

*Abschlussbericht zum Vorhaben*

„Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen  
Typ I-Allergien“  
(FB 317a)

*Laufzeit*

01.11.2020 – 30.11.2023

Bericht vom 30.06.2024

*Autorin / Autor*

Prof. Dr. med. Vera Mahler  
Paul-Ehrlich-Institut, Abteilung Allergologie  
Paul-Ehrlich-Str. 51-59,  
63225 Langen  
Tel. 06103/772400

## **Inhaltsverzeichnis**

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung deutsch

Kurzfassung englisch

1. Problemstellung
2. Forschungszweck/-ziel
3. Methodik
4. Ergebnisse des Gesamtvorhabens
5. Auflistung der für das Vorhaben relevanten Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilten Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen
6. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen
7. Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan

## Kurzfassung deutsch

**Ziele:** Ziele des Forschungsvorhabens waren Standardisierung, fortlaufende Dokumentation und Qualitätssicherung sowie Verfügbarmachung von Allergietestungen für berufliche Typ I-Allergien, um für alle betroffenen Versicherten mit Verdacht auf eine berufliche Allergie eine aussagekräftige Diagnostik zu gewährleisten. Im Rahmen des vorliegenden Forschungsprojektes FB 317a sollten Strategien exploriert werden, um der zu Projektbeginn bereits bestehenden diagnostischen Lücke durch Fehlen von Testallergenen entgegenzuwirken und eine Verbesserung und Standardisierung der Diagnostik von arbeitsbedingten Typ I-Allergien zu erzielen.

**Aktivitäten/Methoden:** Basierend auf einer Bedarfsermittlung bei den Unfallversicherungsträgern (UVT) zu prioritär erforderlichen beruflich relevanten Hauttestallergenen für die Allergiediagnostik von arbeitsbedingten Typ I-Allergien wurde in Kooperation zwischen Paul-Ehrlich-Institut (PEI) und Institut für Prävention und Arbeitsmedizin (IPA) der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung eine Liste der vorrangig zu bearbeitenden Testallergene erstellt. Für diese Allergenquellen wurden entsprechende Qualitätsstandards unter Berücksichtigung von Europäischem Arzneibuch (Ph. Eur.), Apothekenbetriebsordnung (ApBetrO) und Arzneimittelgesetz (AMG) erarbeitet, die für die Gewinnung von sensitiven und spezifischen Testlösungen erforderlich sind. Obwohl zulässig, war die Herstellung von Testallergenen vor Aufnahme des Forschungsvorhabens nicht in Apotheken etabliert. Es erfolgte in einem zweistufigen Prozess die Erarbeitung von apothekenadaptierten Standard Operating Procedures (SOPs) zur Herstellung von Pricktestlösungen. Zur Überprüfung der Robustheit der Qualität bei Anwendung der SOPs durch unterschiedliche Personen, zu unterschiedlichen Zeitpunkten, an verschiedenen Standorten und unter Einbeziehung unterschiedlicher Allergenausgangsmaterialchargen derselben Allergenquelle wurden Validierungsexperimente unter Mitwirkung eines Biostatistikers geplant und an zwei Standorten (IPA und PEI) mit je zwei Mitarbeitenden durchgeführt. Zusätzlich wurden Stabilitäts- und Sterilitätsdaten erhoben. Erste Transferversuche in eine öffentliche Apotheke wurden unternommen. Zusätzlich erfolgte proteinchemische und immunologische Überprüfung kommerziell noch verfügbarer Diagnostika, die für die Testung beruflicher Typ I-Allergien relevant sind.

**Ergebnisse:** Die Bedarfsermittlung bei den UVT ergab 20 prioritäre Berufsallergenquellen, für die die Verfügbarkeit von qualitativ einwandfreien Testallergenen zum Nachweis oder Ausschluss von beruflich bedingten Typ I-Allergien und für den Versorgungsauftrag der Unfallversicherungsträger essentiell sind. Zu Projektbeginn waren für acht von 20 Allergenquellen keine zugelassenen oder verkehrsfähigen Testallergene verfügbar, für fünf von 20 Allergenquellen nur ein einziges. Am Ende der Projektlaufzeit sind für elf von 20 Allergenquellen keine zugelassenen oder verkehrsfähigen Testallergene verfügbar und für drei von 20 Allergenquellen nur ein einziges. Zu 18 der 20 Allergenquellen konnten Allergenausgangsmaterialien bezogen werden, davon zu 13 Allergenquellen 16 zertifizierte Allergenausgangsmaterialien von zertifizierten Anbietern. Zwei der nicht zertifizierten Allergenausgangsmaterialien erwiesen sich als qualitativ ungeeignet. Für die verbliebenen 16 Allergenquellen mit verfügbaren Allergenausgangsmaterialien wurden ausgehend von Laboranweisungen unter Berücksichtigung der besonderen Apothekenbedingungen und rechtlichen Anforderungen Qualitätskriterien und apothekenadaptierte SOPs erstellt. Für diese konnten aus den Allergenausgangsmaterialien unter Anwendung der Apotheken-SOPs qualitativ einwandfreie Testallergene gewonnen werden. Die Stabilität und Sterilität der untersuchten Pricktestlösungen blieb bei Lagerung (4-8° C) und nach Anbruch im Untersuchungszeitraum von einem Jahr erhalten. In Validierungsexperimenten zeigten sich signifikante Unterschiede bei Verwendung unterschiedlicher Ausgangsmaterialchargen derselben Allergenquelle und bei Herstellung an unterschiedlichen Standorten; trotz dieser Unterschiede lag der Proteingehalt der meisten Testallergene (87%) dennoch innerhalb der Ph. Eur. vorgegebenen 80-120%-Grenze. Der Transferversuch in eine öffentliche Apotheke mit praktischer Anwendung der etablierten SOPs wurde exemplarisch anhand der Herstellung von vier unterschiedlichen Testallergenen erfolgreich erprobt. Die Anfertigung von Pricktestlösungen durch öffentliche Apotheken stellt eine gesetzlich zulässige Alternative dar zur Sicherung der Versorgung bei weiterhin bestehendem Mangel an kommerziellen Testallergenen für berufsbedingte Allergien. Diese im Rahmen des Projekts erfolgreich geprüfte Möglichkeit kann einen wichtigen Beitrag zur Schließung der bestehenden diagnostischen Lücke für beruflich bedingte Typ I-Allergien leisten.

**Ausblick:** Auf dem Weg zu einer flächendeckenden Apotheken-Versorgung mit berufsrelevanten Testallergenen sind neben der Klärung einzelner verbliebener medikolegaler Aspekte verschiedene weiterführende Schritte erforderlich. Diese umfassen unter anderem ergänzende biostatistisch begleitete Validierungsexperimente mit unterschiedlichen Ausgangsmaterial-Chargen weiterer Allergenquellen und Stabilitäts- und Sterilitätsuntersuchungen der entsprechenden Pricktestlösungen über 1 Jahr, um die Konformität aller SOP-basierten Pricktestlösungen mit den qualitativen Erfordernissen der Ph. Eur. sicherzustellen vor einer Validierung der Pricktestlösungen durch *in vivo* Hauttestungen und Gewinnung weiterer Apotheken, die an der SOP-basierten Herstellung von Testallergenen Interesse zeigen.

## Kurzfassung englisch

**Objectives:** The objectives of the research project were standardization, continuous documentation and quality assurance as well as making allergy testing for occupational type I allergies available in order to ensure meaningful diagnostics for each insured person suspected of having an occupational allergy. The present research project FB 317a aimed to explore strategies to counteract the diagnostic gap that already existed at the start of the project due to the lack of test allergens and to achieve an improvement and standardization of the diagnosis of work-related type I allergies.

**Activities/Methods:** Based on a survey of priority needs of the German accident insurance institutions (UVT) for occupationally relevant skin test allergens for the diagnosis of work-related type I allergies, in cooperation between the Paul-Ehrlich-Institut (PEI) and the Institute for Prevention and Occupational Medicine (IPA) of the German Social Accident Insurance a list of the priority test allergens to work on was defined. For these, quality standards were developed taking into account the European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), the German Ordinance on the Operation of Pharmacies (ApBetrO) and the German Medicinal Products Act (AMG), which are required for the production of sensitive and specific skin test solutions. Although permitted, the preparation of test allergens had not been established in pharmacies before the start of the research project. A two-stage process was used to develop pharmacy-adapted standard operating procedures (SOPs) for the preparation of skin prick test solutions. Validation experiments were planned with the assistance of a biostatistician and carried out at two sites (IPA and PEI), each with two employees, to check the robustness of the quality when the SOPs were applied by different people, at different times, at different sites and using different batches of allergen starting material from the same allergen source. In addition, stability and sterility data were obtained. Initial transfer attempts were made to a public pharmacy. In addition, protein-chemical and immunological testing of commercially available diagnostics relevant for the testing of occupational type I allergies was carried out.

**Results:** The survey amongst the UVT revealed 20 priority occupational allergen sources for which the availability of high-quality test allergens for the diagnosis or exclusion of work-related type I allergies and consequently for the German accident insurance institutions' mission is essential. At the start of the project, no authorized or marketable test allergens were available for 8/20 allergen sources and only one for 5/20 allergen sources. At the end of the project period, no authorized or marketable test allergens are available for 11/20 allergen sources and only one for 3/20 allergen sources. Allergen starting materials could be obtained for 18 of the 20 allergen sources. For 13 allergen sources, 16 certified allergen starting materials from certified suppliers could be acquired. Two of the non-certified allergen source materials proved to be qualitatively unsuitable due to an insufficient protein content. For the remaining 16 allergen sources with available starting materials, quality criteria and pharmacy-adapted SOPs were created based on laboratory protocols, taking into account the special pharmacy conditions and legal requirements. For 16 allergen sources, qualitatively suitable test allergens could be prepared from the allergen starting materials using these pharmacy SOPs. The stability and sterility of the analyzed skin prick test solutions was maintained during storage (4-8° C) and after opening during the study period of 1 year. Validation experiments showed significant differences when using different batches of starting material from the same allergen source and when produced at different sites; despite these differences, the protein content of most test allergens (87%) was still within the Ph. Eur. specified 80-120% limit. The transfer attempt to a public pharmacy with practical application of the established SOPs was successfully demonstrated using the preparation of four different test allergens as an example. The preparation of skin prick test solutions by public pharmacies represents a legally permitted alternative for supply assurance of occupational allergy test allergens in the face of a continuing shortage of commercial test allergens. This option which has been successfully investigated within this project can make an important contribution to closing the existing diagnostic gap for work-related type I allergies.

**Outlook:** On the way to a widespread pharmacy supply of occupationally relevant test allergens, in addition to the clarification of a few remaining medicolegal aspects several subsequent steps are necessary. These include for example additional biostatistically monitored validation experiments with different starting material batches of further allergen sources and stability and sterility tests of the corresponding skin prick test solutions over 1 year in order to ensure the conformity of all SOP-based skin prick test solutions with the qualitative requirements of Ph. Eur. prior to their validation by in vivo skin prick testing and attracting further pharmacies interested in the SOP-based production of test allergens.

# 1. Problemstellung

Die Ausgangslage des Projekts „Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien“ steht im Kontext der sich verändernde Arbeitswelt, die mit neuen berufsdermatologischen und pulmonologischen Herausforderungen einhergeht. Diese beinhalten aufgrund des technischen Fortschrittes neben dem beruflichen Umgang mit bekannten sensibilisierenden Arbeitsplatzstoffen einen stetig zunehmenden Einsatz neuer Substanzen mit bislang nicht bekannten Allergenen. Um auch in Zukunft den berufsbedingten Haut- und Atemwegserkrankungen dauerhaft erfolgreich zu begegnen, wurde Optimierungspotential von den Unfallversicherungsträgern (UVT) erkannt. Dabei ist die gesamte Aufgabentrias der gesetzlichen Unfallversicherung gefragt, um sowohl durch rechtzeitige und effiziente Prävention persönliches gesundheitliches Leid zu verhindern als auch bei Versagen der Prävention die Auswirkungen zu lindern (Leistungen nach SGB VII und/oder § 3 BKV).

Vor diesem Hintergrund haben sich 2018 die fachlich zuständigen GFK-Ausschüsse „Berufskrankheiten“, „Prävention“ und „Rehabilitation“ hinsichtlich der Handlungsbedarfe beraten und eine Priorisierung zukünftiger Forschungsfelder auf dem Gebiet der Berufsdermatologie vorgenommen. Ein für die genannten Ausschüsse hochprioritäres Handlungsfeld bezieht sich auf berufliche Allergien und hier im Vordergrund die Allergiediagnostik, wobei sowohl die Haut als auch die Atemwege betroffen sein können.

Die allergologische Diagnostik sollte immer das aktuelle Allergengeschehen an Arbeitsplätzen abbilden. Im Leistungsbereich können Sensibilisierungen damit sicherer diagnostiziert werden und zu einer zielgenaueren und umfassenden Allergenkenz führen. Der allergologischen Diagnostik kommt bei der Ermittlung des Krankheitsauslösers eine zentrale Rolle zu und unterscheidet sich damit auch von anderen Bereichen der Medizin, in denen mit der Erfassung der Symptome die Diagnostik abgeschlossen und eine wirksame Behandlung durch Kenz in vielen Fällen gar nicht möglich ist. Demzufolge hat die Allergiediagnostik mit Abgrenzung gegenüber Differentialdiagnosen und der Ermittlung des ursächlichen allergieauslösenden Stoffes inklusive Anamnese, Hauttestungen, labormedizinischen *in vitro*-Untersuchungen und Provokationstestungen insbesondere für beruflich-verursachte allergische Erkrankungen eine zentrale Bedeutung.

Nach einer ausführlichen und richtungsweisenden Anamnese sind Hauttestungen mit Arbeitsstoffen sowohl im Rahmen des Hautarztverfahrens als auch im Berufskrankheiten-Feststellungsverfahren zunächst die Methode der Wahl. Für den Nachweis einer IgE-vermittelten Soforttyp-Allergie (Typ I) ist der Pricktest die erste Option.

Zu Projektbeginn waren bereits zunehmend erhebliche Defizite im Bereich der Testmöglichkeiten für beruflich verursachte allergische Erkrankungen erkennbar, die im Projektverlauf noch weiter in Erscheinung traten. Durch die aktive Rücknahme von Zulassungen für Testallergene zum Nachweis beruflicher Soforttypallergien oder durch Erlöschen der Zulassungen durch die sogenannte „Sunset-Clause<sup>1</sup>“ (§ 31 Absatz 1 Satz 1 Nummer 1 Arzneimittelgesetz (AMG)) entsteht eine diagnostische Lücke. Diese ist neben der (1.) zunehmenden Einschränkung kommerziell verfügbarer Testallergene zusätzlich in einer (2.) teilweise unzureichenden Qualität noch verfügbarer Testextrakte begründet. Um dieser diagnostischen Lücke entgegenzuwirken, ist daher einerseits eine Standardisierung der Diagnostik unabdingbar und andererseits muss die Verfügbarkeit von geeigneten validierten Testextrakten gewährleistet werden. Hierfür ist die Etablierung von Qualitätsstandards für eine bedarfsorientierte Herstellung von Allergenextrakten zur Hauttestung erforderlich sowie die Sicherung ihrer Verfügbarkeit (Typ I-Allergene).

---

<sup>1</sup> Im Rahmen der sogenannten Sunset Clause-Regelung können Zulassungen unter bestimmten Umständen erlöschen, wenn ein pharmazeutischer Unternehmer über einen Zeitraum von drei Jahren keinen Gebrauch von der Zulassung macht.

Bei der Hauttestung beeinflusst die Qualität der verwendeten Allergenextrakte entscheidend das Testergebnis, wie auch in einem Positionspapier<sup>2</sup> der European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) zusammengefasst wurde. Empfohlen wird darin, bei unklaren Fällen die gleichzeitige Verwendung von Hauttest-Produkten der gleichen Allergenquelle unterschiedlicher Hersteller zu verwenden, da nicht alle kommerziellen Extrakte gleich gut sind. Da die Reproduzierbarkeit der Hauttest-Ergebnisse nicht immer optimal ist, erscheinen – insbesondere bei schwach sensibilisierten Personen – Mehrfach-, mindestens jedoch Doppelbestimmungen sinnvoll. Zu Projektbeginn bestanden auf nationaler und europäischer Ebene die o.g. Forderung von medizinischen Fachkreisen, dass Hauttestlösungen für Berufsallergene optimiert und standardisiert werden sollten<sup>2</sup> und die Palette der kommerziell zur Verfügung stehenden Testallergen-Produkte nicht weiter reduziert werden sollte<sup>3</sup>.

Dies steht im Einklang mit zu Projektbeginn bereits initiierten regulatorischen Aktivitäten, auf europäischer Ebene vereinfachte Zulassungs-Anforderungen für seltene Allergene zu definieren (s. dazu Public Consultation (12/2018-06/2019) des in PEI-Rapportage erstellten Concept Papers<sup>4</sup> und auf nationaler Ebene durch Gebührenreduktion die Aufrechterhaltung bestehender Zulassungen und Neuzulassung neuer Testallergene in Deutschland zu fördern. Um den Erhalt von geprüften Testallergenen auf dem deutschen Markt zu unterstützen, wird seitens des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) in Abstimmung mit dem Bundesministerium der Gesundheit (BMG) auf formlosen Antrag des pharmazeutischen Unternehmens für alle Amtshandlungen (Chargenprüfung, Änderungsanzeigen, Beratung, klinische Prüfungen, Zulassung) in Verbindung mit seltenen Testallergenen seit 2018 eine Gebührenreduktion um 75% auf 25% gewährt.

Diese Maßnahmen hatten jedoch bis zum Zeitpunkt des Projektbeginns zu keiner wesentlichen Verbesserung führen können. Daher sollten weitere Strategien und Schritte (z.B. Apothekenherstellung von Testallergenen) im Rahmen des vorliegenden Forschungsvorhabens FB 317a exploriert werden, um den bestehenden diagnostischen Lücken entgegenzuwirken und eine Verbesserung und Standardisierung der Diagnostik von arbeitsbedingten Typ I-Reaktionen (Sofortreaktionen, die sich in Form von Urtikaria, allergischer Rhinitis bzw. Rhinokonjunktivitis, allergischem Asthma bronchiale und anaphylaktischem Schock äußern können) herbeizuführen. Obwohl zulässig, ist die Herstellung von Testallergenen in Apotheken (noch) nicht etabliert.

Das Projekt wurde in enger Kooperation mit dem Kompetenzzentrum Abteilung Allergologie/Immunologie (Leitung: Frau Prof. Monika Raulf) am Institut für Prävention und Arbeitsmedizin (IPA) der DGUV, Institut der Ruhr-Universität Bochum, (Teil des IPA-Projekts 164 „Berufsdermatologie“ (Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien)) geplant und durchgeführt (Erklärung für das Berichtswesen in Kooperationsprojekten, Anhang 1). Die für das IPA erforderlichen Mittel wurden über den Institutshaushalt des IPA bereitgestellt.

---

<sup>2</sup> Van Kampen V et al. EAACI position paper: skin prick testing in the diagnosis of occupational type I allergies. *Allergy* 2013;68:580-584.

<sup>3</sup> Klimek L et al. In-vivo diagnostic test allergens in Europe: A call to action and proposal for recovery plan-An EAACI position paper. *Allergy* 2020;75:2161-2169.

<sup>4</sup> Concept Paper der CHMP-Rheumatology and Immunology Working Party. [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/concept-paper-guideline-allergen-products-development-moderate-low-sized-study-populations\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/concept-paper-guideline-allergen-products-development-moderate-low-sized-study-populations_en.pdf)

## 2. Forschungszweck/-ziel

Forschungszweck des Forschungsvorhabens FB 317a war Standardisierung, fortlaufende Dokumentation und Qualitätssicherung sowie Verfügbarmachung von Allergietestungen für berufliche Typ I-Allergien, um für betroffene Versicherte mit Verdacht auf eine berufliche Allergie eine aussagekräftige Diagnostik zu gewährleisten.

Da der Nachweis einer Sensibilisierung mit Hilfe von geeigneten Hauttestungen ein essentieller Baustein in der Argumentationskette einer durch Allergene induzierten Berufskrankheit darstellt und auch im Hautarztverfahren von Bedeutung ist, ist die Verfügbarkeit von qualitätsgesicherten Testsubstanzen eine Voraussetzung für eine zielführende Versorgung (einschließlich Begutachtung) und daher für alle UVT von großer Relevanz, insbesondere unter Berücksichtigung der Tragweite, die allergologische Testungen z. B. für die Prävention, medizinische und berufliche Rehabilitation sowie auch für die Einstufung der MdE besitzen.

Es bestehen zunehmend erhebliche Defizite im Bereich der allergologischen *in vivo* Testmöglichkeiten für beruflich verursachte allergische Erkrankungen. Die Diagnostik – insbesondere auch im Rahmen von Begutachtungen – wird dadurch erheblich erschwert. Diese diagnostische Lücke liegt sowohl an einer zunehmenden Einschränkung der zur Verfügung stehenden kommerziellen Testextrakte als auch an der teilweise unzureichenden Qualität der noch verfügbaren Textextrakte. Um dieser diagnostischen Lücke entgegenzuwirken, ist es erforderlich, die Verfügbarkeit von geeigneten Testextrakten sicherzustellen. Hierfür ist die Etablierung von Qualitätsstandards für eine bedarfsorientierte standardisierte Herstellung von geeigneten Allergenextrakten für die Hauttestung sowie die Sicherung ihrer Verfügbarkeit zur Diagnostik von Typ I-Allergene notwendig. Dies sollte im Rahmen des vorliegenden Forschungsvorhabens FB 317a für ausgewählte berufliche Allergenquellen angegangen werden.

In Abstimmung und Zusammenarbeit mit IPA (Frau Prof. Dr. Monika Raulf und Mitarbeiterinnen, Kompetenzzentrum Allergologie/Immunologie) wurden hierfür die folgenden acht Forschungsziele im Rahmen von FB 317a definiert und bearbeitet, aus deren Ergebnisse verschiedenen Zielgruppen (Versicherte mit Verdacht auf BK 5101, 4301, 4302, 1315; ferner: Hautärzte, Pulmologen, Allergologen, Arbeitsmediziner, Sicherheitsfachkräfte, Sachbearbeiter der UVT, Präventionsdienste) einen Nutzen ziehen können:

- Bedarfsermittlung der erforderlichen beruflich relevanten Allergenextrakte für die Hautpricktestung
- Etablierung von Qualitätsstandards für die Extrakterstellung
- Immunologische und proteinchemische Überprüfung der aktuell kommerziell verfügbaren Extrakte, die für die Testung beruflicher Typ I-Allergien relevant sind
- Erarbeitung von SOPs für die Herstellung von geeigneten Extrakten
- Herstellung der ausgewählten Extrakte im Labormaßstab entsprechend den SOPs
- Einsatz der Extrakte für die *in vitro* Testung zur quantitativen Bestimmung von spezifischen IgE-Konzentrationen in serologischen Tests
- Validierung der Extrakte durch *in vivo* Hauttestungen in der Praxis (Kooperation mit geeigneten medizinischen Zentren)
- Bereitstellung von Testextrakten beruflicher Allergenquellen (Kooperation mit Apotheken und/oder pharmazeutischen Unternehmen)

### 3. Methodik

Das Forschungsvorhaben wurde im Einklang mit dem ursprünglichen Zeitplan lt. Antrag, jedoch um 6 Monate zeitversetzt durchgeführt (s. dazu schematische Darstellung, Anhang 2). Der Start des Forschungsvorhabens war zum Zeitpunkt der Antragstellung auf März 2020 terminiert worden. Der Projektbeginn musste jedoch infolge einer pandemiebedingten institutsweiten Laborschließung um 6 Monate auf 01.11.2020 verlegt werden. Die projektfinanzierte Personalstelle einer wissenschaftlichen Mitarbeiterin bzw. eines wissenschaftlichen Mitarbeiters (0,5 Vollzeitäquivalent E13) konnte erfolgreich ab 01.12.2020 mit einem sehr geeigneten Kandidaten, einem approbierten Apotheker, besetzt werden. Dankenswerterweise wurde der kostenneutralen Laufzeitverlängerung um einen Monat bis 30.11.2023 durch die Stabstellenleitung der Forschungsförderung, Koordination der UVT-Forschung zugestimmt. Im Nachgang erfolgte die Verschriftlichung der Ergebnisse (Publikationen für wissenschaftliche Fachjournale mit Begutachtungssystem und vorliegender Abschlussbericht). Das Forschungsvorhaben wurde durch einen Forschungsbegleitkreis beratend begleitet, um die Projektqualität und Erreichung der Meilensteine abzusichern. Es erfolgten insgesamt vier Sitzungen des Forschungsbegleitkreises (zu Projektbeginn am 04.02.2021, im Projektverlauf am 30.05.2022 und 13.03.2023 und zum Projektabschluss am 31.01.2024).

Die o.g. Forschungsziele von FB 317a wurden in acht Arbeitspaketen in enger Abstimmung mit IPA (Kompetenzzentrum Allergologie/Immunologie (Leitung: Frau Prof. Monika Raulf), Projekt 164 Berufsdermatologie) methodisch wie folgt bearbeitet (**Arbeitspakete gemäß Zeitstrahl (Anhang 2) in Klammer**):

1. *Bedarfsermittlung der erforderlichen beruflich relevanten Allergenextrakte für die Hautpricktestung (Aufgabe von IPA unter Mitwirkung von PEI) (A1.1 und A1.2):*

Die Bedarfsermittlung der am dringendsten erforderlichen beruflich relevanten Allergenextrakte für die Hautpricktestung erfolgte unter Einbeziehung der aktuellen Berufskrankheiten-Statistik und Einbindung der UVT. Im Rahmen des IPA-Projekt 164 „Qualitätssicherung der beruflichen Typ I-Allergiediagnostik“ wurde am 04.06.2020 in Zusammenarbeit mit den UVT eine Liste der 20 beruflichen Allergenquellen höchster Priorität konsentiert.

Diese 20 prioritären Allergenquellen wurden zu Projektbeginn (am 16.04.2021), im Projektverlauf (am 01.09.2022) und zu Projektende (am 15.01.2024) im Rahmen des Projekts FB 317a einer Bestandsüberprüfung von Zulassungen und/oder Verkehrsfähigkeit (unter Übergangsvorschrift) kommerzieller Testallergen-Produkte unterzogen (*Identifikation zugelassener Präparate (A1.1)*). Zusätzlich erfolgte zu den gleichen Stichtagen die Überprüfung der realen Verfügbarkeit zugelassener und/oder verkehrsfähiger Testallergene basierend auf Anforderung bei den sieben pharmazeutischen Unternehmen, die in Deutschland Testallergene kommerziell vermarkten (*Anforderungen für Testungen abfragen (PEI, Allergenhersteller) (A1.2)*).

2. *Etablierung von Qualitätsstandards für die Extrakterstellung (gemeinsame Aufgabe von PEI und IPA) (A2.1, A2.2, A2.3):*

Bezugsquellen von Ausgangsmaterialien (entspricht allergenhaltigen Rohstoffen) zu 18 der o.g. 20 Allergenquellen konnten erfolgreich identifiziert und erworben werden. Im Rahmen der Konzepterstellung und Priorisierung (*Konzepterstellung und Priorisierung (A2.1)*) wurden aus der Literatur und den anzuwendenden Monographien der Europäischen Pharmakopöe, sowie der Apothekenbetriebsordnung die geltenden Anforderungen an Prüfkriterien für die jeweiligen Ausgangsmaterialien, In-Prozess-Kontrollen und Endproduktprüfung extrahiert und zusammengestellt.

Etablierte proteinchemische und immunologische Methoden und Materialien an IPA und PEI wurden abgeglichen und vereinheitlicht (*Überprüfung und Abgleich der Analysetools zwischen IPA und PEI (A2.2)*).

Bei der Herstellung und Qualitätsprüfung von Allergenextrakten und Pricktest-Lösungen wurden in einem ersten Schritt die Möglichkeiten unter optimalen Labor-Bedingungen zugrunde gelegt, im Verlauf erfolgte in einem zweiten Schritt die Anpassung an die Möglichkeiten einer gut ausgestatteten öffentlichen Apotheke. Entsprechende Qualitätsstandards wurden in Standard Operating Procedures (SOPs) verschriftlicht. Nach abgeschlossener Vereinheitlichung der Methoden und Materialien an IPA und PEI wurden erarbeitete apothekenadaptierte SOPs (s. *Arbeitspaket 4*) im gegenseitigen Austausch überprüft und konsentiert (s. *Arbeitspaket 5*).

Zusätzlich wurden alle im Projektverlauf kommerziell verfügbaren Testallergene der sieben kommerziellen Anbieter zu o.g. 20 Allergenquellen käuflich zur qualitativen Analyse erworben (*Beschaffung der kommerziellen Extrakte (A2.3)*).

3. *Immunologische und proteinchemische Überprüfung der aktuell kommerziell verfügbaren Extrakte, die für die Testung beruflicher Typ I-Allergien relevant sind (vorrangige Aufgabe des PEIs) (A3.1 und A3.2):*

Alle im Projektverlauf kommerziell verfügbaren Pricktestlösungen wurden bezüglich Proteingehalt und –profil (mittels Bradford-Bestimmung und Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) mit anschließender Silberfärbung) analysiert (*proteinchemische Überprüfung (A3.1)*), teilweise um Allergengehaltsbestimmungen mittels CAP-Inhibitionen, Western-Blotanalysen oder ELISA erweitert (*immunologische Überprüfung (A3.2)*). Die kommerziellen Testallergen-Produkte wurden mit den im Rahmen des Projekts unter Apotheken-Bedingungen hergestellten Allergenextrakten verglichen.

4. *Erarbeitung von SOPs für die Herstellung von geeigneten Extrakten (gemeinsame Aufgabe von PEI und IPA) (A4.1, A4.2, A4.3):*

Für alle verfügbaren Ausgangsmaterialien wurden apothekenadaptierte Standard Operating Procedures (SOPs) zur Herstellung von Pricktestlösungen erarbeitet, schriftlich niedergelegt und einem Freigabeverfahren unter Einbindung mehrerer Experten unterzogen. Die SOPs umfassen einen generellen Anforderungskatalog an die Ausgangsmaterialien, Extraktionsmedien, Gerätschaften, zu beachtende Vorgaben der Europäischen Pharmakopöe und Apothekenbetriebsordnung (*Erarbeitung Anforderungskatalog (A4.1)*), exakte Beschreibung der Abläufe, Zuständigkeiten und Qualifikation (*Beschreibung der Abläufe, Zuständigkeiten, Qualifikation (A4.2)*) für den Einsatz unter realen Apotheken-Bedingungen jeweils mit genauer Dokumentation der Prozesse, insbesondere Identitätsbestimmung der Ausgangsmaterialien und Qualitätskontrollen (*Dokumentation der Prozesse (A4.3)*).

5. *Herstellung der ausgewählten Extrakte im Labormaßstab entsprechend den SOPs (vorrangige Aufgabe von IPA, Unterstützung durch PEI) (A5.1 und A5.2):*

Entsprechend den in Arbeitspaket 4 erarbeiteten und konsentierten SOPs wurden Hauttest-geeignete Extrakte und Pricktestlösungen im Labormaßstab hergestellt und proteinbiochemisch (Proteinbestimmung, SDS-PAGE mit anschließender Silberfärbung) charakterisiert. Rohextrakte (Endprodukt des 1. Herstellungsschritts) und fertige Pricktestlösungen (Endprodukt des 2. Herstellungsschritts) wurden zur vergleichenden Analytik zwischen IPA und PEI ausgetauscht. Adaptation und Feinjustierung erfolgen im gegenseitigen Austausch. Zur Überprüfung der universellen Einsetzbarkeit der SOPs und Reproduzierbarkeit wurde unter Einbindung des Fachbereichs Biostatistik am Paul-Ehrlich-Institut eine statistisch untermauerte Validierungsuntersuchung konzipiert, die den Einfluss unterschiedlichen Personals, unterschiedlicher Herstellungszeitpunkte und Standorte, sowie unterschiedlicher Ausgangsmaterialchargen derselben Allergenquelle auf das Ergebnis der SOP-geleiteten Pricktestherstellung untersucht. Die Durchführung erfolgte an zwei Standorten (IPA und PEI) mit je zwei

Mitarbeiterinnen oder Mitarbeitern. Der statistische Vergleich der hergestellten Pricktestlösungen erfolgte auf Basis von Durchschnittswerten der mindestens 3fach Bestimmung des Gesamtproteingehalts als Qualitätsmarker mittels angepasster Zwei-Wege-ANOVA (Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$ ; bereinigt um Mehrfachvergleiche nach Šidák).

An Rückstellmustern der hergestellten Pricktestlösungen wurden Stabilität (Qualität mittels Proteinprofil und -gehalt und Sterilität mittels BACT/ALERT® system (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)) unter Lagerungs- und Anwendungsbedingungen über 1 Jahr untersucht (*Nachprüfungen (A5.1) und Auswertungen (A5.2) durch PEI*).

6. *Einsatz der Extrakte für die in vitro Testung zur quantitativen Bestimmung von spezifischen IgE-Konzentrationen in serologischen Tests (Aufgabe von IPA, Teilnahme von PEI an den regelmäßigen Besprechungen des Qualitätszirkels) (im Anschluss an die 3-jährige Förderperiode von FB 317a):*

Einsatz der Extrakte für die *in vitro* Testung zur quantitativen Bestimmung von spezifischen IgE-Konzentrationen in serologischen Tests (Überprüfung der Qualität der Testextrakte durch Biotinylierung der darin enthaltenen Proteine und der anschließenden Kopplung an Streptavidin-ImmunoCAPs. Diese dienen zur quantitativen Bestimmung der spezifischen IgE-Antikörper in geeigneten Seren und werden auch als ein Validierungstool im Arbeitspaket 7 eingesetzt. Die Bearbeitung dieses Forschungsziel durch die Kooperationspartnerinnen am IPA ist nach der Projektlaufzeit von FB 317a geplant.

7. *Validierung der Extrakte durch in vivo Hauttestungen in der Praxis (Kooperation mit geeigneten medizinischen Zentren) (Aufgabe von IPA, Teilnahme von PEI an den regelmäßigen Besprechungen des Qualitätszirkels) (im Anschluss an die 3-jährige Förderperiode von FB 317a):*

Validierung der Extrakte durch *in vivo* Hauttestungen in der Praxis (Kooperation mit geeigneten medizinischen Zentren). Die Bearbeitung dieses Forschungsziel durch die Kooperationspartnerinnen am IPA ist nach der Projektlaufzeit von FB 317a geplant.

8. *Bereitstellung von Testextrakten beruflicher Allergenquellen (Kooperation mit Apotheken und/oder pharmazeutischen Unternehmen) (Aufgabe von IPA; regulatorische Hilfestellung (Scientific Advice) durch PEI) (im Anschluss an die 3-jährige Förderperiode von FB 317a):*

Basierend auf o.g. SOPs und im Einklang mit dem deutschen Arzneimittelgesetz und Apothekenbetriebsordnung ist nach klinischer Validierung (Arbeitspaket 7) eine Herstellung von Pricktestsubstanzen als Sprechstundenbedarf auf Rezept in Zusammenarbeit mit öffentlichen Apotheken angedacht, die für anfordernde Gutachterinnen und Gutachter und behandelnde Ärztinnen und Ärzte verfügbar sind.

Im Rahmen der Projektlaufzeit von FB 317a konnten bereits praktische Transferversuche in eine öffentliche Apotheke exemplarisch erfolgen und die gewonnenen Erkenntnisse in die Konsentierung der SOPs einfließen.

## 4. Ergebnisse des Gesamtvorhabens

Das Projekt FB 317a wurde über die gesamte Projektlaufzeit in enger Kooperation und Abstimmung mit dem Kompetenzzentrum Allergologie/Immunologie (Leitung Frau Prof. Raulf), Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der DGUV, Institut der Ruhr-Universität Bochum, IPA, durchgeführt. Es erfolgten im Zeitraum 01.11.2020 – 30.11.2023 in vier- bis sechswöchigen Abständen insgesamt 27 virtuell durchgeführte Arbeitsbesprechungen zwischen den Projektbeteiligten von IPA (Projekt 164 Berufsdermatologie) und PEI (FB 317a), an denen von PEI-Seite neben der Projektleiterin, der Laborleitung/Fachgebietsleitung des Fachgebiets (FG) „Forschung Allergologie“ und dem projekt-finanzierten wissenschaftlichen Mitarbeiter, regelmäßig auch die Fachgebietsleitung FG „Bewertung Qualität Allergologie“ und Laborleitung FG „Produktprüfung Allergene“, teilweise weitere Expertinnen und Experten aus einer öffentlichen Apotheke und der Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen beratend teilnahmen.

Zusätzlich wurde im Rahmen des Projekts der Kontakt zur Fachgruppe Apothekenwesen gesucht, mit der ab Dezember 2021 vier Online-Meetings zum projektbezogenen Gedankenaustausch stattfanden. Mit dem Projekt FB 317b „Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ IV-Allergien“ (Leiter: Prof. Swen-Malte John) bestand und besteht ebenfalls weiterhin ein regelmäßiger Austausch.

Im Projektverlauf erfolgten vier virtuell organisierte Treffen mit den Mitgliedern des Forschungsbegleitkreises, zuletzt am 31.01.2024. In diesem Meeting wurden die vorliegenden Ergebnisse des Gesamtvorhabens präsentiert und diskutiert.

### *Arbeitspaket 1: Bedarfsermittlung der erforderlichen beruflich relevanten Allergenextrakte für die Hautpricktestung*

In Zusammenarbeit mit den UVT wurde eine Liste der 20 prioritären Allergenquellen ermittelt (Bedarfsermittlung durch IPA), für die seitens der UVT der dringendste Bedarf in der Versorgung der Versicherten mit arbeitsbedingten Typ I-Allergien gesehen wird (Tabelle 1).

Allergenquelle	Betroffene Arbeitsbereiche
<b>Weizen (Mehl, Korn)</b>	Bäckereien
<b>Roggen (Mehl, Korn)</b>	
<b>α-Amylase</b>	
<b>Glucoamylase</b>	
<b><i>Lepidoglyphus destructor</i></b>	Bäckereien / Landwirtschaft
<b><i>Tyrophagus putrescentiae</i></b>	
<b><i>Acarus siro</i></b>	
<b>Fichtenholz</b>	Tischlereien, Sägewerke
<b>Buchenholz</b>	
<b>Naturgummilatex</b>	Laborbetriebe / Gesundheitsbereich
<b>Rinderhaar / -epithelien</b>	Landwirtschaft
<b>Maushaar / -urin</b>	Laborbetriebe
<b>Rattenhaar / -urin</b>	
<b><i>Aspergillus fumigatus</i></b>	
<b><i>Penicillium chrysogenum</i></b>	Abfallwirtschaft / Landwirtschaft

Schimmelpilz (als Feuchteindikator, z.B. <i>Aspergillus versicolor</i> )	
<i>Stachybotris chartarum</i>	
Phytase	Landwirtschaft / Futtermittelindustrie
Fisch (z.B. Kabeljau/Lachs)	Verarbeitende Industrie, Fischerei
Schalentiere (z. B. Garnele)	

Tabelle 1: Konsentierete Liste der 20 prioritären Berufsallergenquellen, für die seitens der UV-Träger der dringendste Bedarf an Testallergenen in der Versorgung der Versicherten mit beruflich bedingten Typ I-Allergien besteht.

Diese Bedarfsliste wurde den Arbeiten von Forschungsvorhaben FB 317a zugrunde gelegt und zunächst die reale Verfügbarkeit zugelassener und/oder verkehrsfähiger kommerzieller *in vivo* Diagnostika (syn. Testallergene) untersucht. Während bestehende Testallergen-Zulassungen und gemäß § 141 Abs. 4 des Arzneimittelgesetzes verkehrsfähige Testallergene transparent der Homepage des Paul-Ehrlich-Instituts <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/allergene/allergene-node.html> zu entnehmen sind, erlaubt diese Aufstellung jedoch keine Rückschlüsse über die tatsächliche Verfügbarkeit der Produkte. Diese wurde bei den in Deutschland tätigen pharmazeutischen Unternehmen (Allergopharma, ALK, Bencard, HAL, Leti, ROXALL, Stallergenes) ermittelt.

Zu Projektbeginn (Abfrageergebnisse Stand April 2021) sind

- für 8/20 Allergenquellen keine zugelassenen oder verkehrsfähigen Testallergene verfügbar. Dies betrifft  $\alpha$ -Amylase, Glycoamylase, Phytase, Fichtenholz, Buchenholz, Rinderhaar/-epithelien, *Aspergillus versicolor*, *Stachybotris chartarum*.
- für 5/20 Allergenquellen nur ein einziges zugelassenes oder verkehrsfähiges Testallergen kommerziell verfügbar. Dies betrifft Roggenmehl/-korn, *Tyrophagus putrescentiae*, Naturgummilatex, Mäusehaar/-epithelien, Rattenhaar/-epithelien.
- für 7/20 Allergenquellen  $\geq 2$  zugelassene oder verkehrsfähige Testsubstanzen verfügbar. Dies betrifft Weizenmehl/-korn, *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, Kabeljau, Schalentiere.
- Darüber hinaus bestehen zu Projektbeginn nominell 12 Zulassungen für Testallergene aus o.g. Liste, die jedoch nicht kommerziell verfügbar sind und längere Zeit nicht in Verkehr gebracht wurden. Sie sind von der Sunset Clause bedroht. Dies betrifft je zwei Testallergen-Produkte zu Weizenmehl/-korn und *Tyrophagus putrescentiae*, sowie je ein Testallergen-Produkt zu Roggenmehl/-korn, *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, Rinderhaar/-epithelien, Naturgummilatex, *Aspergillus fumigatus*, Kabeljau, Schalentiere.

Für die experimentellen Untersuchungen in Arbeitspaket 3 konnte teilweise auf kommerzielle Testallergene zurückgegriffen werden, die kurz vor Projektbeginn noch erworben werden konnten.

Während der Projektlaufzeit verbesserte sich die Gesamtsituation der Verfügbarkeit an kommerziellen Testallergenen zu den o.g. 20 arbeitsbezogenen Allergenquellen nicht. Zwar wurde je ein zugelassenes Produkt zu Weizenmehl/-korn und *Aspergillus fumigatus* eines Allergenherstellers wiederverfügbar, jedoch waren zu Projektende weitere sieben Testallergene von zwei pharmazeutischen Unternehmen nicht mehr verfügbar.

Zu Projektende (Abfrageergebnisse Stand Januar 2024) sind

- für 11/20 Allergenquellen keine zugelassenen oder verkehrsfähigen Testallergene verfügbar. Dies betrifft Roggenmehl/-korn,  $\alpha$ -Amylase, Glycoamylase, Phytase, Fichtenholz, Buchenholz, Mäusehaar/-epithelien, Rattenhaar/-epithelien, Rinderhaar/-epithelien, *Aspergillus versicolor*, *Stachybotris chartarum*.
- für 3/20 Allergenquellen nur ein einziges zugelassenes oder verkehrsfähiges Testallergen kommerziell verfügbar. Dies betrifft *Tyrophagus putrescentiae*, Naturgummilatex, Kabeljau.
- für 6/20 Allergenquellen  $\geq 2$  zugelassene oder verkehrsfähige Testsubstanzen verfügbar. Dies betrifft Weizenmehl/-korn, *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, Schalentiere.
- Darüber hinaus bestehen zu Projektende nominell noch 17 Zulassungen für Testallergene aus o.g. Liste, die nicht kommerziell verfügbar sind und längere Zeit nicht in Verkehr gebracht wurden. Sie sind von der Sunset Clause bedroht. Dies betrifft drei Testallergen-Produkte zu Kabeljau, je zwei Testallergen-Produkte zu Weizenmehl/-korn, Roggenmehl/-korn, *Tyrophagus putrescentiae* und Schalentiere, sowie je ein Testallergen-Produkt zu *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, Mäusehaar/-epithelien, Rattenhaar/-epithelien, Rinderhaar/-epithelien, Naturgummilatex.

#### *Arbeitspaket 2: Etablierung von Qualitätsstandards für die Extraktherstellung*

Bei der Herstellung und Qualitätsprüfung von Allergenextrakten und Pricktest-Lösungen wurden in einem ersten Schritt die Möglichkeiten unter optimalen Labor-Bedingungen zugrunde gelegt, im Verlauf erfolgte in einem zweiten Schritt die Anpassung an die Möglichkeiten einer gut ausgestatteten öffentlichen Apotheke. Bei der Apothekenfertigung sind insbesondere die Qualitäts- und Prüfanforderungen der Apothekenbetriebsordnung (z.B. Identitätsprüfung des Ausgangsmaterials, In-Prozess-Kontrollen und Endproduktprüfung (bei Defekturen), Haltbarkeit) und des Europäischen Arzneibuchs (syn. Europäische Pharmakopöe; Ph. Eur.) individuell nach Allergenquelle zu berücksichtigen (Abbildung 1).

Für 18/20 Allergenquellen konnte Allergenausgangsmaterial bezogen werden; davon zu 13 Allergenquellen 16 Ausgangsmaterialien von spezialisierten Allergenlieferanten (Allergon, Ängelholm, Schweden; Stallergenes Greer, Lenoir, NC, USA) mit Zertifikaten (s. dazu auch Kespohl *et al.*<sup>5</sup> und Jost *et al.* (Anlage 3)). Holzstäube und Enzymkonzentrate sind ausschließlich aus anderen Bezugsquellen – ohne Zertifikate – zu beziehen. Sofern für die Ausgangsmaterialien keine Prüfzertifikate zu den in den projektrelevanten Monographien der Ph. Eur. (*Allergen products (1063)*, *Animal epithelia and outgrowths for allergen products (2621)*, *Mites for allergen products (2625)*, *Moulds for allergen products (2626)*) geforderten Prüfparametern vorliegen, sind diese Nachweise zusätzlich zu erbringen. Für 2/20 Allergenquellen (Naturgummilatex, *Stachybotris chartarum*) konnten während der Projektlaufzeit keine lieferfähigen Bezugsquellen identifiziert werden.

Für die 16 Allergenquellen mit vorhanden Allergenausgangsmaterialien wurden Prüfkriterien und -methoden unter Berücksichtigung der Apothekenbetriebsordnung und projektrelevanten Monographien der Ph. Eur. Qualitätsstandards für die Extraktherstellung unter Labor- und Apotheken-Bedingungen etabliert: Alle gewonnenen

---

<sup>5</sup> Kespohl S, Jost R, Maryska S, Altin LM, Sander I, Schülke S, Paulus-Tremel K, Bonertz A, Klose T, Mahler V, Raulf M. Vorgehen zur standardisierten Herstellung von Hautpricktest-Lösungen für die Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien bei fehlenden kommerziellen Extrakten. *Allergologie* 2024;47 (in Druck)

Proteinextrakte und Pricktestlösungen wurden bezüglich ihres Proteinprofils und -gehalts als Qualitätskriterien bewertet und mit einer repräsentativen Referenzcharge verglichen. Sofern allergenspezifische monoklonale oder polyklonale Antikörper verfügbar waren (Kespohl *et al.*), wurde am IPA zusätzlich zu Proteingehalt und Proteinprofil exemplarisch der Allergengehalt der Extrakte verschiedener Ausgangsmaterialchargen und/oder der Pricktestlösungen mittels ELISA oder Western-Blotanalysen ergänzend untersucht. Im Gegensatz zu Allergenprodukten, die zur therapeutischen Verwendung bestimmt sind und für die gemäß Ph. Eur. ein validierter Test zur Messung der Wirksamkeit (Gesamtallergenaktivität, Bestimmung einzelner Allergene oder andere gerechtfertigte Tests) angewandt werden muss, ist dies für Testallergene nicht verpflichtend und wird auch für die Charakterisierung und Freigabe kommerzieller Testallergene nicht routinemäßig angewandt.

	Herstellungsschritt	Notwendige Prüfungen	Rechtliche Grundlagen
Allergenextraktion in Apotheken in Übereinstimmung mit: § 13 Abs. 2 Nr. 1 i. V. m. § 13 Abs. 2a Satz 2 Nr. 3 AMG	 <b>Zertifiziertes? Allergenausgangsmaterial</b>	→ <b>Identitätsprüfung:</b> Makroskopische & mikroskopische morphologische Charakteristika, Gesamtproteinprofil, genetische Identifikation	<b>ApBetrO</b> § 6 „Allgemeine Vorschriften über die Herstellung und Prüfung“ § 11 „Ausgangsstoffe“  <b>Ph. Eur. „Allergen products“</b> plus „Animal epithelia and outgrowths for allergen products“ „Mites for allergen products“ „Moulds for allergen products“
	<b>Extraktion</b>   <b>Extrakt</b>	→ <b>Inprozesskontrollen:</b> z.B. Aussehen, Beschaffenheit, Farbe, Geruch, pH-Wert	<b>§ 7 ApBetrO</b> <b>§ 8 ApBetrO</b>
	<b>Formulierung &amp; Sterilfiltration</b>   <b>Pricktestlösung</b>	→ <b>Lagerung und Haltbarkeit:</b> Stabilität, Sterilität	<b>§ 14 ApBetrO</b>
		→ <b>Ggf. Freigabeproofung:</b> z.B. mittels SDS-PAGE	<b>§ 8 ApBetrO</b>

Abbildung 1: Rechtliche Grundlagen der Qualitätssicherung der Herstellung von Pricktestlösungen in Apotheken, in Übereinstimmung mit AMG und ApBetrO. Abkürzungen: AMG: Arzneimittelgesetz, ApBetrO: Apothekenbetriebsordnung, Ph. Eur.: Europäisches Arzneibuch

Für 16 Allergenquellen konnten Proteinextrakte und Pricktestlösungen guter Qualität gewonnen werden. Für 13 Allergenquellen davon (mit zertifiziertem Ausgangsmaterial) sind die gesetzlichen Qualitätsanforderungen nach ApBetrO erfüllt, für drei Allergenquellen ( $\alpha$ -Amylase, Glycoamylase, Phytase) ist vor einem Routinebetrieb eine Zertifizierung des Ausgangsmaterial zu erlangen. Der Proteingehalt der Allergenausgangsmaterialien für Holzstaub-Extrakte erwies sich in Voruntersuchungen als zu gering, sodass keine qualitativ ausreichenden Extrakte und Pricktestlösungen gewonnen und keine SOPs erstellt werden konnten.

Bezüglich der erforderlichen Identitätsprüfung der allergenen Ausgangsmaterialien und der daraus hergestellten Allergenrohextrakte, die obligatorisch in der Apotheke erfolgen muss, wurde Nahinfrarotspektroskopie im Rahmen des Forschungsvorhabens als Ph. Eur.-konforme Methode erprobt, da entsprechende Geräte in Apotheken weit verbreitet sind, zeigte sich in unseren Untersuchungen jedoch als nicht zielführend. Neben der am Allergenausgangsmaterial komplexen Durchführung wäre für die valide Etablierung einer sicheren Identifizierung eine große Anzahl an Referenzspektren unterschiedlicher Ausgangsmaterialchargen notwendig (5-10mal mehr als im Projektzeitraum kommerziell verfügbar). Stattdessen ist die Überprüfung des Gesamtproteinprofils mittels SDS-PAGE sowohl bei der Identifizierung des Ausgangsmaterials als auch in der Endproduktprüfung im Defekturmaßstab in der Apotheke zielführend. Das Verfahren ist kein Standardverfahren in Apotheken und muss vor Testallergenherstellung dort etabliert werden.

Zur Stabilitätsprüfung bei Lagerung und nach Anbruch wurden als Qualitätskriterien repetitive Untersuchung von Gesamtproteingehalt und Proteinprofil (SDS-PAGE) implementiert. Zur Stabilitätsprüfung nach Ph. Eur. 2.6.1. *Sterility* wurde die Testung unter aeroben und anaeroben Bedingungen unter Anwendung von Positivkontrollen (aerob: *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*; anaerob: *Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) in der notwendigen Probenzahl von 5% oder 2 Einheiten je Medium und Herstellungscharge etabliert. Die bei Lagerung (bei 4 – 8 °C) und nach Anbruch bei simuliertem Gebrauch exemplarisch über ein Jahr untersuchten vier unterschiedlichen Pricktestlösungen (Kabeljau, *Penicillium chrysogenum*, *Tyrophagus putrescentiae*, Rinderepithel), die gemäß Apothekenbestimmungen hergestellt worden waren, zeigten sich im Proteinprofil stabil (keine Proteindegradation) und steril (kein Bakterienwachstum).

Die Qualitätsstandards wurden in Standard Operating Procedures (SOPs) verschriftlicht (s. dazu Arbeitspaket 4).

### *Arbeitspaket 3: Immunologische und proteinchemische Überprüfung der aktuell kommerziell verfügbaren Extrakte, die für die Testung beruflicher Typ I-Allergien relevant sind*

Die proteinchemische Überprüfung der insgesamt 24 verfügbaren kommerziellen Testallergen-Produkte zeigt im Vergleich zu den unter Labor- und Apotheken-Bedingungen (ausgehend von unterschiedlichen Ausgangsmaterial-Chargen) gewonnenen Pricktestlösungen größtenteils niedrigere Proteinkonzentrationen und teilweise ein weniger ausgeprägtes Profil an Proteinbanden. Dies wird exemplarisch am SDS-Polyacrylamidgel von Schalentieren (Abbildung 2) dargestellt.

Sofern allergenspezifische monoklonale oder polyklonale Antikörper verfügbar waren, wurde am IPA zusätzlich zu Proteingehalt und Proteinprofil exemplarisch der Allergengehalt der kommerziellen Extrakte im Vergleich zu Apotheken-hergestellten Pricktestlösungen untersucht. Es zeigte sich beispielsweise in der Allergengehaltbestimmung von Bos d 2 (Lipocalin, 20 kDa Hauptallergen in Rinderhaaren und -epithelien) mittels Bos d 2 ELISA Kit (Indoor biotechnologies, Manchester, UK) in den unter unterschiedlichen Apothekenbedingungen hergestellten Pricktestlösungen mit 3,13 - 6,72 µg/ml ein vergleichbarer Allergengehalt wie in kommerziellen Pricktestlösungen mit 4,90 µg/ml, während der Proteingehalt der kommerziellen Rinder-Pricktestlösung etwa dreimal niedriger als der der Apotheken-Pricktestlösungen war.

Bei Verzicht auf proteinhaltige Hilfsstoffe korrelieren Proteingehalt und Allergengehalt üblicherweise, sodass die Freigabe von Testallergenlösungen in aller Regel basierend auf Proteingehalt in Verbindung mit dem Proteinprofil erfolgt. Bei Auffälligkeiten im Proteinprofil und/oder -gehalt kann eine zusätzliche Allergengehaltsbestimmung – sofern allergenspezifische Antikörper zur Verfügung stehen – jedoch wertvolle Zusatzinformationen zur Verwertbarkeit der Pricktestlösung liefern.

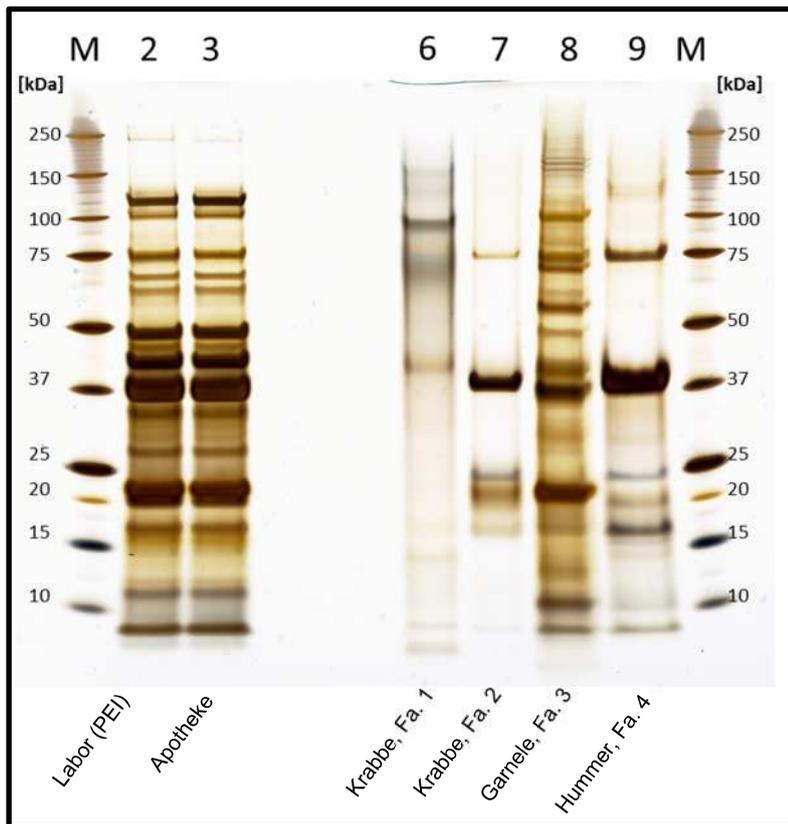


Abbildung 2: Pricktestlösung Garnele (hergestellt unter Labor- und Apotheken-Bedingungen) im Vergleich zu kommerziellen Schalentier-Pricktestlösungen (SDS-PAGE mit Silberfärbung)

#### Arbeitspaket 4: Erarbeitung von SOPs für die Herstellung von geeigneten Extrakten

Für alle verfügbaren Ausgangsmaterialien wurden apothekenadaptierte SOPs zur Herstellung von Pricktestlösungen erarbeitet, schriftlich niedergelegt und einem mehrstufigen Konsentierungs- und Freigabeverfahren unter Einbindung von 10 Expertinnen und Experten aus IPA, PEI, einer Klinikapotheke und einer öffentlichen Apotheke unterzogen. Exemplarisch wird verwiesen auf die aktuelle Version der „SOP zur Gewinnung von *In vivo*-Diagnostika mittels Extraktion von Proteinen aus Kabeljau (*Gadus morhua*) und Garnele (*Farfantepenaeus aztecus*) im Rahmen des Projekts FB-0317a: Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien“ (Anlage 4). Die Praxistauglichkeit der erstellten SOPs wurde in zwei Transferversuchen in eine öffentliche Apotheke am Beispiel von vier exemplarischen Allergenquellen (*Tyrophagus putrescentiae*, Rinderhaar/-epithel, Kabeljau und Garnele) erprobt und bestätigt, wobei das technische Personal der Apotheke die Durchführung unter Assistenz von einem PEI-Mitarbeiter und einer IPA-Mitarbeiterin übernahm.

Bei der Erstellung der SOPs sind wesentliche Unterschiede der jeweiligen Ausgangsmaterialien wie auch Ausstattungsunterschiede von Labor und Apotheke zu berücksichtigen (Tabelle 2). Während unter Laborbedingungen Extraktionsschritte in der Regel über Nacht in einer gekühlten Umgebung erfolgen, konnte das Verfahren ohne Qualitätsverlust auf 2 Stunden bei Raumtemperatur modifiziert werden und so an die Gegebenheiten einer öffentlichen Apotheke angepasst werden.

<b>Labor</b>	<b>Apotheke</b>
▪ Analyse- und Feinwaage	▪ Analyse- und Feinwaage
▪ Tischzentrifuge (bis 21.000 g)	▪ -
▪ <u>Vortex</u>	▪ (Vortex)
▪ <u>Stabhomogenisator</u>	▪ TOPITEC
▪ Ultraschallbad	▪ -
▪ Rollenmischer / <u>Rotator</u>	▪ -
▪ Verschiedene IR-Spektrometer	▪ (NIR-Spektrometer)
▪ SDS-PAGE	▪ -
▪ Kühlräume	▪ -

Tabella 2: Ausstattungsunterschiede zwischen Labor und einer öffentlichen Apotheke

Für eine Testallergenherstellung in der Apotheke unverzichtbar sind jedoch Tischzentrifuge, Vortex, Rotator, sowie Ready-to-use Kits und Zusatzausrüstung (Gelkammer, Spannungsgerät, Pipetten, Heizblock, Plattformschüttler) für SDS-PAGE, welche sich als Identifikationsmethode für das Ausgangsmaterial und als Qualitätskontrollmethode für das Endprodukt (bei Defektur) eignet. Diese Gerätschaften sind nicht routinemäßig in öffentlichen Apotheken vorhanden und wurden für die o.g. Transferversuche von PEI und IPA leihweise zur Verfügung gestellt. Der Umgang mit diesen Geräten, die nicht zur regulären Ausstattung einer Apotheke gehören, wurde vom Apothekenpersonal nach kurzer Einweisung und unter Berücksichtigung der detaillierten Beschreibung in den SOPs ohne Probleme bewerkstelligt.

Die SOPs umfassen in praxistauglicher Weise neben den Anforderungen der Europäischen Pharmakopöe und der Apothekenbetriebsordnung konkrete Angaben zu Materialien und Methoden, Beschreibung der Abläufe mit genauer Dokumentation der Prozesse, insbesondere zur Identitätsbestimmung der Ausgangsmaterialien und Qualitätskontrollen (Anlage 4).

#### *Arbeitspaket 5: Herstellung der ausgewählten Extrakte im Labormaßstab entsprechend den SOPs*

Entsprechend den in Arbeitspaket 4 erarbeiteten und konsentierten Apotheken-SOPs wurden Hauttest-geeignete Extrakte und Pricktestlösungen im Labormaßstab hergestellt und proteinbiochemisch (Proteinbestimmung, SDS-PAGE mit anschließender Silberfärbung) charakterisiert. Rohextrakte (Endprodukt des 1. Herstellungsschritts) und fertige Pricktestlösungen (Endprodukt des 2. Herstellungsschritts) wurden zur vergleichenden Analytik zwischen IPA und PEI ausgetauscht zur Überprüfung der Robustheit der Qualität der nach SOP-hergestellten Pricktestlösungen bei Anwendung der SOPs durch unterschiedliche Personen, zu unterschiedlichen Zeitpunkten und an verschiedenen Standorten. Zusätzlich wurde der Einfluss unterschiedlicher Allergenausgangsmaterialchargen derselben Allergenquelle untersucht. Das Validierungsexperiment wurde unter Mitwirkung eines Biostatistikers geplant und an zwei Standorten (IPA und PEI) mit je 2 Mitarbeiterinnen oder Mitarbeitern durchgeführt. Der statistische Vergleich der hergestellten Pricktestlösungen erfolgte auf Basis von Durchschnittswerten der mindestens 3fach Bestimmung des Gesamtproteingehalts als Qualitätsmarker mittels angepasster Zwei-Wege-ANOVA (Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$ ; bereinigt um Mehrfachvergleiche nach Šidák). Das Validierungsexperiment wurde mit zwei Ausgangsmaterialchargen der Speichermilbe *T. putrescentiae* (Stallergenes Greer, Lenoir, USA) durchgeführt. Die Proteinextraktion und Formulierung der Pricktestlösungen erfolgte unter Apothekenbedingungen in zwei verschiedenen Labors durch je zwei Personen an je zwei verschiedenen Tagen, woraus 16 unabhängig voneinander hergestellte Pricktestlösungen resultieren, die zwischen den Standorten ausgetauscht wurden, um unabhängige Analysen des Gesamtproteingehalts (Bradford-Assay) und des Profils (SDS-PAGE) als Surrogatmarker für die Qualität

der Pricktestlösungen ausführen zu können. Der Gesamtproteingehalt der 16 Pricktestlösungen war sehr gut reproduzierbar und lag zwischen 81-136 µg/mL (Mittelwert an Standort 1: 92-101 µg/mL, Mittelwert an Standort 2: 113-117 µg/mL). Im Vergleich zum Ausgangsmaterial der Charge 2, die als Referenzstandard festgelegt wurde, lag der Gesamtproteingehalt von 14 der 16 (87,5 %) hergestellten Pricktestlösungen innerhalb 80- und 120 %-Grenze, die von Ph. Eur. vorgegeben ist. Die Proteinbandenmuster waren vergleichbar, unabhängig von den Chargen des Ausgangsmaterials und dem Ort der Herstellung, was auf eine konsistente Extraktion des Allergen-Ausgangsmaterials hindeutet. Es wurde eine Variabilität des Gesamtproteingehalts in Bezug auf verschiedene Chargen des Allergenausgangsmaterials beobachtet (Charge 1: 93-101 µg/ml, Charge 2: 111-118 µg/ml). Signifikante Unterschiede im Gesamtproteingehalt der erzeugten Pricktestlösungen wurden festgestellt in Bezug auf unterschiedliche Ausgangsmaterial-Chargen und Standort, nicht aber für Zeitpunkt und herstellende Personen. Die signifikanten Unterschiede lagen dennoch in der überwiegenden Mehrheit (87,5 %) der Pricktestlösungen innerhalb der zulässigen 80-120%-Grenzen.

Basierend auf diesen Validierungsergebnissen der *T. putrescentiae*-Pricktestlösungen scheint die Einhaltung der Ph. Eur. hinsichtlich des Gesamtproteingehalts in einer Apotheke erreichbar zu sein. Sofern möglich soll das Validierungsexperiment um weitere Ausgangsmaterialchargen von *T. putrescentiae* erweitert werden. Ggf. kann eine chargenabhängige Anpassung der erforderlichen Menge an allergenem Ausgangsmaterial erforderlich sein. Dies sollte bei wechselnden Ausgangsmaterialchargen vor Verwendung in der Apotheke in einem dafür ausgerüsteten Labor erfolgen. Gleichartige Validierungsexperimente mit Ausgangsmaterialien der weiteren Allergenquellen erscheinen erforderlich vor einer Validierung der Pricktestlösungen durch *in vivo* Hauttestungen in der Praxis.

Stabilität und Sterilität bei Lagerung (bei 4 – 8 °C) und nach Anbruch bei simuliertem Gebrauch wurden exemplarisch an vier unterschiedlichen Pricktestlösungen (Kabeljau, *Penicillium chrysogenum*, *Tyrophagus putrescentiae*, Rinderepithel), die gemäß Apothekenbestimmungen hergestellt worden waren, über ein Jahr untersucht und zeigten über den gesamten Untersuchungszeitraum in allen Proben erhaltene Stabilität und Sterilität (Anlage 4).

*Arbeitspaket 6 (Einsatz der Extrakte für die wenigen vitro Testung zur quantitativen Bestimmung von spezifischen IgE-Konzentrationen in serologischen Tests) und Arbeitspaket 7 (Validierung der Extrakte durch in vivo Hauttestungen in der Praxis (Kooperation mit geeigneten medizinischen Zentren)*

sind am IPA nach der 3jährigen Laufzeit des am PEI durchgeführten Forschungsvorhabens FB 317a geplant. Teilnahme der projektverantwortlichen Projektleiterin und fallbezogen weiterer Experten des PEI an Besprechungen mit IPA zur Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien erfolgt seit Projektende weiterhin regelmäßig.

*Arbeitspaket 8: Bereitstellung von Testextrakten beruflicher Allergenquellen (Kooperation mit Apotheken und/oder pharmazeutischen Unternehmen)*

Sofern die bestehende diagnostische Lücke an Testallergenen beruflicher Allergenquellen nicht durch kommerzielle Testsubstanzen geschlossen werden kann, erscheint basierend auf o.g. SOPs und im Einklang mit dem deutschen Arzneimittelgesetz und Apothekenbetriebsordnung nach klinischer Validierung (*Arbeitspaket 7*) eine Herstellung und Bereitstellung von Pricktestlösungen als Sprechstundenbedarf in öffentlichen Apotheken für die Mehrheit der o.g. prioritären Berufsallergenquellen möglich. Im Rahmen der Projektlaufzeit von FB 317a konnten bereits praktische Transferversuche in eine öffentliche Apotheke exemplarisch erfolgen und die gewonnenen Erkenntnisse in die Konsentierung der SOPs einfließen. Während der Machbarkeitsuntersuchung im Rahmen von FB 317a für die

meisten Allergenausgangsmaterialien positive Ergebnisse zeigte, gilt es vor einer Routineanwendung verschiedene rechtliche Aspekte noch zu klären (s. dazu 6. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen).

Die Bearbeitung der Aspekte der Arbeitspakete 6-8 sollen zukünftig im fortlaufenden Projekt IPA-209\_AllQuali "Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien" am IPA fortgesetzt und vertieft werden.

#### Publikationen (PEI-Projektbeteiligte in Fettdruck):

**Mahler V.** Test- und Therapieallergene für Typ I- und Typ IV-Allergien aus Sicht der Regulation – State of the art. IPA-Journal 3/2020:20-22

Raulf M & Kespohl S. Diagnostik von IgE-vermittelten Berufsallergien – zwischen Wirklichkeit, Erfordernissen und Chancen. Allergologie 2024;47:320-328

Raulf M & Kespohl S. Diagnostics of IgE-mediated occupational allergies: Between reality, requirements, and opportunities. Allergologie select 2024;8:220-227

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel KE**, **Zimmer J**, **Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Heller S, Heimke-Brinck R, Dörje F, Philippus S, Meyer M, Segebrecht S, Wessel T, Starke D, **Schülke S**, Raulf M, **Mahler V.** Möglichkeiten der Fertigung von Testallergenen in öffentlichen Apotheken zur Diagnostik von Typ-I-Allergien – rechtliche Aspekte. Allergologie 2024;47 (in Druck)

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel KE**, **Zimmer J**, **Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Heller S, Heimke-Brinck R, Dörje F, Philippus S, Meyer M, Segebrecht S, Wessel T, Starke D, **Schülke S**, Raulf M, **Mahler V.** Possible manufacture of test allergens in public pharmacies for the diagnosis of type I allergies - legal aspects. Allergol Select 2024;8 (in Druck)

Kespohl S, **Jost R**, Maryska S, Altin LM, Sander I, **Schülke S**, **Paulus-Tremel K**, **Bonertz A**, Klose T, **Mahler V**, Raulf M. Vorgehen zur standardisierten Herstellung von Hautpricktest-Lösungen für die Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien bei fehlenden kommerziellen Extrakten. Allergologie 2024;47 (in Druck)

Kespohl S, **Jost R**, Maryska S, Altin LM, Sander I, **Schülke S**, **Paulus-Tremel K**, **Bonertz A**, Klose T, **Mahler V**, Raulf M. Procedure for the standardized preparation of skin prick test solutions for the diagnosis of occupational type I allergies in the absence of commercial extracts. Allergol Select 2024;8 (in Druck)

Raulf M, **Mahler V.** Seltene Allergene und Berufsallergene – Diagnostik, Management und Regulation. Editorial zum Allergologie-Themenheft 7/2024: Allergologie 2024;47:387-388  
Edition von zwei Allergologie-Themenheften zu der Problematik

Eine weitere projektbezogene Publikation (Originalarbeit zum Thema „Validation of pharmacy standard operating procedures for preparation of skin prick test solutions“) mit Herrn Jost als Erstautor in einer englischsprachigen Fachzeitschrift mit Begutachtungssystem ist geplant und befindet sich derzeit in Vorbereitung. Zusätzlich ist die Veröffentlichung der SOPs geplant.

#### Kongressbeiträge (PEI-Projektbeteiligte in Fettdruck):

**Mahler V.** Test- und Therapieallergene für Typ I- und Typ IV-Allergien aus Sicht der Regulation – State of the art. Vortrag am 12.11.2020. IPA-Fachgespräch 12.11.2020 (virtuelle Veranstaltung).

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel K**, **Führer F**, **Bonertz A**, Sander I, Raulf M, **Mahler V.** Test allergens for occupational type I allergies – closing the diagnostic gaps?

Vortrag am 10.03.2022. 34. Mainzer Allergieworkshop, 10./11.3.2022 in Mainz.  
*Als Abstrakt publiziert Februar 2022 in: Allergologie 2022;45:128*

**Mahler V.** Bedeutung der Zulassungsbehörden für die Entwicklung der Allergologie.  
Impulsvortrag am 10.09.2022. 17. Deutscher Allergiekongress, 08.-10.09.2022 in Wiesbaden.

**Mahler V.** Versorgungsauftrag Apotheke: Testallergene.  
Vortrag am 22.09.2022. 57. Arbeitstagung der pharmazeutischen und veterinärmedizinischen Überwachungskräfte sowie der wissenschaftlichen Beschäftigten der Arzneimitteluntersuchungsstellen der Länder (PhAT 2022), 19.-23.09.2022 in Ludwigsburg.

Kespohl S, Jost R, Sander I, Maryska S, Altin LM, **Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Klose T, Brüning T, **Mahler V**, Raulf M. Qualitätssicherung der Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien.  
Vortrag am 17.03.2023. 63. Wissenschaftliche Jahrestagung der DGAUM, 15.-18.03.2023 in Jena.

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Raulf M, **Mahler V**. Skin prick test solution compounding in German pharmacies: Chances and challenges.  
Vortrag am 24.03.2023. 35. Mainzer Allergieworkshop, 24./25.03.2023 in Hannover (Vortragsdatum: 24.03.2023)  
*Als Abstrakt publiziert Februar 2023 in: Allergologie 2023;46:131*

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Raulf M, **Mahler V**. Exploring the possibility of *in vivo* test allergen-compounding in pharmacies: first results.  
Poster-Präsentation am 09.06.2023. EAACI Congress 2023, 09.-11.06.2023 in Hamburg.  
*Als Abstrakt publiziert Dezember 2023 in: Allergy 2023;78(Suppl. 112):345*

Kespohl S, **Jost R**, Sander I, Maryska S, Altin LM, **Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Klose T, Brüning T, **Mahler V**, Raulf M. Standardisierte Verfahren zur Herstellung von Hautpricktest-Lösungen für die Diagnostik von IgE-vermittelten Berufsallergien bei fehlenden kommerziellen Extrakten.  
Poster-Präsentation am 14.09.2023. 18. Deutscher Allergiekongress 2023, 14.-16.09.2023 in Bonn.  
*Als Abstrakt publiziert September 2023 in: Allergo J 2023;32:63*

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Raulf M, **Mahler V**. Fertigung von Testallergenen in öffentlichen Apotheken zur Diagnose von berufsbedingten Typ I-Allergien: Rechtliche Aspekte und praktische Umsetzung.  
Poster-Präsentation, 18. Deutscher Allergiekongress 2023, 14.-16.09.2023 in Bonn  
*Als Abstrakt publiziert September 2023 in: Allergo J 2023;32:62-63*

**Mahler V.** Herstellung von Test-Allergenen in öffentlichen Apotheken – eine Machbarkeitsuntersuchung. Vortrag am 18.01.2024. DGAKI Vorstands-Retreat 18.-19.01.2024 in Berlin

**Jost R**, Kespohl S, **Schülke S, Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Heimke-Brinck R, Dörje F, Raulf M, **Mahler V**. Production of test allergens in public pharmacies for the diagnosis of occupational type I allergies: legal aspects and practical approach.  
Vortrag am 14.03.2024, 36. Mainzer Allergieworkshop, 14./15.03.2024 in Mainz  
*Als Abstrakt publiziert Februar 2024 in: Allergologie 2024;47:91*

**Jost R**, Kespohl S, **Paulus-Tremel K, Führer F, Bonertz A**, Sander I, Klose T, Altin LM, Heimke-Brinck R, Dörje F, Schülke S, Raulf M, **Mahler V**. Validation of pharmacy standard operating procedures for preparation of skin prick test solutions (SPTs): Inter- & intra laboratory variability of *Tyrophagus putrescentiae* SPTs prepared at different sites. Poster-Präsentation am 31.05.2024, EAACI Congress 2024, 31.05 – 03.06.2024 in Valencia, Spanien.

Kespohl S, **Jost R**, Sander I, Maryska S, Altin LM, **Paulus-Tremel K, Schülke S, Führer F, Bonertz A**, Klose T, Brüning T, **Mahler V**, Raulf M. Perspectives to counteract the lack of diagnostics for occupational type I allergies.  
Vortrag am 01.06.2024, EAACI Congress 2024, 31.05 – 03.06.2024 in Valencia, Spanien.

## 5. Auflistung der für das Vorhaben relevanten Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilten Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen

Es sind keine für das Vorhaben relevanten Publikationen von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen veröffentlicht worden. Weiterhin sind weder Schutzrechtsanmeldungen von Dritten erfolgt, noch Schutzrechte an nicht am Vorhaben Beteiligte erteilt worden.

Unter Mitautorenschaft der Projektleiterin und weiterer PEI-Experten ist kurz vor Projektbeginn ein Positionspapier der European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) zur Problematik der diagnostischen Lücke durch Fehlen von Testallergenen publiziert worden<sup>6</sup>. Auf die Problematik der Unterdiagnostik im beruflichen Umfeld bei Fehlen von entsprechenden kommerziellen Testallergenen und die daraus resultierenden schwerwiegenden Folgen wird in diesem Artikel hingewiesen.

Unter Autorenschaft<sup>7</sup> und unter Mitautorenschaft<sup>8</sup> der Projektleiterin, weiterer PEI-Experten und Experten des Forschungsvorhabens FB 317b sind zwei weitere themenverwandte Publikationen zum Rückgang kommerziell verfügbarer Epikutantestsubstanzen zum Nachweis arbeitsbezogener Typ IV-Allergien erschienen.

---

<sup>6</sup> Klimek L *et al.* In-vivo diagnostic test allergens in Europe: A call to action and proposal for recovery plan. *Allergy* 2020 Sep;75:2161-2169. doi: 10.1111/all.14329.

<sup>7</sup> Mahler V. Diagnostische Lücke durch fehlende Epikutantestallergene - Status quo und mögliche Szenarien zur Mitigation. *Allergo J* 2024 Mar; 33:47-55

<sup>8</sup> John SM *et al.* Severely compromised supply of patch test allergens in Europe hampers adequate diagnosis of occupational and non-occupational contact allergy. A European Society of Contact Dermatitis (ESCD), European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI), European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) task forces 'Contact Dermatitis' and 'Occupational Skin Disease' position paper. *Contact Dermatitis* 2024 May 29. Online ahead of print. doi: 10.1111/cod.14580.

## 6. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen

Im Rahmen der 3jährigen Laufzeit des Forschungsvorhabens FB 317a wurde eine fortbestehende und tendenziell zunehmende diagnostische Lücke an kommerziellen Testallergenen zum Nachweis von arbeitsbedingten Typ I-Allergien festgestellt. Die fehlende Verfügbarkeit kommerzieller Testsubstanzen hat unmittelbare Relevanz für den Auftrag der gesetzlichen Unfallversicherung, da berufsbedingte Haut- und Atemwegsallergien in Deutschland zu den häufigsten Berufskrankheiten zählen und für Anerkennung einer beruflich bedingten Allergie ebenso wie für eine effektive Individualprävention die Identifizierung des Allergieauslösers essenziell ist.

Um die Versorgungssituation mit Testallergenen zum Nachweis von arbeitsbedingten Typ I-Allergien zu verbessern, wurde von den Projektbeteiligten von IPA und PEI im Rahmen des Forschungsvorhabens auch Kontakt zu den pharmazeutischen Unternehmen gesucht, die den deutschen Markt mit Testallergenen beliefern, und in einem Round-Table-Gespräch am Rande des 16. Internationalen Paul-Ehrlich-Seminar in Langen im September 2023 die versorgungsrelevante Problematik diskutiert. Von der aktiven Rücknahme von Zulassungen seitens der pharmazeutischen Unternehmen oder Erlöschen der Zulassungen durch die sogenannte „Sunset-Clause“ sind vorwiegend seltene, insbesondere berufliche Allergene betroffen. Als Begründung geben die Hersteller Unwirtschaftlichkeit an, da bei relativ geringer und wenig planbarer Nachfrage für seltene Testallergene die Vorgaben der „Guten Herstellungs-Praxis“ und Qualitätsstandards im Einklang mit der entsprechenden Zulassung gewährleistet werden müssen. Nachdem kommerzielle Testallergene der vergleichsweise seltenen beruflichen Allergenquellen auf denselben Produktionsanlagen wie Allergenprodukte häufiger ubiquitärer Allergenquellen erfolgt, besteht aus marktwirtschaftlichen Gesichtspunkten ein Selektionsdruck zugunsten der häufigen Allergenprodukte. Ggf. könnten planbare, gesicherte Abnahmemengen (z.B. im Rahmen einer Ausschreibung) für berufliche Testallergene diesbezüglich günstigen Einfluss nehmen. In einem weiteren Gespräch am Rande der 36. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für klinische Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI) in Mainz im März 2024 auf Einladung der DGAKI-Präsidentin wurde von ihr der dringende Handlungsbedarf für die Sicherung der Diagnostik von seltenen Typ I-Allergien betont.

Vor diesem Hintergrund sind die Ergebnisse des Forschungsvorhabens für die berufsdermatologische und allergologische Versorgungspraxis bei der Abklärung und Behandlung von berufsgenossenschaftlich Versicherten richtungsweisend. Obwohl die Herstellung von Testallergenen legal in Apotheken nach AMG explizit erlaubt ist, war diese vor Aufnahme des Forschungsvorhabens nicht in Apotheken etabliert. In der durchgeführten Machbarkeitsuntersuchung ist die Etablierung von Qualitätsstandards für die Extrakterstellung, inklusive proteinchemische und immunologische Überprüfung von Pricktestlösungen, die für die Testung beruflicher Typ I-Allergien relevant sind, für 16 der 20 prioritären Berufsallergenquellen gelungen und es wurden entsprechende Arbeitsanleitungen (SOPs) für die Herstellung von geeigneten Pricktestlösungen in Apotheken erstellt. Für vier Allergenquellen konnte bereits die Herstellung von qualitativ einwandfreien Testallergenen in der einer Apotheke gezeigt werden, sodass es sinnvoll und möglich erscheint, den Weg der Bereitstellung von Testsubstanzen beruflicher Allergenquellen in Apotheken weiterzuverfolgen, um den zunehmend erheblichen Defiziten im Bereich der allergologischen *in vivo* Testmöglichkeiten für beruflich verursachte allergische Erkrankungen zu begegnen.

Verschiedene überwiegend rechtliche Aspekte wurden im Verlauf des Forschungsvorhabens identifiziert, die neben der weiteren qualitativen und klinischen Validierung vor einer Routineanwendung der Apothekenherstellung von Testallergenen im Sinne einer Klärung weiterbearbeitet werden sollten:

- Aus einem Urteil des Bundesverwaltungsgerichts (BVerwG) vom 3. September 2020 (BVerwG 3 C 10.18) zur Herstellung von „Frischzellen“ aus tierischen Organen zur späteren Injektion am Menschen (Herstellung durch

einen Arzt ohne Herstellerlaubnis, aufgrund des Ärzteprivilegs nach § 13 Abs. 2b Satz 1 AMG), könnten sich gegebenenfalls Implikationen für die Testallergen-Herstellung in Apotheken (basierend auf § 13 Abs. 2 Nr.1 i.V.m. § 13 Abs. 2a Satz 2 Nr. 3 AMG) aus tierischen oder mikrobiellen Ausgangsmaterialien ableiten lassen. Es ergibt sich die aufzulösende Fragestellung, ob bei Einsatz zertifizierter tierischer und mikrobieller Allergenausgangsmaterialien eine Herstellungserlaubnis nach § 13 Abs. 1 Nr. 3 AMG benötigt wird oder ob die Ausnahmeerlaubnis für Apotheken (§ 13 Abs. 2 Nr. 1 i. V. m. § 13 Abs. 2a Satz 2 Nr. 3 AMG) auch diesen Schritt (Extraktion des zertifizierten Allergenausgangsmaterials in der Apotheke) umfasst.

- Zu klären ist auch der generelle Bedarf eines Zertifikats nach § 6 Abs. 3 ApBetrO für natives Allergenausgangsmaterial vor der Weiterverarbeitung in der Apotheke. Nach Auffassung der Projektbeteiligten handelt es sich beim Allergenausgangsmaterial um Material vor der Wirkstoffstufe, weshalb dementsprechend keine generelle Vorgabe nach Zertifizierung entsprechend § 6 Abs. 3 aus der ApBetrO abzuleiten ist.
- Die Herstellung von Pricktestlösungen soll prinzipiell in jeder interessierten Apotheke möglich sein, es ist jedoch absehbar, dass nur wenige Apotheken für das aufwändige Verfahren der Apothekenherstellung von Testallergenen zu gewinnen sein werden. Das Makelverbot nach § 11 Abs. 1 Apothekengesetz (ApoG) ist dabei zu beachten, da Ausnahmen davon momentan nur für Zytostatika-Zubereitungen (§ 11 Abs. 2 ApoG) existieren. Daher ist eine direkte Zuweisung von Rezepten an ausgewählte Apotheken zu vermeiden.
- Ein weiterer zu klärender Punkt ist die Preisgestaltung für die erzeugten Pricktestlösungen, da die normalen Apothekenabrechnungssätze die Herstellungskosten nicht tragen.

Die Anfertigung von Pricktestlösungen durch öffentliche Apotheken stellt eine gesetzlich zulässige Alternative dar zur Sicherung der Versorgung bei weiterhin bestehendem Mangel an kommerziellen, zugelassenen Testallergenen für berufsbedingte Allergien. Für zahlreiche Berufsallergenquellen sind geeignete zertifizierte Allergenausgangsmaterialien kommerziell verfügbar und zugehörige Qualitätsanforderungen im Europäischen Arzneibuch definiert. Nach Klärung verbliebener rechtlicher Fragen könnte die Apothekenherstellung von Pricktestlösungen seltener Allergenquellen einen wichtigen Beitrag zur Schließung der bestehenden diagnostischen Lücke für arbeitsbezogene Typ I-Allergien leisten.

## 7. Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan

Im Hinblick auf die praktische Umsetzung und Verwertung der Ergebnisse wurde bereits während des Forschungsvorhabens der Austausch mit der Fachgruppe Apothekenwesen gesucht, der Expertinnen und Experten der Arzneimittel- und Apothekenüberwachung angehören, um potentielle Herausforderungen bei der Testallergenherstellung in öffentlichen Apotheken frühzeitig erkennen und bearbeiten zu können. Des Weiteren wurde bereits im Projektverlauf die Expertise von Expertinnen und Experten einer öffentlichen Apotheke und einer Klinikapotheke einbezogen, sodass die erarbeiteten Ergebnisse neben der Diskussion mit den Fachexpertinnen und -experten des Forschungsbegleitkreises bereits einen umfangreichen Diskurs und Konsentierungsprozess durchlaufen haben. Bemerkenswert ist ferner, dass die Präsentation der Zwischenergebnisse auf nationaler und internationaler Ebene in wissenschaftlichen Fachkreisen auf große Beachtung und Zustimmung gestoßen ist.

Der aktuelle Umsetzungs- und Verwertungsplan sieht die Veröffentlichung der Ergebnisse in deutscher und englischer Sprache in medizinischen Fachjournalen vor (s. dazu auch 4. Ergebnisse des Gesamtvorhabens). Zusätzlich zu den bereits veröffentlichten Arbeiten sind gegenwärtig zwei zweisprachige Publikationen<sup>9,10,11,12</sup> (Jost *et al.*; Kespohl *et al.*) in Druck, die im Juli 2024 erscheinen werden. Eine weitere projektbezogene Publikation (Originalarbeit zum Thema „Validation of pharmacy standard operating procedures for preparation of skin prick test solutions“) mit Herrn Jost als Erstautor in einer englischsprachigen Fachzeitschrift mit Begutachtungssystem ist Ende 2024 geplant und befindet sich derzeit in Vorbereitung. Zusätzlich ist die Veröffentlichung der SOPs bis Ende 2024 geplant.

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen umfasst die Planung die Einreichung eines Folgeantrags auf DGUV-Forschungsförderung zur Fortführung und Vertiefung der qualitativen Validierung aller priorisierten Allergenquellen unter Einsatz verschiedener Ausgangsmaterialchargen mit statistischer Auswertung und zur Weiterbearbeitung identifizierter rechtlicher Aspekte im Sinne einer nachhaltigen Klärung vor einer Routineanwendung der Testallergen-Herstellung in Apotheken.

---

<sup>9</sup> Jost R, Kespohl S, Paulus-Tremel KE, Zimmer J, Bonertz A, Sander I, Klose T, Altin LM, Heller S, Heimke-Brinck R, Dörje F, Philippus S, Meyer M, Segebrecht S, Wessel T, Starke D, Schülke S, Raulf M, Mahler V. Möglichkeiten der Fertigung von Testallergenen in öffentlichen Apotheken zur Diagnostik von Typ-I-Allergien – rechtliche Aspekte. *Allergologie* 2024;47 (in Druck)

<sup>10</sup> Jost R, Kespohl S, Paulus-Tremel KE, Zimmer J, Bonertz A, Sander I, Klose T, Altin LM, Heller S, Heimke-Brinck R, Dörje F, Philippus S, Meyer M, Segebrecht S, Wessel T, Starke D, Schülke S, Raulf M, Mahler V. Possible manufacture of test allergens in public pharmacies for the diagnosis of type I allergies - legal aspects. *Allergol Select* 2024;8 (in Druck)

<sup>11</sup> Kespohl S, Jost R, Maryska S, Altin LM, Sander I, Schülke S, Paulus-Tremel K, Bonertz A, Klose T, Mahler V, Raulf M. Vorgehen zur standardisierten Herstellung von Hautpricktest-Lösungen für die Diagnostik von beruflichen Typ I-Allergien bei fehlenden kommerziellen Extrakten. *Allergologie* 2024;47 (in Druck)

<sup>12</sup> Kespohl S, Jost R, Maryska S, Altin LM, Sander I, Schülke S, Paulus-Tremel K, Bonertz A, Klose T, Mahler V, Raulf M. Procedure for the standardized preparation of skin prick test solutions for the diagnosis of occupational type I allergies in the absence of commercial extracts. *Allergol Select* 2024;8 (in Druck)