

Aus der Klinik für Pädiatrie  
mit Schwerpunkt Pneumologie, Immunologie und Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Suppression von IgE gegen Tetanus- und Diphtherie-Toxoid  
bei Kindern nach ganzzellulärer (aber nicht azellulärer)  
*Bordetella pertussis*-Impfung

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Suzan Kakat

aus Berlin

Datum der Promotion: 23.03.2024

## **Vorwort**

Die Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in *Pediatric Allergy and Immunology (PAI)* publiziert:

Aalberse RC, Grüber C, Ljungman M, Kakat S, Wahn U, Niggemann B, Nilsson LJ. Further investigations of the IgE response to tetanus and diphtheria following covaccination with acellular rather than cellular *Bordetella pertussis*. *Pediatr Allergy Immunol.* 2019;30(8):841-847.

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>Seite</b>
<b>Abkürzungen</b>	5
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	6
<b>Tabellenverzeichnis</b>	9
<b>Zusammenfassung</b>	10
<b>Abstract</b>	11
<b>1 Einleitung</b>	12
<b>1.1 Impfungen</b>	12
1.1.1 Impfungen im Kindesalter	12
1.1.2 Immunologische Grundlagen	12
<b>1.2 Pertussis</b>	13
1.2.1 Erreger und Virulenzfaktoren	13
1.2.2 Erkrankung	14
1.2.3 Epidemiologie	15
1.2.4 Diagnose	16
1.2.5 Therapie	16
1.2.6 Pertussis-Schutzimpfung	16
1.2.7 Immunantwort auf Pertussis-Toxin	18
<b>1.3 Allergie</b>	19
1.3.1 Definition	19
1.3.2 Allergische Erkrankungen	19
1.3.3 Epidemiologie allergischer Erkrankungen	21
1.3.4 Allergisch vermittelte Entzündung	22
1.3.5 Ursachen der Allergieentstehung	25
1.3.6 Einfluss der Pertussis-Impfung auf die Allergieentwicklung	27
<b>1.4 Fragestellungen</b>	30
<b>2 Patienten und Methoden</b>	31
<b>2.1 Patienten</b>	31
<b>2.2 Impfungen</b>	31
<b>2.3 Klinische Diagnosen</b>	32
2.3.1 Erhebungszeitpunkte, Befragung und Untersuchung	32
2.3.2 Klinische Atopiemanifestationen	33

2.3.3	Diagnostische Kriterien für Pertussis	34
<b>2.4</b>	<b>Allergische Sensibilisierung gegen Umweltallergene</b>	<b>34</b>
2.4.1	Haut-Prick-Test	35
<b>2.5</b>	<b>Serologie</b>	<b>35</b>
2.5.1	Proben	35
2.5.2	Analyse von spezifischen IgE- und IgG4-Antikörpern gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid	35
2.5.3	Analyse von IgG gegen Diphtherie-Antitoxin	36
2.5.4	Analyse von IgE gegen Pertussis-Toxin	36
<b>2.6</b>	<b>Statistik</b>	<b>37</b>
<b>2.7</b>	<b>Ethik</b>	<b>37</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>38</b>
<b>3.1</b>	<b>Studienpopulation</b>	<b>38</b>
<b>3.2</b>	<b>IgE gegen Diphtherie-Toxoid</b>	<b>39</b>
<b>3.3</b>	<b>IgG4 gegen Diphtherie-Toxoid</b>	<b>40</b>
<b>3.4</b>	<b>IgG gegen Diphtherie-Toxoid</b>	<b>41</b>
<b>3.5</b>	<b>IgE gegen Tetanus-Toxoid</b>	<b>42</b>
<b>3.6</b>	<b>IgG4 gegen Tetanus-Toxoid</b>	<b>43</b>
<b>3.7</b>	<b>IgG gegen Tetanus-Toxoid</b>	<b>45</b>
<b>3.8</b>	<b>Humorale Impfantwort bei atopischen und     nichtatopischen Kindern</b>	<b>46</b>
<b>3.9</b>	<b>Korrelation von Immunglobulinklassen</b>	<b>52</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>55</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>60</b>
	<b>Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung</b>	<b>82</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>85</b>
	<b>Publikationsliste</b>	<b>87</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>89</b>

## Abkürzungen

AC	Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Impfstoff (azellulärer 2- oder 5-Komponenten-Impfstoff)
APC	Antigen präsentierende Zelle
BCG	Mycobacterium bovis Bacillus Calmette Guérin
CD	Cluster of differentiation
DT	Impfstoff Diphtherie-Tetanus (Kontrollgruppe)
DTPa	Impfstoff Diphtherie-Tetanus-Pertussis (azellulär)
DTPw	Impfstoff Diphtherie-Tetanus-Pertussis (ganzzellulär)
FHA	Filamentöses Hämagglutinin
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.m.	intramuskulär
kU/L	Kilounits pro Liter
Lf	Limit of flocculation units
MHC	Major histocompatibility complex
MPL®	Monophosphoryl Lipid A
OR (95%CI)	Odds ratio und 95% Konfidenzintervall
PBS	Phosphat buffered saline
Pn	Pertactin
P	Pertussis-Toxin
RAST	Radio-Allergo-Sorbent test
$r_s$	Spearman Rank Koeffizient
SPT	Skin Prick Test
SU/ml	Standard units pro Milliliter
Th	T-Helferzelle
WC	Impfstoff Diphtherie-Tetanus-Pertussis (ganzzellulär)
WHO	World Health Organisation

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1.** **17**  
Virulenzfaktoren von *B. pertussis*. Toxine umfassen sezerniertes Pertussis-Toxin und tracheales Zytotoxin (TCT), oberflächengebundenes Adenylatzyklasetoxin und zytoplasmatisches dermonekrotisches Toxin. Anheftungsfaktoren umfassen filamentöses Hämagglutinin (FHA), Pertactin, Bordetella resistance to killing locus A (BrkA), trachealen Kolonisierungsfaktor (TCA) und Fimbrien. (Nach Weiss<sup>59</sup>)
- Abbildung 2.** **23**  
T-Lymphozyten in der allergisch vermittelten Entzündung (Barnes<sup>91</sup>)
- Abbildung 3.** **25**  
Pathophysiologie der allergischen Sensibilisierung (Barnes<sup>91</sup>)
- Abbildung 4.** **33**  
Zeitpunkte der Impfungen und Untersuchungen. BE Blutentnahme, SPT Skin-Prick-Test (Haut-Prick-Test)
- Abbildung 5.** **40**  
IgE gegen Diphtherie-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (0.35kU/L). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an. Die Differenz der Titer der Kontrollgruppe (DT) und azellulär geimpften Kindern zeigte keine statistische Signifikanz.
- Abbildung 6.** **41**  
IgG4 gegen Diphtherie-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (5 IU/ml). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an.

**Abbildung 7.** **42**

IgG gegen Diphtherie-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an. \* vs DT,  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

**Abbildung 8.** **43**

IgE gegen Tetanus-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (0.35 kU/L). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an.

**Abbildung 9.** **45**

IgG4 gegen Tetanus-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) immunisiert wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (5 IU/mL). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe (DT) oder azellulär geimpften Kindern.

**Abbildung 10.** **46**

IgG gegen Tetanus-Toxoid im Alter von 2, 7 und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) immunisiert wurden. Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an.

**Abbildung 11.** **47**

Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (95%CI) für den Nachweis von IgE und IgG4 gegen Diphtherie-Toxoid (D-IgE, D-IgG4) bei Kindern, die mit ganzzellulärem

Pertussis-Impfstoff geimpft wurden (Referenz: atopische Kinder jeweils geimpft mit azellulärem Pertussis-Impfstoff oder Diphtherie-Tetanus-Impfstoff, unterbrochene Linie).

**Abbildung 12.** **48**

Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (95%CI) für den Nachweis von IgE und IgG4 gegen Tetanus-Toxoid (T-IgE, T-IgG4) bei Kindern, welche mit ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff geimpft wurden (Referenz: atopische Kinder jeweils geimpft mit azellulärem Pertussis-Impfstoff oder Diphtherie-Tetanus-Impfstoff, unterbrochene Linie).

**Abbildung 13.** **53**

Korrelation 1 Monat nach Impfung von Serum-IgE gegen Diphtherie-Toxoid (D-IgE) und IgE gegen Tetanus-Toxoid (T-IgE; N=223,  $R_s=0.758$ ,  $P<0.001$ , Tafel A) und von IgE gegen Diphtherie-Toxoid und IgE gegen Pertussis-Toxin (P-IgE; N=98,  $R_s=0.504$ ,  $P<0.001$ , Tafel B).

**Abbildung 14.** **54**

Korrelation von Serum-IgE und -IgG4 gegen Diphtherie-Toxoid (N=254,  $R_s=0.708$ ,  $P<0.001$ , Tafel A) und von IgE und IgG gegen Diphtherie-Toxoid (N=253,  $R_s=0.511$ ,  $P<0.001$ , Tafel B) 1 Monat nach Impfung.



## Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1.** **32**

Die verwendeten Impfpräparate für Kinder gegen Diphtherie-Tetanus (DT) und Diphtherie-Tetanus-Pertussis (DTP).<sup>1</sup> AC-2, azellulärer Pertussis-Impfstoff mit 2 Komponenten; AC-5, azellulärer Pertussis-Impfstoff mit 5 Komponenten; WC, ganzzellulärer Pertussis-Impfstoff.

**Tabelle 2.** **38**

Charakteristiken von 265 Kindern, die 3 Dosen von 1 der 3 Pertussis-Impfstoffe oder Diphtherie-Tetanus-Impfstoff erhielten. DT, Diphtherie- und Tetanus-Toxoid-Impfstoff (Kontrolle); DTPw, ganzzellulärer Pertussis-Impfstoff; DTPa2, 2-Komponenten-azellulärer Pertussis-Impfstoff; DTPa5, 5-Komponenten-azellulärer Pertussis-Impfstoff.

**Tabelle 3.** **51**

Median und 95% Konfidenzintervall von Serum IgG gegen Diphtherie-Toxoid (D-IgG) und Tetanus-Toxoid (T-IgG) bei Kindern, welche mit Diphtherie- und Tetanus-Toxoid-Impfstoff (DT), ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPw), 2-Komponenten azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa2), oder 5-Komponenten azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) immunisiert wurden, stratifiziert nach Atopiestatus. \* vs DT,  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass die zelluläre *Bordetella Pertussis*-Impfung die IgE-Antwort gegen Impfantigene herunterreguliert. Unbekannt ist, ob hinsichtlich der IgE-Antwort auf kovakzinierte Impfantigene azelluläre Pertussis-Impfstoffe anders als die ganzzellulären Impfstoffe agieren. Es ist anzunehmen, dass die Zellwandbestandteile des zellulären Impfstoffs die IgE-Antwort gegen Impfantigene beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit wurde die humorale Immunantwort gegen kovakzinierte Diphtherie- und Tetanus-Antigene bei zellulär und azellulär geimpften Kindern untersucht.

**Methoden:** Aus einer prospektiven Pertussis-Impfstudie aus Schweden standen Seren von 265 Kindern, die im Alter von 2, 4 und 6 Monaten mit einem der folgenden 4 Impfstoffe immunisiert wurden, zur Verfügung: Diphtherie (D)- und Tetanus-Toxoid (T)-Impfstoff (DT, N=68), ganzzellulärer Pertussis-Impfstoff (DTPw, N=68), 2-Komponenten (DTPa2, N=64)- oder 5-Komponenten-azellulärer Pertussis-Impfstoff (DTPa5, N=65). In diesen Seren wurden IgE, IgG4 und IgG gegen Diphtherie- und Tetanus-Toxoid mit dem Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) im Alter von 2, 7 und 12 Monaten bestimmt.

**Ergebnisse:** Einen Monat nach Grundimmunisierung (7. Lebensmonat) wurden D-IgE in 50,0% (DT), 55,7% (DTPa2) und 60,3% (DTPa5) der Blutproben nachgewiesen; in der DTPw geimpften Gruppe in nur 9,7% ( $P<0,001$ ). Analog dazu wurden D-IgG4 in 88,1% (DT), 82,3% (DTPa2) und 93,4% (DTPa5) der Blutproben nachgewiesen; jedoch deutlich seltener in der DTPw geimpften Gruppe (42,2%,  $P<0,001$ ). Sechs Monate nach Grundimmunisierung (12. Lebensmonat) konnte D-IgE in 75,8% (DT), 67,2% (DTPa2) und 79,0% (DTPa5), aber in nur 25,0% der DTPw geimpften gefunden werden ( $P<0,001$ ). Vergleichbare Trends fanden sich für T-IgE und T-IgG4. Im Gegensatz dazu waren die Unterschiede zwischen den verschiedenen Impfgruppen in Bezug auf D-IgG und T-IgG weniger ausgeprägt.

**Schlussfolgerung:** Die vorliegende Arbeit zeigt, dass der ganzzelluläre *Bordetella Pertussis*-Impfstoff, nicht aber der azelluläre Impfstoff, die IgE-Antwort gegen kovakzinierte Impfantigene bei Kindern herunterreguliert, vermutlich ausgelöst durch Zellwandbestandteile von *Bordetella pertussis*. Ob und unter welchen Umständen mit dieser Strategie auch die IgE-Produktion gegen relevante Umweltallergene bei

Kindern mit erhöhtem Risiko für allergische Erkrankungen inhibiert werden kann, muss im Rahmen weiterer Untersuchungen evaluiert werden.

## Abstract

**Background:** It has previously been shown that the IgE response to vaccine antigens is down-regulated by covaccination with cellular *Bordetella pertussis* vaccine. The presence of bacterial cell wall components in the cellular vaccine is likely to have an impact on the IgE response. In this study we compared humoral immune responses to diphtheria toxoid (D) and tetanus toxoid (T) in relation to covaccinated cellular or acellular *Bordetella pertussis* vaccine.

**Methods:** Sera of 265 children from a Swedish pertussis vaccine trial vaccinated with D and T (DT, N=68), cellular (DTPw, N=68), a 2 or 5 component acellular *Bordetella pertussis* vaccine (DTPa2, N=64; DTPa5, N=65) at 2, 4, and 6 months of age, were analyzed for IgE, IgG4, and IgG to D and T at 2, 7, and 12 months of age (RAST).

**Results:** One month after vaccination (7 months of age), D-IgE was detected in 50.0% (DT), 55.7% (DTPa2) and 60.3% (DTPa5) of the serum samples, but significantly less frequently in sera of DTPw vaccinated children (9.7%,  $P<0.001$ ). Similarly, D-IgG4 was detected in 88.1% (DT), 82.3% (DTPa2) and 93.4% (DTPa5) of the sera, but significantly less frequently in DTPw samples (42.2%,  $P<0.001$ ). Six months after vaccination (12 months of age), D-IgE was detected in 75.8% (DT), 67.2% (DTPa2) and 79.0% (DTPa5) of the samples, but only in 25.0% of DTPw vaccinated ( $P<0.001$ ). These findings were mirrored by those for T-IgE and T-IgG4. In contrast, much weaker differences were found between vaccine groups with regard to D-IgG and T-IgG.

**Conclusion:** In summary, cellular (but not acellular) *Bordetella pertussis* vaccine down-regulates IgE to covaccinated antigens in infants, presumably by cell wall components. The possibility to down-regulate IgE responses in children by safe vaccination of bacterial compounds should be further investigated.

# 1 Einleitung

## 1.1 Impfungen

### 1.1.1 Impfungen im Kindesalter

Impfungen sind die wichtigsten und kosteneffektivsten Präventivmaßnahmen der modernen Medizin. Mit der breiten Nutzung von Vakzinen hat die Inzidenz der impfpräventablen Infektionskrankheiten in den vergangenen Jahrzehnten weltweit dramatisch abgenommen mit erheblicher Bedeutung für Reduktion der Mortalität und Förderung des Bevölkerungswachstums.<sup>1</sup> Krankheiten wie Pocken, Poliomyelitis, Gelbfieber, Tetanus, Diphtherie, Pertussis, Epiglottitis durch *Hämophilus influenzae Typ B*, Mumps, Masern sowie Röteln sind mit Hilfe von Impfungen in Teilen der Welt bereits weitestgehend unter Kontrolle gebracht worden. Weitere Krankheiten wie Hepatitis A und B, Varizellen, Influenza sowie Folgekrankheiten durch Pneumokokken- und Meningokokken-Infektionen werden durch Impfungen ebenfalls zunehmend reduziert. Mit Ausnahme von BCG- und Pertussis-Impfung liegt die Effektivität der üblichen Schutzimpfungen in der Regel über 90%.<sup>2</sup>

### 1.1.2 Immunologische Grundlagen

Die Abwehr von Infektionskrankheiten beruht zum einen auf der angeborenen und zum anderen auf der erworbenen Immunität.<sup>3</sup> Die angeborene Immunität wird innerhalb von Minuten bis Stunden nach Infektionsbeginn aktiviert und gewährleistet die Erreger-unspezifische Abwehr in der Frühphase. Die erworbene Immunität benötigt einige Tage, um eine Erreger-spezifische Abwehr aufzubauen. Dies erfolgt mithilfe der Information über die Erreger, welche in Lymphozyten gespeichert ist. Bei Reexposition trägt die erworbene Immunität zu einer raschen und effektiven Abwehr bei. Dieses Prinzip wird von Impfungen genutzt. Erworbenene Immunität beruht wiederum auf zwei Untersystemen: der humoralen Immunität, bei der Antikörper gegen Antigene der Erreger gebildet werden, und der zellvermittelten Immunität, bei der Abwehrzellen Erreger lysieren.<sup>3</sup>

Im Rahmen der humoralen Immunantwort treten B-Lymphozyten mit Erreger-Antigen in Kontakt. Die darauffolgende intrazelluläre Verarbeitung von Antigen in Plasmazellen resultiert in der Produktion von Antikörpern (IgG-Subklassen, IgM, IgE,

IgA), welche unabhängig von der sezernierenden Plasmazelle im Körper zirkulieren können.

Die Funktion der Immunglobuline besteht in der Eindämmung der Infektion und der Eliminierung der mit intrazellulär lebenden Keimen infizierten Zellen, durch Vermittlung antikörperabhängiger Zytotoxizität oder Komplement-vermittelter Zell-Lyse. Bei extrazellulär lebenden Keimen sind zusätzlich CD4<sup>+</sup> T-Helfer-1-Zellen (TH1) erforderlich, welche die zellvermittelte Zytotoxizität unterstützen.<sup>2</sup>

Analog zu einer Infektion wird bei einer aktiven Impfung das Immunsystem (Impf-) Antigenen ausgesetzt. Nach erfolgter Impfung bildet das körpereigene Immunsystem antigenspezifische Antikörper und Abwehrzellen einschließlich B-Gedächtniszellen. Diese persistieren im Blut und Knochenmark, vermehren sich bei erneuter antigenspezifischer Exposition und lösen durch die nachfolgend verstärkte Produktion antigenspezifischer Antikörper einen erneuten raschen Schutz gegen das jeweilige Antigen aus. Als Indikator für den Schutz gegen die Infektion, gegen die geimpft wurde, dient der antigenspezifische Antikörper-Titer. Impfantigene können unterschiedlich effektiv Immunreaktionen hervorrufen. Die effektivste Immunantwort wird durch lebende Antigene generiert.<sup>2</sup>

Für inaktivierte Impfstoffe, Toxoide, rekombinante Subunit- und konjugierte Polysaccharid-Impfstoffe sind für eine effektive Immunantwort mindestens 2 Dosen erforderlich.<sup>2</sup> Regelmäßige Booster-Impfungen zur Aufrechterhaltung schützender Impftiter sind für Tetanus- und Diphtherie-Toxoid notwendig. Unkonjugierte Polysaccharid-Impfstoffe rufen kein T-Zell-Gedächtnis hervor und Booster-Impfungen zeigen hier keine effektive Verbesserung des Impfschutzes. Impfstoffe mit attenuierten lebenden Viren rufen eine lebenslange Immunität hervor. Die öffentlichen Impfempfehlungen sind entsprechend dieser Eigenschaften der verschiedenen Vakzine ausgelegt.<sup>4</sup>

## **1.2 Pertussis**

### **1.2.1 Erreger und Virulenzfaktoren**

*Bordetella pertussis* ist ein bekapseltes, aerobes, gramnegatives Stäbchen.<sup>5</sup> Es bindet spezifisch an Zilienzellen des Respirationstrakts. Mehrere Proteine an der

Außenmembran von *Bordetella pertussis* helfen bei der spezifischen Adhäsion an Zilienzellen.<sup>6</sup> Filamentöses Hämagglutinin (FHA) ist eine stäbchenförmige Struktur, die die Bindung gewährleistet. Fimbrien und Pertactin helfen zusätzlich bei der Adhäsion.<sup>6,7</sup> BrkA (Bordetella resistance to killing Typ A) schützt das Bakterium vor Antikörper-vermittelter Elimination durch Komplement. Adhäsine behindern die Blockierung des Bakteriums durch Antikörper.<sup>8</sup> (**Abbildung 1**)

*Bordetella pertussis* enthält Toxine, von denen zwei für die Abwehr von Effektorzellen des Wirts von Bedeutung sind: Pertussis-Toxin (P, Endotoxin) ist an der Zellwand von *Bordetella pertussis* lokalisiert, Adenylatcyclase-Toxin (Exotoxin) spielt in der Frühphase der Infektion für die Kolonisierung eine Rolle, indem es die Phagozytenfunktion hemmt. Tracheales Zytotoxin hemmt die Zilienfunktion des respiratorischen Epithels. Pertussis wird durch P verursacht, andere Virulenzfaktoren dienen der toxischen Akkumulation von P.<sup>9</sup>

P induziert eine Lymphozytose (alte Bezeichnung: Lymphozytosis Promoting Factor, LPF) und immunogene Effekte. Die gegen P gebildeten Antikörper sind für die Immunität gegenüber *Bordetella pertussis* von Bedeutung. Chemisch oder genetisch inaktiviertes P (Pertussis-Toxoid) wird in Impfstoffen verwendet. Im Gegensatz zu *Bordetella pertussis*, das die Submukosa nicht penetriert, besitzt P die Fähigkeit, in den Blutkreislauf zu gelangen.<sup>8,9</sup>

Die Kontagiosität ist im *Stadium catarrhale* (s.u.) und den 2 Wochen nach Hustenbeginn am höchsten. Weder die Infektion noch die Impfung führt zu einer lebenslangen Immunität.<sup>6</sup> Pertussis wird durch Erkrankte im *Stadium catarrhale* (s.u.), durch direkten Kontakt oder Tröpfcheninfektion übertragen. *Bordetella pertussis* ist hoch kontagiös mit einer Reproduktionszahl von 12-17.<sup>10</sup> Infizierte Kinder und Erwachsene mit nachlassender Impf- bzw. Infektionsimmunität bilden das Reservoir.<sup>11,12</sup>

### 1.2.2 Erkrankung

Klinisch ist die typische Erstinfektion bei Ungeimpften durch drei Krankheitsstadien gekennzeichnet. Nach einer Inkubationsszeit von 7 (6-20) Tagen beginnt das *Stadium catarrhale* für eine Dauer von 1-2 Wochen.<sup>13</sup> Die Symptome sind in diesem

Stadium kaum von einem banalen Infekt der oberen Atemwege zu unterscheiden. Das anschließende *Stadium convulsivum* mit den für Pertussis typischen intermittierenden Hustenanfällen kann bis zu 6 Wochen andauern. Die Hustenanfälle kommen durch das erschwerte Abhusten von zähem Schleim, das Keuchen infolge der forcierten Einatmung durch die entzündlich verengte Glottis zustande. Im *Stadium decrementi* kommt es über einen Zeitraum von bis zu 10 Wochen zum allmählichen Abklingen der Hustenanfälle. Bei Jugendlichen oder Erwachsenen ist das klinische Bild häufig weniger ausgeprägt und kann sich z. B. als chronischer Husten manifestieren.<sup>6,7,14,15</sup> Mögliche Komplikationen sind vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern gefürchtet und umfassen Pneumonie, Dyspnoe, Apnoe und zerebrale Krampfanfälle.<sup>16</sup> Letale Verläufe werden fast ausschließlich im jungen Säuglingsalter beobachtet.<sup>17,18</sup> Abgeschwächte Verläufe können bei zuvor Geimpften oder Infizierten gelegentlich vorkommen.<sup>19</sup>

### **1.2.3 Epidemiologie**

Pertussis ist eine global vorkommende endemische Erkrankung mit erheblicher Morbidität und, global betrachtet, auch Mortalität.<sup>20</sup> Ein Anstieg der Pertussis-Inzidenz, insbesondere bei älteren Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen wurde seit Ende der 1980er-Jahre in den USA und seit den 1990er-Jahren in Kanada sowie verschiedenen europäischen Ländern trotz hoher Durchimpfung bei Kindern beobachtet.<sup>21-24</sup>

In Deutschland wurde eine bundesweite Meldepflicht für Pertussis nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) im März 2013 eingeführt.<sup>25</sup> Davor war Pertussis in den fünf östlichen Bundesländern (ÖBL) durchgehend seit 1947 meldepflichtig; seit 2002 wurden die gemeldeten Fälle auch nach einer vom Robert-Koch-Institut (RKI) entwickelten einheitlichen Falldefinition an das RKI übermittelt.<sup>26</sup> Basierend auf diesen Daten werden bei jüngeren Kindern weiterhin zyklische Anstiege von Pertussis im Abstand von 4 bis 6 Jahren beobachtet.<sup>27</sup> Seit Einführung der Meldepflicht wurden dem RKI bundesweit zwischen 11 und 20 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner jährlich übermittelt. Säuglinge sind mit Inzidenzen von über 100 Erkrankungen/100.000 Einwohner in epidemischen Jahren am stärksten betroffen und werden häufig hospitalisiert.<sup>28</sup>

#### 1.2.4 Diagnose

Die Diagnose einer *Bordetella pertussis*-Infektion kann bei Kindern oft erst im Stadium convulsivum anhand der typischen Hustenanfälle gestellt werden. In dieser Phase der Erkrankung stehen im Nasopharynx jedoch nur noch wenige Keime für die Abstrichdiagnostik zur Verfügung. Spezifische Antikörper gegen *Bordetella pertussis*-Antigene sind bei Erstinfektion frühestens am Übergang vom *Stadium catarrhale* in das *Stadium convulsivum* nachweisbar. Für die Frühdiagnose ist die Serologie im Kindesalter daher ungeeignet. Es können IgA- und IgG-Antikörper gegen PT und gegen FHA bestimmt werden. PT ist spezifisch für *Bordetella pertussis*, FHA kommt auch bei anderen *Bordetellen* und Bakterien vor.<sup>17</sup>

#### 1.2.5 Therapie

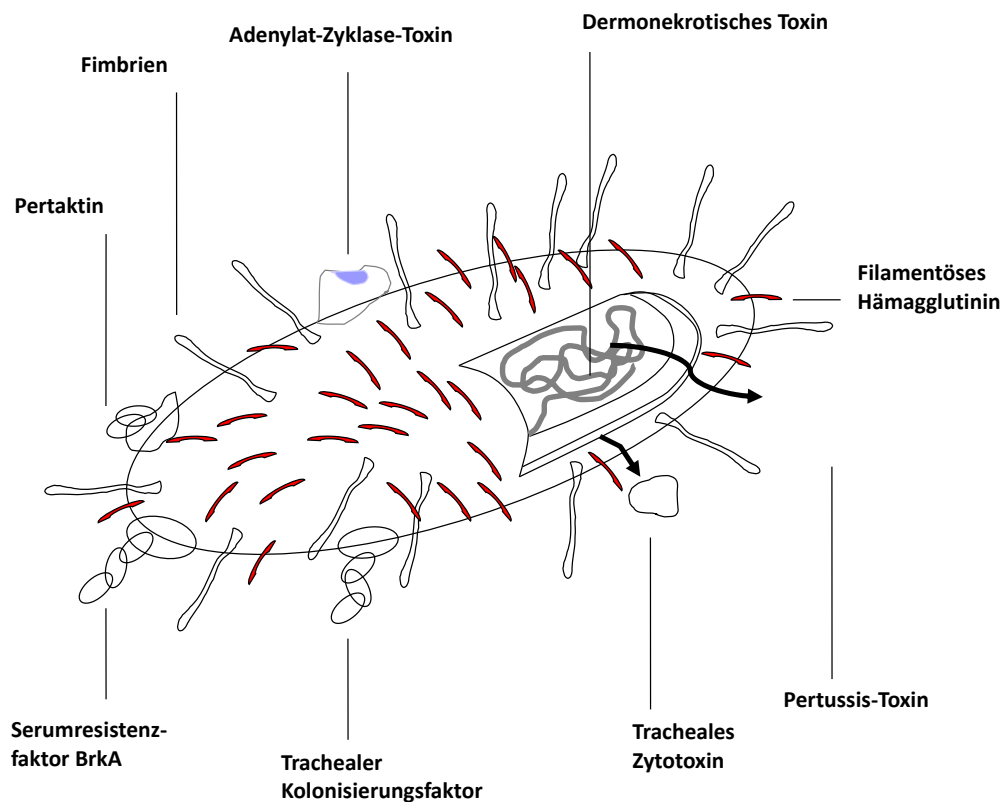
Durch eine frühzeitige antibiotische Therapie mit Makroliden (z. B. Erythromycin), vor allem während des *Stadium catarrhale*, kann der Krankheitsverlauf verkürzt werden.<sup>29</sup> Im späten Stadium convulsivum haben Antibiotika meist keinen entscheidenden Einfluss auf den Krankheitsverlauf, beenden jedoch die Erregerausscheidung und damit die Infektiosität des Patienten.<sup>30</sup>

#### 1.2.6 Pertussis-Schutzimpfung

Die wichtigste prophylaktische Maßnahme ist die aktive Immunisierung.<sup>31</sup> Hierfür sind prinzipiell zelluläre und azelluläre Impfstoffe geeignet. Weltweit werden auch aus ökonomischen Gründen ganzzelluläre Impfstoffe noch eingesetzt, in Deutschland stehen nur noch azelluläre Impfstoffe zur Verfügung. Zelluläre Impfstoffe werden aus Zentrifugat von Kulturen mit *Bordetella pertussis* gewonnen. Die konzentrierten Bakterien werden abgetötet und ihr Toxin durch Erhitzen bzw. chemische Behandlung inaktiviert. Azelluläre Pertussisimpfstoffe bestehen entweder aus Extrakten von *Bordetella pertussis*-Kulturen oder aus gereinigten, definierten Mengen einzelner *Bordetella pertussis*-Antigene. Die wichtigsten sind P, FHA, Pertactin und Fimbrien. PT ist in jedem Pertussis-Impfstoff enthalten. (**Abbildung 1**) Es bleibt bis heute unklar, welche *Bordetella pertussis*-Komponenten in welcher Zusammensetzung den optimalen Schutz vor Pertussis verleihen. Vermutlich erhöht jede zusätzliche Komponente die Schutzrate azellulärer Impfstoffe. Häufig wird der Pertussis-Impfstoff mit anderen Impfstoffen kombiniert, wie mit Diphtherie- und



Tetanus-Toxoid (DT). In vielen Kombinationsimpfstoffen ist DT an Aluminium als Adjuvans adsorbiert. Thiomersal wird häufig als Konservierungsmittel beigegeben.



nach Weiss A, ASM News 1997;63:22-8

**Abbildung 1.** Virulenzfaktoren von *Bordetella pertussis*. Toxine umfassen sezerniertes Pertussis-Toxin und tracheales Zytotoxin (TCT), oberflächengebundenes Adenylatzyklasetoxin und zytoplasmatisches dermonekrotisches Toxin. Anheftungsfaktoren umfassen filamentöses Hämagglutinin (FHA), Pertactin, Bordetella resistance to killing locus A (BrkA), trachealen Kolonisierungsfaktor (TCA) und Fimbrien. (Nach Weiss<sup>8</sup>)

Zur Grundimmunisierung werden in der Regel drei Dosen verabreicht. Zwei bis drei Dosen werden als Booster-Immunsierung später nachgegeben. Verstärkte Lokalreaktionen nach Booster-Immunsierung sind in erster Linie auf das Diphtherie-Toxoid zurückzuführen, aber auch durch die Pertussis-Toxine dosisabhängig möglich.<sup>16,32</sup> Bei dem zellulären Impfstoff wurden häufiger kurzzeitige Nebenwirkungen beobachtet, allerdings ohne bleibende Schädigung, so dass die Impfung als sicher gilt.<sup>32</sup> Sehr selten ist die Impfung Ursache für Anaphylaxie, Fieberkrampf und Episoden mit prolongiertem bzw. nicht zu beruhigendem Weinen.<sup>33</sup> Behauptungen über weitere angebliche schwere Schäden durch DTP-Impfung, wie

ein erhöhtes Risiko für den plötzlichen Säuglingstod oder die Ausbildung einer Enzephalopathie, haben sich in kontrollierten Studien nicht bestätigt.<sup>16</sup>

Passagere neurologische Auffälligkeiten sind auch nach Impfung mit azellulärem Impfstoff beobachtet worden.<sup>34</sup>

Die Pertussis-Schutzimpfung bietet einen relativen Schutz vor Infektion mit *Bordetella pertussis*. Für den früher in Deutschland verwendeten ganzzellulären Impfstoff (DPT-Impfstoff Behring, Behringwerke, Marburg) wurde eine Effektivität von >95% errechnet.<sup>32,35</sup>

Azelluläre Vakzine erreichen nahezu die protektive Wirksamkeit des zellulären Impfstoffs. Für die in Deutschland gebräuchlichen azellulären Vakzine wurden Effektivitätsraten von 73-93% errechnet.<sup>35,36</sup> Sie sind jedoch deutlich weniger reaktogen als die zellulären Impfstoffe<sup>37</sup> und werden daher für die Routine-Immunisierung in Deutschland und vielen anderen industrialisierten Ländern eingesetzt. Möglicherweise ist die Dauer des Impfschutzes geringer bei azellulären als bei zellulären Pertussis-Impfstoffen.<sup>38-40</sup> Aufgrund ihres niedrigen Preises werden jedoch in vielen Ländern der Erde zelluläre Impfstoffe verabreicht.

### 1.2.7 Immunantwort auf Pertussis-Toxin

Für die protektive Immunität gegen *Bordetella pertussis* spielen sowohl die zelluläre wie auch die humorale Immunantwort eine Rolle.<sup>41</sup>

Die serologische Immunität wurde bereits vor mehr als 50 Jahren nachgewiesen.<sup>42</sup> Verschiedene Isotypen (IgG, IgM, IgE, IgA) und Idiotypen (gegen verschiedene Antigene von *B. pertussis*) sind detektierbar. Die Infektion mit *Bordetella pertussis* bewirkt die Bildung von IgA, IgG und IgM gegen spezifische Antigene des Erregers.<sup>43</sup> Die Impfung mit *Bordetella pertussis* hingegen induziert hauptsächlich die Bildung von IgM und IgG.<sup>44</sup> Auffrischimpfungen bewirken die Bildung höherer IgG-Titer als Primärimpfnungen.<sup>45</sup> Im Vergleich unterschiedlicher Impfstoffe ist für Fimbrien, nicht aber für P, eine direkte Korrelation von Antigenmenge und Impftitern nachgewiesen worden.<sup>46</sup> Eine Korrelation von präexpositionellen IgG-Titern und klinischem Impfschutz ist für Anti-P, Anti-Pertactin und Anti-Fimbriae, bei gleichzeitigem Nachweis dieser Antikörper jedoch nicht für FHA gefunden worden.<sup>47-49</sup> Die beste Korrelation mit dem Impfschutz zeigt Pertactin-IgG.<sup>47,48</sup>

Mit Abstand zur Grundimmunisierung sinken spezifische IgG-Antikörper und sind 2-3 Jahre später oft nicht mehr nachweisbar.<sup>50,51</sup> Trotzdem besteht weiterhin für eine begrenzte Zeit Schutz vor erneuter Pertussis-Infektion.<sup>52</sup> T-Zellantworten dagegen sind länger als vier Jahre nach Pertussis-Impfung noch erhalten.<sup>53</sup> Auch im Tiermodell ist der durch Memory-B- und T-Zellen vermittelte Impfschutz nach Abklingen der humoralen Immunantwort erhalten.<sup>54</sup> Dies könnte den anhaltenden Schutz durch die Pertussis-Schutzimpfung erklären.

## **1.3 Allergie**

### **1.3.1 Definition**

Die überschießende Antwort des erworbenen Immunsystems auf den Kontakt mit einem normalerweise harmlosen Antigen (in diesem Fall als Allergen bezeichnet) ist die Grundlage allergischer Erkrankungen. Für diese Reaktionsweise prägte 1906 der Wiener Pädiater Clemens von Pirquet den Begriff "Allergie".<sup>55</sup> Im allgemeinen Sprachgebrauch wird der Ausdruck Allergie ausschließlich für die Typ-I-Allergie oder Soforttypallergie auf der Basis IgE-vermittelter immunologischer Reaktionen verwendet. Im strengen Sinn, nach Coombs und Gell<sup>56</sup>, umfasst der Überbegriff "allergische Reaktion" alle Überempfindlichkeitsreaktionen des Soforttyps und des Spättyps.

Unter „Atopie“ versteht man allergische Erkrankungen, die auf der Grundlage einer genetischen Disposition mit Nachweis allergenspezifischer IgE-Antikörper einhergehen.<sup>57</sup> Der Begriff „atopischer Marsch“<sup>58</sup> bezieht sich auf den natürlichen Krankheitsverlauf atopischer Manifestationen, d. h. eine alterstypische Sequenz allergischer Reaktionen und klinischer Symptome, die über Jahre oder Jahrzehnte persistieren und nicht selten eine Tendenz zur Spontanremission mit dem Alter erkennen lassen.<sup>59</sup>

### **1.3.2 Allergische Erkrankungen**

Allergische Erkrankungen gehören heute zu den häufigsten chronischen Erkrankungen des Kindes- und Jugendalters.<sup>60-62</sup> Typisch für den atopischen Formenkreis ist, dass Manifestationsformen in ihrem Ausprägungsgrad variieren und Zielorgane einander ablösen können. Die Bereitschaft zur Ausprägung einer oder mehrerer dieser Formen kann jedoch erhalten bleiben und weitervererbt werden. In

der typischen Reihenfolge ihres Auftretens gehören vier Manifestationsformen dazu: Nahrungsmittelallergie, atopische Dermatitis, Asthma bronchiale und allergische Rhinokonjunktivitis.<sup>63</sup>

Nahrungsmittelallergien sind zumeist IgE-vermittelte Reaktionen und können sich sowohl an der Haut (Urtikaria, Ekzemschub, Quincke-Ödem), am Gastrointestinaltrakt (Erbrechen, Kolik, Diarrhoe), an den Atemwegen (Rhinitis, Asthma, Larynxödem) und systemisch (Anaphylaxie) manifestieren. Im frühen Kindesalter werden Reaktionen i. d. R. durch Hühnerei, Kuhmilch, Weizen, Soja, Erdnuss oder Nüsse ausgelöst. Reaktionen auf Allergene von Erdnüssen, Baumnüssen oder Meeresfrüchten können mitunter lebensbedrohlich sein und persistieren zumeist lebenslang. Die pollenassoziierte Nahrungsmittelallergie ist Ausdruck einer immunologischen Kreuzreaktivität, die auf gemeinsamen Epitopen von Pollen- und Nahrungsmittelallergenen, der sogenannten PR-10 Moleküle, die hitzelabil sind, beruht. Diese Form folgt meist einer etablierten Pollenallergie und wird bei Kindern im Schulalter oder später beobachtet. Weitere nicht IgE-vermittelte allergische Reaktionen wie die eosinophile Gastroenteropathie sind mit der Exposition gegenüber spezifischen Nahrungsmitteln verknüpft.

Die atopische Dermatitis ist eine chronische bzw. chronisch-rezidivierende, meist stark juckende Hauterkrankung, die sich häufig bereits im Säuglingsalter manifestiert. Die zumindest in der Frühphase Th2-gewichtete Entzündung von Dermis und Epidermis geht mit akuten Symptomen, wie Rötung, Ödem, Papeln und starkem Juckreiz, sowie chronischen Hautveränderungen wie Trockenheit, Schuppung, Vergröberung des Hautreliefs (Lichenifikation) und Rhagaden, einher.<sup>64</sup> Der Krankheitsverlauf wird häufig kompliziert durch eine chronische bakterielle Besiedlung, die mitunter zu schweren Superinfektionen führt. Neben der Entzündung liegt auch eine Barrierestörung vor, die bei schwerem Verlauf nicht selten durch eine Filaggrinmutation bedingt ist und mit erhöhtem transepidermalen Wasserverlust, aber auch einer Durchlässigkeit für Allergene assoziiert ist.<sup>65</sup>

Die allergische Rhinokonjunktivitis geht mit einer Behinderung der Nasenatmung durch entzündliche Schwellung der Nasenschleimhaut einher und äußert sich durch Niesreiz, seröse Nasensekretion oder blockierte Nasenatmung und häufig auch mit einer begleitenden Entzündung der Konjunktiven mit Rötung und Juckreiz. Auslöser

sind inhalative Allergene mit perennialem Auftreten (z. B. Hausstaubmilbenallergen) oder saisonalem Auftreten (z. B. Pollen). Die Manifestation erfolgt zumeist im Schulalter.

Das Asthma bronchiale ist eine reversible Bronchialobstruktion, der eine chronische Entzündung der Bronchialschleimhaut zugrunde liegt. Durch Kontraktion der Bronchialmuskulatur, Schleimhautschwellung und vermehrte Sekretproduktion kann es zu Husten, Giemen, Dyspnoe bis hin zur respiratorischen Globalinsuffizienz kommen. Als Triggerfaktoren kommen virale Infektionen, körperliche oder psychische Belastungen, inhalative und nutritive Allergene und Reizstoffe wie Ozon oder Tabak in Betracht. Die Entzündungsreaktion bei Asthma bronchiale ist häufig eosinophil, kann aber auch neutrophil sein. Auch spielt die T-zelluläre Inflammation eine Rolle, gerade beim chronisch-rezidivierenden Verlauf.<sup>66</sup> Bei Kindern und Jugendlichen stellt das allergische Asthma bronchiale eine der häufigsten chronischen Erkrankungen dar und ist bei ca. 2/3 der Kinder allergisch.<sup>67,68</sup>

### **1.3.3 Epidemiologie allergischer Erkrankungen**

In den letzten Jahrzehnten ist weltweit eine signifikante Zunahme der Inzidenz und Prävalenz allergischer Erkrankungen beobachtet worden.<sup>69</sup> Zudem ist weiterhin ein Anstieg der Inzidenz und Prävalenz der Nahrungsmittelallergie im frühen Kindesalter zu verzeichnen.<sup>70</sup>

Insbesondere Faktoren des „westlichen Lebensstils“ wie Luftschadstoffe, verstärkte Allergenexposition infolge Innenraumisolierung und des Klimawandels mit zunehmender Erderwärmung und der dadurch verlängerten Pollensaison sowie die verbesserten Hygienebedingungen und die damit einhergehende Abnahme von Infektionskrankheiten werden als Einflussfaktoren diskutiert.<sup>71</sup> Aber auch Faktoren wie Exposition gegenüber mikrobiellen Stimuli und Ernährung scheinen einen großen epigenetischen Einfluss auf das Immunsystem und die Immuntoleranz und -regulation zu haben.<sup>72</sup> Zahlreiche Untersuchungen in ländlicher Bevölkerung zeigten, dass Kinder, die auf traditionellen Bauernhöfen mit Kontakt zu Stallvieh aufgewachsen sind, weniger Asthma und Allergien entwickeln.<sup>73,74</sup> Dieser Effekt wird bereits in utero vermittelt.<sup>75</sup> In den letzten Jahren ist auch das Mikrobiom als Target möglicher Präventionsstrategien in den Fokus gerückt. Allergische Kinder und Kinder

mit atopischer Dermatitis aber auch mit Asthma scheinen sich von nicht betroffenen Kindern im Mikrobiom des Darmes zu unterscheiden: sie haben bereits früh im Leben weniger Butyrat-bildende Bakterien im Stuhl<sup>76,77</sup> und weniger Acinetobacter auf der Haut.<sup>78</sup> Faserreiche Kost, die im ersten Lebensjahr früh als Beikost eingeführt wird, fördert Bakterien, die Butyrat und Propionat fermentieren und dadurch immunmodulatorisch wirken.<sup>79</sup>

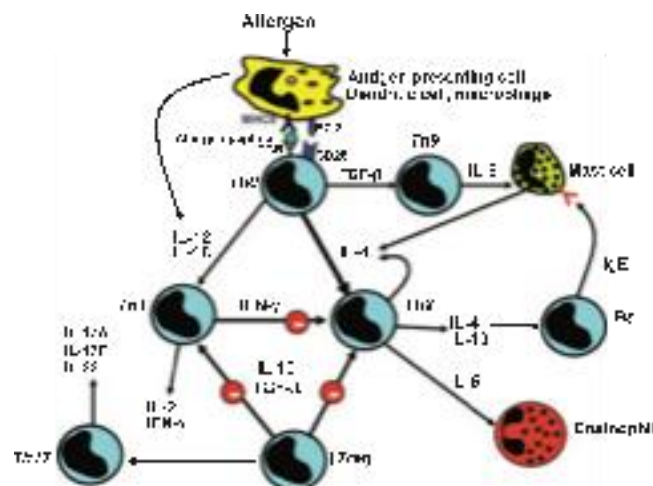
#### 1.3.4 Allergisch vermittelte Entzündung

Voraussetzung für eine allergische Immunantwort ist eine spezifische Sensibilisierung gegen ein Allergen. Relevante Allergengruppen sind z. B. Pollen, Tierepithelien, Milben, Schimmelpilze, Nahrungsmittel und Medikamente.

Nach dem Überwinden der Barriere von Haut oder Schleimhaut wird das Allergen von antigenpräsentierenden Zellen (APC) phagozytiert, intrazellulär verdaut und nach Transport in lokal drainierende Lymphknoten den T-Lymphozyten als immunogene fragmentierte Peptide (Epitope) über Histokompatibilitätsantigene der Klasse II (MHC-Klasse-II) dargeboten. Der MHC-Peptid-Komplex wird mit Hilfe eines passenden antigenspezifischen T-Zell-Rezeptors von CD4-positiven T-Lymphozyten erkannt. Mit Hilfe eines Zweitsignals (der Interaktion von T-Zellständigem CD28-Rezeptor und seinem Liganden auf der APC) kommt es zur T-Zellaktivierung mit Proliferation des betreffenden T-Zellklons und zur Freisetzung von Zytokinen.

Anhand ihres Zytokin-Sekretionsmusters werden verschiedene von einer gemeinsamen naiven Vorläufer-Zelle abstammende T-Helfer-Zellpopulationen differenziert.<sup>80</sup> **(Abbildung 2)** T-Helfer-(Th-)1-Zellen produzieren die Zytokine IL-2, Tumor-Nekrose-Faktor (TNF-)β und Interferon (INF-)γ und sind für die Abwehr intrazellulärer Erreger wie Viren oder Mykobakterien entscheidend. Th2-Zellen produzieren die Zytokine IL-4, IL-5, und IL-13 und vermitteln die Abwehr gegen Parasiten einerseits und allergische Reaktionen andererseits<sup>81</sup>. Neben der klassischen Einteilung der T-Helferzellen in Th1 und Th2 wurde 2005 eine weitere Untergruppe der CD4+ Zellen beschrieben<sup>82</sup>. Dabei handelt es sich um Th17-Zellen, welche pro-inflammatorische Zytokine der namensgebenden IL-17-Familie produzieren. Das Zytokin IL-17A fördert Entzündungsprozesse im Gewebe, indem es Granulozyten und Makrophagen anlockt und aktiviert. Th17-Zellen produzieren

allerdings weitere Zytokine, wie IL-17F, IL-6, IL-10 und IL-22.<sup>83</sup> Eine besondere Bedeutung kommt den CD4+CD25+ regulatorischen T-Zellen (Treg) zu. Diese regulieren die Funktion von Th1- und Th2-Zellen über Vermittlung von ICOS-Ligand und IL-10 herunter.<sup>84,85</sup> Über Zell-Zell-Kontakte und über Zytokine wie IL-10 und TGF- $\beta$  begrenzen sie die Aktivität anderer CD4+CD25+ T-Zellen<sup>86</sup> und unterdrücken somit die allergisch-inflammatorische Reaktion. Bei Patienten mit allergischer Erkrankung werden unter den T-Zellen deutlich weniger und funktionell eingeschränkte Treg gefunden als bei Gesunden.<sup>87,88</sup> Nach spezifischer Immuntherapie gegen Allergene kann hingegen eine Zunahme IL-10-produzierender Treg gefunden werden.<sup>88,89</sup> Dies führt zu der Annahme, dass die immunologische Dysregulation atopischer Erkrankungen eher eine IL-10 abhängige mangelnde Bildung allergenspezifischer Treg-Zellen als eine mangelnde Bildung von Th1-Zellen ist.<sup>90</sup> Zu den Th-Zellpopulationen gehören zudem die Th9-Zellen, welche zur Entwicklung atopischer Erkrankungen, wie Nahrungsmittelallergien, atopischer Dermatitis und Asthma bronchiale beitragen<sup>80</sup>, sowie IL-22 produzierende Th22-Zellen, die sowohl einen proinflammatorischen als auch wundheilungsfördernden Effekt ausüben.



**Abbildung 2.** T-Lymphozyten in der allergisch vermittelten Entzündung. (Barnes<sup>91</sup>)

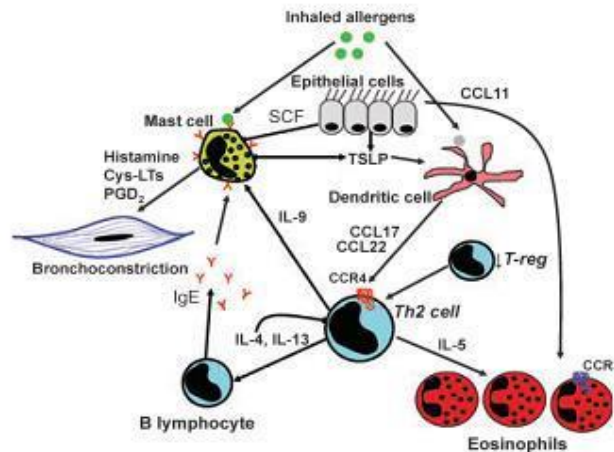
IL-4 bewirkt die Proliferation von Th2-Zellen und aktivierten, Antikörper synthetisierenden B-Zellen<sup>92-94</sup> und induziert die Ausprägung von MHC Klasse II-Epitopen auf B-Zellen.<sup>95</sup> Voraussetzung für die IL-4-abhängige IgE-Synthese ist die

Interaktion von MHC Klasse II- Epitopen auf B-Zellen mit dem T-Zell-Rezeptorkomplex.<sup>96</sup> Die Differenzierung von Eosinophilen und die Verlängerung ihrer Lebensdauer durch Inhibition der Apoptose wird durch IL-5 stimuliert.<sup>97,98</sup> IL-10 hemmt in Gegenwart von APC die Synthese von Th1-Zytokinen.<sup>99</sup> IFN- $\gamma$  dagegen hemmt die Th2- Expansion und die IL-4-induzierte Ausprägung von MHC-Klasse II-Epitopen auf B- Zellen.<sup>95,100</sup>

B-Zellen sind in der Lage, über ihre Oberflächenimmunglobuline Allergene zu binden, die dann internalisiert und intrazellulär prozessiert werden. Die daraus resultierenden Epitope werden an MHC-Klasse II Rezeptoren auf der Zelloberfläche gebunden. Der Kontakt dieses MHC-Klasse II/Peptid-Komplexes der B-Zelle mit dem T-Zell-Rezeptor einer ruhenden T-Zelle führt zur klonalen Expansion und Differenzierung der T-Zelle in Zytokine vom Th2-Typ. IL-4 bzw. IL-13 bewirken mit einem kostimulatorischen Zweitsignal (Kontakt von CD40 auf der B-Zell-Oberfläche und CD40-Ligand auf der T-Zell-Oberfläche) den Switch von der allergenspezifischen IgM- auf die allergenspezifische IgE und IgG4-Produktion in den B-Zellen.<sup>101</sup> Die Produktion von allergenspezifischem IgE stellt den letzten Schritt der allergischen Sensibilisierungskaskade dar.

IgE-Antikörper binden an hochaffine IgE-Rezeptoren (Fc $\epsilon$ RI) auf gewebständigen Mastzellen, zirkulierenden basophilen Granulozyten und aktivierten Langerhanszellen. Schwächer und kürzer binden auch IgG4-Antikörper an diesen Rezeptor. Die Kreuzvernetzung von zwei mastzellgebundenen IgE-Antikörpern nach spezifischer Allergenbindung triggert die Freisetzung von Entzündungsmediatoren (u.a. Histamin, IL-4, IL-5) aus den Mastzellen. IL-5 wiederum wirkt chemotaktisch auf Eosinophile und senkt die Degranulationsschwelle für diese Zellen. (**Abbildung 3**)





**Abbildung 3.** Pathophysiologie der allergischen Sensibilisierung. (Barnes<sup>91</sup>)

Man unterscheidet eine akute und chronische Phase der allergischen Entzündung. In der akuten Phase wird durch die Allergenbindung an zwei zellständige IgE-Moleküle mit deren konsekutiver Kreuzvernetzung die Freisetzung von zyto- und neurotoxischen Entzündungsmediatoren aus den Effektorzellen getriggert. Diese Mediatoren führen zu den typischen Symptomen der akuten Typ I-Allergie: an den Atemwegen zur Schwellung und Hypersekretion der Schleimhaut, zum Spasmus der Bronchialmuskulatur, zu Juckreiz und Ekzem an der Haut, zu Erbrechen und Durchfall im Gastrointestinaltrakt. Die akute Phase der allergischen Entzündung ist durch die reversible lokalisierte Schädigung des Zielgewebes charakterisiert.<sup>102,103</sup> In der chronischen Phase der allergischen Entzündung kommt es zu irreversiblen Umbau von geschädigtem Gewebe. Untergegangene Zellen werden von Mastzellproteasen abgebaut und durch Kollagen ersetzt, woraus ein Elastizitätsverlust des Gewebes resultiert.

### 1.3.5 Ursachen der Allergieentstehung

Die familiäre Häufung von atopischen Erkrankungen weist auf eine genetische Komponente als Ursache hin. Da hierbei jedoch kein klassisches Vererbungsmuster vorliegt,<sup>104</sup> wird ein genetischer Polymorphismus angenommen.<sup>105</sup> In Anbetracht des signifikanten Anstiegs allergischer Erkrankungen in den letzten Dekaden, sind Veränderungen im genetischen Pool als Hauptursache allerdings nicht plausibel.<sup>104</sup> Vor diesem Hintergrund wird postuliert, dass veränderte Umweltbedingungen ursächlich für die Allergie- und Asthmaepidemie der letzten Jahrzehnte sind. Auf der

Basis von Interaktionen mit der Umwelt bei bereits vorhandener genetischer Prädisposition lässt sich eine gesteigerte Suszeptibilität für Atopie und allergische Erkrankungen erklären. Genetische Variationen, einst aus der Resistenzentwicklung gegenüber parasitären und bakteriellen Infektionen evolviert, könnten durch eine sich rasch verändernde Umwelt fehlgeleitet worden sein.<sup>104</sup> Dies wird durch den Begriff „Gen-Umweltinteraktion“ beschrieben<sup>106</sup> und kann unter anderem durch epigenetische Veränderungen durch Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Methylierungen erfolgen.<sup>107</sup>

Epithelzellen interagieren mit dendritischen Zellen unter anderem über Thymic stromal lymphopoetin (TSLP), IL25 und IL33. 2012).<sup>91,108,109</sup> Die Produktion von TSLP ist abhängig von Verletzungen und Entzündungen der epithelialen Barriere. TSLP bewirkt eine Förderung der TH2-Antwort<sup>108,109</sup> durch dendritische Zellen.<sup>91</sup> Das Epithel kann auch direkt über Pattern Recognition Receptors<sup>91</sup>, wie CD14 oder TLR4, stimuliert werden. Eine besondere Rolle in der Integrität der epithelialen Barriere der Haut kommt dabei dem Protein Fillaggregin zu. Fillaggregin-Mutationen stehen in engem Zusammenhang mit atopischem Ekzem, Asthma, Nahrungsmittelallergien und Rhinitis.<sup>108</sup> Es besteht die Hypothese, dass durch Mutationen im Fillaggregin codierenden Genlocus ein Defizit in der epithelialen Barriere entsteht, welches Allergenexposition durch die Haut zulässt und so Sensibilisierungsreaktionen und nachfolgende allergische Inflammation begünstigt.<sup>110</sup> (**Abbildung 3**)

Basierend auf zunächst epidemiologischen Studien wurde die „Hygiene-Hypothese“ formuliert, durch welche Umweltfaktoren wie Ernährung und bakterielle Infektionen in den Fokus der wissenschaftlichen Forschung rückten und zu neuen Ansätzen führten, die von einem Verlust protektiver Faktoren in unserem Lebensstil ausgehen und den Anstieg der Allergie- und Asthmaprävalenz erklären.<sup>111</sup> Auf dieser Grundlage wurden im europäischen und nichteuropäischen Ausland Studien durchgeführt, welche auch den Bauernhofeffekt untersuchten.<sup>112</sup> Im Rahmen dieser Studien konnte gezeigt werden, dass vor allem der Kontakt mit dem Tierbestand des Bauernhofes, Kontakt mit Tierfutter wie Heu, Stroh, Getreide und Silage, sowie der regelmäßige Konsum von frischer Kuhmilch das Risiko für Asthma und Allergien reduziert. Diese Effekte sind unabhängig voneinander, weshalb die Autoren zu dem Schluss kommen, dass Inhalation und Ingestion die zwei wichtigsten

Expositions routen sind. Auch sind diese Effekte unabhängig von anderen Lebensstil-Faktoren, wie Stillen und Familiengröße und hatten den größten Effekt, wenn die Exposition in utero oder im ersten Lebensjahr auftrat.<sup>112</sup> Eine Metaanalyse ergab eine 25% geringere Prävalenz von Asthma und Giemen unter Kindern, welche dem Bauernhofmilieu ausgesetzt waren.<sup>113</sup> Die PARSIFAL-Studie unterstrich die protektive Wirkung einer mikrobiell vielfältigen Umwelt.<sup>114</sup> Eine Detailanalyse, der im Rahmen der Studie gesammelten Matratzenstaubproben auf die Zusammensetzung der dort gefundenen Bakterienflora, belegte diesen Effekt. Analysen von Stäuben aus Kinderbetten, die im Rahmen der GABRIEL(A)-Studie durchgeführt wurden, belegen, dass nicht nur eine vielfältige bakterielle Flora mit der Asthmaprotektion bei den Indexkindern assoziiert ist, sondern auch Pilzsporen diesen Effekt zeigen.<sup>115</sup> Die mikrobielle Diversität stand in beiden Studien in starker inverser Beziehung zum Auftreten von Asthma. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass die mütterliche mikrobielle Exposition die TLR Expression der mütterlichen Lunge und der des Neugeborenen bestimmt.<sup>75</sup> Dies erklärt möglicherweise den protektiven Effekt bei Bauernhofkindern, die im Übrigen auch ein viel diverseres Mikrobiom im Hausstaub<sup>74</sup> und im Stuhl haben.<sup>116</sup>

### **1.3.6 Einfluss der Pertussis-Impfung auf die Allergieentwicklung**

Impfungen in der frühen Kindheit werden während der initialen Th2 dominierten Phase verabreicht und sind potentielle Trigger für eine generelle Prägung des Immunsystems. Transiente IgE-Antworten sind Bestandteil einer regulären Immunantwort gegen Diphtherie-, Tetanus- und Pertussis-Impfantigene.<sup>117-121</sup> Soweit bekannt ist die IgE-Antwort auf Impfantigene ein immunologisches Phänomen, das nicht mit allergischen Sofortreaktionen auf Impfstoffgabe assoziiert ist. Diese Antwort ist jedoch bei Atopikern viel deutlicher ausgeprägt.<sup>118,119,122</sup> P-IgE wird häufiger nach Impfung mit azellulärem Impfstoff als mit zellulärem Impfstoff gebildet.<sup>125</sup> Die Immunantwort gegen den azellulären Pertussis-Impfstoff ist eher Th2-assoziiert als gegen den zellulären Impfstoff.<sup>123</sup>

In mehreren vorangegangenen Studien wurde der Einfluss von Pertussis oder Pertussis-Impfung auf die Häufigkeit von klinischen Manifestationen der Allergie untersucht. Die Datenlage ist heterogen. In der retrospektiven Studie wurde bei britischen Kindern, die als Säuglinge mit ganzzellulärem Impfstoff geimpft wurden,

eine fünffach erhöhte Prävalenz von Asthma beschrieben.<sup>124</sup> In einer retrospektiven, anamnestischen Erhebung zeigte sich bei DTP-geimpften gegenüber T-geimpften Kindern ein doppeltes Asthma Risiko.<sup>125</sup> In Neuseeland wurde unter 1265 Kindern bei 23 Ungeimpften bis zum 10. Lebensjahr kein Asthma und keine Allergien gefunden, wohingegen 23.1% der DTP-geimpften Kinder Asthma-Episoden hatten und 30% wegen anderer allergischer Erkrankungen einen Arzt konsultierten. In einer weiteren retrospektiven Studie wurde DTP-Impfung als Risikofaktor für die kumulative Rate atopischer Erkrankungen identifiziert (OR 1.8, 95%CI 1.4-2.2).<sup>126</sup> Für respiratorische Allergien war dort allerdings erst im Jugendalter ein erhöhtes Risiko erkennbar. In anderen Studien konnte dieser Zusammenhang nicht bestätigt werden.<sup>122,130</sup> Eine schwedische prospektive Studie zeigte bei Pertussis-erkrankten Kindern ein doppelt so häufiges Risiko für das Auftreten von Asthma.<sup>125</sup> Dagegen zeigte sich in einer neuseeländischen Querschnittsstudie kein Zusammenhang von Asthma und Pertussis.<sup>111</sup>

Vor mehr als 50 Jahren war bereits der adjuvante Effekt von *Bordetella pertussis* auf die IgE-Produktion erkannt worden. Bei Ratten, die mit *Bordetella pertussis* infiziert worden waren, konnte nach Anaphylaxie eine ausgeprägtere Schädigung durch Mastzelldegranulation und erhöhte Histaminfreisetzung durch „Mastzell-sensibilisierende Antikörper“ (IgE) beobachtet werden.<sup>127</sup>

P wird seit langem als Adjuvans für die IgE-Produktion gegen gleichzeitig verabreichte Antigene in Tiermodellen angewandt.<sup>128-131</sup> Sowohl nach Pertussis-Infektion<sup>132,133</sup> als auch nach primärer Pertussis-Impfung<sup>134-137</sup> können bei Kindern IgE gegen P nachgewiesen werden. Es gibt Angaben darüber, dass nach Auffrisch-Impfung bei Kindern, denen primär azellulärer Impfstoff verabreicht wurde, IgE gegen P nachgewiesen wurde, nicht aber bei Kindern, denen primär ganzzellulärer Impfstoff verabreicht wurde.<sup>132</sup> Nach Pertussis-Infektion ist ein erhöhtes Gesamt-IgE beschrieben worden.<sup>138,139</sup> Gegenüber nicht erkrankten Kindern wurde bei Kindern nach Pertussis-Infektion gering vermehrtes spezifisches IgE gegen andere Allergene nachgewiesen.<sup>138,140,122</sup>

Immunologisch sind in diesem Zusammenhang auch Lipopolysaccharide (LPS) interessant, welche die Grundstruktur bakterieller Zellwand bilden. In experimentellen

Modellen wurde der Einfluss von LPS als Bestandteil bakterieller Zellwand auf die Immunantwort bei Allergenexposition untersucht. LPS reguliert die IgE-Synthese, allergische Entzündung und allergische Atemwegsreaktion herunter.<sup>141</sup> LPS scheint auch einen inhibitorischen Effekt auf allergische Atemwegserkrankungen bei Kindern zu haben.<sup>142</sup> Der klinische Einsatz von LPS enthaltenden zerhackten Fäkal-Keimen wurde in der Allergieprävention bereits wissenschaftlich untersucht.<sup>143</sup> LPS ist auch Bestandteil der Zellwand von *Bordetella pertussis*. (**Abbildung 1**)

Pertussis-Infektion löst eine Th1-Immunantwort aus. Lymphozyten von Patienten nach Pertussis-Infektion wurden *in vitro* mit Pertussis-Antigenen stimuliert, woraufhin die Lymphozyten mit einem Th1-Zytokinmuster reagierten (hohe IFN- $\gamma$ -Werte, niedrige IL-5-Werte).<sup>144,145,146</sup> Im murinen Modell ist eine frühe Th1-Antwort Voraussetzung für die Elimination von *Bordetella pertussis*,<sup>147,148</sup> im späteren Verlauf jedoch zum Schutz des Gewebes balanciert durch Sekretion von Th2-typischen Zytokinen.<sup>148</sup> In B-Zell-defizienten Mäusen kommt es zu einer disseminierten Infektion des Respirationstrakts.<sup>149</sup> T-Zell-defiziente Mäuse können die Infektion nicht beherrschen und gehen zugrunde.<sup>150</sup> Im Tiermodell scheinen Elemente beider Th-Schenkel wesentlich für die Bewältigung einer Infektion mit *Bordetella pertussis* zu sein.<sup>41</sup>

Ganzzelluläre und azelluläre Impfstoffe lösen unterschiedliche Immunantworten aus. Lymphozyten von Patienten, denen ganzzellulärer Impfstoff verabreicht wurde, zeigen ähnlich wie Lymphozyten von Patienten, die eine Pertussis-Infektion erlitten hatten, eine Th1-Immunantwort (hohe IFN- $\gamma$ - und IL-2-Werte, niedrige IL-4- und IL-5-Werte).<sup>151,123</sup> Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, dass PT und Lipopolysaccharide von *B. pertussis* dafür verantwortlich sind und nicht Komponenten aus azellulären Impfstoffen (FHA, detoxifiziertes PT und Pertactin).<sup>152,153</sup> Lymphozyten von Patienten nach Impfung mit azellulärer Vakzine zeigen dagegen eine gemischte Th1/Th2-Immunantwort mit starker Sekretion von IFN- $\gamma$ , IL-4 und IL-5.<sup>151</sup> Nach Auffrischimpfung mit azellulärer Vakzine zeigt sich eine Th2-polarisierte Immunantwort mit herunterregulierter Sekretion von IFN- $\gamma$  und heraufregulierter Sekretion von IL-5.<sup>123,53</sup>

## 1.4 Fragestellungen

Es konnte zuvor bereits gezeigt werden, dass die zelluläre *Bordetella pertussis*-Impfung spezifische IgE und IgG4-Antikörper (nicht jedoch spezifische protektive IgG-Antikörper) gegen Diphtherie- und Tetanus-Impfantigene dosisabhängig herunterreguliert.<sup>121</sup>

Unbekannt ist, ob hinsichtlich der IgE-Antwort auf kovakzinierte Impfantigene azelluläre Pertussis-Impfstoffe anders als die ganzzellulären Impfstoffe agieren. Theoretisch könnte dies der Fall sein, weil in diesen Impfstoffen das LPS der bakteriellen Zellwand von *Bordetella pertussis* fehlt und deshalb ein wesentlicher Faktor für die Herunterregulierung der IgE-Antwort auf kovakzinierte Antigene nicht zur Verfügung steht. In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir deshalb bei zellulär und azellulär geimpften Kindern als humanes *in vivo*-Modell für Immunmodulation, ob in Abhängigkeit vom *Bordetella pertussis*-Impfstoff, die humorale Immunantwort gegen kovakzinierte Diphtherie- und Tetanus-Antigene beeinflusst wird.

Durch die Einbeziehung einer Kohorte aus einer prospektiven Pertussis-Impfstudie aus Schweden<sup>120</sup> stand eine Population zur Verfügung, die aussagekräftige Ergebnisse zu folgenden Fragestellungen erwarten ließ:

- (1) Wie ist die Antikörperproduktion von IgE- und IgG4-Antikörpern gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid nach den verschiedenen Impfprotokollen?
- (2) Welche Unterschiede bestehen zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern hinsichtlich der Bildung von Impfantikörpern?
- (3) Welchen Einfluss hat eine Kovakzination mit Pertussis (azellulär bzw. ganzzellulär) auf die Ausbildung von Impfantikörpern und Antikörpern gegen Allergene?

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Patienten

Patienten standen aus einer prospektiv seit 1992 verfolgten Interventionsstudie in Schweden zur Verfügung. In dieser doppelblinden, randomisierten Studie wurde die Wirkung von zwei azellulären und einer ganzzellulären Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Vakzine mit einer Diphtherie-Tetanus-Vakzine als Kontrolle verglichen. Dazu wurden 9.828 Kinder, die 1992 in Schweden geboren wurden, in 14 Zentren rekrutiert.<sup>44</sup> In einem dieser Zentren (Linköping) wurden 711 von 788 Kindern für eine Studie zur Untersuchung des Einflusses der Pertussis-Impfung auf die Atopie-Entwicklung rekrutiert, von denen 669 Kinder drei Impfdosen erhielten und an Folgeuntersuchungen bis zum Alter von 30 Lebensmonaten teilnahmen.<sup>122</sup> In einer weiterführenden prospektiven Studie wurden 667 Kinder dieser Kohorte nach weiterer Auffrischimpfung im Alter von 7 Jahren mit Haut-Prick-Test und Fragebogen bezüglich der Entwicklung allergischer Erkrankungen nachuntersucht.<sup>154</sup> Für die vorliegende Studie wurden die Blutproben von 265 dieser Kinder mit und ohne allergischer Sensibilisierung gegen Umweltallergene ausgesucht, um die humorale Immunantwort auf zelluläre und azelluläre Pertussis-Impfstoffe zu analysieren. Alle Kinder, die an dieser Studie teilnahmen, waren vollständig geimpft und hatten keine Pertussis-Infektion erlitten. Als atopische Prädisposition in dieser Studienpopulation galt, wenn mindestens ein Elternteil an Asthma bronchiale, atopischer Dermatitis oder allergischer Rhinitis litt.

### 2.2 Impfungen

Die randomisierten Kinder erhielten jeweils einen von 4 Impfstoffen, deren Zusammensetzung in **Tabelle 1** aufgeführt ist. Alle Kinder erhielten Impfstoffe aus identischen Ampullen mit individueller Randomisierungsnummer. Unmittelbar vor der Datenauswertung wurde die Verblindung aufgehoben. Die Impfstoffe wurden jeweils dreimal in gleichen Zeitintervallen intramuskulär in den Musculus vastus lateralis appliziert. Die erste Impfung erfolgte mit 2 Lebensmonaten, die zweite mit 4 Lebensmonaten und die dritte mit 6 Lebensmonaten. (**Abbildung 4**)

**Tabelle 1.** Die verwendeten Impfpräparate für Kinder gegen Diphtherie-Tetanus (DT) und Diphtherie-Tetanus-Pertussis (DTP). AC-2, azellulärer Pertussis-Impfstoff mit 2 Komponenten; AC-5, azellulärer Pertussis-Impfstoff mit 5 Komponenten; WC, ganzzellulärer Pertussis-Impfstoff.

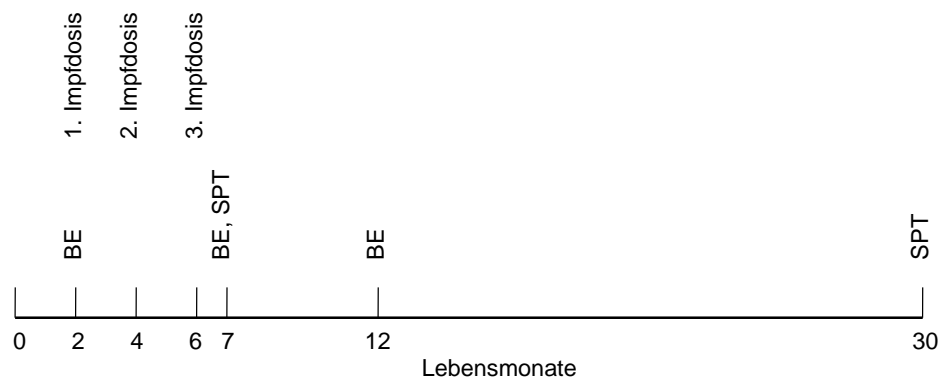
Typ	Hersteller	Zusammensetzung
DTP, AC-2	SmithKline Beecham, Rixensart, Belgien	Inaktiviertes Pertussis-Toxin 25µg Hämagglutinin 25µg Diphtherie-Toxoid 25Lf Tetanus-Toxoid 10 Lf Aluminium 0.50mg
DTP, AC-5	Connaught Laboratories, Toronto, Kanada	Inaktiviertes Pertussis-Toxin 10µg Filamentöses Hämagglutinin 5µg Fimbriae 2 + 3 5µg Pertactin 3µg Diphtherie-Toxoid 15Lf Tetanus-Toxoid 5Lf Aluminium 0.33mg
DTP, WC	Connaught Laboratories, Swiftwater, PA, USA	Inaktiviertes Pertussis-Toxin 5.7IE Diphtherie-Toxoid 6.65Lf Tetanus-Toxoid 5Lf Aluminium
DT	Swedish National Bacteriological Laboratory, Stockholm, Sweden	Diphtherie-Toxoid 15Lf Tetanus-Toxoid 3.75Lf Aluminium

## 2.3 Klinische Diagnosen

### 2.3.1 Erhebungszeitpunkte, Befragung und Untersuchung

Die Kinder wurden mit 2, 7 und 30 Lebensmonaten einer körperlichen Untersuchung unterzogen. Die Eltern erhielten Fragebögen in Bezug auf Nikotin-Exposition, Feuchtigkeit im Haus, Haustiere, Ernährung und allergische Symptome ihres Kindes. Zudem wurden die Eltern in 6-wöchigem Abstand zu möglichen Pertussis-Symptomen befragt und um Rückmeldung gebeten, falls ihr Kind bereits 7 Tage oder länger hustet (s.u. 2.3.2).





**Abbildung 4.** Zeitpunkte der Impfungen und Untersuchungen. BE Blutentnahme, SPT Skin-Prick-Test (Haut-Prick-Test).

### 2.3.2 Klinische Atopiemannifestationen

Die Diagnose einer atopischen Erkrankung wurde auf der Basis von Fragebögen, klinischer Untersuchung und Krankenakten gestellt. Berücksichtigt wurden Asthma bronchiale, atopische Dermatitis, allergische Rhinokonjunktivitis, Urtikaria und Nahrungsmittelallergie.

Asthma bronchiale wurde definiert als mindestens 3 Episoden mit obstruktiver Bronchitis vor dem 2. Geburtstag oder 1 Episode mit bronchialer Obstruktion ohne eine andere ursächliche Erklärung nach dem 2. Geburtstag.<sup>122</sup> Atopische Dermatitis wurde definiert als anhaltendes oder rezidivierend juckendes Ekzem mit einer Dauer von 6 Monaten oder länger. Für die Diagnosestellung einer allergischen Rhinokonjunktivitis mussten beide der folgenden Fragen bejaht werden: „Hatte Ihr Kind in den vergangenen 12 Monaten Niesen, Rhinorrhoe oder eine verstopfte Nase ohne erkältet gewesen zu sein?“ und „Waren in den vergangenen 12 Monaten diese aufgetretenen Nasenbeschwerden begleitet von juckenden oder tränenden Augen?“ Urtikaria wurde

als eine allergische Reaktion gewertet, wenn die Symptome nach Exposition gegenüber einem Allergen auftraten und im Hautpricktest eine positive Reaktion gegen dasselbe Allergen festgestellt wurde (s.u. 4.1). Die Diagnose einer Nahrungsmittelallergie wurde bei mindestens einmaligem Auftreten von Durchfall, Erbrechen, Urtikaria oder Quincke-Ödem nach Verzehr eines bestimmten Nahrungsmittels, gegen das auch spezifische IgE-Antikörper nachgewiesen werden konnten, gestellt.

### **2.3.3 Diagnostische Kriterien für Pertussis**

Die Diagnose Pertussis wurde gemäß der WHO-Definition gestellt.<sup>155</sup> Die Eltern wurden in 6-wöchigem Abstand telefonisch kontaktiert und zu möglichen Pertussis-Symptomen bei ihrem Kind befragt. Bei Auftreten einer 7 Tage oder länger andauernden Hustensymptomatik wurden serologische Analysen in Blutproben und mikrobiologische Abstriche aus Nasopharyngealsekret auf *Bordetella pertussis* durchgeführt. Die Diagnose Pertussis wurde gestellt, wenn anfallsartiger Husten für mindestens 21 Tage und zusätzlich eines der folgenden Kriterien vorlag: kultureller Nachweis von *Bordetella pertussis*, Anstieg von IgG- oder IgA-Antikörpern gegen PT um  $\geq 100\%$ , Anstieg von IgG- oder IgA-Antikörpern gegen FHA um  $\geq 100\%$  (bei negativer Kultur oder PCR für *Bordetella parapertussis*) oder der dokumentierte Kontakt zu einem Mitglied desselben Haushalts mit kulturell nachgewiesener *Bordetella pertussis* – Infektion und Hustenbeginn innerhalb von 28 Tagen vor oder nach Hustenbeginn des Studienpatienten.

## **2.4 Allergische Sensibilisierung gegen Umweltallergene**

### **2.4.1 Haut-Prick-Test**

Eine mögliche allergische Sensibilisierung wurde mit Hilfe von Haut-Prick-Tests festgestellt. Diese wurden bei den Patienten der Kohorte jeweils doppelt auf den Unterarmen volarseitig durchgeführt. Getestet wurden Milch (pasteurisierte fettarme Kuhmilch), Ei (natives Eiweiß) und Katzenepithelien im Alter von 7 Lebensmonaten; sowie Ei, Katzenepithelien, Hundepithelien, Hausstaubmilben (*Dermatophagoides pteronyssimus*, *Dermatophagoides farinae*), Birkenpollen und Lieschgraspollen im Alter von 30 Lebensmonaten. Kuhmilch, Hühnereiweiß und Soluprick SQ-Extrakte (10 HEP; Allergologisk Laboratorium A/S, Hørsholm, DK) für die übrigen Allergene wurden entsprechend den Empfehlungen der European Academy of Allergology and Clinical Immunology angewendet.<sup>156</sup> Der Test wurde als positiv bewertet bei Auftreten von

Hautquaddeln mit einem mittleren Durchmesser von mindestens 3 mm nach 15 Minuten. Als Positiv- und Negativkontrolle wurden Histamindihydrochlorid (10 mg/mL) und Kochsalzlösung hinzugezogen. In den 3 Tagen vor Durchführung des Haut-Prick-Tests durften keine Antihistaminika eingenommen worden sein. Die Definition von Atopie war ein positiver Haut-Prick-Test für mindestens ein Nahrungsmittelallergen und/oder inhalatives Allergen mit 7 oder 30 Monaten.

## **2.5 Serologie**

### **2.5.1 Proben**

Die venösen Blutentnahmen (BE) zur Durchführung der Analysen erfolgten zunächst vor der ersten Impfung im Alter von 2 Lebensmonaten, einen Monat nach der dritten Impfung im Alter von 7 Lebensmonaten und mit 12 Lebensmonaten. Die Blutproben wurden abzentrifugiert und das Serum bei -20°C gelagert. Jedes Serumröhrchen wurde mit der entsprechenden Randomisierungsnummer versehen. Das Auftauen der Proben erfolgte unmittelbar vor Durchführung der Analysen. Um eine homogene Durchmischung zu erhalten, wurden die Proben geschüttelt. Für die IgG4-Bestimmung wurde das Serum 1:40 verdünnt. Somit stand hierfür mehr Material zur Verfügung als für die IgE-Bestimmung, für die unverdünntes Serum benötigt wurde. Standen geringe Blutmengen zur Verfügung, wurde der Diphtherie-Serologie Vorzug gegeben. IgE gegen Pertussis-Toxin wurde bei einer Untergruppe von Kindern im Alter von 7 bzw. 12 Lebensmonaten bestimmt.

### **2.5.2 Analyse von spezifischen IgE- und IgG4-Antikörpern gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid**

Diphtherie- und Tetanustoxoid wurden an Bromcyan-aktivierte Sepharose gekoppelt (Sepharose 1mg Protein/g, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden; 1 mg gekoppeltes Impfantigen-Protein entsprechen 1500 Limit of Flocculation Units (Lf) Tetanustoxoid und 1800 Lf Diphtherietoxoid). Die Sepharose wurde in einer Konzentration von 2 mg/ml mit PBS gemischt, welche 10 mM EDTA, 0,2% Tween 20 und 0,05 mg/ml NaN<sub>3</sub> (IgE), PBS mit 0,5% Schafsserum (v/v), 4,5% Rinderserum (v/v), 0,2% Tween 20 (v/v), 0,3% BSA (w/v), und 10 mM EDTA (IgG4) beinhaltet. Der RAST für IgE und IgG4 wurde durchgeführt, indem 50 ml Serum (IgE unverdünnt; IgG4 1:40 verdünnt) mit 250ml Sepharose über Nacht inkubiert wurde. Anschließend wurde die Mischung fünfmal mit PBS-Tween 0,1% gewaschen. Eine zweite Inkubation erfolgte mit

500 ml Medium (0,5% Schafsserum (v/v); 4,5% Rinderserum (v/v); 0,2% Tween 20 (v/v); 0,3% BSA (w/v); 10 mM EDTA in PBS (pH 7,4)) plus 50 ml polyklonale anti-IgE-Antikörper vom Schaf oder mit 500 ml Medium (0,3% BSA; 0,2% Tween 20; 10 mM EDTA in PBS, pH 7,4) plus 50 ml monoklonale anti-IgG4-Antikörper (beides radioaktiv markiert mit  $^{125}\text{I}$ ). Abschließend wurde viermal über 12 Stunden mit PBS-Tween 0,1% gewaschen. Der prozentuale Anteil von gebundenem  $^{125}\text{I}$  wurde mit einem Gammazähler gemessen. Die Ergebnisse wurden an einer standardisierten Kabilbrierungskurve für IgE in Rast Units (RU) (27, 9, 3, 1 und 0,3 RU; 1 RU  $\approx$  1,54 IU/ml) abgelesen. IgG4 wurde in willkürlichen Einheiten (arbitrary RU, a-RU) anhand einer IgG-Standard-Kurve berechnet, welche sich aus einer Mischung von Proben von zwei gegen Gras und Pollen sensibilisierten Patienten in einer Verdünnung von 1:45, 1:90, 1:180, 1:360, 1:720 und 1:1440 zusammensetzt. Der Grenzwert für einen positiven Test lag bei 0,35 kU/l (D-IgE, T-IgE) und 5 IU/ml (D-IgG4, T-IgG4).

### **2.5.3 Analyse von IgG gegen Diphtherie-Antitoxin**

Als Antigen wurde gereinigtes Diphtherie-Toxin mit einer spezifischen Aktivität von 2700 Lf/mg Protein Nitrogen eingesetzt. PVC ELISA-Platten wurden pro Zelle mit 0,1 ml einer Lösung aus Toxin, welches 1 Lf pro ml enthält, umhüllt. Acht zweifach verdünnte Seren wurden eingesetzt, beginnend mit einer Verdünnung von 1:24 im Puffer. Als Referenz-Antitoxin wurde eine standardisierte Anfertigung eines humanen Antitoxin-Immunglobulins (IgG) verwendet (freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. S. Varallay, Swiss Serum und Vaccine Institute, Bern). Absorptionswerte zwischen 0,1 und 0,2 wurden eingesetzt, um die Kurven abzulesen. Das untere Limit der Assay-Prozedur wurde bei 0,02 ELISA-Einheiten pro milliliter (EU/ml), äquivalent zu 0,02 IU/ml, gesetzt. Entsprechend wurde gereinigtes Tetanus-Toxin mit einer spezifischen Aktivität von 1760 Lf/mg Nitrogen-Protein als Antigen für den Tetanus-Antitoxin-ELISA eingesetzt. Das untere Limit der Assay-Prozedur wurde bei 0,025 EU/ml, äquivalent zu 0,025 IU/ml, gesetzt.

### **2.5.4 Analyse von IgE gegen Pertussis-Toxin**

IgE gegen Pertussis-Toxin wurde mithilfe des Magic Lite Systems (ALK, Hørsholm, Dänemark) analysiert, einem immuno-chemiluminometrischen Assay. Dabei werden paramagnetische Partikel als Festphase für die Kopplung eingesetzt. Gereinigtes Pertussis-Toxin wurde mit dem Magic Lite SQ Allergy System Coupling Kit (ALK,

Hørsholm, Dänemark) an die paramagnetischen Partikel gekoppelt, wie bereits an anderer Stelle beschrieben.<sup>125</sup> Der Kopplungsgrad war hoch, da kein Protein vom Puffer, der für den Kopplungsprozess eingesetzt wurde, zurückgewonnen werden konnte. Unspezifische Bindung fand nicht statt, da kein Signal detektiert wurde, als die solide Pertussis-Toxin-Phase mit negativem Kontroll-Serum oder mit Verdünner inkubiert wurde. Für die IgE-Bestimmung nutzten wir das Hochsensitivitäts-Protokoll mit einer über Nacht-Inkubation des Serums und der soliden Phase bei Raumtemperatur. Die Nachweisgrenze lag bei 0,5 SU/ml.

## **2.6 Statistik**

Für die statistischen Analysen kam SPSS für Windows 10,0 (SPSS Inc.) zum Einsatz. Mittels Pearson's Chi-Quadrat-Test wurden Assoziationen in zweidimensionalen Häufigkeitstabellen analysiert (mit Yates' Korrektur bei Fallzahlen  $\leq 20$ /Zelle). Der Exakte Fisher-Test wurde in 2x2-Tafeln angewandt, wenn die erwartete Häufigkeit in einer der Zellen unter fünf war. Der Mann-Whitney U-Test wurde für den Vergleich kontinuierlicher Variablen eingesetzt. Für Korrelationen wurde Spearman's Rho berechnet. Die Daten der IgE- und IgG4-Antikörper-Messungen sind linksverzerrt und wurden daher logarithmiert, um partielle Korrelationen zu berechnen. Statistische Signifikanz wurde bei einem zweiseitigen Alpha-Level von 0,05 angenommen.<sup>157,158</sup>

## **2.7 Ethik**

Die Eltern aller an der Allergie-Studie teilnehmenden Kinder aus der Pertussis-Impfstoff-Studie stimmten den zusätzlichen Probenentnahmen für die serologischen Analysen und den Untersuchungen bezüglich der Allergie-Entwicklung zu. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät, Universität Linköping, Schweden, anerkannt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Studienpopulation

Von den 265 Kindern, die in die Studie eingeschlossen wurden, erhielten 68 Kinder den ganzzellulären Pertussis-Impfstoff, 64 Kinder den 2-Komponenten-azellulären Impfstoff, 65 Kinder den 5-Komponenten-azellulären Impfstoff und 68 Kinder in der Kontrollgruppe erhielten den Diphtherie-Tetanus-Impfstoff. In **Tabelle 2** sind die demographischen Charakteristiken der Patienten in den untersuchten Gruppen mit analysierten Seren zusammengefasst. Die Gruppen unterschieden sich nicht statistisch signifikant hinsichtlich Geschlecht, atopischer Prädisposition, allergischer Sensibilisierung gegen Nahrungsmittel oder inhalative Allergene, Vorhandensein von felltragenden Haustieren, Rauchen in der Wohnung sowie Stilldauer.

**Tabelle 2.** Charakteristiken von 265 Kindern, die 3 Dosen von 1 der 3 Pertussis-Impfstoffe oder Diphtherie-Tetanus-Impfstoff erhielten. DT, Diphtherie- und Tetanustoxoid-Impfstoff (Kontrolle); DTPw, ganzzellulärer Pertussis-Impfstoff; DTPa2, 2-Komponenten-azellulärer Pertussis-Impfstoff; DTPa5, 5-Komponenten-azellulärer Pertussis-Impfstoff.

	DT N=68	DTPw N=68	DTPa2 N=64	DTPa5 N=65
Geschlecht, männlich [%]	50	49	42	51
Atopische Prädisposition [%]				
Mutter	33.8	35.3	37.5	38.5
Vater	39,7	32.4	35.9	41.5
Allergische Sensibilisierung [%]	27.9	32.4	46.9	40.0
Rauchexposition [%]	7.5	5.9	10.9	7.7
Felltragende Haustiere [%]	26.5	17.6	25.0	16.9
Stilldauer >3 Monate [%]	78.5	76.9	71.7	72.3

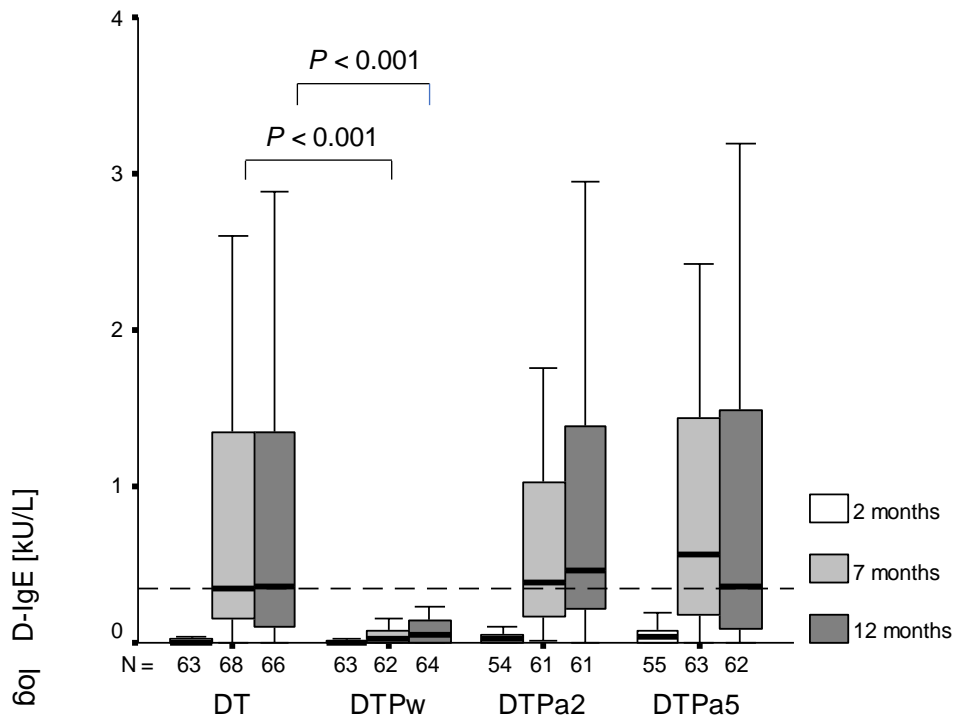
Diphtherie-Toxoid (D)-IgG wurde im Alter von 2, 7 und 12 Lebensmonaten bei 264, 265 und 256 Kindern bestimmt, D-IgE bei 235, 254 und 253 Kindern, D-IgG4 bei 235, 254, 253 Kindern. Tetanus-Toxoid (T)-IgG konnte im Alter von 2, 7 und 12 Lebensmonaten bei 264, 265 und 256 Kindern bestimmt werden, T-IgE bei 215, 227 und 223 Kindern, T-IgG4 bei 235, 254 und 253 Kindern. Pertussis-Toxin (P)-IgE

wurde in einer Untergruppe von 104 und 85 Kindern im Alter von 7 und 12 Monaten analysiert.

### **3.2 IgE gegen Diphtherie-Toxoid**

Vor der Impfung konnte kein IgE gegen Diphtherie-Toxoid nachgewiesen werden, aber 1 und 6 Monate nach der Impfung waren 44,1% und 44,7% der Blutproben positiv. 1 Monat nach erfolgter Impfung betrug die Konzentration von D-IgE in 31,5% der Blutproben 0,7kU/l (RAST-Klasse 2) oder mehr und maximal 15,2kU/l (RAST-Klasse 3). 6 Monate nach erfolgter Impfung betrug die Konzentration von D-IgE in 31,6% der Blutproben 0,7kU/l oder mehr und maximal 49,3kU/l (RAST-Klasse 4).

Einen Monat nach Impfung unterschied sich der Anteil von positiven Tests nicht statistisch signifikant zwischen der Kontrollgruppe (50,0%) und 2-Komponenten-azellulär (55,7%) oder 5-Komponenten-azellulär geimpften Kindern (60,3%), war jedoch deutlich niedriger bei Kindern, die mit ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff kovakziniert wurden (9,7%,  $P < 0,001$ ). Analog dazu war 6 Monate nach erfolgter Impfung die Rate an positiven Testresultaten in der Kontrollgruppe (51,5%) und bei den 2-Komponenten-azellulär (59,0%) oder 5-Komponenten-azellulär geimpften Kindern (53,2%) ähnlich hoch, jedoch signifikant niedriger bei Kindern, die mit dem ganzzellulären Pertussis-Impfstoff kovakziniert wurden (15,6%,  $P < 0,001$ ). Somit kann eine Herunterregulierung der D-IgE-Titer in der Gruppe, welche mit dem ganzzellulären Pertussis-Impfstoff geimpft wurde, verzeichnet werden. (**Abbildung 5**)

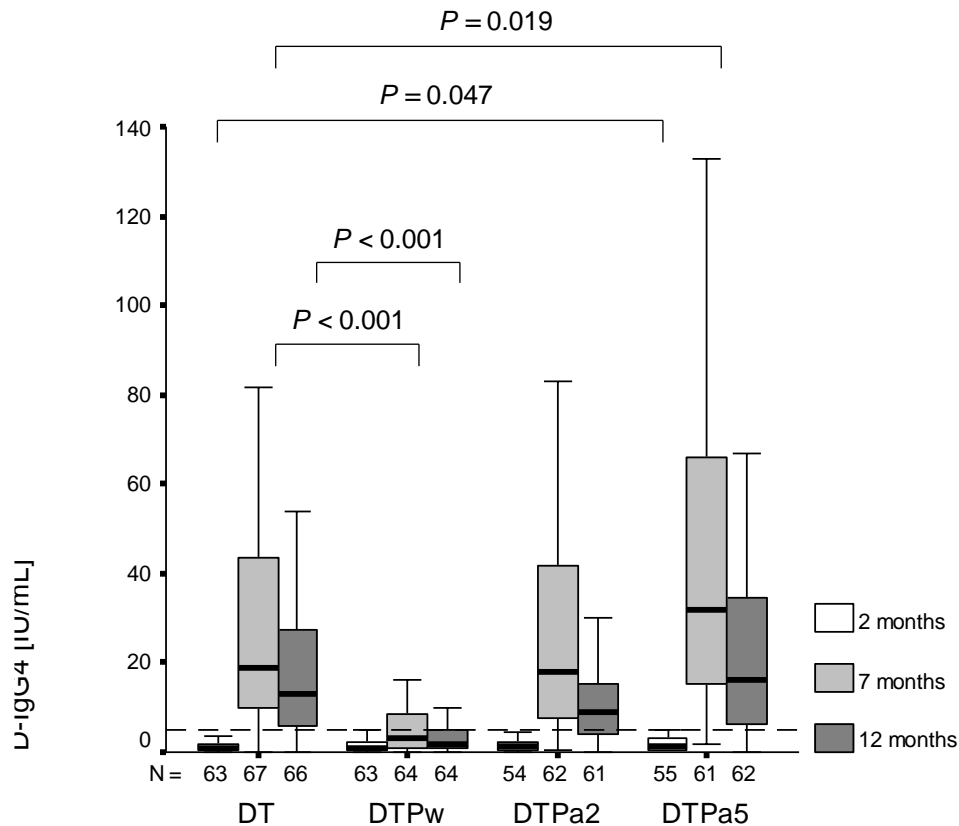


**Abbildung 5.** IgE gegen Diphtherie-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (0.35kU/L). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an. Die Differenz der Titer der Kontrollgruppe (DT) und azellulär geimpften Kindern zeigte keine statistische Signifikanz.

### 3.3 IgG4 gegen Diphtherie-Toxoid

D-IgG4 wurde selten vor erfolgter Impfung nachgewiesen (13,6%, maximal 1011 IU/ml), aber regelmäßig 1 Monat (76,4%, maximal 375 IU/ml) und 6 Monate (61,7%, maximal 244 IU/ml) nach Impfung. Mit 2, 7 und 12 Lebensmonaten wurde keine statistische Signifikanz zwischen der Kontrollgruppe (14,3%, 88,1% und 75,8%), dem 2-Komponenten- (13,0%, 82,3% und 67,2%) oder 5-Komponenten-azellulärem Impfstoff (14,5%, 93,4% und 79,0%) verzeichnet. Vor Impfung zeigte das Verhältnis von positiven Testresultaten zwischen der Kontrollgruppe und ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff keinen statistisch signifikanten Unterschied. Dieses Verhältnis war 1 Monat (DTPw 42,2%,  $P < 0.001$ ) und 6 Monate (DTPw 25,0%,  $P < 0.001$ ) nach Impfung beachtlich niedriger und zeigte somit eine Herunterregulierung von D-IgG4. (Abbildung 6)



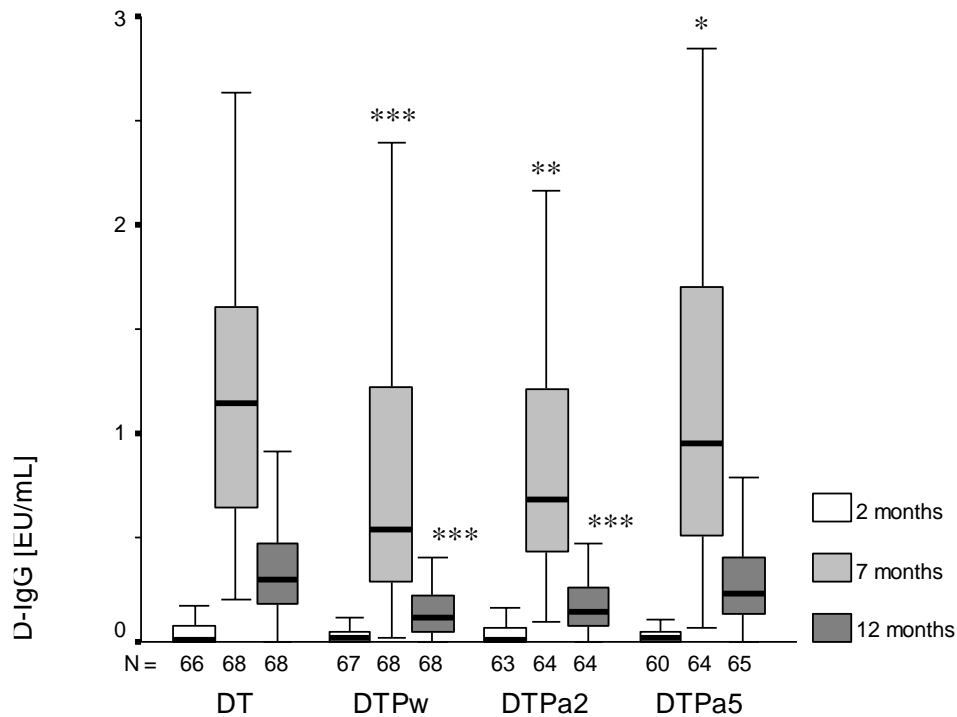


**Abbildung 6.** IgG4 gegen Diphtherie-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (5 IU/ml). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an.

### 3.4 IgG gegen Diphtherie-Toxoid

Die D-IgG-Serumtitel waren vor der ersten Impfung im 2. Lebensmonat niedrig (Median 0,02 EU/ml). Einen Monat nach Impfung stiegen die Titer an und fielen in den darauffolgenden Monaten ab (Median im 7. Lebensmonat 0,84 EU/ml; im 12. Lebensmonat 0,19 EU/ml). Es konnten vor Impfung keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Impfgruppen nachgewiesen werden (Median DT 0,01 EU/ml, DTPw 0,02 EU/ml, DTPa2 0,01 EU/ml, DTPa5 0,02 EU/ml). Einen Monat nach Impfung wiesen die D-IgG-Serumtitel der Kinder, die mit einer Pertussis-Vakzine geimpft wurden niedrigere Mediane auf als die Kontrollgruppe (DT 1,15 EU/ml, DTPw 0,54 EU/ml,  $P < 0.001$ ; DTPa2 0,69 EU/ml,  $P = 0.002$ ; DTPa5 0,95

EU/ml,  $P=0.473$ ). Der Abfall der IgG-Titer über die Zeit ist in allen Impfgruppen nachweisbar. Die IgG-Titer fielen bis zum Alter von 12 Lebensmonaten ab (Median DT 0,30 EU/ml, DTPw 0,12 EU/ml,  $P<0.001$ ; DTPa2 0,15 EU/ml,  $P<0.001$ ; DTPa5 0,23 EU/ml,  $P=0.046$ ). (**Abbildung 7**)



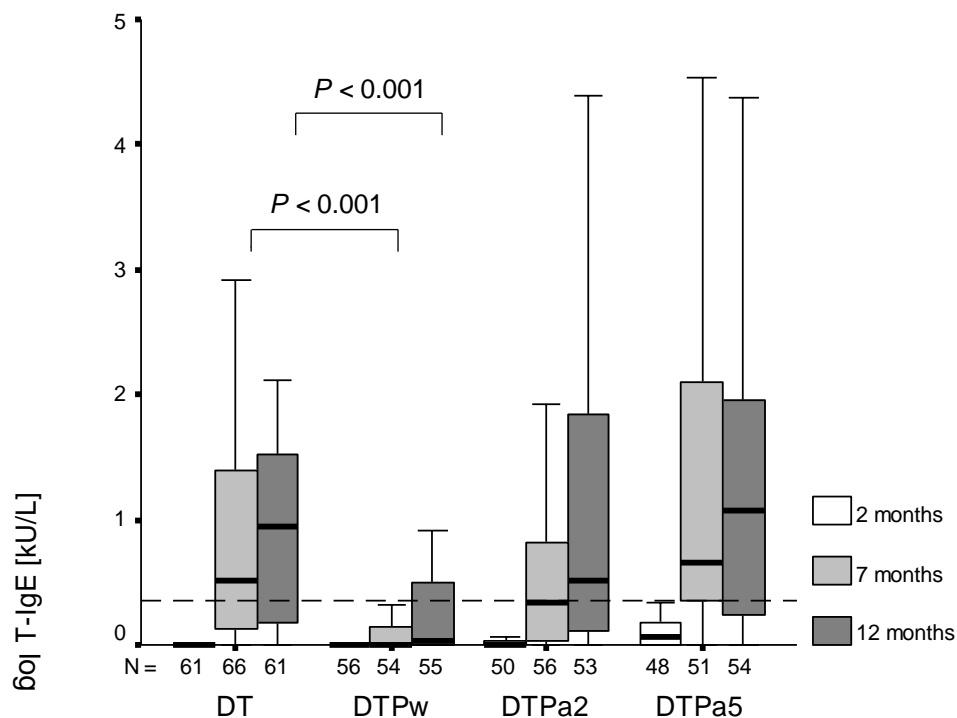
**Abbildung 7.** IgG gegen Diphtherie-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an. \* vs DT,  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

### 3.5 IgE gegen Tetanus-Toxoid

Vor der Impfung war IgE gegen Tetanus lediglich in einem Fall mit einem grenzwertigen Titer (0,36k U/l) nachweisbar. Einen Monat nach Impfung waren 49,3% der Serumproben positiv (33,0%  $\geq 0,7$  kU/l, Maximum 15,8 kU/l) und 6 Monate nach Impfung waren 58,3% positiv (44,8%  $\geq 0,7$  kU/l, Maximum 26,6 kU/L).

In der Gruppe der Kinder, die mit dem ganzzellulären Pertussis-Impfstoff immunisiert worden waren, war gegenüber der Kontrollgruppe der Anteil an positiven Testergebnissen für T-IgE im Alter von 7 Lebensmonaten (13,0% vs 59,1%;  $P<0,001$ ) und 12 Lebensmonaten (27,3% vs 67,2%,  $P<0,001$ ) signifikant niedriger.

Die Testergebnisse der Kinder, die mit dem 2-Komponenten- und dem 5-Komponenten-azellulären Impfstoff immunisiert wurden, unterschieden sich im Vergleich mit der Kontrollgruppe nicht signifikant im Alter von 7 Lebensmonaten (DTPa2 50,0%, DTPa5 74,5%) und 12 Lebensmonaten (DTPa2 66,0%, DTPa5 72,2%). Somit konnte eine Herunterregulation der T-IgE-Titer in der Gruppe der ganzzellulär geimpften Kinder gezeigt werden. (**Abbildung 8**)

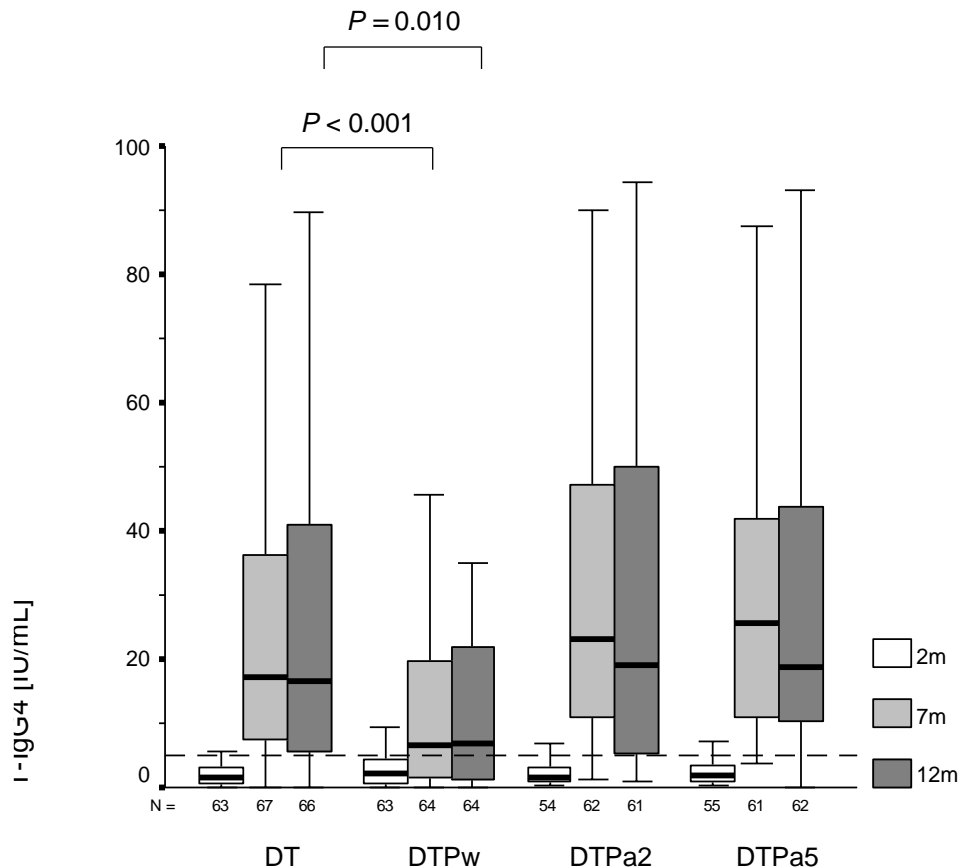


**Abbildung 8.** IgE gegen Tetanus-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) geimpft wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (0.35 kU/L). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an.

### 3.6 IgG4 gegen Tetanus-Toxoid

IgG4 gegen Tetanus-Toxoid mit einem Titer von >5 IU/ml wurde bei 16.2% der Kinder vor der ersten Impfung nachgewiesen, jedoch hauptsächlich in einem recht niedrigen Bereich (Median der positiven Tests 8.5 IU/ml; Maximum 41.6 IU/ml). Einen Monat nach Impfung waren 78.6% der Seren positiv (Maximum 143.3 IU/ml), 6 Monate nach Impfung waren es 75.1% (Maximum 324.4 IU/ml).

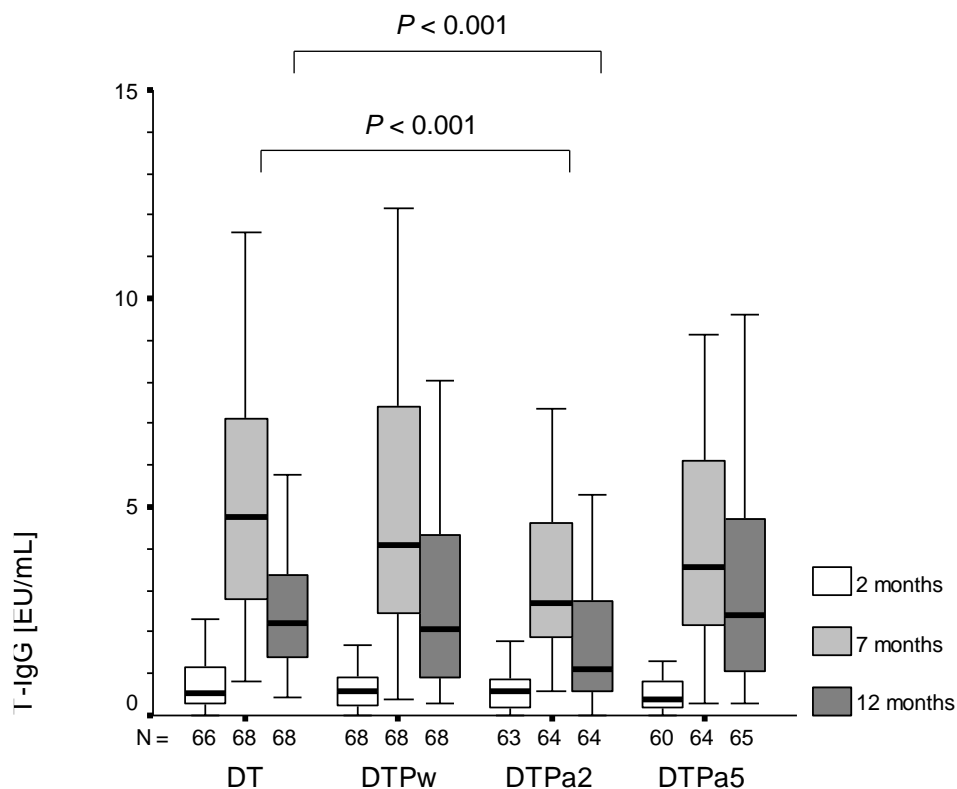
Vor der ersten Impfung konnte kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich des Nachweises von IgG4 zwischen der Kontrollgruppe und den ganzzellulär geimpften Kindern (20.6% vs 11.1%,  $P=0.144$ ) oder azellulär geimpften Kindern (ac-2 14.8%,  $P=0.749$ ; ac-5 18.2%,  $P=0.407$ ) verzeichnet werden. Nach Impfung war der Anteil der positiven Testergebnisse für T-IgG4 bei ganzzellulär geimpften Kindern niedriger als in der Kontrollgruppe (7 Monate 51.6% vs 77.6%,  $P=0.003$ ; 12 Monate 54.7% vs 77.3%,  $P=0.011$ ), wohingegen azellulär geimpfte Kinder häufiger T-IgG4 positive Seren aufwiesen als die Kontrollgruppe (ac-2 7 Monate 88.7%,  $P=0.150$ ; 12 Monate 78.7%,  $P=1.000$ ; ac-5 7 Monate 96.7%,  $P=0.001$ ; 12 Monate 84.6%,  $P=0.079$ ). Auch hier kann eine Herunterregulation des T-IgG4-Titers bei Kindern, die mit dem ganzzellulären Pertussis-Impfstoff immunisiert wurden, beobachtet werden. **(Abbildung 9)**



**Abbildung 9.** IgG4 gegen Tetanus-Toxoid im Alter von 2, 7, und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) immunisiert wurden. Die unterbrochene Linie markiert den Grenzwert für ein positives Testergebnis (5 IU/mL). Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Placebo oder azellulär geimpften Kindern.

### 3.7 IgG gegen Tetanus-Toxoid

IgG gegen Tetanus (>0.02 IU/ml) war in 89% aller Seren nachweisbar, die vor der ersten Impfung entnommen wurden. Einen Monat nach Impfung war T-IgG in allen und 6 Monate nach Impfung in 99,2% der Seren nachweisbar (bei 2 mit dem 2-Komponenten-azellulären Impfstoff immunisierten Kindern war kein T-IgG nachweisbar). Der Median der Serumtitel fiel mit der Zeit nach Impfung ab (1 Monat nach Impfung 3,65 IU/ml; 6 Monate nach Impfung 1,85 IU/ml). Die IgG-Titer derjenigen Kinder, welche mit dem 2-Komponenten-azellulären Impfstoff immunisiert wurden, lagen 1 Monat und 6 Monate nach erfolgter Impfung signifikant niedriger. Zwischen den anderen Impfgruppen (DT, DTPw, DTPa5) konnte kein statistisch signifikanter Unterschied der T-IgG-Titer nachgewiesen werden. (**Abbildung 10**)

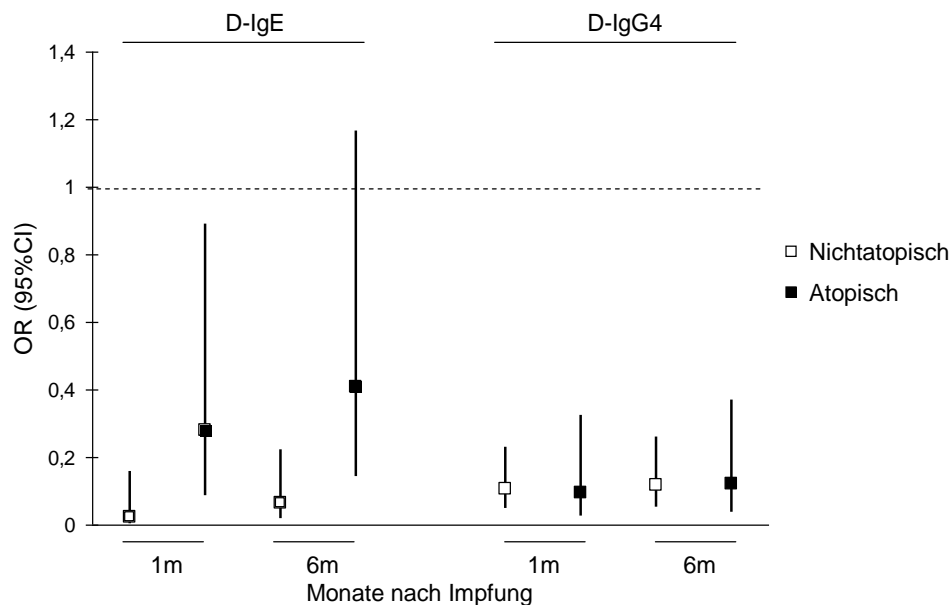


**Abbildung 10.** IgG gegen Tetanus-Toxoid im Alter von 2, 7 und 12 Monaten bei Kindern, die mit Diphtherie-Tetanus (DT)-, ganzzellulärem (DTPw), 2-Komponenten (DTPa2)- oder 5-Komponenten-azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa5) immunisiert wurden. Boxplots stellen Median, unteres und oberes Quartil dar, Whiskers zeigen Minimum und Maximum an.

### 3.8 Humorale Impfantwort bei atopischen und nichtatopischen Kindern

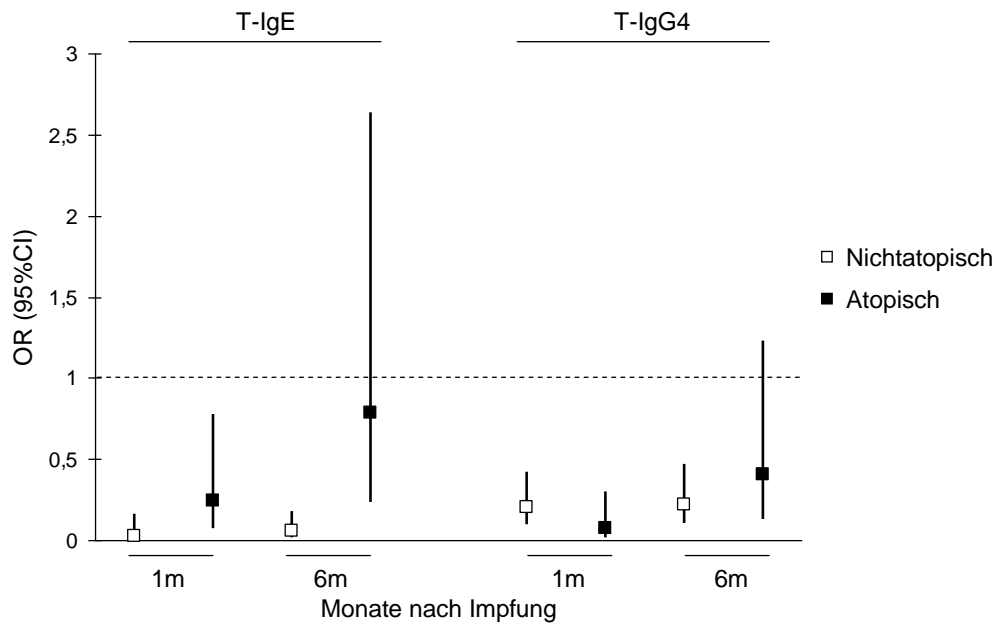
IgE gegen Impfantigene wurde von nichtatopischen Kindern in geringerem Ausmaß produziert als von atopischen Kindern. In der Gruppe der nichtatopischen ganzzellulär geimpften Kinder war die Suppression von IgE gegen Impfantigene am höchsten. Einen Monat nach erfolgter Impfung konnte D-IgE im Serum bei 37.7% der nichtatopischen und bei 56.3% der atopischen Kinder nachgewiesen werden ( $P=0.005$ ). Sechs Monate nach erfolgter Impfung wurde D-IgE im Serum von 39.8% der nichtatopischen und von 54.0% der atopischen Kinder gefunden ( $P=0.030$ ). Die niedrigere Prävalenz von D-IgE resultierte nicht aus der ungleichmäßigen Verteilung der Atopiker zwischen den einzelnen Impfgruppen. Werden die Ergebnisse für Atopie stratifiziert, hatten die ganzzellulär geimpften Kinder eine geringere Wahrscheinlichkeit für einen positiven D-IgE-Test verglichen mit azellulär und DT-geimpften Kindern, sowohl bei Atopikern als auch Nichtatopikern. Die Verringerung

der Wahrscheinlichkeit war jedoch ausgeprägter bei den Nichtatopikern. (**Abbildung 11**)



**Abbildung 11.** Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (95%CI) für den Nachweis von IgE und IgG4 gegen Diphtherietoxoid (D-IgE, D-IgG4) bei Kindern, die mit ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff geimpft wurden (Referenz: atopische Kinder jeweils geimpft mit azellulärem Pertussis-Impfstoff oder Diphtherie-Tetanus-Impfstoff, unterbrochene Linie).

Ebenso konnte T-IgE häufiger in Seren atopischer Kinder nachgewiesen werden als bei nichtatopischen Kindern. Ein Monat nach erfolgter Impfung wurde T-IgE bei 64.0% der atopischen Kinder, aber nur bei 42.1% der nichtatopischen Kinder nachgewiesen ( $P=0.002$ ). Sechs Monate nach erfolgter Impfung gelang der Nachweis von T-IgE bei 72.6% der atopischen Kinder und bei 51.3% der nichtatopischen Kinder ( $P=0.004$ ). Stratifiziert für Atopie war die Bildung von T-IgE hauptsächlich in der nichtatopischen, ganzzellulär geimpften Gruppe inhibiert. (**Abbildung 12**)



**Abbildung 12.** Odds Ratio (OR) und 95% Konfidenzintervall (95%CI) für den Nachweis von IgE und IgG4 gegen Tetanustoxoid (T-IgE, T-IgG4) bei Kindern, welche mit ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff geimpft wurden (Referenz: atopische Kinder jeweils geimpft mit azellulärem Pertussis-Impfstoff oder Diphtherie-Tetanus-Impfstoff, unterbrochene Linie).

Es bestand statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den azellulär geimpften Kindern hinsichtlich der Prävalenz von D-IgE und T-IgE, sowohl bei Atopikern als auch bei Nichtatopikern. Die Prävalenz positiver IgG4-Tests spiegelt die Ergebnisse in Bezug auf IgE wider. Einen Monat nach Impfung konnte D-IgG4 bei 72.9% der nichtatopischen Kinder und bei 83.0% der atopischen Kinder nachgewiesen werden ( $P=0.101$ ). Sechs Monate nach Impfung wurde D-IgG4 bei 57,8% der nichtatopischen Kinder und bei 69.0% der atopischen Kinder gefunden ( $P=0.084$ ). Stratifiziert für Atopie war verglichen mit der Kontrollgruppe und azellulär geimpften Kindern bei ganzzellulär geimpften Kindern das Risiko für einen positiven D-IgG4-Test reduziert. (**Abbildung 11**) Analog dazu zeigt sich eine niedrigere Prävalenz positiver T-IgG4-Tests in den Seren nichtatopischer Kinder im Vergleich zu atopischen Kindern: Einen Monat nach Impfung wurde T-IgG4 bei 74.1%



nichtatopischer Kinder und bei 86.4% atopischer Kinder nachgewiesen ( $P=0.036$ ). Zu diesem Zeitpunkt produzierten ganzzellulär geimpfte atopische sowie nichtatopische Kinder weniger häufig T-IgG4 als DT-geimpfte Kinder. Sechs Monate nach Impfung war diese Differenz dagegen nur in der Gruppe nichtatopischer Kinder statistisch signifikant nachweisbar. **(Abbildung 12)** Es wurde keine statistisch signifikante Differenz in der Prävalenz von positiven D-IgG4- und T-IgG4-Tests zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe azellulär geimpfter Kinder gefunden; mit Ausnahme von häufigerem Nachweis von T-IgG4 6 Monate nach Impfung. Hier konnte bei 73% der Diphtherie-Tetanus geimpften Kinder und bei 92% der mit dem DTPa5-Impfstoff geimpften Kinder T-IgG4 im Serum nachgewiesen werden ( $P=0.020$ ).

Die Bildung von IgG gegen Impfantigene ist bei Atopikern nicht vermindert. IgG wird sowohl von Atopikern als auch von Nichtatopikern in allen Impfgruppen gebildet. Der Nachweis von IgG gegen Diphtherietoxoid war im Median bei Atopikern und Nichtatopikern vergleichbar. Vor den Impfungen betrug der Median der D-IgG-Titer in der Gruppe der Nichtatopiker 0,02 EU/ml und in der Gruppe der Atopiker 0,01 EU/ml ( $P=0.680$ ). Einen Monat nach Impfung wurde bei Nichtatopikern im Median ein D-IgG-Titer in Höhe von 0,71 EU/ml und in der Gruppe der Atopiker 0,96 EU/ml ( $P=0.066$ ) nachgewiesen. Sechs Monate nach Impfung fand sich bei Nichtatopikern ein Serum-D-IgG von 0,19 EU/ml und bei Atopikern von 0.21 EU/ml ( $P=0.523$ ). Die initialen D-IgG-Werte sind bei Kindern, welche mit Pertussis-Antigen kovakziniert wurden, niedriger als bei Kindern, welche mit Diphtherie-Tetanus geimpft wurden; mit Ausnahme der Atopiker in der Gruppe der mit dem 5-Komponenten-azellulären Pertussis-Impfstoff geimpften Kinder. Diese Besonderheit verblasst mit der Zeit und sowohl bei Atopikern als auch bei Nichtatopikern sieht man bei den ganzzellulär geimpften Kindern keine übermäßige Abnahme von D-IgG. **(Tabelle 3)**

Die Median-T-IgG-Titer waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich zwischen Atopikern und Nichtatopikern. Der Median von T-IgG betrug vor den Impfungen bei den Nichtatopikern 3.55 EU/ml und bei den Atopikern 3.91 EU/ml ( $P=0.256$ ). 1 Monat nach Impfung konnte bei den Nichtatopikern T-IgG (Median) in Höhe von 1.86 EU/ml und bei den Atopikern von 1.64 EU/ml nachgewiesen werden ( $P=0.798$ ). 6 Monate nach Impfung betrug T-IgG in der nichtatopischen Gruppe 0.77 EU/ml und in der atopischen Gruppe 0.80 EU/ml ( $P=0.443$ ). Vor der ersten Impfung zeigt sich eine

gewisse Heterogenität von T-IgG bei den nichtatopischen Kindern, was im Laufe der Zeit allerdings nicht mehr nachweisbar war. 6 Monate nach Impfung ist kein statistisch signifikanter Unterschied in der T-IgG-Konzentration bei atopischen und nichtatopischen Kindern in den unterschiedlichen Impfgruppen nachweisbar (**Tabelle 3**).

Antibody	Age	Atopy	DT		DTPw		DTPa2		DTPa5	
			N	Mean (95%CI) [EU/mL]	N	Mean (95%CI) [EU/mL]	N	Mean (95%CI) [EU/mL]	N	Mean (95%CI) [EU/mL]
D-IgG	2 months	No	49	0.10 (0.01-0.19)	45	0.08 (0.02-0.13)	34	0.04 (0.02-0.06)	37	0.09 (0.00-0.17)
		Yes	17	0.06 (0.00-0.11)	22	0.14 (-0.05-0.34)	29	0.06 (0.02-0.11)	23	0.06 (0.00-0.13)
	7 months	No	49	1.33 (1.08-1.58)	46	0.79 (0.56-1.03)***	34	0.89 (0.65-1.12)**	38	1.09 (0.71-1.47)*
		Yes	19	1.07 (0.87-1.27)	22	0.95 (0.63-1.28)**	30	0.96 (0.66-1.26)**	26	1.77 (1.26-2.29)
	12 months	No	49	0.45 (0.31-0.59)	46	0.19 (0.12-0.25)***	34	0.18 (0.13-0.22)***	39	0.27 (0.18-0.37)**
		Yes	19	0.30 (0.24-0.35)	22	0.18 (0.10-0.27)	30	0.18 (0.14-0.23)	26	0.36 (0.26-0.46)
T-IgG	2 months	No	49	0.86 (0.55-1.16)	46	0.70 (0.54-0.85)	34	0.79 (0.53-1.05)	37	0.85 (0.49-1.20)
		Yes	17	0.83 (0.40-1.25)	22	0.73 (0.28-1.18)	29	0.59 (0.37-0.81)	23	0.34 (0.22-0.45)
	7 months	No	49	6.05 (4.61-7.49)	46	4.99 (3.94-6.04)	34	3.23 (2.45-4.08)**	38	3.92 (2.82-5.02)*
		Yes	19	5.59 (3.63-7.56)	22	5.03 (3.53-6.53)	30	3.35 (2.67-4.04)*	26	7.28 (4.71-9.84)
	12 months	No	49	2.92 (2.11-3.74)	46	3.99 (2.23-5.75)	34	2.92 (1.21-4.62)	39	3.35 (2.12-4.59)
		Yes	19	3.45 (1.98-4.92)	22	3.22 (1.72-4.73)	30	1.75 (0.90-2.60)**	26	4.94 (3.01-6.87)

**Tabelle 3.** Median und 95% Konfidenzintervall von Serum IgG gegen Diphtherietoxoid (D-IgG) und Tetanustoxoid (T-IgG) bei Kindern, welche mit Diphtherie- und Tetanustoxoid-Impfstoff (DT), ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPw), 2-Komponenten azellulärem Pertussis-Impfstoff (DTPa2), oder 5-Komponenten azellulärem Pertussis Impfstoff (DTPa5), stratifiziert nach Atopiestatus. \* vs DT,  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

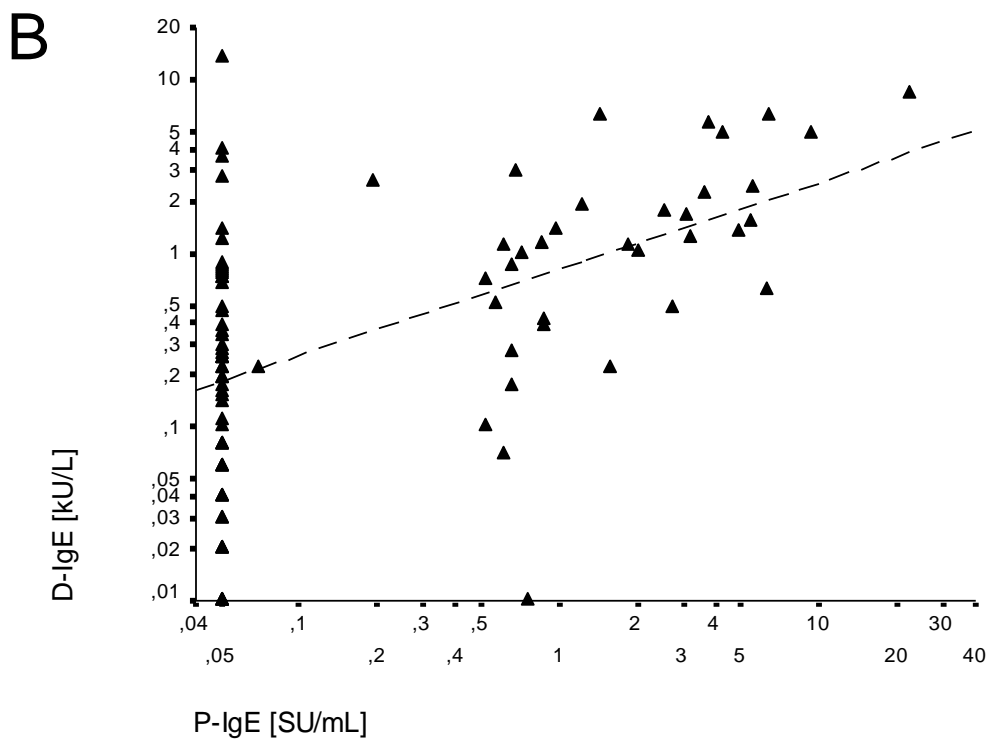
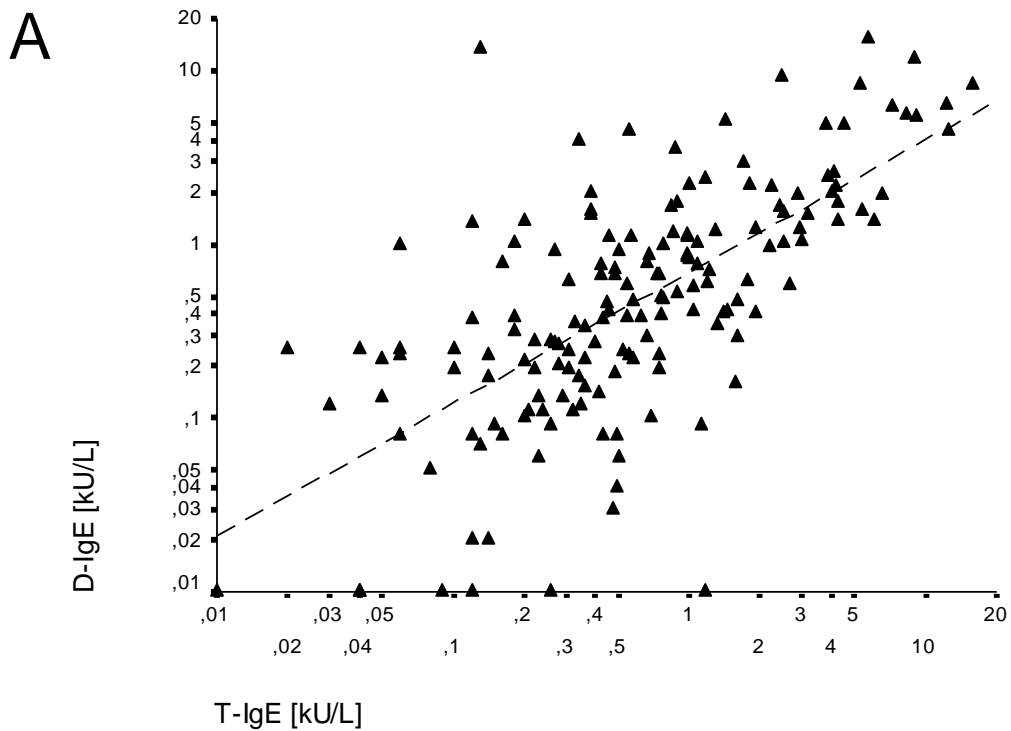
### 3.9 Korrelation von Immunglobulinklassen

Die Korrelation von IgE gegen verschiedene D- und T-Impfantigene ist höher als innerhalb der IgG-Klassen. Einen Monat nach Impfung ist die Korrelation von D-IgE und T-IgE hoch ( $R_s=0.758$ ,  $P<0.001$ ) und ist auch 6 Monate nach Impfung noch hoch ( $R_s=0.757$ ,  $P=0.001$ ) (**Abbildung 13**). Die Korrelation von D-IgG4 und T-IgG4 1 Monat nach Impfung ist mit  $R_s=0.708$  ( $P<0.001$ ) hoch und 6 Monate nach Impfung mit  $R_s=0.664$  ( $P<0.001$ ) noch moderat. Die Korrelation von D-IgG und T-IgG ist sowohl 1 Monat ( $R_s=0.376$ ,  $P<0.001$ ), als auch 6 Monate nach Impfung ( $R_s=0.395$ ,  $P<0.001$ ) nur moderat.

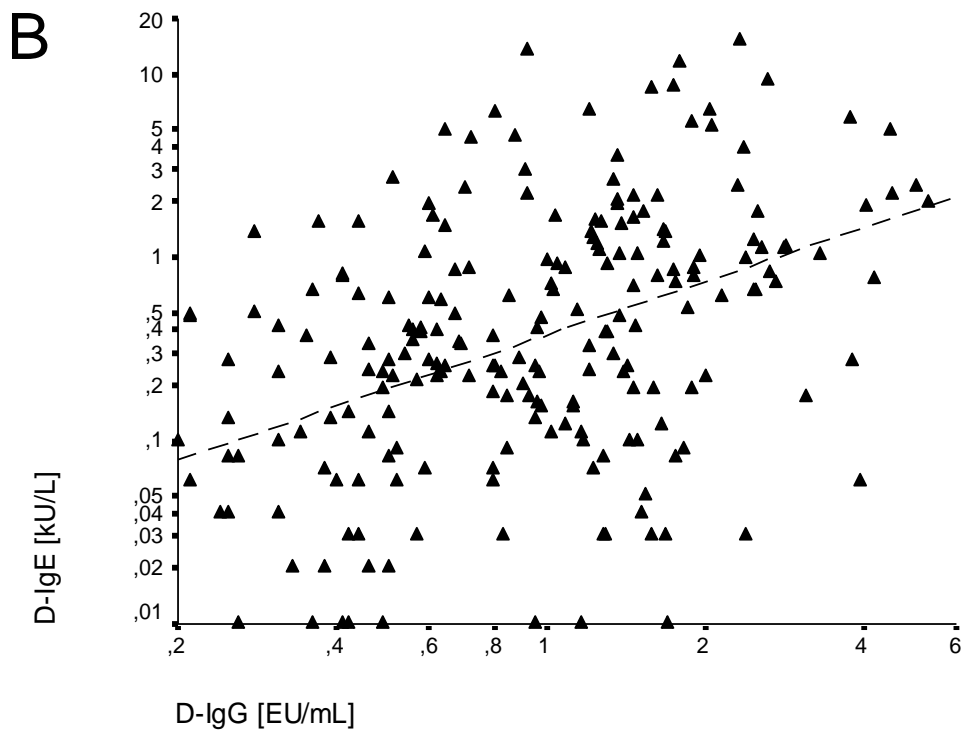
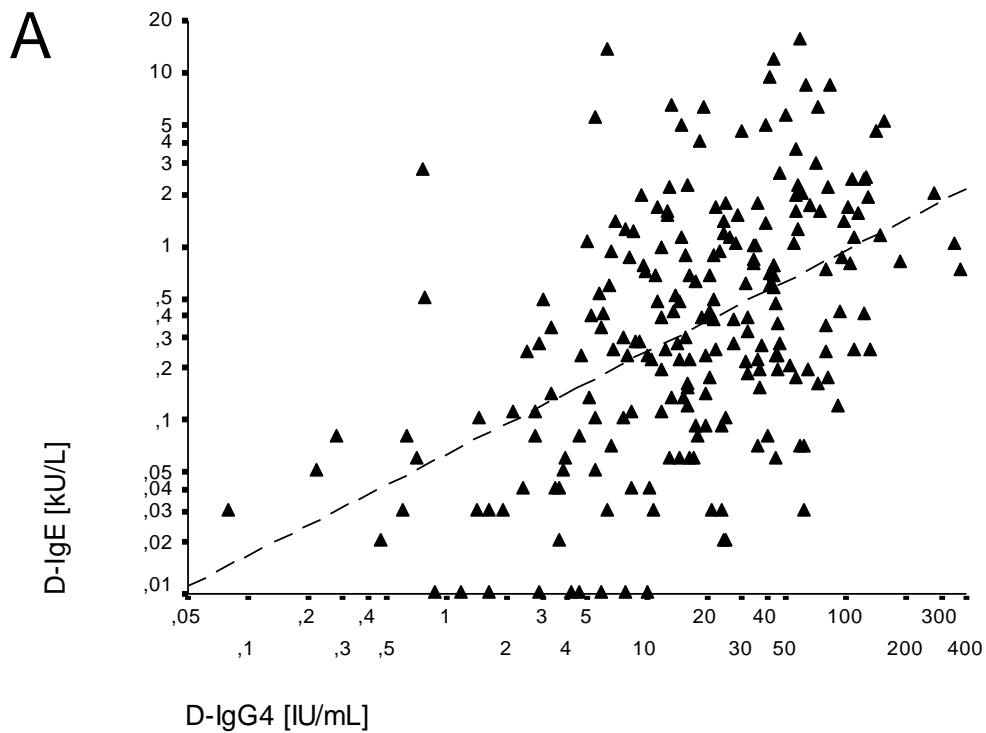
IgE gegen D- und T-Impfantigene korreliert schwächer mit P-IgE. Die Korrelation von P-IgE mit D-IgE 1 Monat nach Impfung ist moderat ( $R_s=0.504$ ,  $P<0.001$ ). (**Abbildung 13**) P-IgE korreliert mit T-IgE 1 Monat nach Impfung ebenfalls moderat ( $R_s=0.544$ ,  $P<0.001$ ). 6 Monate nach Impfung sehen wir eine schwächere Korrelation von P-IgE mit D-IgE ( $R_s=0.376$ ,  $P=0.001$ ) und mit T-IgE ( $R_s=0.408$ ,  $P<0.001$ ).

Die Korrelation von verschiedenen Immunglobulin-Klassen gegenüber demselben Impfantigen ist lediglich moderat. Wie in der **Abbildung 14** wiedergegeben, zeigt sich einen Monat nach Impfung eine moderate Korrelation von D-IgE und D-IgG4 mit  $R_s=0.596$  ( $P<0.001$ ), die auch 6 Monate nach Impfung noch nachweisbar ist ( $R_s=0.531$ ,  $P<0.001$ ). Einen Monat nach Impfung ist eine moderate Korrelation von D-IgE und D-IgG nachweisbar ( $R_s=0.551$ ,  $P<0.001$ ). (**Abbildung 14**) Auch 6 Monate nach Impfung ist eine moderate Korrelation von D-IgE und D-IgG nachweisbar ( $R_s=0.349$ ,  $P<0.001$ ). Die Korrelation von D-IgG4 und D-IgG ist sowohl 1 Monat nach Impfung ( $R_s=0.491$ ,  $P<0.001$ ), als auch 6 Monate nach Impfung ( $R_s=0.487$ ,  $P<0.001$ ) moderat.

Die Korrelation von T-IgE mit T-IgG4 ist 1 Monat nach Impfung ( $R_s=0.504$ ,  $P<0.001$ ) und 6 Monate nach Impfung ( $R_s=0.460$ ,  $P<0.001$ ) ebenfalls moderat. Die Korrelation von T-IgE mit T-IgG ist sowohl 1 Monat nach Impfung ( $R_s=0.237$ ,  $P<0.001$ ) als auch 6 Monate nach Impfung schwach ( $R_s=0.227$ ,  $P<0.001$ ). Eine ebenfalls schwache Korrelation zeigt sich zwischen T-IgG4 und T-IgG jeweils 1 Monat ( $R_s=0.192$ ,  $P<0.002$ ) und 6 Monate nach Impfung ( $R_s=0.027$ ,  $P<0.001$ ).



**Abbildung 13.** Korrelation 1 Monat nach Impfung von Serum-IgE gegen Diphtherietoxoid (D-IgE) und IgE gegen Tetanustoxoid (T-IgE;  $N=223$ ,  $R_s=0.758$ ,  $P<0.001$ , Tafel A) und von IgE gegen Diphtherietoxoid und IgE gegen Pertussistoxin (P-IgE;  $N=98$ ,  $R_s=0.504$ ,  $P<0.001$ , Tafel B).



**Abbildung 14.** Korrelation von Serum-IgE und -IgG4 gegen Diphtherietoxoid (N=254,  $R_s=0.708$ ,  $P<0.001$ , Tafel A) und von IgE und IgG gegen Diphtherietoxoid (N=253,  $R_s=0.511$ ,  $P<0.001$ , Tafel B) 1 Monat nach Impfung.

## 4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde der Einfluss des azellulären *Bordetella Pertussis*-Impfstoffs im Vergleich zum ganzzellulären Impfstoff oder Diphtherie-Tetanustoxoid-Impfstoff als Kontrolle auf die humorale Immunantwort gegen kovakzinierte Diphtherie- und Tetanus-Impfantigene untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Kovakzination mit azellulärem *Bordetella Pertussis*-Impfstoff, im Gegensatz zum ganzzellulären Impfstoff, keine effektive Suppression der IgE- und IgG4-Antikörperbildung gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid bewirkt. Zudem wurde beobachtet, dass die Serumkonzentrationen von IgE- und IgG4-Antikörpern gegen Impfantigene bei atopischen Kindern höher lag als bei nichtatopischen Kindern. Die Bildung von schützenden spezifischen IgG-Antikörpern dagegen war in allen Impfgruppen nachweisbar.

Die Suppression der IgE-Produktion gegen kovakzinierte Impfantigene durch ganzzelluläre Pertussis-Impfung passt zu publizierter Forschung, bei der die zelluläre Immunantwort auf ganzzellulären Pertussis-Impfstoff untersucht wurde. Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC, peripheral blood mononuclear cells) von Empfängern einer ganzzellulären Vakzine antworten mit einem präferenziellen Th1-Typ-Zytokinsekretionsmuster mit Bildung hoher IFN- $\gamma$ - und IL-2-Konzentrationen und niedriger IL-4- und IL-5-Konzentrationen, wohingegen PBMC von Empfängern des azellulären Impfstoffs ein gemischteres Th1/Th2-Zytokinprofil mit Bildung von IFN- $\gamma$ , IL-4 und IL-5 zeigen.<sup>151,123</sup> Eine Th2-Typ-Antwort mit Bildung von hohen IL-5-Konzentrationen und niedrigen IFN- $\gamma$ -Konzentrationen ist insbesondere nach Auffrischimpfung mit dem azellulären Impfstoff messbar.<sup>123,53</sup>

Die Antigen-spezifische IgE-Produktion ist Th2-Typ vermittelt.<sup>102</sup> Vor dem Hintergrund der Untersuchungen zur zellulären Immunität erscheint deshalb die in dieser Arbeit gefundene Suppression von IgE gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid durch ganzzelluläre Pertussis-Impfung als immunologisch plausibel und ist kohärent mit dosis-abhängiger Diphtherie- und Tetanustoxoid IgE-Suppression durch ganzzelluläre Pertussis-Impfung in einer anderen Kohorte.<sup>121</sup> Da die Suppression der IgE-Synthese gegen kovakzinierte Impfantigene durch *Bordetella pertussis* nunmehr in zwei voneinander unabhängigen Kohorten gezeigt werden konnte, ist das Phänomen als real einzuordnen. Ungeklärt ist die Frage, wie lange die IgE-Antwort

gegen Diphtherie- und Tetanus-Toxoid anhält, da die letzte Blutentnahme 6 Monate nach Abschluss der Immunisierung erfolgte und ein passagerer Nachweis von IgE anzunehmen ist.

Azellulären Pertussis-Impfstoffen fehlt die Zellwand. Unter den Zellwandmolekülen hat die Lipid-A-Fraktion der Lipopolysaccharide (LPS) zunehmende Aufmerksamkeit gewonnen, da sie immunmodulatorische Eigenschaften besitzt.<sup>159</sup> Bei Freisetzung fungiert sie mit einem pathogen-assoziierten molekularen Muster und induziert die Sekretion von Th1-Typ-Zytokinen, einschließlich IL-12, durch Aktivierung von Toll-like Rezeptor 4.<sup>160</sup> IL-12 besitzt eine Schlüsselfunktion bei der Regulierung der T-Zell-Differenzierung und bewirkt die Differenzierung nativer T-Zellen zum Th1-Phänotyp.<sup>161</sup> Folglich wird die Bildung von IgE und IgG4 inhibiert und es kommt zur Ausbildung von B-Zellen, welche IgG-Antikörper produzieren. Experimentelle Daten zeigen, dass eine systemische LPS-Exposition unmittelbar vor Sensibilisierung mit einem Allergen, sowohl die Th2-Typ-Immunantwort durch erhöhte IL-12-Produktion<sup>141</sup> als auch die IgE-Produktion inhibiert, sowie gleichzeitig die Bildung spezifischer IgG-Antikörper fördert.<sup>162</sup> Beim Menschen ist die Exposition gegenüber LPS in utero<sup>163</sup> und im frühen Kindesalter mit einer niedrigeren Prävalenz allergischer Sensibilisierung und atopischer Erkrankung assoziiert.<sup>164,142,159</sup> Somit kommen am ehesten LPS als Hauptursache für die herunterregulierte IgE- und IgG4-Antwort in Betracht.

Die Herunterregulation der Th2-assoziierten Antikörperbildung durch die Kovakzination mit dem zellulären Pertussis-Impfstoff ist in der Gruppe der Nichtatopiker ausgeprägter. Allerdings besteht auch eine Tendenz zur Suppression der IgE-Antwort durch Immunisierung mit dem zellulären Pertussis-Impfstoff bei Kindern mit atopischer Prädisposition. Th2-gerichtete Zytokinsekretionsmuster als Vorläufer einer Atopie wurden bereits bei Neugeborenen und Feten identifiziert.<sup>165,166</sup> Ein Wechsel des Th2-assoziierten Zytokinprofils der Memory CD4+ T-Zellen und der Immunglobuline kann durch spezifische Immuntherapie sogar im Erwachsenenalter induziert werden.<sup>167,168</sup> Die Plastizität von Immunreaktionen erscheint jedoch im frühen Lebensalter, während der Entwicklung des Antigen-spezifischen Gedächtnisses, am besten zu sein.



Der Zeitpunkt der Präsentation eines immunmodulierenden Agens im Verhältnis zum möglichen Allergen ist entscheidend. Bei DT-geimpften Kindern, die mit dem ganzzellulären Pertussis-Impfstoff kovakziniert wurden, erfolgt eine dosis-abhängige Herunterregulation der IgE-Antwort gegen D und T. In derselben Kohorte bewirkte jedoch eine vorherige BCG-Impfung keine Suppression der IgE- und IgG4-Antwort.<sup>169</sup> Obwohl BCG ein Modell für die Induktion einer prädominanten Th1-Typ Immunantwort bei Mäusen und Menschen ist,<sup>170,171</sup> war der zeitliche Abstand zwischen BCG-Impfung und DT-Impfung möglicherweise zu lang, um eine effektive Suppression der Bildung Th2-assoziiierter Immunglobuline gegen DT zu bilden. Diese Hypothese stimmt mit den experimentellen Daten überein, welche die Vermutung zuließen, dass bei bereits erfolgtem Wechsel des Isotyps zu Th2-assoziierten Immunglobulinen, die Plasmazellen eine Resistenz gegenüber der Stimulation mit Th1-Typ Zytokinen aufweisen und LPS sogar die IgE-Sekretion von B-Zellen steigern.<sup>162</sup>

Aus den Beobachtungen der vorliegenden Studie kann man zwar als proof of concept schließen, dass bestimmte bakterielle Proteine eine Immunantwort gegenüber Impfantigenen und evtl. gegenüber typischen Allergenen gegenläufig zur allergischen Immunantwort modulieren, daraus leiten sich aber bisher noch keine Primärpräventionskonzepte ab, letztendlich, weil es auch unklar ist, wie oft ein solcher Stimulus erfolgen müsste, um nachhaltigen Effekt zu erzielen. Allerdings gibt es schon bakterielle Adjuvantien wie MPL®<sup>172</sup>, die in der spezifischen Immuntherapie z.B. Graspollenallergien verwendet werden und eine Toleranzentwicklung gegenüber Allergenen bei schon manifester Allergie wahrscheinlich befördern. Ihre Überlegenheit gegenüber anderen Immuntherapie-Extrakten ist aber umstritten.

Anzumerken ist, dass die Diagnosestellung einer Nahrungsmittelallergie in der Kohorte auf anamnestischen Angaben in Kombination mit spezifischem IgE-Antikörpernachweis beruht. Eine Provokation zur Diagnosesicherung blieb aus, welches als Schwäche dieser Studie angesehen werden muss.

## 5 Zusammenfassung

In vorangegangenen Arbeiten wurde gefunden, dass häufig eine IgE-Antikörperantwort mit der IgG-Antwort gegen Impfantigene auftritt und dass nach gleichzeitiger Verabreichung von Impfantigenen mit zellulärem *Bordetella pertussis*-Impfstoff die spezifische IgE-Synthese gegen diese Impfantigene herunterreguliert wird.

Die Fragestellungen dieser Studie waren, (1) wie die Antikörperproduktion von IgE- und IgG4-Antikörpern gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid nach den verschiedenen Impfprotokollen ist; (2) welche Unterschiede zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern hinsichtlich der Bildung von Impfantikörpern bestehen; (3) welchen Einfluss eine Kovakzination mit Pertussis auf die Ausbildung von Impfantikörpern und Antikörpern gegen Allergene hat.

Die humorale Immunantwort von Kindern aus einer randomisierten Pertussis-Impfstudie mit zellulären und azellulären Pertussis-Impfstoffen wurde analysiert. Atopische und nichtatopische Kinder wurden mit Diphtherie-Tetanus-Impfstoff, ganzzellulärem Pertussis-Impfstoff (mit Diphtherie-Tetanus), 2- oder 5-Komponenten-Pertussis-Impfstoff (mit Diphtherie-Tetanus) im Alter von 2, 4 und 6 Lebensmonaten immunisiert. Die Analyse von IgE, IgG4 und IgG gegen Diphtherie- und Tetanus-Toxoid sowie gegen Pertussistoxin erfolgte mittels RAST im Alter von 2 Monaten (vor Grundimmunisierung), 7 und 12 Monaten (1 Monat bzw. 6 Monate nach Abschluss der Grundimmunisierung). Folgende Befunde konnten erhoben werden:

(1) IgE- und IgG4-Antikörper gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid wurde in allen Impfgruppen gebildet.

(2) IgE gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid ist ausgeprägter bei atopischer Prädisposition. Protektive IgG-Antikörper gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid wurden sowohl von Atopikern als auch von Nichtatopikern in vergleichbarer Menge gebildet.

(3) IgE gegen Diphtherie- und Tetanustoxoid ist bei Kindern, welche mit dem ganzzellulären Pertussis-Impfstoff immunisiert wurden niedriger als bei Kindern, die mit dem azellulären Impfstoff immunisiert wurden. Die Bildung von protektiven IgG-Antikörpern wurde nicht von einer Kovakzination mit Pertussis beeinflusst.

Die vorliegende Studie zeigt, dass der ganzzelluläre *Bordetella Pertussis*-Impfstoff, nicht aber der azelluläre Impfstoff, die IgE-Antwort gegen kovakzinierte Impfantigene bei Kindern herunterreguliert; vermutlich verursacht durch Zellwandbestandteile von *Bordetella pertussis*. Die Möglichkeit, bei Kindern IgE-Antworten gegen Allergene durch die sichere Impfung von bakteriellen Komponenten herunter zu regulieren, ist interessant im Hinblick auf Allergie-Prävention. Ob und unter welchen Umständen mit dieser Strategie auch die IgE-Produktion gegen relevante Umweltallergene bei Kindern mit erhöhtem Risiko für allergische Erkrankungen inhibiert werden kann, muss im Rahmen weiterer Untersuchungen evaluiert werden.

Bis dahin kann davon ausgegangen werden, dass Impfungen als immunologisches Phänomen insbesondere bei Atopikern häufig eine IgE-Antwort gegen Impfantigene indizieren, allerdings ohne Behinderung der gegenüber Infektionen protektiven IgG-Antwort.

## 6 Literatur

- 1 Plotkin S. History of vaccination. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(34):12283-12287.
- 2 Ada G. Vaccines and vaccination. New Engl J Med. 2001;345:1042-1053.
- 3 Martin SJ, Burton DR, Roitt IM, Delves PJ. Roitt's Essential Immunology (Essentials) Paperback – Illustrated, 17 Jan. 2017.
- 4 Ständige Impfkommission: Empfehlungen der ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut 2020/2021. Epid Bull. 2020;34:1-68.
- 5 Wirsing von Koenig CH, Riffelmann M, Coenye T. Bordetella and related genera. In: Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. 2015;pp.838-850.
- 6 Kerr JR, Matthews RC. Bordetella pertussis infection: Pathogenesis, diagnosis, management, and the role of protective immunity. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000;19(2):77-88.
- 7 Mattoo S, Cherry JD. Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to Bordetella pertussis and Other Bordetella Subspecies. Clin Microbiol Rev. 2005;18(2):326-82.
- 8 Weiss A. Mucosal immune defense and the response of *Bordetella pertussis*. ASM News. 1997;63:22-28.
- 9 Wood N, Mcltyre P. Pertussis: review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. Paediatric Respir Rev. 2008;9(3):201-212.
- 10 Anderson RM, May RM. Immunisation and herd immunity. Lancet. 1990;335:641-645.

- 11 RKI. Populationsimmunität gegen Diphtherie und Pertussis. Ergebnisse einer Seroprävalenzstudie in Deutschland. *Epid Bull.* 1999;1/99:1-4.
- 12 Mink CM, Cherry JD, Christenson P, Lewis K, Pineda E, Shlian D, Dawson JA, Blumberg DA. A search for *Bordetella pertussis* infection in university students. *Clin Infect Dis.* 1992;14:464-471.
- 13 Heymann DL. Control of communicable diseases manual. 20 ed. Washington, D.C.: American Public Health Association 2014.
- 14 Harnden A, Grant C, Harrison T, Perera R, Brueggemann AB, Mayon-White R, Mant D. Whooping cough in school age children with persistent cough: prospective cohort study in primary care. *BMJ.* 2006;333:174-7.
- 15 Philipson K, Goodyear-Smith F, Grant CC, Chong A, Turner N, Stewart J. When is acute persistent cough in school-age children and adults whooping cough? A prospective case series study. *Br J Gen Pract.* 2013;63:e573-9.
- 16 Cherry JD. Historical review of Pertussis and the classical vaccine. *J Infect Dis.* 1996;174(Suppl 3):S259-S263.
- 17 Nieves DJ, Heininger U. *Bordetella pertussis*. *Microbiol Spectrum.* 2016;4(3):EI10-0008.
- 18 Cherry JD, Heininger U. Pertussis and other *Bordetella* infections. In: Feigin and Cherry's textbook of pediatric infectious diseases. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2018:1159-1178.
- 19 Heininger U, Cherry JD, Echardt T, Lorenz C, Christenson P, Stehr K. Clinical and laboratory diagnosis of pertussis in the regions of a large vaccine efficacy trial in Germany. *Pediatr Infect Dis J.* 1993;12:504-509.
- 20 Edwards KM. Pertussis epidemiology and transmission 541. *Advanced Studies in Medicine.* 2005;5(5A):S440-S443.

- 21 Tan T, Trindade E, Skowronski D. Epidemiology of Pertussis. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(5 Suppl):S10-18.
- 22 Celentano LP, Massari M, Paramatti D, Salmaso S, Tozzi AE; EUVAC-NET Group. Resurgence of pertussis in Europe. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(9):761-765.
- 23 Grgic-Vitek M, Klavs I, Kraigher A. Re-emergence of pertussis in Slovenia: Time to change immunization policy. *Vaccine.* 2008;26(15):1874-1878.
- 24 Galanis E, King AS, Varughese P, Halperin SA; IMPACT investigators. Changing epidemiology and emerging risk groups for pertussis. *CMAJ.* 2006;174(4):451-452.
- 25 Falldefinitionen zur Übermittlung von Erkrankungs- und Todesfällen sowie von Erregernachweisen von Mumps, Pertussis, Röteln und Varizellen. *Bundesgesundheitsbl.* 56, 1003-1016 (2013).
- 26 Hellenbrand W, Beier D, Jensen E, Littmann M, Meyer C, Oppermann H, Wirsing von König CH, Reiter S. The Epidemiology of Pertussis in Germany: Past and Present. *BMC Infect Dis.* 2009;9:22.
- 27 Hellenbrand W, Wichmann O, Liese J, Heiningen U, Wirsing v König CH, Riffelmann M, Terhardt M, Fink E, Kümmel C, Schöneberger K, Schroeder S: Workshop Bericht – Drei Jahre bundesweite Keuchhusten-Meldepflicht: Erfahrungsaustausch zwischen ÖGD, Ärzteschaft und beteiligten Laboren zur Identifizierung von Maßnahmen zur Verbesserung der Surveillance. *Epid Bull* 2017;21:187-197.
- 28 Schielke A, Takla A, von Kries R, Wichmann O, Hellenbrand W. Marked Underreporting of Pertussis Requiring Hospitalization in Infants as Estimated by Capture-Recapture Methodology, Germany, 2013-2015. *Pediatr Infect Dis J.* 2018;37(2):119-25.

- 29 Liese JG, Heininger U, Hellenbrand W, Wirsing von König CH. Pertussis. In: Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie: DGPI Handbuch Infektionen bei Kindern und Jugendlichen. 7. Aufl. (2018) Thieme, Stuttgart, S669–675.
- 30 Dierig A, Beckmann C, Heininger U. Antibiotic treatment of pertussis: are 7 days really sufficient? *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:444-445.
- 31 Taranger J, Trollfors B, Bergfors E, Knutsson N, Sundh V, Lagergård T, Lind-Brandberg L, Zackrisson G, White J, Cicirello H, Fusco J, Robbins JB. Mass vaccination of children with pertussis toxoid – decreased incidence in both vaccinated and non-vaccinated persons. *Clin Infect Dis.* 2001;33:1004-1010.
- 32 Cody CL, Baraff LJ, Cherry JD, Marcy SM, Manclark CR. Nature and rates of adverse reactions associated with DTP and DT immunizations in infants and children. *Pediatrics.* 1981;68:650-660.
- 33 Edwards KM, Decker MD. Pertussis vaccines. In: *Vaccines* (5th edition). Philadelphia: Saunders Elsevier. 2008;467-517.
- 34 Heininger U, Richter M. Rezidivierende hypoton-hyporesponsive Episoden nach DTaP-Hib-Impfung. Kasuistik und Literaturübersicht. *Monatsschr Kinderheilkd.* 1998;146:972-975.
- 35 Schmitt HJ, Schuind A, Knuf M, Zepp F, Beutel K, Wirsing von König CH, Neiss A, Bock HL, Bogaerts H, Clemens R. Acellular pertussis vaccines: The rationale for an efficacy trial in Germany. *J Infect Dis.* 1996;174 Suppl 3:S287-S290.
- 36 Liese JG, Stojanov S, Belohradsky BH. Pertussisimpfung mit azellulären Impfstoffen. Verträglichkeit, Effektivität, derzeitige Impfempfehlungen. *Fortschr Med.* 1997;115:22.227.

- 37 Decker MD, Edwards KM, Steinhoff MC, Rennels MB, Pichichero ME, Englund JA, Anderson EL, Deloria MA, Reed GF. Comparison of 13 acellular pertussis vaccines: adverse reactions. *Pediatrics*. 1995;96:557-566.
- 38 Sheridan SL, Frith K, Snelling TL, Grimwood K, McIntyre PB, Lambert SB. Waning vaccine immunity in teenagers primed with whole cell and acellular Pertussis vaccine: recent epidemiology. *Expert Rev Vaccines*. 2014;13:1081-106.
- 39 Tartof SY, Lewis M, Kenyon C, White K, Osborn A, Liko J, Zell E, Martin S, Messonnier NE, Clark TA, Skoff TH. Waning immunity to pertussis following 5 doses of DTaP. *Pediatrics*. 2013;131:e1047-52.
- 40 Witt MA, Arias L, Katz PH, Truong ET, Witt DJ. Reduced risk of pertussis among persons ever vaccinated with whole cell pertussis vaccine compared to recipients of acellular pertussis vaccines in a large US cohort. *Clin Infect Dis*. 2013;56:1248-54.
- 41 Mills KH, Ryan M, Ryan E, Mahon BP. A murine model in which protection correlates with pertussis vaccine efficacy in children reveals complementary roles for humoral and cell-mediated immunity in protection against *Bordetella pertussis*. *Infect Immun*. 1998;66:594-602.
- 42 Miller JJJ, Silverberg RJ, Saito TM, Humber JB. An agglutinine reaction for *Haemophilus pertussis*. II. Its relation to clinical immunity. *J Pediatrics*. 1943;22:644-651.
- 43 Mertsola J, Ruuskanen O, Kuronen T, Meurman O, Viljanen MK. Serologic diagnosis of pertussis: Evaluation of pertussis toxin and other antigens in enzyme-linked immunosorbent assay. *J Infect Dis*. 1990;161:966-971.
- 44 Gustafsson L, Hallender HO, Olin P, Reizenstein E, Storsaeter J. A controlled trial of a two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine. *N Engl J Med*. 1996;334:349-355.



- 45 Schmitt HJ, Zepp F, Mschenborn S, Smenicht G, Schuind A, Beutel K, Knuf M, Bock HL, Bogaerts H, Clemens R. Immunogenicity and reactogenicity of a *Haemophilus influenzae* type b tetanus conjugate vaccine when administered separately or mixed with concomitant diphtheria-tetanus-toxoid and acellular pertussis vaccine for primary and for booster immunizations. *Eur J Pediatr.* 1988;157:208-214.
- 46 Edwards KM, Meade BD, Decker MD, Reed GF, Rennels MB, Steinhoff MC, Anderson EL, Englund JA, Pichichero ME, Deloria MA. Comparison of 13 acellular pertussis vaccines: overview and serologic response. *Pediatrics.* 1995;88 Suppl:548-557.
- 47 Cherry JD, Gornbein J, Heining U, Stehr K. A search for serological correlates of immunity to *Bordetella pertussis* cough illness. *Vaccine.* 1998;16:1901-1906.
- 48 Storsaeter J, Hallander HO, Gustafsson L, Olin P. Levels of antipertussis antibodies related to protection after household exposure to *Bordetella pertussis*. *Vaccine.* 1998;16:1907-1916.
- 49 Taranger J, Trollfors B, Lagergrd T, Sundh V, Bryla DA, Schneerson R, Robbins JB. Correlation between pertussis toxin IgG antibodies in postvaccination sera and subsequent protection against pertussis. *J Infect Dis.* 2000;181:1010-1013.
- 50 Ausiello CM, Lande R, Urbani F, Ia Sala A, Stefanelli P, Salmaso S, Mastrantonio P, Cassone A. Cell-mediated immune responses in four-year-old children after primary immunization with acellular pertussis vaccines. *Infect Immun.* 1999;67:4064-4071.
- 51 Giuliano M, Mastrantonio P, Giammanco A, Piscitelli A, Salmaso S, Wassilak SG. Antibody responses and persistence in the two years after immunization with two acellular vaccines and one whole-cell vaccine against pertossi. *J Pediatr.* 1998;132:983-988.

- 52 Salmaso S, Mastrantonio P, Wassilak SG, Giuliano M, Anemona A, Giammanco A, Tozzi AE, Ciofi degli Atti ML, Greco D. Persistence of protection through 33 months of age provided by immunization in infancy with two three-component acellular pertussis vaccines. *Vaccine*. 1998;16:1270-1275.
- 53 Ryan EJ, Nielsson L, Kjellman N, Gothefors L, Mills KH. Booster immunization of children with an acellular pertussis vaccine enhances Th2 cytokine production and serum IgE responses against pertussis toxin but not against common allergens. *Clin Exp Immunol*. 2000;121:193-200.
- 54 Mahon BP, Brady MT, Mills KHG. Protection against *Bordetella pertussis* in mice in the absence of detectable circulating antibody: implications for long-term immunity in children. *J Infect Dis*. 2000;181:2087-2091.
- 55 Huber B. 100 Jahre Allergie: Clemens von Pirquet – sein Allergiebegriff und das ihm zugrunde liegende Krankheitsverständnis; Teil 1: Leben und Werk. *Wien Klin Wochenschr*. 2006;118/19-20:573-579.
- 56 Coombs RRA, Gell PHG. Classification of allergic reactions responsible for hypersensitivity and disease. In: *Clinical aspects of immunology*. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford: Blackwell, 1975:761-781.
- 57 Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, Kowalski ML, Mygind N, Ring J, van Cauwenberge P, van Hage-Hamsten M, Wüthrich B. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001;56:813-824.
- 58 Bergmann RL, Wahn U, Bergmann KE. The allergy march: from food to pollen. *Environ Toxicol Pharmacol*. 1997;4:79-83.

- 59 Lau S, Lee Y, Keil T, Matricardi P, Wahn U. Allergy and atopy from infancy to adulthood: messages from the German birth cohort MAS. *Annals of Allergy Asthma, Immunol.* 2018 May 24. Pii:S1081-1206(18) 30378-8.
- 60 Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet.* 1998;351(9111):1225-32.
- 61 Gough H, Grabenhenrich L, Reich A, Eckers N, Nitsche O, Schramm D, Beschorner J, Hoffmann U, Schuster A, Bauer CP, Forster J, Zepp F, Lee YA, Bergmann RL, Bergmann KE, Wahn U, Lau S, Keil T, MAS study group. Allergic multimorbidity of asthma, rhinitis and eczema over 20 years in the German birth cohort MAS. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015;26(5):431-7.
- 62 Schmitz R, Atzpodien K, Schlaud M. Prevalence and risk factors of atopic diseases in German children and adolescents. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23(8):716-23.
- 63 Wahn U. Allergische Erkrankungen im Säuglings- und Kindesalter. In: *Allergologie.* Berlin, Heidelberg, New York: Springer. 1998:272-277.
- 64 Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol.* 1980;92(Suppl):44-47.
- 65 Davidson WF, Leung DYM, Beck LA, Berin CM, Boguniewicz M, Busse WW, Chatila TA, Geha RS, Gern JE, Guttman-Yassky E, Irvine AD, Kim BS, Kong HH, Lack G, Nadeau KC, Schwaninger J, Simpson A, Simpson EL, Spergel JM, Togias A, Wahn U, Wood RA, Woodfolk JA, Ziegler SF, Plaut M. Report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases workshop on "Atopic dermatitis and the atopic march: Mechanisms and interventions". *J Allergy Clin Immunol.* 2019;143(3):894-913.

- 66 Paul AGA, Muehling LM, Eccles JD, Woodfolk JA. T cells in severe childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2019;49(5):564-581.
- 67 Poethko-Müller C, Thamm M, Thamm R. Heuschnupfen und Asthma bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland – Querschnittergebnisse aus KiGGS Welle 2 und Trends. *Journal of Health Monitoring*. 2018;3(1):55–59.
- 68 Bergmann, RL, Bergmann KE, Lau-Schadensdorf S, Luck W, Dannemann A, Bauer CP, Dorsch W, Forster J, Schmidt E, Schulz J. Atopic diseases in infancy. The German multicenter atopy study (MAS-90). *Pediatr Allergy Immunol*. 1994;5(6 Suppl):p.19-25.
- 69 von Mutius E. The rising trends in Asthma and allergic disease. *Clin Exp Allergy*. 1998;28(Suppl 5):45-49.
- 70 Prescott S, Allen KJ. Food allergy: riding the second wave of the allergy epidemic. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011;22(2):155-60.
- 71 Lui AH, Leung DYM. Renaissance of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:1063-1066.
- 72 Prescott SL, Clifton V. Asthma and pregnancy: emerging evidence of epigenetic interactions in utero. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009;9(5):417-26.
- 73 Stein MM, Hrusch CL, Gozdz J, Igartua C, Pivniouk V, Murray SE, Ledford JG, Marques Dos Santos M, Anderson RL, Metwali N, Neilson JW, Maier RM, Gilbert JA, Holbreich M, Thorne PS, Martinez FD, von Mutius E, Vercelli D, Ober C, Sperling AI. Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. *N Engl J Med*. 2016;375(5):411-421.
- 74 Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, Heederik D, Piarroux R, von Mutius E; GABRIELA Transregio 22 Study

- Group. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med.* 2011;364(8):701-9.
- 75 Conrad ML, Ferstl R, Teich R, Brand S, Blümer N, Yildirim AO, Patrascan CC, Hanuszkiewicz A, Akira S, Wagner H, Holst O, von Mutius E, Pfefferle PI, Kirschning CJ, Garn H, Renz H. Maternal TLR signaling is required for prenatal asthma protection by the nonpathogenic microbe *Acinetobacter lwoffii* F78. *J Exp Med.* 2009 Dec 21;206(13):2869-77.
- 76 Cait A, Cardenas E, Dimitriu PA, Amenyogbe N, Dai D, Cait J, Sbihi H, Stiemsma L, Subbarao P, Mandhane PJ, Becker AB, Moraes TJ, Sears MR, Lefebvre DL, Azad MB, Kollmann T, Turvey SE, Mohn WW. Reduced genetic potential for butyrate fermentation in the gut microbiome of infants who develop allergic sensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(6):1638-1647.e3.
- 77 Roduit C, Frei R, Ferstl R, Loeliger S, Westermann P, Rhyner C, Schiavi E, Barcik W, Rodriguez-Perez N, Wawrzyniak M, Chassard C, Lacroix C, Schmausser-Hechfellner E, Depner M, von Mutius E, Braun-Fahrländer C, Karvonen AM, Kirjavainen PV, Pekkanen J, Dalphin JC, Riedler J, Akdis C, Lauener R, O'Mahony L; PASTURE/EFRAIM study group. High levels of butyrate and propionate in early life are associated with protection against atopy. *Allergy.* 2019;74(4):799-809.
- 78 Ruokolainen L, Parkkola A, Karkman A, Sinkko H, Peet A, Hämäläinen AM, von Hertzen L, Tillmann V, Koski K, Virtanen SM, Niemelä O, Haahtela T, Knip M. Contrasting microbiotas between Finnish and Estonian infants: Exposure to *Acinetobacter* may contribute to the allergy gap. *Allergy.* 2020;75(9):2342-2351.
- 79 Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MA. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunology.* 2016;5(4):e73.

- 80 Berker M, Frank LJ, Geßner AL, Grassl N, Holtermann AV, Höppner S, Kraef C, Leclaire MD, Maier P, Messerer DA, Möhrmann L, Nieke JP, Schoch D, Soll D, Woopen CM. Allergies - A T cells perspective in the era beyond the TH1/TH2 paradigm. *Clin Immunol*. 2017 Jan;174:73-83.
- 81 Barnes PJ. Immunology of Asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Immunol Rev*. 2008;8:183-192.
- 82 Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17–producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol*. 2005;6(11):1123-32.
- 83 Chen K, Kolls JK. Interleukin-17A (IL17A). *Gene*. 2017;614:8-14.
- 84 Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH, Greenfield EA, Chang TT, Sharpe AH, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT. Antigen-specific regulatory T cells develop *via* the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nature Med*. 2002;8(9):1024-1032.
- 85 Holgate, Stephen T. The epidemic of asthma and allergy. In: *J R Soc Med*. 2004;97 (3), S. 103–110.
- 86 Seddon B, Mason D. The third function of the thymus. *Immunol Today*. 2000;21: 95-99.
- 87 Aickin R, Hill D, Kemp A. Measles immunisation in children with allergy to egg. *BMJ*. 1994;309:223-225.
- 88 Palomares O, Yaman G, Azkur AK, Akkoc T, Akdis M, Akdis CA. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur J Immunol*. 2010 May;40(5):1232-40.

- 89 Schmidt-Weber CB, Blaser K. Immunological mechanisms in specific immunotherapy. *Springer Semin Immunopathol.* 2004;25:377-390.
- 90 Umetsu DT, McIntire JJ, Akbari O, Macaubas C, DeKruyff RH. Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nat Immunol.* 2002;3:715-720.
- 91 Barnes, P.J. Pathophysiology of allergic inflammation. *Immunological Reviews.* 2011;242: 31-50.
- 92 Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 1986;136:2348-2357.
- 93 Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, Chrétien I, Tiri A, Macchia D, Ricci M, Banchereau J, De Vries J, Romagnani S. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol.* 1988;140:4193-4198.
- 94 Zheng W, Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine expression in CD4 cells. *Cell.* 1997;89:587-596.
- 95 Mond JJ, Carman J, Sarma C, Ohara J, Finkelman FD. Interferon-gamma suppresses B cell stimulation factor (BSF-1) induction of class II MHC determinants on B cells. *J Immunol.* 1986;137:3534-3537.
- 96 Jarvis D, Chinn S, Luczynska C, Burney P. The association of family size with atopy and atopic disease. *Clin Exp Allergy.* 1997;27:240-245.
- 97 Yamaguchi Y, Hayashi Y, Sugama Y, Miura Y, Kasahara T, Kitamura S, Torisu M, Mita S, Tominaga A, Takatsu K. Highly purified murine interleukin 5 (IL-5) stimulates eosinophil function and prolongs in vitro survival. IL-5 as an eosinophil chemotactic factor. *J Exp Med.* 1988;167:1737-1742.

- 98 Tai PC, Sun L, Spry CJ. Effects of IL-5, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and IL-3 on the survival of human blood eosinophils in vitro. *Clin Exp Immunol.* 1991;85:312-316.
- 99 Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med.* 1989;170:2081-2095.
- 100 Chretien I, Pene J, Briere F, de Waal MR, Rousset F, De Vries JE. Regulation of human IgE synthesis. I. Human IgE synthesis in vitro is determined by the reciprocal antagonistic effects of interleukin 4 and interferon-gamma. *Eur J Immunol.* 1990;20:243-251.
- 101 Vercelli D, De Monte L, Monticelli S, Di Bartolo C, Agresti A. To E or not to E? Can an IL-4-induced B cell choose between IgE and IgG4? *Int Arch Allergy Immunol.* 1998;116:1-4.
- 102 Renz H. Immunologische Grundlagen allergischer Entzündung. In: Wahn U, Seeger R, Wahn V (Hrsg.). *Pädiatrische Allergologie in Klinik und Praxis.* München, Jena: Urban und Fischer. 1999:119-131.
- 103 Busse W, Elias J, Sheppard D, Banks-Schlegel S. Airway remodeling and repair. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:1035-1042.
- 104 Wahn U, von Mutius E, Lau S, Nickel R. The development of atopic phenotypes: genetic and environmental determinants. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2007;59:1-11; discussion 11-15.
- 105 Cookson W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol.* 2004 Dec;4(12):978-88.
- 106 von Mutius E. Gene-environment interactions in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Jan;123(1):3-11; quiz 12-3.



- 107 Michel S, Busato F, Genuneit J, Pekkanen J, Dalphin JC, Riedler J, Mazaleyrat N, Weber J, Karvonen AM, Hirvonen MR, Braun-Fahrländer C, Lauener R, von Mutius E, Kabesch M, Tost J; PASTURE study group. Farm exposure and time trends in early childhood may influence DNA methylation in genes related to asthma and allergy. *Allergy*. 2013 Mar;68(3):355-64.
- 108 von Gunten S, Marsland BJ, von Garnier C, Simon D. Update in clinical allergy and immunology. *Allergy*. 2012 Dec;67(12):1491-500. doi: 10.1111/all.12067. Epub 2012 Oct 30. PMID: 23110377.
- 109 Han X, Krempski JW, Nadeau K. Advances and novel developments in mechanisms of allergic inflammation. *Allergy*. 2020 Dec;75(12):3100-3111.
- 110 Holloway JW, Yang IA, Holgate ST. Genetics of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S81-94.
- 111 von Mutius E. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: farm lifestyles and the hygiene hypothesis. *Clin Exp Immunol*. 2010 Apr;160(1):130-5.
- 112 von Mutius E, Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol*. 2010 Dec;10(12):861-8.
- 113 Genuneit J. Exposure to farming environments in childhood and asthma and wheeze in rural populations: a systematic review with meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012 Sep;23(6):509-18.
- 114 Alfvén T, Braun-Fahrländer C, Brunekreef B, von Mutius E, Riedler J, Scheynius A, van Hage M, Wickman M, Benz MR, Budde J, Michels KB, Schram D, Ublagger E, Waser M, Pershagen G; PARSIFAL study group. Allergic diseases and atopic sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle--the PARSIFAL study. *Allergy*. 2006 Apr;61(4):414-21.
- 115 Genuneit J, Büchele G, Waser M, Kovacs K, Debinska A, Boznanski A, Strunz-Lehner C, Horak E, Cullinan P, Heederik D, Braun-Fahrländer C, von Mutius E; GABRIELA Study Group. The GABRIEL Advanced Surveys: study

- design, participation and evaluation of bias. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2011 Sep;25(5):436-47. Erratum in: *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2019 Nov;33(6):506.
- 116 Hufnagl K, Pali-Schöll I, Roth-Walter F, Jensen-Jarolim E. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma. *Semin Immunopathol*. 2020 Feb;42(1):75-93.
- 117 Unger PP, Makuch M, Aalbers M, Derksen NIL, Ten Brinke A, Aalberse RC, Rispens T, van Ham SM. Repeated vaccination with tetanus toxoid of plasma donors with pre-existing specific IgE transiently elevates tetanus-specific IgE but does not induce allergic symptoms. *Clin Exp Allergy*. 2018 Apr;48(4):479-482. doi: 10.1111/cea.13107. Epub 2018 Mar 7. PMID: 29383792.
- 118 Aalberse RC, van Ree R, Dannemann A, Wahn U. IgE Antibodies to Tetanus Toxoid in Relation to Atopy. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995;107:169-171.
- 119 Dannemann A, van Ree R, Kulig M, Bergmann RL, Bauer P, Forster J, Guggenmoos-Holzmann I, Aalberse RC, Wahn U. Specific IgE and IgG4 Immune Responses to Tetanus and Diphtheria Toxoid in Atopic and Nonatopic Children during the First Two Years of Life. *Int Arch Allergy Immunol*. 1996;111:262-267.
- 120 Nilsson L, Grüber C, Granström M, Björkstén B, Kjellman NI. Pertussis IgE and atopic disease. *Allergy*. 1998;53:1195-201.
- 121 Grüber C, Lau S, Dannemann A, Sommerfeld C, Wahn U, Aalberse RC. Downregulation of IgE and IgG4 antibodies to tetanus toxoid and diphtheria toxoid by covaccination with cellular *Bordetella pertussis* vaccine. *J Immunol*. 2001;167:2411-2417.
- 122 Nilsson L, Kjellman NI, Björkstén B. A randomized controlled trial of the effect of pertussis vaccines on atopic disease. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1998;152(8):734-738.

- 123 Ryan M, Murphy G, Ryan E, et al. Distinct T-cell subtypes induced with whole cell and acellular pertussis vaccines in children. *Immunology*. 1998;93:1-10.
- 124 Odent MR, Culpin EE, Kimmel, T. Pertussis vaccination and asthma: is there a link? [letter; comment]. *JAMA*. 1994;272:593.
- 125 Hurwitz EL, Morgenstern A. Effects of diphtheria-tetanus-pertussis or tetanus vaccination on allergies and allergy-related respiratory symptoms among children and adolescents in the United States. *J Manipulative Physiol Ther*. 2000;23:81-90.
- 126 Bodner C, Anderson WJ, Reid TS, Godden DJ. Childhood exposure to infection and risk of adult onset wheeze and atopy. *Thorax*. 2000; 55:383-387.
- 127 Mota I. Mast cell and histamine in rat anaphylaxis: the effect of *Haemophilus pertussis*. *Nature*. 1958;182:1021.
- 128 Lindsay DSJ, Parton R, Wardlaw AC. Adjuvant effect of pertussis toxin on the production of anti-albumin IgE in mice and lack of direct correlation between PCA and ELISA. *International Archives of Allergy Immunology*. 1994;105:281-288.
- 129 Pauwels R, van der Straeten M, Platteau B, Bazin H. The non-specific enhancement of allergy. I. In vivo effects of *Bordetella pertussis* vaccine on IgE synthesis. *Allergy*. 1983;38:239-246.
- 130 Munoz JJ, Arai H, Bergmann RK, Sadowski PL. Biological activities of crystalline pertussigen from *Bordetella pertussis*. *Infect Immun*. 1981;33:820-826.
- 131 Ishizaka K, Iwata M, Akasaki M. Biochemical basis of the adjuvant effects of pertussis toxin for the IgE response. In: Sekura RD, Moss J, Vaughan M, editors. *Pertussis toxin*. Orlando: Academic Press. 1985:185-204.

- 132 Hedenskog S, Björkstén B, Blennow M, Granström G, Granström M. Immunoglobulin E response to pertussis toxin in whooping cough and after immunization with a whole-cell and an acellular pertussis vaccine. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1989;89:156-161.
- 133 Wirsing von Koenig CH, Finger H. Specific IgE-antibodies to Bordetella pertussis antigens during whooping cough [letter]. *Lancet*. 1989;1:728.
- 134 Haus M, Weinberg EG, Malherbe D. Specific IgE antibodies to Bordetella pertussis after immunisation in infancy [letter]. *Lancet*. 1988;1:711.
- 135 Odelram H, Granström M, Hedenskog S, Duchén K, Björkstén B. Immunoglobulin E and G responses to pertussis toxin after booster immunization in relation to atopy, local reactions and aluminium content of the vaccines. *Pediatr Allergy Immunol*. 1994;5:118-123.
- 136 Mark A, Björkstén B, Granström M. Immunoglobulin E and G antibodies two years after a booster dose of an aluminium-adsorbed or a fluid DT vaccine in relation to atopy. *Pediatr Allergy Immunol*. 1997;8:83-87.
- 137 Duchén K, Granström M, Hedenskog S. Immunoglobulin E and G responses to pertussis toxin in children immunised with adsorbed and non-adsorbed whole cell pertussis vaccines. *Vaccine*. 1997;15:1558-1561.
- 138 Schuster A, Hofmann A, Reinhardt D. Does pertussis infection induce manifestation of allergy? *Clin Investig*. 1993;71:208-213.
- 139 Torre D, Issi M, Chelazzi G, Fiori GP, Sampietro C. Total serum IgE levels in children with pertussis. *Am J Dis Child*. 1990;144:290-291.
- 140 Wjst M, Dold S, Reitmeir P, Fritsch C, von Mutius E, Thiemann HH. Pertussis infection and allergic sensitization. *Ann Allergy*. 1994;73:450-454.

- 141 Gerhold K, Blümchen K, Bock A, Seib C, Stock P, Kallinich T, Löhning M, Wahn U, Hamelmann E. Endotoxins prevent murine IgE production, T(H)2 immune responses, and development of airway eosinophilia but not airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110:110-116.
- 142 Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, Carr D, Gerlach F, Bufe A, Lauener RP, Schierl R, Renz H, Nowak D, von Mutius E; Allergy and Endotoxin Study Team. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med.* 2002;347:869-77.
- 143 Lau S, Gerhold K, Zimmermann K, Ockeloen CW, Rossberg S, Wagner P, Sulser C, Bunikowski R, Witt I, Wauer J, Beschorner J, Menke G, Hamelmann E, Wahn U. Oral application of bacterial lysate in infancy decreases the risk of atopic dermatitis in children with 1 atopic parent in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129:1040-7.
- 144 Ryan M, Murphy G, Gothefors L, Nilsson L, Storsaeter J, Mills KH. *Bordetella pertussis* respiratory infection in children is associated with preferential activation of type 1 T helper cells. *J Infect Dis.* 1997;175:1246-1250.
- 145 Zepp F, Knuf M, Habermehl P, Schmitt HJ, Meyer C, Clemens R, Slaoui M. Cell-mediated immunity after pertussis vaccination and after natural infection. *Dev Biol Stand.* 1997;89:307-314.
- 146 Barnard A, Mahon BP, Watkins J, Redhead K, Mills KH. Th1/Th2 cell dichotomy in acquired immunity to *Bordetella pertussis*: variables in the in vivo priming and in vitro cytokine detection techniques affect the classification of T-cell subsets as Th1, Th2 or Th0. *Immunology.* 1996;87:372-380.
- 147 Mills KH, Barnard A, Watkins J, Redhead K. Cell-mediated immunity to *Bordetella pertussis*: role of Th1 cells in bacterial clearance in a murine respiratory infection model. *Infect Immun.* 1993;61:399-410.

- 148 Redhead K, McCarthy L, Rappuoli R. Effective immunization against *Bordetella pertussis* respiratory infection in mice is dependent on induction of cell-mediated immunity. *Infect Immun.* 1993;61:3190-3198.
- 149 Mahon BP, Sheahan BJ, Griffin F, Murphy G, Mills KH. Atypical disease after *Bordetella pertussis* respiratory infection of mice with targeted disruptions of interferon-gamma receptor or immunoglobulin mu chain genes. *J Exp Med.* 1997;186:1843-1851.
- 150 Barbic J, Leef MF, Burns DL, Shahin RD. Role of gamma interferon in natural clearance of *Bordetella pertussis* infection. *Infect Immun.* 1997;65:4904-4908.
- 151 Ausiello CM, Urbani F, la Sala A, Lande R, Cassone A. Vaccine- and antigen-dependent type 1 and type 2 cytokine induction after primary vaccination of infants with whole-cell or acellular pertussis vaccines. *Infect. Immun* 1997. 65(6):2168-74.
- 152 Mahon BP, Ryan MS, Griffin F, Mills KH. Interleukin-12 is produced by macrophages in response to live or killed *Bordetella pertussis* and enhances the efficacy of an acellular pertussis vaccine by promoting induction of Th1 cells. *Infect Immun.* 1996;64:5295-5301.
- 153 Ryan M, McCarthy L, Rappuoli R, Mahon BP, Mills KH. Pertussis toxin potentiates Th1 and Th2 responses to co-injected antigen: adjuvant action is associated with enhanced regulatory cytokine production and expression of the co-stimulatory molecules B7-1, B7-2 and CD 28. *Int Immunol.* 1998;10:651-662.
- 154 Nilsson L, Kjellman NI, Björkstén B. Allergic disease at the age of 7 years after pertussis vaccination in infancy: results from the follow-up of a randomized controlled trial of 3 vaccines. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2003;157:1184-1189.
- 155 World Health Organization, editor. WHO meeting on the case definition of pertussis: Geneva, 10-11 January 1991. 1991;MIN/EPI/PERT/91.1: 4-5.

- 156 Dreborg S, Frew A. Allergen standardization and skin tests. EAACI position paper. *Allergy*. 1993;48 Suppl 14:48-82.
- 157 Kirkwood BR, Sterne J. *Essentials Medical Statistics*. Oxford, UK: Blackwell Science, 2003.
- 158 Bühl A, Zöfel P. *SPSS Version 12: Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows*. 9th ed. Pearson Studium – Scientific Tools, 2004.
- 159 Debarry J, Hanuszkiewicz A, Stein K, Holst O, Heine H. The allergy-protective properties of *Acinetobacter lwoffii* F78 are imparted by its lipopolysaccharide. *Allergy*. 2010 Jun 1;65(6):690-7.
- 160 Agrawal S, Agrawal A, Doughty B, Gerwitz A, Blenis J, Van Dyke T, Pulendran B. Cutting edge: different toll-like receptor agonists instruct dendritic cells to induce distinct Th responses via differential modulation of extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein kinase and c-Fos. *J Immunol*. 2003. 172:4984-9.
- 161 Tang C, Inman MD, van Rooijen N, Yang P, Shen H, Matsumoto K, O'Byrne PM. Th type 1-stimulating activity of lung macrophages inhibits Th2-mediated allergic airway inflammation by an IFN-gamma-dependent mechanism. *J Immunol*. 2001. 166:1471-81.
- 162 Tulic MK, Wale JL, Holt PG, Sly PD. Modification of the inflammatory response to allergen challenge after exposure to bacterial lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000; 22:604-612.
- 163 Yu, J., Liu, X., Li, Y. *et al.* Maternal exposure to farming environment protects offspring against allergic diseases by modulating the neonatal TLR-Tregs-Th axis. *Clin Transl Allergy* **8**, 34 (2018).
- 164 Gereda JE, Leung DY, Thatayatikom A, Streib JE, Price MR, Klinnert MD, Liu AH. Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell

- development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. Lancet. 2000;355:1680-3.
- 165 Tang ML, Kemp AS, Thorburn J, Hill DJ. Reduced interferon-gamma secretion in neonates and subsequent atopy. Lancet. 1994;344:983-5.
- 166 Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. Lancet. 1999;353:196-200.
- 167 Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, Marshall JD, Umetsu DT. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. J Exp Med. 1993;178:2123-2130.
- 168 Gehlhar K, Schlaak M, Becker W, Bufe A. Monitoring allergen immunotherapy of pollen-allergic patients: the ratio of allergen-specific IgG4 to IgG1 correlates with clinical outcome. Clin Exp Allergy. 1999;29:497-506.
- 169 Grüber C, Kulig M, Bergmann R, Guggenmoos-Holzmann I, Wahn U; MAS-90 Study Group. Delayed hypersensitivity to tuberculin, total immunoglobulin E, specific sensitization, and atopic manifestation in longitudinally followed early Bacille Calmette-Guérin-vaccinated and nonvaccinated children. Pediatrics. 2001;107:e36.
- 170 Herz U, Gerhold K, Grüber C, Braun A, Wahn U, Renz H, Paul K. BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. J Allergy Clin Immunol. 1998;102:867-74.
- 171 Marchant A, Goetghebuer T, Ota MO, Wolfe I, Ceesay SJ, De Groot D, Corrah T, Bennett S, Wheeler J, Huygen K, Aaby P, McAdam KP, Newport MJ. Newborns develop a Th1-type immune response to *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin* vaccination. J Immunol. 1999;163:2249-55.



172 Akdis CA. Therapies for allergic inflammation: refining strategies to induce tolerance. *Nat Med.* 2012 May 4;18(5):736-49.

## Eidesstattliche Versicherung

Ich, Suzan Kakat, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Suppression von IgE gegen Tetanus- und Diphtherie-Toxoid bei Kindern nach ganzzellulärer (aber nicht azellulärer) *Bordetella pertussis*-Impfung, Cellular (but not acellular) Bordetella pertussis immunization down-regulates IgE and IgG4 antibodies to covaccinated tetanus and diphtheria toxoid in children“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Erstbetreuerin, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

## **Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Suzan Kakat hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation:

Aalberse RC, Grüber C, Ljungman M, Kakat S, Wahn U, Niggemann B, Nilsson LJ. Further investigations of the IgE response to tetanus and diphtheria following covaccination with acellular rather than cellular Bordetella pertussis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2019;30(8):841-847.

Beitrag im Einzelnen:

Erarbeitung der Fragestellung und des Studiendesigns zusammen mit den übrigen Autoren, Definition der zu untersuchenden Parameter, Durchführung der serologischen Analysen, Revision des Publikationsentwurfes (Einleitung, Methodik, Ergebnisse, Diskussion).

---

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Publikationsliste

Hoskote A, Ridout D, Banks V, Kakat S, Lakhanpaul M, Pagel C, Franklin RC, Witter T, Lakhani R, Tibby SM, Anderson D, Tsang V, Wray J, Brown K. Neurodevelopmental status and follow-up in preschool children with heart disease in London, UK. *Arch Dis Child*. 2021;106(3):263-271.

Wray J, Kakat S, Brown K, O'Callaghan M, Thiruchelvam T, Hoskote A. Childhood Extracorporeal Membrane Oxygenation Survivors: Parents Highlight Need for Structured Follow-Up and Support After Hospital Discharge. *Pediatr Crit Care Med*. 2020;21(5):461-468.

Brown KL, Pagel C, Ridout D, Wray J, Tsang VT, Anderson D, Banks V, Barron DJ, Cassidy J, Chigaru L, Davis P, Franklin R, Grieco L, Hoskote A, Hudson E, Jones A, Kakat S, Lakhani R, Lakhanpaul M, McLean A, Morris S, Rajagopal V, Rodrigues W, Sheehan K, Stoica S, Tibby S, Utley M, Witter T. Early morbidities following paediatric cardiac surgery: a mixed-methods study. *Health Serv Deliv Res*. 2020;8(30).

Aalberse RC, Grüber C, Ljungman M, Kakat S, Wahn U, Niggemann B, Nilsson LJ. Further investigations of the IgE response to tetanus and diphtheria following covaccination with acellular rather than cellular *Bordetella pertussis*. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019;30(8):841-847.

Brown KL, Ridout DA, Pagel C, Lakhanpaul M, Kakat S, Banks V, Franklin R, Witter T, Lakhani R, Tibby S, Anderson D, Tsang V, Hoskote AU, Wray J. Validation of the Brief Developmental Assessment in pre-school children with heart disease. *Cardiol Young*. 2018;28(4):571-581.

Dominguez TE, Kakat S, Wray J. Severity of Illness VIS-à-Vis Neuropsychologic Outcomes in Critically Ill Neonates. *Crit Care Med*. 2018;46(3):486-487.

Kakat S, O'Callaghan M, Smith L, Hreiche R, Ridout DA, Wray J, Thiruchelvam T, Brown KL, Hoskote AU. The 1-Year Follow-Up Clinic for Neonates and Children After

Respiratory Extracorporeal Membrane Oxygenation Support: A 10-Year Single Institution Experience. *Pediatr Crit Care Med.* 2017;18(11):1047-1054.

Stocker M, Menadue L, Kakat S, De Costa K, Combes J, Banya W, Lane M, Desai A, Burmester M. Reliability of team-based self-monitoring in critical events: a pilot study. *BMC Emerg Med.* 2013;13:22.



## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen einer Kooperation von der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie, Immunologie und Intensivmedizin der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin (damaliger Leiter: Prof. Dr. Ulrich Wahn), des Amsterdam and Landsteiner Laboratory, Sanquin Research, University of Amsterdam in den Niederlanden und der Klinik für Klinische und Experimentelle Medizin, Allergy Center, Linköping Universität in Schweden.

Mein herzlicher Dank gilt all denen, die an der Fertigstellung dieser Promotion beteiligt waren, insbesondere Prof. Dr. Ulrich Wahn für die initiale Übertragung des Themas, bei PD Dr. Christoph Grüber für die anfängliche Betreuung und Prof. Dr. Susanne Lau für die Betreuung bei der Fertigstellung der Arbeit, Prof. Dr. Rob Aalberse für die Unterstützung bei der Durchführung der Assays im Labor in Amsterdam und Prof. Dr. Lennart Nilsson für die Bereitstellung der Blutproben aus der schwedischen Impfstudie für die serologischen Analysen.

Nicht vergessen möchte ich die vielen Familien, deren Kinder für die Studie untersucht wurden. Ohne ihren Beitrag wäre die Arbeit nicht zustande gekommen.

Meinen Eltern und Schwestern bin ich besonders innig für ihren immerwährenden Beistand und Fürsorge in all meinen Lebenslagen dankbar.