

**Diplomarbeit**

**Verträglichkeitstestung von drei Farbmolekülen bei  
Kontaktallergie gegenüber p-Phenylendiamin  
(PPD) und/oder p-Toluyldiamin (PTD)  
Kurztitel: Verträglichkeit von drei Farbmolekülen**

eingereicht von

**Plaschg Karin, BSc BSc MSc**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie**

unter der Anleitung von

**Dr. med. univ. Lukas Koch**

**Univ.-Prof. Dr. med. univ. Werner Aberer**

Graz, 14. Mai 2020

## *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 14. Mai 2020*

*Karin Plaschg eh*

## Danksagungen

Zu allererst möchte ich mich bei meinem Partner und meinen Kindern für die Geduld und die Motivation in all den Jahren bedanken. Danach ergeht ein großes Dankeschön an alle Probandinnen und Probanden für ihre Zeit und Geduld. Weiters möchte ich mich bei meinem Betreuer Dr. Lukas Koch bedanken, der mich immer unterstützt und motiviert hat. Univ.-Prof. Dr. Werner Aberer möchte ich weiters für seine fachliche Supervision danken.

Ein ganz besonderes Dankeschön möchte ich meinen Eltern und auch meinen Großeltern aussprechen, die mir mein Studium ermöglicht haben und mir stets den Rücken stärken. Zum Schluss möchte ich mich noch bei meinen Studienkollegen und Freunden bedanken, die mir mein Studium verschönert haben und die ich auch um Hilfe bitten konnte.

# Inhaltsverzeichnis

Danksagungen .....	3
Inhaltsverzeichnis .....	4
Glossar und Abkürzungen .....	7
Abbildungsverzeichnis.....	8
Zusammenfassung.....	10
Abstract .....	12
1 Einleitung - Die allergische Kontaktdermatitis .....	14
1.1 Epidemiologie – allergische Kontaktdermatitis .....	14
1.2 Pathogenese .....	15
1.3 Morphologische Beschreibung .....	18
1.4 Klinik .....	19
2 Theorie .....	20
2.1 PPD.....	20
2.1.1 Epidemiologie – PPD .....	20
2.2 PTD.....	21
2.2.1 Epidemiologie – PTD .....	21
2.3 Kreuzreaktionen .....	22
2.4 Die drei neuen Farbmoleküle .....	22
3 Studienpopulation .....	24
3.1 Studienpopulation .....	24
3.2 Probandinnen und Probandenkollektiv.....	24
3.3 Die Leistungen der Verfasserin .....	27
3.4 Datenschutz .....	27
4 Methoden .....	27
4.1 Studiendesign .....	28
4.2 Fallzahl.....	28
4.3 Studienablauf.....	31

4.3.1	Visiten .....	31
4.3.2	Epikutantest .....	34
4.4	Typische positive Reaktionen bei Testung .....	37
4.5	Verhalten während der Testung .....	37
4.6	Nutzen, Risiken und Vergütung der Probandinnen und Probanden bei Teilnahme an der Studie .....	38
4.6.1	Nutzen .....	38
4.6.2	Risiken .....	38
4.6.3	Teilnahme- und Zeitaufwandsentschädigung .....	39
4.7	Versicherung .....	39
4.8	Einwilligungserklärung zur Studienteilnahme .....	40
4.9	Finanzierung des Projektes .....	41
4.10	Verantwortliche Projektleiter .....	42
4.11	Statistik .....	42
5	Resultate .....	43
5.1	Probandinnen und Probandenkollektiv .....	43
5.1.1	Alter und Geschlecht .....	43
5.1.2	Wohnbezirk .....	44
5.1.3	Berufsgruppen .....	45
5.2	Probandinnen und Probandendaten .....	47
5.2.1	Schwangerschaftstest .....	47
5.2.2	Dauermedikation der Teilnehmerinnen und Teilnehmer .....	47
5.2.3	Erste vermutete allergische Reaktion der Teilnehmerinnen und Teilnehmer .....	49
5.2.4	Haarfarbton, welcher die erste allergische Reaktion auslöste .....	49
5.2.5	Wurde jemals ein Henna-Tattoo appliziert? .....	50
5.3	Ergebnisse der ECT-Testungen .....	51
5.3.1	45-Minuten-Ablesung .....	51
5.3.2	24-Stunden-Ablesung (Optional) .....	51
5.3.3	48-Stunden-Ablesung .....	53

5.3.4	72-Stunden-Ablesung .....	55
5.3.5	96-Stunden und 144-Stunden-Ablesung (Optional) .....	57
5.3.6	Telefongespräche .....	57
5.3.7	Nebenwirkungen innerhalb der Studie .....	58
5.3.8	Probandin AU20.....	58
6	Diskussion und Interpretation.....	61
6.1	Diskussion.....	61
6.2	Interpretation.....	65
7	Literaturverzeichnis .....	66
Anhang	.....	72

## Glossar und Abkürzungen

CAS .....	Chemical Abstracts Service
d. h. ....	das heißt
DKG .....	Deutsche-Kontaktallergie-Gruppe
ECT .....	Epikutantest
EK .....	Ethikkommission
EK-Nr. ....	Fortlaufende Ethikantrag-Identifikationsnummer
fol. ....	Follikulär
h .....	Stunden
HIV .....	Humanes Immundefizienz-Virus
irr .....	Irritativ
n. n. ....	nicht näher
neg. ....	negativ
pos. ....	positiv
PPD .....	para-Phenylendiamin
PTD .....	p-Toluylendiamin
SCCS .....	Scientific Committee on Consumer Safety
syn.....	Synonym
usw.....	und so weiter
v. a. ....	vor allem
z. B. ....	zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1 Pathophysiologie der Kontaktdermatitis in Anlehnung an Riemann et al., 2003</i> .....	16
<i>Abbildung 2 Grafische Darstellung des Probandinnen und Probandenkollektivs</i> .	26
<i>Abbildung 3 Experimentelle ECT-Substanzen nach Studienprotokoll 1</i> .....	34
<i>Abbildung 4 Experimentelle ECT-Substanzen nach Studienprotokoll 2</i> .....	35
<i>Abbildung 5 Starke Reaktion Proband AU01 nach 72 h</i> .....	36
<i>Abbildung 6 Starke Reaktion Probandin AU05 nach 49 h</i> .....	36
<i>Abbildung 7 Einverständniserklärung</i> .....	41
<i>Abbildung 8 Geschlechterspezifische Altersverteilung in Jahren</i> .....	43
<i>Abbildung 9 Wohnbezirk der Teilnehmerinnen und Teilnehmer</i> .....	45
<i>Abbildung 10 Haarfarben, auf welche die Probandinnen und Probanden das erste Mal allergisch reagiert hatten</i> .....	50
<i>Abbildung 11 Reaktion AU20 auf Testsubstanz Rot nach 48 h: negativ</i> .....	58
<i>Abbildung 12 Reaktion AU20 auf Testsubstanz Rot nach 72 h: + positiv</i> .....	59
<i>Abbildung 13 Reaktion AU20 auf Testsubstanz Rot nach 96 h: + positiv</i> .....	59
<i>Abbildung 14 Reaktion AU20 auf Testsubstanz Rot nach 120 h: + positiv</i> .....	59
<i>Abbildung 15 Reaktion AU20 auf Testsubstanz Rot nach 142 h: ++ positiv</i> .....	59
<i>Abbildung 16 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 48 h</i> .....	60
<i>Abbildung 17 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 72 h</i> .....	60
<i>Abbildung 18 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 96 h</i> .....	60
<i>Abbildung 19 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 120 h</i> .....	60
<i>Abbildung 20 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 142 h</i> .....	61

## Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1 Beurteilung der morphologischen Beschreibung in Anlehnung an Schnuch et al., 2001.....</i>	19
<i>Tabelle 2 Detaillierte Auflistung der Ergebnisse der vorab durchgeführten ECT-Testungen .....</i>	26
<i>Tabelle 3 Stichprobengröße und tatsächliche Power für einen einseitigen Einstichproben- Binomialtest auf eine Erfolgswahrscheinlichkeit <math>p_0 = 0,01</math> .....</i>	30
<i>Tabelle 4 Stichprobengröße und tatsächliche Power für einen einseitigen Einstichproben-Binomialtest auf eine Erfolgswahrscheinlichkeit <math>p_0 = 0,01</math> .....</i>	31
<i>Tabelle 5 Durchgeführte Schwangerschaftstests vor der experimentellen ECT-Testung .....</i>	47
<i>Tabelle 6 Medikamentenliste der teilnehmenden Probandinnen und Probanden</i>	48
<i>Tabelle 7 Liste der Probandinnen und Probanden die jemals ein Henna-Tattoo hatten oder nicht.....</i>	50
<i>Tabelle 8 Darstellung der detaillierten Reaktionen auf PPD und PTD bei der 24-Stunden-Ablesung.....</i>	52
<i>Tabelle 9 Darstellung der detaillierten Reaktionen auf PPD und PTD bei der 48-Stunden-Ablesung.....</i>	54
<i>Tabelle 10 Darstellung der detaillierten Reaktionen auf PPD und PTD nach der 72-Stunden-Ablesung.....</i>	56

# **Zusammenfassung**

## **Einleitung**

Personen mit einer Allergie gegen p-Phenylendiamin (PPD) und/oder p-Toluylendiamin (PTD) leiden zum Teil unter erheblichen Einschränkungen. Eine erforderliche Allergenkarenz kann die Berufswahl (v. a. in Friseur- und Kosmetikberufen) sowie die Möglichkeit zum Ändern des eigenen äußeren Erscheinungsbildes durch das Färben der Haare einschränken. Allergien gegenüber Haarfärbesubstanzen stellen nicht nur ein gesundheitsrelevantes Problem dar, sondern haben auch ökonomische Folgen. Aufgrund einer Kontaktallergie gegenüber PPD und/oder PTD entstehen Kosten durch Umschulungen, Arbeitsausfälle, Lokalthérapien und Pflegeprodukte. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde an der Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie in Graz eine Studie zur Untersuchung der Verträglichkeit von drei neuen Farbmolekülen bei gegen PPD und/oder PTD allergischen Probandinnen und Probanden durchgeführt. Diese Studie soll evaluieren, ob Haarfärbeprodukte mit diesen drei neuen Farbmolekülen möglicherweise zukünftig als Alternative verwendet werden könnten. Die primäre Hypothese der Studie ist, dass die drei neuen Testsubstanzen keine Kreuzreaktionen zu PPD und/oder PTD zeigen.

## **Material und Methoden**

Diese Studie umfasst eine klinische Prüfung eines Kosmetikums mittels Epikutantestung. Anhand einer MEDOCS-Recherche wurden 40 geeignete Probandinnen und Probanden rekrutiert. Alle Teilnehmer waren im Vorfeld im Rahmen einer Allergiediagnostik im Zeitraum 2011-2019 an der Allergieambulanz der Hautklinik Graz zur Epikutantestung vorstellig und wurden positiv auf PPD und/oder PTD getestet.

## **Resultate**

Testsubstanz Blau, Testsubstanz Gelb sowie die Kontrollsubstanz Vaseline purum war bei allen Probandinnen und Probanden (40 von 40) nach 48 und 72 Stunden negativ. Testsubstanz Rot war bei einer Probandin (1 von 40) positiv, mit Beginn

einer + positiven Reaktion bei der 72-Stunden-Ablesung sowie einer + positiven Reaktion nach 96 und 120 Stunden und einer (milden) ++ positiven Reaktion nach 142 Stunden. In der Fotodokumentation zeigte sich eine eindeutige Crescendo-Symptomatik, welche eine allergische Reaktion bestätigt und eine irritative Reaktion unwahrscheinlich macht.

Eine telefonisch durchgeführte Befragung (im Schnitt 22 Tage nach Epikutantestapplikation) ergab keinerlei weitere positive Reaktionen. Somit gab es keinen Hinweis auf weitere positive Reaktionen bzw. auf eine iatrogene (Spät-)Sensibilisierung durch die drei Testsubstanzen.

Insgesamt wurden bei mehreren Probandinnen und Probanden (zu erwartende) starke Lokalreaktionen auf PPD und PTD beobachtet. Es kam im Rahmen der gesamten Studie zu keinen schweren unerwünschten Nebenwirkungen.

## **Diskussion**

Probandin AU20 wurde ++ positiv auf Testsubstanz Rot getestet. Mögliche Erklärungen für die singuläre positive Reaktion sind eine stattgehabte Sensibilisierung, eine aktuelle (iatrogene) Sensibilisierung, eine Kreuzreaktion zu einem bekannten oder unbekanntem Allergen sowie eine falsch-positive Reaktion im Sinne einer Kontamination oder einer fälschlich als positiv gewerteten irritativen Reaktion. Eine Reexposition mit der Testsubstanz könnte wertvolle Hinweise zur Interpretation liefern.

# **Abstract**

## **Introduction**

Patients allergic to p-phenylenediamine (PPD) and/or p-toluenediamine (PTD) have several restrictions. Due to necessary allergen avoidance patients have restrictions in choice of profession as well as in possibilities to modify the own look by hair dying. Allergies caused by PPD and/or PTD have health care and economic impacts. There are costs from career changes, loss of occupation, therapies and health care products. Aim of this study, carried out at the University Clinic for Dermatology and Venereology in Graz, was to investigate the tolerance of three new color molecules in test subjects allergic to PPD and/or PTD. The primary hypothesis of the study is that the three test substances will not show any cross-reactivity to PPD and/or PTD and that they could possibly be used as alternative dyeing substances in the future.

## **Methods**

In this study, a cosmetic product was clinically tested by patch testing. 40 suitable study participants were identified by using the electronic patient data documentation system MEDOCS searching for patients patch tested positive to PPD and/or PTD at the Allergology Department of the University Clinic for Dermatology and Venereology in Graz in the period between 2011 - 2019.

## **Results**

Test substance blue, test substance yellow and the control substance petrolatum jelly were negative in all test subjects (40 out of 40) after 48 and 72 hours. Test substance red was tested positive in one test subject (1 out of 40), starting with a + positive reaction at the 72-hour-reading, a + positive reaction after 96 and 120 hours and a (mild) ++ positive reaction after 142 hours. The photo documentation showed clear crescendo symptoms which confirmed an allergic reaction and made an irritative reaction unlikely. A telephone survey in all test patients (on average 22 days after patch application) did not reveal any further delayed / late positive reactions. A strong local reaction (as expected) to PPD and

PTD were observed in several test subjects. There were no serious adverse events throughout the study.

## **Discussion**

Subject AU20 was tested ++ positive for test substance red. Possible explanations for this singular positive reaction are a genuine sensitization, a current iatrogenic sensitization, a cross-reaction to known or unknown allergens as well as a false-positive reaction due to contamination or an irritant reaction erroneously interpreted as positive. A re-exposure with test substance red could give valuable hints for interpretation of the test result.

# 1 Einleitung - Die allergische Kontaktdermatitis

## 1.1 Epidemiologie – allergische Kontaktdermatitis

Statistisch gesehen leiden in etwa 5 % der Männer und 11 % der Frauen in der Allgemeinbevölkerung irgendwann innerhalb eines Jahres an einem Kontaktekzem (Schnuch et al., 2001). In den Industrienationen treten Kontaktallergien gehäuft auf und in den letzten Jahren hat dort die Prävalenz zugenommen (Nielsen et al., 2001). Zwischen 15-20 % der Allgemeinbevölkerung in Deutschland zeigen zumindest eine positive Reaktion auf eine Substanz im Epikutantest. Rund 7 % der deutschen Bevölkerung erkranken jährlich an einer allergischen Kontaktdermatitis (Schnuch et al., 2004). Die allergische Kontaktdermatitis ist neben der irritativ-toxischen Kontaktdermatitis die häufigste Form und tritt vermehrt bei Frauen zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr auf (Meding & Swanbeck, 1989). Weiters auffällig ist eine hohe Inzidenz bei Friseurinnen und Friseuren mit 40-50 % (Conde-Salazar et al., 1995). Dadurch zählt die allergische Kontaktdermatitis zu einer der wichtigsten Berufskrankheiten.

Einen großen Einfluss hat hierbei die individuell verschiedene Exposition mit den Allergenen, ein meist jahrelanger chronischer Verlauf, die geringe therapeutische Möglichkeit sowie auch der meist frühe Krankheitsbeginn. Sie beeinflussen nicht nur die individuelle Lebenssituation, sondern können auch eine Berufsaufgabe mit sich bringen. In einer epidemiologischen Studie wurde aufgezeigt, dass 8 % der Patientinnen und Patienten mit einer allergischen Kontaktdermatitis gezwungen waren, ihren Beruf aufzugeben (Meding & Swanbeck, 1990). Die Berufsgruppe der Friseurinnen und Friseure war dabei noch deutlicher betroffen mit insgesamt 18 %. Daraus resultiert eine höhere finanzielle Belastung der Gesellschaft. Grund sind die notwendigen medizinischen Maßnahmen, die daraus resultierenden krankheitsbedingten Fehlstunden am Arbeitsplatz und eventuell notwendige Umschulungen. In den USA wird dadurch jährlich mit Kosten von 250 Millionen Dollar gerechnet (Belsito, 2000).

Die Patientinnen und Patienten werden je nach Allergen und aufgrund der notwendigen Allergenkarrenz sowie den damit verbundenen Maßnahmen in ihrer Berufsauswahl bzw. Berufsausübung, in der persönlichen Freizeitgestaltung sowie in der häuslichen Tätigkeit eingeschränkt. Die exponierte Lokalisation der Erkrankung, zumeist an den Händen und/oder im Gesicht, führt bei vielen Patientinnen und Patienten auch zu einem verminderten Selbstwertgefühl und zu erschweren sozialen Kontakten (Jowett & Ryan, 1985).

Präventionsmaßnahmen können gefährdete Personen vor einer Sensibilisierung schützen. Dafür müssen prädisponierende Risikofaktoren frühzeitig erkannt werden. Die Vermeidung der Allergenexposition steht dabei aber an erster Stelle. Eine adaptierte Berufswahl sowie Freizeitgestaltung, das Tragen einer persönlichen Schutzausrüstung in Form von Handschuhen und eine angemessene Hautpflege können maßgeblich dazu beitragen.

## **1.2 Pathogenese**

Kontaktallergien, welche sich klinisch als allergische Kontaktekzeme präsentieren, entstehen durch kleinmolekulare Stoffe. Für die Manifestation einer Kontaktdermatitis (syn. für Kontaktekzem) sind zwei aufeinanderfolgende Schritte notwendig. Eine Sensibilisierungsphase und eine Auslösephase, dies wird nachfolgend genauer beschrieben. Die Entstehung eines allergischen Kontaktekzems setzt eine spezifische Sensibilisierung des adaptiven Immunsystems gegenüber einem Kontaktallergen voraus (Riemann et al., 2003).

Dabei spricht man von einer immunologischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. Das bedeutet, es ist eine T-Zellen vermittelte verzögerte Reaktion vom Typ IV nach Gell und Coombs (Vocanson et al., 2020). Es gibt aber auch Studien, die zeigen, dass PPD in Einzelfällen auch antikörpervermittelte Typ I-Reaktionen vom Soforttyp hervorrufen kann. Dabei kann es zu einer anaphylaktischen Reaktion kommen (Fukunaga et al., 1996; Belton & Chira, 1997; Mavroleon et al. 1998).

Nachfolgende Abbildung zeigt die Pathophysiologie der Kontaktdermatitis:

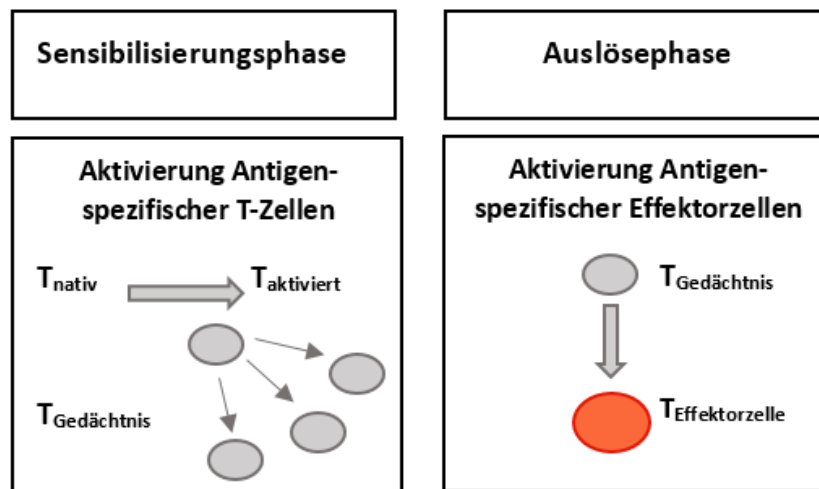


Abbildung 1 Pathophysiologie der Kontaktdermatitis in Anlehnung an Riemann et al., 2003

Gell und Coombs unterscheiden insgesamt vier Typen der immunologischen Überempfindlichkeitsreaktion. Für diese vorliegende Arbeit ist die Typ IV-Reaktion, die verzögerte zellvermittelte Spättypreaktion wie vorhin beschrieben, relevant (Coombs & Gell, 1963).

Die Entstehung eines allergischen Kontaktekzems setzt primär eine spezifische Sensibilisierung des adaptiven Immunsystems gegenüber einem Kontaktallergen voraus. In der Sensibilisierungsphase werden bei Erstkontakt der Haut mit dem Allergen naive T-Zellen aktiviert und diese differenzieren in eine Antigen- bzw. Allergen-spezifische Gedächtniszelle. Die Sensibilisierung der T-Lymphozyten erfolgt durch dendritische Zellen / Langerhans-Zellen (Riemann et al., 2003). Die Langerhans-Zellen werden durch die Exposition mit den sensibilisierenden Substanzen stimuliert, verlassen daraufhin die Haut und wandern in die regionalen Lymphknoten (Kripke et al., 1990). Dort präsentieren sie auf ihrer Oberfläche das Antigen in Assoziation mit MHC-II-Molekülen oder CD1-Molekülen und treten über den T-Zellrezeptor in Kontakt mit den naiven T-Lymphozyten. Nach der Antigenpräsentation proliferieren die T-Lymphozyten (CD4+) und verteilen sich über die Blutbahn im gesamten Körper. Dadurch gelangen sie auch in die Haut. Ein Teil der T-Lymphozyten verwandelt sich dabei in antigenspezifische T-

Gedächtniszellen um, sodass bei einem neuerlichen Kontakt mit dem Allergen rasch eine Entzündungsreaktion hervorgerufen werden kann. Der Sensibilisierungsprozess dauert bei Substanzen mit hohem Sensibilisierungspotential in etwa 5 Tage, bei einigen Substanzen kann dieser Prozess erst nach wochen- oder monatelanger Exposition zur Sensibilisierung führen. Bei der sensibilisierten Person führt ein erneuter Kontakt mit diesem Allergen bereits nach 4 bis 72 Stunden zum Auslösen der akuten Ekzemreaktion (Moritz & Wöhrle, 2009). Bei Spätreaktionen, die erst 10–14 Tage nach Applikation des Epikutantests erstmalig auftreten, spricht man von einer iatrogenen de-novo-Sensibilisierung (Schnuch et al., 2008).

In der nächsten Phase, der sogenannten Auslösephase, führt ein neuerlicher Kontakt mit demselben Allergen (Zweitkontakt) zur Aktivierung der spezifischen T-Zellen. Dies führt zu einer spezifischen T-Zellen vermittelten entzündlichen Reaktion am Ort der Exposition (Riemann et al., 2003). Es kommt hierbei zu einer Antigenpräsentation durch Langerhanszellen oder sogenannten „fakultativ antigenpräsentierenden Zellen“ wie Keratinozyten, B-Zellen, Endothelzellen und Makrophagen. Studien konnten weiters belegen, dass die Internalisierung und Prozessierung von Haptenen durch die Langerhanszellen nicht für alle Kontaktallergene notwendig ist. Unter anderem das PPD steht dabei in Diskussion, direkt an die oberflächlichen MHC-II-Moleküle zu binden und so möglicherweise ohne intrazellulärem Prozess den T-Lymphozyten präsentiert zu werden (Schnyder et al., 1997; Zanni et al., 1998; Sieben et al., 2002). Bei der Antigenpräsentation kommt es zur Proliferation der kutanen antigenspezifischen CD4+ oder CD8+ T-Lymphozyten, den T-Gedächtniszellen (Kapsenberg et al., 1992). Bei diesem neuerlichen Kontakt erkennen somit die Effektorzellen rasch das Antigen als fremd und bekämpfungswert, woraufhin Zytokine freigesetzt werden und diese wiederum weitere Entzündungszellen rekrutieren (Riemann et al., 2003).

Manche wichtigen Aspekte der Pathogenese der allergischen Kontaktdermatitis konnten bis dato noch nicht genau entschlüsselt werden. Daher stellt sich die Frage, warum bestimmte Patientinnen und Patienten durch Hautkontakt auf ein

Allergen mit einer allergischen Reaktion reagieren, während andere trotz jahrelanger oder häufiger Exposition dies nicht tun. Vermutet wird ein Einfluss durch Genetik, Geschlecht, Alter, der ethnischen Gruppenzugehörigkeit oder aufgrund chronischer Dermatosen (Nethercott et al., 1994; Robinson, 1999). Aber auch der Beruf und die Anzahl der weiteren Sensibilisierungen (Polysensibilisierungen) sind bedeutende Risikofaktoren bei der Entstehung einer Sensibilisierung (Schnuch et al., 2008). Der Einfluss von Alter und Geschlecht bei der Manifestation einer allergischen Kontaktsensibilisierung wird jedoch kontrovers diskutiert. Es gibt Studien, die einen Zusammenhang zwischen dem Alter und der Prävalenz der Kontaktallergie bestätigen (Mortz & Andersen, 1999) und welche, die dies verneinen (Wöhrl et al., 2003). Die Geschlechtszugehörigkeit übt sehr wahrscheinlich Einfluss auf die Sensibilisierbarkeit oder sogar auf die Manifestation eines Ekzems aus. Je nach Allergen sind entweder Männer oder Frauen leichter zu sensibilisieren (Schnuch & Uter, 2004).

### ***1.3 Morphologische Beschreibung***

Zum Nachweis einer Sensibilisierung ist in der Routinediagnostik der Epikutantest das Mittel der Wahl (Schnuch et al., 2001). Eine positive Reaktion auf eine Epikutantestsubstanz zeigt lediglich die Sensibilisierung der getesteten Person an, weist jedoch nicht zwingend auf eine allergisches Krankheitsbild hin. Eine allergische Kontaktdermatitis tritt erst auf, wenn die Exposition gegenüber einem Allergen die jeweils individuelle Auslöseschwelle überschreitet (Diepgen et al., 2016). Die Beurteilung der morphologischen Beschreibung im Epikutantest erfolgt nach den Empfehlungen der internationalen Kontaktdermatitis-Gruppe bzw. der Leitlinie der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DGK), wie nachfolgend abgebildet:

<b>Symbol</b>	<b>Morphologie</b>	<b>Bewertung</b>
neg.	keine Reaktion	negativ
?	nur Erythem, kein Infiltrat	fraglich
+	Erythem, Infiltrat, evtl. diskrete Papeln	einfach positiv
++	Erythem, Infiltrat, Papeln, Vesikel	zweifach positiv
+++	Erythem, Infiltrat, konfluierende Vesikel	dreifach positiv
irr	versch. Veränderungen (Seifeneffekt, Vesikel, Blase, Nekrose)	irritativ

*Tabelle 1 Beurteilung der morphologischen Beschreibung in Anlehnung an Schnuch et al., 2001*

Allergische Reaktionen werden mit „+“ bis „+++“ bewertet. In die Bewertung kann aber auch die Reaktionsdynamik miteinfließen (Schnuch et al., 2001). Ein Crescendo oder ein Plateu-Muster sprechen eher für einen allergischen Typ, wohingegen ein Decrescendo für einen irritativen Typ spricht. Es besteht auch noch die Möglichkeit einer Spätreaktion, hierbei erfolgt ein Auftreten ca. 3-5 Tage nach dem Auftragen eines Epikutantests. Hierbei muss stets die Möglichkeit einer iatrogenen Neu-Sensibilisierung bedacht werden.

## **1.4 Klinik**

Das klinische Bild einer allergischen Kontaktreaktion kann sehr stark in Abhängigkeit vom Sensibilisierungsgrad der jeweiligen Patientinnen und Patienten, der Art der Exposition und von den örtlichen, hauteigenen Faktoren variieren. Das Akutstadium äußert sich meist am Ort der Allergenexposition durch ein lokales Erythem, eine ödematöse Schwellung, stark juckende, epidermale Papeln, nässende Vesikel, oder Bullae oder einer Schuppung (Marks Jr. et al., 2000; Riemann et al., 2003). Einen wertvollen Hinweis auf mögliche Auslöser gibt die primäre Lokalisation der ekzematösen Dermatitis, da diese vom ursächlichen Allergenkontakt abhängt (Nethercott et al., 1994). So ist es naheliegend, dass Haarfärbemitteln zu Hautveränderungen auf der Kopfhaut und im Gesichtsbereich führen (Fukunaga et al., 1996; Belton & Chira, 1997; Mavroleon et al., 1998).

## 2 Theorie

### 2.1 PPD

Ein häufiges und starkes Kontaktallergen stellt para-Phenylendiamin (PPD) dar. Das PPD ist eine aromatische Aminoverbindung, welche als Ausgangssubstanz zur Herstellung von Farbstoffen verwendet wird. PPD wird kommerziell als Haarfärbemittel bereits seit Mitte des 19. Jahrhunderts verwendet (Corbett & Menkart, 1973). Hennatätowierungen werden – in einer in dieser Form verbotenen Form – ebenfalls mit PPD angereichert und stellen eine weitere sehr häufige Sensibilisierungsquelle dar (Bowling 2002; Jappe et al., 2001; Le Coz et al., 2000). Auch in Druckerschwärze (Shapiro et al., 2001) und in der Fotoentwicklung (Marconi et al., 1999) wird man bezüglich der Substanz PPD fündig. Es wird zum Färben von Haaren, Leder und Textilien benutzt, sowie auch für histologische Präparate und es dient weiters als Beschleuniger für die Gummi-Vulkanisation (Conde-Salazar et al., 1980-1993; Gottlober et al., 2001). Kontaktallergien gegen Inhaltsstoffe von Haarfärbemitteln, insbesondere Vorstufen und Kuppler, werden besonders häufig bei Friseurinnen und Friseuren beobachtet. Da bei einem Haarfärbeprozess nicht alle Reste des Haarfärbemittels ausgewaschen werden können, besteht die Möglichkeit, dass die in den Haaren nicht gebundenen freien und damit potentiell sensibilisierenden Farbmoleküle eine Sensibilisierung auslösen können. Am besten wurde dies für PPD untersucht (Rastogi et al., 2006). PPD ist in rund 100 verschiedenen Haarfärbemitteln zugelassen und das Färben der Haare ist die Hauptursache für PPD-Allergien. PPD ist deshalb die primäre Substanz zum Screening auf Allergien gegen Haarfärbemittel (Sosted et al., 2013.)

#### 2.1.1 Epidemiologie – PPD

Insgesamt sind vermehrt Konsumentinnen und Konsumenten, Friseurinnen und Friseure, Fotografinnen und Fotografen sowie Arbeiterinnen und Arbeiter in der Gummi-, Leder- und Textilindustrie betroffen (Armstrong et al., 1999). Besonders unter den Friseurinnen und Friseuren reagieren 24-45,9 % positiv auf PPD im Epikutantest (Lynde & Mitchell, 1982; Nethercott et al., 1986; Guerra et al., 1992;

Conde-Salazar et al., 1980-1993). Durch das Arbeiten mit diesen Substanzen, wie dem Zusammenmischen der Farbe, Auftragen auf die Kopfhaut oder Schneiden frisch gefärbter Haare, führt es bei sensibilisierten Friseurinnen und Frisuren zu allergischen Kontaktekzemen an den Händen. Aber nicht nur der alleinige Kontakt mit PPD in den Haarfärbemitteln ist dafür verantwortlich, sondern auch chronische Hautschädigungen durch häufige Feuchtarbeit und der Umgang mit irritativen Substanzen tragen dazu bei (Guerra et al., 1992; Özkaya-Bayazit et al., 1997). Bei den Kundinnen oder Kunden bzw. den Privatanwenderinnen oder Privatanwendern kann bei bestehender Sensibilisierung eine allergische Kontakreaktion an der Kopfhaut auftreten. PPD gehört heute zu den zehn häufigsten Auslösern eines allergischen Kontaktekzems (Fransway et al., 2013).

## **2.2 PTD**

Ein weiteres sehr wichtiges Kontaktallergen ist p-Toluylendiamin (PTD). PPD als auch PTD sind Komponenten von oxidativen (dauerhaften) Haarfärbemitteln. Sie fungieren dort als wirksame Kontaktsensibilisatoren. Die hohe Potenz der Kontaktsensibilisatoren der dauerhaften Haarfärbemittel konnte in Tierversuchen nachgewiesen werden. Diesen Substanzen sind Konsumentinnen und Konsumenten sowie Friseurinnen und Friseure beim Haare färben ausgesetzt (Kirchlechner et al., 2016). Dem PTD wird in der Literatur im Vergleich zum PPD jedoch eine geringere Sensibilisierungsrate (Peters et al., 1994) aufgrund der geringeren Sensibilisierungspotenz (Gottlöber et al., 2001) zugeschrieben.

### **2.2.1 Epidemiologie – PTD**

Sosted et al. konnten in einer Studie aus dem Jahr 2013 aufzeigen, dass bei rund 50 % der Personen, welche im Epikutantest positiv auf PPD reagierten, auch eine positive Testreaktion gegenüber PTD aufzeigten, während 81 % der Personen, welche im Epikutantest positiv auf PTD reagierten, auch gegenüber PPD sensibilisiert waren (Sosted et al., 2013).

### **2.3 Kreuzreaktionen**

Ein weiteres Problem stellen die möglichen Kreuzreaktionen auf strukturell ähnliche Verbindungen dar. Es ist an mögliche Kreuzreaktionen zu denken, wenn bei mehreren Patientinnen und Patienten eine positive Reaktion auf strukturell verwandte Substanzen auftritt (Schnuch, 2008).

Bei bereits Typ IV-Sensibilisierten auf PPD ist an Substanzen zu denken, die ebenfalls eine Aminogruppe in Parastellung aufweisen (Uter, 2002). Dazu zählen vor allem Farbstoffe wie PTD, p-Aminophenol, p-Aminoazobenzol sowie UV-B-Filter (p-Aminobenzoessäure) und Dispers Orange 3. Dazu zählen auch Lokalanästhetika wie Benzocain und Procain sowie das Antibiotikum Sulfonamid (Belsito, 2000). Weiters zeigen sie Kreuzreaktionen auf Sulfanilsäure, welche häufig ein Bestandteil von Tabletten ist (Sornin de Leysat et al., 2003). Aufgrund der Strukturähnlichkeit sind die Parastoffe in der Lage, PPD spezifische T-Lymphozyten zu aktivieren (Picardo et al., 1990; Li et al., 1996). Grund dafür ist, dass der sensible T-Lymphozyt die verschiedenen Haptene nur bedingt differenzieren kann (Wulferink et al., 2002). PPD eignet sich daher auch gut als Screeningsubstanz zum Nachweis einer Kontaktallergie auf Parastoffe (Koopmans & Bruynzeel, 2003). Diese Kreuzsensibilisierungen müssen aber nicht zwingend zu klinisch-relevanten Problemen führen.

Wie bereits oben erwähnt, sind wichtige Aspekte der Pathogenese der allergischen Kontaktdermatitis bis dato noch nicht genau erforscht (Nethercott et al., 1994; Robinson, 1999). Daher kann theoretisch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, dass Personen nicht auch auf nicht chemisch verwandte Moleküle reagieren.

### **2.4 Die drei neuen Farbmoleküle**

Eine Kontaktallergie gegenüber PPD und/oder PTD führt dazu, dass die betroffenen Personen häufig keine Haarfärbungen mit den am Markt befindlichen Permanentfarben mehr durchführen können. Weitere Vorstudien legen nahe, dass die individuelle Stärke der PPD und/oder PTD Sensibilisierung Einfluss auf das

Risiko einer Unverträglichkeit gegenüber ähnlichen Haarfärbeprodukten hat (Blömeke et al., 2015; Schuttelaar et al., 2018; Zahir et al., 2016).

Bei den drei neuen Farbmolekülen stellt sich die Frage, ob diese von PPD und/oder PTD Allergikern vertragen werden oder nicht, da diese chemisch keine Ähnlichkeit zu PPD und/oder PTD aufweisen – und somit auch keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist.

In den SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety, europäische Regulation) Protokollen finden sich Einschätzungen über die drei neuen Farbmoleküle. In diesen konnte nachgewiesen werden, dass bei Mäusen im lokalen Lymphknoten-Assay die neuen Farbmoleküle ein deutlich geringeres Sensibilisierungspotential aufweisen als bei PPD oder PTD. Laut Auskunft des Sponsors der Studie wurde in einem ersten Vortest die Verträglichkeit von diesen Farbmolekülen bei 6 Personen mit Kontaktallergie auf PPD und/oder PTD überprüft. Hierbei zeigte keine Person eine Unverträglichkeit. Im Rahmen dieser Studie sollen diese Vorergebnisse ausgeweitet und validiert werden.

Sollten die drei zu untersuchenden Testsubstanzen keine Kreuzreaktionen zu PPD und PTD aufweisen, könnten sie in Zukunft möglicherweise als Ersatzstoffe fungieren.

## 3 Studienpopulation

### 3.1 Studienpopulation

An der Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie wurden für die vorliegende klinische Prüfung eines Kosmetikums insgesamt 40 anamnestisch PPD-sensibilisierte Probandinnen und Probanden eingeladen. Die in Frage kommenden Probandinnen und Probanden wurden aus allen durchgeführten Epikutantestungen der Hautklinik Graz im Zeitraum von 04/2010 bis einschließlich 09/2019 ausgewählt. Die Epikutantests der ausgewählten Probandinnen und Probanden fanden in den Jahren 2011 bis 2019 statt: 2011: n = 3, 2012: n = 4, 2013: n = 5, 2014: n = 4, 2015: n = 5, 2016: n = 1, 2017: n = 6, 2018: n = 5, 2019: n = 7.

Der eingereichte Ethikantrag (EK Nr.: 31-186 ex 18/19) wurde von der Ethikkommission (EK) der Medizinischen Universität Graz positiv bewertet.

### 3.2 Probandinnen und Probandenkollektiv

Die **Einschlusskriterien** umfassten:

- Eine dokumentierte Reaktion (Sensibilisierung) in Höhe einer + positiven, ++ positiven oder +++ positiven im Epikutantest gegenüber:
  - p-Phenylendiamin (1 % in Vaseline) und/oder
  - p-Toluylendiamin (1 % in Vaseline)
- Negativer Schwangerschaftstest bei gebärfähigen Frauen
- Ein schriftliches Einverständnis
- Alter zwischen 18 und 80 Jahren (Stichtag für das Mindestalter war das Datum des Tages, an dem die experimentelle ECT-Testung durchgeführt wurde)

Die **Ausschlusskriterien** umfassten:

- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Eine vorbekannte schwere systemische allergische Reaktion auf Haarfärbemittel, in Form einer anaphylaktischen Reaktion mit Symptomen wie Atemnot und/oder Kreislaufschwäche
- Eine Lokalthherapie mit Kortikosteroiden („Kortison“) oder anderen -entzündungshemmenden Wirkstoffen am Testarm innerhalb des letzten Monats vor geplanter Testung
- Eine systemische Therapie mit immunsuppressiven Medikamenten (z. B. Kortikosteroiden, Methotrexat) innerhalb der letzten zwei Monate vor geplanter Testung
- Eine systemische Therapie mit Antihistaminika innerhalb der letzten drei Tage vor geplanter Testung
- Vernarbungen, Infektionen oder Hauterkrankungen an den Testarealen
- Intensive UV-Bestrahlung durch Sonnenlicht oder im Solarium innerhalb des letzten Monats vor geplanter Testung bzw. eine stark gebräunte Teststelle
- Vorbekannte schwere Erkrankungen in den letzten 6 Monaten vor der Testung (z. B. Krebserkrankung, akute Herz-Kreislaufkrankung, HIV-Infektion)

Es kamen insgesamt 100 Probandinnen und Probanden im gewählten Zeitraum in Frage. 25 (25 %) davon hatten eine +++ positive Reaktion auf PPD und/oder PTD, 38 (38 %) eine ++ positive Reaktion, 36 (36 %) zeigten immerhin noch eine + positive Reaktion und es gab eine (1 %) fragliche Reaktion auf PPD und/oder PTD.

Von den Probandinnen und Probanden mit einer positiven Reaktion auf PPD und/oder PTD wurden primär diejenigen mit einer höheren Reaktion, sprich +++ positiv oder ++ positiv, kontaktiert.

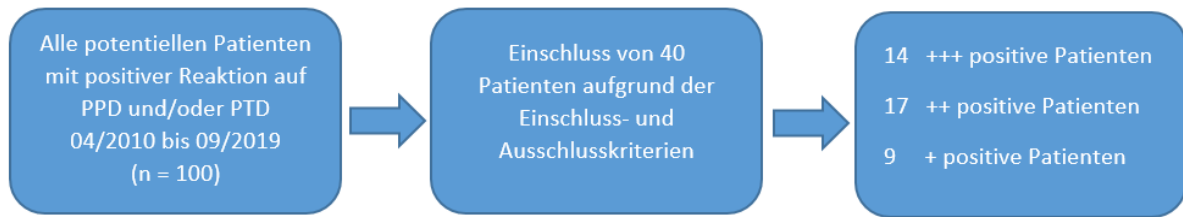


Abbildung 2 Grafische Darstellung des Probandinnen und Probandenkollektivs

Letztlich umfasste das Kollektiv 14 (35 %) Probandinnen und Probanden mit mindestens einer +++ positiven Reaktion, 17 (42,5 %) mit einer ++ positiven Reaktion und 9 (22,5 %) mit einer + positiven Reaktion. Es wurde somit ein homogenes Probandinnen- und Probandenkollektiv in Bezug auf die Sensibilisierungsstärke inkludiert.

Tabelle 3 zeigt eine detaillierte Auflistung der Ergebnisse der vorab durchgeführten ECT-Testungen der 40 Probandinnen und Probanden.

Kreuzpositive	Anzahl	Prozent	PPD	PTD
+++ positive	6	15,0 %	+++ positiv	+++ positiv
	8	20,0 %	+++ positiv	++ positiv
++ positive	11	27,5 %	++ positiv	++ positiv
	3	7,5 %	++ positiv	+ positiv
	2	5,0 %	++ positiv	neg.
	1	2,5 %	+ positiv	++ positiv
+ positive	5	12,5 %	+ positiv	+ positiv
	2	5,0 %	+ positiv	neg.
	1	2,5 %	+ positiv	?
	1	2,5 %	+ positiv	irr
Summe	40	100,0 %		

Tabelle 2 Detaillierte Auflistung der Ergebnisse der vorab durchgeführten ECT-Testungen

### **3.3 Die Leistungen der Verfasserin**

Die Studie wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Lukas Koch und Herrn Prof. Werner Aberer durchgeführt. Die Verfasserin dieser Diplomarbeit hat beim Schreiben und beim Einreichen des Studienprotokolls, der Studienprotokolländerung und des Ethikantrages mitgearbeitet. Die Probandinnen und Probanden wurden primär durch die Verfasserin telefonisch kontaktiert und anschließend mittels eines Schreibens über die Studie informiert. Bei bestehendem Interesse zur Teilnahme wurden an die Teilnehmerinnen und Teilnehmer durch die Verfasserin telefonisch Termine zur 1. Visite vergeben. Die Studienaufklärung, die Visiten und die anschließenden Auswertungen wurden gemeinsam durch die Verfasserin und Dr. Lukas Koch durchgeführt.

### **3.4 Datenschutz**

Sämtliche Personen, welche Zugang zu den verschlüsselten und nicht verschlüsselten Daten erhielten, waren zur Verschwiegenheit und zur Wahrung des Datengeheimnisses verpflichtet. Außerdem unterlagen sämtliche Personen im Umgang mit den Daten der Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO). Die Daten wurden anhand einer MEDOCS-Recherche erhoben und anschließend pseudonymisiert von Mai 2017 bis Dezember 2019 in einer Passwort-geschützten Excel-Tabelle gesammelt und ausschließlich zu statistischen Zwecken in SPSS in verschlüsselter/kodierter/pseudonymisierter Form verwendet.

Eine wissenschaftliche Veröffentlichung der Daten wird ebenfalls anonymisiert erfolgen, sodass keine Rückschlüsse auf die Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmer möglich sind.

## **4 Methoden**

Bei den Probandinnen und Probanden wurde im Rahmen des Epikutantests zusätzlich zu den drei Testsubstanzen auch PPD und PTD in der im Rahmen der Routinediagnostik üblichen Testkonzentration (1 % in Vaseline) mitgetestet. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass ein Großteil der rekrutierten Personen zum Testzeitpunkt noch gegenüber PPD und/oder PTD sensibilisiert waren. Als

Kontrollsubstanz wurde eine reine Trägersubstanz (Vaseline) ohne Farbstoffe mitgetestet. Für die Testablesung wurden die Kriterien der DKG (Deutsche Kontaktallergie-Gruppe) herangezogen.

#### **4.1 Studiendesign**

Es handelte sich um eine explorative, offene und monozentrische Studie. Aufgrund der vorliegenden Daten wurden bei fehlender chemischer Verwandtheit der Substanzen mit PPD oder PTD keine positiven Reaktionen erwartet. Die Probandinnen und Probanden waren über die zu testenden Substanzen informiert.

#### **4.2 Fallzahl**

Die Fallzahlplanung erfolgte im Auftrag des Sponsors mit dem Programm G\*Power 3.1.2 (Faul et al., 2007 & Faul et al., 2009). Es wurde ein Fehler 1. Art von  $\alpha = 0,05$  und ein Power von  $(1 - \beta) = 0,80$  angenommen. Eine Fallzahl von max. 40 Probandinnen und Probanden wurde als ausreichend angesehen. Die primäre Zielgröße war die Wahrscheinlichkeit für die Beobachtung des interessierenden Ereignisses. Da kein Vergleich zwischen mehreren Gruppen durchgeführt wurde, war ein Einstichproben-Binomialtest auf einen festen Parameter  $p$  – hier die Erfolgswahrscheinlichkeit – durchzuführen.

Es wurde ein einseitiger Einstichproben-Binomialtest auf eine feste Erfolgswahrscheinlichkeit  $p_0$  durchgeführt. Anmerkung: Ist die Zielvariable der Eintritt eines bestimmten Ereignisses und soll dessen Wahrscheinlichkeit in einer Gruppe (Stichprobe) eine feste, vorgegebene Erfolgswahrscheinlichkeit  $p_0$  übersteigen, wird für die Fallzahlplanung ein einseitiger Einstichproben-Binomialtest auf eine feste Erfolgswahrscheinlichkeit  $p_0$  verwendet. Dabei stellt  $p_0$  den festen Parameter unter der Nullhypothese  $H_0$  dar und  $p_1$  die Erfolgswahrscheinlichkeit unter der Alternative  $H_1$ , welche auch für die Fallzahlplanung spezifiziert werden muss. Der Effekt ist die Differenz beider Wahrscheinlichkeiten:  $g = p_1 - p_0$  (G\*Power 3.1 Manual, 2014).

Die primäre Zielgröße war die Wahrscheinlichkeit für die Beobachtung des interessierenden Ereignisses. Es kam hierbei zu keinem Vergleich zwischen mehreren Gruppen, daher war hier ein Einstichproben-Binomialtest auf einen festen Parameter  $p$  (Erfolgswahrscheinlichkeit) durchzuführen.

Bei gesunden Probandinnen und Probanden wurde keine oder nur eine seltene Reaktion angenommen. Es wurde davon ausgegangen, dass das interessierende Ereignis unter  $H_0$  mit Wahrscheinlichkeit  $p_0 = 0,01$  zu beobachten sei. Im Falle eines nicht-zufälligen Auftretens des Ereignisses wurde davon ausgegangen, dass es bei mindestens 10 % der Allergiker zu beobachten sei. Für die Fallzahlberechnung wurde der Effekt  $g = p_1 - p_0$  mit  $g = 0,1$  spezifiziert. Alternativ wurde die Annahme eines deutlich kleineren Effekts von  $g = 0,05$  zugrunde gelegt.

Damit ergab sich folgende Fallzahlplanung:

A: Einstichproben-Binomialtest (einseitig)		
Annahmen:	Erfolgswahrscheinlichkeit $p_0$	0,01
	Effekt $g = p_1 - p_0$	0,1
	Fehler a. Art $\alpha$	0,05
	Fehler 2. Art $\beta$	0,80
Ergebnis:	Anzahl $n$	27
	Kritischer Wert	2
	Tatsächliche Power $(1 - \beta)$	0,8135
	Tatsächlicher Fehler 1. Art $\alpha$	0,0297
B: Einstichproben-Binomialtest (einseitig)		
Annahmen:	Erfolgswahrscheinlichkeit $p_0$	0,01
	Effekt $g = p_1 - p_0$	0,05
	Fehler a. Art $\alpha$	0,05
	Fehler 2. Art $\beta$	0,50
Ergebnis:	Anzahl $n$	71
	Kritischer Wert	3
	Tatsächliche Power $(1 - \beta)$	0,08064
	Tatsächlicher Fehler 1. Art $\alpha$	0,0346

*Tabelle 3 Stichprobengröße und tatsächliche Power für einen einseitigen Einstichproben-Binomialtest auf eine Erfolgswahrscheinlichkeit  $p_0 = 0,01$*

Eine Studiengröße von  $n \geq 27$  galt als ausreichend, um das interessierende Ereignis mit einer Power von mindestens 0,80 bei einer Effektgröße von  $g = 0,1$  nachweisen zu können.

Die Effektgröße änderte sich nicht massiv, auch wenn von einer maximal möglichen Studiengröße von 40 Probandinnen und Probanden ausgegangen wurde.

Einstichproben-Binomialtest (einseitig)		
Annahmen:	Erfolgswahrscheinlichkeit $p_0$	0,01
	Fehler a. Art $\alpha$	0,05
	Fehler 2. Art $\beta$	0,80
Ergebnis:	Anzahl n	40
	Effekt $g = p_1 - p_0$	0,0940
	Kritischer Wert	3
	Tatsächlicher Fehler 1. Art $\alpha$	0,0075

*Tabelle 4 Stichprobengröße und tatsächliche Power für einen einseitigen Einstichproben-Binomialtest auf eine Erfolgswahrscheinlichkeit  $p_0 = 0,01$*

### **4.3 Studienablauf**

#### **4.3.1 Visiten**

##### 1. Visite: Klinikbesuch mit Fixtermin

Am 1. Tag wurden alle Substanzen in 6 Aluminiumkammern (Finn Chamber®) gegeben und auf der Oberarminnenseite der Probandinnen und Probanden appliziert. Die Substanzen PPD und PTD standen der Klinik aufgrund routinemäßig durchzuführender Epikutantestungen zur Verfügung. Die drei neuen Farbmoleküle wurden vom Sponsor bereitgestellt. Hierfür wurden 3 Tropfen der jeweiligen Testsubstanz in einer Aluminiumkammer mit einem Durchmesser von 8 mm (Finn Chamber®) aufgetragen und mittels Pflaster am Arm fixiert.

Die Testzubereitungen der drei Farbstoffe wurden in der typischen Einsatzmenge in Haarfärbeprodukten getestet (Testsubstanz Rot (0,5 % in Vaseline), Testsubstanz Blau (0,35 % in Vaseline) und Testsubstanz Gelb (0,5 % in

Vaseline)). Für PTD und PPD wurde die Konzentration jeweils mit 1 % in Vaseline verwendet, wie sie im Rahmen der Routinediagnostik eingesetzt wird.

Anfänglich, für die ersten 7 Probandinnen und Probanden, wurden alle Testsubstanzen, wie bei einem routinemäßigen Epikutantest üblich, für 48 Stunden belassen. Aufgrund von zu starken Reaktionen mit Blasenbildung wurde dann das Studienprotokoll zum Wohle der Probandinnen und Probanden geändert, um mögliche weitere heftige Reaktionen zu vermeiden. Die Testkammern 5. PTD und 6. PPD wurden nach Änderung des Studienprotokolls bereits nach 45 Minuten entfernt und abgelesen. Damit wollte man eine neuerliche starke Reaktion aufgrund der bereits bekannten Sensibilisierungen vermeiden. Die Testkammern 1. bis 4. wurden vor und nach Protokolländerung wie bei einer routinemäßigen Testung weiterhin erst nach 48 Stunden entfernt und abgelesen. Insgesamt dauerte die 1. Visite, mit dem ausführlichen ärztlichen Gespräch, dem Durchführen des Schwangerschaftstests bei gebärfähigen Patientinnen, der Applikation des ECT-Tests samt Ablesen der Substanzen PPD und PTD nach bereits 45 Minuten, etwa 60 Minuten. Danach wurden die Probandinnen und Probanden nach Hause entlassen.

## 2. Visite: Klinikbesuch mit Fixtermin

Der 3 Tag, 48 h nach dem Ersttermin, war wiederum ein Fixtermin. Wenn nicht anders als am Tag 1 besprochen, wurden die Probandinnen und Probanden nach 48 Stunden wieder in der Allergieambulanz des LKH Graz vorstellig. Zuerst wurden alle (verbleibenden) Aluminiumkammern (Finn Chamber®) entfernt und anschließend die Substanzen vorsichtig mit einem Wattestäbchen und Wasser abgetupft.

20 Minuten nach Entfernung der Testsubstanzen untersuchte ein Arzt die Haut und bewertete die Testreaktion aller sechs Testfelder. Die Dauer belief sich hierfür auf ca. 30 Minuten. Im Falle einer starken Reaktion oder anhaltenden Reaktion auf PPD und/oder PTD wurde in den Testfeldern 5 und 6 eine Kortisoncreme (Diproderm®) aufgetragen um eine rasche Abheilung zu ermöglichen. Es wurde dabei auf eine genaue Arbeitsweise geachtet. Die Kortisoncreme wurde nur auf

die Testfelder 5 und 6 aufgetragen, um eine mögliche Beeinflussung der Testfelder 1 bis 4 zu vermeiden.

### 3. Visite: Klinikbesuch mit Fixtermin

Der 4. Tag fand im üblichen Setting statt, stellte die Endablesung des Epikutantests dar und erfolgte 72 Stunden nach dem Applizieren der Testsubstanzen. Hierfür mussten die Probandinnen und Probanden lediglich mit einer Dauer von 10 Minuten rechnen.

### 4. Visite: Telefongespräch

14 bis 28 Tage, im Schnitt rund 3 Wochen nach Applizieren des Hauttests wurden alle Probandinnen und Probanden nochmals telefonisch kontaktiert. Das telefonische Gespräch sollte eine mögliche Spätreaktion auf eine der getesteten Substanzen erfragen. Bei starken Reaktionen auf PPD und/oder PTD wurde jedoch auch das derzeitige Befinden der Probandinnen und Probanden erfragt bzw. ob es zu einer Abheilung der Hautreaktion gekommen ist. Im Durchschnitt dauerten die Telefongespräche 5 Minuten.

### 5. Visite: Optional

Wenn in der Anamnese eine sehr starke Reaktion im früher durchgeführten Epikutantest auf PPD und/oder PTD angegeben wurde, als Beispiel eine sehr starke Blasenbildung oder wenn es sogar zu einer Narbenbildung nach der Testung gekommen war, wurden diese Probandinnen und Probanden bereits nach 24 Stunden zur neuerlichen Vorstellung in die Hautklinik Graz bestellt.

Bei einem starken Juckreiz oder sonstigen Beschwerden waren die Teilnehmerinnen und Teilnehmer ebenfalls eingeladen, bereits nach 24 Stunden in der Ambulanz vorstellig zu werden.

Die Probandinnen und Probanden waren weiters angehalten nach 96 Stunden vorstellig zu werden, wenn bei der 72-Stunden-Ablesung eine positive Reaktion bei den drei neu getesteten Testfarben nachzuweisen war oder zuerst die drei Testareale negativ waren und erst nach den 72 Stunden eine Veränderung im

Testareal entdeckt wurde. Bei beiden Terminen, 24 Stunden bzw. 96 Stunden nach Applikation, war das Vorgehen gleich wie bei Visite 3. Die Dauer belief sich hierfür auch nur auf ca. 10 Minuten.

Zusätzlich wurde den Probandinnen und Probanden nahegelegt, beim Auftreten von Beschwerden jederzeit mit dem Studienteam telefonisch Kontakt aufzunehmen bzw. in unserer Ambulanz vorstellig zu werden, auch nach 96 Stunden.

### 4.3.2 Epikutantest

Im Rahmen dieser Studie wurde bei den teilnehmenden Probandinnen und Probanden an den Oberarminnenseiten ein geschlossener Epikutantest durchgeführt. Insgesamt beinhaltete der Epikutantest 6 Aluminiumkammern (Finn Chambers®). Die ersten drei Kammern des Epikutantest wurden mit den drei neuen Testsubstanzen (1. Kammer: Testsubstanz Rot (0,5 % in Vaseline), 2. Kammer: Testsubstanz Blau (0,35 % in Vaseline), 3. Kammer: Testsubstanz Gelb (0,5 % in Vaseline) befüllt. Die Testssubstanzen enthielten in der Grundlage Vaseline die beschriebenen Farbmoleküle in entsprechender Konzentration. Die vierte Kammer enthielt als Kontrollsubstanz reine Vaseline ohne Farbmoleküle. Die 5. und 6. Kammer beinhalteten in der Grundlage Vaseline PTD (1 %) bzw. PPD (1 %), Nachfolgende Abbildung zeigt die genaue Anordnung der aufgeklebten Substanzen im Epikutantest.

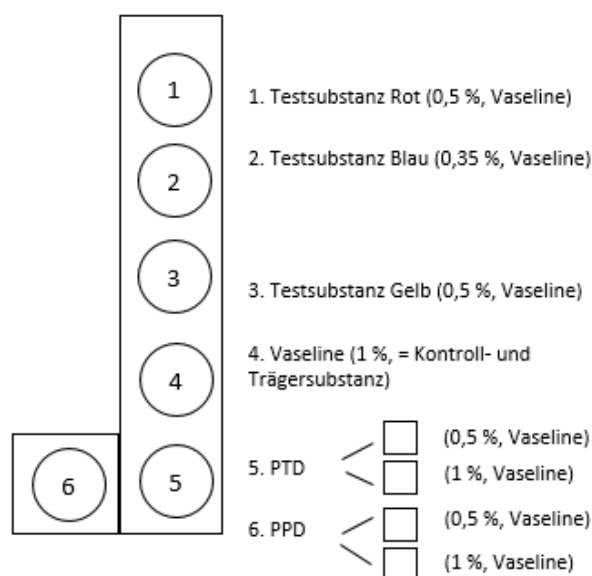


Abbildung 3 Experimentelle ECT-Substanzen nach Studienprotokoll 1

Laut Studienprotokoll 1 gab es für Probandinnen und Probanden mit einer früheren starken Reaktion auf PPD und/oder PTD (entsprechend einer ++ positiven oder einer +++ positiven Reaktion auf die jeweiligen Substanzen) die Möglichkeit, bei PPD und/oder PTD nur die halbe Dosis zu verwenden (0,5 % in Vaseline), anstatt der vollen Dosis (1 % in Vaseline). Probandin AU05 hatte auf PPD und PTD in einer früheren ECT-Testung eine nachweisliche +++ positive Reaktion auf beide dieser Stoffe und erhielt daher eine halbe Dosierung dieser Substanzen.

Die Probandinnen und Probanden AU01 bis AU07, ausgenommen AU05, erhielten die volle Dosis.

Laut Studienprotokoll 2 wurde ab Patient AU08 nur mehr mit der vollen Dosis auf PPD (1 % in Vaseline) und PTD (1 % in Vaseline) getestet und diese beiden Testkammern bereits nach 45 Minuten entfernt.

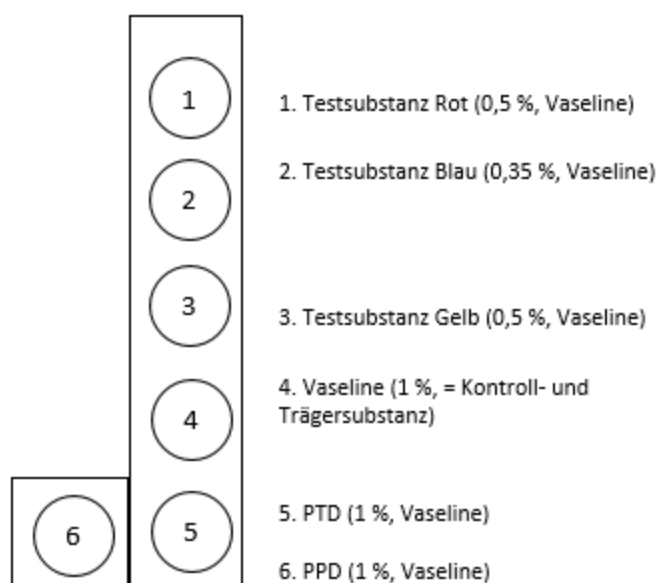


Abbildung 4 Experimentelle ECT-Substanzen nach Studienprotokoll 2

Anbei drei Fotos der starken Reaktionen nach Studienprotokoll 1, die zur Protokolländerung führten.



*Abbildung 5 Starke Reaktion Proband AU01 nach 72 h*



*Abbildung 6 Starke Reaktion Probandin AU05 nach 49 h*

Die Testung erfolgte wie bei einer routinemäßigen ECT-Testung. Der Ablauf der Studie umfasste klar festgelegte Abläufe. Innerhalb einer Woche wurden die Probandinnen und Probanden zu verschiedenen Klinikbesuchen eingeteilt. Die Vorstellung erfolgte hierbei jedes Mal in der Hautklinik in Graz. Der Ablauf gestaltete sich wie folgt:

Der 1. Tag (1. Visite) umfasste die Applikation des Epikutantest. Am dritten Tag (2. Visite) wurden alle Testkammern entfernt und bei starken Reaktionen eine Kortisoncreme (Diproderm®) aufgetragen. Am 4. Tag (3. Visite), 72 h nach dem Applizieren, kamen die Probandinnen und Probanden zum dritten vereinbarten Fixtermin zur Kontrolle und Endablesung.

Eine optionale Visite erfolgte nach 24 Stunden, nach 96 Stunden und nach 144 Stunden. Im Anschluss an die Teilnahme erfolgte nach im Schnitt 2 Wochen ein abschließendes Telefongespräch.

#### ***4.4 Typische positive Reaktionen bei Testung***

Klinisch manifestiert sich eine positive Testreaktion durch eine ekzematöse Hautreaktion bis zum Zeitpunkt der ersten Ablesung nach 48 Stunden oder nach weiteren 24 bis 48 Stunden.

Bei den Probandinnen und Probanden wurde aufgrund der bekannten Sensibilisierung auf PPD und/oder PTD eine erneute positive Reaktion auf diese erwartet. Währenddessen sollten die Ergebnisse für die anderen 3 Farbmoleküle idealerweise negativ sein.

In der Teilnehmerinformation wurden alle möglichen Reaktionen den Probandinnen und Probanden bereits vorab per Post mitgeteilt. Da alle Teilnehmerinnen und Teilnehmer bereits eine Epikutantestung mit teilweise starken Reaktionen hatten, waren sie sich der potentiellen Risiken bewusst. Bei Bedarf, bei schweren Reaktionen und/oder starkem Juckreiz, bestand für die Probandinnen und Probanden die Möglichkeit der Behandlung mit einer Kortisoncreme (Diproderm®).

#### ***4.5 Verhalten während der Testung***

Die Probandinnen und Probanden wurden aufgefordert, während der Teilnahme an der Studie, im Zeitraum zwischen Visite 1 und 3, das Testareal nicht mit Wasser in Kontakt zu bringen. Zusätzlich sollte auch übermäßiges Schwitzen, zum Beispiel beim Sport, vermieden werden, da dies die Testung beeinflussen könnte. Ab der Entfernung der verbliebenen Testkammern, im Rahmen der 3. Visite (72-Stunden-Ablesung), waren die Teilnehmerinnen und Teilnehmer in ihren täglichen Aktivitäten nicht mehr eingeschränkt und konnten fortan wieder Duschen und Schwimmen.

## **4.6 Nutzen, Risiken und Vergütung der Probandinnen und Probanden bei Teilnahme an der Studie**

### **4.6.1 Nutzen**

Die Studie wurde nicht durchgeführt, um bei den Probandinnen und Probanden eine konkrete diagnostische Aussage zu treffen, sondern vielmehr sollte die Studie als Forschungsprojekt dazu beitragen, mehr Informationen zur Verträglichkeit der 3 experimentellen Farbmoleküle zu gewinnen.

Die Teilnehmerinnen und Teilnehmer bekamen dennoch einerseits Gewissheit über den eigenen Sensibilisierungsgrad und den Umgang mit den entsprechenden Substanzen. Andererseits könnten die Probandinnen und Probanden Haarfärbeprodukte, welche die 3 experimentell getesteten Substanzen enthalten, bei negativer Testung in Zukunft möglicherweise als Alternative anwenden.

### **4.6.2 Risiken**

Für die Probandinnen und Probanden bestand durch die Teilnahme kein wesentliches neues zusätzliches Risiko. Sie konnten mit den bereits bekannten Reaktionen auf PPD und/oder PTD rechnen. Im Vorfeld war es dennoch wichtig über mögliche Symptome, Begleiterscheinungen und/oder Verletzungen aufzuklären. Schwangere (negativer Schwangerschaftstest war Voraussetzung) und stillende Frauen wurden vorsorglich aus der Studie ausgeschlossen. Erst nach Vorlage eines negativen Schwangerschaftstests wurde bei gebärfähigen Frauen der Epikutantest appliziert. Im ärztlichen Aufklärungsgespräch wurde das potentielle Risiko für starke Lokalreaktionen hervorgehoben und das Verhalten bei Symptomen besprochen.

Mögliche Begleiterscheinungen waren:

- Da es sich bei den Testsubstanzen um Farbmoleküle handelte, bestand die Möglichkeit, dass es im Bereich des Testareals zu möglichen Hautverfärbungen kommen konnte.

- Bei positiven Reaktionen bestand die Möglichkeit einer Restpigmentierung bzw. einer postinflammatorischen Pigmentierung der Haut und im äußersten Fall einer Narbenbildung.
- Das Risiko für ein Wiederaufflammen eines vorbestehenden Ekzems oder für eine anaphylaktische Reaktion war aufgrund der geringen Testsubstanzmenge als sehr gering einzustufen.

Alle teilnehmenden Probandinnen und Probanden wurden gebeten, sich im Falle des Auftretens der genannten Symptome so rasch als möglich telefonisch an den zuständigen Studienarzt oder im Notfall an die Klinik zu wenden.

#### **4.6.3 Teilnahme- und Zeitaufwandsentschädigung**

Für die komplette Teilnahme an dieser Studie (mindestens 3 Visiten plus 1 Telefongespräch und bei Bedarf zusätzliche 2 Visiten) erhielten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer eine Zeitaufwands- und Fahrtkostenentschädigung in der Höhe von EUR 200,--.

#### **4.7 Versicherung**

Als Teilnehmerin oder Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung bestand für alle der gesetzlich vorgeschriebene verschuldensunabhängige Versicherungsschutz, der alle Schäden abdeckt, die am Leben oder Gesundheit der Probandinnen und Probanden durch die an Ihnen durchgeführten Maßnahmen der klinischen Prüfung verursacht werden können, mit Ausnahme von Schäden aufgrund von Veränderungen des Erbmateriale in Zellen der Keimbahn.

Die Versicherung wurde für die Teilnehmerinnen und Teilnehmer bei der Tokio Marine Kiln Insurance Limited, Berliner Allee 26, D-40212 Düsseldorf, unter der Polizzennummer 041/4606 abgeschlossen. Für den Versicherungsvertrag war österreichisches Recht anwendbar, die Versicherungsansprüche sind in Österreich einklagbar.

Um den Versicherungsschutz nicht zu gefährden:

- durften die Teilnehmerinnen und Teilnehmer sich während der Dauer der klinischen Prüfung einer anderen medizinischen Behandlung nur im Einvernehmen mit Ihrem behandelnden Prüfarzt unterziehen (ausgenommen waren Notfälle). Dies galt außerdem für die zusätzliche Einnahme von Medikamenten oder die Teilnahme an einer anderen Studie.
- mussten die Probandinnen und Probanden dem behandelnden Prüfarzt oder der oben genannten Versicherungsgesellschaft eine Gesundheitsschädigung, die als Folge dieser klinischen Studie aufgetreten sein könnten, unverzüglich mitteilen.
- mussten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer der Studie alles Zumutbare tun um Ursache, Hergang und Folgen des Versicherungsfalles aufzuklären und den entstandenen Schaden gering zu halten. Dazu gehörte ggf. auch, dass die Teilnehmerinnen und Teilnehmer ihre behandelnden Ärzte ermächtigen, vom Versicherer geforderte Auskünfte zu erteilen.

#### **4.8 Einwilligungserklärung zur Studienteilnahme**

War nach Klärung aller Fragen die Bereitschaft zum Mitmachen vorhanden, musste die Einverständniserklärung von allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern unterschrieben werden. Die Teilnahme zur Studie war freiwillig und die Probandinnen und Probanden hatten jederzeit die Möglichkeit zur Zurücknahme der Einverständniserklärung, auch ohne Angabe von Gründen. Auch bei Abbruch wäre für die Probandinnen und Probanden kein Nachteil entstanden.

Anbei ein Auszug der Einverständniserklärung:

Geb.Datum: .....

Teilnehmernummer: .....

Ich erkläre mich bereit, an der Studie „**Verträglichkeitstestung von drei Farbmolekülen bei Kontaktallergie gegenüber den Haarfarbstoffen p-Phenylendiamin (PPD) und/oder p-Toluyldiamin (PTD)**“ teilzunehmen.

Ich bin von Herrn/Frau ..... ausführlich und verständlich über Ablauf, mögliche Belastungen und Risiken, sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie, und sich für mich daraus ergebenden Anforderungen aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text dieser ProbandInnenaufklärung und Einwilligungserklärung, die insgesamt 9 Seiten umfasst, gelesen.

Aufgetretene Fragen wurden mir vom Studienarzt verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit mich zu entscheiden. Ich habe zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich werde den ärztlichen Anordnungen, die für die Durchführung der Studie erforderlich sind, Folge leisten, behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige Mitwirkung jederzeit zu beenden, ohne dass mir daraus Nachteile für meine weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser Studie ermittelten Daten aufgezeichnet werden. Um die Richtigkeit der Datenaufzeichnung zu überprüfen, dürfen Beauftragte der zuständigen Behörden beim Studienarzt Einblick in meine personenbezogenen Krankheitsdaten nehmen.

Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes (DSGVO) in der geltenden Fassung werden eingehalten.

Eine Kopie dieser Patienteninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt beim Studienarzt.

.....  
(Datum und Unterschrift des Patienten)

*Abbildung 7 Einverständniserklärung*

#### **4.9 Finanzierung des Projektes**

Auftraggeber und Sponsor der Studie war die Firma Kao (Darmstadt, Deutschland), die auch die Finanzierung der Studie übernahm.

#### **4.10 Verantwortliche Projektleiter**

- Principal Investigator: Dr. med. Lukas Koch
- Sub-Investigator: cand. med. Plaschg Karin, BSc BSc MSc
- Sub-Investigator: Univ. Prof. Dr. med. univ. Werner Aberer
- Sub-Investigator: Ao. Univ. Prof. Dr. med. univ. Birger Kränke

#### **4.11 Statistik**

Die Auswertung der erhobenen Studiendaten erfolgte mittels SPSS (IBM SPSS Statistics Version 26). Mittels deskriptiver Statistik wurden die Daten ausgewertet und grafisch in Tabellen und Diagrammen (Balken- und Kreisdiagramme) dargestellt.

Ergebnisse wurden als Median mit Spannweite oder als Mittelwert mit Standardabweichung beschrieben.

## 5 Resultate

### 5.1 Probandinnen und Probandenkollektiv

#### 5.1.1 Alter und Geschlecht

Von den 40 Probandinnen und Probanden waren 38 weiblich (95 %) und 2 männlich (5 %). Dies entspricht einem Verhältnis von 19:1. Ein Großteil der Teilnehmerinnen und Teilnehmer war zwischen 18 und 40 Jahre alt ( $n = 26$ , 65 %). Aufgeteilt in Altersgruppen verteilen sich die Probandinnen und Probanden wie folgt:

- bis 20 Jahre, 15 % ( $n = 6$ )
- zwischen 21 und 30 Jahre, 35 % ( $n = 14$ )
- zwischen 31 und 40 Jahre, 15 % ( $n = 6$ )
- zwischen 41 und 50 Jahre, 12,5 % ( $n = 5$ )
- zwischen 51 und 60 Jahre, 15 % ( $n = 6$ )
- über 60 Jahre, 7,5 % ( $n = 3$ )

Das mittlere Alter der teilnehmenden Probandinnen und Probanden betrug 35,5 Jahre (18 – 62 Jahre) mit einer Standardabweichung von 14,24 Jahren.

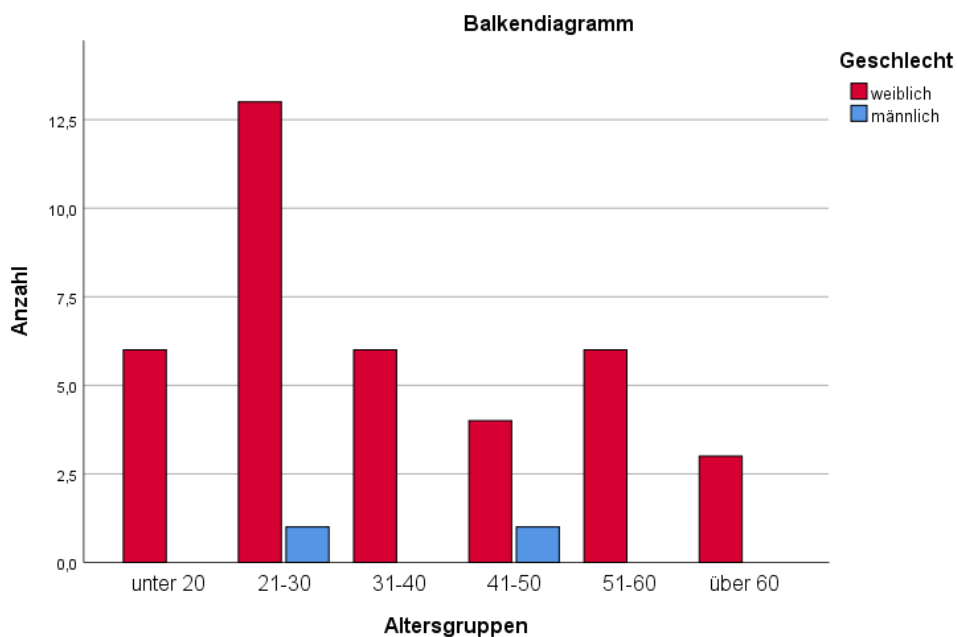


Abbildung 8 Geschlechterspezifische Altersverteilung in Jahren

Die meisten Teilnehmerinnen und Teilnehmer befanden sich in der Altersgruppe zwischen 21 und 30 Jahren mit einem Gesamtanteil von 35 % (n = 14).

Bezüglich der Geschlechtsverteilung ist anzumerken, dass sich die Unterschiede durch das zu untersuchende Allergen erklären lassen. In Europa ist eine Sensibilisierung durch das PPD-Allergen häufiger bei Frauen zu beobachten als bei Männern. Die Begründung liegt im häufigeren Kontakt der Frauen insbesondere beim Haare färben. Die Europäische Kommission hat aufgezeigt, dass im Jahr 2004 rund 2,6 Milliarden Euro alleine durch Haarfärbemittel umgesetzt wurden. Dabei entfallen rund zwei Drittel auf Frauen und es wird vermutet, dass nur jeder zehnte Mann sich seine Haare färbt ([www.europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/06/1047](http://www.europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/06/1047), Zugriff: 06.03.2020). Die Alters- und Geschlechtsverteilung ist im vorhandenen Gesamtkollektiv und im selektionierten Kollektiv nahezu identisch und kann somit als homogen angesehen werden.

### **5.1.2 Wohnbezirk**

Die meisten Probandinnen und Probanden kamen aus dem Bezirk Graz (n = 15, 37,5 %), gefolgt von Graz-Umgebung mit weiteren 6 Personen (15 %). Es folgt Hartberg-Fürstenfeld sowie die Südoststeiermark mit jeweils 4 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (10 %). Jeweils 3 Personen (7,5 %) entfallen auf die Bezirke Leibnitz und Weiz. Aus Deutschlandsberg reisten 2 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (5 %) an und jeweils eine Person (2,5 %) kam aus den Bezirken Bruck-Mürzzuschlag, Leoben sowie Voitsberg.



Abbildung 9 Wohnbezirk der Teilnehmerinnen und Teilnehmer

### 5.1.3 Berufsgruppen

Die Teilnehmerinnen und Teilnehmer übten unterschiedlichste Berufe aus:

- Die größte Gruppe beinhaltet 13 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (32,5 %) und umfasst die Kategorie der Arbeiter. Im Detail wie folgt aufgelistet:
  - Verkäuferin/Verkäufer, 5,0 % (n = 2)
  - Reinigungskraft, 5,0 % (n = 2)
  - Busfahlerin/Busfahrer, 2,5 % (n = 1)
  - Tischlerin/Tischler, 2,5 % (n = 1)
  - Köchin/Koch, 2,5 % (n = 1)
  - Kosmetikerin/Kosmetiker, 2,5 % (n = 1)
  - Friseurin/Friseur, 2,5 % (n = 1)
  - Mechanikerin/Mechaniker, 2,5 % (n = 1)
  - Produktionsmitarbeiterin/Produktionsmitarbeiter, 2,5 % (n = 1)
  - Technikerin/Techniker, 2,5 % (n = 1)
  - Kellnerin/Kellner, 2,5 % (n = 1)

- Die zweitgrößte Gruppe umfasst die Angestellten. Insgesamt belief sich die Anzahl dieser Gruppe auf 11 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (27,5 %) und lässt sich im Detail wie folgt aufgliedern:
  - Büroarbeiterin/Büroarbeiter n. n. bezeichnet, 10,0 % (n = 4)
  - Sekretärin/Sekretär, 10,0 % (n = 4)
  - Telefonistin/Telefonist, 2,5 % (n = 1)
  - Human Resource Management w/m, 2,5 % (n = 1)
  - Grafikdesignerin/Grafikdesigner, 2,5 % (n = 1)
  
- Medizinische Berufe vertreten in dieser Studie die dritthäufigste Gruppe mit einer Anzahl von 7 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (17,5 %). Untergliedert wird diese Kategorie in:
  - Krankenschwester/Krankenpfleger, 12,5 % (n = 5)
  - Massagetherapeutin/Massagetherapeut, 2,5 % (n = 1)
  - Pharmazeutin/Pharmazeut, 2,5 % (n = 1)
  
- Die viertgrößte Gruppe der Probandinnen und Probanden werden mit 10% (n = 4) von den Pensionistinnen und Pensionisten vertreten.
  
- Weitere 3 Teilnehmerinnen und Teilnehmer finden sich in der Gruppe der Pädagogen wieder (n = 3; 7,5 %).
  
- Zum Zeitpunkt der Studie befanden sich 2 (5 %) Probandinnen und Probanden in einer Rehabilitationsmaßnahme.

An dieser Studie nahm nur eine Friseurin (2,5 %) teil, welche auch zum Zeitpunkt der Studie in diesem Beruf tätig war.

## 5.2 Probandinnen und Probandendaten

### 5.2.1 Schwangerschaftstest

Alle weiblichen Probandinnen, welche sich zum Zeitpunkt der Studie im gebärfähigen Alter befanden, wurden vor der ECT-Testung zur Durchführung eines Schwangerschaftstests verpflichtet. Insgesamt wurden vor der ECT-Testung 32 Schwangerschaftstests (80 %) durchgeführt.

		Schwangerschaftstest			
		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	nicht durchgeführt	8	20,0	20,0	20,0
	negativ	32	80,0	80,0	100,0
	Gesamt	40	100,0	100,0	

*Tabelle 5 Durchgeführte Schwangerschaftstests vor der experimentellen ECT-Testung*

6 Teilnehmerinnen (15 %) waren zum Zeitpunkt der Studie laut eigenen Angaben bereits in der Postmenopause und wurden daher auch nicht mehr auf eine mögliche Schwangerschaft getestet. Bei den 2 verbleibenden Teilnehmern wurde aufgrund des männlichen Geschlechts kein Test durchgeführt.

### 5.2.2 Dauermedikation der Teilnehmerinnen und Teilnehmer

11 der 40 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (27,5 %) gaben an, zum Zeitpunkt der Studie unter einer Dauermedikation gestanden zu haben.

AU03	Metformin Amlodipin + Valsartan + Hydrochlorothiazid
AU05	Levothyroxin-Natrium
AU11	Trazodon-Hydrochlorid Levothyroxin-Natrium
AU26	Bisoprolol Amitryptilin-Hydrochlorid Calciumcitrat
AU28	Sertralinhydrochlorid
AU31	Sertralinhydrochlorid Bisoprolol Formoterol
AU32	Bisoprolol Clopidogrel Rosuvastatin
AU37	Pantoprazol Vitamine
AU38	Metoprololsuccinat
AU33 und AU39	Antikontrazeptivum (Wirkstoff nicht eruierbar)

*Tabelle 6 Medikamentenliste der teilnehmenden Probandinnen und Probanden*

Drei Probandinnen und Probanden (7,5 %) litten zum Zeitpunkt der Studie, laut Eigenanamnese, an einer behandlungsbedürftigen Depression. Weitere 4 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (10 %) waren unter der Therapie eines Beta-Blockers. 29 Probandinnen und Probanden (72,5 %) nahmen eigenanamnestisch keine Dauermedikation zum Zeitpunkt der Studie ein.

### **5.2.3 Erste vermutete allergische Reaktion der Teilnehmerinnen und Teilnehmer**

38 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (95 %) gaben an, dass die erste bemerkte allergische Reaktion beim Haarefärben aufgefallen sei. Eine Teilnehmerin (2,5 %) gab an, dass die erste bemerkte Reaktion nach dem Auftragen eines Henna-Tattoos stattgefunden habe und eine Probandin (2,5 %) gab als erstes stattgehabtes Ereignis das Färben der Augenbrauen an. Alle 40 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (100 %) gaben eine stattgehabte allergische Reaktion nach dem Haarefärben bekannt, welche auch in den vorhandenen Ambulanzkarten der Allergieambulanz dokumentiert war.

### **5.2.4 Haarfarbton, welcher die erste allergische Reaktion auslöste**

Die Probandinnen und Probanden wurden zusätzlich befragt, bei welchem Haarfarbton die erste bekannte allergische Reaktion aufgetreten war. Dabei wurde primär gefragt, ob es sich um eine dunkle, mittlere oder helle Haarfarbe handelte. Diesbezüglich äußerten sich die teilnehmenden Probandinnen und Probanden wie folgt:

- Dunkle Haarfarbe, 85,0% (n = 34)
- Mittlere Haarfarbe, 15,0 % (n = 6)
- Helle Haarfarbe, 0 % (n = 0)

Diese 3 Überkategorien wurden daraufhin weiter unterteilt in folgende Unterkategorien. Die meisten Reaktionen traten bei Färbungen mit der Farbe Dunkelbraun auf (n = 14; 35,0 %). 9 Personen (22,5 %) konnten keine genaue Auskunft bezüglich der Farbe mehr tätigen, da es nicht genau erinnerlich war. Die zweithäufigste genannte Farbe war Schwarz (n = 8; 20,0 %). 3 Personen (7,5 %) gaben die Farbe Braun als auslösenden Farbton bekannt und jeweils 2 Personen (5,0 %) die Farben Schwarzblau und Rotbraun. Abschließend gab noch jeweils eine Person (2,5 %) Rot und Rotschwarz bekannt.

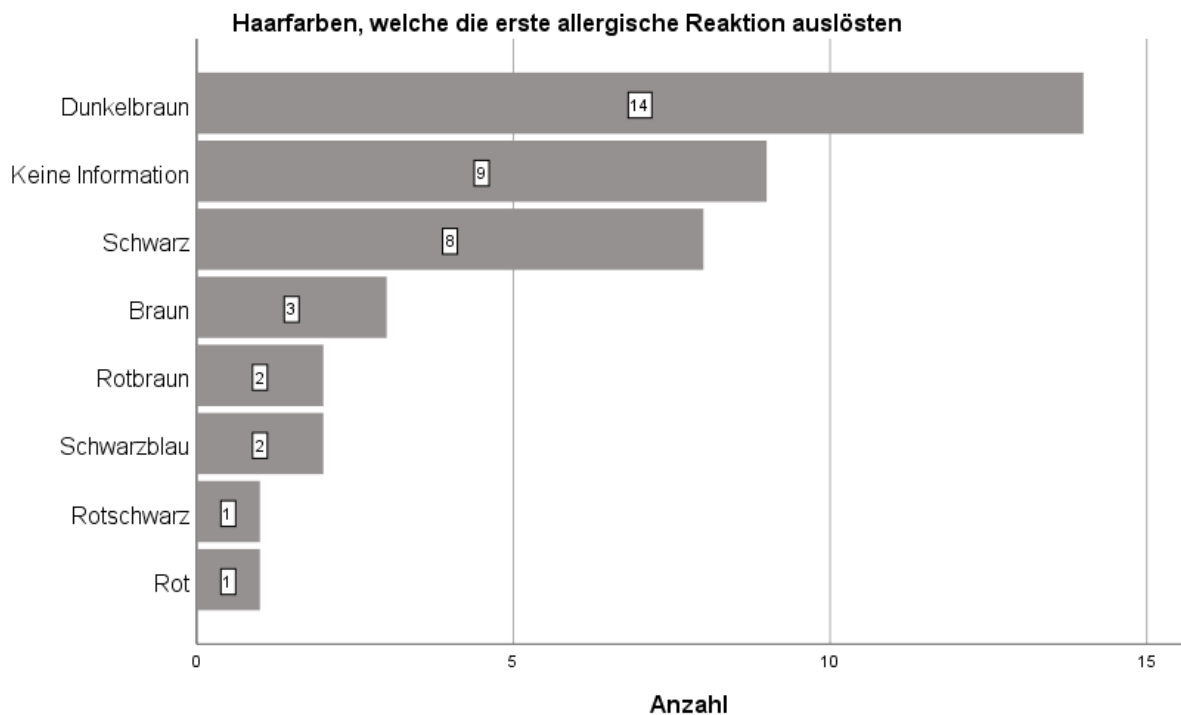


Abbildung 10 Haarfarben, auf welche die Probandinnen und Probanden das erste Mal allergisch reagiert hatten

### 5.2.5 Wurde jemals ein Henna-Tattoo appliziert?

Zusätzlich wurden die Probandinnen und Probanden gefragt, ob sie jemals ein Henna-Tattoo gehabt haben (zum Beispiel im Urlaub). Wurde diese Frage mit ja beantwortet, wurden sie in weiterer Folge befragt, ob dieses Tattoo eine allergische Reaktion bei Ihnen ausgelöst hatte.

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Nein	23	57,5	57,5	57,5
	Ja	17	42,5	42,5	100,0
	Gesamt	40	100,0	100,0	

Tabelle 7 Liste der Probandinnen und Probanden die jemals ein Henna-Tattoo hatten oder nicht

Von diesen 17 Teilnehmerinnen und Teilnehmern (100 %) gaben in weiterer Folge 12 Personen (70,6 %) an, an einer allergischen Reaktion nach Auftragen eines Henna-Tattoos gelitten zu haben. Die restlichen 5 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (29,4 %), konnten sich an keine allergische Reaktion erinnern.

## **5.3 Ergebnisse der ECT-Testungen**

### **5.3.1 45-Minuten-Ablesung**

Zu Beginn der Studie erfolgte bei den Probandinnen und Probanden die erste Ablesung der beiden Stoffe PPD und PTD (bei starkem Juckreiz) frühestens 24 Stunden nach der Applikation des Epikutantest. Laut Studienprotokoll 1 war anfänglich keine 45-Minuten-Ablesung der Stoffe PPD und PTD vorgesehen. Aufgrund einzelner sehr starker Lokalreaktionen wurde das Studienprotokoll nach den ersten 7 Probandinnen und Probanden (17,5 %) geändert. Daraufhin wurden die Testkammern 5 und 6 (PPD und PTD) bei den restlichen 33 Teilnehmerinnen und Teilnehmer bereits nach 45 Minuten wieder entfernt. Bei allen 33 Probandinnen und Probanden (100 %) war die 45-Minuten-Ablesung der Stoffe PPD und PTD negativ. Die Ablesungen wurden fototechnisch dokumentiert. Die restlichen Testkammern 1 bis 4 wurden zu diesem Zeitpunkt nicht abgelesen, diese Kammern blieben verschlossen.

### **5.3.2 24-Stunden-Ablesung (Optional)**

Bei der optionalen 24-Stunden-Abnahme bzw. -Ablesung gab es laut Studienprotokoll 1 eine Ablesung (2,5 %) mit voller Dosis der Stoffe PPD und PTD (1 % in Vaseline) und eine Ablesung (2,5 %) mit der halben Dosis der Stoffe PPD und PTD (0,5 % in Vaseline). Die Vorstellung der 2 Probandinnen (5,0 %) erfolgte nach 20h und 24h aufgrund eines starken Juckreizes.

Probandin AU05 wurde aufgrund einer vorangegangenen +++ positiven Reaktion auf PPD und PTD nur die halbe Dosis (0,5 % in Vaseline) von den Substanzen PPD und PTD in der Testung aufgetragen. Aufgrund eines sehr starken Juckreizes suchte die Probandin die Allergieambulanz bereits nach 20 Stunden zur Ablesung auf. In den Testfeldern 5 und 6 wurde daraufhin bei deutlich positiver Reaktion eine Kortisoncreme (Diproderm®) aufgetragen. Die restlichen Testfelder, Nr. 1 bis inklusive Nr. 4, blieben unberührt. Bei der zweiten Ablesung handelte es sich um Probandin AU07. Bei ihr wurde die volle Dosis der Substanzen PPD und PTD verwendet. Nach 24 Stunden wurde auch hier aufgrund eines massiven

Juckreiz abgelesen und eine Kortisoncreme ebenfalls nur im Bereich der Testfelder 5 und 6 aufgetragen.

Insgesamt wurden 7 Probandinnen und Probanden (17,5 %) zur optionalen 24-Stunden-Ablesung vorstellig. Der Zeitraum für die Ablesungen erstreckte sich von 18 bis 24 Stunden. Dabei handelte es sich um die Probandinnen und Probanden AU05, AU07, AU18, AU27, AU30, AU40 (bei diesen 6 Personen wurde eine Kortisoncreme auf die Testfelder 5 und 6 aufgetragen; 15,0 %) und um Probandin AU20 (keine Kortisoncreme; 2,5 %).

Nach Auflistung aller 24-Stunden-Ablesungen der Substanzen PPD und PTD ergaben sich folgende Reaktionen:

- PPD-Reaktion (0,5 % oder 1 % in Vaseline) nach 24 Stunden
  - ++ positiv 7,5 % 3x
  - + positiv 7,5 % 3x
  - neg. 2,5 % 1x
  
- PTD-Reaktion (0,5 % oder 1 % in Vaseline) nach 24 Stunden
  - + positiv 12,5 % 5x
  - neg. 2,5 % 1x
  - ? 2,5 % 1x

Detailliert lässt sich die 24-Stunden-Ablesung wie folgt darstellen:

Kreuzpositive	Anzahl	Prozent	PPD	PTD
++ positive	2	5,0 %	++ positiv	+ positiv
	1	2,5 %	++ positiv	?
+ positive	3	7,5 %	+ positiv	+ positiv
	1	2,5 %	neg.	neg.
Summe	7	17,5 %		

*Tabelle 8 Darstellung der detaillierten Reaktionen auf PPD und PTD bei der 24-Stunden-Ablesung*

### 5.3.3 48-Stunden-Ablesung

Die 48-Stunden-Ablesung erfolgte bei allen Probandinnen und Probanden. Zu diesem Zeitpunkt wurden alle (verbleibenden) Aluminiumkammern (Finn Chamber®) abgenommen und die Testfelder abgelesen. Die Ablesungen erfolgten im Zeitraum zwischen 43 und 54 Stunden. Es ergaben sich folgende Resultate:

- Testsubstanz Rot (0,5 % in Vaseline) nach 48 Stunden
  - neg. 100 % 40x
- Testsubstanz Blau (0,35 % in Vaseline) nach 48 Stunden
  - neg. 100 % 40x
- Testsubstanz Gelb (0,5 % in Vaseline) nach 48 Stunden
  - neg. 100 % 40x
- Vaseline (pur) nach 48 Stunden
  - neg. 100 % 40x
  
- PPD-Reaktion (0,5 % oder 1 % in Vaseline) nach 48 Stunden
  - +++ positiv 15,0 % 6x
  - ++ positiv 35,0 % 14x
  - + positiv 22,5 % 9x
  - neg. 15,0 % 7x
  - irr. 2,5 % 1x
  - ? 7,5 % 2x
  
- PTD-Reaktion (0,5 % oder 1 % in Vaseline) nach 48 Stunden
  - +++ positiv 10,0 % 4x
  - ++ positiv 15,0 % 6x
  - + positiv 37,5 % 15x
  - neg. 25,0 % 11x
  - ? 10,0 % 3x

Zusammengefasst lassen sich die Reaktionen der 48-Stunden-Ablesung wie folgt detailliert darstellen:

Kreuzpositive	Anzahl	Prozent	PPD	PTD
+++ positive	5	12,5 %	+++ positiv	+++ positiv
	2	5,0 %	+++ positiv	+ positiv
++ positive	6	15,0 %	++ positiv	++ positiv
	7	17,5 %	++ positiv	+ positiv
	1	2,5 %	++ positiv	?
+ positive	5	12,5 %	+ positiv	+ positiv
	3	7,5 %	+ positiv	neg.
	1	2,5 %	+ positiv	?
	1	2,5 %	?	+ positiv
fraglich	1	2,5 %	?	?
irritativ	1	2,5 %	irr.	neg.
negativ	7	17,5 %	neg.	neg.
Summe	40	100,0 %		

*Tabelle 9 Darstellung der detaillierten Reaktionen auf PPD und PTD bei der 48-Stunden-Ablesung*

Keine Reaktion nach 48 Stunden, weder auf PPD noch auf PTD, zeigten insgesamt 7 der teilnehmenden Probandinnen und Probanden (17,5 %).

Bei 22 Teilnehmerinnen und Teilnehmern (55,0 %) wurde aufgrund einer starken Reaktion eine Kortisoncreme (Diproderm®) aufgetragen. Erneut wurde akribisch darauf geachtet, die Kortisoncreme (Diproderm®) nur auf den Testfeldern 5 und 6 aufzutragen (PPD und PTD) und eine Kontamination der Testfelder 1 bis 4 streng zu vermeiden.

### 5.3.4 72-Stunden-Ablesung

Bei der 72-Stunden-Ablesung wurden erneut alle Testfelder (Nr. 1 bis inklusive Nr. 6) aller Probandinnen und Probanden abgelesen. Die Ablesungen erfolgten im Zeitraum zwischen 66 und 81 Stunden. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

- Testsubstanz Rot (0,5 % in Vaseline) nach 72 Stunden
  - **+ positiv**    **2,5 %**        **1x**
  - negativ        97,5 %        39x
- Testsubstanz Blau (0,35 % in Vaseline) nach 72 Stunden
  - negativ        100 %        40x
- Testsubstanz Gelb (0,5 % in Vaseline) nach 72 Stunden
  - negativ        100 %        40x
- Vaseline (pur) nach 72 Stunden
  - negativ        100 %        40x
- PPD-Reaktion (0,5 % oder 1 % in Vaseline) nach 72 Stunden
  - +++ positiv    20,0 %        8x
  - ++ positiv     40,0 %        16x
  - + positiv       25,0 %        10x
  - negativ        12,5 %        5x
- PTD-Reaktion (0,5 % oder 1 % in Vaseline) nach 72 Stunden
  - +++ positiv    12,5 %        5x
  - ++ positiv     17,5 %        7x
  - + positiv       35,0 %        14x
  - negativ        32,5 %        13x

Zusammengefasst lassen sich die Reaktionen der 72-Stunden-Ablesung bezüglich PPD und PTD wie folgt detailliert darstellen:

Kreuzpositive	Anzahl	Prozent	PPD	PTD
+++ positive	6	15,0 %	+++ positiv	+++ positiv
	1	2,5 %	+++ positiv	++ positiv
	2	5,0 %	+++ positiv	+ positiv
++ positive	6	15,0 %	++ positiv	++ positiv
	9	22,5 %	++ positiv	+ positiv
	1	2,5 %	++ positiv	neg.
+ positive	3	7,5 %	+ positiv	+ positiv
	7	17,5 %	+ positiv	neg.
fraglich	2	5,0 %	?	?
negativ	5	12,5 %	neg.	neg.
Summe	40	100,0 %		

*Tabelle 10 Darstellung der detaillierten Reaktionen auf PPD und PTD nach der 72-Stunden-Ablesung*

Bei 16 Probandinnen und Probanden (40,0 %) wurde aufgrund einer starken Reaktion eine Kortisoncreme (Diproderm®) auf den Testfeldern 5 und/oder 6 aufgetragen. Gar keine Reaktion, weder auf PPD noch auf PTD, zeigten zu diesem Zeitpunkt insgesamt 5 Probandinnen und Probanden (12,5 %).

Auffallend in der 72-Stunden-Ablesung war eine einzige + positive Reaktion auf Testsubstanz Rot (0,5 % in Vaseline) bei Probandin AU20. Auf diesen Befund wird in Kapitel 5.3.8 detailliert eingegangen.

### **5.3.5 96-Stunden und 144-Stunden-Ablesung (Optional)**

Zu den weiteren optionalen Visiten erschienen lediglich 2 Probandinnen (5 %). Eine Probandin (AU20) wurde aufgrund einer + positiven Reaktion der Testsubstanz Rot (0,5 % in Vaseline) in der 72-Stunden-Ablesung zu einer neuerlichen Begutachtung in die Hautklinik einberufen. Die Probandin erschien nach 142 h und es zeigte sich eine ++ positive Reaktion auf die Substanz. Die Probandin gab jedoch keinerlei Juckreiz oder sonstige Symptome an.

Bei der zweiten Teilnehmerin (AU35) wurde in der 72-Stunden-Ablesung ein leichtes Erythem in den Testfeldern Nr. 1 bis 3 festgestellt, daher wurde eine neuerliche Kontrolle nach 96 h vereinbart. Die Probandin erschien nach 95 h und es zeigte sich im Testfeld Nr. 6 und Nr. 2 ein Erythem, jedoch keinerlei Infiltrat, Papeln oder Bläschen, sodass von einer Irritation bzw. Färbung durch die Testsubstanzen ausgegangen wurde.

### **5.3.6 Telefongespräche**

Im Schnitt erhielten die Probandinnen und Probanden 3 Wochen (14-28 Tage) nach der Testung einen Telefonanruf. Die Teilnehmerinnen und Teilnehmer wurden befragt, ob seit der letzten Visite vor Ort eine zusätzliche Reaktion in den ersten 4 Testfeldern aufgefallen sei. 39 Probandinnen und Probanden (97,5 %) gaben keinerlei Hautveränderungen in den Testfeldern bekannt. Die eine Reaktion (2,5 %) war die bereits bekannte positive Reaktion im Testfeld 1 der Probandin AU20, Testfelder 2-4 zeigten auf Nachfrage keine Hautveränderungen.

### 5.3.7 Nebenwirkungen innerhalb der Studie

Hoch-allergische Probandinnen und Probanden erlitten eine neuerliche positive Reaktion auf PPD und/oder PTD. Es kam jedoch zu keinen schwerwiegenden Nebenwirkungen im Sinne eines Infekts, einer anaphylaktischen Reaktion, einer Hospitalisierung oder eines Todesfalls.

### 5.3.8 Probandin AU20

Testsubstanz Rot wurde bei der Probandin AU20 in der 72-Stunden-Ablesung positiv getestet. Es zeigte sich eine + positive Reaktion (einzelne konfluierende Papeln) sowie eine (durch die Probandin) fotodokumentierte + positive Reaktion auch nach 96 und 120 Stunden. Zusätzlich zeigte sich eine ++ positive Reaktion (konfluierende Papeln und mehrere Papulovesikel) nach 142 Stunden in der Ablesung vor Ort. In der Fotodokumentation zeigt sich eine eindeutige Crescendo-Symptomatik, welche eine allergische Reaktion bestätigte und eine irritative Reaktion unwahrscheinlich machte.

Es traten keine Reaktionen auf Testsubstanz Blau und Testsubstanz Gelb oder auf die Kontrollsubstanz Vaseline auf.

Nachfolgend werden die fotodokumentierten Reaktionen der Probandin AU20 auf die Testsubstanz Rot dargestellt:



*Abbildung 11 Reaktion AU20 auf  
Testsubstanz Rot nach 48 h: negativ*



*Abbildung 12 Reaktion AU20 auf  
Testsubstanz Rot nach 72 h: + positiv*



*Abbildung 13 Reaktion AU20 auf  
Testsubstanz Rot nach 96 h: + positiv*



*Abbildung 14 Reaktion AU20 auf  
Testsubstanz Rot nach 120 h: + positiv*



*Abbildung 15 Reaktion AU20 auf  
Testsubstanz Rot nach 142 h: ++ positiv*



Abbildung 16 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 48 h



Abbildung 17 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 72 h



Abbildung 18 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 96 h



Abbildung 19 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 120 h



Abbildung 20 Reaktion AU20 auf alle Testfelder nach 142 h

Die Fotodokumentation nach 96 und 120 Stunden erfolgte von der Probandin AU20 selbst.

## 6 Diskussion und Interpretation

### 6.1 Diskussion

#### Alters- und Geschlechtsverteilung

Das Durchschnittsalter betrug im für die Studie selektionierten Kollektiv 35,5 Jahre (Standardabweichung 14,2) und im Gesamtkollektiv der historisch PPD- oder PTD-getesteten Personen 37,3 Jahre (Standardabweichung 15,7). Die weiblichen Probandinnen waren mit durchschnittlich 35,3 Jahren jünger als die männlichen Probanden mit 38,5 Jahren.

Im selektionierten Kollektiv (in Klammer der Unterschied zum Gesamtkollektiv der Allergieambulanz) war der Anteil der 21- bis 30-Jährigen von 35 % (-1 %) der größte. Es folgten jeweils mit 15 % die Gruppe der unter 20-Jährigen (+3 %), die 31- bis 40-Jährigen (-2 %) und die 51- bis 60-Jährigen (-4 %). 12,5 % (+5,5%) entfielen auf die 41- bis 50-Jährigen und nur noch 7,5 % (-1,5 %) entfielen auf die über 60-Jährigen. Somit entsprach das Testkollektiv hinsichtlich des Probandinnenalters dem Gesamtkollektiv.

Bei den teilnehmenden Personen betrug der männliche Anteil wie auch im Gesamtkollektiv der Allergieambulanz 5 %. Der geringe Anteil der männlichen Probanden lässt sich aufgrund der zu untersuchenden Allergene erklären.

### Fehlende Reaktionen auf PPD und/oder PTD

Bei der 48-Stunden-Ablesung zeigten 7 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (15 %) keine Reaktion auf PPD und PTD. Das umfasste die Probandinnen und Probanden AU13, AU26, AU31, AU33, AU35, AU36 und AU39. Bei der 72-Stunden-Ablesung zeigten immer noch 5 Probandinnen und Probanden (12,5 %) keine Reaktion auf PPD und PTD. Dazu zählten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer AU13, AU26, AU31, AU35 und AU36.

Diese negativen Ergebnisse, bei bekannter Allergie gegen PPD und PTD, lassen sich aufgrund der geringeren Einwirkzeit von PPD und PTD im Vergleich zu einer Routinetestung (45 Minuten anstatt 48 Stunden) sehr gut erklären.

Hinzu kommt, dass die Sensitivität des Epikutantests für manche Allergene nur 70 % beträgt und daher falsch-negativ getestete Personen in der Gruppe der teilnehmenden Probandinnen und Probanden nicht komplett ausgeschlossen werden können (Diepgen & Coenraads, 1999).

### Reaktion der Probandin AU20

Das auffallendste der gesamten Studie war die (nicht erwartete) einzelne positive Testreaktion gegenüber der Testfarbe Rot bei Probandin AU20 und es stellt sich die Frage nach der Bedeutung dieser Reaktion. Zur Erklärung dieser positiven Reaktion gibt es folgende Möglichkeiten:

Die Probandin AU20 könnte bereits im Vorfeld Kontakt mit der Testsubstanz gehabt haben und es handelt sich hierbei um eine genuine, stattgehabte Sensibilisierung auf Testsubstanz Rot. Eine Auskunft des Sponsors darüber, ob diese Substanz bereits im Umlauf ist, könnte Klarheit bringen.

Es könnte sich um eine iatrogene de-novo-Sensibilisierung auf Testsubstanz Rot handeln. Diese ist prinzipiell möglich, aber als eher unwahrscheinlich anzusehen, da die Reaktion bereits nach 72 Stunden (3 Tagen) sichtbar war und iatrogene Sensibilisierungen durch eine Epikutantestung üblicherweise erst nach 10-14

Tagen sichtbar werden (Schnuch et al., 2008). Bei einer Reexposition sollte in diesem Fall die Reaktion dann schon weitaus früher auftreten.

Die positive Reaktion könnte auch durch eine Kreuzreaktion zu einem bekannten Allergen ausgelöst worden sein:

Insgesamt ist zu erwähnen, dass eine Kreuzreaktion der drei neuen Farbmoleküle zu PPD und/oder PTD als sehr unwahrscheinlich gilt, da die chemische Struktur dies eher nicht erwarten lässt und auch nur eine positive Reaktion unter 40 Teilnehmerinnen und Teilnehmern erfolgte.

In einem vorab durchgeführten Epikutantest zeigte die Probandin AU20 zusätzlich Sensibilisierungen gegen p-Aminophenol (+++ positiv) und 3-Aminophenol (+++ positiv). Aufgrund der strukturell ähnlichen Verbindung von PPD, PTD, p-Aminophenol sowie 3-Aminophenol, wurde an eine mögliche Kreuzreaktion gedacht. Kreuzallergische Beziehungen zwischen diesen vier Substanzen wurden bereits in diversen Studien belegt (Benezra et al., 1989).

Bei Durchsicht der vorab durchgeführten ECT-Testungen aller 40 Probandinnen und Probanden, wiesen 25 der 40 Probandinnen und Probanden (62,5 %) eine positive Sensibilisierung gegen p-Aminophenol auf und 15 der 40 Probandinnen und Probanden (37,5 %) eine positive Sensibilisierung gegen 3-Aminophenol. Aufgrund der solitären positiven Testreaktion der Probandin AU20 auf Testsubstanz Rot ist deshalb eine Kreuzreaktion zu p-Aminophenol und 3-Aminophenol jedoch ebenfalls unwahrscheinlich.

Eine weitere mögliche Erklärung wäre eine Kreuzreaktion zu einem unbekanntem Allergen: Dies ist schwierig zu beurteilen, da bei Probandin AU20 bisher nur Epikutantestergebnisse der Standard- und Friseurreihe vorliegen. Die Auswahl und Applikation der Testsubstanz wird generell durch die Anamnese geleitet, d. h. es werden nur diejenigen Expositionen berücksichtigt, die durch die Anamnese ermittelt wurden (vgl. Schnuch et al. 2008). Hermann-Kunz (2000) geht zusätzlich davon aus, dass bei einigen Allergieformen ein Teil der Betroffenen keinen Arzt aufsuchen und somit eine Diagnose folglich nicht gestellt werden kann. Die Hypothese einer möglichen Kreuzreaktion zu einem unbekanntem Allergen ist letztlich nicht zu beurteilen, und lediglich eine Auskunft durch die Firma könnte

weiterhelfen, ob die Testsubstanz Rot eine chemische Ähnlichkeit mit einem der anderen Kontaktallergen hat.

Eine weitere Möglichkeit, die in Betracht gezogen werden sollte, ist eine „falsch-positive“ Reaktion. Hier gibt es wiederum 2 Möglichkeiten, eine irritative Reaktion die fälschlich als positiv gewertet wurde bzw. eine falsch-positive allergische Reaktion z.B. durch Kontamination.

Aufgrund eines eindeutigen Infiltrates und der dokumentierten Crescendosymptomatik im zeitlichen Verlauf kann eine irritative Reaktion, welche fälschlich als positive allergische Reaktion gewertet worden wäre, ausgeschlossen werden.

Durch eine sorgfältige Arbeitsweise wurde auf eine mögliche Kontamination oder Verwechslung der Testsubstanzen (insbesondere mit PPD oder PTD) sehr genau geachtet und eine solche kann deshalb nach menschlichem Ermessen weitestgehend ausgeschlossen werden. Bei einer fälschlichen Kontamination mit PPD und/oder PTD wäre außerdem eine zeitlich frühere Reaktion zu erwarten gewesen.

Eine Reexposition von Probandin AU20 mit der Testsubstanz Rot könnte wichtige Informationen liefern. Bei fehlender Reproduzierbarkeit könnte das solitäre positive Testergebnis auf Testsubstanz Rot in Frage gestellt werden und zum Beispiel auf eine falsch-positive Reaktion im Sinne einer Kontamination hinweisen. Eine mögliche (aktuelle) iatrogene Sensibilisierung könnte bei fehlender Reproduzierbarkeit zusätzlich ausgeschlossen werden.

Eine zeitlich frühere Reaktion könnte eine (aktuelle) iatrogene Sensibilisierung vermuten lassen, wohingegen eine neuerliche späte Reaktion eine Spätreaktion bestätigen würde.

## **6.2 Interpretation**

Zusammenfassend konnte eine hervorragende Verträglichkeit der drei Testsubstanzen bzw. der drei getesteten Farbmoleküle in gegenüber PPD und PTD allergischen Patienten gezeigt werden. Nach oben beschriebener neuerlicher Testung der Testsubstanz Rot könnten die drei Testsubstanzen in Zukunft durchaus alternative Haarfarbmoleküle darstellen. Weitere Testungen, insbesondere die Testung fertiger Haarfärbeprodukte, in der auch weitere Moleküle wie Kuppler vorhanden sind, ist anzustreben.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Armstrong DK, Jones AB, Smith HR, Ross JS, White IR, Rycroft RJ, McFadden JP. Occupational sensitization to p-phenylenediamine: a 17-year review. *Contact Dermatitis* 1999; 41(6):348–349.
2. Belsito DV. The diagnostic evaluation, treatment, and prevention of allergic contact dermatitis in the new millennium. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105(3):409–420.
3. Belton AL, Chira T. Fatal anaphylactic reaction to hair dye. *Am J Forensic Med Thaol.* 1997; 18(3):290–292.
4. Benezra C, Sigman CC, Bagheri D, Helmes CT, Maibach HI. A systemic search for structure-activity relationships of skin contact sensitizer.II: Papa-phenylenediamines. *Semin Derm.* 1989; 8:88–93.
5. Blömeke B, Pot LM, Coenraads PJ, Hennen J, Kock M, Goebel C. Cross-elicitation responses to 2-methoxymethyl-p-phenylenediamine under hair dye use conditions in p-phenylenediamine-allergic individuals. *Br J Dermatol.* 2015; 172(4):976–980.
6. Bowling JC, Groves R. An unexpected tattoo. *Lancet* 2002; 359:649.
7. Commission bans 22 hair dye substances to increase consumer safety. [Stand 06.03.2020]. Verfügbar unter: [www.europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/06/1047](http://www.europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/06/1047)
8. Conde-Salazar L, Baz M, Guimaraens D, Cannavo A. Contact dermatitis in hairdressers: patch test results in 379 hairdressers (1980-1993). *Am J Contact Dermat* 1995; 6:19–23.
9. Coombs RRA, Gell PGH. The classification of allergic reaction underlying disease. *Clinical aspects of immunology* 1963; 317-337.
10. Corbett JF, Menkart J. Hair coloring. *Cutis* 1973; 12:190–197.
11. Diepgen TL, Naldi L, Bruze M, Cazzaniga S, Schuttelaar ML, Elsner P, Goncalo M, Ofenloch R, Svensson A. Prevalence of Contact Allergy to p-Phenylenediamine in the European General Population. *Journal of Investigative Dermatology* 2016; 136:409–415.

12. Diepgen TL & Coenraads PJ. The epidemiology of occupational contact dermatitis. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72(8): 496–506.
13. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G\*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods* 2009; 41:1149–1160.
14. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G\*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods* 2007; 39:175–191.
15. Fransway AF, Zug KA, Belsito DV, Deleo VA, Fowler JF Jr, Maibach HI, Marks JG, Mathias CG, Pratt MD, Rietschel RL, Sassevielle D, Storrs FJ, Taylor JS, Warshaw EM, Dekoven J, Zirwas M. North American Contact Dermatitis Group patch test results for 2007-2008. *Dermatitis* 2013; 24(1):10–21.
16. Fukunaga T, Kawagoe R, Hozumi H, Kanzaki T. Contact anaphylaxis due to para-phenylenediamine. *Contact Dermatitis* 1996; 35(3):185–186.
17. G\*Power 3.1 Manual, 2014. [http://www.gpower.hhu.de/fileadmin/redaktion/Fakultaeten/Mathematisch-Naturwissenschaftliche\\_Fakultaet/Psychologie/AAP/gpower/GPowerManual.pdf](http://www.gpower.hhu.de/fileadmin/redaktion/Fakultaeten/Mathematisch-Naturwissenschaftliche_Fakultaet/Psychologie/AAP/gpower/GPowerManual.pdf). [Online] 2014.
18. Gottlöber P, Gall H, Bezold G, Peter RU. Allergische Kontaktdermatitis bei Friseurkunden. *Hautarzt* 2001; 52:401–404.
19. Guerra L, Tosti A, Bardazzi F, Pigatto P, Lisi P, Santucci B, Valsecchi R, Schena D, Angelini G, Sertoli A et al. Contact dermatitis in hairdressers: the Italian experience. *Gruppo Italiano Ricerca Dermatiti da Contatto e Ambientali. Contact Dermatitis* 1992; 26(2):101–107.
20. Hermann-Kunz E. Allergische Krankheiten in Deutschland - Ergebnisse einer repräsentativen Studie. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 2000; 43:400–406
21. Jappe U, Hausen BM, Petzoldt D. Erythema-multiforme-like eruption and depigmentation following allergic contact dermatitis from a paint on henna tattoo, due to para-phenylenediamine contact hypersensitivity. *Contact Dermatitis* 2001; 45:249–250.

22. Jowett S, Ryan T. Skin disease and handicap: an analysis of the impact of skin conditions. *Soc Sci Med.* 1985; 20(4):425–429.
23. Kapsenberg ML, Wierenga EA, Stiekema FE, Tiggeleman AM, Bos JD. Th1 lymphokine production profiles of nickel-specific CD4+T-lymphocyte clones from nickel contact allergic and non-allergic individuals. *J Invest Dermatol.* 1992; 98(1):59–63.
24. Kirchlechner S, Hübner A, Uter W. Survey of sensitizing components of oxidative hair dyes (retail and professional products) in Germany. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2016; 14(7):707–715.
25. Koopmans AK, Bruynzeel DP. Is PPD a useful screening agent? *Contact Dermatitis* 2003; 48:89–92.
26. Kripke ML, Munn CG, Jeevan A, Tang JM, Bucana C. Evidence that cutaneous antigen-presenting cells migrate to regional lymph nodes during contact sensitization. *J Immunol.* 1990; 145(9):2833–2838.
27. Le Coz CJ, Lefebvre C, Keller F, Grosshans E. Allergic contact dermatitis caused by skin painting (pseudotattooing) with black henna, a mixture of henna and paraphenylenediamine and its derivatives. *Arch Dermatol.* 2000; 136:1515–1517.
28. Li Q, Inagaki H, Minami M. Evaluation of cross-sensitization among dye-intermediate agents using a modified lymphocyte transformation test. *Arch Toxicol.* 1996; 70:414–419.
29. Lynde CW, Mitchell JC. Patch test results in 66 hairdressers 1973-81. *Contact Dermatitis* 1982; 8(5):302–307.
30. Marconi PM, Campagna G, Fabri G, Schiavino D. Allergic contact dermatitis from colour developers used in automated photographic processing. *Contact Dermatitis* 1999; 40:109.
31. Marks JG Jr, Belsito DV, DeLeo VA, Fowler JF Jr, Fransway AF, Maibach HI, Mathias CG, Pratt MD, Rietschel RL, Sherertz EF, Storrs FJ, Taylor JS. North American Contact Dermatitis Group patch-test results, 1996-1998. *Arch Dermatol.* 2000; 136(2):272–273.
32. Mavroleon G, Begishvili B, Frew AJ. Anaphylaxis to hair dye: a case report. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(1):121–122.

33. Meding B, Swanbeck G. Consequences of having hand eczema. *Contact Dermatitis* 1990; 23(1):6–14.
34. Meding B, Swanbeck G. Epidemiology of different types of hand eczema in an industrial city. *Acta Derm Venerol.* 1989; 69(3):227–233.
35. Moritz K, Wöhr St. Typ IV Allergien - allergisches Kontaktekzem. *Themenheft Allergien* 2009; 63/950a:34–37.
36. Mortz CG, Andersen KE. Allergic contact dermatitis in children and adolescents. *Contact Dermatitis* 1999; 41:121–130.
37. Nethercott JR, Holness DL, Adams RM, Belsito DV, DeLeo VA, Emmett EA, Fowler JF Jr, Fisher AM, Larsen WG, Maibach HI, Marks JG Jr, Reitschel RL, Rosenthal L, Schorr FJ, Taylor JS. Multivariate analysis of the effect of selected factors on the elicitation of patch test response to 28 common environmental contactants in North America. *American Journal of contact dermatitis* 1994; 5(1):13–18.
38. Nethercott JR, MacPherson M, Choi BC, Nixon P. Contact dermatitis in hairdressers. *Contact Dermatitis* 1986; 14(2):73–79.
39. Nielsen NH, Linneberg A, Menne T, Madsen F, Frolund L, Dirksen A, Jorgensen T. Allergic contact sensitization in an adult Danish population: two cross-sectional surveys eight years apart (the Copenhagen Allergy Study). *Acta Derm Venerol.* 2001; 81(1):31–34.
40. Özkaya-Bayazit E, Özarmagan G, Brehler R. Das Friseur ekzem. *Dermatosen* 1997; 45(5):214–220.
41. Peters KP, Frosch PJ, Uter W, Schnuch A, Arnold R, Bahmer F. Typ IV-Allergien auf Friseurberufsstoffe. *Dermatosen* 1994; 42:50–57.
42. Picardo M, Cannistraci C, Cristaudo A, De Luca C, Santucci B. Study on crossreactivity to the para group. *Dermatologica* 1990; 181:104–108.
43. Rastogi SC, Sosted H, Johansen JD, Menne T, Bossi R. Unconsumed precursors and couplers after formation of oxidative hair dyes. *Contact Dermatitis* 2006; 55(2):95–100.
44. Riemann H, Schwarz Th, Grabbe St. Pathomechanismen der Auslösephase der allergischen Kontaktdermatitis. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2003; 613–619.

45. Robinson MK. Population differences in skin structure and physiology and the susceptibility to irritant and allergic contact dermatitis: implications for skin safety testing and risk assessment. *Contact Dermatitis* 1999; 41(2):65–79.
46. Schnuch A, Aberer W, Agathos M, Becker D, Brasch J, Elsner P, Frosch PJ, Fuchs Th, Geier J, Hillen U, Löffler H, Mahler V, Richter G, Szliska C. Durchführung des Epikutantests mit Kontaktallergenen. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 2008; 9: 770–775.
47. Schnuch A, Aberer W, Agathos M, Brasch J, Frosch PJ, Fuchs Th, Richter G. Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG) zur Durchführung des Epikutantests mit Kontaktallergenen. *Der Hausarzt* 2001; 10(1):864–866.
48. Schnuch A, Brasch J, Uter W. Polysensitization and increased susceptibility in contact allergy: a review. *Allergy* 2008; 63:156–167.
49. Schnuch A, Geier J, Lessmann H, Uter W. Untersuchung zur Verbreitung umweltbedingter Kontaktallergien mit Schwerpunkt im privaten Bereich. *WaBoLu* 01/04 2004.
50. Schnuch A, Uter W. Die Verbreitung des Kontaktekzems in der Allgemeinbevölkerung und in verschiedenen Berufen. In: Schultze Werninghaus G., Fuchs T., Bachert C., Wahn U. *Manuale allergologicum*. 2004; 5:297–345.
51. Schnyder B, Mauri-Hellweg D, Zanni M, Bettens F, Pichler WJ. Direct MHC-dependent presentation of the drug sulfamethoxazole to human alphabeta T cell clones. *J Clin Invest*. 1997; 100(1):136–141.
52. Schuttelaar ML, Dittmar D, Burgerhof JGM, Blomeke B, Goebel C. Cross-elicitation responses to 2-methoxymethyl-p-phenylenediamine in p-phenylenediamine-allergic individuals: Results from open use testing and diagnostic patch testing. *Contact Dermatitis* 2018.
53. Shapiro M, Mowad C, James WD. Contact dermatitis due to printers ink in a milk industry employee case report and review of the allergen paraphenylenediamine. *Am J Contact Dermat*. 2001; 12(2):109–112.

54. Sieben S, Kawakubo Y, Al Masaoudi T, Merk HF, Blomeke B. Delayed-type hypersensitivity reaction to paraphenylenediamine is mediated by 2 different pathways of antigen recognition by specific alphabeta human T-cell clones. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109(6):1005–1011.
55. Sornin de Leysat C, Boone M, Blondeel A, Song M. Two cases of cross-sensitivity in subjects allergic to paraphenylenediamine following ingestion of Polaronil. *Dermatology* 2003; 206(4):379–380.
56. Sosted H, Rustemeyer Th, Goncalo M, Bruze M, Goossens A, Gimenez-Arnau AM, Le Coz CJ, White IR, Diepgen TL, Andersen KE, Agner T, Maibach H, Menne T, Johansen JD. Contact allergy to common ingredients in hair dyes. *Contact Dermatitis* 2013; 69(1):32–39.
57. Uter W, Lessmann H, Geier J, Becker D, Fuchs T, Richter G. Die Epikutantestung mit "Parastoffen". *Dermatol Beruf Umwelt* 2002; 50:97–104.
58. Vocanson M, Naisbitt D, Nicolas JF. Current perspective of theetiopathogenesis of delayed-type, and T cell-mediated drug related skin diseases. *Journal of Allergy andClinical Immunology* 2020.
59. Wöhrl S, Hemmer W, Focke M, Götz M, Jarisch R. Patch testing in children, adults, and the elderly: influence of age and sex on sensitization patterns. *Pediatric Dermatology* 2003; 20(2):119–123.
60. Wulferink M, Dierkes S, Gleichmann E. Cross-sensitization to haptens: formation of common haptenic metabolites, T cell recognition of cryptic peptides, and true T cell crossreactivity. *Eur J Immunol.* 2002; 32:1338–1348.
61. Zahir A, Kindred C, Blämeke B, Goebel C, Gaspari AA. Tolerance to a Hair Dye Product Containing 2-Methoxymethyl-P-Phenylenediamine in an Ethnically Diverse Population of P-Phenylenediamine-Allergic Individuals. *Dermatitis* 2016; 27(6):355–361.
62. Zanni MP, Greyerz S, Schnyder B, Brander KA, Frutig K, Hari Y, Valitutti S, Pichler WJ. HLA-restricted, processing- and metabolism-independent pathway of drug recognition by human alpha beta T lymphocytes. *J Clin Invest.* 1998; 102(8):1591–1598.

# Anhang

APPENDIX 6

10.01.2019  
Version 1

Subject n°: / / / / /

Study No.....

## CASE REPORT FORM

### Verträglichkeit von drei Farbmolekülen

Tolerability of three colorant molecules

Age:..... Sex: .....

Occupation:.....

Diagnosis:.....

Diagnostic patch test reactions to: PPD: .....(date and result)

Diagnostic patch test reactions to: PTD: .....(date and result)

Concomitant medication (if any).....

.....

Exclusion criteria (if any) .....

Presumed cause of contact sensitivity to PPD/PTD .....

Previous allergic reactions to hair dyes: Yes  No

Was it an oxidation hair dye (mixture of 2 components: a hair colourant + a developer)? Yes  No  Does not remember

Shade of hair dye having caused adverse reaction .....

Light shade  Medium shade  Dark shade

Did the subject ever obtain a black henna tattoo? Yes  No

If yes, has he had a reaction at tattoo site? Yes  No

*NB. It is obligatory to fill in the responses to all the headings in black.*

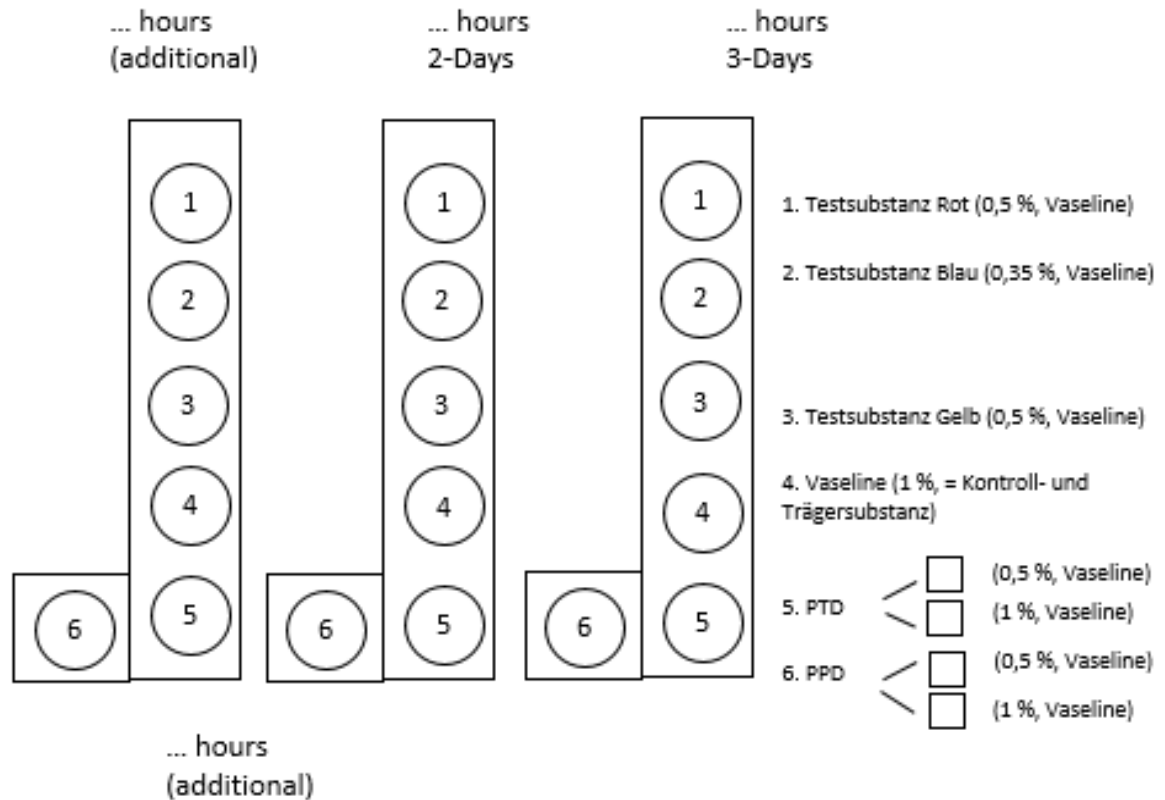
**APPENDIX 6**

Subject n°: / / / / /

12.02.2019  
Version 1.1

Study No.....

**Test reading (patch test on inner arm)**



Test reading after 2 and 3 days are mandatory. Earlier and later readings are supplementary.

**Possible test readings:**

- neg = negative
- + = +-positive
- ++ = ++-positive
- +++ = +++-POSITIVE
- irr = irritant
- ? = doubtful

For test readings, the criteria of the DKG (Deutsche Kontaktallergie-Gruppe) are used.

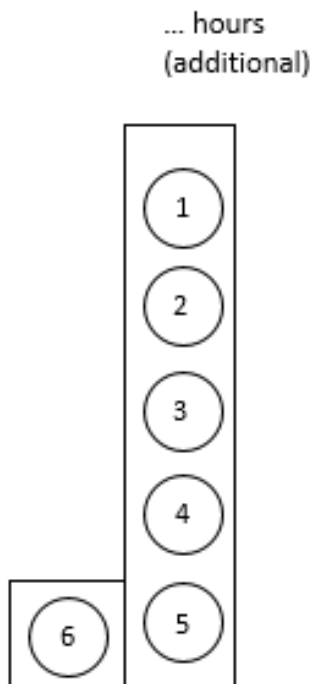
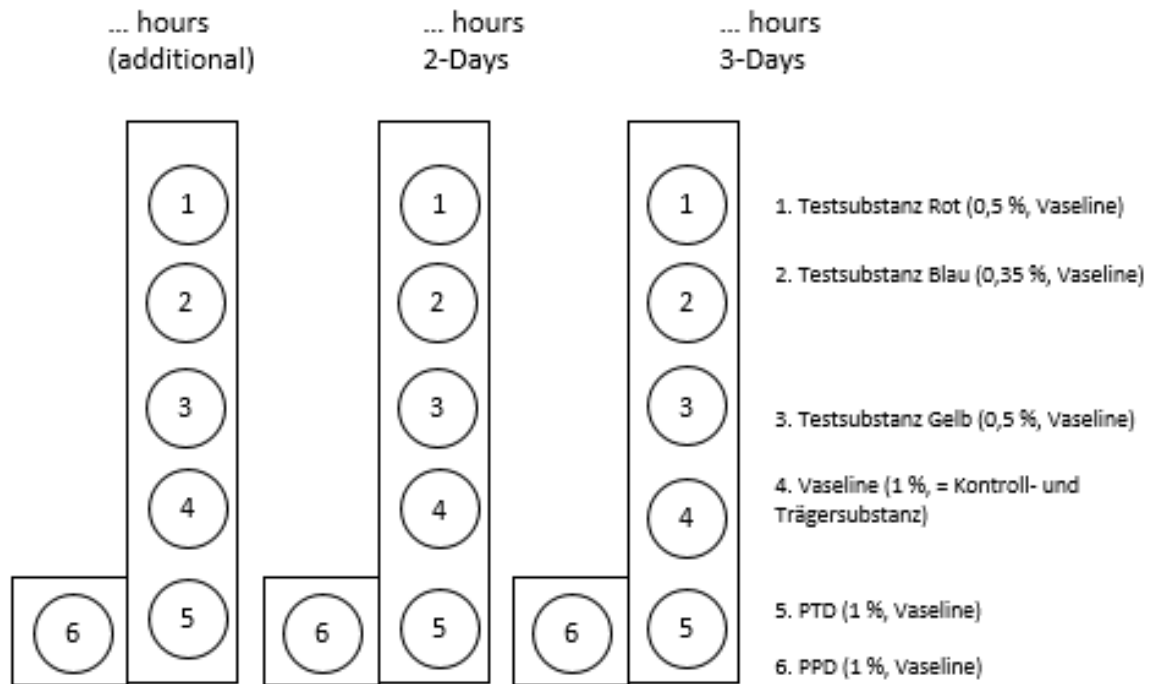
**APPENDIX 6**

Subject n°: / / / / /

14.05.2019  
Version 1.2

Study No.....

**Test reading (patch test on inner arm)**



Test reading after 2 and 3 days are mandatory. Earlier and later readings are supplementary.

- Possible test readings:**
- neg = negative
  - + = +-positive
  - ++ = ++-positive
  - +++ = +++-POSITIVE
  - irr = irritant
  - ? = doubtful

For test readings, the criteria of the DKG (Deutsche Kontaktallergie-Gruppe) are used.