Reaktion auszulösen, implementiert ist.
Die Diagnostik von Hymenopterengiftallergien erfolgt also auch invasiv und unter klinischem Risiko. Vorrangiges Ziel ist jedoch, das allergierelevante Insekt zu identifizieren, um dem Patienten die entsprechende, gegen das ursächliche Allergen gerichtete Therapie zu ermöglichen.

1.2.3.1. Anamnese

Im Rahmen der klassischen Anamnese bezüglich Insektengiftallergien werden die Patienten zu Häufigkeit und Zeitpunkt der Stichreaktion, vorgekommenen Symptomen, Intervall zwischen Stich und Auftreten der Symptome, evtl. durchgeführter Notfalltherapie, dem auslösenden Insekt (hinweisend hierfür können auch die Stichstelle, der eventuelle Verbleib des Stachels, Aktivitäten und Umgebung zum Stichzeitpunkt sein), Risikofaktoren für eine schwere Reaktion (vgl. Tab. 2), evtl. tolerierten Stichen nach der ersten systemischen Reaktion und weiteren Allergien befragt (Bilò et al., 2005).

1.2.3.2. Hauttests

Sowohl der Prick- als auch der Intrakutantest eignen sich zur Bestimmung der Sensibilisierung und der Reaktionsschwelle auf Bienen- und/oder Wespengift. Die Testung erfolgt mit Giftpräparaten für Biene und Wespe sowie einer Positiv-

und Negativkontrolle. Beim Pricktest gelangen sehr geringe Allergenmengen in die obere Dermis. Der Test wird gestoppt, sobald eine positive Antwort festgestellt wird. Kommt es auch nach der Applikation der höchsten Konzentration zu keiner Positivreaktion, schließt sich der Intrakutantest an. Dieser ist für den Patienten schmerzhafter als der Pricktest und birgt auch eine höhere Gefahr einer systemischen Reaktion. Jedoch verfügt der Intrakutantest gegenüber dem Pricktest über eine höhere Sensitivität (Bilò et al., 2005). Grundsätzlich können die Hauttests ambulant durchgeführt werden. Allerdings sollte bei Patienten mit stattgehabter schwerer Stichreaktion oder Risikofaktoren dafür ein intravenöser Zugang für das ggf. notwendige Verabreichen von Notfallmedikamenten gelegt werden. Außerdem wird eine ausreichend lange Nachbeobachtungszeit empfohlen (Przybilla et al., 2011). Bei erstmalig negativem Testergebnis sollte ggf. im Intervall ein zweites Mal getestet werden. Grund dafür ist, dass einige Patienten (ca. 20 %) erst nach dieser Zeitspanne eine positive Reaktion zeigen und damit detektiert werden können (Goldenberg & Confino-Cohen, 1997; Pesek & Lockey, 2013; Przybilla et al., 2011).
Studien zufolge liegt die Sensitivität des Intrakutantests bei über 90 %, die des Pricktests ist geringer. Jedoch ist es schwierig, sich bei der Spezifität der Hauttests festzulegen (Bilò et al., 2005).

1.2.3.3. Serologie

Als *in-vitro*-Testung steht neben der Bestimmung des Gesamt-IgE-Werts der Nachweis spezifischer IgE-Antikörper gegen Bienen- und Wespengift zur Verfügung. Dabei können sowohl die Antikörper gegen das Gesamtgift als auch gegen einzelne Giftkomponenten gemessen werden (vgl. Tab. 3). Relevant sind hierbei insb. die Markerallergene, welche als genuin für das jeweilige Insekt angesehen werden (Jakob et al., 2017). Des Weiteren wird zwischen Major- und Minorallergenen unterschieden. Per Definition handelt es sich um ein Majorallergen, wenn dadurch bei über 50 % der Patienten eine IgE-Sensibilisierung verursacht wird, während ein Minorallergen entsprechend bei weniger als 50 % eine solche zur Folge hat (Chapman, 2008; Ruëff et al., 2023).

Tab. 3: Einzelallergene des Bienen- und Wespengifts (modifiziert nach Pesek & Lockey, 2013 und Jakob et al., 2017). Die jeweiligen Markerallergene sind hervorgehoben dargestellt.

Gift	Allergen	Eigenname	Molekulargewicht (kDa)
Apis mellifera	**Api m 1**	**Phospholipase A2**	**16**
	Api m 2	Hyaluronidase	39
	Api m 3	**Saure Phosphatase**	**43**
	Api m 4	**Mellitin**	**3**
	Api m 5	Dipeptidylpeptidase IV	100
	Api m 6	nicht verfügbar	8
	Api m 7	Protease	39
	Api m 8	Carboxylesterase	70
	Api m 9	Carboxypeptidase	60
	Api m 10	**Incarapin variant 2**	**50-55**
	Api m 11	Major royal jelly protein	50
	Api m 12	Vitellogenin	200
Vespula vulgaris	**Ves v 1**	**Phospholipase A1B**	**34**
	Ves v 2	Hyaluronidase	38
	Ves v 3	Dipeptidylpeptidase IV	100
	Ves v 5	**Antigen 5**	**23**
	Ves v 6	Vitellogenin	200

Ein Anstieg der insektengiftspezifischen IgE-Antikörper kann typischerweise innerhalb einiger Tage bis Wochen nach dem Stich festgestellt werden (Bilò et al., 2005). Können bei positiver Anamnese keine spezifischen IgE-Antikörper nachgewiesen werden, sollte die Testung nach einigen Wochen bis Monaten wiederholt werden (Pesek & Lockey, 2013; Rieger-Ziegler et al., 1999).

Die Konzentration der spezifischen IgE-Antikörper wird quantitativ entsprechend der CAP-Klassifikation (CAP = engl.: *carrier polymer system*, Träger-Polymer-System; vgl. Tab. 4) eingeteilt, wobei der internationale Cut-off bei 0,35 kU/l (CAP-Klasse 1) liegt. Ab diesem Wert wird von einem positiven Testergebnis gesprochen (Przybilla et al., 2011). Zeigen Patienten niedrigere Werte (zwischen 0,1 und 0,34 kU/l), sollten diese im klinischen Kontext interpretiert wer-

den. Dabei sind insb. die erlittene Symptomatik als auch die Höhe des Gesamt-IgE im Vergleich zum ermittelten Insektengift-spezifischem IgE relevant (Jakob et al., 2017).

Tab. 4: CAP-Klassifikation zur Einteilung der spezifischen IgE-Werte (modifiziert nach Trautmann, 2006)

CAP-Klasse	spezifisches IgE (kU/l)	Beurteilung
0	< 0,35	negativ
1	0,35 – 0,70	grenzwertig positiv
2	0,70 – 3,50	schwach positiv
3	3,50 – 17,50	positiv
4	17,50 – 50,00	stark positiv
5	50,00 – 100,00	sehr stark positiv
6	> 100	sehr stark positiv

Falls trotz eindeutiger Anamnese keine spezifischen IgE-Antikörper gegen Bienen- oder Wespengift nachgewiesen werden können, stehen noch weitere zelluläre Zusatzuntersuchungen, wie der Basophilenaktivierungstest, der Leukotrienfreisetzungstest oder auch der Histaminfreisetzungstest zur Verfügung (Przybilla et al., 2011).

Neben den spezifischen IgE-Antikörpern sollte auch der Tryptasewert bestimmt werden. Dabei handelt es sich um einen Biomarker für die Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten. Während eine vorübergehende Erhöhung im Rahmen einer allergischen Reaktion auftritt, weist eine konstant hohe Tryptasekonzentration auf eine Dysfunktion von Mastzellen hin, bspw. im Rahmen einer Mastozytose, ist jedoch nicht obligat (Dugas-Breit et al., 2010). Ein derartiger Anstieg korreliert zudem mit dem Risiko einer schweren Stichreaktion. In Studien konnte bei 25 % der Patienten mit hypotensivem Schock aufgrund einer Insektenstichreaktion ein erhöhter basaler Tryptasespiegel nachgewiesen werden (Bonadonna et al., 2009). Da ein erhöhter basaler Tryptasewert einen Risikofaktor für eine schwere Stichreaktion darstellt, führt dieser auch zu therapeutischen Konsequenzen in Form eines erweiterten Notfallsets

und einer empfohlenen lebenslangen allergenspezifischen Immuntherapie (AIT) (vgl. 1.2.4.2.; Bonadonna et al., 2019).

1.2.3.4. Kreuzreaktionen

Reagieren Patienten bei der Hauttestung sowohl auf Bienen- als auch auf Wespengift, so kann es sich um eine tatsächliche Mehrfachsensibilisierung oder aber um eine Kreuzreaktion handeln. Aus therapeutischen Gründen ist es wichtig, die beiden Phänomene voneinander zu unterscheiden und das korrekte, d. h. ursächliche Gift zu identifizieren, um eine passende AIT durchzuführen (Hemmer, 2009).

Die Ursache für Kreuzreaktionen liegt einerseits im Vorhandensein homologer Proteine als Allergenkomponenten (vgl. Tab. 3). So stellen bspw. Hyaluronidase und Dipeptidylpeptidase IV einen Bestandteil sowohl des Bienen- als auch des Wespengifts dar. Bei der Hyaluronidase der beiden Gifte liegt eine Übereinstimmung von 53 – 56 % vor (Hemmer, 2009).

Andererseits sind kreuzreaktive Kohlenhydratseitenketten (sog. *cross reactive carbohydrate determinants*, CCD) für eine Kreuzreaktivität verantwortlich. Wie in Studien gezeigt werden konnte, reagieren 70 % der für beide Gifte positiven Serumproben auf CCD (Hemmer, 2009). Klinisch gelten die CCD-spezifischen IgE-Antikörper jedoch als kaum relevant, weshalb sie nicht von therapeutischer Bedeutung sind. Zu beachten ist allerdings, dass in Bienengift mehr CCD enthalten sind als in Wespengift. Daher zeigen Wespengiftallergiker mit hohen Anti-CCD-IgE-Werten häufig eine Reaktion gegen Bienengift und erzielen daher bspw. im Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST; analog dem in dieser Studie verwendeten ImmunoCAP-System zur Bestimmung von spezifischem IgE) ggf. sogar einen höheren Wert als auf Wespengift. Von der Quantität des Werts lässt sich also nicht zwingend auf das allergierelevante Insekt schließen (Hemmer, 2009).

Um eine Mehrfachsensibilisierung abzuklären, ist die reziproke Inhibitionstestung zwischen Bienen- und Wespengift hilfreich. Hierfür wird das Serum des Patienten zunächst mit beiden Giftextrakten (Biene und Wespe) separat inkubiert, bevor der konventionelle RAST durchgeführt wird (Bilò et al., 2005; Hemmer, 2009). Außerdem kann über rekombinant hergestellte CCD-freie Ein-

zelallergene auf die tatsächlich bestehende und klinisch relevante Sensibilisierung geschlossen werden (Przybilla et al., 2011). Insbesondere für die Therapieentscheidung ist diese Identifizierung wichtig (Bilò et al., 2005; Hemmer, 2009; Przybilla et al., 2011).

1.2.4. Therapie

Liegt eine Hymenopterengiftallergie vor, so können zwei Therapieprinzipien unterschieden werden: akute und kausale Behandlungsmaßnahmen.
Das Ausmaß der Akuttherapie richtet sich dabei nach der Symptomausprägung und umfasst Maßnahmen zur Behandlung der relativ ungefährlichen Lokalreaktion bis hin zu lebensrettenden Sofortmaßnahmen im Falle einer anaphylaktischen Reaktion.
Darüber hinaus besteht die Möglichkeit zur späteren kausalen Therapie der allergischen Erkrankung durch eine AIT, deren Ziel eine Hyposensibilisierung und somit letztendlich die Induktion einer Toleranz gegenüber dem ursächlichen Hymenopterengiftallergen ist.

1.2.4.1. Akuttherapie

Akut gilt es, die Insektengiftzufuhr zu stoppen. Ein evtl. in der Haut verbliebener Stachel sollte entfernt bzw. die Gefahr für einen weiteren Stich so gut wie möglich reduziert werden (Przybilla et al., 2011; Ruëff et al., 2023).
Die Ausprägung der klinischen Symptomatik entscheidet dann über die weiteren Therapiemaßnahmen. Patienten mit bekannter Hymenopterengiftallergie sollten im Vorfeld über die Erkrankung sowie die möglicherweise vital bedrohlichen Stichfolgen aufgeklärt und mit einem Notfallset ausgerüstet werden.
Notfallsets bestehen i. d. R. aus drei Medikamenten: einem schnell wirksamen H1-Antihistaminikum, einem Kortikosteroid und Epinephrin. Jedoch konnte gezeigt werden, dass über die Hälfte der ausgestatteten Patienten mit dem korrekten Umgang eines Notfallsets nicht vertraut ist. Es ist daher sehr wichtig, die Patienten nicht nur mit einem Set zu versorgen, sondern sie auch in dessen Handhabung ein- und auf das Verfallsdatum hinzuweisen (Fischer et al., 2008).

1.2.4.1.1. Therapie der Lokalreaktion

Die Lokalreaktion wird topisch mit stark wirksamen Glukokortikoiden behandelt. Daneben können kühlende feuchte Umschläge wiederholt für je ca. 20 min. aufgelegt werden. Tritt eine gesteigerte örtliche Reaktion auf, so kann ggf. kurzfristig mit oraler Glukokortikoidgabe therapiert werden (Przybilla et al., 2011).

1.2.4.1.2. Therapie der systemischen Reaktion

Neben dem Monitoring der Vitalparameter wird die Lagerung der Patienten in Trendelenburgposition empfohlen (Beine 10 bis 15° angehoben). Über einen venösen Zugang (mind. 18 G) soll so schnell wie möglich eine isotonische Infusion verabreicht werden. Supportiv kann ggf. eine Sauerstoffgabe ratsam sein. Aufgrund der Gefahr eines Larynxödems sollen der Rachen inspiziert und die Atmung sowie die Sauerstoffsättigung der Patienten überwacht werden. Im Falle eines ausgeprägten Larynxödems ist der Atemweg verlegt und es muss eine Koniotomie bzw. Tracheotomie durchgeführt werden.

Die medikamentöse Therapie besteht aus Adrenalin, einem Antihistaminikum und Kortikosteroiden. Die Dosierung der Medikamente ist abhängig von der Ausprägung der klinischen Symptome (Bilò et al., 2019).

Es wird eine Nachbeobachtungszeit von mind. sechs Stunden bei Patienten mit respiratorischen Symptomen sowie von zwölf bis 24 Stunden bei Patienten mit Blutdruckabfällen bzw. Kollaps empfohlen, um eine mögliche späte anaphylaktische Reaktion abzudecken (Bilò et al., 2019).

1.2.4.2. Allergenspezifische Immuntherapie – AIT

Die AIT, auch als Hyposensibilisierungstherapie bezeichnet, stellt die einzige kausale Therapieoption der Insektengiftallergien dar. Die AIT reduziert dabei das Risiko für zukünftige systemische Reaktionen nach einem Insektenstich auf unter 5 %, verglichen mit einem Risiko von ca. 60 % ohne Hyposensibilisierung (Golden et al., 2017). Hinter der Therapie steckt das Prinzip, durch die Verabreichung des jeweiligen Gifts in steigenden Konzentrationen eine Desensibilisierung des Immunsystems zu erreichen und somit eine langfristige Allergentoleranz zu induzieren.

1.2.4.2.1. Indikationen

Indikationskriterien für eine AIT sind:

Stattgehabte anaphylaktische Reaktion vom Schweregrad ≥ II oder vom Schweregrad I bei gleichzeitigem Vorliegen von Risikofaktoren oder Einschränkung in der Lebensqualität und nachgewiesene Sensibilisierung im Hauttest und/oder in der Serologie auf das auslösende Gift (Ruëff et al., 2023).

Sofern bei eindeutiger Anamnese keine Sensibilisierung nachgewiesen werden kann und auch bereits genannte Zusatzuntersuchungen (bspw. Basophilenaktivierungstest) negativ ausfallen, wird im Allgemeinen keine Hyposensibilisierung durchgeführt. In Ausnahmesituationen, wie z. B. bei vorliegendem Risiko für schwere Reaktionen, kann trotzdem eine AIT erwogen werden (Bonifazi et al., 2005; Przybilla et al., 2011).

Grundsätzlich sind auch Kinder für eine AIT geeignet und können von dieser profitieren (Golden et al., 2004). Jedoch konnte gezeigt werden, dass bei einer ausschließlich auf die Haut beschränkten systemischen Reaktion bei Kindern ein erneuter Stich in unter 20 % der Fälle zu einer weiteren Allgemeinreaktion führt. In diesen Fällen kann daher auf eine AIT verzichtet werden. Eine Entscheidung für oder gegen eine Hyposensibilisierung sollte stets individuell, insb. unter Beachtung der Exposition im Alltag und der Lebensqualität des Kindes, getroffen werden (Ruëff et al., 2023).

1.2.4.2.2. Kontraindikationen

Es werden temporäre von permanenten Kontraindikationen für eine AIT unterschieden. Zu den temporären zählen das Vorliegen eines akuten grippalen Infekts, eines exazerbierten Asthma bronchiale, einer Impfung sowie von Non-Compliance (Ruëff et al., 2023).

Als dauerhafte Kontraindikationen gelten nach aktueller Leitlinie hingegen unzureichend eingestelltes Asthma bronchiale, maligne neoplastische Erkrankungen mit aktuellem Krankheitswert, schwere aktive systemische Autoimmunerkrankungen und schwere Immundefekte sowie unbehandelte chronische Infektionen.

Bei Vorliegen schwerer kardiovaskulärer und/oder pulmonaler Erkrankungen soll eine Nutzen-Risiko-Abwägung erfolgen. Grund hierfür ist, dass diese Patienten ein deutlich erhöhtes Risiko für eine schwere Anaphylaxie im Rahmen

eines Feldstichs haben. Vor Einleitung einer AIT sollten diese Erkrankungen möglichst optimal behandelt sein und im Verlauf der AIT überwacht werden (Müller, 2008; Ruëff et al., 2023).

Des Weiteren galt lange Zeit auch eine Dauertherapie mit β-Blockern oder ACE-Hemmern aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften als Kontraindikation für eine AIT (Müller, 2008). Neuere Daten zeigen jedoch im Zusammenhang mit der Einnahme der Medikamente kein signifikant erhöhtes Vorkommen von AIT-induzierten anaphylaktischen Reaktionen, weshalb die medikamentöse Dauertherapie nicht mehr zwingend als Kontraindikation für eine AIT gilt (Stoevesandt et al., 2020). Allerdings sollten Patienten mit entsprechender Medikation bspw. über die Abschwächung der Adrenalinwirkung durch β-Blocker aufgeklärt werden (Ruëff et al., 2023).

Weil sowohl eine natürliche als auch eine iatrogen ausgelöste anaphylaktische Reaktion während der Schwangerschaft Risiken für die Mutter und auch den Fötus bergen, stellt dieser Fall eine Herausforderung dar. Da das Risiko für eine anaphylaktische Reaktion während der Aufdosierungsphase der AIT (vgl. 1.2.4.2.3) ca. 5 % beträgt, wird der Beginn einer Hyposensibilisierung während einer bestehenden Schwangerschaft nicht empfohlen (Schwartz et al., 1990). Tritt die Schwangerschaft dagegen während der Erhaltungsphase der AIT ein, so kann diese fortgeführt werden (Przybilla et al., 2011; Ruëff et al., 2023). Das Risiko für eine anaphylaktische Reaktion beträgt dann noch ca. 1 % und wird i. d. R. zugunsten des Therapieerfolgs der AIT akzeptiert.

1.2.4.2.3. Durchführung

Grundsätzlich setzt sich eine AIT aus einer Steigerungsphase (Aufdosierung) und einer Erhaltungsphase zusammen. Für die Aufdosierungsphase bestehen grundsätzlich zwei verschiedene Therapieprotokolle, die Schnellhyposensibilisierung (Ultra-Rush und Rush) sowie die konventionelle Hyposensibilisierung.

Bei der Ultra-Rush-Therapie wird die Erhaltungsdosis innerhalb von Stunden bis zu zwei Tagen erreicht, bei der Rush-Therapie innerhalb von vier bis sieben Tagen (Pesek & Lockey, 2013). Beide finden im stationären Setting statt. Besonders durch das Ultra-Rush-Einleitungsschema kann eine schnelle Toleranz gegenüber erneuten Insektenstichen ermöglicht werden. Die Methode

erwies sich außerdem als effektiv und hinsichtlich schwerer Nebenwirkungen den anderen verfügbaren Protokollen nicht unterlegen (Golden et al., 2017; Roll et al., 2006; Schiavino et al., 2004; Wenzel et al., 2003).
Wird die konventionelle AIT gewählt, so dauert es einige Wochen bis Monate bis zum Erreichen der Erhaltungsdosis. Die Steigerungsphase wird jedoch ambulant durchgeführt. Zu beachten ist hierbei, dass der Patient während der Aufdosierungsphase weiterhin gefährdet ist. Insbesondere bei vorhandenen Risikofaktoren für eine schwere Anaphylaxie (vgl. Tab. 2) ist eine schnellere Steigerungsphase im Rahmen einer Ultra-Rush- bzw. Rush-AIT, auch angesichts des stationär kontrollierteren Settings, zu bevorzugen (Przybilla et al., 2011).
Die Aufdosierung erfolgt gewöhnlich bis zur Erhaltungsdosis von 100 µg Hymenopterengift pro Injektion. Da die Wirksamkeit der AIT mit Bienengift geringer ist, ist in diesem Fall das Erreichen einer Erhaltungsdosis von 200 µg zu erwägen. Besonders gilt dies für hohes Expositionsrisiko (Imker) und Mastozytosepatienten (Muller et al., 1992; Przybilla et al., 2011; Ruëff et al., 2023).
Anschließend folgt die Erhaltungsphase der AIT. Dabei erfolgen im ersten Jahr Injektionen der Erhaltungsdosis im Abstand von vier Wochen. Abhängig von den Herstellerinformationen kann ab dem zweiten Jahr auf ein Sechs-Wochenintervall verlängert werden. Sofern ein Depotpräparat verwendet wird, kann ab dem dritten Jahr eine Injektion im Acht-Wochen-Rhythmus etabliert werden (Cavallucci et al., 2010; Ruëff et al., 2023).

Die Erhaltungsphase wird üblicherweise für drei bis fünf Jahre fortgeführt (Golden et al., 2017). Voraussetzungen für die Beendigung der AIT nach abgeschlossener Erhaltungsphase sind aus therapeutischer Sicht, dass die Injektionen ohne anaphylaktische Nebenwirkungen toleriert wurden und das Ausbleiben einer systemischen Reaktion nach erneutem Stich durch das für die Allergie verantwortliche Insekt. Sind diese Bedingungen nicht gegeben bzw. nicht nachzuweisen, so wird empfohlen, die Therapie bis zum Verlust der Positivreaktion im Hauttest und der spezifischen IgE-Antikörper im Serum fortzusetzen.

1.2.4.2.4. Erfolgsparameter

Die Wirksamkeit einer AIT mit dem Hymenopterengift im Vergleich zum Ganzkörperextrakt des ursächlichen Insekts und im Vergleich zu Placebo konnte bereits vor über 40 Jahren nachgewiesen werden (Hunt et al., 1978). Die AIT gilt als sehr effektiv und ermöglicht eine Reduktion des Risikos für eine Anaphylaxie auf unter 5 %. Außerdem fallen Stichreaktionen während der AIT erfahrungsgemäß milder aus als davor (Golden et al., 2017).

1.2.4.2.4.1. Stichprovokation

Bisher stellt die Stichprovokation die einzige Möglichkeit dar, das Nicht-Ansprechen auf die AIT frühzeitig festzustellen und die Giftdosis anzupassen (Aust et al., 2010). Die Stichprovokation wird sechs bis 18 Monate nach Erreichen der Erhaltungsdosis unter kontrollierten stationären Bedingungen bei notfallmedizinischer Bereitschaft durchgeführt (Przybilla et al., 2011).
Kommt es durch den Stich zu einer anaphylaktischen Reaktion, kann durch eine Erhöhung der Erhaltungsdosis im Rahmen der Fortführung der AIT reagiert werden, wovon die meisten Patienten profitieren (Ruëff et al., 2001).

1.2.4.2.4.2. Hauttestung und allergenspezifische IgE-Antikörper

Im Verlauf einer AIT mildert sich oft, aber nicht regelhaft, bei Ansprechen auf die Therapie die Hautreaktion im Pricktest ab, evtl. kann sie auch komplett verschwinden. Auch die spezifischen IgE-Antikörper gegen Insektengiftallergene können im Laufe einer AIT quantitativ abnehmen. Jedoch kann von diesen diagnostischen Parametern nicht sicher auf eine permanente Toleranz gegenüber den Giften geschlossen werden (Golden et al., 2017; Lerch & Müller, 1998). In Studien wurde zudem gezeigt, dass bei ca. 80 – 90 % der Patienten drei bis fünf Jahre nach durchgeführter AIT trotz positivem Pricktest keine systemischen Reaktionen mehr auftreten. Da geschätzt wird, dass bei ca. einem Fünftel der Patienten die Wirkung der AIT langfristig verloren geht, kann erwogen werden, alle Patienten auch nach abgeschlossener AIT aus Sicherheitsgründen mit einem Notfallset auszustatten (Adelmeyer et al., 2021; Golden et al., 2017).

1.3. Elektronische Nase – eNose

Elektronische Nasen imitieren die Funktion einer menschlichen Nase. Ihnen gelingt es dabei, bestimmte Muster zu erriechen, ohne dabei die einzelnen Komponenten des Geruchs zu identifizieren. Vergleichbar ist dies mit der menschlichen Nase, die z. B. eine Zwiebel am Geruch identifizieren kann, ohne dabei die einzelnen chemischen Komponenten, die für den einzigartigen Geruch verantwortlich sind, zu erkennen (Dummer et al., 2011). Es handelt sich also um Mustererkennung (*pattern recognition*).

Abb. 1: Cyranose® 320 (modifiziert nach https://www.sensigent.com/products/cyranose.html, 22.08.2019)

1.3.1. Volatile organische Substanzen – VOCs

Es besteht keine einheitliche quantitative Definition für flüchtige organische Verbindungen (*volatile organic compounds,* VOCs), jedoch gibt es einige definierende Eigenschaften, wie z. B. ein Dampfdruck größer als 10 Pa bei 25 °C, ein Siedepunkt von über 260 °C bei Atmosphärendruck sowie das Vorhandensein von 15 oder weniger Kohlenstoffatomen. Aufgrund dieser chemischen und physikalischen Eigenschaften handelt es sich um flüchtige Substanzen (Koppmann, 2007).

VOCs werden durch zellulären Metabolismus produziert und sind Ausdruck des physiologischen Stoffwechsels des Körpers sowie aber auch pathologischer Prozesse (King et al., 2010; Pleil, 2008). Durch Diffusion gelangen sie von der Blutbahn in die Alveolen und können so in der Ausatemluft festgestellt werden (Miekisch et al., 2004; Tan et al., 2016). Ihre Messung gelang erstmalig 1971 als Pauling et al. ca. 200 Partikel in der Ausatemluft ausmachen konnten (Pauling et al., 1971). Bisher konnten über 1.000 verschiedene VOCs in menschlicher Ausatemluft gefunden werden, wobei nur einige allen Menschen gemein sind (Cao & Duan, 2006; Phillips et al., 1999).

Im Hinblick auf die Detektierbarkeit und Interpretation von VOCs bestehen jedoch auch einige Herausforderungen. Die Abhängigkeit von Herzzeitvolumen und Atemminutenvolumen sowie die zusätzliche Ausstoßung von VOCs entlang des Atemwegs (v. a. durch Mund und Nase) machen die Messung fehleranfällig und erfordern eine standardisierte Methodik hinsichtlich Sammlung sowie Auswertung der Ausatemluft (Dummer et al., 2011; King et al., 2010; Phillips, 1997). Darüber hinaus bewegt sich die Konzentration von VOCs in der Ausatemluft im Bereich von *parts per million* (ppm) bzw. *parts per trillion* (ppt) und ist damit sehr gering, wodurch die Nachweisbarkeit erschwert wird (Cao & Duan, 2006; Dummer et al., 2011).

Auch Bakterien produzieren VOCs, was wiederum im Hinblick auf die Diagnostik von Infektionskrankheiten durch eine eNose von Bedeutung sein kann (Schulz & Dickschat, 2007).

1.3.2. Funktionsweise einer eNose

Bei der in dieser Arbeit verwendeten eNose handelt es sich um die *Cyranose® 320* der Firma Sensigent (vgl. Abb. 1). Dieses Gerät beinhaltet Kohlenstoffpolymersensoren, die VOCs abhängig von deren Größe, Struktur, Polarität und Protonenaffinität binden (Koczulla et al., 2011). Durch die Bindung von VOCs kommt es zu einer Schwellung des Polymersensors und folglich steigt der elektrische Widerstand des Sensors (vgl. Abb. 2). Das chemische Signal wird so in ein elektrisches umgewandelt (Lewis, 2004). Da die Polymere von verschiedener Zusammensetzung sind, unterscheiden sich auch ihre Reaktionen mit den VOCs und damit das Ausmaß der Schwellung bzw. der elektrischen Widerstandsänderung.

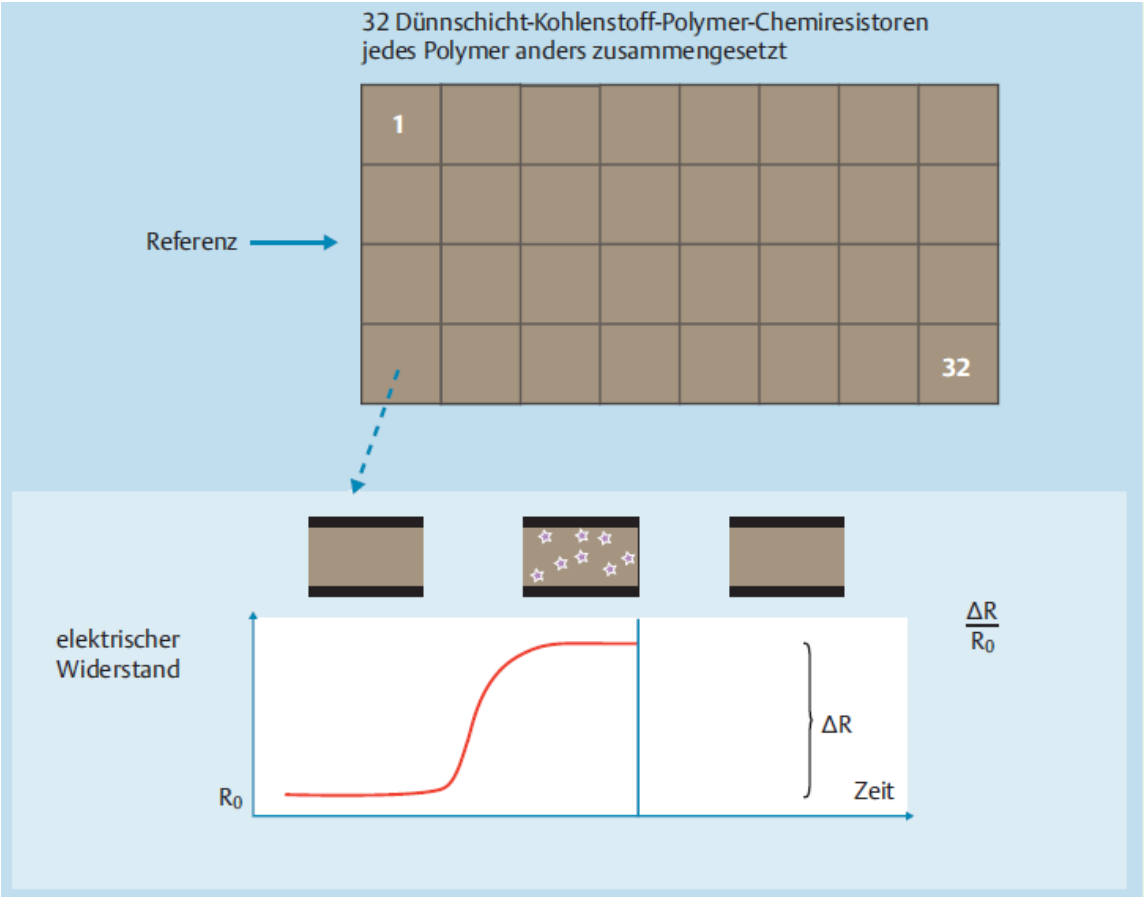


Abb. 2: Funktionsweise der Cyranose® 320 (modifiziert nach Koczulla et al., 2011). Das Auftreffen der Testluft mit den darin enthaltenen *volatile organic compounds* (VOCs) führt zu einer chemischen Reaktion und damit zum unterschiedlich starken Anschwellen der Polymersensoren. Dies hat eine vom Ausmaß der Schwellung und damit von der Eigenschaft der VOCs abhängige Erhöhung des elektrischen Widerstands R um ΔR zufolge.

Durch die jeweils gemessene elektrische Widerstandänderung der unterschiedlichen Sensoren entstehen Signalmuster (*breathprints*) (vgl. Abb. 3) ohne Identifizierung von Einzelkomponenten. Daneben gibt es andere Modelle, die auf Massenspektrometrie (MS) oder Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) beruhen, womit die verschiedenen Komponenten der Testsubstanz bestimmt werden können (Koczulla et al., 2011).

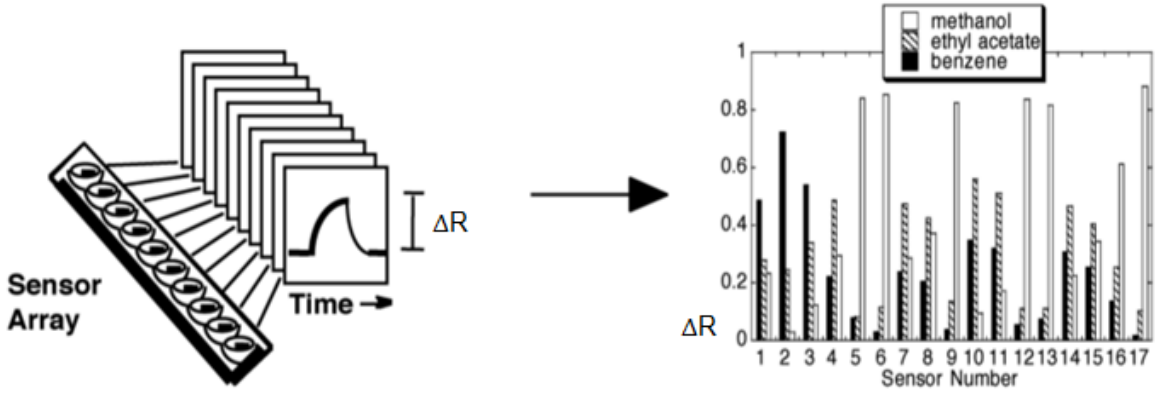


Abb. 3: Entstehung eines *breathprints* basierend auf den Widerstandsänderungen der Einzelsensoren (modifiziert nach Lewis et al., 2004). Die gemessenen Widerstandsänderungen ΔR der Einzelsensoren werden für jeden Sensor aufgetragen. In diesem Beispiel wurden drei Substanzen mit jeweils charakteristischem Geruch (Methanol, Ethylacetat, Benzen) untersucht, deren *breathprints* graphisch nebeneinander dargestellt wurden.

1.3.3. Bisherige klinische Anwendungen der eNose

In verschiedenen Studien konnte bereits nachgewiesen werden, dass die Ausatemluft Informationen über Krankheiten geben kann. Durch die eNose-Analyse der Luft gelang es, Profile zu erstellen, die für bestimmte Krankheiten spezifisch sind (Biehl et al., 2019; Dragonieri et al., 2009; Gasparri et al., 2016; Hattesohl et al., 2011; Tan et al., 2016).

Beispielsweise konnten durch die Cyranose® 320 Patienten mit Lungenkrebs von COPD-Patienten sowie einer gesunden Kontrollkohorte differenziert werden (vgl. Abb. 4) (Biehl et al., 2019; Tan et al., 2016). Besonders in frühen Stadien konnte die eNose Lungenkrebs sensitiv nachweisen (Gasparri et al., 2016). Diese Erkenntnis ist angesichts des i. d. R. späten Symptombeginns sowie der für die Krankheit bisher etablierten, relativ invasiven Diagnostik (Röntgen, CT, Biopsie) besonders von Bedeutung (Einoch Amor et al., 2019).

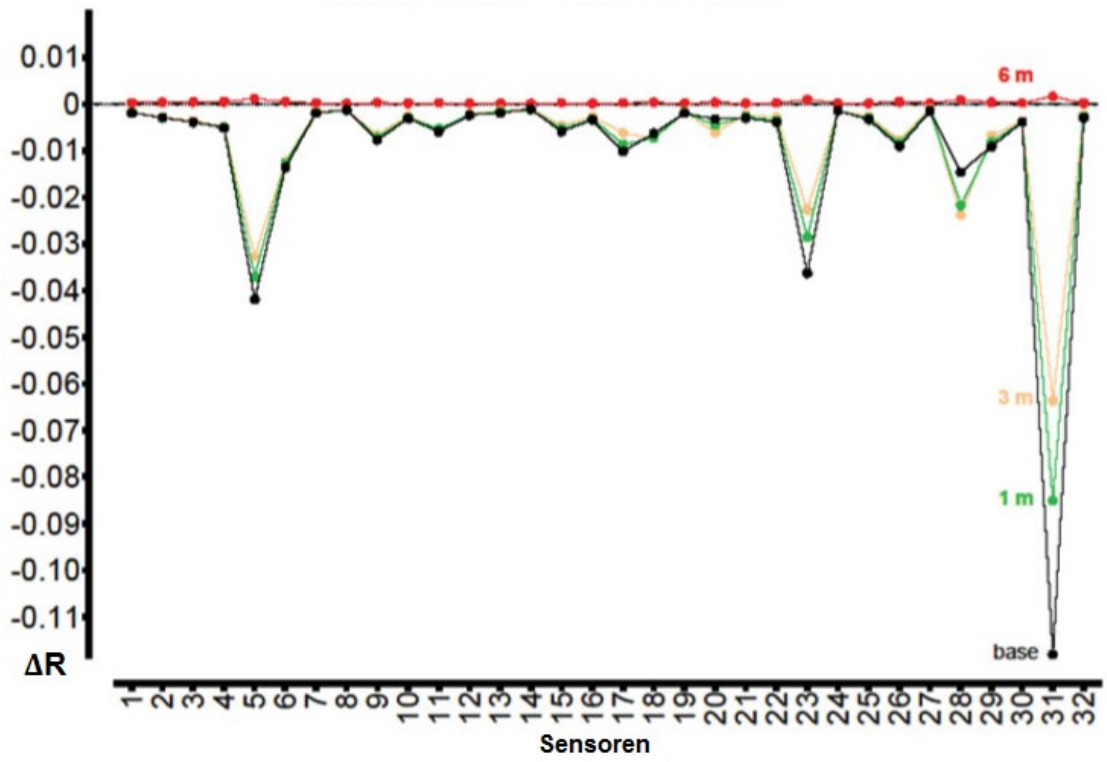


Abb. 4: *breathprint* von Patienten mit Lungenkrebs über sechs Monate (modifiziert nach Biehl et al., 2019). Es erfolgten Wiederholungsmessungen derselben Proben nach einem, drei und sechs Monaten. Die Widerstandsänderungen ΔR waren im zeitlichen Verlauf bei vier Sensoren stabil nachweisbar. Nach sechs Monaten waren keine Widerstandsänderungen mehr zu detektieren.

Ein anderes Beispiel für die Detektion pulmonaler Erkrankungen ist der Vergleich der Exhalatproben von COPD-Patienten mit und ohne Alpha-1-Antitrypsin-Mangel mit einer gesunden Kontrollkohorte. Die eNose konnte dabei zwischen den drei Gruppen signifikant unterscheiden (Sensitivität 100 %, Spezifität 100 %, Kreuzvalidierungswert (*cross validation value*, CVV) 82 %, Mahalanobiskonstante (*Mahalanobils distance*, MD) 2,37) (vgl. Abb. 5). Als statistisch signifikant galten eine MD ≥1,96 und ein CVV >70% (Hattesohl et al., 2011). Die Berechnung und Interpretation der beiden Parameter werden unter 3.7. ausführlich erläutert.

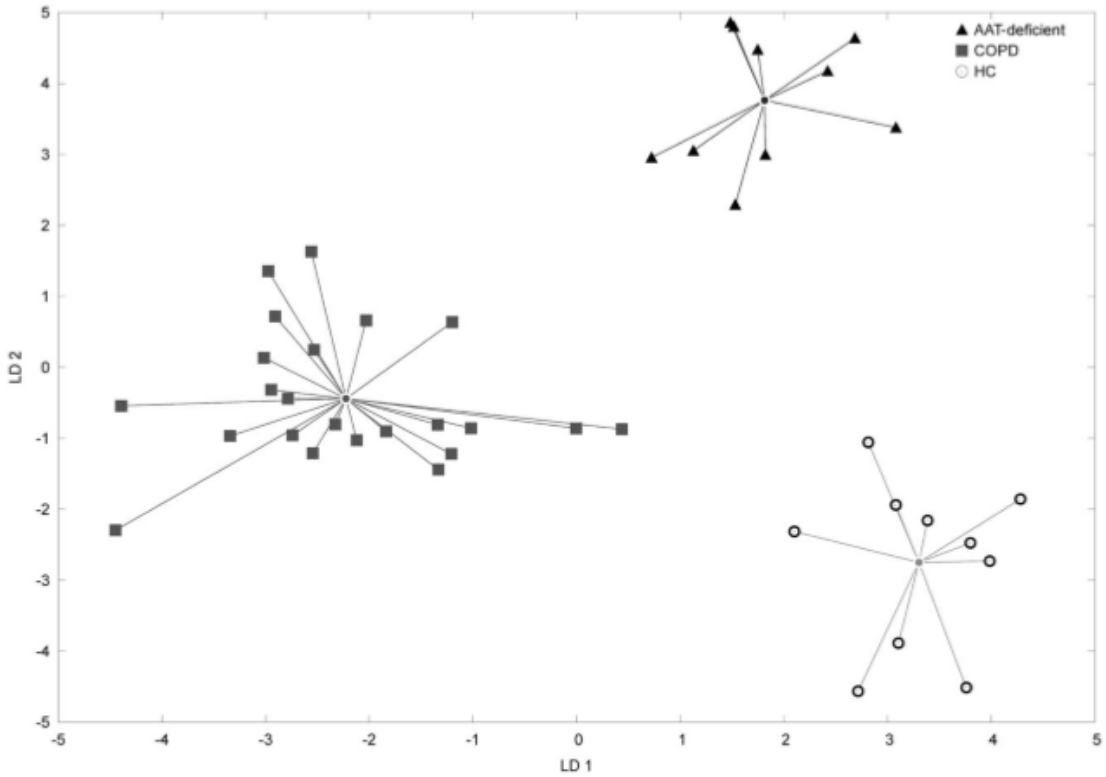


Abb. 5: Lineare Diskriminanzanalyse der Atemanalysen mittels eNose von COPD-Patienten mit und ohne Alpha-1-Antitrypsinmangel verglichen mit gesunden Kontrollprobanden (modifiziert nach Hattesohl et al., 2011). Nach Prozessieren der Daten im Rahmen der LD bilden sich die verglichenen Gruppen in deutlich unterschiedlichen Bereichen ab. AAT = Alpha-1-Antitrypsinmangel; COPD = *chronic obstructive pulmonary disease,* chronisch obstruktive Lungenerkrankung; HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden; LD = lineare Diskriminanzanalyse.

Noch eindrucksvoller ist jedoch vermutlich der Erfolg, mit der eNose neurodegenerative Erkrankungen nicht nur voneinander, sondern auch von gesunden Kontrollprobanden zu unterscheiden. In der entsprechenden Studie wurden Patienten mit Alzheimererkrankung (*ad*) mit Patienten mit Parkinsonerkrankung (*pd*) sowie mit gesunden Probanden (HC) verglichen. Mittels eNose-Messungen der Ausatemluft gelang eine signifikante Unterscheidung der drei Gruppen. (MD *ad* vs. *pd* 2,08, MD *ad* vs. HC 2,10, MD *pd* vs. HC 1.95) (vgl. Abb. 6; Bach et al., 2015). Damit konnte belegt werden, dass die Ausatemluft wertvolle Informationen über chronische, nicht unbedingt die Lunge betreffende Krankheiten enthalten kann, die mittels einer eNose detektierbar sind.

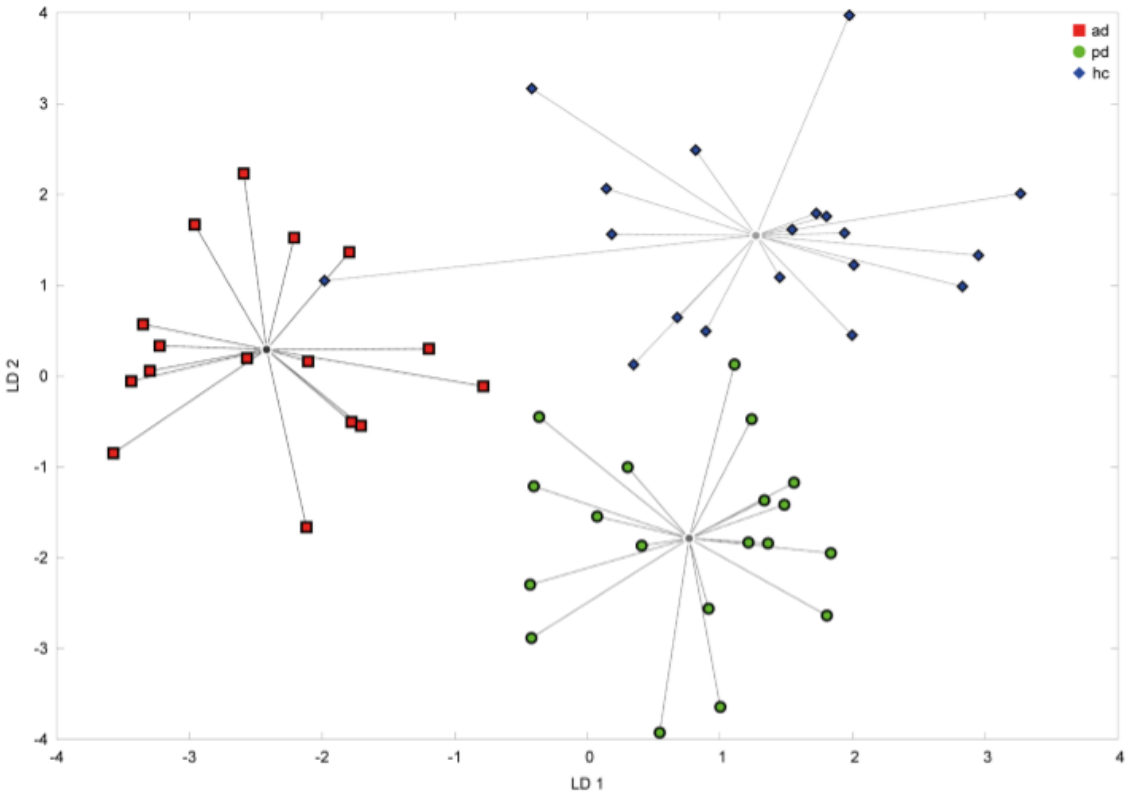


Abb. 6: Lineare Diskriminanzanalyse zur eNose-Untersuchung von Patienten mit zwei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden (modifiziert nach Bach et al., 2015). Die verglichenen Gruppen ordnen sich in unterschiedlichen Bereichen der Graphik an und lassen sich somit voneinander trennen. *ad = Alzheimer's disease,* Alzheimererkrankung*; pd = Parkinson's disease,* Parkinsonerkrankung*; hc = healthy controls,* gesunde Kontrollprobanden*;* LD = lineare Diskriminanzanalyse.

Auch bei der Hymenopterengiftallergie handelt es sich um eine Krankheit, die erst dann erkannt wird, wenn sie manifest und die Allergiesymptomatik ausgebildet ist. Mittels Detektion der Allergiker durch das eNose-Verfahren könnte der Weg zu einer Früherkennung gebahnt werden und somit möglicherweise lebensbedrohliche anaphylaktische Reaktionen verhindert werden. Die vorliegende Studie beschäftigt sich daher mit der Frage, ob durch konventionelle Diagnostik bestätigte Insektengiftallergiker durch die Untersuchung ihrer Ausatemluft mittels eNose von gesunden Kontrollprobanden unterschieden werden können.

2. MATERIAL

2.1. Probandenrekrutierung

Die Rekrutierung der Allergiepatienten erfolgte in der Klinik für Dermatologie und Allergologie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg (UKGM), Standort Marburg. Die Studienteilnehmer hatten im Vorfeld aufgrund eines stattgehabten Stichereignisses und damit verbundener allergischer Reaktion zumeist elektiv Termine vereinbart und erhielten basierend auf der positiven Anamnese durch die diensthabenden Ärzte der Allergieambulanz die Indikation zur kutan-vaskulären Testung (Pricktest). Patienten mit positivem Testergebnis kamen dann unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien für die Studie in Frage.

Einschlusskriterien:

- Positive Anamnese für Hymenopterengiftallergie
- Positiver Prick- und/oder Intrakutantest gegen Hymenopterengift (Bienen- und/oder Wespengift) und/oder
- spezifische IgE-Antikörper (≥0,35 kU/l) gegen Hymenopterengift (Bienen- und/oder Wespengift)
- Alter ab 18 Jahre
- Unterschriebene Zustimmungserklärung

Ausschlusskriterien:

- Positive Anamnese für weitere Allergien, insb. Atemwegsallergien
- Schwangerschaft
- Nikotinkonsum
- Minderjährige und nicht einwilligungsfähige Patienten

Für die gesunde Kontrollkohorte wurden folgende Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt:

Einschlusskriterien:

- Alter ab 18 Jahre
- Unterschriebene Zustimmungserklärung

Ausschlusskriterien:

- Positive Anamnese für Allergien, insb. Hymenopterengift- oder Atemwegsallergien
- Schwangerschaft
- Nikotinkonsum
- Minderjährige und nicht einwilligungsfähige Patienten

2.2. Patientenmaterial

Vollblut	Patienten der Klinik für Dermatologie und Allergologie des UKGM, Standort Marburg, Allergiezentrum Hessen
Ausatemluft	

2.3. Geräte

Cyranose® 320	Sensigent, USA
Spirometer SpiroScout®	Ganshorn Medizin Electronic GmbH, Niederlauer
ImmunoCAP 100€	Phadia AB, Uppsala, Schweden

2.4. Verbrauchsmaterial

Pricklanzette	ALK-Abelló Arzneimittel GmbH, Hamburg
Monovette (Serum-Gel)	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht
Blutentnahmekanüle Multifly®	Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht
Desinfektionsmittel Kodan®Tinktur forte	Schülke und Mayr GmbH, Norderstedt

Nitrilhandschuhe weiß	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Atemluft Aer medicinalis	Linde Gas Therapeutics GmbH, Oberschleißheim
Aquapak steriles Wasser 340ml	Hudson RCI, USA
Nitrilhandschuhe blau	Semperit Technische Produkte GmbH., Segment Sempermed, Wien, Österreich
Mundstück	Intersurgical, Sankt Augustin
Verbindungsstück	Intersurgical, Sankt Augustin
T-Stück mit Rückschlagventil	Intersurgical, Sankt Augustin
Winkelstück	Intersurgical, Sankt Augustin
Auffangbeutel 10l	Dirk Rossmann GmbH, Burgwedel
Wischtücher	Kimberly-Clark GmbH, Koblenz-Rheinhafen

2.5. Software

Microsoft Word	Microsoft, USA
Microsoft Excel	Microsoft, USA
PCnose	Sensigent, USA
Ganshorn Software LF8	Ganshorn Medizin Electronic GmbH, Niederlauer
SPSS	International Business Machines Corporation (IBM), USA
gnuplot	Slashdot Media, USA
R	R Core Team

3. METHODEN

3.1. Patientenaufnahme

Die Rekrutierung fand im Rahmen der Sprechstunde der Sektion Allergologie, Klinik für Dermatologie und Allergologie des Universitätsklinikums Marburg statt. Die gesunden Probanden wurden durch einen Aushang im Klinikum für die Studie gewonnen.

3.2. Anamnese

Nach Aufklärung über die Studie und unterschriebener Einverständniserklärung folgte eine ausführliche Erhebung der Anamnese des Stichereignisses. Dabei wurden der Zeitpunkt und die Symptome der Stichreaktion erfragt, um den Schweregrad der Anaphylaxie nach Ring und Messmer einzuteilen (Ring & Messmer, 1977). Des Weiteren wurden andere Allergien anhand der Anamnese ausgeschlossen, die Familienanamnese bezüglich Atopien erhoben sowie sonstige Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme, vegetative und Sozialanamnese festgestellt. Um Störsignale bzw. Verfälschungen bei der eNose-Messung zu verhindern, wurden noch etwaige zurückliegende Atemwegsinfekte der letzten zwei Wochen ausgeschlossen und die Einhaltung der erforderlichen zweistündigen Nüchternheit geprüft. Weitere mit der Untersuchung potenziell interferierende Substanzen, wie z. B. Parfüm oder Deodorant, wurden nicht zugelassen.

3.3. Hauttests

Voraussetzung für die Auswertbarkeit der Hauttestung sind eine entsprechende Positiv- und Negativkontrolle. Zur Positivkontrolle wurde eine Histaminlösung (0,1 %) und zur Negativkontrolle physiologische Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %) verwendet. Die Testergebnisse können durch die Einnahme bestimmter Arzneimittel, wie etwa Immunsuppressiva oder Antihistaminika, falsch negativ ausfallen. Aus diesem Grund sollen Antihistaminika bspw. mind. drei Tage und

Glukokortikoide je nach Dosierung bis zu drei Wochen vor der Hauttestung pausiert werden (Ruëff et al., 2011).
Für den Hautpricktest wurden Tropfen an Bienen- und Wespengiftextrakt in steigenden Dosierungen auf die Beugeseite des Unterarms gegeben. Die betroffene Haut wurde mit einer sterilen Pricklanzette oberflächlich angeritzt, ohne dabei den Austritt von Blut hervorzurufen. Die Ablesung erfolgte nach 15 min., wobei eine Quaddelbildung ab einem mittleren Durchmesser von mind. 3 mm als positive Reaktion gewertet wurde.
Begonnen wurde jeweils mit einer Konzentration von 1 µg/ml. Im Falle eines positiven Ergebnisses wurde der Test beendet. War nach dem Zeitintervall keine wesentliche Reaktion zu sehen, wurde mit 10 µg/ml und bei erneut negativem Test nach weiteren 15 min. mit 100 µg/ml fortgefahren.
Zusätzlich wurden die Probanden mittels Pricktest auf verbreitete Aeroallergene, wie Gräserpollen, Hausstaubmilbe (*Dermatophagoides pteronyssinus*) und Katzenhaare bzw. -schuppen getestet. Ein positives Testergebnis hierbei kann auf eine atopische Diathese hinweisen (Przybilla et al., 2011).

War der Pricktest auch bei höchstkonzentrierter Testdosis negativ, wurde im nächsten Schritt eine Intrakutantestung durchgeführt. Hierbei wurden Bienen- und Wespengift in der Konzentration von 1 µg/ml in die obere Dermis injiziert, so dass eine sichtbare Schwellung von 2-3 mm entstand. Wieder wurde die Reaktion nach 15 min. ausgewertet, wobei eine Quaddelbildung ab einem mittleren Durchmesser von 5 mm als positives Testergebnis erfasst wurde.

In der gesunden Kontrollkohorte wurde keine Hauttestung, sondern lediglich die in-vitro serologische Diagnostik zur Detektion allergenspezifischer IgE-Antikörper durchgeführt (vgl. 3.4.).

3.4. Serologie

Im Anschluss an die Prick- bzw. Intrakutantestung wurde jedem Patienten peripher-venöses Blut entnommen, um eine serologische Diagnostik durchzuführen. Bestimmt wurden dabei mittels ImmunoCAP-System (Phadia, ThermoFisher) das Gesamt-IgE sowie spezifische IgE-Antikörper gegen Bienen- und Wespengesamtgift, aber auch gegen die Aeroallergene Birke,

Lieschgras und Hausstaubmilbe. Zur quantitativen Bewertung werden die Ergebnisse nach CAP-Klassen eingeteilt. Eine Bestimmung der Markerallergene, wie sie in der etablierten Diagnostik im Fall einer unklaren Anamnese oder einer Doppelsensibilisierung üblich ist, war entbehrlich, da im Fokus der Studie die klinische Symptomatik stand und die Anamnese bei allen rekrutierten Patienten klar war.

3.5. Lungenfunktionstestung

Um das Vorliegen einer obstruktiven Atemwegserkrankung, wie z. B. Asthma bronchiale, auszuschließen, wurde bei jedem Patienten eine Lungenfunktionstestung durchgeführt (Herold, 2016). Dabei wurde besonders die exspiratorische Einsekundenkapazität (FEV_1) beachtet, die für den Einschluss in die Studie über 70 % betragen musste.

3.6. Atemluft-Messung mit der eNose

Im Anschluss an die Anamnese und allergologische Testung wurde die Atemluft jedes Probanden analysiert. Es wurden jeweils drei Messungen durchgeführt.

3.6.1. Vorbereitungen und Versuchsaufbau

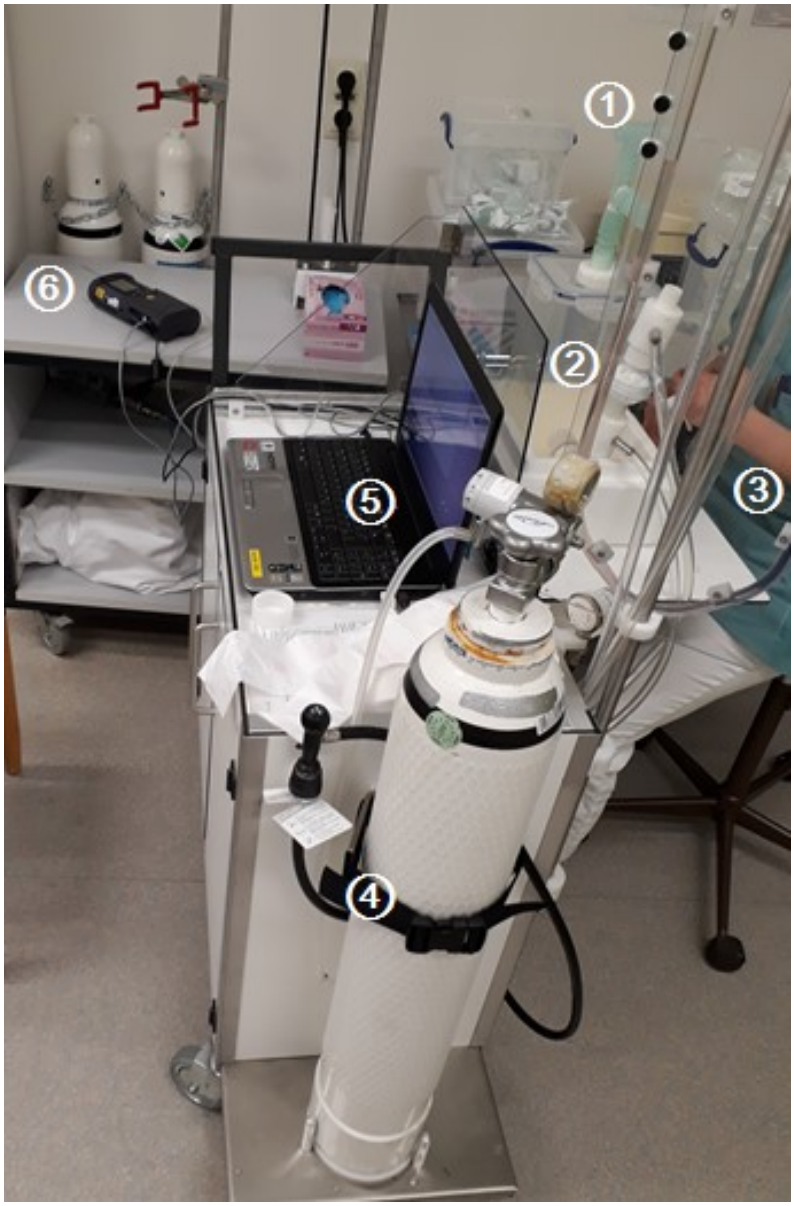
Die in dieser Studie verwendete eNose – die *Cyranose® 320* – befand sich in einem eigens für die Messungen vorgesehenen Raum. Nach dem Betreten des Messraums blieb dieser bis zum Ende der jeweiligen Messzyklen verschlossen, um die als Referenz geltende Raumluft nicht zu verändern.

Im Vorfeld der Messung wurde die eNose aufgebaut (vgl. Abb. 7). Dabei wurde die Messnadel an das Gerät geschraubt und mit einem sauberen Wischtuch einmalig gereinigt. Für die Spülvorgänge des Geräts zwischen den Patientenmessungen wurde ein Spülschlauch angeschlossen, über den angefeuchtete Neutralluft (Aer medicinalis, Linde GmbH) in das Gerät gelangte. Das Netzkabel wurde verbunden und die eNose eingeschaltet. Es folgte eine siebenminütige Aufwärmphase, während der der Laptop gestartet und über ein LAN-Datenkabel mit der eNose verbunden wurde.

Am Laptop wurden im Programm *PCnose* die Default-Einstellung der Studie aufgerufen und vor der Messung ein Speicherort sowie eine pseudonymisierte Probandenbezeichnung festgelegt.

Für jeden Probanden wurde ein steriles Ventil mit entsprechenden Verbindungsstücken an einem sterilen Mundstück befestigt und mit einem frischen Auffangbeutel verbunden. An diese Vorrichtung wurde auch die Neutralluft angeschlossen, um sicherzustellen, dass von allen Probanden die gleichermaßen standardisierte Luft eingeatmet wurde. Der Patient wurde gebeten, sich die Nase zu putzen, den Mund mit Leitungswasser auszuspülen und eine Nasenklemme aufzusetzen.

Im Anschluss an die Aufwärmphase wurde ein sog. *„Identify RUN“* durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine Kalibrierungsmessung durch die eNose mit der vorhandenen Raumluft.



① steriles Ventil mit Verbindungsstücken
② Auffangbox, in der der Auffangbeutel platziert wird
③ Testperson
④ Neutralluft
⑤ Versuchslaptop
⑥ eNose mit angeschlossenem Spülschlauch, LAN-Datenkabel und Netzkabel

Abb. 7: Versuchsaufbau (eigene Aufnahme)

3.6.2. Messablauf

Um einen standardisierten Messablauf zu gewährleisten, erfolgte vor Messbeginn die Einweisung jedes Probanden in das geforderte Atemmanöver und den geplanten Ablauf der Messungen.

Der maximalen Exspiration in den Raum schloss sich die maximale Inspiration der angeschlossenen standardisierten Luft über das Mundstück an. Diese wurde dann kontinuierlich über zehn Sekunden in den Auffangbeutel ausgeatmet. Dabei wurde durch eine Atemflussanzeige in Form einer Wassersäule auf eine konstante Flussgeschwindigkeit zwischen 100 ml/s und 200 ml/s geachtet.

Der mit Ausatemluft gefüllte Beutel wurde vorsichtig entfernt und geschlossen gehalten, um möglichst keine Testluft zu verlieren. Anschließend wurde er über die Sensornadel der eNose geführt. Es wurde darauf geachtet, dass die Messsonde nicht am Beutel anlag, sondern möglichst zentral im Beutel platziert war.
Dann erfolgte das Einsaugen der Probandenluft über die Sensornadel und somit die eigentliche Messung. Eine automatische Spülphase mit Raumluft schloss sich an. Damit war der erste Messdurchgang abgeschlossen und es fanden analog zwei weitere Durchläufe statt, sodass insgesamt drei Messungen für jeden Probanden durchgeführt wurden.
Danach wurden die Messwerte, d. h. die Widerstandsveränderungen der einzelnen Sensoren, an das Programm *PCnose* übermittelt und in Form einer met-Datei abgespeichert. Diese wurde abschließend in eine Excel-Tabelle transferiert, um sie statistisch auswertbar und graphisch darstellbar zu machen.

3.7. Statistik

Für die statistische Auswertung der Daten wurden die Programme Excel, R, und SPSS verwendet. Die graphische Veranschaulichung wurde mittels gnuplot sowie Excel realisiert. Da der Studie kleine Fallzahlen zugrunde lagen und daher nicht sicher von einer Normalverteilung der Daten ausgegangen werden konnte, wurde zum Vergleich der Gruppen der parameterfreie Mann-Whitney-U-Test angewandt. Unterschiede wurden als signifikant betrachtet, sofern ein p-Wert (Irrtumswahrscheinlichkeit) von <0,05 vorlag. Um die Ergebnisse graphisch zu veranschaulichen, wurden Box-Plot-Diagramme erstellt.

Die Messergebnisse der Patienten wurden in einer Excel-Tabelle gesammelt und anschließend mittels multivarianter Datenanalyse systematisiert.
Die Hauptkomponentenanalyse (*principal component analysis,* PCA) dient zur Strukturierung und Veranschaulichung von Daten. Dabei werden durch Reduktion der Dimensionen künstliche Variablen (Hauptkomponenten) gebildet, die aus den vorhandenen Daten errechnet werden. Die gebildeten künstlichen Variablen sind selbst nicht direkt messbar, bilden aber eine möglichst große Varianz der Daten ab (Henrion & Henrion, 1995). Der Informationsgewinn ist dadurch größer, da eine Veranschaulichung durch die aussagekräftigen Linearkombinationen besser gelingt. Die gemessenen Variablen lassen sich aus der

PCA wiedergewinnen (Henrion & Henrion, 1995; Koczulla et al., 2011). Beispielsweise werden drei Variablen gemessen, die Werte jedoch auf zwei Hauptdimensionen reduziert, sofern die erhobenen Daten annähernd in einer Ebene liegen (vgl. Abb. 8). Dabei wird die Korrelation zwischen Variablen verwendet, welche bei den Daten, die durch die eNose-Messungen produziert werden, am höchsten ist (Koczulla et al., 2011).

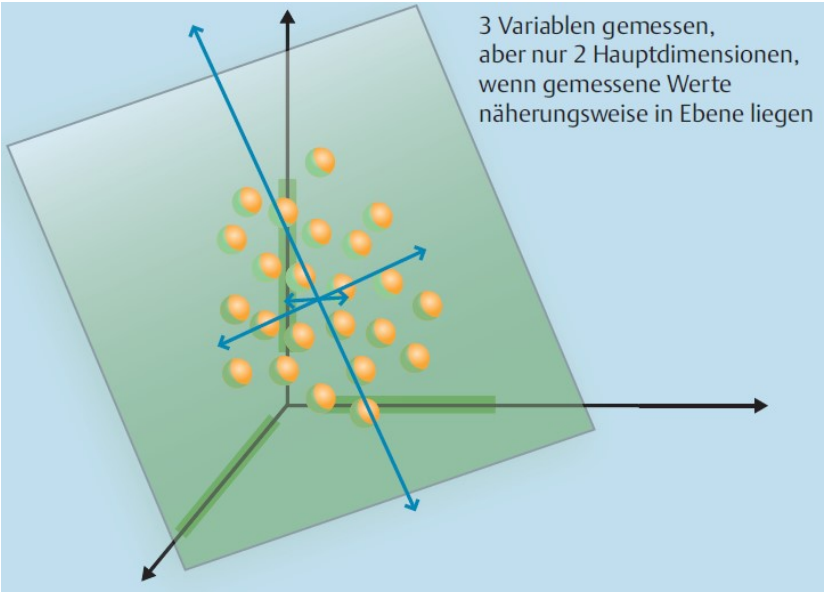


Abb. 8: Veranschaulichung der Hauptkomponentenanalyse (modifiziert nach Koczulla et al., 2011)

Mit der linearen Diskriminanzanalyse (*linear discriminant analysis,* LD) werden die Dimensionen der Daten ebenfalls reduziert. Ziel dabei ist es, die maximale Diskrimination darzustellen, also die Gruppen durch mathematische Algorithmen so gut wie möglich voneinander zu trennen (Silva et al., 2016).
Die LD wurde dann für weitere Analysen benutzt. Zwischen den Gruppen wurde jeweils die Mahalanobiskonstante (MD) bestimmt. Sie wurde 1936 durch den indischen Physiker und Statistiker Prasanta Chandra Mahalanobis entwickelt. Hierbei handelt es sich um ein Distanzmaß in einem mehrdimensionalen Vektorraum. Es berechnet die Verteilung multivarianter Daten und repräsentiert die Korrelation zwischen verschiedenen Werten (Elfadaly et al., 2016). Als statistisch signifikant gilt eine MD ≥1,96, da diese einem p-Wert <0,05 entspricht. Ab einer MD ≥2,58 beträgt der p-Wert weniger als 0,01 (Hattesohl et al., 2011). Ab

einer MD >1 kann von einer generellen Unterscheidung der Gruppen, jedoch ohne Signifikanz ausgegangen werden.

Durch Kreuzvalidierungsverfahren wurden für die einzelnen Kohortenvergleiche Kreuzvalidierungswerte (*cross validation value*, CVV) berechnet. Hierbei handelt es sich um einen Test zur Verallgemeinerung der Ergebnisse auf andere Stichproben. Damit konnte die Trennschärfe zwischen den Gruppen und somit die Robustheit der Methodik beurteilt werden. Ein CVV von 100 % ist der beste zu erreichende Wert und besagt, dass in allen Testdurchläufen die Messergebnisse jeweils der richtigen Kohorte zugeordnet werden. Ab CVV-Werten von >70 % kann eine Unterscheidung der beiden Gruppen angenommen werden. Die Differenzierung gilt als umso besser, je höher der prozentuale Wert des CVV ist (Hattesohl et al., 2011).

4. ERGEBNISSE

4.1. Klinische Merkmale der Studienpopulation

4.1.1. Patientenkollektive

Insgesamt wurden 35 Probanden in die Studie aufgenommen, von denen 16 Insektengiftallergiker (Hymenopterengiftallergiker, HG) und 19 gesunde Kontrollprobanden ohne Allergieanamnese (*healthy controls*, HC) waren.

In der HG-Gruppe betrug das Durchschnittsalter 54 Jahre, wobei eine Altersspanne von 21 bis 75 Jahren vorlag. Vier der Probanden waren weiblich. Anamnestisch gaben zwölf Patienten eine allergische Reaktion auf einen Wespenstich an, vier auf einen Bienenstich.

Bei den HC lag das Durchschnittsalter bei 34 Jahren mit einer Altersspanne von 20 bis 78 Jahren. Vierzehn Probanden waren weiblich. In der folgenden Tab. 5 werden die wesentlichen Merkmale der getesteten Gruppen gegenübergestellt.

Tab. 5: Gegenüberstellung der Hymenopterengiftallergiker zu den gesunden Kontrollprobanden. HG = Hymenopterengiftallergiker; HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden; Min. = Minimum; Max. = Maximum; m = männlich; w = weiblich.

	HC	**HG**
Anzahl (n)	19	16
Alter (Min./Max.)	33,95 (20-78)	54,38 (21-75)
Geschlecht (m/w)	5/14	12/4
Allergische Reaktion auf Stich durch Biene/Wespe	-	4 (25 %)/12 (75 %)

Die Zusammensetzung der HG entspricht dabei der in der Literatur beschriebenen Verteilung (vgl. Tab. 5). So sind in Europa 70,6 % der anaphylaktischen Reaktionen durch Wespen und nur 23,4 % durch Bienen verursacht (Worm et al., 2014).

4.1.2. Anamnese

In beiden Gruppen wurde die Frage nach Vorerkrankungen von ca. 50 % (HC 11/19, HG 8/16) der Probanden verneint. Sowohl bei den HC als auch bei den HG bestanden keine atopischen Komorbiditäten wie atopisches Ekzem, allergische Rhinokonjunktivitis (AR) oder Asthma bronchiale. Arterieller Hypertonus war die häufigste chronische Erkrankung in beiden Gruppen (HC 3/19, HG 7/16), deutlich seltener fanden sich Stoffwechselkrankheiten wie Hypothyreose (HC 3/19, HG 0/16) oder Diabetes mellitus (HC 1/19, HG 1/16). Folgende Erkrankungen traten jeweils nur bei einem Probanden der Gesamtstudienpopulation auf: Koronare Herzkrankheit, Migräne, Hyperlipidämie, rheumatoide Arthritis, Colitis ulcerosa, Sklerodermie, obstruktives Schlafapnoesyndrom (OSAS) und Morbus Osgaard Schlatter.

Entsprechend des Vorerkrankungsprofils wurden Antihypertensiva als häufigste Dauermedikation vor oralen Kontrazeptiva (ausschließlich in der HC-Gruppe) angegeben.

Um eine besondere Exposition der HG gegenüber den Insekten zu erfassen, wurden Beruf und Freizeitverhalten abgefragt. Dabei gaben alle Befragten an, sich in ihrer Freizeit gerne in der Natur aufzuhalten, etwa beim Fahrradfahren oder Wandern. Fünf der 16 Allergiker waren durch ihre Imkertätigkeit Bienen besonders stark exponiert, vier davon zeigten eine Bienengiftallergie.

Die anamnestische Erhebung des Schweregrads der Stichreaktion zeigte folgendes Ergebnis (vgl. Tab. 6):

Tab. 6: Schweregrad der Stichreaktion der Hymenopterengiftallergiker nach Ring und Messmer (vgl. Tab. 1)

Schweregrad	**Anzahl n (%)**
1	5 (31 %)
2	8 (50 %)
3	3 (19 %)
4	0

4.1.3. Spirometrie

Durch die Lungenfunktionstestung wurden obstruktive Ventilationsstörungen bei allen in die Studie eingeschlossenen Allergikern ausgeschlossen. Dabei galt eine FEV_1 von mind. 70 % als Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie. Der Patient, der als Komorbidität ein OSAS angab, befand sich unter den HG und wurde aufgrund anamnestisch bestehender Symptomfreiheit und unauffälliger Spirometrie in die Studie aufgenommen. Die FEV_1 lag dabei im Durchschnitt bei 87 % (vgl. Abb. 9). Bei den HC wurde keine spirometrische Untersuchung durchgeführt und es wurde lediglich auf eine negative Anamnese bezüglich pulmonaler Beschwerden geachtet.

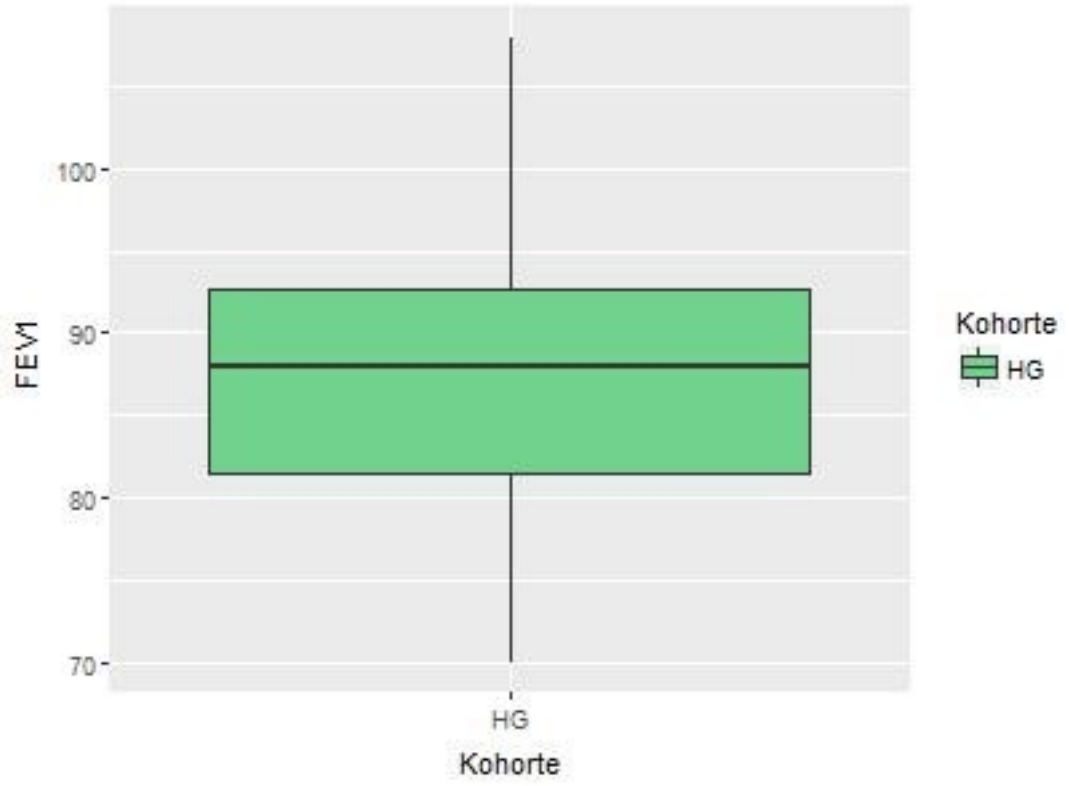


Abb. 9: Single-Boxplot der Spirometrie der Hymenopterengiftallergiker. Der Median betrug 88 % bei einem Interquartilsabstand zwischen 82 % (25-%-Perzentil) und 92 % (75-%-Perzentil). Ausreißer wurden nicht gemessen. FEV_1 = exspiratorische Einsekundenkapazität; HG = Hymenopterengiftallergiker.

4.1.4. Pricktest

Alle HG zeigten, wie durch die Einschlusskriterien gefordert (vgl. 2.1.), eine positive Hautreaktion auf Insektengift. Diese deckte sich weitestgehend mit den

bestimmten serologischen Befunden für allergenspezifisches IgE gegen Bienen- bzw. Wespengift. Lediglich bei zwei der 16 getesteten Patienten konnte trotz positiver Anamnese und Hautreaktion im Pricktest kein spezifisches IgE gegen Bienen- oder Wespengift nachgewiesen werden.

Bei zehn der getesteten HG zeigte sich ein positives Hauttestergebnis ausschließlich gegenüber dem anamnestisch reaktionsauslösenden Insekt. Die restlichen sechs Patienten zeigten positive Testbefunde sowohl auf Bienen- als auch auf Wespengift, wobei stets die Reaktion auf das für die Anaphylaxie verantwortliche Insekt deutlicher ausfiel.

Bis auf zwei Teilnehmer zeigten alle ein negatives Hauttestungsergebnis bezüglich Aeroallergenen (Gräser/Hausstaubmilbe). Entsprechend der Ein – und Ausschlusskriterien hatten auch diese Patienten jedoch keine Anamnese bezüglich Aeroallergien und sind deshalb auch nicht als Allergiker, sondern nur als asymptomatische Sensibilisierte zu beurteilen. Von diesen beiden im Hauttest positiv getesteten Probanden wurden bei einem zusätzlich zum Pricktest auch in der Serologie IgE-Antikörper gegen Pollenallergene nachgewiesen. Im zweiten Fall ergab der Hauttest eine Reaktion auf Hausstaubmilben, wobei kein spezifisches IgE diesbezüglich detektiert wurde.

4.1.5. Serologie

Serologisch zeigten sich bei den HG höhere Gesamt-IgE-Werte als bei den HC (vgl. Abb. 10). Der statistische Vergleich der Gruppen ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied ($p=0,47$).

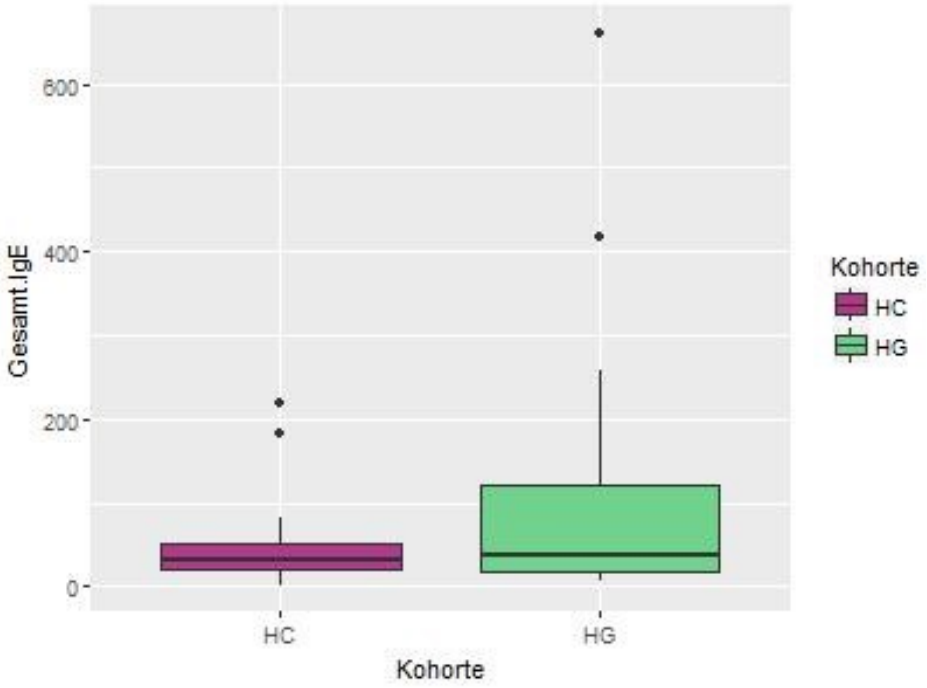


Abb. 10: Gesamt-IgE der Hymenopterengiftallergiker (grün) im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden (lila). Die Mediane betrugen 32,55 kU/l (HC) und 38,35 kU/l (HG). Bei den HC lag der Interquartilsabstand zwischen 21,1 kU/l (25-%-Perzentil) und 51,1 kU/l (75-%-Perzentil), bei den HG zwischen 17,3 kU/l (25-%-Perzentil) und 100,0 kU/l (75-%-Perzentil). In jeder Gruppe gab es zwei Ausreißer in den oberen Bereich. Gesamt-IgE in kU/l; HC = *healthy controls,* gesunde Kontrollprobanden; HG = Hymenopterengiftallergiker.

Alle Probanden der HC boten eine negative Anamnese bezüglich allergischer Symptome. Diejenigen mit erhöhten Gesamt-IgE-Werten (n=16/19) wiesen jedoch gehäuft auch erhöhte Werte (≥0,35 kU/l) beim spezifischen IgE gegen Bienen- und Wespengift auf (n=6/16).

Nach den aktuellen Leitlinien zur Diagnostik von Bienen- und Wespengiftallergien sind zur Diagnosestellung die positive Anamnese und/oder ein positives Ergebnis im Hauttest oder der Serologie erforderlich (Ruëff et al., 2023). Dementsprechend wurde auch für die Ausschlusskriterien lediglich die positive Anamnese bezüglich Aeroallergien definiert. Es wurden also nur Probanden eingeschlossen, bei denen eine Symptomatik im Sinne einer Rhinokonjunktivitis oder eines Asthma bronchiale bzgl. Aeroallergien klar verneint wurde.

Im Hinblick auf das gemessene spezifische IgE in der HG-Gruppe entsprachen die Ergebnisse bei 14 von 16 Probanden (87,5 %) den anamnestischen Angaben, insb. bezüglich des Insekts beim Stichereignis. Lediglich zwei Probanden gaben eine allergische Reaktion auf einen Bienenstich an, wiesen jedoch kein spezifisches IgE gegen Bienen- oder Wespengift auf (zeigten aber dafür einen positiven Hauttest). Bei drei Allergikern wurde neben dem anamnestisch ursächlichen Allergen auch spezifisches IgE gegen das jeweils andere Insekt, also eine Doppelsensibilisierung, nachgewiesen. Des Weiteren wurde bei vier der 16 Probanden spezifisches IgE gegen Aeroallergene (Birke, Lieschgras, Hausstaubmilbe) gemessen, ohne Angabe entsprechender Beschwerden.
In Abb. 11 werden die Werte für spezifisches IgE gegen Bienen- und Wespengift in der Kohorte der HG gegenüberstellt. Es zeigt sich ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen, der jedoch nicht signifikant ist ($p=0,51$).

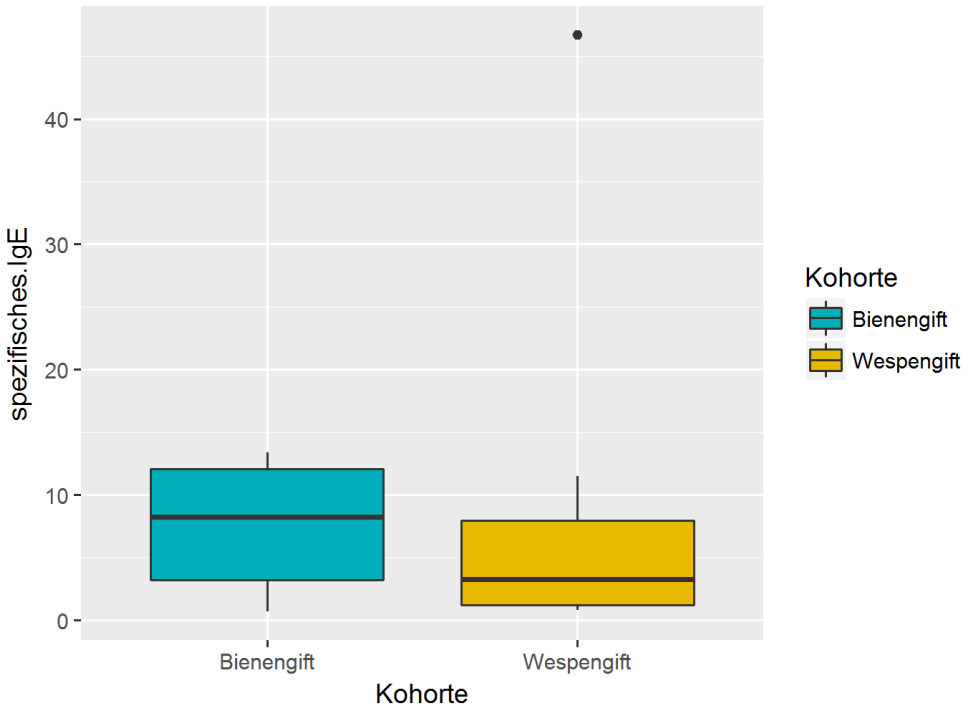


Abb. 11: Spezifisches IgE gegen Bienen- und Wespengift in der Kohorte der Hymenopterengiftallergiker. Die Mediane betrugen 8,25 kU/l (Bienengift) und 3,26 kU/l (Wespengift). Bei Bienengift lag der Interquartilsabstand zwischen 3,23 kU/l (25-%-Perzentil) und 12,10 kU/l (75-%-Perzentil), bei spezifischem IgE gegen Wespengift zwischen 1,24 kU/l (25-%-Perzentil) und 7,39 kU/l (75-%-Perzentil). Bei spezifischem IgE gegen Wespengift gab es einen Ausreißer in den oberen Bereich. Spezifisches IgE in kU/l.

Die Auswertung der klinischen Merkmale Anamnese, Spirometrie, Pricktest und Serologie erfolgte der jeweiligen Methode geschuldet also nicht zeitgleich. So lagen zu Beginn der Rekrutierung der Probanden lediglich eine positive Anamnese und als erster diagnostischer Schritt die Hauttestung vor. Im zeitlichen Abstand ergaben sich dann erst die Ergebnisse der Serologie, welche sich zum Großteil mit der positiven Anamnese bzw. auch dem Ergebnis der Hauttestung deckten.

4.2. Auswertung der eNose-Messergebnisse

Nach Abschluss der Messungen und Prozessieren der Daten erfolgte die Gegenüberstellung der Kohorten. Dabei wurden zunächst die Gesamtkollektive miteinander verglichen. Zum Zeitpunkt der Analyse konnte nur darüber speku-

liert werden, ob – und wenn ja, nach welchen empirischen Kriterien – eine Unterscheidung gelingen kann. Daher wurden zusätzlich zur Analyse der Gesamtkohorten Subgruppen gebildet und ebenfalls miteinander verglichen. Die Einteilung erfolgte hierbei anhand weiterer allergierelevanter Parameter der Probanden, wie bspw. dem IgE-Wert oder der CAP-Klasse.

4.2.1. Vergleich der gesunden Kontrollgruppe mit dem Gesamtkollektiv an Insektengiftallergikern

Zunächst wurde das Gesamtkollektiv der HG mit den HC verglichen. Wie unter 2.1. beschrieben, wurden die HG entsprechend ihrer positiven Anamnese sowie der positiven Hauttestung und/oder der Serologie definiert.

Die graphische Darstellung der LD zeigt ein nur gering unterschiedliches Verteilungsmuster der HG verglichen mit den HC (vgl. Abb. 12). Dabei verteilen sich die grünen Punkte (HG) eher am oberen Bildrand, während die Vierecke in lila (HC) eher im unteren bis mittleren Bereich des Bildes gesammelt sind.

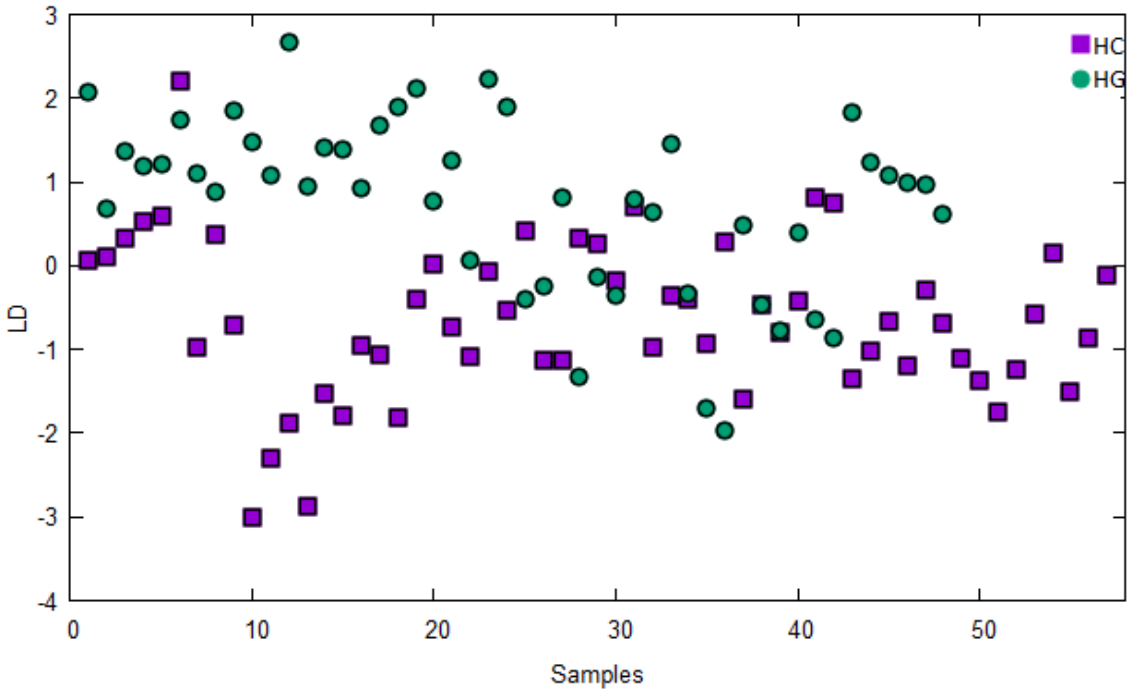


Abb. 12: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse der Hymenopterengiftallergiker (grün) verglichen mit den gesunden Kontrollprobanden (lila). Die Proben der Probanden sind entlang der x-Achse aufgetragen. Die y-Achse bildet das Maß für die Trennung zwischen den beiden Gruppen bzw. den verschiedenen Proben. Ein Punkt bzw. ein Viereck stellt dabei jeweils eine Messung dar. Da jeder Proband drei Messungen durchlief, handelt es sich um 57 Proben in der HC-Gruppe (n=19) sowie 48 Messungen in der HG-Gruppe (n=16). LD = lineare Diskriminanzanalyse; HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden; HG = Hymenopterengiftallergiker.

Um die Trennung der Gruppen bewerten zu können, ist die Betrachtung der statistisch berechneten Größen notwendig. Beim Vergleich der *breathprints* ergab sich eine MD von 1,141. Damit liegt die MD unter dem angestrebten Wert von 1,96, welcher einem p-Wert von <0,05 entspricht und somit ein signifikantes Ergebnis erbringt (vgl. 3.7.). Die Unterscheidung zeigt daher zwar Tendenzen, ist jedoch nicht signifikant. Der CVV als Maß für die Übertragbarkeit der Forschungsergebnisse auf einen anderen Kontext oder eine größere Probandenkohorte betrug 72,61 %. Eine Disparität der untersuchten Gruppen gilt daher dennoch als möglich. Auch die Werte in Tab. 7 zeigen dahingehende Ergebnisse. Mit einer Sensitivität von 81 % konnte die eNose die HG auch wirklich richtig

diagnostizieren. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 79 % handelte es sich bei einer positiv getesteten Person auch tatsächlich um einen HG.

Tab. 7: Auswertung: Gesunde Kontrollprobanden – Hymenopterengiftallergiker. PPV = *positive predictive value*, positiver prädiktiver Wert; NPV = *negative predictive value*, negativer prädiktiver Wert.

Sensitivität	81 %
Spezifität	75 %
PPV	79 %
NPV	77 %
Falsch positiv	25 %
Falsch negativ	19 %

Die Auftragung der Widerstandsänderung der Sensoren ergibt den *breathprint* der Vergleichsanalyse. Dieser ist in Abb. 13 dargestellt.

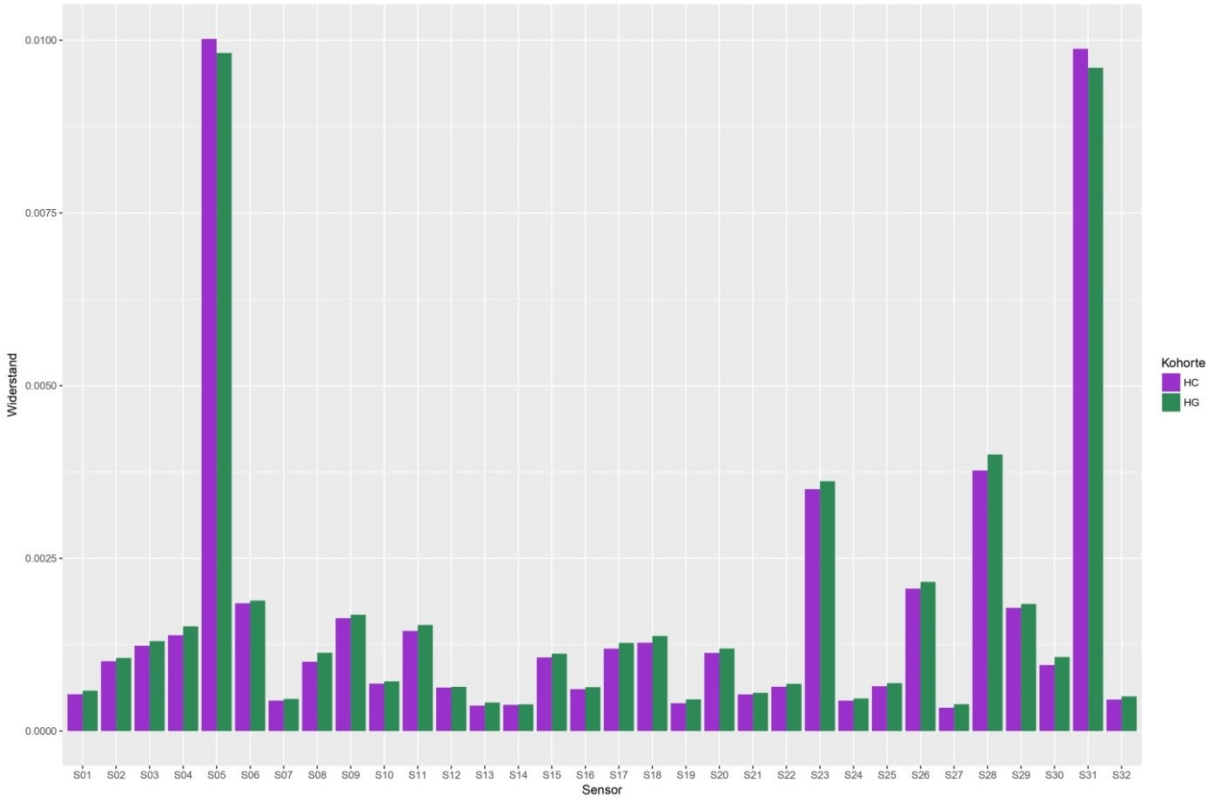


Abb. 13: *breathprint*: Vergleich der gesunden Kontrollprobanden mit der Hymenopterengiftallergikerkohorte. Darstellung der Mediane der Widerstandsänderungen für jeden Sensor. HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden; HG = Hymenopterengiftallergiker.

4.2.2. Subgruppenanalytik

Um weitere mögliche Messqualitäten der eNose zu testen, erfolgten Vergleiche verschiedener Subgruppen, die durch verschiedene Eigenschaften/Parameter der Studienpopulation definiert werden konnten.

4.2.2.1. Vergleich der gesunden Kontrollgruppe mit der Subkohorte IgE-positiver Insektengiftallergiker

Mit dem Ziel, eine bessere Trennschärfe zu erreichen, wurden in einer weiteren Auswertung die Ergebnisse für spezifisches IgE berücksichtigt. Die Anzahl der ein- bzw. ausgeschlossenen Studienteilnehmer ist in Tab. 8 dargestellt. In die hier untersuchte HG-Gruppe wurden nur Insektengiftallergiker eingeschlossen, bei denen spezifisches IgE (≥0,35 kU/l) gegen Bienen- und/oder Wespengift, aber nicht gegen die anderen untersuchten Allergene (Aeroallergene) nachge-

wiesen wurde (n=10; 63 %). Bei den in dieser Subgruppe inkludierten HC (n=10; 53 %) lagen weder allergenspezifische IgE-Antikörper gegen Insektengift noch gegen Aeroallergene vor. Bei den restlichen Probanden in beiden Kohorten lag, z. T. auch zusätzlich zur Sensibilisierung auf Bienen- und/oder Wespengift, spezifisches IgE gegen Aeroallergene vor (HG: n=4; 25 %; HC n=3; 16 %).

Tab. 8: Aufteilung der Gruppen nach Vorhandensein von insektengiftspezifischem IgE. Eingeschlossene Teilnehmer sind blau hinterlegt. HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden; HG = Hymenopterengiftallergiker.

	HC (n=16/19)	**HG (n=12/16)**
Spezifisches IgE gegen Bienen-/Wespengift	6	10
Kein spezifisches IgE gegen Bienen-/Wespengift	10	2

Visuell und rechnerisch lieferte der Vergleich der nach allergenspezifischen IgE stratifizierten Gruppen eine deutlichere Aufteilung. In Abb. 14 ist ersichtlich, dass die Gruppe der HC (grün) eher den oberen Teil der Grafik einnimmt, während die HG-Kohorte (lila) im unteren Teil des Bildes angesiedelt ist.

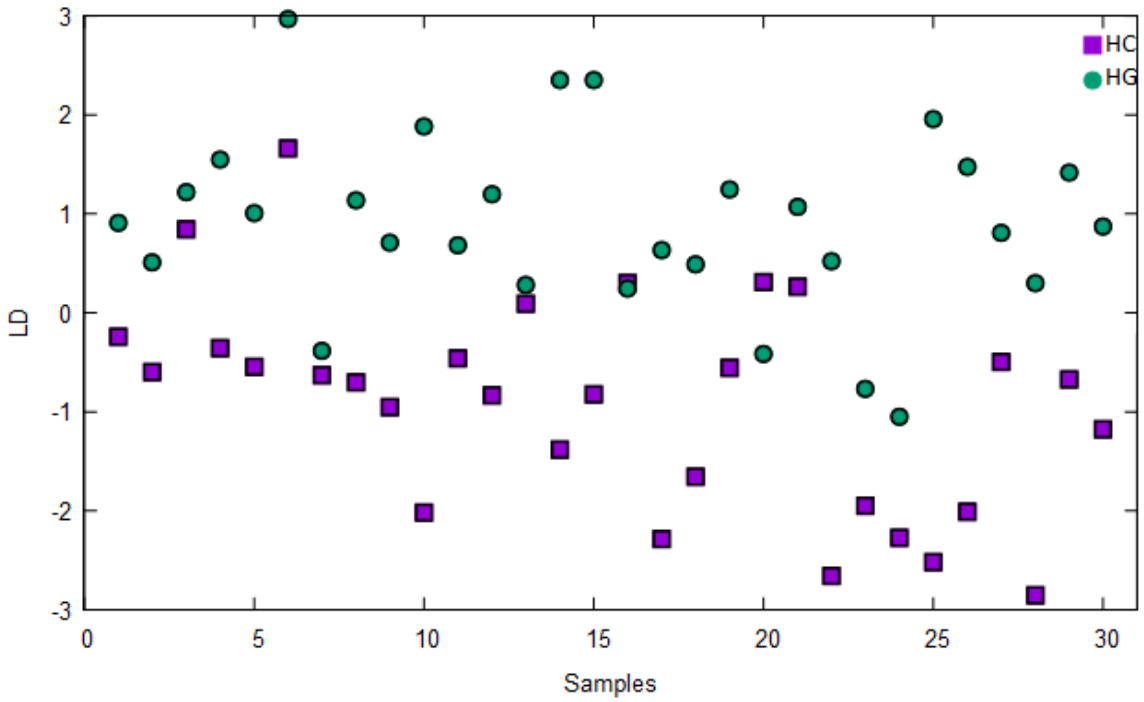


Abb. 14: Graphische Darstellung der linearen Diskriminanzanalyse der Hymenopterengiftallergiker (grün) mit spezifischem IgE verglichen mit den gesunden Kontrollprobanden (lila) ohne spezifisches IgE. HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden; HG = Hymenopterengiftallergiker; LD = lineare Diskriminazanalyse.

Hierbei ergab sich eine MD von 1,361 (CVV 79,06 %). Es zeigte sich bei den nach IgE unterteilten Gruppen eine größere, wenn auch nicht signifikante Trennschärfe. Die Auswertung weiterer statistischer Größen ist in Tab. 9 dargestellt. Auch hierbei ergibt sich wieder eine Sensitivität von 80 %, also annähernd der gleiche Wert wie beim Vergleich der Gesamtkohorten. Der positive prädiktive Wert (*positive predictive value*, PPV) betrug allerdings 87 %, lag damit also etwas höher als beim Vergleich ohne Berücksichtigung des spezifischen IgE (vgl. 4.2.1. Tab. 7; PPV 79 %). Das bedeutet, von den positiv getesteten Probanden hatten in dieser Analytik 87 % auch tatsächlich eine Allergie gegen Bienen- oder Wespengift.

Tab. 9: Auswertung: Gesunde Kontrollprobanden mit negativem spezifischen IgE – Hymenopterengiftallergiker mit positivem spezifischen IgE. PPV = *positive predictive value*, positiver prädiktiver Wert; NPV = *negative predictive value*, negativer prädiktiver Wert.

Sensitivität	80 %
Spezifität	87 %
PPV	86 %
NPV	81 %
Falsch positiv	13 %
Falsch negativ	20 %

4.2.2.2. CAP-Klassen

Da unter ausschließlicher Berücksichtigung eines allergenspezifischen IgE als Sensibilisierungskriterium eine geringfügig bessere Trennschärfe erzielt werden konnte (vgl. 4.2.2.1.), erfolgte eine weitere Differenzierung hinsichtlich der Quantifizierung mit Unterteilung in CAP-Klassen. Hierbei wurde das Gesamtkollektiv der HG entsprechend der CAP-Klassifikation semiquantitativ für alle Allergiker und jeweils für Bienen- und Wespengift gruppiert und miteinander verglichen (vgl. Abb. 15-17).

Die Probanden teilten sich in die CAP-Klassen 0 bis 4 ein. Die CAP-Klassen 5 und 6 konnten keinem gemessenen IgE-Wert weder für Bienen- noch für Wespengiftallergie zugeteilt werden. Insgesamt zeigten elf Patienten eine Monosensibilisierung, davon zwei rein gegen Bienengift und neun rein gegen Wespengift. Eine Doppelsensibilisierung konnte bei drei der Probanden nachgewiesen werden.

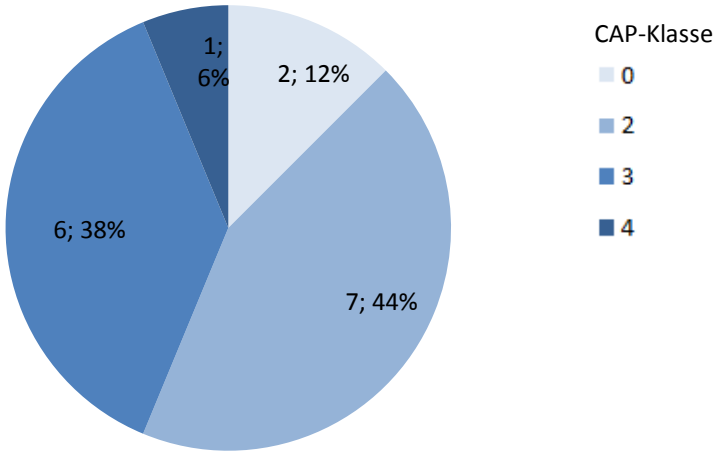


Abb. 15: Prozentuale Verteilung der gesamten Allergikerkohorte anhand der CAP-Klassifikation spezifischer IgE-Antikörper für Bienen- und/oder Wespengift. Bei doppel sensibilisierten Patienten wurde bei nicht identischer CAP-Klasse für Bienen- und Wespengift die Sensibilisierung gegen das anamnestisch stichaus-lösende und damit allergierelevante Insekt berücksichtigt (n=2).

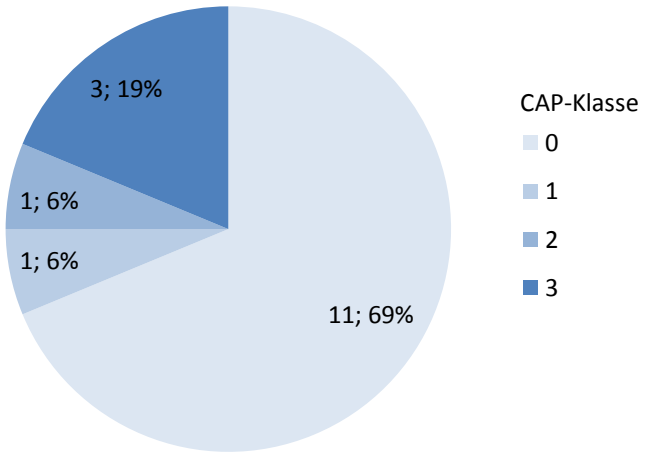


Abb. 16: Prozentuale Verteilung der Patienten anhand der CAP-Klassifikation Bienengift-spezifischer IgE-Antikörper

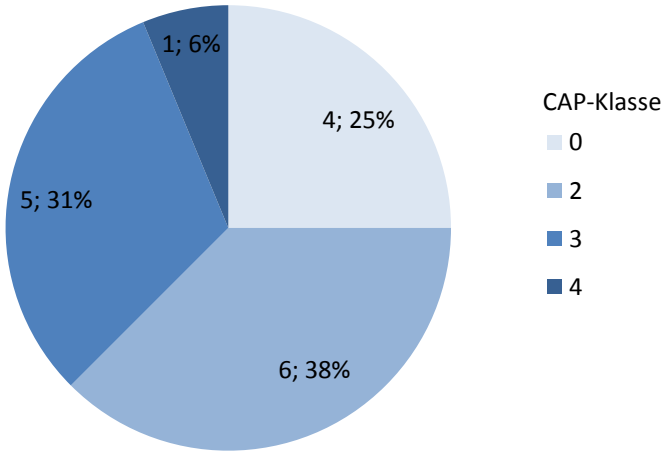


Abb. 17: Prozentuale Verteilung der Patienten anhand der CAP-Klassifikation Wespengift-spezifischer IgE-Antikörper

Tabelle 10 verdeutlicht die signifikante Unterscheidung der CAP-Klassen für gemessenes IgE aller Probanden anhand der ausgewerteten MD. Hierbei wurde erneut eine MD ≥1,96 als signifikant gewertet (vgl. 3.7.). Signifikante Unterschiede konnten dabei bei den Vergleichen der CAP-Klassen 1 und 2, der CAP-Klassen 2 und 3 sowie der CAP-Klassen 2 und 4 erzielt werden. Die restlichen Vergleiche blieben unterhalb des Signifikanzbereichs, insb. der Vergleich der CAP-Klassen 1 und 3 mit einer MD von 0,763. Die beiden Patienten der CAP-Klasse 0 wurden bei dieser Gegenüberstellung aufgrund des geringen bzw. negativen Nachweises an spezifischem IgE gegen Insektengifte nicht miteinbezogen.

Tab. 10: Mahalanobiskonstanten des Vergleichs der Hymenopterengiftallergiker nach den zugeteilten CAP-Klassen entsprechend der Konzentration allergenspezifischer IgE-Antikörper. Signifikante Werte sind blau hinterlegt.

CAP-Klasse	**2**	**3**	**4**
1	2.137	0.763	1.506
2		2.000	3.172
3			1.596

4.2.2.3. Vergleich IgE-positiver Bienen- und Wespengiftallergiker

Im Hinblick auf eine qualitative Unterscheidung der Allergiker wurden Bienen- mit Wespengiftallergikern verglichen. Hierbei wurden drei Gruppen entsprechend der Auswertung der allergenspezifischen IgE-Werte gegen Bienengift (n=2), Wespengift (n=9) und Doppelsensibilisierung (n=3) gebildet.

Aus den berechneten MD ließ sich eine Tendenz zur Trennung (MD >1) ableiten, die Trennschärfe ist jedoch bei Werten MD <1,96 nicht signifikant (vgl. Tab. 11).

Tab. 11: Mahalanobiskonstanten des Vergleichs der Hymenopterengiftallergiker nach spezifischem IgE gegen Bienengift (1), Wespengift (2) und Doppelsensibilisierung (3)

Allergenspezifisches IgE	**2**	**3**
1	1,345	1,285
2		1,222

Entsprechend zeigt auch die graphische Darstellung drei sich trennende Gruppen, jedoch nicht deutlich (vgl. Abb. 18). Hierbei wurden alle Allergiker mit einer CAP-Klasse ≥1, also einer Konzentration an allergenspezifischem IgE von ≥0,35 kU/l berücksichtigt.

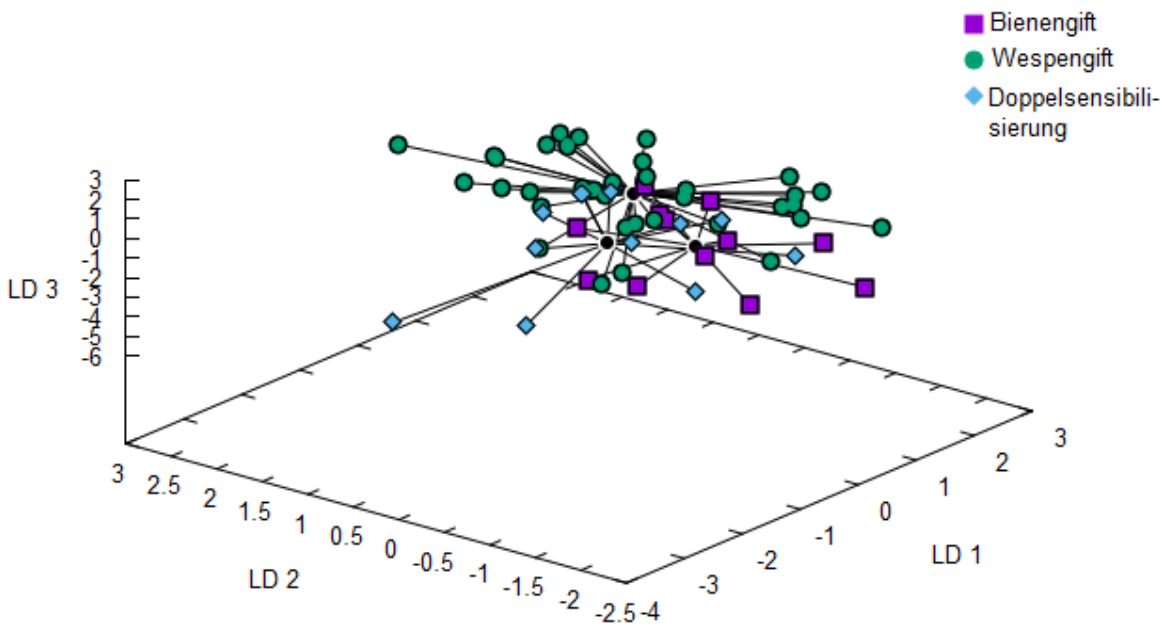


Abb. 18: Lineare Diskriminanzanalyse anhand des IgE-Status (mono- und doppelsensibilisiert) von Bienen- und Wespengiftallergikern. LD = lineare Diskriminanzanalyse.

4.2.2.4. Geschlecht

Insgesamt nahmen 17 Männer und 18 Frauen an der Studie teil. Wie bereits mehrfach erwähnt, ist die eNose sehr sensibel für Störgrößen, die die Messungen verfälschen können. Mit der Frage, ob auch das Geschlecht der Probanden einen Einfluss auf die Ergebnisse haben könnte, wurden die beiden Geschlechter miteinander verglichen. Mit einer MD <1 (0,929), einer Sensitivität von 61 % und einer Spezifität von 69 % zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Messungen im Geschlechtervergleich.

5. DISKUSSION

Ziel der in dieser Arbeit vorgestellten Pilotstudie war es, das Potenzial eines neuen Diagnostikums, der eNose, im Hinblick auf die Detektion einer Hymenopterengiftallergie zu untersuchen. Dabei wurden *breathprints* einer Patientengruppe, bestehend aus Bienen- und Wespengiftallergikern, mit denen einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.
Die Unterscheidung gelang dabei nicht signifikant. Es konnte lediglich eine Tendenz zur Trennung der beiden Gruppen abgeleitet werden (MD 1,141; CVV 72,61 %; Sensitivität 81 %; Spezifität 75 %). Die Diagnostik von Hymenopterengiftallergien mittels eNose funktioniert also nicht zuverlässig. Es konnte jedoch zumindest ein Eindruck gewonnen werden.
Bei der Auswertung und Einordnung der Ergebnisse ist wichtig zu bedenken, dass verschiedene Störfaktoren, wie bspw. Umwelteinflüsse oder Anfälligkeiten des Geräts und der Methodik, den Messablauf beeinflussen können. Zudem sind auch die Größe, die Zusammensetzung und die individuellen Charakteristika der Studienpopulation kritisch zu würdigen, denn auch endogene Faktoren, wie etwa metabolische Prozesse und Begleiterkrankungen können Einfluss auf das VOC-Profil jedes Individuums nehmen (Greulich et al., 2013; Heers et al., 2018; Hubers et al., 2014). Allerdings erfolgten bereits Studien unter weitgehend ähnlichen Bedingungen wie in der beschriebenen Pilotstudie, die jedoch im Vergleich zu dieser signifikante Ergebnisse liefern konnten (vgl. 5.1.; Greulich et al., 2013; Hattesohl et al., 2011).

Eine Anwendung der eNose im klinischen Alltag würde voraussetzen, dass die Diagnostik mittels eNose relativ zuverlässig ist. Das bedeutet, dass auch bei kleineren Gruppen eine sichere Unterscheidung zwischen HG und HC gelingen müsste.
Zudem ist im klinischen Alltag bereits eine relativ zuverlässige Allergiediagnostik etabliert. In dieser Pilotstudie sollen daher die Vorteile und damit verbunden auch die Relevanz der neuen Methode, insb. im Hinblick auf Effizienz, Zuverlässigkeit und Patientensicherheit aufgezeigt werden. In Letzterer liegt wahrscheinlich der größte Mehrwert, da die Allergiker nicht mehr wie bisher dem

Allergen ausgesetzt werden müssten und daher die Gefahr einer allergischen bzw. anaphylaktischen Reaktion gänzlich aus der Diagnostik verschwinden würde. Davon könnten auch diejenigen Patienten profitieren, die eine AIT bereits erfolgreich abgeschlossen haben, die Toleranz jedoch im Laufe der Jahre wieder verlieren. Durch die innovative Diagnostikmethode könnte dieser Verlust festgestellt und entsprechende vorsorgliche bzw. therapeutische Maßnahmen vor einem potenziell fatalen Stichereignis erneut eingeleitet werden.

5.1. Bewertung der Aussagekraft der Messergebnisse

Das Erkennen von Erkrankungen durch Messung von VOCs aus der Ausatemluft konnte bereits seit mehreren Jahren erfolgreich in Studien nachgewiesen werden. Vor allem bei Krankheiten der Atemwege, wie z. B. Lungenkarzinom, Asthma bronchiale, OSAS oder COPD eignet sich die Untersuchung der Ausatemluft mittels eNose als zuverlässiges diagnostisches Mittel (Biehl et al., 2019; Fielding et al., 2020; Greulich et al., 2013; Greulich et al., 2018; Hattesohl et al., 2011; Hofbauer et al., 2010; Koczulla et al., 2011).

So wurden bei den Untersuchungen von Greulich et al. 2013 *breathprints* von 40 OSAS-Patienten mit denen 20 gesunder Kontrollprobanden verglichen (MD 1,88; CVV 79,5 %; Sensitivität 93 %; Spezifität 70 %). Im Unterschied zur vorliegenden Pilotstudie lagen bei den gesunden Kontrollprobanden keinerlei Begleiterkrankungen und keine Dauermedikation vor, was möglichweise ein Grund für eindeutigere Ergebnisse war (Greulich et al., 2013).

Ebenfalls unter denselben Bedingungen untersuchten Hattesohl et al. 2011 *breathprints* von COPD-Patienten mit (n=10) und ohne (n=23) Alpha-1-Antitrypsin-Mangel (AAT). Verglichen wurde mit zehn gesunden Kontrollprobanden. Die Kohortengrößen waren also z. T. noch geringer als in der vorliegenden Studie. Dennoch gelang eine signifikante Unterscheidung der beiden COPD-Gruppen mittels eNose (MD 2,27; CVV 58,2 %; Sensitivität 100 %; Spezifität 100 %). Innerhalb der COPD-Kohorten wurden u. a. auch Raucher eingeschlossen (Hattesohl et al., 2011). Die Ausschlusskriterien waren also weniger streng als in der vorliegenden Studie. Die signifikante Unterscheidung ist daher am wahrscheinlichsten auf das untersuchte Krankheitsbild zurückzuführen.

Jedoch beschränkt sich das Erriechen der Krankheiten nicht nur, wie naheliegend, auf Pathologien des Respirationstrakts, vielmehr gelang es bereits, auch andere systemische Krankheiten, wie z. B. neurodegenerative Erkrankungen (Bach et al., 2015), Diabetes mellitus (Hofbauer et al., 2010) oder Karzinome, die nicht die Atemwege betreffen (Heers et al., 2018; Peng et al., 2010), in Abgrenzung zu gesunden Kontrollproben und auch zueinander mittels eNose zu differenzieren.

Dies deutet auch die durchgeführte Studie an. Trotz nicht signifikanter Messergebnisse konnte eine Tendenz bezüglich einer Unterscheidung zwischen HG und HC abgeleitet werden.

Die ausbleibende Signifikanz ist wohl am wahrscheinlichsten der noch nicht ausgereiften Methodik mit noch fehlendem klinischen Goldstandard sowie den kleinen Kohortengrößen der vorliegenden Studie geschuldet. Vor dem Hintergrund der sehr sensiblen Reaktion der eNose auf Störeinflüsse erwies sich v. a. die geringe Probandenzahl als sehr limitierend im Hinblick auf das angestrebte Ziel einer signifikanten Unterscheidung.

Interessant ist außerdem, welches endogene Merkmal für die Unterscheidung durch die eNose tatsächlich relevant ist. Ist der immunologische Status des Patienten ausschlaggebend, der ja nicht zwangsläufig das Vorliegen einer Allergie bedeutet, oder vielmehr die klinische Symptomatik der Allergie? Des Weiteren wurde die Hymenopterengiftallergie der Patienten nicht komplett eindeutig diagnostiziert, da keine Stichprovokation mit dem Insekt erfolgte, welche letztendlich der einzige Beweis wäre. Dies wurde aus ethischen Gründen nicht durchgeführt und ist aufgrund des Risikos schwerer Anaphylaxien auch in der etablierten Diagnostik nicht üblich (Ruëff et al., 2023).

5.1.1. Breathprints

Die ausgewerteten *breathprints* der HG konnten mit einer MD von 1,141 von denen der HC unterschieden werden. Damit ergibt sich zwar keine signifikante, jedoch eine Tendenz zur Differenzierung der beiden Gruppen. Der CVV betrug in diesem Vergleich 72,61 %, was bedeutet, dass in allen Messdurchläufen im Durchschnitt 72,61 % der Ergebnisse der richtigen Kohorte zugeordnet wurden.

Die Gründe für die nicht signifikante Unterscheidung der Gruppen können vielseitig sein. Zunächst handelt es sich um eine Pilotstudie. Die Probandenzahlen

in beiden Kohorten waren relativ gering und die Kohorten sehr heterogen was Probandenmerkmale, wie bspw. Alter, Geschlecht oder Vorerkrankungen, betrifft (vgl. 5.2.1.).

Ein weiterer Grund der unzureichenden Unterscheidung der Gruppen könnte der große Einfluss von Störfaktoren (vgl. 5.2.2.) sein, der sich insb. im Hinblick auf die überschaubare Probandenzahl in beiden Kohorten entsprechend deutlich auswirken könnte.

Nichtsdestotrotz gelang in der Analyse der gesamten Gruppen zumindest eine grobe Unterscheidung, was auf eine mögliche Detektierbarkeit von Hymenopterengiftallergien hoffen lässt. Für eine Verwendung im klinischen Alltag müsste das Device jedoch auch bei kleinen Gruppen zuverlässige Ergebnisse liefern können.

5.1.2. Immunologischer Status

Ein beachtlicher Anteil (32 %) der HC zeigte im immunologischen Status eine Sensibilisierung gegenüber Bienen- und/oder Wespengiftextrakt. Auch in der Literatur wird eine Insektengiftsensibilisierung bei ca. 40 % der allgemeinen Bevölkerung beschrieben (Ruëff et al., 2023). Die Wahrscheinlichkeit einer Sensibilisierung hängt dabei von der Exposition, z. B. durch Freizeitaktivitäten im Freien oder Leben in einer ländlichen Region, ab (Schäfer, 2009). Die Sensibilisierungsrate für Hymenopterengift deckte sich also in der vorliegenden Studie weitgehend mit der bekannten Rate in der Gesamtbevölkerung.

Aus diesem Grund erfolgte auch ein Vergleich, bei dem die HC nicht nur keine klinisch manifesten Allergien aufwiesen, sondern auch keine durch allergenspezifische IgE-Antikörper nachweisbare Sensibilisierung (als Zeichen einer potenziellen Entwicklung einer Allergie), und zwar nicht nur gegen Insektengift, sondern auch gegen die klassischen Aeroallergene. Umgekehrt wurden von den untersuchten HG nur die berücksichtigt, die in der Serologie spezifisches IgE (≥0,35 kU/l) gegen Bienen- und/oder Wespengift aufwiesen und bei denen keine weiteren Sensibilisierungen mit spezifischen IgE-Antikörpern gegen Aeroallergene detektiert werden konnten. Unter diesen Bedingungen zeigte die MD einen höheren Wert (1,361 vs. 1,141). Dies könnte bedeuten, dass der immunologische Status, in diesem Fall also der Sensibilisierungsstatus, die von der eNose ermittelten Werte beeinflusst, so dass eine Differenzierung

von Patienten mit einer Insektengiftallergie von denen, die keine haben, umso eher möglich ist, wenn distinkte, komplett unterschiedliche IgE-Profile vorliegen. In einer weiteren Subgruppenanalyse wurden die Patienten nach ermittelter CAP-Klasse gruppiert und miteinander verglichen (vgl. 4.2.2.2.). Die Zuteilung zu einer CAP-Klasse erfolgt durch die quantitativ gemessene Menge an spezifischem IgE. Dabei zeigten sich z. T. signifikante Unterscheidungen mit MD >2. Dies lässt ebenfalls vermuten, dass der Sensibilisierungsstatus und insb. auch die Menge an spezifischem IgE Auswirkungen auf die Exhalatanalyse haben. Signifikant hohe MD zeigten sich bei den Vergleichen mit CAP-Klasse 2, welche die höchste Zahl an Probanden enthielt (n=7) und somit womöglich am ausdrucksstärksten war. Dies könnte daher auch ein verzerrender Kofaktor beim Vergleich der CAP-Klassen sein.
In der klinisch etablierten Diagnostik der Hymenopterengiftallergien erfolgt neben der Bestimmung des Extraktallergens bei unklarer Anamnese, bestehender Doppelsensibilisierung oder Verdacht auf ein nicht-plausibles Ergebnis außerdem eine Bestimmung der Markerallergene (Jakob et al., 2017; Ruëff et al., 2023). In der vorliegenden Untersuchung war dies entbehrlich, da es nicht um das Insekt, sondern um den Vergleich HC vs. HG ging. Außerdem war die Anamnese bei Rekrutierung der Patienten eindeutig.

Bezüglich eines Einsatzes in der Krankheitsdiagnostik finden sich in der Literatur Studien zur Untersuchung v. a. riechbarer Stoffe, wie z. B. Wundsekret, Urin oder Atemluft. Der Nachweis erfolgte in diesen Studien durch direkte Analyse der VOCs aus dem Probenmaterial. Beispiele hierfür sind die Erkennung β-hämolysierender Streptokokken aus Wunden (Parry et al., 1995) oder urologischer Infektionen im Urin (Aathithan et al., 2001; Kodogiannis & Wadge, 2005; Pavlou et al., 2002). Auch der Nachweis von Erkrankungen des Respirationstrakts erfolgte direkt aus dem betroffenen „Medium“, nämlich der Ausatemluft (Koczulla et al., 2011). 2018 zeigten Greulich et al. in einer Studie die Unterscheidung von Patienten mit OSAS von gesunden Kontrollprobanden mittels der eNose auf. Dazu wurden außerdem Messungen mittels IMS durchgeführt, über die auch eine Substanzanalyse erfolgen kann. Dabei ergab sich der Befund von 2-Methylfluran im Exhalat, aber auch im Blut und im Atemwegssekret der erkrankten Probanden. Dies deutet daraufhin, dass Substanzen eine Tran-

sition vom Blut in die Alveolen bzw. entgegengerichtet unterlaufen könnten. In der Konsequenz würde dies bedeuten, dass Inhaltsstoffe verschiedener Kompartimente für die Diagnostik von Atemwegserkrankungen genutzt werden könnten (Greulich et al., 2018). Diese Hypothese lässt sich auch auf die vorliegende Studie übertragen, die postuliert, dass Substanzen, wie z. B. spezifisches IgE oder IgE-assoziierte Faktoren, vom Blut in die Ausatemluft übertreten könnten.

Ein weiteres Beispiel ist eine Studie von COPD-Patienten aus dem Jahr 2011 von Hattesohl et al. Durch die eNose gelang dabei eine signifikante Unterscheidung zwischen COPD-Patienten mit und ohne AAT. Interessanterweise zeigten sich in dieser Studie in den erfolgten Verlaufsmessungen nach Substitution von Alpha-1-Antitrypsin andere *breathprints* als zuvor (Hattesohl et al., 2011), was bedeutet, dass die eNose die Veränderung der Substanz im Körper registrieren konnte. Spiegelt man diese Erkenntnis auf die vorliegende Studie wider, so liegt die Frage nahe, ob auch der Verlauf bzw. der Erfolg einer AIT über die *breathprints* gemessen werden kann. Im Rahmen der Hyposensibilisierung ist die Menge an spezifischem IgE im zeitlichen Verlauf abnehmend (Hollstein et al., 2023; Strobl et al. 2023). Geht man davon aus, dass die eNose-Ergebnisse von der Menge an spezifischem IgE beeinflusst werden, so könnte dieser Effekt für die Messung der Wirkung und dementsprechend als Erfolgskontrolle einer AIT in Betracht gezogen werden. Dieses Thema könnte Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein.

Es existieren auch Daten, die eine Unterscheidung von Exhalatproben bei Allergikern zumindest indirekt konstatieren. 2013 wurden in einer Studie in der Ausatemluft von Kindern mit AR die Konzentrationen von Stickstoffmonoxid und verschiedenen Interleukinen (IL-6 und IL-13) gemessen (Zagórska et al., 2013). IL-13 nimmt eine wichtige Rolle in der Synthese und Sekretion von IgE bei Allergien ein (Punnonen et al., 1993). Zagórska et al. gelang eine signifikante Unterscheidung der erkrankten Kinder von gesunden Kontrollprobanden. Diese Ergebnisse legen nahe, dass immunologische Parameter in der Ausatemluft (hier Interleukine) eine Differenzierung von Allergikern und Nicht-Allergikern erlauben könnten. Da IgE allerdings kein allergiedefinierender Parameter ist (da auch nicht-allergische, nur sensibilisierte Personen allergenspezifisches IgE, bspw. gegen Insektengift, aufweisen können), könnte sein Vorkommen in der

Ausatemluft ein limitierender Faktor für die Unterscheidung von HG und nicht-allergischen Personen sein. Der Unterschied zu den o. g. Beispielen liegt darin, dass die gemessenen „Stoffe“, nämlich das spezifische IgE bzw. IgE-assoziierte Faktoren primär in der Blutbahn vorkommen. Entsprechendes spiegeln auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie wider. In anderen Untersuchungen gelang es, Antikörper aus Kondensaten der Ausatemluft auszusondern. In diesen Studien ging es allerdings v. a. um die Etablierung einer geeigneten Technik, endogene und exogene Stoffe aus der Ausatemluft zu extrahieren und zu identifizieren und weniger um den klinisch diagnostischen Zweck (Bredberg et al., 2012; Morozov et al., 2018; Tinglev et al., 2016).

Sofern durch die eNose primär nur eine IgE-vermittelte Sensibilisierung gegenüber Hymenopterengift detektiert werden kann, ist festzustellen, dass dies für die klinische Diagnostik ohne Mehrwert wäre und keine therapeutische Konsequenz hätte. Grund hierfür ist, dass bekanntermaßen das Ausmaß einer Reaktion in der Hauttestung und auch die Höhe des gemessenen spezifischen IgE weder eine eindeutige Aussage über das Vorliegen einer klinisch relevanten Hymenopterengiftallergie erlauben noch mit der Schwere der Stichreaktion korrelieren. So ist es bspw. möglich, dass starke Reaktionen in den Hauttestungen und hohes spezifisches IgE gegen Bienen- oder Wespengift bei Patienten mit nur schwacher Stichreaktion gemessen werden und andererseits bei Patienten mit schwerer systemischer Reaktion nur niedriges spezifisches IgE bzw. nur geringe Reaktionen in der Hauttestung auftreten (Ruëff et al., 2009; Ruëff et al., 2023). Darüber hinaus ist bekannt, dass bei Patienten mit hohem Gesamt-IgE-Spiegel vergleichsweise häufiger eine klinisch irrelevante Sensibilisierung gegen Hymenopterengift besteht (Sturm et al., 2009; Sturm et al., 2014). Bei niedrigem Gesamt-IgE hingegen müssen auch die Grenzwerte des spezifischen IgE angepasst werden (positiv ab 0,10 bis 0,35 kU/l) (Sturm et al., 2019). Durch Kombination der Hauttestungen mit der Untersuchung des spezifischen IgE und ggf. wiederholter Testung im Intervall von vier bis sechs Wochen lässt sich dabei die Sensitivität verbessern, insb. wenn kein IgE (CAP-Klasse 0) nachweisbar war (Goldenberg & Confino-Cohen, 1997; Przybilla et al., 2011).

Sofern die eNose lediglich einen Sensibilisierungsnachweis liefern könnte, würde es sich hierbei somit nur um einen diagnostischen Faktor handeln, der – zumindest nicht alleinig – als ein Kriterium für den klinischen Status eines Insektengiftallergikers herangezogen werden kann. Wie bereits erwähnt, besteht innerhalb der Bevölkerung eine Rate von ca. 40 %, was die Sensibilisierung gegenüber Bienen- und/oder Wespengift betrifft. Wünschenswert wäre vielmehr, dass eine Detektion wirklich klinisch manifester Allergiker gelingen würde. Kritisch kann man formulieren, dass im Falle eines alleinigen Nachweises der Sensibilisierung die eNose der gängigen Diagnostik (Nachweis des spezifischen IgE in Blutproben) nur dahingehend überlegen wäre, dass es für den Patienten weniger Invasivität bedeuten würde. Der zeitliche und finanzielle Aufwand ist bei der eNose-Messung jedoch höher als bei der Blutentnahme und der laboranalytischen Untersuchung der Serumprobe.

Zu bedenken ist auch, dass der Nachweis einer bloßen Sensibilisierung gegen Bienen- oder Wespengift zur Verunsicherung des Untersuchten führen kann, v. a. dann, wenn keine eindeutige Indikation zur AIT besteht und somit Therapieentscheidungen durch die Befunde eher erschwert werden.

5.1.3. Gegenüberstellung der eNose-Diagnostik zur etablierten Allergiediagnostik

Die in der Studie durchgeführten Messungen deckten sich mit der parallel durchgeführten Diagnostik im Rahmen der klinischen Vorstellung der Patienten im Allergiezentrum Hessen, UKGM, Standort Marburg. Was die Zuverlässigkeit der Ergebnisse betrifft, bleibt die eNose der etablierten Diagnostik durch Pricktest und Serologie, insb. deren Kombination, unterlegen. Die Sensitivität der Hauttests der Insektengiftallergien beläuft sich auf Werte um 90 %, die Sensitivität der Untersuchung auf spezifisches IgE gegen Hymenopterengift liegt etwas darunter (Bilò et al., 2005). In der vorliegenden Studie gelang eine Unterscheidung durch die eNose mit einer maximalen Sensitivität von 81 %. Die Sensitivität der eNose lag also etwas unterhalb der Sensitivität der etablierten Diagnostik.

Konventionell werden die Patienten entsprechend vorhandener Leitlinien nach einem diagnostischen Algorithmus untersucht, der zur Diagnosestellung und Therapieentscheidung führt (Golden et al., 2017; Ruëff et al., 2023). Die Haut-

testung mittels Pricktest bzw. Intrakutantest stellt den Goldstandard dar und wird durch die serologische Untersuchung auf spezifisches IgE ergänzt (Bilò & Bonifazi, 2011; Ruëff et al., 2023). Zur Aussagekraft der Hauttestung bei Hymenopterengiftallergie gibt es Studien, die die Methode immer wieder re-evaluierten. Der Intrakutantest ist verglichen mit dem Pricktest zeitintensiver, schmerzhafter und fehleranfälliger, insb. für falsch positive Ergebnisse (Ruëff et al., 2011).

Möbs et al. führten 2018 eine Studie zu einem höher konzentrierten Pricktest durch (300 µg/ml statt bisher maximal 100 µg/ml). Hierbei zeigte sich eine ähnlich hohe Sensitivität wie durch die konventionelle Testung mit 100 µg/ml und zusätzlichem Intrakutantest mit 1 µg/ml (Möbs et al., 2018).

Gemäß den aktuellen Leitlinien sind zur Diagnose einer Hymenopterengiftallergie die positive Anamnese und eine positive Reaktion in der Hauttestung oder der Nachweis entsprechender spezifischer IgE-Antikörper erforderlich. Allerdings wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass im Falle einer eindeutigen Diagnosestellung mittels In-vitro-Verfahren Hauttests entfallen können (Ruëff et al., 2023).

Allerdings ist die Bestimmung der spezifischen IgE-Antikörper auch von der Testmethode, dem Messzeitpunkt, dem stichauslösenden Insekt und evtl. vorliegender Kreuzreaktivität abhängig (Rieger-Ziegler et al., 1999; Sturm et al., 2014). So zeigten sich im Vergleich verschiedener Testverfahren zur Bestimmung des spezifischen IgE unterschiedliche Sensitivitäten abhängig von der jeweiligen Methode (Aberer et al., 2004). Durch die Testung auf Einzelallergene des Gifts kann die Sensitivität verbessert werden (Vachová et al., 2016). Bezüglich der Sensibilisierung auf Insektengifte liefern Haut- und Labortestung in nur unter 2 % falsch negative Ergebnisse (Przybilla & Ruëff, 2010).

Ein diagnostisches Problem ist jedoch, dass nicht zwischen einer asymptomatischen Sensibilisierung und einer tatsächlich klinisch relevanten Allergie unterschieden werden kann (Sturm et al., 2018). In der durchgeführten Pilotstudie gelangen beim Vergleich der monosensibilisierten Gruppen bessere Differenzierungen als bei der Gegenüberstellung der Gesamtkohorten. Rückschließend kann daher konstatiert werden, dass die Sensibilisierung und nicht die klinisch manifeste Allergie für die Messergebnisse verantwortlich ist. Einerseits handelt es sich hierbei um ein gutes Ergebnis. Immerhin ließen sich auf diese Weise

mittels non-invasiver Messung des Exhalats durch die eNose Rückschlüsse auf den Sensibilisierungsstatus eines Patienten ziehen. Andererseits wäre allerdings v. a. eine Unterscheidung der Proben klinisch manifester Allergiker von denen gesunder Kontrollprobanden wünschenswert gewesen. Da diese Studie hierfür keinen sicheren Beleg liefern konnte, ist der Mehrwert der eNose für die Fragestellung im klinischen Alltag aktuell gering. Könnte die eNose eine sichere Differenzierung zwischen HC und HG treffen, wäre sie nicht nur als ergänzendes Tool im Rahmen der Allergiediagnostik einsetzbar, sondern könnte den bisher etablierten Verfahren sogar überlegen sein.

5.2. Limitationen

In der vorliegenden Studie zeigten sich Tendenzen zur Unterscheidung der HG von den HC. Signifikante Ergebnisse konnten nicht erzielt werden. Daher müssen die Limitationen der Methodik kritisch diskutiert werden.

5.2.1. Studienpopulation

Eine Limitation dieser Studie war sicherlich die geringe Probandenzahl. Dies lag u. a. an den Anforderungen an die Studienteilnehmer, um eine relativ konsistente Patientenkohorte zu gewährleisten. Durch den hohen Einfluss von Störfaktoren auf das Messergebnis entstanden viele Ausschlusskriterien. Zigarettenrauchen oder das Vorliegen weiterer Allergien sowie Vorerkrankungen bezüglich des Respirationstrakts waren die häufigsten Gründe, warum potenzielle Probanden nach dem initialen Screening von der Studie ausgeschlossen werden mussten. Die strengen Kriterien galten dabei nicht nur für die HG, sondern auch für die HC, so dass sich auch deren Rekrutierungsprozess sehr aufwendig gestaltete.

Das Vorliegen von Komorbiditäten (z. B. arterielle Hypertonie) könnte Einfluss auf die Messergebnisse haben. Patienten mit Herz-Kreislauferkrankungen haben ein erhöhtes Risiko für eine schwere Anaphylaxie. Gleiches gilt für Patienten mit erhöhten basalen Serumtryptasewerten (Francuzik et al., 2020). In Folgestudien könnten diese Parameter bspw. als mögliche Confounder mit aufgenommen und berücksichtigt werden, inwiefern diese Eigenschaften einen Unterschied bei der eNose-Messung verursachen. Eine dabei zu untersuchende

Hypothese wäre, ob die Unterscheidung besser gelingt, wenn ein höherer Schweregrad der Anaphylaxie vorliegt. Aufgrund der geringen Probandenzahl war in dieser Pilotstudie hierzu kein sinnvoller Vergleich möglich.
Bei 32 % der HC zeigte sich in der Serologie eine Sensibilisierung gegen Hymenopterengift. Es kann angenommen werden, dass dies Einfluss auf die Messergebnisse hat (vgl. 4.2.2.1.). Möglicherweise hätten einige der sensibilisierten HC durch eine Hauttestung vorab identifiziert werden können. Allerdings wäre dies ethisch nicht vertretbar gewesen, da durch die Pricktestung gesunder Probanden ggf. eine Sensibilisierung induziert wird. Aus diesem Grund wird grundsätzlich keine Hauttestung asymptomatischer Patienten empfohlen (Ruëff et al., 2023). Des Weiteren ist bei den sensibilisierten HC nicht sicher, ob diese Probanden tatsächlich nur sensibilisiert sind oder ob es sich um Allergiker handelt, die bisher noch nicht von einer Biene oder Wespe gestochen wurden. Sicherheit dafür würde nur die Stichprovokation geben, welche ebenfalls aus ethischen Gründen bei fehlender medizinischer Indikation nicht durchgeführt werden kann (Ruëff et al., 2023). Diese Unschärfe bleibt.

Außerdem war die Kohortenzusammensetzung relativ heterogen bezüglich Alter und Geschlecht.
Das Durchschnittsalter bei den HC betrug 34 Jahre, die HG waren im Mittel 54 Jahre alt, was die Vergleichbarkeit einschränkt. Insbesondere das Vorliegen von bisher nicht diagnostizierten Komorbiditäten sowie die höhere Sensibilisierungswahrscheinlichkeit durch längere Lebenszeit können die Messergebnisse beeinflussen. Der Grund für das deutlich niedrigere Durchschnittsalter der HC könnte im Rekrutierungsprozedere liegen. Die Rekrutierung erfolgte durch Aushänge im UKGM, Standort Marburg und auf dem Campus, weshalb sich vorwiegend Studierende, also i. d. R. ein jüngeres Kollektiv, zur Verfügung stellten.
Bei den HC waren 26 % Männer und 74 % Frauen, bei den HG 75 % männlich und 25 % weiblich. Die Zusammensetzung war also fast umgekehrt. Für eine gute Projizierbarkeit der Ergebnisse auf die Gesamtbevölkerung wäre eine gleichmäßige Verteilung zwischen Männern und Frauen in beiden Kohorten wünschenswerter gewesen. Die Unterschiedlichkeit der Gruppen in diesem Punkt ist am ehesten dem Zufall geschuldet. In einer Subgruppenanalytik wurden die *breathprints* der beiden Geschlechter miteinander verglichen. Dabei

ergab sich eine MD unter 1 (0,929), was einem sehr geringen Wert entspricht. Die Sensitivität betrug in diesem Vergleich 61 %. Die *breathprints* von Männern und Frauen lassen sich also nicht durch die eNose unterscheiden, was bedeutet, dass das Geschlecht kein Störfaktor für die eNose-Messungen ist. Auch wenn die unterschiedliche Geschlechterverteilung in den beiden Gruppen zwar nicht die Gesamtbevölkerung repräsentiert, ist daher anzunehmen, dass dies kaum Einfluss auf die Messergebnisse hatte.

5.2.2. Mögliche Störfaktoren bei der eNose-Messung

Unter der Annahme des Vorhandenseins krankheitsdefinierender VOC-Profile in der Ausatemluft setzt sich der Einsatz elektronischer Nasen zu wissenschaftlichen Zwecken zum Ziel, diese zu erkennen und zu unterscheiden. Da VOCs ubiquitär in der Umgebung vorhanden sind (exogen) und auch durch körpereigene Prozesse entstehen (endogen), wird die Messung der gesuchten VOCs erschwert bzw. kann verfälscht werden.

Die Zusammensetzung endogener VOCs wird durch den körpereigenen Stoffwechsel bestimmt. In den Alveolen gelangen sie vom Blut in die Atemluft. Die Konzentration der VOCs reflektiert beinahe ihr Vorhandensein im arteriellen System. Insbesondere Begleiterkrankungen, Nahrungsgewohnheiten, Rauchen, Dauermedikation und die Verwendung kosmetischer Produkte haben Einfluss auf die Zusammensetzung endogener VOCs (Röck et al., 2008). Um diese Störfaktoren möglichst klein zu halten, wurden die Probanden im Vorfeld der Messung zu Komorbiditäten befragt und ausdrücklich um den Verzicht entsprechender Produkte gebeten (vgl. 3.2.).

Mittels der Cyranose320® konnten in Studien verschiedene Bakterien- oder auch Pilzkulturen erkannt werden (Dutta et al., 2002; Pavlou et al., 2002) und auch bereits Infektionen des Respirationstrakts, wie etwa chronische Rhinosinusitis, nachgewiesen werden (Mohamed et al., 2003). Das Vorliegen einer Begleiterkrankung infektiöser Genese ist somit ein möglicher Störfaktor. Deshalb wurde eine dahingehend negative Anamnese vorausgesetzt. Die Patienten mussten sich also alle gesund fühlen und durften keine bekannten chronischen Infektionskrankheiten haben. Eine unauffällige Lungenfunktion war ebenfalls Bedingung und wurde durch eine spirometrische Untersuchung bestätigt. Das inapparente Vorliegen eines infektiösen Geschehens konnte jedoch natürlich

nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Gleiches gilt für andere Komorbiditäten. Erkrankungen der Atemwege, sowohl akut wie auch chronisch, waren ein Ausschlusskriterium für die Teilnahme an der Studie. Grund hierfür ist, dass die Nachweisbarkeit pulmonaler Pathologien, wie Asthma bronchiale, COPD, OSAS oder Lungenkarzinomen durch die Bestimmung von VOCs im Exhalat bereits mehrfach in Studien gelang (Dragonieri et al., 2009; Fens et al., 2011; Greulich et al., 2018; Hattesohl et al., 2011; Machado et al., 2005; Mazzone et al., 2007).

Aber auch für nicht-respiratorische Krankheiten gibt es bereits Daten, die auf eine Messbarkeit entsprechender VOCs in der Ausatemluft hinweisen. Anzuführen ist hier etwa eine Erkrankung an Diabetes mellitus (Hofbauer et al., 2010; Yu et al., 2005), das Vorliegen einer Urämie im Rahmen einer chronischen Nierenerkrankung (Lin et al., 2001) oder die Diagnostik von neurodegenerativen Erkrankungen, wie z. B. Alzheimer oder Parkinson (Bach et al., 2015).

Auch der Sensibilisierungsstatus des Patienten muss vor dem Hintergrund der gewonnenen Ergebnisse im Bereich der endogenen Störfaktoren genannt werden. Unter 5.1.2. wurde dies bereits erläutert und diskutiert. Die Ergebnisse lieferten den Hinweis, dass das Vorliegen von spezifischem IgE Einfluss auf die Messergebnisse hat. Mit dem damit verbundenen Nachweis einer Sensibilisierung könnte die eNose einen wichtigen diagnostischen Faktor detektieren. Jedoch sind, wie genannt, viele Menschen (ca. 40 % der Bevölkerung) gegen Bienen- oder Wespengift sensibilisiert (Ruëff et al., 2023). Ziel der Pilotstudie war allerdings, die Allergiker zu diagnostizieren. Angesichts dessen könnte man den IgE-Status überspitzt formuliert auch als Störfaktor werten, da dadurch zwar Sensibilisierung erkannt werden kann, jedoch nicht die klinische Relevanz.

Da bei der eNose-Messung alle in der Probe vorhandenen VOCs zu einer Sensoraktivierung führen können, ist es wichtig, das Exhalat so rein und standardisiert wie möglich zu sammeln. Viele Nebenfaktoren, wie Luftfeuchtigkeit, Materialzusammensetzung oder auch Temperatur, nehmen Einfluss auf das Messergebnis (Montuschi et al., 2013). Dies trifft besonders auf die in der eNose verbauten Polymersensoren zu (Wilson & Baietto, 2009). Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurden alle Messungen gemäß des beschriebenen vorgegebenen Ablaufs durchgeführt, der simultan auch in anderen Studien bereits

zum Einsatz kam (Dragonieri et al., 2007; Fens et al., 2009). Hierbei ist v. a. die Reduktion der Kontamination durch Umgebungsluft wichtig. So fanden alle Messungen im selben, eigens für die eNose-Untersuchungen vorgesehenen Raum statt. Raumluft und Lüftungsmechanismus sowie Raumtemperatur sollten für die Messungen so standardisiert wie möglich sein (Röck et al., 2008). Daher erfolgten die Messungen bei bereits für 10 min. geschlossener Tür unter Inspiration standardisierter medizinischer Luft. Selbst unter diesen Vorkehrungen ist jedoch eine Kontamination durch exogene VOCs nicht gänzlich auszuschließen.

Verfälschen kann zusätzlich auch das Totraumvolumen eines jeden Atemzugs. So konnte bereits gezeigt werden, dass Proben alveolärer Luft einen höheren Anteil endogener und geringeren Anteil exogener VOCs enthalten (Miekisch et al., 2008). Der Volumenanteil, der nicht am alveolären Gasaustausch teilnimmt (Totraumvolumen), kann keine endogenen VOCs transportieren. Vielmehr verdünnt und verfälscht er die ohnehin schon geringe Konzentration der VOCs in der ausgeatmeten alveolären Luft. Um möglichst nur die alveoläre Luft zu sammeln, müsste parallel zum Atemmanöver eine Kapnografie abgeleitet werden, um die „alveoläre Phase“ zu identifizieren. Die Sammlung des Exhalats endet dabei bevor das endtidale Maximum der Kohlenstoffdioxidkonzentration erreicht wird (vgl. Abb. 19) (Miekisch et al., 2008).

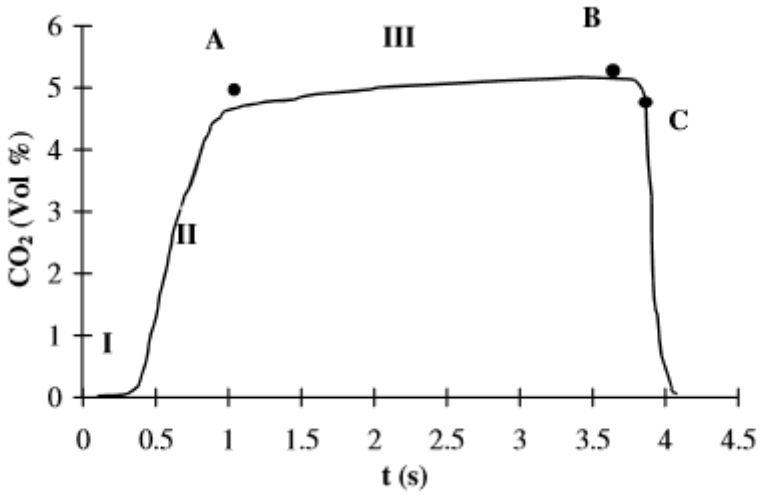


Abb. 19: Kapnografie eines Atemzugs zur Identifizierung und Sammlung der alveolären Ausatemluft (modifiziert nach Miekisch et al., 2008). A: Start der alveolären Sammlung; B: Ende der alveolären Sammlung (maximale CO_2-Konzentration); C: Ende der Exhalation; I: Inspirationsphase; II: gemischte Phase; III: alveoläre Phase. t = Zeit; Vol % = prozentuales Volumen; s = Sekunden.

Nicht zuletzt ist auch die Compliance der Probanden Voraussetzung für den Erfolg der Messungen. Gemeint sind hierbei nicht nur korrekte Angaben, z. B. bzgl. der Vorerkrankungen, des Verzichts auf Nikotin und Deodorants sowie Zähneputzen, sondern auch die exakte Ausführung des Atemmanövers entsprechend den Anweisungen des Untersuchers.

Hierbei muss allerdings hervorgehoben werden, dass die aufgezählten endogenen und exogenen Störfaktoren im experimentellen Setting durch die o. g. Maßnahmen und die stringente Durchführung der Messungen minimiert wurden, um den Faktor der Anfälligkeit der eNose für diese Variablen so gering wie möglich zu halten. Dadurch gelang auch die Erhebung vergleichbarer Messwerte. Waren die technischen und strukturellen Voraussetzungen gegeben, so erfolgte der Messablauf schnell in routinierter Weise und die Fehleranfälligkeit sollte dadurch bestmöglich reduziert worden sein. Allerdings stellen eben diese erforderlichen Voraussetzungen für eine Etablierung der eNose-Untersuchungen im klinischen Alltag derzeit noch eine große Herausforderung dar, wie sowohl im experimentellen Setting dieser Studie als auch in der zitierten Literatur erkennbar ist (Cao & Duan, 2006; Dummer et al., 2011; King et al., 2010; Phillips, 1997; Phillips et al., 1999; Schulz & Dickschat, 2007).

Jedoch sollten auch die Chancen der eNose nochmals hervorgehoben werden. So könnten die im Rahmen der Pilotstudie erhobenen Daten auch darauf hinweisen, dass unter weiter optimierten Voraussetzungen sowohl in Bezug auf die Untersuchungsbedingungen als auch auf die Studienpopulation (größere Anzahl, homogenere Verteilung hinsichtlich bspw. Alter in beiden Gruppen) eine deutlichere Identifizierung der HG möglich sein könnte. Bezüglich der Methodik müsste die eNose-Messung vereinfacht und standardisiert werden. Damit bestünde evtl. eine bessere Erfolgsaussicht, die eNose als Diagnostikum für Insektengiftallergien in Zukunft einzusetzen. Trotz aller strukturellen Unwägbarkeiten ist das wichtigste Proargument die Noninvasivität und damit die Patientensicherheit, die die oberste Maxime der klinischen Praxis darstellt.

5.3. Ergebnisse der Partnerstudie „Allergische Rhinokonjunktivitis“

Mit weitgehend gleichem Studiendesign wurden zeitgleich im Rahmen einer anderen Studie/Promotionsarbeit Patienten mit AR untersucht. In Abb. 20 sind die *breathprints* der beiden unterschiedlichen Allergikergruppen verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe dargestellt.

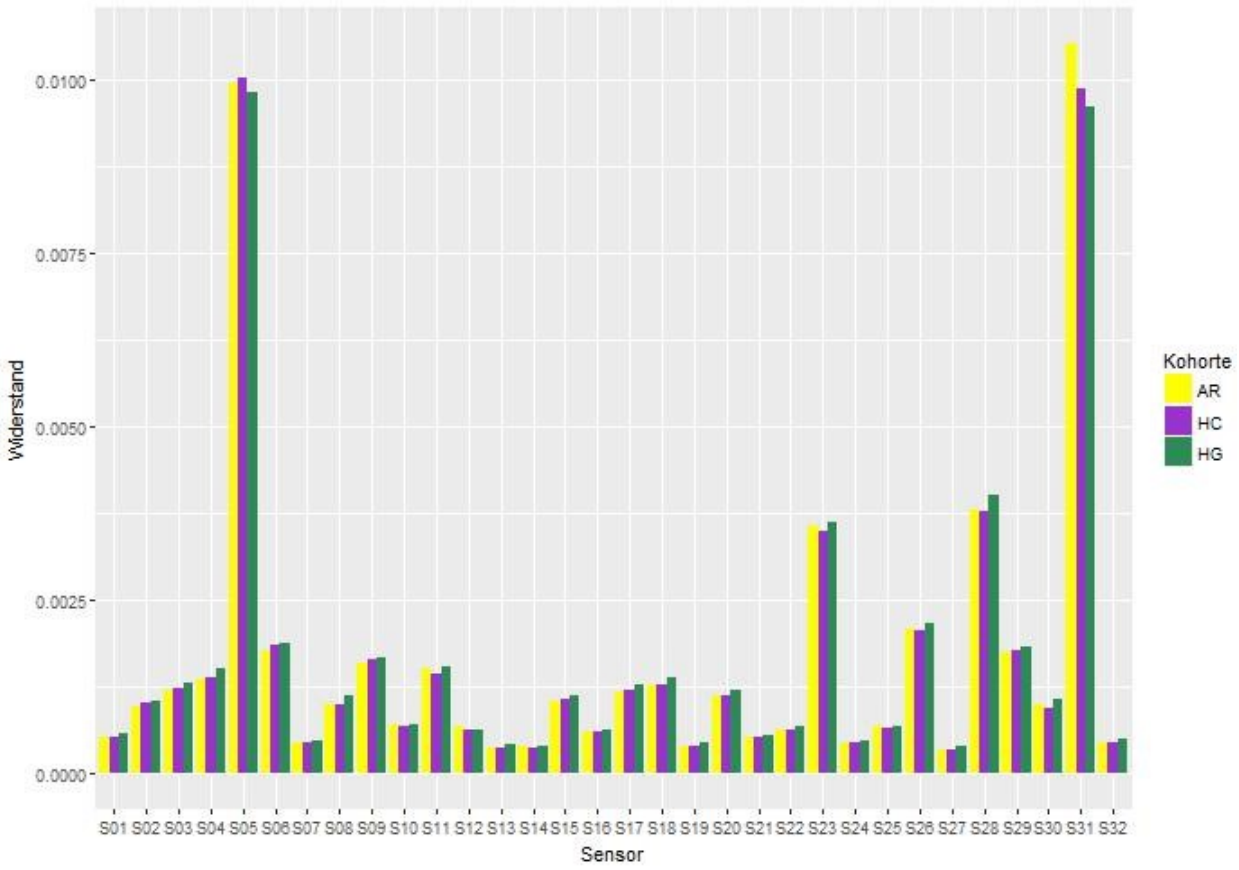


Abb. 20: *breathprints*: Vergleich der beiden Allergikerkohorten mit der gesunden Kontrollgruppe. Darstellung der Mediane der Widerstandsänderungen für jeden Sensor. AR = Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis; HG = Hymenopterengiftallergiker; HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden.

Dabei waren die Ergebnisse in der Partnerstudie ähnlich, d. h. mit einer MD von 1,193 konnten Pollenallergiker von HC tendenziell, wenn auch nicht signifikant unterschieden werden (HG vs. HC = 1,141; vgl. 4.2.1.).

Entsprechend der Subgruppendefinition bei den HG fand auch bei den Pollenallergikern eine Einteilung in monosensibilisierte Gruppen statt. Hierbei konnte auch in der Partnerstudie eine bessere Trennschärfe zwischen den Kohorten erreicht werden. Die MD für diesen Vergleich betrug 1,511 und zeigt damit wie bei den HG (1,361) eine etwas deutlichere Tendenz zur Unterscheidung.

Die Sensitivitäten und Spezifitäten der jeweiligen Gruppenvergleiche in beiden Studien sind nachfolgend tabellarisch gegenübergestellt.

Tab. 12: Sensitivität und Spezifität der beiden Partnerstudien im Vergleich. AR = Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis; HG = Hymenopterengiftallergiker; HC = *healthy controls*, gesunde Kontrollprobanden.

	Sensitivität	**Spezifität**
HG vs. HC	81 %	75 %
AR vs. HC	82 %	76 %
Subgruppen stratifiziert nach allergenspezifischem IgE		
HG vs. HC	80 %	87 %
AR vs. HC	90 %	82 %

5.4. Ausblick und weitergehende Fragestellung

Welchen Erwartungen müsste die eNose entsprechen, um der klinischen Routinediagnostik wirklich dienlich zu sein?

Derzeit ist der klinische Einsatz der eNose als Diagnostikum v. a. noch durch eine bisher nicht vorhandene Standardisierung limitiert (Montuschi et al., 2013). Deshalb könnte das Etablieren einer robusteren Methodik Gegenstand weiterer Forschung im Zusammenhang mit der eNose sein. Sofern es dann möglich wäre, bereits konventionell diagnostizierte Krankheiten zuverlässig und einfach zu „erriechen“, schließt sich die Frage an, welche Voraussetzungen noch erfüllt werden müssten, bis durch die Analyse beliebiger Ausatemluft eindeutige Diagnosen im klinischen Alltag gestellt werden können.

Eine weitere interessante Fragestellung in dieser Hinsicht wäre, inwiefern vielleicht sogar eine Früherkennung noch vor klinischer Symptomatik oder aktuell möglicher klinischer Diagnostik erreicht werden kann.

Der prospektive Aspekt in Zusammenhang mit der eNose-Forschung sollte ein wesentlicher Gegenstand zukünftiger Forschungsansätze sein. Außerdem ist es essenziell, die in dieser Pilotstudie erstmalig an einer Kohorte mit Insektengiftallergikern gewonnenen Ergebnisse, trotz der angesprochenen schwierigen Probandenrekrutierung, in weiteren Studien mit größeren Fallzahlen zu überprüfen. Dann würde sich auch die Analyse weiterer Subgruppen anbieten. Erwägenswert wären hierbei etwa die Einbeziehung des Schweregrads der anaphylaktischen Reaktion, die Unterscheidung bzgl. Markerallergenen, der Einschluss

von Mastzellerkrankungen in die Analyse bzw. die Bestimmung des Tryptasewerts oder die Stratifizierung nach Komorbiditäten und/oder Dauermedikation.
Sofern die Detektion einer Allergie, insb. von Hymenopterengiftallergien, zuverlässig möglich wäre, stünde letztendlich mit der eNose ein diagnostisches Werkzeug im klinischen Alltag zur Verfügung, das ein hohes Potenzial besitzen würde, nicht nur die Krankheit, sondern möglicherweise auch deren erfolgreiche Behandlung durch Induktion einer Toleranz im Rahmen einer AIT nachzuweisen. Damit würde der nichtinvasive Einsatz der eNose den Patienten die zur Feststellung des Therapieerfolgs bisher erforderliche Stichprovokation, einschließlich der Gefahr einer hierdurch hervorgerufenen anaphylaktischen Reaktion, ersparen.

LITERATURVERZEICHNIS

Aathithan, S., Plant, J. C., Chaudry, A. N., French, G. L. (2001). Diagnosis of bacteriuria by detection of volatile organic compounds in urine using an automated headspace analyzer with multiple conducting polymer sensors. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(7), 2590–2593. https://doi.org/10.1128/JCM.39.7.2590-2593.2001

Aberer, W., Kränke, B., Hager, A., Wick, G. (2004). In vitro Allergy Testing Needs Better Standardization – Test Results from Different Laboratories Lack Comparability Mostly Due to Missing Effective Standards. *International Archives of Allergy and Immunology*, *108*(1), 82–88. https://doi.org/10.1159/000237122

Adelmeyer, J., Pickert, J., Pfützner, W., Möbs, C. (2021). Long-term impact of hymenoptera venom immunotherapy on clinical course, immune parameters, and psychosocial aspects. *Allergologie select*, *5*(01), 57–66. https://doi.org/10.5414/ALX02175E

Aust, W., Wichmann, G., Dietz, A. (2010). Therapiekontrolle der Insektengifthyposensibilisierung [Therapy control of specific hymenoptera venom allergy]. *Laryngo- rhino- otologie*, *89*(12), 725–728.

https://doi.org/10.1055/s-0030-1267972

Bach, J.-P., Gold, M., Mengel, D., Hattesohl, A., Lubbe, D., Schmid, S., Koczulla, A. R. (2015). Measuring Compounds in Exhaled Air to Detect Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *PloS One*, *10*(7), e0132227. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132227

Biehl, W., Hattesohl, A., Jörres, R. A., Duell, T., Althöhn, U., Koczulla, A. R., Schmetzer, H. (2019). VOC pattern recognition of lung cancer: A comparative evaluation of different dog- and eNose-based strategies using different sampling materials. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 1–9. https://doi.org/10.1080/0284186X.2019.1634284

Bilò, M. B., Ruëff, F., Mosbech, H., Bonifazi, F., Oude-Elberink, J. N. G. (2005). Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy*, *60*(11), 1339–1349. https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00963.x

Bilò, M. B., Bonifazi, F. (2011). Hymenoptera venom immunotherapy. *Immunotherapy*, *3*(2), 229–246. https://doi.org/10.2217/imt.10.88

Bilò, M. B., Pravettoni, V., Bignardi, D., Bonadonna, P., Mauro, M., Novembre, E., Pastorello, E. A. (2019). Hymenoptera Venom Allergy: Management of Children and Adults in Clinical Practice. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, *29*(3), 180–205. https://doi.org/10.18176/jiaci.0310

Bonadonna, P., Perbellini, O., Passalacqua, G., Caruso, B., Colarossi, S., Dal Fior, D., Zanotti, R. (2009). Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *123*(3), 680–686. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.11.018

Bonadonna, P., Scaffidi, L., Boni, E. (2019). Tryptase values in anaphylaxis and insect allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology.* https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000569

Bonifazi, F., Jutel, M., Bilò, M. B., Birnbaum, J., Muller, U. (2005). Prevention and treatment of hymenoptera venom allergy: Guidelines for clinical practice. *Allergy*, *60*(12), 1459–1470.

https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00960.x

Bredberg, A., Gobom, J., Almstrand, A.-C., Larsson, P., Blennow, K., Olin, A.-C., Mirgorodskaya, E. (2012). Exhaled Endogenous Particles Contain Lung Proteins. *Clinical chemistry*, *58*(2), 431–440. https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.169235

Cao, W., Duan, Y. (2006). Breath analysis: Potential for clinical diagnosis and exposure assessment. *Clinical Chemistry*, *52*(5), 800–811. https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.063545

Cavallucci, E., Ramondo, S., Renzetti, A., Turi, M. C., Di Claudio, F., Braga, M., Di Gioacchino, M. (2010). Maintenance venom immunotherapy administered at a 3-month interval preserves safety and efficacy and improves adherence. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, *20*(1), 63–68.

Chapman, M. D. (2008). Allergen nomenclature. *Clinical Allergy and Immunology*, *21*, 47–58.

Dragonieri, S., Annema, J. T., Schot, R., van der Schee, Marc P.C., Spanevello, A., Carratú, P., Sterk, P. J. (2009). An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD. *Lung Cancer*, *64*(2), 166–170. https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2008.08.008

Dragonieri, S., Schot, R., Mertens, B. J.A., Le Cessie, S., Gauw, S. A., Spanevello, A., Sterk, P. J. (2007). An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *120*(4), 856–862. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.05.043

Dugas-Breit, S., Przybilla, B., Dugas, M., Arnold, A., Pfundstein, G., Küchenhoff, H., Ruëff, F. (2010). Serum concentration of baseline mast cell tryptase: Evidence for a decline during long-term immunotherapy for Hymenoptera venom allergy. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, *40*(4), 643–649. https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03436.x

Dummer, J., Storer, M., Swanney, M., McEwan, M., Scott-Thomas, A., Bhandari, S., Epton, M. (2011). Analysis of biogenic volatile organic compounds in human health and disease. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *30*(7), 960–967. https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.03.011

Dutta, R., Hines, E. L., Gardner, J. W., Boilot, P. (2002). Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose. *Biomedical Engineering Online*, *1*(4). https://doi.org/10.1186/1475-925x1-4

Einoch Amor, R., Nakhleh, M. K., Barash, O., Haick, H. (2019). Breath analysis of cancer in the present and the future. *European Respiratory Review: an Official Journal of the European Respiratory Society*, *28*(152). https://doi.org/10.1183/16000617.0002-2019

Elfadaly, F. G., Garthwaite, P. H., Crawford, J. R. (2016). On point estimation of the abnormality of a Mahalanobis index. *Computational Statistics & Data Analysis*, *99*, 115–130. https://doi.org/10.1016/j.csda.2016.01.014

Fens, N., Roldaan, A. C., van der Schee, M. P., Boksem, R. J., Zwinderman, A. H., Bel, E. H., Sterk, P. J. (2011). External validation of exhaled breath profiling using an electronic nose in the discrimination of asthma with fixed airways obstruction and chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, *41*(10), 1371–1378.

https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2011.03800.x

Fens, N., Zwinderman, A. H., van der Schee, M. P., Nijs, S. B. de, Dijkers, E., Roldaan, A. C., Sterk, P. J. (2009). Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *180*(11), 1076–1082.

https://doi.org/10.1164/rccm.200906-0939OC

Fielding, D., Hartel, G., Pass, D., Davis, M., Brown, M., Dent, A., Hodge, R. (2020). Volatile organic compound breath testing detects in-situ squamous cell carcinoma of bronchial and laryngeal regions and shows distinct profiles of each tumour. *Journal of breath research*, *14*(4).
https://doi.org/10.1088/1752-7163/abb18a

Fischer, J., Knaudt, B., Caroli, U. M., Biedermann, T. (2008). Factory packed and expired - about emergency insect sting kits. *Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG*, *6*(9), 729–733.

https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2008.06650.x

Francuzik, W., Ruëff, F., Bauer, A., Bilò, M. B., Cardona, V., Christoff, G. (2021): Phenotype and risk factors of venom-induced anaphylaxis. A case-control study of the European Anaphylaxis Registry. *Journal of Allergy and Clinical Immunology 147* (2), 653-662.
https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.06.008

Gasparri, R., Santonico, M., Valentini, C., Sedda, G., Borri, A., Petrella, F., Spaggiari, L. (2016). Volatile signature for the early diagnosis of lung cancer. *Journal of Breath Research*, *10*(1), 16007.

https://doi.org/10.1088/1752-7155/10/1/016007

Golden, D. B., Marsh, D. G., Kagey-Sobotka, A., Freidhoff, L., Szklo, M., Valentine, M. D., Lichtenstein, L. M. (1989). Epidemiology of insect venom sensitivity. *JAMA*, *262*(2), 240–244.

Golden, D. B. K., Demain, J., Freeman, T., Graft, D., Tankersley, M., Tracy, J., Wallace, D. (2017). Stinging insect hypersensitivity: A practice parameter update 2016. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, *118*(1), 28–54. https://doi.org/10.1016/j.anai.2016.10.031

Golden, D. B. K., Kagey-Sobotka, A., Norman, P. S., Hamilton, R. G., Lichtenstein, L. M. (2004). Outcomes of allergy to insect stings in children, with and without venom immunotherapy. *The New England Journal of Medicine*, *351*(7), 668–674. https://doi.org/10.1056/NEJMoa022952

Golden, D. B.K. (2015). Anaphylaxis to Insect Stings. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, *35*(2), 287–302. https://doi.org/10.1016/j.iac.2015.01.007

Goldenberg, A., Confino-Cohen, R. (1997). Timing of venom skin tests and IgE determinations after insect sting anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *100*(2), 182–184.

https://doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70222-7

Greulich, T., Fischer, H., Lubbe, D., Nell, C., Ingo Baumbach, J., Koehler, U., Koczulla, A. R. (2018). Obstructive sleep apnea patients can be identified by ion mobility spectrometry-derived smell prints of different biological materials. *Journal of Breath Research*, *12*(2), 26006.

https://doi.org/10.1088/1752-7163/aa96e2

Greulich, T., Hattesohl, A., Grabisch, A., Koepke, J., Schmid, S., Noeske, S., Koczulla, A. R. (2013). Detection of obstructive sleep apnoea by an electronic nose. *European Respiratory Journal*, *42*(1), 145–155. https://doi.org/10.1183/09031936.00091712

Hattesohl, A. D. M., Jörres, R. A., Dressel, H., Schmid, S., Vogelmeier, C., Greulich, T., Koczulla, A. R. (2011). Discrimination between COPD patients with and without alpha 1-antitrypsin deficiency using an electronic nose. *Respirology (Carlton, Vic.)*, *16*(8), 1258–1264.

https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2011.02047.x

Heers, H., Gut, J. M., Hegele, A., Hofmann, R., Boeselt, T., Hattesohl, A., Koczulla, A. R. (2018). Non-invasive Detection of Bladder Tumors Through Volatile Organic Compounds: A Pilot Study with an Electronic Nose. *Anticancer Research*, *38*(2), 833–837. https://doi.org/10.21873/anticanres.12291

Hemmer, W. (2009). Kreuzreaktionen zwischen Hymenopterengiftallergenen. *Allergo Journal*, *18*(5), 359–372. https://doi.org/10.1007/BF03362109

Henrion, R., Henrion, G. (1995). Hauptkomponentenanalyse. In R. Henrion & G. Henrion (Eds.), *Multivariate Datenanalyse: Methodik und Anwendung in der Chemie und verwandten Gebieten* (10–43). Berlin: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-57792-5_2

Herold, G. (Ed.) (2016). Innere Medizin 2016: Eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Köln: Selbstverlag.

Hof, H., Dörries, R., Geginat, G. (2014). Medizinische Mikrobiologie: [Virologie, Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie, Immunologie, klinische Infektiologie, Hygiene] (5., vollst. überarb. Aufl.). *Duale Reihe*. s.l.: Georg Thieme Verlag KG. https://dx.doi.org/10.1055/b-002-95264

Hofbauer, J., Dressel, H., Seissler, J., Koczulla, A. R., Nowak, D., Jörres, R. A. (2010). Analyse der Ausatemluft mittels Elektronischer Nase bei Patienten mit Diabetes mellitus. *Pneumologie*, *64*(3). https://doi.org/10.1055/s-0030-1251268

Hollstein, M. M., Matzke, S. S., Lorbeer, L., Traidl, S., Forkel, S., Möbs, C., Buhl, T. (2023). Skin Tests versus Serology: Specific IgE May Suffice for Diagnosis of Vespid Venom Allergy and Follow-Up of Allergen Immunotherapy. *International Archives of Allergy and Immunology*, *184*(8), 744–753. https://doi.org/10.1159/000529801

Hubers, A. J., Brinkman, P., Boksem, R. J., Rhodius, R. J., Witte, B. I., Zwinderman, A. H., Thunnissen, E. (2014). Combined sputum hypermethylation and eNose analysis for lung cancer diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*, *67*(8), 707–711. https://doi.org/10.1136/jclinpath-2014-202414

Hunt, K. J., Valentine, M. D., Sobotka, A. K., Benton, A. W., Amodio, F. J., Lichtenstein, L. M. (1978). A Controlled Trial of Immunotherapy in Insect Hypersensitivity. *New England Journal of Medicine*, *299*(4), 157–161. https://doi.org/10.1056/NEJM197807272990401

Jakob, T., Müller, U., Helbling, A., Spillner, E. (2017). Component resolved diagnostics for hymenoptera venom allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, *17*(5), 363–372. https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000390

Jennings, A., Duggan, E., Perry, I. J., Hourihane, J. O.'B. (2010). Epidemiology of allergic reactions to hymenoptera stings in Irish school children. *Pediatric Allergy and Immunology*, *21*(8), 1166–1170.

https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2010.01054.x

King, J., Koc, H., Unterkofler, K., Mochalski, P., Kupferthaler, A., Teschl, G., Amann, A. (2010). Physiological modeling of isoprene dynamics in exhaled breath. *Journal of Theoretical Biology*, *267*(4), 626–637. https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2010.09.028

Koczulla, A. R., Hattesohl, A., Biller, H., Hofbauer, J., Hohlfeld, J., Oeser, C., Jörres, R. A. (2011). Krankheiten erriechen? Eine kurze Übersicht über elektronische Nasen [Smelling diseases? A short review on electronic noses]. *Pneumologie*, *65*(7), 401–405. https://doi.org/10.1055/s-0030-1256252

Kodogiannis, V., Wadge, E. (2005). The use of gas-sensor arrays to diagnose urinary tract infections. *International Journal of Neural Systems*, *15*(5), 363–376. https://doi.org/10.1142/S0129065705000347

Koppmann, R. (2007). Volatile organic compounds in the atmosphere (1st ed.). O*xford, Ames Iowa: Blackwell Pub.*

Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms, Langversion 2.1, 2022, AWMF-Registernummer: 020/007OL

https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/lungenkarzinom/

Lerch, E., Müller, U. R. (1998). Long-term protection after stopping venom immunotherapy: Results of re-stings in 200 patient. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *101*(5), 606–612.

https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70167-8

Lewis, N. S. (2004). Comparisons between mammalian and artificial olfaction based on arrays of carbon black-polymer composite vapor detectors. *Accounts of Chemical Research*, *37*(9), 663–672.
https://doi.org/10.1021/ar030120m

Lin, Y.-J., Guo, H.-R., Chang, Y.-H., Kao, M.-T., Wang, H.-H., Hong, R.-I. (2001). Application of the electronic nose for uremia diagnosis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *76*(1-3), 177–180.

https://doi.org/10.1016/S0925-4005(01)00625-6

Machado, R. F., Laskowski, D., Deffenderfer, O., Burch, T., Zheng, S., Mazzone, P. J., Erzurum, S. C. (2005). Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *171*(11), 1286–1291.

https://doi.org/10.1164/rccm.200409-1184OC

Mazzone, P. J., Hammel, J., Dweik, R., Na, J., Czich, C., Laskowski, D., Mekhail, T. (2007). Diagnosis of lung cancer by the analysis of exhaled breath with a colorimetric sensor array. *Thorax*, *62*(7), 565–568.
https://doi.org/10.1136/thx.2006.072892

Miekisch, W., Kischkel, S., Sawacki, A., Liebau, T., Mieth, M., Schubert, J. K. (2008). Impact of sampling procedures on the results of breath analysis. *Journal of Breath Research*, *2*(2), 26007.

https://doi.org/10.1088/1752-7155/2/2/026007

Miekisch, W., Schubert, J. K., Noeldge-Schomburg, G. F. E. (2004). Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, *347*(1-2), 25–39.
https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.04.023

Möbs, C., Wiedemann, D., Pfützner, W. (2018). Evaluation of a modified skin prick test for diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergo Journal International*, *28*(2), 43–49. https://doi.org/10.1007/s40629-018-0073-z

Mohamed, E. I., Bruno, E., Linder, R., Alessandrini, M., Di Girolamo, A., Pöppl, S. J., Lorenzo, A. de (2003). A novel method for diagnosing chronic rhinosinusitis based on an electronic nose. *Anales Otorrinolaringologicos Ibero-Americanos*, *30*(5), 447–457.

Montuschi, P., Mores, N., Trové, A., Mondino, C., Barnes, P. J. (2013). The electronic nose in respiratory medicine. *Respiration; International Review of Thoracic Diseases*, *85*(1), 72–84. https://doi.org/10.1159/000340044

Morozov, V. N., Nikolaev, A. A., Shlyapnikov, Y. M., Mikheev, A. Y., Shlyapnikova, E. A., Bagdasaryan, T. R., Lyadova, I. V. (2018). Non-invasive approach to diagnosis of pulmonary tuberculosis using microdroplets collected from exhaled air. *Journal of Breath Research*, *12*(3), 36010. https://doi.org/10.1088/1752-7163/aab3f2

Mueller, H. L. (2009). Diagnosis and Treatment of Insect Sensitivity. *Journal of Asthma Research*, *3*(4), 331–333. https://doi.org/10.3109/02770906609106941

Muller, U., Helbling, A., Berchtold, E. (1992). Immunotherapy with honeybee venom and yellow jacket venom is different regarding efficacy and safety. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *89*(2), 529–535. https://doi.org/10.1016/0091-6749(92)90319-W

Müller, U. R. (2008). Hymenopterengiftanaphylaxie und Herz-Kreislauf-Erkrankungen [Hymenoptera venom anaphylaxis and cardiovascular disease]. *Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, *59*(3), 206, 208-11. https://doi.org/10.1007/s00105-008-1469-3

Müller, U. R. (2005). Bee venom allergy in beekeepers and their family members. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*, *5*(4), 343–347. https://doi.org/10.1097/01.all.0000173783.42906.95

Parry, A. D., Chadwick, P. R., Simon, D., Oppenheim, B., McCollum, C. N. (1995). Leg ulcer odour detection identifies beta-haemolytic streptococcal infection. *Journal of Wound Care*, *4*(9), 404–406. https://doi.org/10.12968/jowc.1995.4.9.404

Pauling, L., Robinson, A. B., Teranishi, R., Cary, P. (1971). Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *68*(10), 2374–2376. https://doi.org/10.1073/pnas.68.10.2374

Pavlou, A., Turner, A. P. F., Magan, N. (2002). Recognition of anaerobic bacterial isolates in vitro using electronic nose technology. *Letters in Applied Microbiology*, *35*(5), 366–369. https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2002.01197.x

Pavlou, A., Magan, N., McNulty, C., Jones, J., Sharp, D., Brown, J., Turner, A. P. F. (2002). Use of an electronic nose system for diagnoses of urinary tract infections. *Biosensors & Bioelectronics*, *17*(10), 893–899. https://doi.org/10.1016/s0956-5663(02)00078-7

Peng, G., Hakim, M., Broza, Y. Y., Billan, S., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., Haick, H. (2010). Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *British Journal of Cancer*, *103*(4), 542–551. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605810

Pesek, R. D., Lockey, R. F. (2013). Management of insect sting hypersensitivity: An update. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, *5*(3), 129–137. https://doi.org/10.4168/aair.2013.5.3.129

Phillips, M. (1997). Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. *Analytical Biochemistry*, *247*(2), 272–278. https://doi.org/10.1006/abio.1997.2069

Phillips, M., Herrera, J., Krishnan, S., Zain, M., Greenberg, J., Cataneo, R. N. (1999). Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, *729*(1-2), 75–88. https://doi.org/10.1016/S0378-4347(99)00127-9

Pleil, J. D. (2008). Role of exhaled breath biomarkers in environmental health science. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews*, *11*(8), 613–629. https://doi.org/10.1080/10937400701724329

Przybilla, B., Ruëff, F. (2010). Hymenoptera venom allergy. *Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG*, *8*(2), 114-27; 128-30. https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2009.07125.x

Przybilla, B., Ruëff, F., Walker, A., Räwer, H.-C., Aberer, W., Bauer, C. P., Wedi, B. (2011). Diagnose und Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie. *Allergo Journal*, *20*(6), 318–339. https://doi.org/10.1007/BF03362543

Punnonen, J., Aversa, G., Cocks, B. G., McKenzie, A. N., Menon, S., Zurawski, G., Vries, J. E. de (1993). Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *90*(8), 3730–3734. https://doi.org/10.1073/pnas.90.8.3730

Rieger-Ziegler, V., Rieger, E., Kränke, B., Aberer, W. (1999). Hymenoptera venom allergy: Time course of specific IgE concentrations during the first weeks after a sting. *International Archives of Allergy and Immunology*, *120*(2), 166–168. https://doi.org/10.1159/000024235

Ring, J., Messmer, K. (1977). Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet (London, England)*, *1*(8009), 466–469.

Röck, F., Barsan, N., Weimar, U. (2008). Electronic Nose: Current Status and Future Trends. *Chemical Reviews*, *108*(2), 705–725. https://doi.org/10.1021/cr068121q

Roll, A., Hofbauer, G., Ballmer-Weber, B. K., Schmid-Grendelmeier, P. (2006). Safety of specific immunotherapy using a four-hour ultra-rush induction scheme in bee and wasp allergy. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, *16*(2), 79–85.

Ruëff, F., Bauer, A., Becker, S., Brehler, R., Brockow, K., Chaker, A. M., Jakob, T. (2023). Diagnose und Therapie der Bienen- und Wespengiftallergie. *Allergologie*, *46*(10), 649–689. https://doi.org/10.5414/ALX02430

Ruëff, F., Bergmann, K.-C., Brockow, K., Fuchs, T., Grübl, A., Jung, K., Wehrmann, W. (2011). Hauttests zur Diagnostik von allergischen Soforttyp-Reaktionen. *Pneumologie*, *65*(08), 484–495. https://doi.org/10.1055/s-0030-1256476

Ruëff, F., Przybilla, B., Bilò, M. B., Müller, U., Scheipl, F., Aberer, W., Wüthrich, B. (2009). Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: Importance of baseline serum tryptase-a study of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *124*(5), 1047–1054. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.08.027

Ruëff, F., Wenderoth, A., Przybilla, B. (2001). Patients still reacting to a sting challenge while receiving conventional Hymenoptera venom immunotherapy are protected by increased venom doses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *108*(6), 1027–1032. https://doi.org/10.1067/mai.2001.119154

Schäfer, T., Przybilla, B. (1996). IgE antibodies to Hymenoptera venoms in the serum are common in the general population and are related to indications of atopy. *Allergy*, *51*(6), 372–377.

Schäfer, T. (2009). Epidemiologie der Insektengiftallergie. *Allergo Journal*, *18*(5), 353–358. https://doi.org/10.1007/BF03362108

Schiavino, D., Nucera, E., Pollastrini, E., Pasquale, T. de, Buonomo, A., Bartolozzi, F., Patriarca, G. (2004). Specific ultrarush desensitization in Hymenoptera venom-allergic patients. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, *92*(4), 409–413. https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61775-9

Schiener, M., Graessel, A., Ollert, M., Schmidt-Weber, C. B., Blank, S. (2017). Allergen-specific immunotherapy of Hymenoptera venom allergy - also a matter of diagnosis. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *13*(10), 2467–2481. https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1334745

Schulz, S., Dickschat, J. S. (2007). Bacterial volatiles: The smell of small organisms. *Natural Product Reports*, *24*(4), 814–842. https://doi.org/10.1039/b507392h

Schwartz, H. J., Squillace, D. L., Sher, T. H., Teigland, J. D., Yunginger, J. W. (1986). Studies in stinging insect hypersensitivity: Postmortem demonstration of antivenom IgE antibody in possible sting-related sudden death. *American Journal of Clinical Pathology*, *85*(5), 607–610. https://doi.org/10.1093/ajcp/85.5.607

Schwartz, H. J., Golden, D. B.K., Lockey, R. F. (1990). Venom immunotherapy in the Hymenoptera-allergic pregnant patient. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *85*(4), 709–712. https://doi.org/10.1016/0091-6749(90)90188-A

Silva, A. C. d., Soares, S. F. C., Insausti, M., Galvão, R. K. H., Band, B. S. F., Araújo, M. C. U. d. (2016). Two-dimensional linear discriminant analysis for classification of three-way chemical data. *Analytica Chimica Acta*, *938*, 53–62. https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.08.009

Stoevesandt, J., Sturm, G. J., Bonadonna, P., Oude Elberink, J. N.G., Trautmann, A. (2020). Risk factors and indicators of severe systemic insect sting reactions. *Allergy*, *75*(3), 535–545. https://doi.org/10.1111/all.13945

Strobl, M. R., Demir, H., Sánchez A. G., Drescher, A., Kitzmüller, C., Möbs, C. (2023): The role of IgG1 and IgG4 as dominant IgE-blocking antibodies shifts during allergen immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology 151* (5), 1371-1378. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2023.01.005

Sturm, G. J., Varga, E.-M., Roberts, G., Mosbech, H., Bilò, M. B., Akdis, C. A., Muraro, A. (2018). EAACI guidelines on allergen immunotherapy: Hymenoptera venom allergy. *Allergy*, *73*(4), 744–764. https://doi.org/10.1111/all.13262

Sturm, G. J., Arzt-Gradwohl, L., Varga, E.-M. (2019). Medical Algorithms: Diagnosis and treatment of Hymenoptera venom allergy. *Allergy*, *74*(10), 2016–2018. https://doi.org/10.1111/all.13817

Sturm, G. J., Kranzelbinder, B., Schuster, C., Sturm, E. M., Bokanovic, D., Vollmann, J., Aberer, W. (2014). Sensitization to Hymenoptera venoms is common, but systemic sting reactions are rare. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *133*(6), 1635-1643.e1. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.10.046

Sturm, G. J., Schuster, C., Kranzelbinder, B., Wiednig, M., Groselj-Strele, A., Aberer, W. (2009). Asymptomatic Sensitization to Hymenoptera Venom Is Related to Total Immunoglobulin E Levels. *International Archives of Allergy and Immunology*, *148*(3), 261–264. https://doi.org/10.1159/000161586

Tan, J.-L., Yong, Z.-X., Liam, C.-K. (2016). Using a chemiresistor-based alkane sensor to distinguish exhaled breaths of lung cancer patients from subjects with no lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*, *8*(10), 2772–2783. https://doi.org/10.21037/jtd.2016.10.30

Tinglev, Å. D., Ullah, S., Ljungkvist, G., Viklund, E., Olin, A.-C., Beck, O. (2016). Characterization of exhaled breath particles collected by an electret filter technique. *Journal of Breath Research*, *10*(2), 26001. https://doi.org/10.1088/1752-7155/10/2/026001

Trautmann, A. (2006). *Allergiediagnose Allergietherapie* (1. Auflage). s.l.: Thieme. Retrieved from http://dx.doi.org/10.1055/b-002-39786

Vachová, M., Panzner, P., Malkusová, I., Hanzlíková, J., Vlas, T. (2016). Utility of laboratory testing for the diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy and Asthma Proceedings*, *37*(3), 248–255. https://doi.org/10.2500/aap.2016.37.3934

Wenzel, J., Meissner-Kraemer, M., Bauer, R., Bieber, T., Gerdsen, R. (2003). Safety of rush insect venom immunotherapy. The results of a retrospective study in 178 patients. *Allergy*, *58*(11), 1176–1179. https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00268.x

Wilson, A., Baietto, M. (2009). Applications and Advances in Electronic-Nose Technologies. *Sensors*, *9*(7), 5099–5148. https://doi.org/10.3390/s90705099

Worm, M., Moneret-Vautrin, A., Scherer, K., Lang, R., Fernandez-Rivas, M., Cardona, V., Grabenhenrich, L. B. (2014). First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy*, *69*(10), 1397–1404. https://doi.org/10.1111/all.12475

Yu, J.-B., Byun, H.-G., So, M.-S., Huh, J.-S. (2005). Analysis of diabetic patient's breath with conducting polymer sensor array. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *108*(1-2), 305–308. https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.01.040

Zagórska, W., Grzela, K., Kulus, M., Sobczyński, M., Grzela, T. (2013). Increased cys-Leukotrienes in Exhaled Breath Condensate and Decrease of PNIF after Intranasal Allergen Challenge Support the Recognition of Allergic Rhinitis in Children. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, *61*(4), 327–332. https://doi.org/10.1007/s00005-013-0224-3

VERZEICHNIS AKADEMISCHER LEHRER

Marburg:

Adamkiewicz, Bartsch, Bauer, Baum, Becker A., Becker S., Bender, Best, Bette, Brehm, Burchert, Cetin, Czubayko, Daut, Decher, del Rey, Dettmeyer, Dodel, Donner-Banzhoff, Engenhart-Cabilic, Fendrich, Feuser, Fritz, Görg, Gress, Grote, Grundmann, Hertl, Hildebrandt, Hoffmann, Hoyer, Jaques, Jerrentrup, Kalder, Kann, Kanngießer, Kill, Kinscherf, Koczulla, Köhler, König, Klose, Kühnert, Leonhardt, Lill, Lohoff, Mahnken, Maier, Maisner, Milani, Moll, Müller, Mutters, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Obermayr, Oberwinkler, Oertel, Oliver, Opitz, Pagenstecher, Pankuweit, Peterlein, Pfützner, Plant, Preisig-Müller, Reese, Renz, Richter, Riera-Knorrenschild, Ries, Ruchholtz, Sahmland, Schäfer, Schieffer, Schmeck, Schratt, Schu, Schulze, Schütz, Seifart, Seitz, Sekundo, Sevinc, Steiniger, Steinkamp, Tackenberg, Thieme, Timmermann, Timmesfeld, Vogelmeier, Vogt, Wagner, Weihe, Westermann, Wilhelm B., Wilhelm C., Wittig, Worzfeld, Wrocklage, Wulf, Zemlin

Neumarkt i. d. OPf.:

Gerresheim, Rau, Schwemmer, Zimmermann

Grabs (CH):

Bürkle, Crippa, Rohner

DANKSAGUNG

An erster Stelle danke ich Prof. Dr. Wolfgang Pfützner für die Überlassung des Promotionsthemas, die fachlichen Anregungen und die gute Zusammenarbeit.
Mein besonderer Dank gilt Dr. Christian Möbs für seine Hilfsbereitschaft, seine Geduld und die Diskussionsanreize. Bei Fragen oder Schwierigkeiten konnte ich mich immer auf seine schnelle und konstruktive Unterstützung verlassen. Erst durch seine gute Betreuung wurde die Ausfertigung dieser Arbeit möglich.
Ich danke außerdem den Mitarbeiterinnen der Allergieambulanz des Universitätsklinikums Marburg, Gudrun Bromm, Nicole Radtke und Sabine Weimer, die mich bei der Rekrutierung der Probanden sowie der Organisation und Durchführung der Probenentnahmen unterstützt haben. An dieser Stelle bedanke ich mich auch bei Claudia Happel für die Koordination der Blutproben und die Hilfe im immunserologischen Labor.

Des Weiteren danke ich PD Dr. Dr. Tobias Böselt, der mir bei der Prozessierung der Messdaten mit Rat und Tat zur Seite stand. Daneben bedanke ich mich bei Ursula Boas, die die Einarbeitung für den Messablauf übernahm und bei technischen Fragen immer weiterhelfen konnte.

Herzlichen Dank sage ich allen Probanden dieser Studie, die teilweise lange Anfahrten in Kauf genommen haben, um bei dieser Arbeit mitzuwirken.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden (Danke Tine!) für die Unterstützung im Rahmen dieser Promotion, aber auch während meines gesamten Studiums bedanken.