

Aus dem Institut für Allergieforschung
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Entwicklung eines Instruments zur Erfassung der
Krankheitsaktivität bei Patient*innen mit Kälteurtikaria und
Analyse von Kryoproteinen bei Kälteurtikaria

Development of a disease activity score for patients with Cold urticaria
and analysis of cryoproteins in Cold urticaria

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dalia Melina Ahsan

Datum der Promotion: 30.06.2024

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|------------|
| Inhaltsverzeichnis | I |
| Tabellenverzeichnis | III |
| Abbildungsverzeichnis | IV |
| Abkürzungsverzeichnis | V |
| Zusammenfassung | 1 |
| Abstract..... | 3 |
| 1. Einleitung..... | 5 |
| 1.1 Einführung..... | 5 |
| 1.2 Entwicklung eines krankheitsspezifischen Messinstruments für die Kälteurtikaria – Bedeutung und aktueller Forschungsstand..... | 8 |
| 2. Methodik – ColdUAS Entwicklung..... | 10 |
| 2.1 Phase 1: Erstellung eines Konzeptrahmens und Vorbereitung der Studie..... | 11 |
| 2.2 Phase 2: ColdUAS Item Generierung..... | 11 |
| 2.2.1 Literaturrecherche | 11 |
| 2.2.2 Interviews mit ColdU-Patient*innen für die Identifizierung von möglichen Items..... | 12 |
| 2.2.3 Durchsicht der Items durch die Expert*innengruppe | 14 |
| 2.3 Phase 3: Item-Selektion und Inhaltsvaliditätsanalyse..... | 14 |
| 2.3.1 Cognitive Debriefing | 14 |
| 2.3.3 Impact-Analyse..... | 15 |
| 2.3.4 Durchsicht der Expert*innen zur Augenscheinvalidität und finale Formatierung des ColdUAS16 | |
| 2.3.5 Übersetzungsprozess in eine U.S. amerikanische Version | 16 |
| 3. Ergebnisse – ColdUAS Entwicklung..... | 17 |
| 3.1 Phase 1: Erstellung eines Konzeptrahmens und Vorbereitung der Studie..... | 17 |
| 3.2 Phase 2: Item-Generierung..... | 17 |
| 3.3 Phase 3: Auswahl der finalen Items und Inhaltsvaliditätsanalyse..... | 20 |
| 3.3.1 Cognitive Debriefing und semi-strukturierte Interviews | 20 |
| 3.3.2 Impact-Analyse..... | 20 |
| 3.3.3 Durchsicht der Expert*innen und finale Formatierung..... | 21 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Kryoproteine als diagnostischer Marker der Kälteurtikaria - Aktueller Forschungsstand und Bedeutung für die Kälteurtikaria..... | 25 |
| 5. Methodik – Kryoproteine bei ColdU-Patient*innen | 26 |
| 5.1 Systematische Analyse und Metaanalyse von Kryoproteinen bei ColdU-Patient*innen in der Literatur..... | 26 |
| 5.2 Retrospektive Analyse von ColdU-Patient*innen des UCARE Zentrums Berlin | 27 |
| 5.3 Prospektive Analyse von ColdU-Patient*innen des UCARE Zentrums Berlin | 27 |
| 5.4 Laboranalysen von Kryoproteinen | 29 |
| 5.6 Statistische Methoden..... | 30 |
| 6. Ergebnisse - Kryoproteine bei ColdU-Patient*innen | 30 |
| 6.1 Literaturreview: Geringe Anzahl an positiven Kryoproteinen bei breiter Spannweite an Ergebnissen in der Literatur..... | 30 |
| 6.2 Retrospektive Analyse: Nur bei wenigen Patient*innen wurden Kryoproteine bestimmt und bei diesen wenigen Patient*innen gab es auch eine sehr geringe Anzahl positiver Ergebnisse..... | 30 |
| 6.3 Prospektive Analyse: Die Anzahl positiver Kryoproteine bei 49 ColdU-Patient*innen war sehr gering | 31 |
| 7. Diskussion | 31 |
| 7.1 Klinische Anwendungen..... | 32 |
| 7.2 Stärken und Limitationen der Arbeit..... | 34 |
| 7.3 Zusammenfassung und weiterführende Fragen | 35 |
| Literaturverzeichnis | 37 |
| Eidesstattliche Versicherung | 42 |
| Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen | 43 |
| Auszug aus der Journal Summary List und Druckexemplar Publikation 1..... | 44 |
| Auszug aus der Journal Summary List und Druckexemplar Publikation 2..... | 56 |
| Lebenslauf | 68 |
| Komplette Publikationsliste | 70 |
| Danksagung..... | 71 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1 Demografische Daten eingeschlossener Kälteurtikaria-Patient*innen für die ColdUAS Entwicklung | 13 |
| Tabelle 2 Demografische Information zu den Cognitive Debriefings des vorläufigen ColdUAS | 14 |
| Tabelle 3 Ergebnisse der Item-Generierung und Item-Selektion | 19 |
| Tabelle 4 Item-Tracking Matrix ColdUAS Entwicklung | 22 |
| Tabelle 5 Demografische Daten von Kälteurtikaria-Patient*innen für die Analyse von Kryoproteinen..... | 28 |
| Tabelle 6 Analyseverfahren von Kryoproteinen | 29 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1 Standardisierte Kälteprovokationstestungen..... | 7 |
| Abbildung 2 Flussdiagramm des ColdUAS Entwicklungsprozesses..... | 10 |
| Abbildung 3 Impact-Analyse | 21 |
| Abbildung 4 Finale deutsche Version des ColdUAS | 24 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|---|
| AAS | Angioödem-Aktivitätsscore (Angioedema Activity Score) |
| CholU | Cholinergische Urtikaria (Cholinergic urticaria) |
| CholUAS | Cholingerische-Urtikaria-Aktivitätsscore (Cholingeric Urticaria Activity Score) |
| CindU | Chronisch induzierbare Urtikaria |
| ColdU | Kälteurtikaria (Cold urticaria) |
| ColdUAS | Kälteurtikaria-Aktivitätsscore (Cold Urticaria Activity Score) |
| CST | Kältestimulationstest/ Kälteprovokationstest (Cold stimulation test) |
| CSU | Chronisch spontane Urtikaria |
| CTT | Kritische Temperaturschwelle (Critical temperature threshold) |
| CU | Chronische Urtikaria |
| ICT | Eiswürfel-Test (Ice cube test) |
| PROM | Patient reported outcome measure |
| UAS | Urtikaria-Aktivitätsscore (Urticaria Activity Score) |
| UCARE | Urticaria Center of Reference and Excellence |

Zusammenfassung

Einleitung: Die Urtikaria ist mit einer Lebenszeitprävalenz von 20% eine der häufigsten dermatologischen Krankheitsbilder und kann in verschiedene Untergruppen mit oder ohne auslösende Faktoren eingeteilt werden.

Bei der Kälteurtikaria (ColdU), einer chronisch induzierbaren Form der Urtikaria, entwickeln Patient*innen bei Hautkontakt mit Kälte juckende Quaddeln, Angioödeme und teils systemische Beschwerden. Obwohl der Leidensdruck der Betroffenen hoch ist, gibt es bisher keine PROM-Instrumente (patient reported outcome measures, PROM) zur Erfassung von Krankheitsaktivität bei ColdU.

Kryoproteine sind Eiweiße, die *in vivo* bei Temperaturen unter 37°C ausfallen und mit kälteinduzierten Erkrankungen wie dem Raynaud-Syndrom oder der kryoglobulinämischen Vaskulitis assoziiert sind. Ihre Prävalenz bei ColdU-Patient*innen ist bisher ungeklärt.

Unser Ziel war 1.) die Entwicklung eines benutzerfreundlichen Aktivitätsscores für ColdU-Patient*innen (Cold Urticaria Activity Score, ColdUAS) und 2.) eine retrospektive und prospektive Erfassung der Prävalenz von Kryoproteinen bei ColdU.

Methodik: Zur Generierung des ColdUAS erfolgte ein 3-phasiges Vorgehen nach PROM-Leitlinien: 1. Erstellung eines Konzeptrahmens, 2. Generierung von möglichen Items mittels Literaturrecherche, Patient*inneninterviews (n = 47) und Durchsicht der Expert*innen sowie 3. Item-Selektion mit Hilfe von semi-strukturierten Interviews (n = 25), einer Impact-Analyse mit 27 Patient*innen, Cognitive Debriefings und einer Prüfung der Augenscheinvalidität. Anschließend erfolgten eine finale Formatierung sowie ein strukturierter Übersetzungsprozess in eine amerikanisch-englische Version.

Für die Analyse von Kryoproteinen erfolgte ein 3-phasiges Vorgehen inklusive systematischer Literaturrecherche, retrospektiver Analyse von 293 ColdU-Patient*innen der Charité, Berlin und prospektiver Analyse von 49 ColdU-Patient*innen.

Ergebnisse: Der strukturierte Entwicklungsprozess führte zur Generierung des 4-Item-ColdUAS mit Erfassung von 1. Häufigkeit und Schwere von Hautsymptomen (Quaddeln, Angioödeme), 2. Häufigkeit und Schwere von Beschwerden (Juckreiz, Brennen), 3. Exposition zu Auslösern und 4. Vermeidung von Auslösern.

Die Analyse von Kryoproteinen zeigte eine geringe Anzahl positiver Ergebnisse bei allen drei Methoden.

Schlussfolgerung: Der ColdUAS ist das erste krankheitsspezifische Instrument zur Erfassung von Krankheitsaktivität bei ColdU und ist geeignet für alle ColdU-Patient*innen ab 12 Jahren. Er ermöglicht sowohl in der Praxis als auch in der Klinik ein Monitoring von ColdU-Patient*innen und ebnet den Weg für kommende klinische Studien. Der ColdUAS wird in einer folgenden Studie auf Validität und Reliabilität geprüft.

Auf Grund ihrer niedrigen Prävalenz bei ColdU in allen drei durchgeführten Methoden, empfehlen wir keine routinemäßige Bestimmung von Kryoproteinen. Weitere Untersuchungen der Charakteristika positiver Patient*innen sind notwendig, um die Rolle von Kryoproteinen bei ColdU zu klären.

Abstract

Introduction: Urticaria is one of the most common dermatological conditions with a lifetime prevalence of 20% and can be divided into different subgroups according to triggering factors.

In cold urticaria (ColdU), a chronic inducible subtype of urticaria, patients develop pruritic wheals, angioedema, and partly systemic symptoms upon skin contact with cold. Although the psychological distress is significant, presently no patient reported outcome measures (PROMs) are available to measure disease activity in ColdU.

Cryoproteins are proteins that precipitate *in vivo* at temperatures below 37°C and are associated with cold-induced diseases such as Raynaud's syndrome or cryoglobulinemic vasculitis. Their prevalence in ColdU patients remains unclear.

Our aim was 1.) to develop a user-friendly activity score for ColdU patients (Cold Urticaria Activity Score, ColdUAS) and 2.) to assess the prevalence of cryoproteins in ColdU.

Methods: To generate the ColdUAS, we followed a 3-phase procedure according to PROM guidelines: 1. development of a conceptual framework; 2. generation of possible items based on literature research, patient interviews (n = 47), and expert discussion; and 3. item selection using semi-structured interviews (n = 25), an impact analysis including 27 patients, cognitive debriefings, and a face validity assessment. This was followed by final formatting and a structured translation process into an American-English version.

For the analysis of cryoproteins, we performed a 3-phase method including a systematic literature review, a retrospective analysis of 293 ColdU patients of the Charité, Berlin and a prospective analysis of 49 ColdU patients.

Results: This structured development process resulted in the generation of the 4-item ColdUAS that includes: 1. Frequency and severity of signs of ColdU (wheals, angioedema), 2. frequency and severity of symptoms of ColdU (itching, burning), 3. exposure to triggers, and 4. avoidance of triggers.

In addition, our analysis of cryoproteins in ColdU patients showed a very low number of positive results in all 3 methods.

Summary: The ColdUAS is the first disease-specific instrument for the assessment of disease activity in ColdU and is suitable for all ColdU patients aged 12 years and older.

It enables monitoring of ColdU patients in clinical and practice settings and opens the door for future clinical trials. The ColdUAS will be tested for validity and reliability in a subsequent validation study.

Given their low prevalence in ColdU in all three performed methods, we do not recommend routine screening for cryoproteins. Further investigations of characteristics of positive patients are necessary to clarify the role of cryoproteins in ColdU.

1. Einleitung

1.1 Einführung

Die Urtikaria (zu Deutsch: Nesselsucht) ist mit einer Lebenszeitprävalenz von ca. 20 % eine sehr häufige dermatologische Erkrankung, die Haut und Schleimhäute betrifft (1, 2). Sie ist charakterisiert durch das Auftreten von Quaddeln und/oder Angioödemem, wobei die Größe und Form der Hauterscheinungen je nach Individuum stark variieren kann (2-5). In der Regel geht die Entwicklung von Quaddeln mit Juckreiz oder einem brennenden Gefühl an den betroffenen Stellen einher (2, 6). Per Definition verschwinden die Quaddeln nach 30 Minuten bis 24 Stunden (2). Dagegen haben Angioödeme ihren Ursprung in tieferen Hautschichten (tiefe Dermis oder Subcutis), können bis zu 72 Stunden verbleiben und haben häufig einen eher schmerzenden, spannenden Charakter (2).

Die Urtikaria kann in akute und chronische Formen eingeteilt werden. Als chronisch gilt sie, wenn die Symptomatik länger als 6 Wochen anhält (2, 3, 7, 8). In einer Metaanalyse von Fricke et al. (9) von 2020 konnte eine globale Lebenszeitprävalenz von 0,7 % bis 1,4 % für die chronische Urtikaria (CU) aufgezeigt werden.

Des Weiteren können verschiedene Subtypen der CU nach ihren Auslösern unterschieden werden: Die chronisch spontane Urtikaria (CSU), ohne spezifischen Auslöser der Symptome und die chronisch induzierbaren Urtikaria Formen (CindUs). Letztere werden häufig noch nach physikalischen Urtikaria Formen klassifiziert, wie der symptomatische Dermographismus oder die Kälteurtikaria und spezielle bzw. andere Urtikaria Formen, hier zu nennen die cholinergische Urtikaria (CholU). Eine Kombination verschiedener Urtikaria Formen ist möglich. (3, 6, 7)

Die Kälteurtikaria (ColdU) ist ein Subtyp der CindUs, bei welchem durch Kontakt der Haut oder Schleimhaut mit Kälte Quaddeln, Angioödeme und/oder systemische Symptome entstehen (7, 10). Mit einer Inzidenz von 0,05 % in der Gesamtbevölkerung zählt sie zu den häufigsten CindUs (11, 12). Im Durchschnitt dauert die Erkrankung ca. 6 Jahre an und endet meistens in einer Spontanremission (12). Dennoch kann die Erkrankung auch länger als 10 Jahre persistieren (13). Frauen sind mit ca. 63 – 70 % weitaus häufiger betroffen als Männer (14, 15). Die Kälteurtikaria manifestiert sich in der Regel im jungen

Erwachsenenalter (13, 15, 16). Genauere Daten zur Epidemiologie der Erkrankung sind bisher unbekannt und werden im Rahmen aktueller Studien evaluiert (12).

Häufige Auslöser von Quaddel- oder Angioödembildung sind kalte Außentemperaturen, Kontakt mit kalten Flüssigkeiten und Objekten, aber auch der Verzehr von kalten Speisen und Getränken sowie die Wiederaufwärmung der Haut nach Kältekontakt. Des Weiteren können Ko-faktoren wie Wind, Feuchtigkeit und Bewegung obligat für die Symptombildung sein oder diese aggravierend. (10, 13, 17, 18)

Darüber hinaus berichten Maltseva et al. (12), dass 4 % bis 52 % der Kälteurtikaria Patient*innen systemische, im schlimmsten Fall lebensgefährliche Symptome wie Schwindel, Ohnmacht, Übelkeit oder Atemdepression im Laufe der Erkrankung erleben, insbesondere bei generalisierter Kälteexposition (zum Beispiel Schwimmen in einem kalten Pool) oder bei Schwellung der Schleimhäute nach Kältekontakt (12). Ähnliche Daten zeigt eine multi-zentrische Studie von Bizjak et al. von 2021 (18), bei der anamnestisch 37% der untersuchten ColdU-Patient*innen systemische Beschwerden im Sinne einer kälteinduzierten Anaphylaxie angaben (18). Da sowohl die Symptomatik als auch die Auslöser sehr heterogen sind, kommt es häufig erst Jahre nach Krankheitsmanifestation zu einer klaren Diagnosestellung.

Zur Diagnostik der ColdU können nach den aktuellen EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI Leitlinien (2) verschiedene standardisierte Kälteprovokationstests (Cold stimulation test, CST) herangezogen werden. Dazu gehören der Eiswürfel-Test (Ice cube test, ICT) und der TempTest[®]. Zur Durchführung des ICTs wird ein Gummihandschuh oder Plastikbeutel mit Wasser und Eiswürfeln befüllt und für 5 Minuten auf den volaren Unterarm gelegt (7, 12, 19). Können nach einer 10-minütigen Beobachtungszeit Quaddeln im Bereich des Testareals erfasst werden, fällt der Test positiv aus (7, 12, 19). Mit Hilfe des TempTest[®]-Gerätes kann die individuelle kritische Temperaturschwelle (Critical temperature threshold, CTT) des*der Patient*in bestimmt werden. Das Gerät erzeugt in Form eines Hufeisens Temperaturen zwischen 4°C und 44°C (20-22). Nach einer standardisierten 5-minütigen Testung und 10-minütiger Beobachtungszeit kann auch hier bei positivem Ergebnis eine i.d.R. konfluierende Quaddel bis zur CTT erfasst werden (siehe *Abbildung 1*) (20-22). In beiden Fällen, also positiven ICT und/oder positiven TempTest[®], kann die Diagnose einer typischen Kälteurtikaria gestellt werden

(2, 12). Im Falle einer eindeutigen Anamnese bezüglich kälteinduzierter Quaddeln/Angioödeme, aber negativen oder atypischen standardisierten Kälteprovokationstestungen ist die Diagnose einer atypischen Kälteurtikaria wahrscheinlicher (7, 10, 19). Hier können dann individuell modifizierte Kältetestungen durchgeführt werden zur weiteren Diagnostik und Diagnosesicherung (6, 12).

Neben den typischen und atypischen Formen kann die Kälteurtikaria in primär und sekundär eingeteilt werden. Die sekundäre Kälteurtikaria kann durch hämatologische Erkrankungen, Malignome, Kryoprotein-assoziierte Erkrankungen oder andere autoimmunologische Erkrankungen verursacht werden, während bei der weitaus häufigeren primären Kälteurtikaria keine sekundäre Ursache zu Grunde liegt. (19)

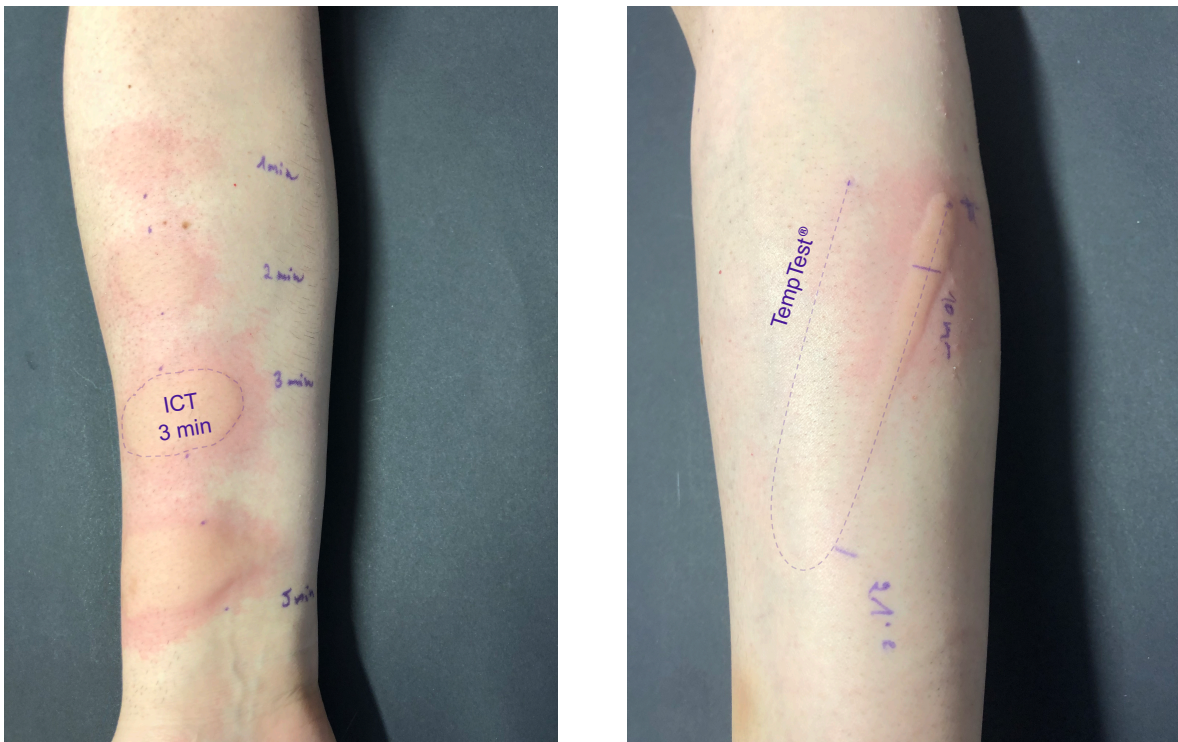


Abbildung 1 Standardisierte Kälteprovokationstestungen

Links: Eiswürfeltest (ICT) positiv bei 1- bis 5-minütiger Kältetestung; rechts: TempTest® positiv mit einem Schwellenwert von 21°C und größtem Quaddeldurchmesser von 10 mm

Bis heute gibt es keine Möglichkeit die ColdU kurativ zu therapieren (2). Daher wird eine adäquate Symptomkontrolle angestrebt. Neben der Vermeidung der auslösenden Faktoren, stellen H1-Antihistaminika die Erstlinientherapie dar und sind die einzige zugelassene Therapieoption für ColdU-Patient*innen (2, 3, 7). Auch bei Steigerung der Standardddosis auf das 4-fache (off-label-use) erreichen nur ca. 50% der Patient*innen

eine vollständige Symptomkontrolle (7, 23, 24). Bei therapierefraktären Patient*innen kann Omalizumab im off-label-use eingesetzt werden. Nichtsdestotrotz profitieren auch von diesem Therapieregime nicht alle Patient*innen, sodass eine suffiziente Symptomreduktion nicht immer erreicht werden kann (7, 12, 23).

Da kurative Therapieansätze fehlen und auch symptomatische Therapieregime im zugelassenen Bereich bisher sehr begrenzt sind, ist die Versorgung von Patient*innen mit Kälteurtikaria häufig nicht zufriedenstellend und stellt Behandelnde immer wieder vor große Herausforderungen.

Darüber hinaus konnten Jain et al. (13) im Rahmen einer 20-jährigen Beobachtungsstudie feststellen, dass viele ColdU-Patient*innen stark in ihrer Lebensqualität durch unzureichende Symptomkontrolle bzw. durch Vermeidung von Auslösern in der Freizeit oder am Arbeitsplatz eingeschränkt sind (13).

1.2 Entwicklung eines krankheitsspezifischen Messinstruments für die Kälteurtikaria – Bedeutung und aktueller Forschungsstand

Bis heute gibt es keine validierten, objektiven Messinstrumente, um die Krankheitsaktivität von ColdU-Patient*innen zu erfassen (25).

Besonders bei der Entwicklung neuer medikamentöser Therapieansätze oder Zulassung von bereits im off-label genutzten Pharmaka ist die Dokumentation, Messung und Bewertung von Krankheitsaktivität wichtig, um Therapieerfolge zu erfassen und Veränderungen im Krankheitsgeschehen zu evaluieren. Nur durch die Erfassung von Krankheitsaktivität kann ein suffizientes klinisches Monitoring gewährleistet werden. Auch in der klinischen Praxis fehlt ein solches Messinstrument für die klinische Evaluierung von ColdU-Patient*innen und eine adäquate klinische Versorgung.

Bisher kann die Krankheitsaktivität nur durch Erfassung des CTTs mit Hilfe eines TempTest®-Geräts dokumentiert werden (21). Dabei gibt der individuelle CTT die Temperatur an, bis zu welcher eine kälteinduzierte Quaddelbildung möglich ist (20). Zwar konnten Mlynek et. al. (21) sowohl eine Korrelation zwischen CTT und Krankheitsschwere als auch -aktivität messen, dennoch kann insbesondere bei Patient*innen mit atypischer ColdU eine klinische Bewertung schwierig sein, da hier durch standardisierte CSTs kein quantitatives Ergebnis reproduziert werden kann (10).

Deshalb haben wir den Kälteurtikaria-Aktivitätsscore (Cold Urticaria Activity Score, ColdUAS) entwickelt, um die Krankheitsaktivität von ColdU-Patient*innen zu erfassen. Dabei handelt es sich um ein „patient reported outcome measure“ (PROM) Instrument, welches nach aktuellen PROM-Richtlinien (26) entwickelt wurde. Durch PROMs kann eine standardisierte Erfassung des klinischen Status von Patient*innen erfolgen. Darüber hinaus können Patient*innen ungefiltert ihre Perspektive auf das individuelle Krankheitsgeschehen äußern. Somit sind Erhebungen nicht durch vorgefilterte Einschätzungen von Ärzt*innen oder Expert*innen verzerrt. (3, 25-27)

Zwar existieren bereits Fragebögen zur Erfassung von Krankheitsaktivität von Urtikaria-Patient*innen, wie der validierte Urticaria Activity Score (UAS) (28) für die CSU oder der Cholergeric Urticaria Activity Score (CholUAS, Validierung fortlaufend) (29) für die CholU, diese können aber nicht passend bei ColdU angewandt werden. Denn die Krankheitsaktivität von ColdU-Patient*innen wird maßgeblich von Vermeidungsverhalten beeinflusst, indem Kälte zum Beispiel durch Anziehen von warmer Kleidung oder Verbleiben in der Wohnung bei kalten Außentemperaturen aktiv gemieden werden kann (13). Bei alleiniger Erfassung der Symptomatik kann die abgebildete Krankheitsaktivität von ColdU-Patienten*innen durch fehlende Betrachtung von auslösenden Faktoren und Vermeidungsverhalten demnach geringer ausfallen.

Das Ziel dieser Arbeit war daher die Entwicklung des ersten krankheitsspezifischen Messinstruments zur Erfassung der Krankheitsaktivität von Patient*innen mit ColdU. Mit diesem Instrument soll nicht nur der aktuelle Status von Patient*innen erfasst werden, sondern auch Veränderungen in der Krankheitsaktivität über einen bestimmten Zeitraum gemessen werden, z.B. nach Anpassung des Therapieregimes in der klinischen Praxis oder im Rahmen von klinischen Studien.

Nachfolgend werden zunächst Methodik und Ergebnisse der ColdUAS Entwicklung beschrieben. Darauffolgend schließt sich eine Darstellung der Arbeit „*Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients*“ (30) an und führt dann in einer gemeinsamen Diskussion beider Arbeiten zusammen.

2. Methodik – ColdUAS Entwicklung

Im Folgenden wird die Methodik für die Entwicklungsstudie des Kälteurtikaria-Aktivitätsscores vertieft dargestellt. Die methodischen Schritte zur Entwicklung des ColdUAS sind ebenfalls in der Originalpublikation „*Development of a Cold Urticaria Activity Score*“ (31), im Kapitel „Patients and Methods“ beschrieben.

Die Entwicklung des ColdUAS kann in 3 Phasen eingeteilt werden: 1.) Erstellung eines Konzeptrahmens 2.) Generierung von Items 3.) Auswahl von finalen Items sowie finale Formatierung (Überblick in *Abbildung 2*).

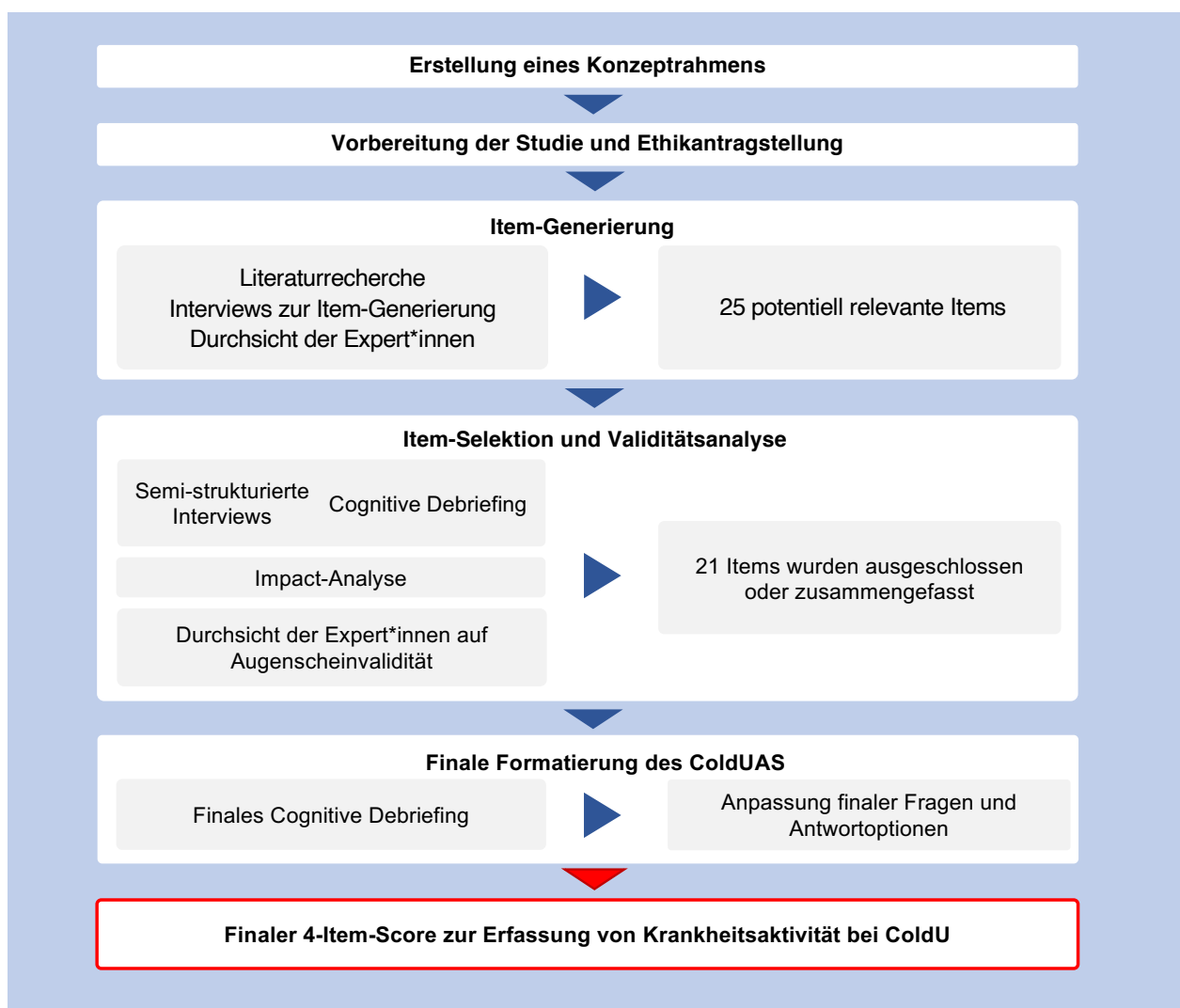


Abbildung 2 Flussdiagramm des ColdUAS Entwicklungsprozesses

Die Entwicklung des ColdUAS kann eingeteilt werden in 1.) Erstellung eines Konzeptrahmens und Vorbereitung der Studie 2.) Generierung von möglichen Items und 3.) Auswahl finaler Items und Formatierung des Fragebogens.

Abkürzungen: ColdU, Kälteurtikaria; ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score

Vgl. *Abbildung 1*, „*Development of the Cold Urticaria Activity Score*“ (31)

2.1 Phase 1: Erstellung eines Konzeptrahmens und Vorbereitung der Studie

Der erste Schritt für die Entwicklung eines Scores für die Erfassung von Krankheitsaktivität von ColdU-Patient*innen war die Erstellung eines Konzeptrahmens im Sinne eines „conceptual frameworks“. Das „conceptual framework“ wurde gemeinsam in einer Kälteurtikaria-Expert*innengruppe (Dalia Melina Ahsan, Sabine Altrichter, Marcus Maurer, Dorothea Terhorst-Molawi, Karsten Weller) generiert. Zunächst wurde das grundlegende Konzept des Konstrukts und Ziele der Entwicklung definiert. Des Weiteren wurden bereits ähnliche, existierende Fragebögen und Aktivitätsscores diskutiert und für die Konzepterstellung herangezogen, um als Anhaltspunkt für die Struktur und das Scoring des ColdUAS zu dienen. Eine Mindestanzahl von 30 ColdU-Patient*innen für Befragungen im Rahmen der Item-Entwicklung wurde festgelegt, da die Erkrankung je nach Krankheitsschwere und Form sehr variabel sein kann und dementsprechend ein breites Spektrum im Patient*innenkollektiv wichtig ist. (31)

Nach der Erstellung des Konzeptrahmens wurden wesentliche Vorbereitungen für die ColdUAS Entwicklung getroffen: Die Ethikantragstellung erfolgte bereits im Vorfeld im Rahmen eines Projekts zur PROM-Entwicklung von CindUs, welches ein Ethikvotum (Referenz: EA1/385/13 & EA1/398/20) erhielt. Weiterhin erfolgte die Rekrutierung von Patient*innen über die Hochschulambulanz und das Urticaria Center of Reference and Excellence (UCARE) an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité, Berlin.

2.2 Phase 2: ColdUAS Item Generierung

Für die Generierung von Items zur Fragenbildung des Aktivitätsscores wurde 1.) eine Literaturrecherche durchgeführt, gefolgt von 2.) Interviews mit 47 ColdU-Patient*innen und 3.) einer Durchsicht durch die Expert*innen zur Vervollständigung aller relevanten Items.

2.2.1 Literaturrecherche

Um eine möglichst breit gefächerte Auswahl an potenziellen Items zu generieren, wurde eine Literaturrecherche durchgeführt. Am 30. August 2019 wurde die elektronische Datenbank MEDLINE/PubMed mit den MeSH-Terms ("*cold urticaria*" AND *symptoms*) OR ("*cold urticaria*" AND *triggers*) (31) nach kälteinduzierten Symptomen und Auslösern

durchsucht. Relevante Artikel aus den Jahren 1961 bis 2019, in deutscher oder englischer Sprache und vorhandenen Volltext wurden auf mögliche Items analysiert. Zudem wurden wichtige Referenzen aus Schlüsselpublikationen herausgefiltert und nach weiteren Informationen durchsucht. (31)

Darüber hinaus wurde die Literaturrecherche auf verschiedene vergleichbare Scores bzw. Messinstrumente für die Erfassung von Krankheitsaktivität von ColdU erweitert. Hierbei wurden die MeSH-Terms ("*urticaria activity score*" AND (*development OR validation*)) OR ("*angioedema activity score*" AND (*development OR validation*))(31) genutzt. Die Aktivitätsscores wurden auf Struktur, Scorebildung, Anzahl der Items und Vergleichbarkeit mit ColdU analysiert (31).

2.2.2 Interviews mit ColdU-Patient*innen für die Identifizierung von möglichen Items

Um möglichst alle für ColdU-Patient*innen wichtige Items zu identifizieren wurden semi-strukturierte Interviews mit 47 ColdU-Patient*innen durchgeführt. Die Interviews fanden im Zeitraum von Juli 2019 bis Juli 2020 statt. Als Einschlusskriterium musste zum Zeitpunkt der Befragung eine aktive ColdU vorliegen und der*die Patient*in mindestens 12 Jahre sein. Im Rahmen der Befragungen wurden Basisinformationen und anamnestische Angaben zu Dauer und Erstmanifestation der Erkrankung, sowie die Familienanamnese bezüglich Urtikaria erhoben und Begleiterkrankung dokumentiert. Für die Item-Generierung wurden kälteassoziierte Symptome und dessen Auslöser festgehalten. Um die Diagnose einer ColdU zu sichern wurden 2 standardisierte Kälteprovokationstestungen durchgeführt: Ein TempTest® und ein ICT für jeweils 5 Minuten am volaren Unterarm mit 10 Minuten Beobachtungszeit. Um falsch-negative Ergebnisse zu reduzieren, mussten alle Patient*innen mindestens 3 Tage vor der Kältetestung die Einnahme von H1-Antihistaminika pausieren bzw. 7 Tage vor Testung die Einnahme von Corticosteroiden pausieren. Ferner wurden Fotos von kälteassoziierten Hauterscheinungen, wie Quaddeln oder Schwellungen gesichtet. Im Falle eines positiven standardisierten CSTs (ICT und/oder TempTest®) wurde die Diagnose einer typischen ColdU gestellt. Konnte kein positives Ergebnis durch die beiden Testungen reproduziert werden, es lag aber eine klare Anamnese bezüglich kälteinduzierter Quaddeln und/ oder Angioödemem und Fotos von solchen vor, wurde die Diagnose einer atypischen Kälteurtikaria gestellt. Klinische Daten der eingeschlossenen Patient*innen können *Tabelle 1* entnommen werden.

Tabelle 1 Demografische Daten eingeschlossener Kälteurtikaria-Patient*innen für die ColdUAS Entwicklung

| | <u>ColdUAS Item-Generierung</u> | | | <u>ColdUAS Item-Selektion</u> | | |
|--|---------------------------------|----------------|-----------------|-------------------------------|----------------|-----------------|
| | Alle Patient*innen | Typische ColdU | Atypische ColdU | Alle Patient*innen | Typische ColdU | Atypische ColdU |
| Patient*in, n | 47 | 34 | 13 | 27 | 20 | 7 |
| Geschlecht | | | | | | |
| Weiblich, n (%) | 33 (70.2%) | 22 (64.7%) | 11 (84.6%) | 19 (70.4%) | 14 (70%) | 5 (71.4%) |
| Männlich, n (%) | 14 (29.8%) | 12 (35.3%) | 2 (15.4%) | 8 (29.6%) | 6 (30%) | 2 (28.6%) |
| Alter, Jahre, Median [Min, Max] | 39 [14, 82] | 42,5 [14, 82] | 31 [16, 66] | 38 [14, 67] | 39,5 [14, 67] | 31 [18, 66] |
| Alter bei Erstmanifestation, Jahre, Median [Min, Max] | 29 [0, 81] | 31,5 [0, 81] | 16 [10, 41] | 28 [0,64] | 30,5 [0, 64] | 22 [41, 10] |
| Erkrankungsdauer, Monate, Median [Min, Max] | 72 [3, 600] | 48,5 [3, 576] | 120 [23, 600] | 60 [4,600] | 48,5 [4, 576] | 108 [9, 600] |
| Kälte-induzierte Symptome in den letzten 12 Monaten | | | | | | |
| Pruritus | 46 (97.9%) | 34 (100%) | 12 (92.3%) | 27 (100%) | 20 (100%) | 7 (100%) |
| Quaddeln | 37 (78.7%) | 27 (79.4%) | 10 (76.9%) | 23 (85.2%) | 16 (80%) | 7 (100%) |
| Angioödeme | 27 (57.5%) | 19 (55.9%) | 8 (61.5%) | 14 (51.9%) | 11 (55%) | 3 (42.9%) |
| Akrale Schwellungen | 18 (38.3%) | 13 (38.2%) | 5 (38.5%) | 9 (33.3%) | 7 (35%) | 2 (28.6%) |
| Gastrointestinale Symptome | 3 (6.4%) | 2 (5.9%) | 1 (7.7%) | 1 (3.7%) | 1 (5%) | 0 |
| Dyspnoe | 7 (14.9%) | 5 (14.7%) | 2 (15.4%) | 5 (18.5%) | 3 (15%) | 2 (28.6%) |
| Symptome einer Hypotension ^a | 13 (27.7%) | 10 (29.4%) | 3 (23.1%) | 10 (37%) | 8 (40%) | 2 (28.6%) |
| Hypotension ^b oder Schocksymptomatik | 2 (4.3%) | 1 (2.9%) | 1 (7.7%) | 2 (7.4%) | 1 (5%) | 1 (14.3%) |
| Nausea | 1 (2.1%) | 0 | 1 (7.7%) | 1 (3.7%) | 0 | 1 (14.3%) |
| Hitzegefühl/ Brennen/ Flush | 1 (2.1%) | 1 (2.9%) | 0 | 1 (3.7%) | 1 (5%) | 0 |
| Schmerzen | 4 (8.5%) | 2 (5.9%) | 2 (15.4%) | 2 (7.4%) | 2 (10%) | 0 |
| Kälteprovokationstest | | | | | | |
| Eiswürfeltest positiv | 32 (68.1%) | 31 (91.2%) | 0 | 18 (66.7%) | 18 (90%) | 0 |
| TempTest® positiv | 31 (65.9%) | 31 (91.2%) | 0 | 20 (74.1%) | 20 (100%) | 0 |
| CTT, Median [Min, Max] | 18 [7, 27] | 18 [7, 27] | - | 19,5 [7, 27] | 19,5 [7, 27] | - |

^a z.B. Schwindel, Ohnmachtsgefühl

^b gemessene arterielle Hypotonie: Blutdruck < 90/60 mmHg

Tabelle 1 zeigt demografische Daten von ColdU-Patient*innen der Charité Berlin, die für die Item-Generierung und -Selektion zwischen Juli 2019 und Juli 2020 eingeschlossen wurden.

Abkürzungen: ColdUAS, Cold urticaria activity score; CTT, critical temperature threshold = Kritische Temperaturschwelle

Nach Tabelle 2, „Development of the Cold Urticaria Activity Score“ (31)

2.2.3 Durchsicht der Items durch die Expert*innengruppe

Die Ergebnisse der Literaturrecherche und der Patient*inneninterviews wurden durch die ColdUAS Experten*innengruppe gesichtet. Die verschiedenen Aktivitätsscores wurden analysiert und Vor- und Nachteile bei Anwendung auf Kälteurtikaria diskutiert. Alle relevanten Symptome, Auslöser und Co-Faktoren, sowie Verhaltensmuster von ColdU-Patient*innen wurden aufgelistet und für die Formulierung von Fragen für eine vorläufige Version des ColdUAS zusammengefasst. Weiterhin wurde ein Anleitungstext formuliert und eine vorläufige Version des ColdUAS generiert (31).

2.3 Phase 3: Item-Selektion und Inhaltsvaliditätsanalyse

2.3.1 Cognitive Debriefing

Mit Hilfe eines Cognitive Debriefings mit 10 ColdU-Patientinnen wurde gemäß PRO guidelines (32) die Nachvollziehbarkeit und Verständlichkeit bzw. „comprehensibility“ des vorläufigen ColdUAS getestet. Das Cognitive Debriefing verlief als kurzes, 10-minütiges Interview bei welchem jede Patientin die Anleitung, die einzelnen Fragen und Antwortmöglichkeiten paraphrasieren musste, um die Inhalte auf korrekte Verständlichkeit zu überprüfen. Darüber hinaus wurden die Patientinnen nach dem Lesefluss und Aufbau des Fragebogens befragt. Weitere Information zu den Interviewpartnerinnen können *Tabelle 2* entnommen werden (31).

Tabelle 2 Demografische Information zu den Cognitive Debriefings des vorläufigen ColdUAS

| Nummer # | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-----------------------------|----------------|-------------------------------------|------------------|-----------------|-----------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|-------------------|----------------|
| Alter in Jahren | 77 | 36 | 53 | 45 | 29 | 19 | 14 | 52 | 30 | 44 |
| Geschlecht | w | w | w | w | w | w | w | w | w | w |
| Erkrankung | Typische ColdU | Atypische ColdU | Typische ColdU | Atypische ColdU | Typische ColdU | Atypische ColdU | Typische ColdU | Atypische ColdU | Typische ColdU | Typische ColdU |
| Erkrankungs-dauer in Jahren | 3 | 25 | 1,5 | 7 | 14 | 9 | 4 | 18 | 4 | 8 |
| Beruf/ Ausbildung | Rentnerin | Bachelor in Stage und Event Science | Sachbearbeiterin | Journalist in | Master und Doktor in Chemie | Schülerin 12. Klasse | Schülerin 9. Klasse | Keine Angabe | Personal-leiterin | Keine Angabe |

Abkürzungen: ColdU, Kälteurtikaria; ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score; w, weiblich

2.3.2 Patient*innenbefragung auf Vollständigkeit des vorläufigen ColdUAS

Des Weiteren wurden für die Inhaltsvaliditätsanalyse 25 ColdU Patient*innen gebeten den vorläufigen ColdUAS auszufüllen, um diesen auf „comprehensiveness“ zu prüfen.

5 weitere Fragen sollten im Hinblick auf Verständnis und Vollständigkeit des Fragebogens beantwortet werden:

1. Waren für Sie alle gestellten Fragen gut **verständlich**?
2. Waren für Sie alle gestellten Fragen **eindeutig beantwortbar** (alle Antwortmöglichkeiten in den vorgesehenen Antwortmöglichkeiten eindeutig zuordbar)?
3. Fanden Sie alle gestellten Fragen **sinnvoll**? Die gerade gestellten Fragen sollen später dazu dienen, die *Aktivität ihrer Kälteurtikaria* zu erfassen. Darauf basierend kann dann auch entschieden werden, ob die aktuelle Behandlung ausreichend ist oder verändert werden sollte. Gibt es aus Ihrer Sicht **Fragen oder Themenbereiche**, die für diesen Zweck wichtig wären, aber noch **fehlen**?
4. Wie gut werden Ihre durch Kälte ausgelösten **Hautreaktionen** dargestellt?
5. Wie gut werden Ihre durch Kälte ausgelösten **Beschwerden (außerhalb der Haut)** dargestellt?

2.3.3 Impact-Analyse

Um die Itemauswahl auf Relevanz bzw. Wichtigkeit zu prüfen und gegebenenfalls nicht wichtige Items mit einem niedrigen „Impact score“ auszuschließen, wurde eine Impact-Analyse mit insgesamt 27 ColdU Patient*innen (Patient*inneninformationen in *Tabelle 1*) im Rahmen der Inhaltsvaliditätsanalyse durchgeführt. Alle Patient*innen hatten zuvor die vorläufige Version des ColdUAS bearbeitet. Für die Analyse war es relevant, dass die Patient*innen die einzelnen Items auf ihre Relevanz („importance“) hin bewerten (1 = nicht wichtig bis 5 = extrem wichtig). Zudem wurden sie gebeten anzugeben, ob der Inhalt des Items in den letzten 12 Monaten erlebt wurde, z.B. Quaddeln oder Juckreiz (0 = Nein, 1 = Ja). Mit den Daten wurde dann die Frequenz („frequency“) aus der Prozentzahl der Patient*innen, die den Inhalt des Items in den letzten 12 Monaten erlebt haben, bestimmt. Der „Impact score“ wurde aus dem Produkt von Frequenz und der durchschnittlichen Relevanz des Items errechnet. (31)

2.3.4 Durchsicht der Expert*innen zur Augenscheinvalidität und finale Formatierung des ColdUAS

Im Anschluss an die Inhaltsvaliditätsanalyse überprüfte und diskutierte die Expert*innengruppe die Ergebnisse von Cognitive Debriefings, Patient*innenbefragungen und der Impact-Analyse. Zudem wurde für die Impact-Analyse ein Cut-Off von 3 festgelegt, um wichtige Items bei der Erfassung von Krankheitsaktivität bei ColdU-Patient*innen einzuschließen. Die Patient*innenkommentare und -wünsche wurden ausgewertet und Anpassungen an den Fragen und Antwortmöglichkeiten vorgenommen (31).

Es erfolgte eine finale Formatierung des ColdUAS sowie eine Anpassung des Befragungszeitraum. Anschließend erfolgte ein Cognitive Debriefing der finalen ColdUAS Version mit 7 ColdU-Patient*innen, um diese auf Verständlichkeit zu prüfen (31).

2.3.5 Übersetzungsprozess in eine U.S. amerikanische Version

Nach finaler Formatierung absolvierte der ColdUAS einen strukturierten Übersetzungsprozess zur Erstellung einer U.S. amerikanisch-englischen Version:

Zunächst übersetzten zwei unabhängige Übersetzer, die bilingual Deutsch und Englisch beherrschen, den ColdUAS, um eine erste englische Version bzw. Vorwärtsübersetzung zu erstellen. Beide kannten den ColdUAS vorher nicht und waren nicht Teil des Expert*innenteams. Beide Vorwärtsübersetzungen wurden von einem U.S. amerikanischen Muttersprachler und Urtikaria-Experten überprüft und zusammen mit der Expert*innengruppe diskutiert und angepasst. Danach wurden beide Übersetzungen zu einer U.S. amerikanisch-englischen Version harmonisiert. Anschließend erfolgte von einer weiteren unabhängigen Übersetzerin deutscher Muttersprache eine Rückübersetzung ins Deutsche, um die englische Version auf Kongruenz zu prüfen.

Mit der präfinalen U.S. amerikanisch-englischen Version erfolgte ein Cognitive Debriefing gemäß PRO guidelines (32) mit 9 Patient*innen (4 weiblich, 5 männlich, medianes Alter: 34,5 Jahre), um auch hier die Nachvollziehbarkeit und Verständlichkeit des Fragebogens zu prüfen. Die U.S. amerikanische Version des ColdUAS wurde nach dem Cognitive Debriefing erneut der Expert*innengruppe vorgelegt und Ergebnisse diskutiert. Eine finale U.S. amerikanisch-englische Version des ColdUAS wurde gemeinsam durch die Kernentwicklergruppe und den U.S. amerikanischen Urtikaria-Experten erstellt. (31)

3. Ergebnisse – ColdUAS Entwicklung

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der ColdUAS Entwicklung beschrieben. Detaillierte Ergebnisse können auch der Originalpublikation „*Development of a Cold Urticaria Activity Score*“ (31) dem Kapitel „Results“ entnommen werden.

3.1 Phase 1: Erstellung eines Konzeptrahmens und Vorbereitung der Studie

Für die Generierung des Konzeptrahmens wurde anhand der „COSMIN Study Design checklist“ (33) ein formatives Model gewählt. Bei einem formativen Modell formen alle erfassten Items das Konstrukt und korrelieren nicht miteinander. Eine Domainbildung kann also nicht erfolgen (33).

Im Sinne des formativen Modells wurde die Krankheitsaktivität bei ColdU-Patient*innen als das zu erfassende Konstrukt festgelegt. Die Krankheitsaktivität wurde definiert als die Kombination von Häufigkeit und Schwere von kälteinduzierten Symptomen über einen bestimmten Zeitraum (31). Da bei ColdU die Symptomatik stark vom Auslöser „Kälte“ und der Vermeidung des Auslösers abhängt, wurden diese als beeinflussende Faktoren für die Erfassung festgelegt. Zwei grundlegende Ziele wurden für den ColdUAS determiniert: Durch ihn sollte 1.) die Erfassung von Krankheitsaktivität über die Dokumentationsperiode möglich sein und 2.) eine Veränderung der Krankheitsaktivität über einen bestimmten Zeitraum abgebildet werden, um zum Beispiel Veränderungen nach Therapieumstellung festzuhalten. (31)

Die Erfassung der Daten sollte in Form eines Tagebuchs erfolgen, welches täglich im Hinblick auf die letzten 24 Stunden (recall period) über zunächst 7 Tage (documentation period) auszufüllen ist. (31)

Um auch Minderjährigen den Zugang zum ColdUAS zu ermöglichen, wurden als Zielgruppe alle ColdU-Patient*innen, ab dem 12. Lebensjahr definiert. Darüber hinaus sollten alle ColdU Formen, auch atypische ColdU oder hereditäre Syndrome eingeschlossen werden (31).

3.2 Phase 2: Item-Generierung

Als Ergebnis der Literaturrecherche konnten die wichtigsten kälteinduzierten Symptome, sowie Auslöser und Co-Faktoren (n = 23 aus insgesamt 20 eingeschlossenen Artikeln) identifiziert werden. Des Weiteren wurden drei ähnliche, bereits existierende

Aktivitätsscores analysiert (28, 29, 34, 35). Der CholUAS (29) wurde als Modellbeispiel für die Erstellung des ColdUAS gewählt. (31)

Insgesamt 47 ColdU-Patient*innen (Medianes Alter: 39; Bereich: 14 - 82 Jahre) wurden für die semi-strukturierten Patient*inneninterviews eingeschlossen (siehe *Tabelle 1*). 70.2% waren Frauen, 72.3 % hatten eine atypische ColdU. Die Erkrankungsdauer lag zwischen 3 Monaten und 50 Jahren. Alle Patient*innen gaben an in den letzten 12 Monaten kälteinduzierte Quaddeln, Angioödeme oder akrale Schwellungen erlebt zu haben. Darüber hinaus berichteten 97.9 % der ColdU-Patient*innen Juckreiz erlebt zu haben und fast ein Drittel der Patient*innen (27.7%) berichteten von systemischen Beschwerden in Zusammenhang mit Kälte. Weitere 14.9 % der ColdU Patient*innen gab an, in der Vergangenheit durch Kälte ausgelöste Atemnot erlebt zu haben. Aus den semi-strukturierten Interviews konnten insgesamt 20 Items exzerpiert werden. (31)

Nach der Entfernung von Duplikaten, wurden insgesamt 25 Items aus der Literaturrecherche und den Patient*inneninterviews durch die Expert*innengruppe gesichtet und auf klinische Relevanz überprüft (31).

Im Anschluss wurden die generierten Items zu 4 Fragen für eine vorläufige Version des ColdUAS durch die Expert*innen zusammengefasst.

Ein Überblick über die generierten Items und der Gruppierung zu finalen Items kann *Tabelle 3* entnommen werden.

Tabelle 3 Ergebnisse der Item-Generierung und Item-Selektion

| Quelle | Item-Generierung | Item-Selektion/ -Modifikation |
|---|---|--|
| (15, 21, 36-43) & PI (97.9%) (10, 14, 15, 17, 21, 36-49) & PI (78.7%) (10, 14, 15, 17, 36, 37, 40, 45-48) & PI (57.5%) PI (38.3%) | Erythem Quaddeln Angioödeme Akrale Schwellungen | Häufigkeit und Schwere von Hautbeschwerden bei ColdU |
| (10, 14, 15, 21, 36-38, 40, 41, 48) & PI (97.9%) (10, 14, 17, 19, 40, 47-49) & PI (27.7%) (10, 15, 47) & PI (0%) (10, 17, 47) & PI (4.3%) (10, 15, 37, 48) & PI (4.3%) (15, 37, 38) & PI (27.7 %) (10, 15, 17, 38, 47, 49) & PI (14.9%) (15, 17, 49) & PI (0%) (10, 15) & PI (2.1 %) (10, 15, 40, 45, 48) & PI (6.4%) (49) & PI (0%) (15) & PI (0%) (17, 19, 39) & PI (8.5%) PI (2.1%) | Pruritus Systemische Reaktion/ Hypotension Tachykardie Anaphylaxie Synkope Vertigo Dyspnoe Konjunktive Hyperämie/ Rhinorrhoe Nausea Gastrointestinale Symptome Muskelschwäche Fatigue Schmerzen Hitzegefühl/ Flush | Häufigkeit und Schwere von extrakutanen Symptomen bei ColdU |
| (10, 14, 17, 21, 36-48) & PI (91.5%) (10, 17, 19, 36-38, 40, 41, 43-49) & PI (80.5%) (10, 17, 21, 37, 40, 43, 47) & PI (82.9%) (10, 17, 37, 40, 45) & PI (19.2%) (10, 14, 36, 37, 41, 42, 48) & PI (76.6%) (10) & PI (0%) | Kalte Umgebungstemperatur Kaltes Wasser Kalte Objekte Aufnahme von kalten Nahrungsmitteln/ Getränke Aktivitäten im Freien Mechanische Stimulation | Exposition mit spezifischen Auslösern bei ColdU |
| (10, 14, 17, 19, 47) & PI (100%) | Vermeidung von Auslösern | Vermeidung von spezifischen Auslösern bei ColdU |

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Item-Generierungs-Phase sowie die anschließende Selektion und Zusammenfassung von Items.

Abkürzungen: PI, Patient*inneninterview; ColdU, Kälteurtikaria; (n) % der Patient*innen, die das entsprechende Item im Interview angeben

Nach Tabelle 1, „Development of the Cold Urticaria Activity Score“ (31)

3.3 Phase 3: Auswahl der finalen Items und Inhaltsvaliditätsanalyse

3.3.1 Cognitive Debriefing und semi-strukturierte Interviews

Die vorläufige Version des ColdUAS wurde mit Hilfe von Cognitive Debriefings mit 10 ColdU-Patient*innen (Demografische Daten in *Tabelle 2*) auf Inhaltsvalidität und Verständnis geprüft. Dabei zeigten 8 von 10 Patientinnen keinerlei Verständnisschwierigkeiten und konnten sowohl die Anleitungsvorgaben als auch alle Fragen und Antwortoptionen korrekt paraphrasieren. Zwei Patientinnen äußerten Schwierigkeiten bei der Graduierung der Antwortoptionen und wussten nicht, wie sie ihre eigenen Symptome korrekt in leicht, mittel oder schwer einordnen sollten. (31)

Insgesamt 25 ColdU-Patient*innen nahmen an den semi-strukturierten Interviews zum Verständnis und Prüfung auf Vollständigkeit des ColdUAS teil. Alle Patient*innen bearbeiteten die vorläufige Version des ColdUAS für sieben Tage. 88% der Befragten gaben an, dass der Fragebogen für sie verständlich sei. 5 Patient*innen äußerten Schwierigkeiten bei Bearbeitung der Antwortoptionen (31).

3.3.2 Impact-Analyse

27 ColdU-Patient*innen nahmen an der Impact-Analyse teil (Demografische Daten in *Tabelle 1*). 70.4% waren Frauen, die jüngste Patientin war 14 Jahre alt. Im Median lag die Erkrankungsdauer bei 60 Monaten und reichte von 3 Monaten bis 50 Jahren. Bei 7 Patient*innen wurde eine atypische ColdU diagnostiziert.

Die Impact-Analyse ergab für alle Items eine hohe Relevanz (3.78 – 4.26, Median bei allen Items = 4) und Frequenz. Der errechnete Impact lag bei allen Items zwischen 3.51 und 4.11. Dem Balkendiagramm in *Abbildung 3* können die Ergebnisse der Impact-Analyse entnommen werden. (31)

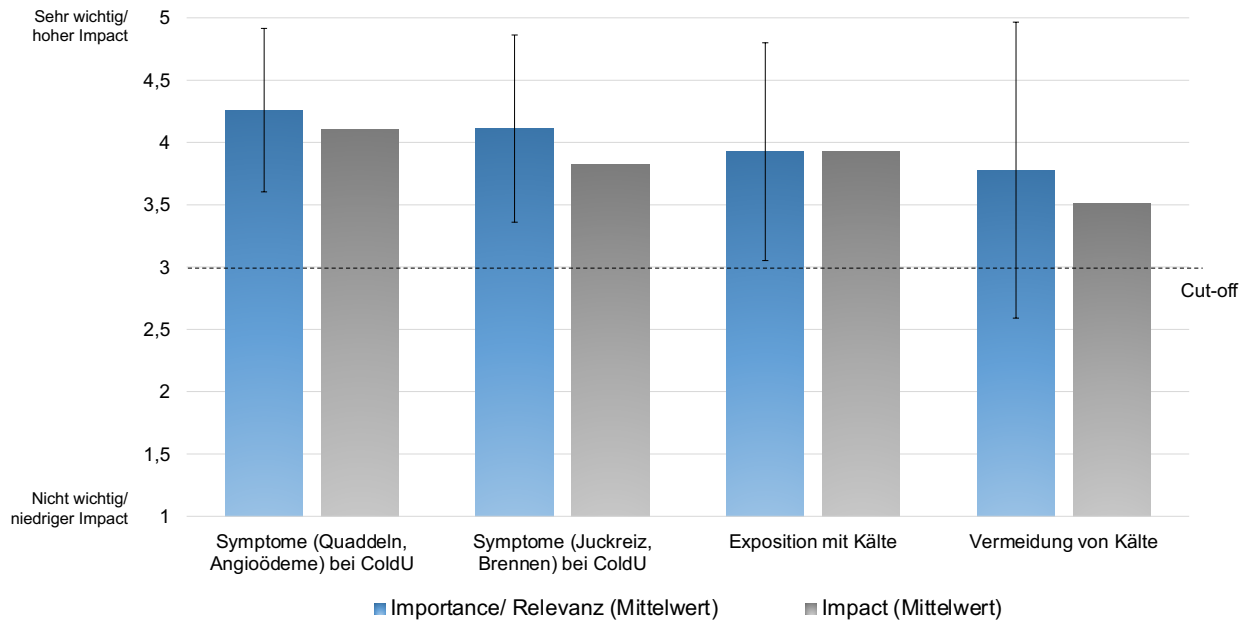


Abbildung 3 Impact-Analyse

Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse der Impact-Analyse. Der Impact Score wurde aus dem Produkt von Frequenz (Anzahl der Patient*innen in Prozent, die den Iteminhalt in den letzten 12 Monaten erlebten) und der mittleren Importance/ Relevanz pro Item (1 = nicht wichtig bis 5 = sehr wichtig) errechnet. 27 Patient*innen wurden eingeschlossen. Die Analyse zeigt einen hohen Impactscore über dem Cut-off-Wert von 3 für alle 4 Items.

Abkürzungen: ColdU, Kälteurtikaria

Nach Abbildung 3, „Development of the Cold Urticaria Activity Score“ (31)

3.3.3 Durchsicht der Expert*innen und finale Formatierung

Die Ergebnisse aus Cognitive Debriefings, Patient*inneninterviews und Impact-Analyse bestätigten die Wichtigkeit und Verständlichkeit der ausgewählten Items. Da die Impact-Analyse einen Impact Score über 3 für alle Items ergab, beschloss die Expert*innengruppe keines der Items auszuschließen. (31)

Die finalen Fragen und Antwortoptionen wurden im Hinblick auf die Ergebnisse der Patient*inneninterviews angepasst: Im Rahmen der Interviews gaben einige Patient*innen an, ihre Symptome bezugnehmend auf die Antwortoptionen der vorläufigen Version nicht richtig einordnen zu können. Daher wurde das Wording der Antwortoptionen der Fragen 1 bis 3 für eine verständlichere Bearbeitung angepasst und um eine kurze zusätzliche Beschreibung erweitert (31). Die Antwortoptionen von Frage 4 wurden ebenfalls um eine kurze Beschreibung des Vermeidungsverhaltens ergänzt. Die finalen

Antwortoptionen wurden als Likert-Skala mit 4 Antworten, für Frage 1 bis 3, bzw. mit 3 Antworten für Frage 4, gestaltet (siehe Item-Tracking-Matrix, *Tabelle 4*) (31).

Tabelle 4 Item-Tracking Matrix ColdUAS Entwicklung

| Konzeptname | Symptomatik: Hautveränderungen | Symptomatik: Juckreiz, Brennen | Exposition mit Kälte | Vermeidung von Kälte |
|--|---|---|---|--|
| Nummer # | #1 | #2 | #3 | #4 |
| Konzeptdefinition | Symptome der Haut, die durch Kälte ausgelöst werden, wie Quaddeln oder Angioödeme | Subjektive Symptome, die durch Kälte ausgelöst werden, wie Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl | Exposition gegenüber kalten Temperaturen, die Kälteurtikaria-Symptome verursachen | Vermeidung von kalten Temperaturen, die Kälteurtikaria-Symptome auslösen |
| Ursprüngliches Item (Frage) | Hatten Sie in den letzten 24 Stunden durch Kälte ausgelöste Hautreaktionen (Rötung, Quaddeln oder Schwellungen)? | Hatten Sie in den letzten 24 Stunden durch Kälte ausgelösten Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder ein Hitzegefühl? | Waren Sie in den letzten 24 Stunden Temperaturen ausgesetzt, die üblicherweise Beschwerden auslösen? | Haben Sie in den letzten 24 Stunden den Kontakt mit Temperaturen gemieden, die üblicherweise Beschwerden auslösen? |
| Ursprüngliches Item (Antwortoptionen) | Keine Wenig ausgeprägt Mittelmäßig ausgeprägt Stark ausgeprägt | Keine Wenig ausgeprägt Mittelmäßig ausgeprägt Stark ausgeprägt | Nein Ja, Was? _____ | Nein Ja, Was? _____ |
| Gemessenes Attribut | Schwere | Schwere | Häufigkeit/ Frequenz | Häufigkeit/ Frequenz |
| Änderungen nach erstem Cognitive Debriefing (Frage) | Hatten Sie in den letzten 24 Stunden durch Kälte ausgelöste Quaddeln oder Schwellungen? | Hatten Sie in den letzten 24 Stunden durch Kälte ausgelösten Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl? | Waren Sie in den letzten 24 Stunden <i>Kälte ausgesetzt</i> , die üblicherweise <i>Kälteurtikariabeschwerden</i> auslöst? | Haben Sie in den letzten 24 Stunden <i>Kälte gemieden</i> , die üblicherweise zu <i>Kälteurtikariabeschwerden</i> führt? |
| Änderungen nach erstem Cognitive Debriefing (Antwortoptionen) | Nein <i>Ja, leichte Quaddeln oder Schwellungen</i> <i>Ja, mittelstarke Quaddeln oder Schwellungen</i> <i>Ja, starke Quaddeln oder Schwellungen</i> | Nein <i>Ja, leichten Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl</i> <i>Ja, mittelstarken Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl</i> <i>Ja, starken Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl</i> | Nein <i>Ja, Kälte, die üblicherweise leichte Beschwerden auslöst</i> <i>Ja, Kälte, die üblicherweise mittelstarke Beschwerden auslöst</i> <i>Ja, Kälte, die üblicherweise starke Beschwerden auslöst</i> | Nein <i>Ja, teilweise gemieden</i> <i>Ja, vollständig gemieden</i> |
| Gemessenes Attribut nach Anpassung | Schwere | Schwere | Häufigkeit/ Frequenz <i>und Schwere</i> | Häufigkeit/ Frequenz <i>und Schwere</i> |
| Gründe für die Änderung/ Anpassung des Items | Schwierigkeiten bei der Beurteilung des Schweregrad der individuellen Symptomatik | Schwierigkeiten bei der Beurteilung des Schweregrad der individuellen Symptomatik | Antwortoption „Was?“ unklar. Aussage über Auslöser bzw. Art der Kälteexposition nicht immer möglich | Antwortoption „Was?“ unklar. |

Tabelle 4 zeigt die Veränderung der Items nach Durchführung der Patient*inneninterviews. *Kursiv* dargestellte Passagen wurden angepasst an die Ergebnisse der Auswertung von Kommentaren der Patient*innen.

Vgl. *Abbildung 4* und *Supplementary files*, „Development of the Cold Urticaria Activity Score“ (31)

Die Expert*innengruppe entschied sich für eine Likert-Skala, um die Schwere der Symptomatik bzw. des Auslösers und Vermeidungsverhalten genau zu dokumentieren und zu messen. Ferner konnten bereits existierende allergologische Messinstrumente wie der UAS (28), CholUAS (29) oder AAS (34, 35) durch Verwendung einer Likert-Skala verlässliche und genaue Ergebnisse bei der Erfassung von Krankheitsaktivität erzielen. Da während der Befragungen durch viele Patient*innen der Dokumentationszeitraum von einer Woche als unzureichend angemerkt wurde, entschied sich die Expert*innengruppe dafür den Zeitraum zunächst auf zwei Wochen zu erweitern und eine genauere Analyse der optimalen Periode im Zuge der Validierungsstudie zu erstellen. (31)

Während eines zweiten Cognitive Debriefings der finalen Version des ColdUAS konnte durch alle 7 Patient*innen (6 weiblich, 1 männlich, medianes Alter: 49 Jahre, Bereich: 16-78 Jahre) die Verständlichkeit der Anleitung, Fragen und Antwortoptionen bestätigt werden (31).

Dieser strukturierte Entwicklungsprozess resultierte in dem von uns generierten krankheitsspezifischen 4-Item ColdUAS in deutscher, sowie U.S. amerikanischer Fassung (*Abbildung 4*, ColdUAS in deutscher Sprache). In einer anschließenden Validierungsstudie erfolgt eine Prüfung des ColdUAS auf Validität und Reliabilität sowie die Generierung eines Scoringsystems.

Kälteurtikaria-Aktivitätsscore

Basisinformationen

Name: _____

Geschlecht: weiblich männlich divers

Geburtsdatum: ____ . ____ . ____

Aktuelle Medikation:

Anleitung

Sie leiden unter einer *Kälteurtikaria*. Mit den folgenden Fragen soll die *Krankheitsaktivität ihrer Kälteurtikaria* über einen Zeitraum von *14 Tagen* erfasst werden.

Bitte beantworten Sie dazu *einmal täglich* die folgenden Fragen in der jeweiligen Spalte. Beantworten Sie die Fragen immer ungefähr zur gleichen Tageszeit. Beziehen Sie sich bei den Antworten immer auf die *letzten 24 Stunden*.

Bitte lesen Sie sich jede Frage sorgfältig durch und wählen Sie aus den Antwortmöglichkeiten diejenige aus, die für Sie *am besten* zutrifft. Wählen Sie bitte immer *nur eine Antwortmöglichkeit* für jede Frage. Bitte machen Sie das jeden Tag und bitte beantworten Sie alle Fragen jeden Tag.

| Woche 1: von ____/____/____ bis ____/____/____ | | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 | Tag 6 | Tag 7 |
|--|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Hatten Sie in den letzten 24 Stunden durch Kälte ausgelöste Quaddeln oder Schwellungen? | Nein | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, leichte Quaddeln oder Schwellungen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, mittelstarke Quaddeln oder Schwellungen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, starke Quaddeln oder Schwellungen | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Hatten Sie in den letzten 24 Stunden durch Kälte ausgelösten Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl? | Nein | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, leichten Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, mittelstarken Juckreiz, Brennen, Schmerzen oder Hitzegefühl | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Waren Sie in den letzten 24 Stunden Kälte ausgesetzt, die üblicherweise Kälteurtikariabeschwerden auslöst? | Nein | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, Kälte, die üblicherweise leichte Beschwerden auslöst | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, Kälte, die üblicherweise mittelstarke Beschwerden auslöst | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Haben Sie in den letzten 24 Stunden Kälte gemieden, die üblicherweise zu Kälteurtikariabeschwerden führt? | Nein | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, teilweise gemieden | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | Ja, vollständig gemieden | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Abbildung 4 Finale deutsche Version des ColdUAS

Abbildung 4 zeigt die finale Version des Kälteurtikaria-Aktivitätsscores (ColdUAS) in deutscher Sprache. Die Generierung eines Scoringsystems sowie die endgültige Festlegung des Befragungszeitraums sind für eine anschließende Validierungsstudie vorgesehen.

Nach Abbildung 4, „Development of the Cold Urticaria Activity Score“ (31)

Forschungsstand und Bedeutung für die Kälteurtikaria

4. Kryoproteine als diagnostischer Marker der Kälteurtikaria - Aktueller Forschungsstand und Bedeutung für die Kälteurtikaria

Parallel zur ColdUAS Entwicklung wurden bei ColdU-Patient*innen des UCARE Zentrums Berlin Kryoproteine bestimmt und auf Ihre Relevanz im Rahmen der ColdU Diagnostik getestet. Unter dem Begriffen Kryoproteine oder Kälteproteine werden in aller Regel die Eiweiße Kryoglobulin, Kryofibrinogen und Kälteagglutinine zusammengefasst. Kryoproteine präzipitieren *in vivo* unterhalb der Körpertemperatur und können häufig ohne Krankheitswert auftreten (50, 51).

Kryoglobuline sind Immunglobuline, welche *in vitro* bei Temperaturen unter 37°C präzipitieren und sich bei Wiedererwärmung auflösen (52). Am häufigsten kommen sie als Immunglobulin-Klasse G oder M vor und können monoklonal oder in gemischten Formen auftreten (53). Bei Abkühlung bilden sie Immunglobulin-Komplexe aus, welche zu Durchblutungsstörungen führen können, und sind somit mit verschiedenen kälteinduzierten Erkrankungen, wie dem Raynaud-Syndrom oder der Kryoglobulinämischen Vaskulitis assoziiert (54, 55). Weiterhin werden Assoziationen von Kryoglobulinen mit verschiedenen Infektionen wie Hepatitis C oder HIV, Malignomen und verschiedenen autoimmunologischen Erkrankungen beschrieben (55).

Kryofibrinogene sind Proteine, die nur im Plasma ausfallen und sowohl bei gesunden Individuen als auch bei Patient*innen mit autoimmunologischen oder malignen Erkrankungen vorkommen (56). Sie können Hautveränderungen wie Purpura auslösen sowie Raynaud-Symptomatik induzieren oder zu arteriellen oder venösen Thrombosen führen (57). Nichtsdestotrotz kann das Vorhandensein von Kryoglobulinen oder Kryofibrinogen ohne krankheitswert sein (57-59).

Kälteagglutinine sind Autoantikörper vom IgM Typ, die *in vitro* bei Temperaturen zwischen 0°C und 4°C eine reversible Kältehämagglutination von Erythrozyten bewirken und eine Aktivierung des Komplementsystems induzieren können (60-62).

Bis heute gibt es keine eindeutigen Daten zur Rolle von Kryoproteinen in der Pathophysiologie und Diagnostik der Kälteurtikaria. Neben vielen vorhandenen Fallberichten und kleineren Fallserien zu Kryoproteinen bei ColdU-Patient*innen, ist eine systematische Analyse im Hinblick auf die Prävalenz und Relevanz von Kryoproteinen bei ColdU Patient*innen bisher nicht erfolgt. Auch die Frage, wie oft Kryoproteine bei ColdU Patient*innen bestimmt werden, ist bisher unbeantwortet.

Um den aufgeworfenen Fragen nachzugehen, erfolgte ein 3-phasiges Vorgehen mit 1.) einer Metaanalyse zur Prävalenz und Häufigkeit der Analyse von Kryoproteinen bei ColdU-Patient*innen in der Literatur, 2.) eine retrospektive Analyse von fast 300 ColdU-Patient*innen des Urticaria Center of Reference and Excellence (UCARE) in Berlin sowie 3.) eine prospektive Analyse bei 49 Patient*innen mit ColdU, welche mehrheitlich auch für die ColdUAS Entwicklung eingeschlossen wurden (30).

5. Methodik – Kryoproteine bei ColdU-Patient*innen

Nachfolgend wird die Methodik für die dreiphasige Studie zur Erfassung der Relevanz von Kryoproteinen in der Kälteurtikaria Diagnostik dargestellt. Detaillierte Informationen zu den methodischen Schritten können ebenfalls der Publikation „*Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients*“ (30), speziell dem Kapitel „Materials and Methods“ entnommen werden.

5.1 Systematische Analyse und Metaanalyse von Kryoproteinen bei ColdU-Patient*innen in der Literatur

Als erster Schritt wurde im Juni 2020 eine systematische Literaturrecherche in PubMed, durch zwei unabhängige Forscherinnen durchgeführt. Unter den Schlagwörtern (“*cold urticaria*”) AND (“*cryoglobulin**” OR “*cryofibrinogen**” OR “*cold agglutinin**”) (30) wurde nach aktuellen PRISMA Leitlinien (63) Literatur der Jahre 1980 bis 2019 eingeschlossen sowie Referenzen aus Schlüsselpublikation exzerpiert (30).

Folgende Einschlusskriterien wurden für die systematische Analyse festgelegt:

- In der Studie oder Fallserie wurden Kryoproteine (d.h. Kryoglobuline, Kryofibrinogene oder Kälteagglutinine) bei Patient*innen mit ColdU bestimmt.
- Die Diagnose der ColdU wurde leitliniengerecht bestimmt (vgl. EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI Leitlinien (2)).
- In der Studie oder Fallserie wurden nicht ausschließlich Patient*innen mit hereditären oder sekundären ColdU Formen eingeschlossen.
- In Fallserien wurden mindestens 5 Patient*innen eingeschlossen, um einem Selektionsbias vorzubeugen.

Die Literatur wurde durch zwei unabhängige Forscherinnen auf die genannten Einschlusskriterien (30) geprüft. Weiterhin wurden Patient*inneninformationen und die Zahl von bestimmten und positiven Kryoproteinen aus eingeschlossenen Artikeln tabellarisch dokumentiert. Darüber hinaus erfolgte eine Qualitätsanalyse und Bias-Risikoanalyse der Literatur nach einem angepassten Protokoll für Fallserien des Joanna Briggs Institute (64, 65). Hierbei wurden folgende Punkte für eine Qualitätscore-Bildung herangezogen: 1. Klare Einschlusskriterien, 2. Standardisierte/ klare Diagnosestellung, 3. Demografische Daten dargestellt (Alter, Alter bei Erstmanifestation, Erkrankungsdauer), 4. Begründung, falls keine Testung erfolgte, 5. Ergebnisse/ Art des Kryoproteins klar beschrieben, 6. Angabe von sekundären Erkrankungen bei positiven Ergebnissen. Insgesamt war eine Punktzahl von 6 möglich (30).

Des Weiteren wurden die durchschnittlichen Prozentwerte von Kryoprotein-positiven Patient*innen der einzelnen Artikel errechnet und je nach Studiengröße gewichtet (30).

5.2 Retrospektive Analyse von ColdU-Patient*innen des UCARE Zentrums Berlin

In der zweiten Phase erfolgte eine retrospektive Analyse der Datenbank des UCARE Zentrums der Charité-Universitätsmedizin Berlin/ Deutschland im Hinblick auf die Abnahme von Kryoproteinen bei ColdU-Patient*innen. Alle Daten zwischen 2014 und 2019 wurden anonymisiert dokumentiert und hinsichtlich Patient*innenalter, Erkrankungsdauer und Alter bei Erstmanifestation sowie Laboranalysen und Komorbiditäten ausgewertet (30).

5.3 Prospektive Analyse von ColdU-Patient*innen des UCARE Zentrums Berlin

Insgesamt wurden 49 von ursprünglich 60 rekrutierten ColdU-Patient*innen des UCARE Zentrums Berlin für die Analyse von Kryoproteinen von Juli 2019 bis Juli 2020 eingeschlossen. 11 Patient*innen mussten ausgeschlossen werden, da die Diagnose einer ColdU nicht bestätigt werden konnte (n = 4), die ColdU bereits in Remission war (n = 1) oder nicht genug Labormaterial abgenommen werden konnte (n = 6). (30)

Ein Ethikvotum wurde bereits im Voraus im Rahmen der Entwicklung von PROMs für CindUs gestellt (vgl. S. 11, Methodik – ColdUAS Entwicklung, Phase 1). Eine Kontrollgruppe wurde nicht eingeschlossen. Bei allen Patient*innen erfolgte, wie bereits im Methodik Teil der ColdUAS Entwicklung genannt (siehe S. 12), die Diagnosestellung einer ColdU nach aktuellen EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI Leitlinien (2) sowie

die Erfassung von Basisdaten und Komorbiditäten (vgl. S. 12, Methodik – ColdUAS Entwicklung, Phase 2). Weitere Informationen zu Patient*innendaten können *Tabelle 5* entnommen werden.

Tabelle 5 Demografische Daten von Kälteurtikaria-Patient*innen für die Analyse von Kryoproteinen

| | | Patient*innen (N = 49) |
|--|--|-----------------------------------|
| Alter, Median [Min, Max] | | 40.0 [14.0, 82.0] |
| Geschlecht | Weiblich | 36 (73.5%) |
| | Männlich | 13 (26.5%) |
| Ethnische Herkunft | Kaukasisch | 46 (93.9%) |
| | Latino / hispanisch | 1 (2.0%) |
| | Mittlerer Osten | 2 (4.1%) |
| Alter bei Erstmanifestation, Median [Min, Max] | | 31.0 [0, 81.0] |
| Erkrankungsdauer, Median [Min, Max] | | 60.0 [3.00, 600] |
| Kälteassoziierte Symptome in den letzten 12 Monaten | | |
| | Pruritus | 49 (100%) |
| | Quaddeln | 40 (81.6%) |
| | Angioödeme | 28 (57.1%) |
| | Systemische Symptomatik/ Kälteinduzierte Anaphylaxie | 23 (46.9%) |
| Kälteprovokationstestung | Eiswürfeltest positiv | 31 (63.3%) |
| | TempTest® positiv | 33 (67.3%) |
| Kryoproteine | | |
| Kryoglobuline | Negativ | 48 (98.0%) |
| | Nicht bestimmt* | 1 (2.0%) |
| Kälteagglutinine | Positiv | 2 (4.1%) |
| | Negativ | 22 (44.9%) |
| | Im physiologischen Bereich | 22 (44.9%) |
| Kryofibrinogen | Nicht bestimmt* | 3 (6.1%) |
| | Negativ | 48 (98.0%) |
| | Nicht bestimmt* | 1 (2.0%) |
| Diagnose | | |
| | Typische Kälteurtikaria | 34 (69.4%) |
| | Atypische Kälteurtikaria (Verdachtsfälle und bestätigt) | 15 (30.6%) |
| | Positive Familienanamnese (Verwandte*r 1. Grades mit Kälteurtikaria) | 3 (6.1%) |
| Weitere medizinische Vorgeschichte und Komorbiditäten | | |
| | Raynaud Syndrom | 7 (14.3%) |
| | Lippenzyanose nach Kälteexposition | 7 (14.3%) |
| | Asthma Bronchiale | 6 (12.2%) |
| | Allergische Rhinitis/ Konjunktivitis, Atopische Dermatitis | 20 (40.8%) |
| | Malignom oder Z.n. Malignom | 1 (2.0%) |
| | Schilddrüsenerkrankung | 12 (24.5%) |
| | Kollagenosen | 2 (4.1%) |
| | Systemische allergische Reaktion nach Insektenstich | 7 (14.3%) |

* Material nicht für Analyse geeignet/ nicht genügend Material

Tabelle 5 zeigt die demografischen Daten von 49 Kälteurtikaria-Patient*innen, die von Juli 2019 bis Juli 2020 für die Analyse von Kryoproteinen am UCARE Zentrum Charité Berlin eingeschlossen wurden. (30)

Abkürzungen: UCARE, Urticaria Center of Reference and Excellence

Nach *Tabelle 3*, „Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients“ (30)

5.4 Laboranalysen von Kryoproteinen

Alle Laboranalysen zur Bestimmung von Kryoproteinen in unserem ColdU-Patient*innen Pool erfolgten standardisiert im Zentrallabor der Charité (Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH, Sylter Straße 2, 13353 Berlin) sowie am Institut für Transfusionsmedizin (Campus Virchow-Klinikum, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin). Weitere Information zur Materialgewinnung und Laboranalyse können *Tabelle 6* entnommen werden.

Tabelle 6 Analyseverfahren von Kryoproteinen

| | Kryoglobulin | Kryofibrinogen | Kälteagglutinin |
|-----------------------------|---|---|---|
| Material | 2 ml Blut in einem Serum-Röhrchen | 2 ml Blut in einem EDTA-Röhrchen | 6 ml Blut in einem EDTA-Röhrchen und 10 ml Serum (Nativblut) |
| Präanalytische Vorbereitung | Standardisierte Blutentnahme mittels vorgewärmter Entnahmeröhrchen und direkter Transport bei einer kontinuierlichen Umgebungstemperatur von 37°C in das Zentrallabor | | |
| Laboranalytisches Vorgehen | <ol style="list-style-type: none"> 1. Zentrifugation, danach Beobachtung des Serums für 72 Stunden bei 4°C auf die Entstehung von Präzipitaten 2. Bei Ausfällung Erwärmung bis 37° 3. Bei Wiederauflösung erneute Lagerung bei 4°C | Beobachtung des Plasmas auf Bildung von Präzipitaten; Analog zu laboranalytischem Vorgehen bei Kryoglobulinen | Untersuchung auf Kälteagglutinine des Blutgruppensystems I/i: <ol style="list-style-type: none"> 1. Zentrifugation bei 37°C 2. Untersuchung des Patient*innenserums mit Erwachsenen- und Nabelvenen-Erythrozyten für Differenzierung des IgM-Kälteautoantikörpers 3. Überprüfen der Patient*innen-Erythrozyten im direkten Coombs-Test auf Komplementbeladung 4. Beobachtung der Reaktionsstärke bei 20°C durch 2 Beobachter*innen 5. Ermittlung Antikörpertiter und Temperaturamplitude |
| Beurteilung | Positiv: wiederholtes Auflösen und Ausfällen des Präzipitats im Serum | Positiv: wiederholtes Auflösen und Ausfällen des Präzipitats im Plasma* | Negativ: Keine Agglutination Physiologisch: Geringe bis moderate Agglutination Positiv: starke/ massive Agglutination |

* Eine Ausfällung im Plasma wird als positiv für Kryoglobuline und Kryofibrinogene gewertet. Durch parallele Analyse des Serum-Materials erfolgt die Unterscheidung zwischen positiven Kryoglobulin und/oder Kryofibrinogen. Vgl. „Materials and Methods“, „Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospektive Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients“ (30)

Tabelle 6 zeigt die Materialgewinnung und Analyseverfahren von Kryoproteinen im Zentrallabor der Charité sowie am Institut für Transfusionsmedizin, Berlin. (30)

5.6 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte durch Katharina Ginter mit R Version 3.6.3. Quantitative Variablen wurden als Median, Bereich (Min, Max) und Interquartilsabstand (IQR) angegeben.

6. Ergebnisse - Kryoproteine bei ColdU-Patient*innen

6.1 Literaturreview: Geringe Anzahl an positiven Kryoproteinen bei breiter Spannweite an Ergebnissen in der Literatur

Insgesamt wurden nach der MeSH-Term Suche in Pubmed 71 Artikel sowie zusätzlich 11 Artikel nach Bearbeitung von Schlüsselpublikationen identifiziert. 68 Publikationen mussten ausgeschlossen werden, da sie nicht den Einschlusskriterien entsprachen, sodass 14 Artikel der Jahre 1985 bis 2019 für das systematische Review eingeschlossen wurden. 11 von 14 Artikel erfüllten nach einer Qualitätsanalyse einen Score von 4/6 oder mehr Punkten. (30)

Die Anzahl der eingeschlossenen Patient*innen unterschied sich zwischen den Studien stark. So wurden Kryoproteine bei 9 bis 208 ColdU-Patient*innen bestimmt, darunter zeigten sich summiert bei 0% bis 28.6% (Durschnitt von allen 14 Studien 3%) Kryoglobuline positiv. Nur bei 2 positiven Patient*innen wurden Komorbiditäten (Lymphosarkom und Chronisch Lymphatische Leukämie) beschrieben. In 4 von 14 Studien wurde mit einem durchschnittlich positiven Ergebnis von 0.7% (0% bis 20% positiv bei allen Studien) Kryofibrinogen bestimmt (5 bis 208 eingeschlossene Patient*innen). (30)

Kälteagglutinine zeigten sich in 0% bis 21.4% positiv (durchschnittlich 1.1%) bei 7 bis 208 eingeschlossenen Patient*innen in 9 Studien (30).

6.2 Retrospektive Analyse: Nur bei wenigen Patient*innen wurden Kryoproteine bestimmt und bei diesen wenigen Patient*innen gab es auch eine sehr geringe Anzahl positiver Ergebnisse

Nach Durchsuchung der Datenbank der Charité konnten insgesamt 293 ColdU-Patient*innen identifiziert werden, die von 2014 bis 2019 im UCARE Zentrum Berlin behandelt wurden. Bei 12 von 293 ColdU-Patient*innen erfolgte eine Bestimmung von Kryoproteinen, wobei bei 9 Patient*innen Kryoglobuline, bei 5 Patient*innen

Kälteagglutinine und bei keinen*keiner der Patient*innen Kryofibrinogen bestimmt wurde (30). Bei 9 von 12 Patient*innen erfolgte die Bestimmung von Kryoproteinen auf Grund einer hohen Krankheitsaktivität sowie bei 3 Patient*innen bei Verdacht auf eine autoimmunologische Grunderkrankung. Bis auf ein positives Ergebnis bei der Analyse von Kälteagglutininen bei einem Patienten mit zusätzlichem Raynaud-Syndrom, zeigten sich die restlichen Bestimmungen negativ (positive Kryoglobuline 0/9, positive Kälteagglutinine 1/5, Kryofibrinogen nicht bestimmt) (30).

6.3 Prospektive Analyse: Die Anzahl positiver Kryoproteine bei 49 ColdU-Patient*innen war sehr gering

Bei insgesamt 49 ColdU-Patient*innen (73.5% weiblich, n = 36; 26.5% männlich, n = 13) erfolgte prospektiv die Analyse von Kryoproteinen. Das mediane Alter der Patient*innen lag bei 40 Jahren (Bereich: 14 - 82 Jahre). Während 69.5% der Patient*innen (n = 34) eine typische ColdU hatten, wurde bei 30.5% (n = 15) eine atypische ColdU diagnostiziert (30). Weitere Informationen zu eingeschlossenen ColdU-Patient*innen sind *Tabelle 5* zu entnehmen.

Auch in unserer prospektiven Studie war die Anzahl an positiven Ergebnissen gering: Sowohl Kryoglobuline als auch Kryofibrinogene waren bei allen Patient*innen (n = 48) negativ. Bei 2 von 46 getesteten Patient*innen (4.3%) ergab die Analyse von Kälteagglutininen ein pathologisch erhöhtes Ergebnis (30). Die beiden Patientinnen (30 und 16 Jahre alt) zeigten beide klassische Symptome einer Kälteurtikaria mit kälteassoziiertem Pruritus, Quaddeln und Angioödem. Die 30-jährige Patientin zeigte im Rahmen ihrer typischen ColdU eine kälteinduzierte Anaphylaxie und hatte darüber hinaus eine Hypothyreose. Dagegen wurde bei der 16-jährigen Patientin bei negativer Kältetestung eine atypische ColdU diagnostiziert (30). Weitere Komorbiditäten konnten bei ihr nicht identifiziert werden.

7. Diskussion

In diesem letzten Kapitel werden beide Studien, die ColdUAS Entwicklungsstudie und die Studie zu Kälteproteinen bei ColdU, in einer gemeinsamen Diskussion evaluiert und ein Ausblick auf zukünftige relevante Fragestellungen eröffnet.

7.1 Klinische Anwendungen

Der ColdUAS ist das erste Instrument, mit welchem die Aktivität von Patient*innen mit typischer und atypischer ColdU erfasst und gemessen werden kann. Er hat einen einfachen und benutzerfreundlichen Aufbau im Stil eines Tagebuchs und kann von Patient*innen ab 12 Jahren bearbeitet werden. Dies bestätigen abschließende Patient*inneninterviews und Cognitive Debriefings, bei welchem er durch seine einfache Verständlichkeit und Handhabung punkten konnte sowie an Bedürfnisse von Patient*innen angepasst wurde. (31) Weiterhin ist er kostengünstig und ohne Gebrauch von technischen Hilfsmitteln durchzuführen.

Bis heute ist die Messung von Krankheitsaktivität limitiert durch die Erfassung des individuellen CTTs. Diese ist spezialisierten Häusern vorbehalten, welche ein TempTest®-Gerät besitzen. Darüber hinaus kann bei atypischen ColdU-Patient*innen kein reproduzierbares Ergebnis durch TempTestung® erzeugt werden, sodass für diese bisher keine Möglichkeit zur Messung von Krankheitsaktivität zur Verfügung stand. (31)

Bisher vorhandene Instrumente zur Erfassung von Krankheitsaktivität von Urtikaria- oder Angioödem-Patient*innen, wie der UAS (28, 66), AAS (34) oder CholUAS (29), sind nicht für die ColdU geeignet. Zwar wird der UAS in den aktuellen EAACI/GA2LEN/EuroGuiDerm/APAAACI Leitlinien (2) für die Anwendung bei chronisch spontaner Urtikaria empfohlen, dennoch kann er für ColdU nicht eingesetzt werden, da wesentliche Faktoren wie Auslöser von Symptomatik und Vermeidung von Triggern nicht erfasst werden. ColdU-Patient*innen können das Ausmaß ihrer Symptomatik jedoch wesentlich durch aktive Vermeidung von Kälte, wie Anziehen warmer Kleidung oder Verbleiben in geheizten Innenräumen, beeinflussen. Auch der CholUAS, welcher als Modell für die ColdUAS-Entwicklung diente, bezieht den Faktor Vermeidung nicht bei Messung der Krankheitsaktivität mit ein. Der validierte 5-Item-AAS wurde speziell für die Anwendung bei Angioödemem generiert. Auch ColdU-Patient*innen können Angioödeme entwickeln. Bei fehlender Erfassung von systemischer Symptomatik, auslösenden Faktoren und Vermeidung, ist dieser ebenfalls nicht geeignet für die Anwendung bei ColdU. (31)

Gemeinsamkeiten aller Instrumente ist ihre niedrige Anzahl an Items und der tagebuch-ähnliche Aufbau (28, 29, 34, 35).

Die Impact-Analyse und durchgeführte Patient*inneninterviews zeigten die hohe Relevanz der 4 finalen Items für die Erfassung von Krankheitsaktivität über einen Dokumentationszeitraum von 14 Tagen. Bisher validierte Instrumente werden über einen Dokumentationszeitraum von 4 Tagen (UAS, bzw. 7 Tagen beim UAS7 (28, 66)) bis 12 Wochen (AAS84 (35)) bearbeitet. Da ColdU-Patient*innen durch Vermeidung die Anzahl an Symptom-Tagen reduzieren können und möglicherweise nicht täglich mit Kälte exponiert sind, sollte eine Periode von mindestens 7 Tagen erfasst werden. Der finale Dokumentationszeitraum wird in einer folgenden Validierungsstudie des ColdUAS festgelegt. (31)

Darüber hinaus erfolgte im Zuge der ColdUAS-Entwicklung eine dreiphasige Analyse von Kryoproteinen bei ColdU. Hier ergaben unsere Analysen, dass bei allen drei Methoden die Anzahl an Kryoprotein-positiven Patient*innen insgesamt sehr gering war. Zudem wurden in unserer retrospektiven Analyse nur in wenigen Fällen Kryoproteine bei ColdU-Patient*innen bestimmt. Daher empfehlen wir keine routinemäßige Bestimmung von Kryoproteinen bei ColdU. Weitere Studien zum Hintergrund von Kryoproteinen bei positiv getesteten Patient*innen sind hier erforderlich, um die Rolle von Kryoproteinen bei ColdU besser verstehen zu können. (30)

Dennoch stellt sich die Frage, warum die Ergebnisse von positiven Kryoproteinen in der untersuchten Literatur so unterschiedlich ausfielen. Daher werden nachfolgend vier Theorien kurz vorgestellt, die dieser Frage nachgehen:

1. *Die eigentliche Anzahl an Kryoprotein-positiven Patient*innen ist viel höher, da ein Großteil der Ergebnisse falsch-negativ ist.* Gegen diese Theorie von Wanderer (67) spricht jedoch die niedrige Anzahl von positiven Ergebnissen auch in Studien mit größeren Fallzahlen. (30)
2. *Es gibt zwei verschiedene Formen von ColdU, eine Kryoprotein-positive und eine Kryoprotein-negative Form.* Hinweisend dafür könnten die vielen Fallberichte über kryoprotein-positiv Patient*innen mit sekundärer ColdU sein, bei welchen die zugrundeliegende Erkrankung, wie Malignome (68) oder Infektionen (69), ursächlich für die Entstehung von Kryoproteinen sein könnte. (30)
3. *Kryoproteine treten bei ColdU-Patient*innen unabhängig von ihrer ColdU auf. Somit kann kein Zusammenhang zwischen ColdU und Kryoproteinen gefunden werden.* Um diese Theorie stützen oder widerlegen zu können, wäre eine Gesamtanalyse zur

Prävalenz von Kryoproteinen in der Allgemeinbevölkerung nötig. Hierzu konnten wir bisher keine Daten finden. (30)

4. *Eine dritte Erkrankung ist ursächlich für die Entwicklung einer Kryoproteinämie und einer ColdU.* Um dieser Theorie nachzugehen wären mehr Daten zu Pathomechanismen beider Erkrankungen unbedingt erforderlich. (30)

7.2 Stärken und Limitationen der Arbeit

Wesentliche Stärken beider prospektiven Studien umfassen, dass in fast allen Studienphasen unterschiedliche Geschlechter, Altersgruppen und Krankheitsschweregrade eingeschlossen wurden. Dementsprechend wurde ein breites Patient*innenspektrum für die Analysen herangezogen. Weiterhin profitierten beide Projekte von den Erfahrungen langjähriger Urtikaria-Expert*innen. (30, 31)

Für die ColdUAS-Entwicklung zeigten Cognitive Debriefings und Patient*inneninterviews eine gute Verständlichkeit des entwickelten Tools und bestätigten die Relevanz der generierten Items. (31)

Limitationen beider prospektiven Studien umfassen das monozentrische Studiendesign und die Rekrutierung von Patient*innen mit mehrheitlich kaukasischer Herkunft sowie die limitierte Anzahl an eingeschlossenen ColdU-Patient*innen (30, 31). Ein anderer Outcome bei einem größeren und diverseren Patient*innen Pool kann somit nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren waren 70.2% (31) und 73.5% (30) der eingeschlossenen Patient*innen weiblich. Dies ist zu erklären mit einer höheren Prävalenz von ColdU bei Frauen (14, 15). Dennoch ist ein Gender Bias nicht vollständig auszuschließen. Darüber hinaus fand die Patient*innenrekrutierung beider Studien im Zeitraum von Restriktionen während der COVID19-Pandemie statt. Daher war ein Einschluss von Patient*innen zum Beispiel aus fernerer Regionen Deutschlands teilweise erschwert. Auch ein Follow-Up war nicht bei allen Patient*innen möglich. (31)

Im Rahmen der ColdUAS Entwicklung zeigen sich Limitationen bei der Patient*innenauswahl: Hier gab es auf Grund einer limitierten Anzahl an ColdU-Patient*innen Überschneidungen bei der Item Generierung und Item Selektion, sodass einige Patient*innen an beiden Phasen teilnahmen und im ersten Cognitive Debriefing nur Frauen eingeschlossen werden konnten (31). Zudem konnten lediglich 3 Jugendliche (Alter: 14, 16, 17 Jahre) für die ColdUAS Entwicklung eingeschlossen werden (31). Bisher

(Stand 2022) gibt es keine genauen Zahlen zur Prävalenz von ColdU bei Kindern und Jugendlichen.

Die Studie zu Kryoproteinen bei ColdU-Patient*innen zeigt ebenfalls spezielle Limitationen auf: Im Rahmen der Literaturrecherche muss ein Reporting Bias in Betracht gezogen werden, da negative Ergebnisse häufig nicht publiziert werden (30). Dies spiegelt sich in der hohen Anzahl von Kryoproteinen in kleineren Fallserien wider (30). Zudem ist die Auswahl der eingeschlossenen Literatur sowohl in der Anzahl an Patient*innen als auch in ihrer methodischen Qualität sehr heterogen. Während in 2 Studien keine klaren Einschlusskriterien genannt wurden, zeigten 7 Studien keine vollständigen Laborergebnisse, ohne dies zu erklären. In keinem der eingeschlossenen Artikel wurde die genaue präanalytische Vorbereitung oder die Analyse im Labor beschrieben (30). Dadurch kann die Verlässlichkeit der Ergebnisse nicht verifiziert werden. Auch weitere Informationen zu Komorbiditäten oder zugrundeliegenden Erkrankungen von Kryoprotein-positiven Patient*innen waren bei 8 Studien nicht aufgeführt (30). Im Rahmen der retrospektiven Auswertung der Datenbank der Charité kann ein Selektionsbias nicht vollends ausgeschlossen werden. Patient*innen welche zuvor durch einen spezialisierte*n Zuweiser*in eine andere Diagnose erhielten, wurden je nach Diagnose gegebenenfalls in eine andere Abteilung verwiesen. Weiterhin wurden in der Charité, als Hochschulambulanz und spezialisiertes Zentrum, viele Patient*innen mit einer schwerwiegenden ColdU behandelt, sodass es sich um ein vorselektiertes Patient*innenspektrum handelt (30).

7.3 Zusammenfassung und weiterführende Fragen

Zusammengefasst ist der ColdUAS das erste krankheitsspezifische PROM-Instrument für die Erfassung von Krankheitsaktivität bei ColdU, geeignet für Patient*innen ab 12 Jahren und zugänglich für alle ColdU Formen. In einer anschließenden Validierungsstudie wird der ColdUAS auf Validität und Reliabilität geprüft sowie ein Score generiert und ein finaler Dokumentationszeitraum festgelegt.

Im Rahmen der ColdUAS-Entwicklungsstudie konnte in einer parallelen dreiphasigen Studie gezeigt werden, dass die Prävalenz von Kryoproteinen bei ColdU sowohl in der Literatur als auch in unserer prospektiven und retrospektiven Analyse sehr gering war und somit für die routinemäßige Diagnostik bei ColdU nicht zweckmäßig ist.

Weiterführend sind hier Studien zu genauen Pathomechanismen von Kryoproteinämie und ColdU sowie weitere Untersuchungen von Kryoprotein-positiven Patient*innen notwendig, um bleibende Fragen zur Relevanz und Entwicklung von Kryoproteinen bei ColdU zu klären.

Literaturverzeichnis

1. Hellgren L. The prevalence of urticaria in the total population. *Acta Allergol.* 1972;27(3):236-40.
2. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, Aquilina S, Asero R, Baker D, Ballmer-Weber B, Bangert C, Ben-Shoshan M, Bernstein JA, Bindslev-Jensen C, Brockow K, Brzoza Z, Chong Neto HJ, Church MK, Criado PR, Danilycheva IV, Dressler C, Ensina LF, Fonacier L, Gaskins M, Gáspár K, Gelincik A, Giménez-Arnau A, Godse K, Gonçalo M, Grattan C, Grosber M, Hamelmann E, Hébert J, Hide M, Kaplan A, Kapp A, Kessel A, Kocatürk E, Kulthanan K, Larenas-Linnemann D, Lauerma A, Leslie TA, Magerl M, Makris M, Meshkova RY, Metz M, Micallef D, Mortz CG, Nast A, Oude-Elberink H, Pawankar R, Pigatto PD, Ratti Sisa H, Rojo Gutiérrez MI, Saini SS, Schmid-Grendelmeier P, Sekerel BE, Siebenhaar F, Siiskonen H, Soria A, Staubach-Renz P, Stingeni L, Sussman G, Szegedi A, Thomsen SF, Vadasz Z, Vestergaard C, Wedi B, Zhao Z, Maurer M. The international EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy.* 2022;77(3):734-66.
3. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Abdul Latiff AH, Baker D, Ballmer-Weber B, Bernstein JA, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Buense Bedrikow R, Canonica GW, Church MK, Craig T, Danilycheva IV, Dressler C, Ensina LF, Giménez-Arnau A, Godse K, Gonçalo M, Grattan C, Hebert J, Hide M, Kaplan A, Kapp A, Katelaris CH, Kocatürk E, Kulthanan K, Larenas-Linnemann D, Leslie TA, Magerl M, Mathelier-Fusade P, Meshkova RY, Metz M, Nast A, Nettis E, Oude-Elberink H, Rosumeck S, Saini SS, Sánchez-Borges M, Schmid-Grendelmeier P, Staubach P, Sussman G, Toubi E, Vena GA, Vestergaard C, Wedi B, Werner RN, Zhao Z, Maurer M. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy.* 2018;73(7):1393-414.
4. Antia C, Baquerizo K, Korman A, Bernstein JA, Alikhan A. Urticaria: A comprehensive review: Epidemiology, diagnosis, and work-up. *J Am Acad Dermatol.* 2018;79(4):599-614.
5. Schaefer P. Acute and Chronic Urticaria: Evaluation and Treatment. *Am Fam Physician.* 2017;95(11):717-24.
6. Zuberbier T, Greaves MW, Juhlin L, Kobza-Black A, Maurer D, Stingl G, Henz BM. Definition, classification, and routine diagnosis of urticaria: a consensus report. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2001;6(2):123-7.
7. Magerl M, Altrichter S, Borzova E, Giménez-Arnau A, Grattan CE, Lawlor F, Mathelier-Fusade P, Meshkova RY, Zuberbier T, Metz M, Maurer M. The definition, diagnostic testing, and management of chronic inducible urticarias - The EAACI/GA(2) LEN/EDF/UNEV consensus recommendations 2016 update and revision. *Allergy.* 2016;71(6):780-802.
8. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, Aquilina S, Asero R, Baker D, Ballmer-Weber B, Bangert C, Ben-Shoshan M, Bernstein JA, Bindslev-Jensen C, Brockow K, Brzoza Z, Chong Neto HJ, Church MK, Criado PR, Danilycheva IV, Dressler C, Ensina LF, Fonacier L, Gaskins M, Gáspár K, Gelincik A, Giménez-Arnau A, Godse K, Gonçalo M, Grattan C, Grosber M, Hamelmann E, Hébert J, Hide M, Kaplan A, Kapp A, Kessel A, Kocatürk E, Kulthanan K, Larenas-Linnemann D, Lauerma A, Leslie TA, Magerl M, Makris M, Meshkova RY, Metz M, Micallef D, Mortz CG, Nast A, Oude-Elberink H, Pawankar R, Pigatto PD, Ratti Sisa H, Rojo Gutiérrez MI, Saini SS, Schmid-Grendelmeier P, Sekerel BE, Siebenhaar F, Siiskonen H, Soria A, Staubach-Renz P, Stingeni L, Sussman G, Szegedi A, Thomsen SF, Vadasz Z, Vestergaard C, Wedi B, Zhao Z, Maurer M. The

international EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. 2021.

9. Fricke J, Ávila G, Keller T, Weller K, Lau S, Maurer M, Zuberbier T, Keil T. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: Systematic review with meta-analysis. *Allergy*. 2020;75(2):423-32.

10. Wanderer AA. Cold urticaria syndromes: Historical background, diagnostic classification, clinical and laboratory characteristics, pathogenesis, and management. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1990;85(6):965-81.

11. Möller A, Henning M, Zuberbier T, Czarnetzki-Henz BM. [Epidemiology and clinical aspects of cold urticaria]. *Hautarzt*. 1996;47(7):510-4.

12. Maltseva N, Borzova E, Fomina D, Bizjak M, Terhorst-Molawi D, Košnik M, Kulthanan K, Meshkova R, Thomsen SF, Maurer M. Cold urticaria - What we know and what we do not know. *Allergy*. 2021;76(4):1077-94.

13. Jain SV, Mullins RJ. Cold urticaria: a 20-year follow-up study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2016;30(12):2066-71.

14. Stepaniuk P, Vostretsova K, Kanani A. Review of cold-induced urticaria characteristics, diagnosis and management in a Western Canadian allergy practice. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018;14:85.

15. Neittaanmäki H. Cold urticaria. Clinical findings in 220 patients. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13(4):636-44.

16. Kulthanan K, Tuchinda P, Chularojanamontri L, Kiratiwongwan R. Cold Urticaria: Clinical Features and Natural Course in a Tropical Country. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2019;11(4):538-47.

17. Krause K, Degener F, Altrichter S, Ardelean E, Kalogeromitros D, Magerl M, Metz M, Siebenhaar F, Weller K, Maurer M. [Cold-induced urticaria and angioedema. Classification, diagnosis and therapy]. *Hautarzt*. 2010;61(9):743-9.

18. Bizjak M, Košnik M, Dinevski D, Thomsen SF, Fomina D, Borzova E, Kulthanan K, Meshkova R, Ahsan DM, Al-Ahmad M, Altrichter S, Bauer A, Brockstädt M, Costa C, Demir S, Fachini Criado R, Ensina LF, Gelincik A, Giménez-Arnau AM, Gonçalves M, Gotua M, Holm JG, Inomata N, Kasperska-Zajac A, Khoshkhui M, Klyucharova A, Kocatürk E, Lu R, Makris M, Maltseva N, Miljković J, Pasali M, Paulino M, Pesqué D, Peter J, Ramón GD, Ritchie C, Rodrigues Valle SO, Rudenko M, Sikora A, de Souza Lima EM, Wagner N, Xepapadaki P, Xue X, Zhao Z, Terhorst-Molawi D, Maurer M. Risk factors for systemic reactions in typical cold urticaria: Results from the COLD-CE study. *Allergy*. 2021.

19. Wanderer AA, Grandel KE, Wasserman SI, Farr RS. Clinical characteristics of cold-induced systemic reactions in acquired cold urticaria syndromes: recommendations for prevention of this complication and a proposal for a diagnostic classification of cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1986;78(3 Pt 1):417-23.

20. Magerl M, Abajian M, Krause K, Altrichter S, Siebenhaar F, Church MK. An improved Peltier effect-based instrument for critical temperature threshold measurement in cold- and heat-induced urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(10):2043-5.

21. Młynek A, Magerl M, Siebenhaar F, Weller K, Vieira Dos Santos R, Zuberbier T, Zalewska-Janowska A, Maurer M. Results and relevance of critical temperature threshold testing in patients with acquired cold urticaria. *Br J Dermatol*. 2010;162(1):198-200.

22. Maurer M, Fluhr JW, Khan DA. How to Approach Chronic Inducible Urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(4):1119-30.

23. Kulthanan K, Hunnangkul S, Tuchinda P, Chularojanamontri L, Weerasubpong P, Subchookul C, Maurer M. Treatments of cold urticaria: A systematic review. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143(4):1311-31.

24. Siebenhaar F, Weller K, Mlynek A, Magerl M, Altrichter S, Vieira Dos Santos R, Maurer M, Zuberbier T. Acquired cold urticaria: clinical picture and update on diagnosis and treatment. *Clin Exp Dermatol*. 2007;32(3):241-5.
25. Moestrup K, Ghazanfar MN, Thomsen SF. Patient-reported outcomes (PROs) in chronic urticaria. *Int J Dermatol*. 2017;56(12):1342-8.
26. Health USDo, Human Services FDACfDE, Research, Health USDo, Human Services FDACfBE, Research, Health USDo, Human Services FDACfD, Radiological H. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2006;4(1):79.
27. Maurer M, Eyerich K, Eyerich S, Ferrer M, Gutermuth J, Hartmann K, Jakob T, Kapp A, Kolkhir P, Larenas-Linnemann D, Park HS, Pejler G, Sánchez-Borges M, Schäkel K, Simon D, Simon HU, Weller K, Zuberbier T, Metz M. Urticaria: Collegium Internationale Allergologicum (CIA) Update 2020. *Int Arch Allergy Immunol*. 2020;181(5):321-33.
28. Hawro T, Ohanyan T, Schoepke N, Metz M, Peveling-Oberhag A, Staubach P, Maurer M, Weller K. The Urticaria Activity Score-Validity, Reliability, and Responsiveness. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(4):1185-90.e1.
29. Koch K, Weller K, Werner A, Maurer M, Altrichter S. Antihistamine up dosing reduces disease activity in patients with difficult-to-treat cholinergic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(5):1483-5.e9.
30. Ginter K, Ahsan DM, Bizjak M, Krause K, Maurer M, Altrichter S, Terhorst-Molawi D. Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients. *Front Immunol*. 2021;12:675451.
31. Ahsan DM, Altrichter S, Gutsche A, Bernstein JA, Altunergil T, Brockstaedt M, Maurer M, Weller K, Terhorst-Molawi D. Development of the Cold Urticaria Activity Score. *Allergy*. 2022;77(8):2509-19.
32. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health Qual Life Outcomes*. 2006;4:79.
33. de-Madaria E, Sánchez-Marin C, Carrillo I, Vege SS, Chooklin S, Bilyak A, Mejuto R, Mauriz V, Hegyi P, Márta K, Kamal A, Lauret-Braña E, Barbu ST, Nunes V, Ruiz-Rebollo ML, García-Rayado G, Lozada-Hernandez EE, Pereira J, Negoii I, Espina S, Hollenbach M, Litvin A, Bolado-Concejo F, Vargas RD, Pascual-Moreno I, Singh VK, Mira JJ. Design and validation of a patient-reported outcome measure scale in acute pancreatitis: the PAN-PROMISE study. *Gut*. 2021;70(1):139-47.
34. Kulthanan K, Chularojanamontri L, Rujitharanawong C, Weerasubpong P, Weller K, Maurer M. Angioedema Activity Score (AAS): A Valid and Reliable Tool to Use in Asian Patients. *Biomed Res Int*. 2019;2019:9157895.
35. Weller K, Groffik A, Magerl M, Tohme N, Martus P, Krause K, Metz M, Staubach P, Maurer M. Development, validation, and initial results of the Angioedema Activity Score. *Allergy*. 2013;68(9):1185-92.
36. Kaplan AP, Garofalo J. Identification of a new physically induced urticaria: cold-induced cholinergic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68(6):438-41.
37. Gandhi C, Healy C, Wanderer AA, Hoffman HM. Familial atypical cold urticaria: description of a new hereditary disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(6):1245-50.
38. Brodská P, Schmid-Grendelmeier P. Treatment of severe cold contact urticaria with omalizumab: case reports. *Case Rep Dermatol*. 2012;4(3):275-80.

39. Furr JC, Panda M. Cold-induced urticaria with a familial transmission: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep.* 2012;6:70.
40. Aderibigbe OM, Priel DL, Lee CC, Ombrello MJ, Prajapati VH, Liang MG, Lyons JJ, Kuhns DB, Cowen EW, Milner JD. Distinct Cutaneous Manifestations and Cold-Induced Leukocyte Activation Associated With PLCG2 Mutations. *JAMA Dermatol.* 2015;151(6):627-34.
41. Torabi B, Ben-Shoshan M. The association of cholinergic and cold-induced urticaria: diagnosis and management. *BMJ Case Rep.* 2015;2015.
42. Abraham T, McGarry DP, Frith J, Casselman J, Tcheurekdjian H, Hostoffer R. Pure Cold-Induced Cholinergic Urticaria in a Pediatric Patient. *Case Reports Immunol.* 2016;2016:7425601.
43. Singleton R, Halverstam CP. Diagnosis and management of cold urticaria. *Cutis.* 2016;97(1):59-62.
44. Juhlin L. Dermatographism and cold-induced urticaria. *J Am Acad Dermatol.* 1991;24(6 Pt 2):1087-9.
45. Bentley B, 2nd. Cold-induced urticaria and angioedema: diagnosis and management. *Am J Emerg Med.* 1993;11(1):43-6.
46. Powell RJ, Du Toit GL, Siddique N, Leech SC, Dixon TA, Clark AT, Mirakian R, Walker SM, Huber PA, Nasser SM. BSACI guidelines for the management of chronic urticaria and angio-oedema. *Clin Exp Allergy.* 2007;37(5):631-50.
47. Krause K, Zuberbier T, Maurer M. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cold contact urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2010;10(4):243-9.
48. Hochstadter EF, Ben-Shoshan M. Cold-induced urticaria: challenges in diagnosis and management. *BMJ Case Rep.* 2013;2013.
49. Benelli E, Longo G, Barbi E, Berti I. Anaphylaxis in atypical cold urticaria: case report and review of literature. *Ital J Pediatr.* 2018;44(1):135.
50. Kolopp-Sarda MN, Miossec P. Cryoglobulins: An update on detection, mechanisms and clinical contribution. *Autoimmun Rev.* 2018;17(5):457-64.
51. Nebe T, Stamminger G, Baum H, Ossendorf M, Wittmann G. Bedeutung und Diagnostik von Kryoproteinen. *LaboratoriumsMedizin.* 2014;38(5):251-8.
52. Napodano C, Gulli F, Rapaccini GL, Marino M, Basile U. Cryoglobulins: Identification, classification, and novel biomarkers of mysterious proteins. *Adv Clin Chem.* 2021;104:299-340.
53. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Am J Med.* 1974;57(5):775-88.
54. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *The Lancet.* 2012;379(9813):348-60.
55. Trejo O, Ramos-Casals M, García-Carrasco M, Yagüe J, Jiménez S, de la Red G, Cervera R, Font J, Ingelmo M. Cryoglobulinemia: study of etiologic factors and clinical and immunologic features in 443 patients from a single center. *Medicine (Baltimore).* 2001;80(4):252-62.
56. Moiseev S, Luqmani R, Novikov P, Shevtsova T. Cryofibrinogenaemia-a neglected disease. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(9):1445-51.
57. Michaud M, Pourrat J. Cryofibrinogenemia. *J Clin Rheumatol.* 2013;19(3):142-8.
58. Maire MA, Mittey M, Lambert PH. The presence of cryoprecipitable immunoglobulins in normal human sera may reflect specific molecular interactions. *Autoimmunity.* 1989;2(2):155-64.
59. Romaszko JP, Tridon A, Jouanel P, Subtil E, Dibet P, Betail G. [Detection and analysis of cryoglobulins: comparative study of a population of patients and one of healthy controls]. *Pathol Biol (Paris).* 1993;41(6):525-9.

-
60. Huber H, Nachbaur D, Pohl P. Diagnose und Differentialdiagnose hämolytischer Anämien – Hämolytische Anämien durch Kälteautoantikörper. In: Huber H, Löffler H, Pastner D, editors. Diagnostische Hämatologie. Berlin/Heidelberg/New York: Springer; 1992.
 61. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *American Journal of Hematology*. 2002;69(4):258-71.
 62. Felber N. Cold agglutinin disease. *Postgrad Med*. 1976;60(5):89-94.
 63. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*. 2009;6(7):e1000097.
 64. Moola S, Munn Z, Sears K, Sfetcu R, Currie M, Lisy K, Tufanaru C, Qureshi R, Mattis P, Mu P. Conducting systematic reviews of association (etiology): The Joanna Briggs Institute's approach. *Int J Evid Based Healthc*. 2015;13(3):163-9.
 65. Institute JB. CHECKLIST FOR CASE SERIES
Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews 2020 [cited 2022 12.12.2022]. 3-4]. Available from: <https://jbi.global/critical-appraisal-tools>.
 66. Młynek A, Zalewska-Janowska A, Martus P, Staubach P, Zuberbier T, Maurer M. How to assess disease activity in patients with chronic urticaria? *Allergy*. 2008;63(6):777-80.
 67. Wanderer AA. A potential new therapy for cold urticaria and chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(2):517; author reply -8.
 68. Hauptmann G, Lang JM, North ML, Oberling F, Mayer G, Lachmann PJ. Lymphosarcoma, cold urticaria, IgG1 monoclonal cryoglobulin and complement abnormalities. *Scand J Haematol*. 1975;15(1):22-6.
 69. Houser DD, Arbesman CE, Ito K, Wicher K. Cold urticaria. *Immunologic studies*. *Am J Med*. 1970;49(1):23-33.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Dalia Melina Ahsan, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Entwicklung eines krankheitsspezifischen Instruments zur Erfassung der Krankheitsaktivität bei Patient*innen mit Kälteurtikaria und Analyse von Kryoproteinen bei Kälteurtikaria/ Development of a disease activity score for patients with Cold urticaria and analysis of cryoproteins in Cold urticaria* 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 dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; 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

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Dalia Melina Ahsan hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Dalia Melina Ahsan, Sabine Altrichter, Tatjana Altunergil, Annika Gutsche, Jonathan A. Bernstein Marcus Maurer, Maxi Brockstaedt, Karsten Weller, Dorothea Terhorst-Molawi

Development of the Cold Urticaria Activity Score, Allergy, 2022

Beitrag im Einzelnen: Vorbereitung der Studie (inklusive Ethikantragstellung), Rekrutierung von Patient*innen, Durchführung von Visiten, Durchführung einer Literaturrecherche, Erstellung der Datenbank, Eingabe der Daten in die Datenbank, statistische Auswertung, Teilnahme an Diskussionen in der Expert*innenrunde, Überwachung der Fragebogenübersetzung, Erstellung aller Grafiken und Tabellen, Erstellung des Manuskripts.

Publikation 2:

Katharina Ginter, Dalia Melina Ahsan, Mojca Bizjak, Karoline Krause, Marcus Maurer, Sabine Altrichter, Dorothea Terhorst-Molawi

Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients, Frontiers in Immunology, 2021

Beitrag im Einzelnen: Vorbereitung der Studie (inklusive Ethikantragstellung), Rekrutierung von Patient*innen, Durchführung von Visiten, Abnahme von Laborproben, Durchführung einer Literaturrecherche, Erstellung der Datenbank, Eingabe der Daten in die Datenbank, Mitarbeit bei der Erstellung von Tabellen (Tabelle 2 und Tabelle 3), Mitarbeit bei Erstellung des Manuskripts.

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

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Auszug aus der Journal Summary List und Druckexemplar Publikation 1Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2020** Selected Editions: SCIE,SSCISelected Categories: '**ALLERGY**' Selected Category Scheme: WoS**Gesamtanzahl: 28 Journale**

| Rank | Full Journal Title | Total Cites | Journal Impact Factor | Eigenfactor Score |
|------|--------------------|-------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | ALLERGY | 25,131 | 13.146 | 0.023300 |



Received: 6 February 2022 | Revised: 11 March 2022 | Accepted: 22 March 2022

DOI: 10.1111/all.15310



ORIGINAL ARTICLE

Atopic Dermatitis, Urticaria and Skin Disease

Development of the Cold Urticaria Activity Score

Dalia Melina Ahsan^{1,2} | Sabine Altrichter^{1,2,3} | Annika Gutsche^{1,2} |
 Jonathan A. Bernstein⁴ | Tatjana Altunergil^{1,2} | Maxi Brockstaedt^{1,2} |
 Marcus Maurer^{1,2} | Karsten Weller^{1,2} | Dorothea Terhorst-Molawi^{1,2,5}

¹Institute of Allergology, Charité -
 Universitätsmedizin Berlin, Corporate
 Member of Freie Universität Berlin and
 Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin,
 Germany

²Fraunhofer Institute for Translational
 Medicine and Pharmacology (ITMP),
 Allergology and Immunology, Berlin,
 Germany

³Department of Dermatology and
 Venerology, Kepler University Hospital,
 Linz, Austria

⁴Division of Immunology and Allergy,
 Department of Internal Medicine,
 University of Cincinnati College of
 Medicine, Cincinnati, OH, USA

⁵Institute of Clinical Physiology/
 Nutritional Medicine, Medical
 Department, Division of Gastroenterology,
 Infectiology, Rheumatology, Charité
 - Universitätsmedizin Berlin, Berlin,
 Germany

Correspondence

Marcus Maurer, Institute of Allergology,
 Charité - Universitätsmedizin Berlin,
 Hindenburgdamm 27, 12203 Berlin,
 Germany.
 Email: marcus.maurer@charite.de

Funding information

The research was funded, in part, by
 Sanofi-Aventis U.S. LLC. and Celldex
 Pharmaceuticals

Abstract

Background: Cold urticaria (ColdU) is a form of inducible urticaria where cold induces wheals and/or angioedema. The burden of disease is high and linked to trigger thresholds, exposure, and avoidance. There are presently no validated patient-reported outcome measures (PROMs) to assess and monitor disease activity. Our objective was to develop a disease-specific activity score for ColdU that is easy to administer and evaluate.

Methods: A Cold Urticaria Activity Score (ColdUAS) questionnaire was developed, directed by PROM developing guidelines. After the generation of a conceptual framework, the item generation phase included the literature research on ColdU signs and symptoms and on comparable tools for similar diseases and 47 ColdU patient interviews. Subsequently, an impact analysis for content validity was performed. The final selection of items underwent expert review for face validity and cognitive debriefing.

Results: The ColdUAS, a self-administered questionnaire for the prospective assessment of disease activity in patients with ColdU, consists of 4 items: 1. the frequency and severity of the signs (wheals and/or angioedema), 2. the frequency and severity of the symptoms (e.g., itch and burn), 3. the exposure to specific triggers, and 4. the avoidance of these triggers. The recall period for each item is the last 24 h.

Conclusions: The ColdUAS is the first disease-specific PROM to assess ColdU disease activity. It may help to better assess patients' disease status in routine clinical practice as well as in clinical trials. Anchor-based approaches are currently used to validate the ColdUAS.

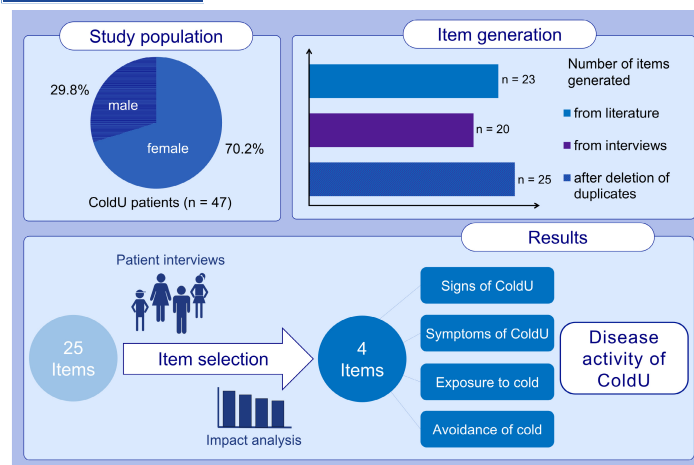
KEYWORDS

chronic inducible urticaria, cold urticaria, disease activity, patient-reported outcome measures, urticaria activity score

Abbreviations: CholUAS, Cholinergic Urticaria Activity Score; ColdU, cold urticaria; ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score; CST(s), cold stimulation test(s); CSU, chronic spontaneous urticaria; CTT, critical temperature threshold; ICT, ice cube test; PROM, patient-reported outcome measure; UAS, Urticaria Activity Score.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

© 2022 The Authors. *Allergy* published by European Academy of Allergy and Clinical Immunology and John Wiley & Sons Ltd.



GRAPHICAL ABSTRACT

The ColdUAS development process was directed by PROM guidelines. For item generation 47 interviews with ColdU patients and a comprehensive literature research was performed. By conducting an impact analysis, cognitive debriefings, and an expert review final items were selected. The 4-item ColdUAS is the first self-administered questionnaire for the prospective assessment of disease activity in ColdU patients.

Abbreviations: ColdU, Cold urticaria; ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score; PROM, patient-reported outcome measures

1 | BACKGROUND

Cold urticaria (ColdU) is an inducible urticaria where skin exposure to cold temperatures results in wheals, angioedema, or both. Most cases of ColdU are chronic, that is, longer than 6 weeks, with an average duration of 6 years.¹⁻³ ColdU is the second most common chronic inducible urticaria, with an incidence in the general population of approximately 0.05% globally and a higher prevalence in northern countries.^{4,5}

The signs and symptoms of ColdU usually appear a few minutes after cold exposure, upon rewarming of the skin.^{1,6} Trigger factors include cold liquids, cold objects, and cold air, which can be affected by co-factors such as humidity and wind.^{5,7} The spectrum of reactions to these triggers varies widely, ranging from mild localized whealing to dangerous generalized and systemic reactions and potentially life-threatening angioedema.^{3,8,9} About 40% of ColdU patients develop systemic reactions, such as vertigo, nausea, hypotension, dyspnea, or anaphylaxis, in addition to wheals or angioedema.^{8,10} Many ColdU patients experience a severe impairment in their quality of life, as they frequently avoid outdoor activities or contact with cold water, such as swimming¹¹ but can also experience symptoms in daily activities such as preparation of cold food, wet cleaning, and skin contact with cool objects, for example, toilet seats.

Cold urticaria is classified as typical or atypical, as well as primary or secondary.² Typical ColdU is diagnosed by a positive standardized cold stimulation test (CST), performed with an ice cube or TempTest[®].^{1,2} By contrast, atypical ColdUs are characterized

by either negative results or atypical responses to standardized CSTs.^{2,3,10} ColdU is classified as primary in the absence of an underlying disease. In secondary forms, an underlying disease can be identified, for example, hematological or autoimmune disorders.^{1,6,12}

As of today, H1 antihistamines are the first-line therapy and the only licensed treatment option for ColdU patients.² Less than 50% of ColdU patients achieve complete disease control with approved or uposed antihistaminic treatment.^{2,13,14} Omalizumab can be effective in antihistamine-refractory ColdU. However, omalizumab is not licensed for ColdU, and not all patients benefit sufficiently.^{2,14} Thus, the overall care situation is not satisfactory and shows a great need for new therapies.

When developing new therapies, it is essential to be able to assess disease activity and its change to treatment.¹⁵ Likewise, in routine care, monitoring therapy responses in the patient's daily life can help improving patient care.

However, at present, there are no validated disease-specific patient-reported outcome measures (PROMs) to assess and score disease activity in ColdU patients. PROMs are a standardized method of assessing a patient's health status, record the unfiltered patient perspective on their disease, and prevent a loss of important information that may occur in the case of isolated evaluations by physicians.^{16,17}

Cold urticaria is a distinct clinical entity and different in its triggers of signs and symptoms, clinical manifestations, and course and response to treatment from other diseases including other types of urticaria. Existing tools for the assessment of disease activity, such

as the Urticaria Activity Score (UAS) for chronic spontaneous urticaria (CSU), cannot be used for ColdU, since ColdU patients may have high disease activity but only mild signs and symptoms because of strong cold avoidance behavior.¹⁸ Accordingly, the actual exposure to trigger temperatures and the avoidance behavior need to be included in a disease activity assessment. Subsequently, the aim of this study was to develop a disease-specific PROM for assessing disease activity in ColdU patients.

2 | PATIENTS AND METHODS

The development of the Cold Urticaria Activity Score (ColdUAS) was divided into three major phases: 1. conceptual framework development, 2. item generation, and 3. item selection. An overview of the process is depicted in Figure 1.

2.1 | Conceptual framework

As a first step, a conceptual framework was generated to base the item generation process. The ColdUAS core development group (Dorothea Terhorst-Molawi, Karsten Weller, Sabine Altrichter, Marcus Maurer) defined the conceptual framework and screened similar disease activity scores for content, structure, and scoring systems. Furthermore, the minimal number of required patient interviews per developmental stage was defined. Because of the expected wide range of symptom expression and severity, we aimed to assess at least 30 patients by semi-structured interviews.

2.2 | ColdUAS item generation

Item generation was performed by following three steps: a literature research to identify all relevant symptoms and triggers of cold reactions (1), semi-structured interviews with 47 ColdU patients (2) and an expert review to add potentially relevant items (3).

2.2.1 | Literature research

On August 30, 2019, we conducted a literature research in the electronic database PubMed with the terms ("*cold urticaria*" AND *symptoms*) OR ("*cold urticaria*" AND *triggers*). Relevant public data published between 1961 and 2019 in German and English with full text available were included for further screening, and references in key publications were cross-checked. All included publications and generated items are summarized in Table 1.

In addition, comparable instruments and activity scores were sought in PubMed using mesh terms ("*urticaria activity score*" AND (*development OR validation*)) OR ("*angioedema activity score*" AND (*development OR validation*)). Information on comparable tools can be retrieved from supplementary file Table S1.

2.2.2 | Semi-structured patient interviews for item generation

We performed semi-structured interviews of about 60 min duration each with 47 ColdU patients recruited at the Urticaria

FIGURE 1 After the development of a conceptual framework for the ColdUAS, 25 potentially relevant items were generated. Subsequently cognitive debriefing, an impact analysis and an expert review for face validity were performed during the item selection process and resulted in a final set of 4 questions. The final 4-item ColdUAS is user-friendly and suited for clinical trials and daily routine care. ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score; ColdU, Cold urticaria

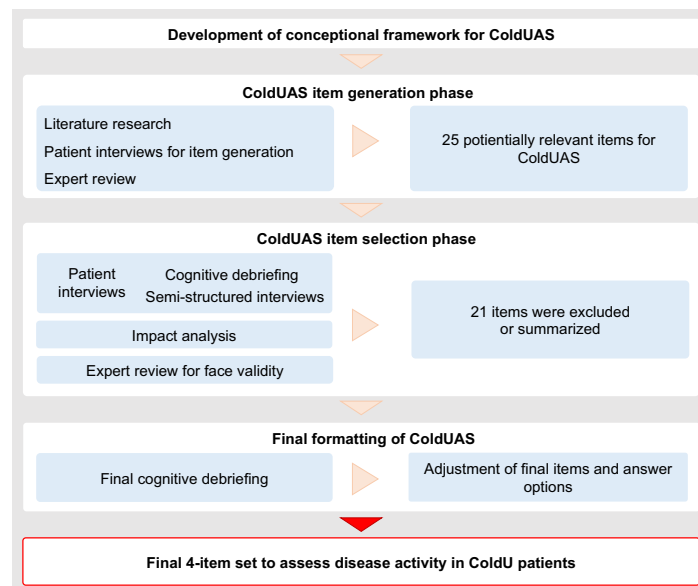


TABLE 1 Results of item generation and item selection process

| Source | Items generation | Item selection/modifications | |
|---------------------------------------|----------------------------------|--|--|
| 8,15,38-45 & PI (97.9%) | Erythema | Frequency and severity of signs of ColdU | |
| 1,6,8,15,28,38-51 & PI (78.7%) | Wheals | | |
| 1,6,8,28,38,39,42,47-50 & PI (57.5%) | Angioedema | | |
| PI (38.3%) | Acral swelling | | |
| 1,8,15,28,38-40,42,43,50 & PI (97.9%) | Pruritus | Frequency and severity of symptoms of ColdU | |
| 1,6,9,28,42,49-51 & PI (27.7%) | Systemic reaction/hypotension | | |
| 1,8,49 & PI (0%) | Tachycardia | | |
| 1,6,49 & PI (4.3%) | Anaphylaxis | | |
| 1,8,39,50 & PI (4.3%) | Syncope | | |
| 8,39,40 & PI (27.7%) | Vertigo | | |
| 1,6,8,40,49,51 & PI (14.9%) | Dyspnea | | |
| 6,8,51 & PI (0%) | Conjunctive hyperemia/rhinorrhea | | |
| 1,8 & PI (2.1%) | Nausea | | |
| 1,8,42,47,50 & PI (6.4%) | Gastrointestinal symptoms | | |
| 51 & PI (0%) | Muscle weakness | | |
| 8 & PI (0%) | Fatigue | | |
| 6,9,41 & PI (8.5%) | Pain | | |
| PI (2.1%) | Feeling hot/flush | | |
| 1,6,15,28,38-50 & PI (91.5%) | Cold temperatures | | Exposure to specific triggers of ColdU |
| 1,6,9,38-40,42,43,45-51 & PI (80.5%) | Cold water | | |
| 1,6,15,39,42,45,49 & PI (82.9%) | Cold objects | | |
| 1,6,39,42,47 & PI (19.2%) | Ingestion of cold food/beverage | | |
| 1,28,38,39,43,44,50 & PI (76.6%) | Outdoor activities | | |
| 1 & PI (0%) | Friction | | |
| 1,6,9,28,49 & PI (100%) | Avoidance of triggers | Avoidance behavior with regard to specific triggers of ColdU | |

Note: Table 1 shows all 25 items generated from literature research and patient interviews (PI, $n = 47$). The percentage in brackets shows the number of patients who reported the sign/symptom/trigger/avoidance described. All of the listed items were confirmed as clinically relevant by the expert group.

$n\%$ of patients reported corresponding item in patient interview.

Abbreviations: ColdU, cold urticaria; PI, patient interview.

Center of Reference and Excellence (UCARE) at Charité—Universitätsmedizin Berlin, Germany between July 2019 and July 2020. Our study was approved by the local ethics committee (reference EA1/385/13 & EA1/398/20), and all patients provided written informed consent. Eligible for inclusion were patients aged 12 years and older with any form of cold urticaria. At the timepoint of interview, the patients had active disease and could be on treatment for their ColdU. All patients underwent two cold provocation tests: a standardized ice cube test (ICT) and a standardized assessment of the critical temperature threshold (CTT) with TempTest®. The CTT indicates the warmest temperature at which a ColdU patient develops wheals.^{19,20}

Most of the ColdU patients were women ($n = 33$, 70.2%), and 34 and 13 patients had typical and atypical ColdU, respectively. 3 minors (14–17 years old) were included. All patients with typical ColdU had positive test results (wheals) to ICT and/or TempTest®. Patients with atypical cold urticaria forms were diagnosed based on modified provocation tests and/or history and photodocumentation. The clinical characteristics of the patient population are presented in Table 2 (more information in Figure S1).

2.2.3 | Expert review

The results of the literature search and the transcribed semi-structured patient interviews were reviewed by the ColdUAS core development group. Common main symptoms, triggers, and avoidance behavior of ColdU patients were selected for the formulation of questions.

2.3 | ColdUAS item selection

The item selection was completed in 3 steps: 1. patient interviews, 2. impact analysis, 3. expert review.

2.3.1 | Patient interviews for item selection

For the selection of final items, a content validity analysis of each item was performed. Comprehensibility was assessed by methods of cognitive debriefing in 10 patients according to PROM guidelines.¹⁶ Patients were asked whether they could easily read and

TABLE 2 Demographic characteristics of 47 ColdU patients for item generation and 27 patients for item selection included at Charité Berlin between July 2019 and July 2020

| | ColdUAS item generation phase | | | ColdUAS item selection phase | | |
|---|-------------------------------|---------------|----------------|------------------------------|---------------|----------------|
| | All patients | Typical ColdU | Atypical ColdU | All patients | Typical ColdU | Atypical ColdU |
| Patient, n | 47 | 34 | 13 | 27 | 20 | 7 |
| Gender | | | | | | |
| Female, n (%) | 33 (70.2%) | 22 (64.7%) | 11 (84.6%) | 19 (70.4%) | 14 (70%) | 5 (71.4%) |
| Male, n (%) | 14 (29.8%) | 12 (35.3%) | 2 (15.4%) | 8 (29.6%) | 6 (30%) | 2 (28.6%) |
| Age, years, median [min, max] | 39 [14, 82] | 42.5 [14, 82] | 31 [16, 66] | 38 [14, 67] | 39.5 [14, 67] | 31 [18, 66] |
| Age of disease onset, years, median [min, max] | 29 [0, 81] | 31.5 [0, 81] | 16 [10, 41] | 28 [0, 64] | 30.5 [0, 64] | 22 [41, 10] |
| Disease duration, months, median [min, max] | 72 [3, 600] | 48.5 [3, 576] | 120 [23, 600] | 60 [4, 600] | 48.5 [4, 576] | 108 [9, 600] |
| Cold-induced reactions in the last 12 months | | | | | | |
| Pruritus | 46 (97.9%) | 34 (100%) | 12 (92.3%) | 27 (100%) | 20 (100%) | 7 (100%) |
| Wheals | 37 (78.7%) | 27 (79.4%) | 10 (76.9%) | 23 (85.2%) | 16 (80%) | 7 (100%) |
| Angioedema | 27 (57.5%) | 19 (55.9%) | 8 (61.5%) | 14 (51.9%) | 11 (55%) | 3 (42.9%) |
| Acral swelling | 18 (38.3%) | 13 (38.2%) | 5 (38.5%) | 9 (33.3%) | 7 (35%) | 2 (28.6%) |
| Gastrointestinal symptoms | 3 (6.4%) | 2 (5.9%) | 1 (7.7%) | 1 (3.7%) | 1 (5%) | 0 |
| Dyspnea | 7 (14.9%) | 5 (14.7%) | 2 (15.4%) | 5 (18.5%) | 3 (15%) | 2 (28.6%) |
| Hypotensive symptoms ^a | 13 (27.7%) | 10 (29.4%) | 3 (23.1%) | 10 (37%) | 8 (40%) | 2 (28.6%) |
| Measured hypotension ^b and/or loss of consciousness (anaphylactic shock) | 2 (4.3%) | 1 (2.9%) | 1 (7.7%) | 2 (7.4%) | 1 (5%) | 1 (14.3%) |
| Nausea | 1 (2.1%) | 0 | 1 (7.7%) | 1 (3.7%) | 0 | 1 (14.3%) |
| Feeling hot/flush/burning sensation | 1 (2.1%) | 1 (2.9%) | 0 | 1 (3.7%) | 1 (5%) | 0 |
| Pain | 4 (8.5%) | 2 (5.9%) | 2 (15.4%) | 2 (7.4%) | 2 (10%) | 0 |
| Cold stimulation tests | | | | | | |
| Ice Cube Test positive | 32 (68.1%) | 31 (91.2%) | 0 | 18 (66.7%) | 18 (90%) | 0 |
| TempTest [®] positive | 31 (65.9%) | 31 (91.2%) | 0 | 20 (74.1%) | 20 (100%) | 0 |
| CTT median [min, max] | 18 [7, 27] | 18 [7, 27] | - | 19.5 [7, 27] | 19.5 [7, 27] | - |

Abbreviations: ColdU, cold urticaria; ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score; CTT, critical temperature threshold.

^ae.g., dizziness, sensation of fainting.

^bMeasured hypotension: blood pressure <90/60 mmHg.

understand each question, response options, and given instructions. Furthermore, all patients had to paraphrase each item in order to test comprehensibility.

In addition, we performed semi-structured interviews with 25 ColdU patients to verify comprehensiveness. To this end, patients were asked whether anything was missing and whether they had further suggestions on the structure and content of the activity score.

This step helped to decide whether an item would remain or be dropped from the questionnaire.

2.3.2 | Impact analysis

An impact analysis was performed to assess the frequency and importance of each item within the content validity analysis and to exclude all potential ColdUAS items with a low impact.

For the impact analysis, 27 ColdU patients evaluated the importance of each item on a 5-point scale (1 = not important to 5 = extremely important) and specified whether they had experienced the item content within the last year (frequency; yes = 1; no = 0). The "frequency" of each item was calculated as the percentage of patients who indicated that they experienced the item content within the last year. The impact score was calculated as product of frequency and mean importance of each item.

2.3.3 | Expert review for face validity and ColdUAS comprehension

After completing the content validity assessment, the expert group reviewed all items. The face validity assessment proposed an "impact" score of 3 points as the best suitable cutoff value for item

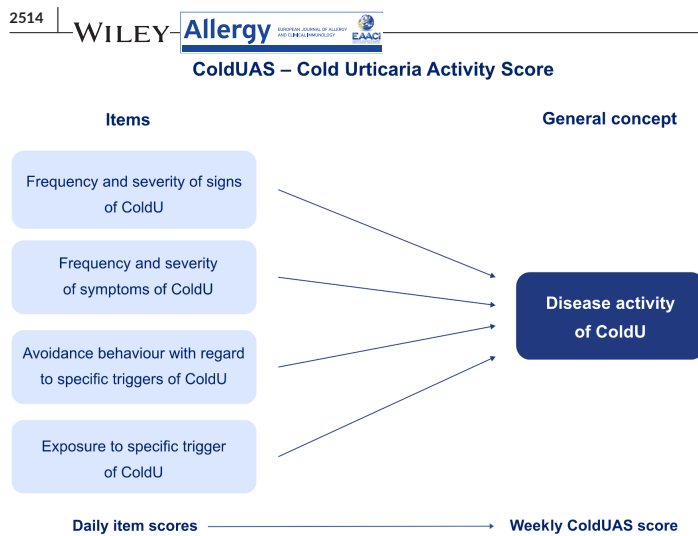


FIGURE 2 Conceptual framework of ColdUAS. The final 4-item set results in the assessment of disease activity of ColdU. ColdUAS, Cold Urticaria Activity Score; ColdU, Cold urticaria

selection. All questions and answer options were modified for easier comprehension according to patients' feedback from the cognitive debriefings ($n = 10$) and semi-structured interviews ($n = 25$).

2.4 | Final formatting of the ColdUAS

After the item selection phase was completed, the final items to be used for the ColdUAS validation study were chosen. Five questions were added as anchor questions for later validation. Furthermore, an instruction section was developed by the expert group to introduce patients to the questionnaire and provide guidance on how to complete it. The form of the ColdUAS was updated in regard to the final item set, the requirements of the validation study and the documentation period of 14 days. Subsequently, a cognitive debriefing of the final version was performed with 7 ColdU patients aiming to confirm the comprehensiveness and comprehensibility of each item and answer option.

2.5 | Development of an US American-English version

The US American-English version was developed by two independent translators who are bilingual in the source language German and English. Both forward translators were naïve on the construct measured by the ColdUAS. The two forward translations were reviewed and adjusted by a US American-English native speaker and urticaria expert in cooperation with the ColdUAS core development group. A backward translation was then generated by a German native speaker, compared with the English translation and finally tested for congruence.

At last, a final US American-English version was created after consensus with the ColdUAS developers and underwent cognitive debriefing with 9 US American-English native speaking ColdU patients (4 female, 5 male, median age: 34.5, range: 22–49).

2.6 | Data assessment and statistical analysis

Semi-structured interviews were documented using Microsoft Word (version 16.52 [21080801]). For descriptive statistical analyses, Microsoft Excel (version 16.49 [21050901]) was used. Linear variables are given as median (and range), binominal variables as percentage.

3 | RESULTS

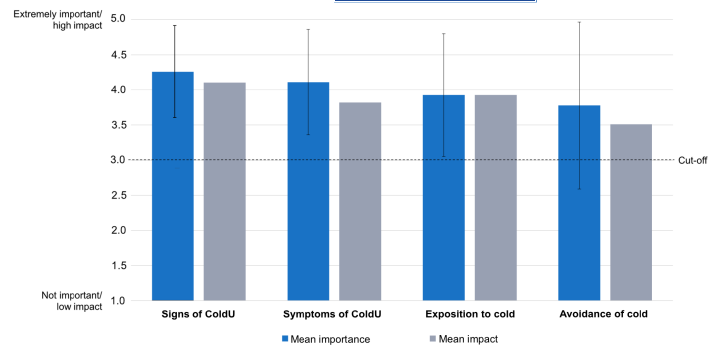
3.1 | Conceptual framework

In the conceptual framework (Figure 2), ColdU disease activity was defined as the frequency and severity of signs and symptoms of ColdU over a certain period of time (the documentation period). The exposure to typical triggers of ColdU as well as their avoidance should be considered as influencing factor for the assessment of disease activity. The main purpose of the ColdUAS was defined to a) determine disease activity during the documentation period and b) determine changes in disease activity over time, for example, before and after treatment adjustment. The target group of the ColdUAS was defined as all patients with typical or atypical ColdU aged 12 years and older, including secondary and familial ColdU. The type of assessment done with the ColdUAS was defined as a diary-type tool to record the current activity on a daily basis (recall period = 24 h) for 1 week or longer.

3.2 | ColdUAS item generation

As a result of the literature research, patient interviews and expert input, a total of 25 potential items were put forward for inclusion in the ColdUAS (Table 1). The literature research identified the most frequent symptoms and triggers of ColdU as well as existing activity scores.^{21–23}

FIGURE 3 Impact score of each item was calculated from the product of frequency (percentage of patients who experienced the item content within the last year) and mean importance (1 = not important to 5 = extremely important) of all patients ($n = 27$). The impact analysis showed a high impact for all 4 tested items with a cut-off value of 3 (median: 3.87; range: 3.51–4.11 \pm SD: 0.25)



During semi-structured interviews all patients were asked about their ColdU symptoms, triggers, co-factors to cold exposition, secondary diagnoses, and medication use. All patients reported to have experienced wheals and/or angioedema and/or acral swelling due to cold. Virtually all patients (97.9%) had experienced itching, whereas 8.6% reported local pain caused by cold exposure. Around half of the patients had a history of systemic symptoms including vertigo, hypotension, and dyspnea.

The expert group reviewed all generated items and similar tools to assess disease activity (Table S1).²¹⁻²³ The Cholinergic Urticaria Activity Score (CholUAS)²³ was used as a model for the ColdUAS, as it also includes trigger factors when assessing disease activity. After expert discussion and evaluation of generated items and pre-existing disease activity tools, all items were condensed to 4 questions that cover all aspects of patient interviews and literature review, resulting in a preliminary version of the ColdUAS (Figure S2).

3.3 | ColdUAS item selection

3.3.1 | Patient interviews for item selection

The preliminary version of the ColdUAS was tested during a first cognitive debriefing with 10 patients for content validity (10 females; median age: 40; range: 14–77). Eight patients showed no difficulty in comprehension. Furthermore, all patients were able to paraphrase the individual questions and response options. Two patients had problems to work with the grading of the answers. Subsequently, the wording of the response options and the instruction section were adjusted in the final version.

Furthermore, an evaluation of the preliminary questionnaire was performed by 25 of 27 ColdU patients from the item selection phase: for 22 patients, all questions were well understandable. Five patients reported to have problems in understanding the answer option “what?,” which was a free text field in the preliminary version and was removed after an expert review for the final version. In addition, patients gave their feedback on the original documentation period of 1 week stating that the time period is too short. Furthermore, the following missing items were mentioned:

1. A field for therapy. This was added, as a result, to the instruction section of the ColdUAS. It is not part of the ColdUAS but can capture additional information.
2. Space to include temperature or weather information. This point was discussed within the expert group, and it was agreed that the item on exposure covers this point.
3. Two patients proposed to add a free text field for special activities within the documentation period. After discussion, the expert group decided not to include this to keep the questionnaire as simple and easy to analyze as possible.

All comments were discussed by the expert group at the end of the item selection phase (Table S2).

3.3.2 | Impact analysis

The impact analysis was performed to identify items that were not important and to confirm the relevance of the developed items. A total of 27 patients (19 females; 8 males, median age: 38 range: 14–67, 3 patients <18 y/o) took part in the impact analysis. The median duration of disease was 60 months, and 20 and 7 patients had typical and atypical ColdU, respectively (Table 2).

For item selection, the impact of each item was computed. The impact analysis showed a high impact for all 4 tested items (median: 3.87; range: 3.51–4.11 \pm SD: 0.25) (Figure 3). Since the impact score of all items was found to be high, that is, higher than 3, the expert group decided to include all tested items in the final version.

Through the assessment of each item and its comprehensibility, we concluded that every item is important to be part of the questionnaire, and no further item reduction was performed.

3.3.3 | Expert review and final formatting of the ColdUAS

The final item responses were designed as a 4-point Likert scale with answer options “No,” “mild,” “moderate,” “severe” (for question 1–3) and answer options “No,” “partially,” and “completely”

for question 4. The format and design of the ranking scale were selected to best represent symptom severity and triggers without losing important information when considering disease activity. Another reason for the decision to use a 4-point Likert scale was that other established dermatological and urticaria activity scores already showed a good assessment of disease activity and valid outcome measures.²¹⁻²³

Based on patient interviews, cognitive debriefing, and expert input, the documentation period was defined to be 2 weeks. Nevertheless, during the patient interviews it was found that the desired documentation period was between 1 and 4 weeks. After expert review, it was agreed that a survey period of 2 weeks should be sufficient. However, it was decided to evaluate the most sufficient documentation period during the validation phase and define the final documentation period after validation is completed.

During a second cognitive debriefing with the final ColdUAS, there were no difficulties in understanding the instruction section, items, and answer options as well as no requests for changes by the patients (n = 7; 7 females; median age: 49 years; range: 16-78). This development process resulted in the generation of the 4-item ColdUAS (Figure 4A). Furthermore, we generated a US American-English version of the ColdUAS (Figure 4B), which was developed based on a structured translation process.

4 | DISCUSSION AND CONCLUSION

As of now, there are no validated PROMs for the assessment of ColdU. Following PROM-development guidelines,¹⁶ we developed the first disease-specific diary-type instrument, the ColdUAS, to measure disease activity in patients with ColdU. The ColdUAS can be used by patients who are at least 12 years old and have any form of ColdU, that is, typical or atypical ColdU, including primary, secondary, and familial subtypes.

The UAS for CSU has been proven to be a valid outcome measure.²¹ It is recommended for the use in CSU by the current international EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI urticaria guideline.²⁴ However, its use is not appropriate for ColdU and other CIndUs, where specific and definite trigger factors as well as their avoidance play a major role and affect the occurrence of signs and symptoms. Other comparable disease activity scores that were evaluated during the development of the ColdUAS include the Angioedema Activity Score (AAS)²⁵ and the Cholinergic Urticaria Activity Score (CholUAS).²³ The AAS is a validated tool to assess disease activity in patients with recurrent angioedema.²⁶ Although patients with ColdU can develop angioedema, the use of the AAS for ColdU is not appropriate. Like the UAS, it does not assess trigger exposure or avoidance, which affect patients' symptom burden and disease activity. The CholUAS,²³ which is

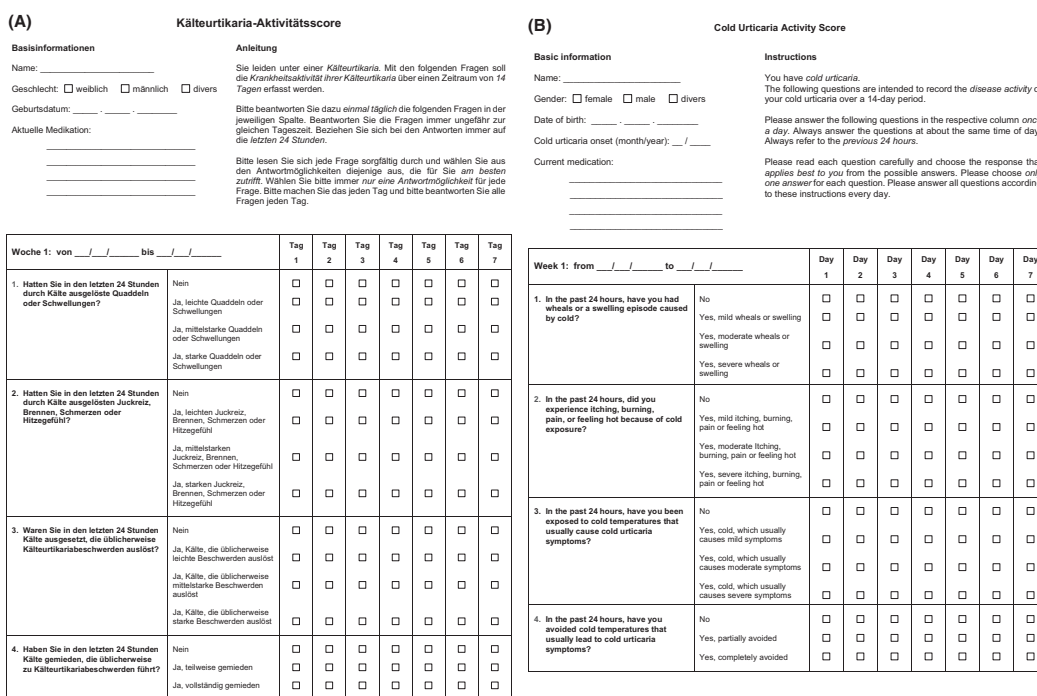


FIGURE 4 (A) ColdUAS—German version (B) ColdUAS—US American-English version

currently undergoing validation, served as a model in the development of a ColdUAS, as it considers trigger factors and measures symptom intensity using a Likert scale (Table S1). What the ColdUAS shares with the UAS, the AAS and the CholUAS, are its low item number and the diary-type design.^{21,23,25} The ColdUAS consists of only 4 items, which makes it a simple tool for the daily use by patients.

Our impact analysis showed that all 4 ColdUAS items are important for assessing disease activity during one or more weeks. The UAS has a minimum assessment period of 4 days²⁷ and is typically used on 7 consecutive days to determine disease activity during 1 week (UAS7).²¹ The AAS is most often used for 28 consecutive days (AAS28) but can also be used for 1 week (AAS7) or 12 weeks (AAS84).²⁶ Since ColdU patients may not be exposed to critical temperatures every day, a minimum assessment period of 1 week appears advisable. The ongoing ColdUAS validation study, which includes a 2-week documentation period, will determine the recommended observation period of the ColdUAS.

A main strength of this work is that both within the item generation and selection phase, male and female patients, different age groups (including minors), patients with different disease severity levels, and patients with typical and atypical ColdU were included. In addition, a large proportion of the study population was female, as expected with a higher prevalence of female ColdU patients.^{8,28} This ensures that the ColdUAS is suitable for a broad patient population. Furthermore, cognitive debriefing and individual patient interviews, both demonstrating high comprehensibility, as well as an impact analysis were applied during the ColdUAS development to increase its quality and performance, and experienced urticaria experts, who have worked on many PROM projects, have contributed to the development of the ColdUAS.

Limitations of this work include the monocentric design in a mostly Caucasian patient population and the limited number of patients. Thereby, a part of the patients from the item generation phase were included for item selection as well. Additionally, some stages of the item selection process were only performed by female patients. Therefore, it cannot be fully excluded that a larger and more diverse study population from different geographic areas could have resulted in a different outcome. As ColdU is a very rare disease with limitations in recruitment, only a few adolescents ($n = 3$) could be included. Moreover, the development of the ColdUAS was conducted in part during the COVID-19 pandemic. As many individuals changed their lifestyle habits during the pandemic, such as leisure outdoor activities, changes in disease perception may have occurred in ColdU patients.

The ColdUAS will help to determine and monitor disease activity in routine clinical practice and ColdU management including treatment, which is currently difficult.^{14,29-31} It will also help with ongoing and future clinical trials in ColdU. Importantly, the ColdUAS will allow for the comparison of disease activity and response to treatment in ColdU subpopulations, that is, patients with typical vs. atypical ColdUAS, patients with and without cryoproteins^{32,33} or an underlying clonal mast cell disorder,³⁴ patients with primary vs. secondary ColdUAS,³ and patients with acquired vs. familial ColdUAS.³⁵⁻³⁷

In conclusion, the final 4-item ColdUAS is the first PROM for the assessment of disease activity in ColdU patients. With its simple and user-friendly application for adolescents aged 12 years and older, the ColdUAS provides a quick overview of disease activity and status. Furthermore, it can be applied for documentation in daily patient care and clinical trials. Our ongoing validation study of the ColdUAS aims to establish validity, reliability, sensitivity to change, minimal clinical important difference, and the recommended observation period, and a scoring system is being developed.

CONFLICT OF INTEREST

AG, DA, MB, and TA have no conflicts of interest. SA has received research funds/was advisor for/was speaker for Allakos, ALK, AstraZeneca, CSL Behring, LeoPharma, Moxie, Novartis, Sanofi, Takeda, Thermofisher. MM is or recently was a speaker and/or advisor for and/or has received research funding from Allakos, Amgen, Aralez, ArgenX, AstraZeneca, Celldex, Centogene, CSL Behring, FAES, Genentech, GInnovation, Gilead, Innate Pharma, Kyowa Kirin, Leo Pharma, Lilly, Menarini, Moxie, Novartis, Roche, Sanofi/Regeneron, Third HarmonicBio, UCB, and Uriach. KW is or recently was a speaker and/or advisor for and/or has received research funding from Moxie and Novartis. DTM has received research funds/was advisor for Celldex, Moxie, Novartis and Sanofi. JB has received research funds/was consultant and speaker for Novartis, Genentech, AstraZeneca, Sanofi-Regeneron, Roche and Incyte, and has received research funds/was consultant for Celldex, Amgen, and Allakos.

AUTHOR CONTRIBUTION

DA and AG performed statistical analysis and drafted the manuscript. DA, TA, and MB were involved in patient recruitment and proofreading of the manuscript. SA, KW, and MM were involved in study planning and proofreading of the manuscript. JB was involved in the translation process and generation of an U.S. American version. DTM has planned the study, coordinated the study, collected patient data, was involved in statistical analysis, and drafted the manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

This manuscript benefited from the support of the GA2LEN UCARE network (www.ga2len-ucare.com). We thank Laura Schwenner for providing networking and Beate Schinzel for technical assistance.

ORCID

Sabine Altrichter  <https://orcid.org/0000-0001-9955-385X>
 Jonathan A. Bernstein  <https://orcid.org/0000-0002-3476-1196>
 Marcus Maurer  <https://orcid.org/0000-0002-4121-481X>
 Karsten Weller  <https://orcid.org/0000-0003-4437-0313>

REFERENCES

1. Wanderer AA. Cold urticaria syndromes: historical background, diagnostic classification, clinical and laboratory characteristics, pathogenesis, and management. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;85(6):965-981.

2. Magerl M, Altrichter S, Borzova E, et al. The definition, diagnostic testing, and management of chronic inducible urticarias - the EAACI/GA(2) LEN/EDF/UNEV consensus recommendations 2016 update and revision. *Allergy*. 2016;71(6):780-802.
3. Maltseva N, Borzova E, Fomina D, et al. Cold urticaria - what we know and what we do not know. *Allergy*. 2021;76(4):1077-1094.
4. Siebenhaar F, Weller K, Mlynek A, et al. Acquired cold urticaria: clinical picture and update on diagnosis and treatment. *Clin Exp Dermatol*. 2007;32(3):241-245.
5. Möller A, Henning M, Zuberbier T, Czarnetzki-Henz BM. Epidemiology and clinical aspects of cold urticaria. *Hautarzt*. 1996;47(7):510-514.
6. Krause K, Degener F, Altrichter S, et al. [Cold-induced urticaria and angioedema. Classification, diagnosis and therapy]. *Hautarzt*. 2010;61(9):743-749.
7. Wanderer AA, Hoffman HM. The spectrum of acquired and familial cold-induced urticaria/urticaria-like syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2004;24(2):259-286, vii.
8. Neittaanmäki H. Cold urticaria. Clinical findings in 220 patients. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13(4):636-644.
9. Wanderer AA, Grandel KE, Wasserman SI, Farr RS. Clinical characteristics of cold-induced systemic reactions in acquired cold urticaria syndromes: recommendations for prevention of this complication and a proposal for a diagnostic classification of cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1986;78(3 Pt 1):417-423.
10. Bizjak M, Košnik M, Dinevski D, et al. Risk factors for systemic reactions in typical cold urticaria: results from the COLDC-CE study. *Allergy*. 2022 Jul;77(7):2185-2199. doi:10.1111/all.15194
11. Jain SV, Mullins RJ. Cold urticaria: a 20-year follow-up study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(12):2066-2071.
12. Claudy A. Cold urticaria. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2001;6(2):141-142.
13. Siebenhaar F, Degener F, Zuberbier T, Martus P, Maurer M. High-dose desloratadine decreases wheal volume and improves cold provocation thresholds compared with standard-dose treatment in patients with acquired cold urticaria: a randomized, placebo-controlled, crossover study. *J All Clin Immunol*. 2009;123(3):672-679.
14. Kulthanan K, Hunnangkul S, Tuchinda P, et al. Treatments of cold urticaria: a systematic review. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143(4):1311-1331.
15. Mlynek A, Magerl M, Siebenhaar F, et al. Results and relevance of critical temperature threshold testing in patients with acquired cold urticaria. *Br J Dermatol*. 2010;162(1):198-200.
16. Health USDo, Human Services FDACfDE, Research, et al. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health Qual Life Outcomes*. 2006;4(1):79.
17. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, et al. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*. 2018;73(7):1393-1414.
18. Maurer M, Eyerich K, Eyerich S, et al. Urticaria: collegium internationale allergologicum (CIA) update 2020. *Int Arch Allergy Immunol*. 2020;181(5):321-333.
19. Magerl M, Abajian M, Krause K, Altrichter S, Siebenhaar F, Church MK. An improved Peltier effect-based instrument for critical temperature threshold measurement in cold- and heat-induced urticaria. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(10):2043-2045.
20. Maurer M, Fluhr JW, Khan DA. How to approach chronic inducible urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(4):1119-1130.
21. Hawro T, Ohanyan T, Schoepke N, et al. The urticaria activity score - validity, reliability, and responsiveness. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(4):1185-1190.e1181.
22. Siebenhaar F, Sander B, Ho LHT, Ellrich A, Maurer M, Weller K. Development and validation of the mastocytosis activity score. *Allergy*. 2018;73(7):1489-1496.
23. Koch K, Weller K, Werner A, Maurer M, Altrichter S. Antihistamine updosing reduces disease activity in patients with difficult-to-treat cholinergic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(5):1483-1485.e1489.
24. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, et al. The international EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. 2021;77(3):734-766.
25. Weller K, Groffik A, Magerl M, et al. Development, validation, and initial results of the angioedema activity score. *Allergy*. 2013;68(9):1185-1192.
26. Kulthanan K, Chularojanamontri L, Rujitharanawong C, Weerasubpong P, Weller K, Maurer M. Angioedema activity score (AAS): a valid and reliable tool to use in Asian patients. *Biomed Res Int*. 2019;2019:9157895.
27. Mlynek A, Zalewska-Janowska A, Martus P, Staubach P, Zuberbier T, Maurer M. How to assess disease activity in patients with chronic urticaria? *Allergy*. 2008;63(6):777-780.
28. Stepaniuk P, Vostretsova K, Kanani A. Review of cold-induced urticaria characteristics, diagnosis and management in a Western Canadian allergy practice. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018;14:85.
29. Gorczyza M, Curto-Barredo L, Krause K, et al. H(1)-antihistamine inhibition of histamine- and codeine-induced wheals does not predict response in chronic cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(6):2043-2044.
30. Dickson MC, Walker A, Grattan C, et al. Effects of a topical treatment with spleen tyrosine kinase inhibitor in healthy subjects and patients with cold urticaria or chronic spontaneous urticaria: results of a phase 1a/b randomised double-blind placebo-controlled study. *Br J Clin Pharmacol*. 2021;87(12):4797-4808.
31. Dressler C, Werner RN, Eisert L, Zuberbier T, Nast A, Maurer M. Chronic inducible urticaria: a systematic review of treatment options. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(5):1726-1734.
32. Bizjak M, Košnik M, Terhorst-Molawi D, Dinevski D, Maurer M. Cold agglutinins and cryoglobulins associate with clinical and laboratory parameters of cold urticaria. *Front Immunol*. 2021;12:665491.
33. Ginter K, Ahsan DM, Bizjak M, et al. Cryoglobulins, cryofibrinogens, and cold agglutinins in cold urticaria: literature review, retrospective patient analysis, and observational study in 49 patients. *Front Immunol*. 2021;12:675451.
34. Bizjak M, Maurer M, Košnik M, et al. Severe cold urticaria can point to an underlying clonal mast cell disorder. *Allergy*. 2021;76(8):2609-2613.
35. Scheffel J, Mahnke NA, Hofman ZLM, et al. Cold-induced urticarial autoinflammatory syndrome related to factor XII activation. *Nat Commun*. 2020;11(1):179.
36. Hofman ZLM, Clark CC, Sanrattana W, et al. A mutation in the kringle domain of human factor XII that causes autoinflammation, disturbs zymogen quiescence, and accelerates activation. *J Biol Chem*. 2020;295(2):363-374.
37. Chuamanochan M, Weller K, Feist E, et al. State of care for patients with systemic autoinflammatory diseases - results of a tertiary care survey. *World Allergy Organ J*. 2019;12(3):100019.
38. Kaplan AP, Garofalo J. Identification of a new physically induced urticaria: cold-induced cholinergic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68(6):438-441.
39. Gandhi C, Healy C, Wanderer AA, Hoffman HM. Familial atypical cold urticaria: description of a new hereditary disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(6):1245-1250.
40. Brodská P, Schmid-Grendelmeier P. Treatment of severe cold contact urticaria with omalizumab: case reports. *Case Rep Dermatol*. 2012;4(3):275-280.
41. Furr JC, Panda M. Cold-induced urticaria with a familial transmission: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep*. 2012;6:70.

AHSAN ET AL.

 WILEY | 2519

42. Aderibigbe OM, Priel DL, Lee CC, et al. Distinct cutaneous manifestations and cold-induced leukocyte activation associated With PLCG2 mutations. *JAMA Dermatol.* 2015;151(6):627-634.
43. Torabi B, Ben-Shoshan M. The association of cholinergic and cold-induced urticaria: diagnosis and management. *BMJ Case Rep.* 2015;2015:bcr2014205258.
44. Abraham T, McGarry DP, Frith J, Casselman J, Tcheurekdjian H, Hostoffer R. Pure cold-induced cholinergic urticaria in a pediatric patient. *Case Reports Immunol.* 2016;2016:7425601.
45. Singleton R, Halverstam CP. Diagnosis and management of cold urticaria. *Cutis.* 2016;97(1):59-62.
46. Juhlin L. Dermatographism and cold-induced urticaria. *J Am Acad Dermatol.* 1991;24(6 Pt 2):1087-1089.
47. Bentley B2nd. Cold-induced urticaria and angioedema: diagnosis and management. *Am J Emerg Med.* 1993;11(1):43-46.
48. Powell RJ, Du Toit GL, Siddique N, et al. BSACI guidelines for the management of chronic urticaria and angio-oedema. *Clin Exp Allergy.* 2007;37(5):631-650.
49. Krause K, Zuberbier T, Maurer M. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cold contact urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2010;10(4):243-249.
50. Hochstadter EF, Ben-Shoshan M. Cold-induced urticaria: challenges in diagnosis and management. *BMJ Case Rep.* 2013;2013:bcr2013010441.
51. Benelli E, Longo G, Barbi E, Berti I. Anaphylaxis in atypical cold urticaria: case report and review of literature. *Ital J Pediatr.* 2018;44(1):135.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found in the online version of the article at the publisher's website.

How to cite this article: Ahsan DM, Altrichter S, Gutsche A, et al. Development of the Cold Urticaria Activity Score. *Allergy.* 2022;77:2509-2519. doi:[10.1111/all.15310](https://doi.org/10.1111/all.15310)

Zu finden unter: PMID: 35403217 oder DOI: [10.1111/all.15310](https://doi.org/10.1111/all.15310)

Auszug aus der Journal Summary List und Druckexemplar Publikation 2

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2019** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"Immunology"** Selected Category Scheme: WoS

Gesamtanzahl: 158 Journale

| Rank | Full Journal Title | Total Cites | Journal Impact Factor | Eigenfactor Score |
|------|---|-------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY | 42,168 | 40.358 | 0.068470 |
| 2 | IMMUNITY | 54,819 | 22.553 | 0.124040 |
| 3 | NATURE IMMUNOLOGY | 44,709 | 20.479 | 0.081870 |
| 4 | Annual Review of Immunology | 17,080 | 19.900 | 0.019310 |
| 5 | Lancet HIV | 3,301 | 14.813 | 0.018090 |
| 6 | IMMUNOLOGICAL REVIEWS | 15,973 | 13.939 | 0.026690 |
| 7 | Science Immunology | 2,516 | 13.440 | 0.015070 |
| 8 | TRENDS IN IMMUNOLOGY | 13,037 | 13.422 | 0.025020 |
| 9 | JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE | 63,562 | 11.743 | 0.067350 |
| 10 | JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY | 52,417 | 10.228 | 0.077410 |
| 11 | Journal for ImmunoTherapy of Cancer | 4,557 | 9.913 | 0.016030 |
| 12 | SEMINARS IN IMMUNOLOGY | 5,345 | 9.186 | 0.010250 |
| 13 | Cancer Immunology Research | 6,969 | 8.728 | 0.026440 |
| 14 | ALLERGY | 18,217 | 8.706 | 0.024340 |
| 15 | Cellular & Molecular Immunology | 4,604 | 8.484 | 0.010020 |

| | | | | |
|----|---|--------|-------|----------|
| 16 | CLINICAL INFECTIOUS DISEASES | 66,656 | 8.313 | 0.123760 |
| 17 | AUTOIMMUNITY REVIEWS | 9,902 | 7.767 | 0.018300 |
| 18 | Journal of Allergy and Clinical Immunology-In Practice | 5,946 | 7.574 | 0.018100 |
| 19 | Seminars in Immunopathology | 3,734 | 7.480 | 0.006690 |
| 20 | CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY | 9,628 | 7.290 | 0.016900 |
| 21 | JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY | 5,262 | 6.780 | 0.007610 |
| 22 | Mucosal Immunology | 7,191 | 6.726 | 0.021240 |
| 23 | JOURNAL OF AUTOIMMUNITY | 7,159 | 6.658 | 0.014180 |
| 24 | BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY | 16,285 | 6.633 | 0.028560 |
| 25 | Clinical & Translational Immunology | 1,082 | 6.464 | 0.003890 |
| 26 | CLINICAL REVIEWS IN ALLERGY & IMMUNOLOGY | 3,317 | 6.437 | 0.005910 |
| 27 | EMERGING INFECTIOUS DISEASES | 30,705 | 6.259 | 0.055920 |
| 28 | Oncolmunology | 10,116 | 5.869 | 0.029410 |
| 29 | Journal of Neuroinflammation | 13,709 | 5.793 | 0.025870 |
| 30 | Emerging Microbes & Infections | 2,956 | 5.776 | 0.009740 |
| 31 | npj Vaccines | 596 | 5.699 | 0.002400 |
| 32 | Journal of the International AIDS Society | 4,956 | 5.553 | 0.018220 |
| 33 | Virulence | 4,334 | 5.542 | 0.009420 |
| 34 | CANCER IMMUNOLOGY IMMUNOTHERAPY | 8,390 | 5.442 | 0.011550 |

| | | | | |
|----|-------------------------------|--------|-------|----------|
| 35 | Advances in Immunology | 2,357 | 5.359 | 0.003740 |
| 36 | BIODRUGS | 1,803 | 5.313 | 0.002980 |
| 37 | EXERCISE IMMUNOLOGY REVIEW | 784 | 5.300 | 0.000770 |
| 38 | Frontiers in Immunology | 45,626 | 5.085 | 0.133080 |



Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients

Katharina Ginter¹, Dalia Melina Ahsan¹, Mojca Bizjak², Karoline Krause¹, Marcus Maurer^{1*}, Sabine Altrichter^{1,3} and Dorothea Terhorst-Molawi¹

OPEN ACCESS

Edited by:

Marcelo Vivolo Aun,
Albert Einstein Israelite Hospital, Brazil

Reviewed by:

Solange Valle,
Federal University of Rio de Janeiro,
Brazil
Rosana Agondi,
University of São Paulo, Brazil

*Correspondence:

Marcus Maurer
marcus.maurer@charite.de

Specialty section:

This article was submitted to
Immunological Tolerance
and Regulation,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 03 March 2021

Accepted: 29 April 2021

Published: 25 May 2021

Citation:

Ginter K, Ahsan DM, Bizjak M,
Krause K, Maurer M, Altrichter S and
Terhorst-Molawi D (2021)
Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and
Cold Agglutinins in Cold Urticaria:
Literature Review, Retrospective
Patient Analysis, and Observational
Study in 49 Patients.
Front. Immunol. 12:675451.
doi: 10.3389/fimmu.2021.675451

¹ Department of Dermatology and Allergy, Dermatological Allergology, Allergie-Centrum-Charité, Charité - Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ² Division of Allergy, University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Golnik, Slovenia, ³ Department of Dermatology and Venerology, Kepler University Hospital, Linz, Austria

Introduction: Cryoproteins, such as cryoglobulins, cryofibrinogens and cold agglutinins, precipitate at low temperatures or agglutinate erythrocytes and dissolve again when warmed. Their pathogenetic and diagnostic importance in cold urticaria (ColdU) is unclear. In this study, we aimed to characterize the prevalence of cryoproteins in patients with ColdU.

Methods: We conducted 3 analyses: i) a systematic review and meta-analysis of published data using an adapted version of the Joanna Briggs Institute's critical appraisal tool for case series, ii) a retrospective analysis of 293 ColdU patients treated at our Urticaria Center of Reference and Excellence (UCARE) from 2014 to 2019, and iii) a prospective observational study, from July 2019 to July 2020, with 49 ColdU patients as defined by the EAACI/GA2LEN/EDF/UNEV consensus recommendations.

Results: Our systematic review identified 14 relevant studies with a total of 1151 ColdU patients. The meta-analyses showed that 3.0% (19/628), 1.1% (4/357) and 0.7% (2/283) of patients had elevated levels of cryoglobulins, cryofibrinogens and cold agglutinins, respectively. Our retrospective analyses showed that cryoproteins were assessed in 4.1% (12/293) of ColdU patients. None of 9 ColdU patients had cryoglobulins, and one of 5 had cold agglutinins. In our prospective study, none of our patients had detectable cryoglobulins (0/48) or cryofibrinogens (0/48), but 4.3% (2/46) of patients had cold agglutinins (without any known underlying autoimmune or hematological disorder).

Conclusion: Our investigation suggests that only very few ColdU patients exhibit cryoproteins and that the pathogenesis of ColdU is driven by other mechanisms, which remain to be identified and characterized in detail.

Keywords: cold urticaria, cryoglobulins, cryofibrinogens, cold agglutinins, cryoproteins

INTRODUCTION

Cold urticaria (ColdU) is a subtype of chronic inducible urticaria, where wheals, angioedema or both are evoked by exposure to low temperatures (1). A reliable medical history and the results of cold stimulation tests (CSTs) such as the ice cube test or the TempTest[®] establish the diagnosis (2).

Two different classification approaches can be found in the published literature. The classification of ColdU based on CSTs differentiates between typical ColdU, with wheals in the CSTs, and atypical ColdU, without wheals or atypical wheals in the CSTs (3). In the other approach, the etiology-based classification, a hereditary and an acquired form are distinguished, the latter being further subdivided into primary and secondary. Secondary acquired ColdU can be caused by hematologic diseases, infections, malignancies, cryoproteins (CPs) or other diseases (4). The pathophysiology of ColdU is not well understood, and autoallergic and autoimmune mechanisms, temperature-sensitive receptors, neurogenic signals, and CPs have been speculated to play a role (5, 6).

The term cryoprotein or cold protein usually includes cryoglobulins, cryofibrinogens, cold agglutinins, and sometimes other proteins. Cryoglobulins (CGs) are immunoglobulins that precipitate *in vitro* at low temperatures and dissolve when warmed (7). CGs can be divided into monoclonal (Type I) and mixed (Type II and III) immunoglobulins (8) and can cause various cold-related diseases with joint, nerve, and kidney involvement, weakness, palpable purpura, Raynaud's phenomenon, skin rashes and ulcers (9). Various infections, especially hepatitis C, immune diseases and hematological disorders have been described as possible triggers for the occurrence of CGs (9, 10). Cryofibrinogens (CFs), which only precipitate in plasma, can occur independently or in association with CGs. Malignancies, infections and autoimmune diseases are known to induce the occurrence of CFs (11, 12). CFs can cause skin manifestations such as Raynaud's phenomenon and purpura as well as arterial and venous thromboses (11). Cryoglobulinemia and cryofibrinogenemia, i.e. the presence of the respective CP, are distinct from cryoglobulinemic or cryofibrinogenic diseases or syndromes, i.e. resulting disease entities (11, 13). Healthy individuals may have CGs (14, 15) or CFs (11).

Cold agglutinins (CAs), also known as cold(auto)antibodies, are mostly type M immunoglobulins that agglutinate erythrocytes at low temperatures and may lead to complement activation (16).

As of now, the role and relevance of CPs in the pathogenesis of ColdU remain ill-defined and many questions need to be answered. There are several published reports on the prevalence of CPs in patients with ColdU, including many case reports and small case series. These have not been systematically analyzed at the present time, and the rates of CP-positive ColdU patients, thus, are not known. Also, it is largely unknown how often ColdU patients are assessed for CPs and what drives the decision to do so.

Abbreviations: CA(s), Cold agglutinin(s); CF(s), Cryofibrinogens; CG(s), Cryoglobulin(s); ColdU, Cold Urticaria; CP(s), Cryoprotein(s); CST(s), Cold stimulation test(s); UCARE, Urticaria Center of Reference and Excellence.

To answer these questions and address these unmet needs, we used a three-tiered approach. First, we performed a systematic review and meta-analysis of published reports on the rates of ColdU patients who tested positive for CGs, CFs, and CAs. Second, we retrospectively assessed how often close to 300 patients with ColdU treated at our Urticaria Center of Reference and Excellence (UCARE) (17) were assessed for these CPs and why. Finally, we prospectively measured CPs in almost 50 consecutive patients with ColdU. The overall aim of our report is to provide more clarity on the prevalence, role and relevance of CPs in ColdU.

MATERIALS AND METHODS

Systematic Review and Meta-Analysis of Published Reports

On June 30, 2020, we conducted a systematic PubMed literature search with the terms ("cold urticaria") AND ("cryoglobulin*" OR "cryofibrinogen*" OR "cold agglutinin*") in accordance with the PRISMA guidelines (18) and included all published studies between 1980 and 2019 in German, English, Spanish and French. Additionally, we manually checked references in key publications on ColdU (3, 19–21), since CPs are often only reported as part of the patient description in the full text.

To be eligible, the studies had to have measured CPs in patients with ColdU diagnosed according to established criteria such as a typical patient history or positive CSTs. Accordingly, the occurrence of CPs was not allowed to be a study exclusion criterion. We excluded studies that exclusively dealt with secondary or hereditary ColdU forms and case series with fewer than 5 patients in order to avoid bias through selective reporting and publishing.

The study selection was carried out independently by two researchers based on predefined criteria. After excluding all non-relevant studies based on title and abstract screening, we procured the full texts and contacted the authors for additional information, as necessary and possible. Patient characteristics and results of CP testing were extracted independently by both researchers using a survey table. Information on inclusion criteria for the respective studies, reasons for incomplete laboratory results and reported secondary diagnoses were also collected to identify selective reporting. Where applicable, the accordance of the term "cryoglobulinemia" in the respective study with the definition used in this review was ensured. The study quality and the bias risk were then independently assessed by two researchers using a specifically adapted version of the Joanna Briggs Institute's critical appraisal tool for case series (22) (see **Table 1**). Finally, the average percentage of CP-positive patients, i.e. patients who tested positive for CGs, CFs, or CAs, was calculated, weighted according to the respective study size.

Retrospective Analyses of ColdU Patients

We retrospectively searched the database of all chronic urticaria patients diagnosed with ColdU who presented at the UCARE at Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany, between 2014 and 2019 for information on CPs. Collected data included patient

TABLE 1 | Quality assessment of the studies identified through the systematic literature review.

| | 1 Clear Inclusion criteria | 2 Clear measurement of diagnosis | 3 Clear demographics | 4 If applicable: Clear reasons for not testing | 5 Type of cold protein described | 6 Report of secondary causes | Points (max 6) |
|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------|--|----------------------------------|------------------------------|----------------|
| Neittaanmäki 1985 (23) | Yes | Yes | 2/3 | No | Yes | Yes | 4.6 |
| Wanderer et al., 1986 (4) | Yes | Yes | 2/3 | All tested | Yes | Yes | 5.6 |
| Doeglas et al., 1986 (24) | Yes | Yes | 2/3 | All tested | Yes | No | 4.6 |
| Henquet et al., 1992 (25) | Yes | Yes | 2/3 | No | Yes | No | 3.6 |
| Husz et al., 1994 (26) | Yes | Yes | 2/3 | All tested | Yes | N/A | 5.6 |
| Koeppel et al., 1996 (27) | Yes | Yes | 2/3 | No | Yes | cumulative | 4.6 |
| Möller et al., 1996 (28) | Yes | Yes | 2/3 | No | No | No | 2.6 |
| Santaolalla Montoya et al., 2002 (29) | No | Yes | 2/3 | Yes ("bad conservation") | Yes | N/A | 4.6 |
| Tosoni et al., 2003 (30) | No | Yes | 2/3 | All tested | Yes | Yes | 4.6 |
| Alangari et al., 2004 (31) | Yes | Yes | 3/3 | No | Yes | cumulative | 5 |
| Katsarou-Katsari et al., 2008 (32) | Yes | Yes | 3/3 | No | Yes | Yes | 6 |
| Stepaniuk et al., 2018 (33) | Yes | Yes | 1/3 | Not for all patients | Yes | N/A | 4.3 |
| Yee et al., 2019 (34) | Yes | Yes | 2/3 | No | Yes | No | 3.6 |
| Kulthanan et al., 2019 (35) | Yes | Yes | 3/3 | Yes ("retrospective") | Yes | N/A | 6 |

1. Was there clear criteria for inclusion?
2. Was the condition (ColdU) measured in a standard, reliable way for all participants included?
3. Was there clear reporting of the demographics of the participants in the study? (age, age of disease onset and ColdU duration) (1/3 point per item)
4. Did the study have all patients tested? If not: Did the study provide information about the reasons?
5. Was the outcome parameter (cold protein) clearly defined?
6. Were secondary causes of positive cryoproteins clearly reported? [N/A (not applicable) and cumulative reporting count as 1 point].

age, laboratory workup, type of diagnosis, onset of ColdU and other diagnoses. Patient data were analyzed and reported anonymously in accordance with data protection regulations, and stored in a MS Excel Version 2019 based database.

Prospective Assessment of ColdU Patients

Between July 2019 and July 2020, we assessed 49 patients out of 60 consecutive patients with ColdU treated at our UCARE. Of the patients originally seen during the study period (N = 60), 4 patients were excluded because the diagnosis of ColdU was not confirmed or was questionable; one patient was excluded because he no longer had active disease. In 6 patients, a sufficient amount of blood could not be obtained due to organizational reasons, patient-related reasons or laboratory difficulties. There was no control group. Our study was approved by the local ethics committee (reference EA1/069/19), and all patients provided informed consent. Inclusion criteria were 1) diagnosed ColdU as defined by the 2016 EAACI/GA²LEN/EDF/UNEV consensus recommendations as the "recurrence of itchy wheals and/or angioedema [...] reproducible in response to [...] cold exposure" (1), 2) disease duration of 6 weeks or longer, 3) no intake of H1 antihistamines within 3 days and/or glucocorticosteroids within 7 days prior to CSTs and blood sampling. ColdU was diagnosed in all of our patients based on their typical history and CSTs. For CSTs, the TempTest 4.0[®] and the ice cube test with 5 minutes of cold application and reading after 10 minutes were used (36). ColdU was classified as "typical" in patients who developed a wheal at the site of the CST within 10 minutes after cold exposure and as "atypical" in patients who did not (3).

We obtained and analyzed patient demographics and the course and severity of the disease including systemic reactions to cold exposure. We also assessed patients for family history for

ColdU, cold-associated complaints like wheals, pruritus or angioedema and comorbidities such as atopic diseases, infections, malignancies, connective tissue disorders, thyroid diseases. Data were collected and pseudonymously entered in an MS Excel Version 2019 based database.

Laboratory Workup

CP analyses were conducted at the central laboratory of the Charité (Labor Berlin, CGs and CFs) and the Institute of Transfusion Medicine (CAs). All peripheral-venous blood samples were collected in a standardized way with prewarmed tubes and transported directly to the laboratory, ensuring a constant transport temperature of 37°C. Since temperature deviations are a confounding factor for the analysis, a rapid and standardized transport procedure for all samples was implemented.

CAs were determined in 6ml EDTA and 10ml native venous blood, and plasma and sediment were separated at 37°C. Subsequently, samples were analyzed for CAs of blood group system I/i using foreign adult and umbilical vein erythrocytes. Reaction strength at room temperature (20°C) was evaluated by one to two observers depending on agglutination strength in categories ranging from negative (no agglutination), within physiological range (mild to moderate agglutination), borderline (more severe agglutination) to pathological/positive (massive and lumpy agglutination). At the same time, patient erythrocytes were examined with the direct Coombs test, in which in most cases only complement adhesion is expected, since any CAs detach from the erythrocytes again upon recirculation.

CFs were determined using immunoprecipitation in 2 ml EDTA, and CGs were analyzed from 2 ml serum. After centrifugation, the clear plasma or serum was examined for the formation of precipitates for 72 hours at 4°C. If precipitates or turbidity were

evident, the supernatant was warmed to 37°C and, if dissolved, stored a second time at 4°C. Only in case of repeated dissolution and formation of precipitates, the sample was considered positive for CGs or CFs. Cryoprecipitates in the serum were considered as positive CGs and cryoprecipitates in the EDTA as the sum of positive CGs and positive CFs, so that both tests were always performed simultaneously for differentiation. No further differentiation or quantification of the samples was performed.

Statistical Methods

The quantitative variables reported in this study were summarized using median, range (Min, Max) and interquartile range (IQR) using R Version 3.6.3 (37).

RESULTS

Literature Review: The Studies to Date Show a Wide Scatter of Results, but on Average the Frequency of Positive CPs in ColdU Patients was Low

Our systemic review identified 71 publications of potential relevance (Figure 1), of which 68 were excluded after reviewing the title, abstract or full-text. In addition, we found 11 relevant publications by checking the references of key publications, resulting in a total of 14 studies from the years 1985 to 2019 that were evaluated in this review (Table 2). Most reports (11 of 14) had 4 or more points out of possible 6 on the quality score and were therefore considered to be of medium or high quality (Table 1).

CPs had been determined in all 14 studies in patient cohorts ranging from 9 to 208 ColdU patients. In 0 to 28.6% (average summarized for all studies 3.0%) of the ColdU patients, positive CGs had been detected. This was reported to be associated with secondary disease in two of these patients, one of whom had lymphosarcoma (23) and one of whom had chronic lymphocytic leukemia (4). CFs had been determined in 4 studies in patient

cohorts ranging from 5 to 208 ColdU patients. In 0 to 20% (summarized for all studies 0.7%) of the ColdU patients, positive CFs had been detected. CAs had been analyzed in 9 studies ranging from 7 to 208 patients. 0 to 21.4% (summarized for all studies: 1.1%) positive CAs were reported.

Retrospective Study: In Routine Clinical Practice, Very Few ColdU Patients Were Tested for CPs, and the Rate of Positive Tests Was Low

Between 2014 and 2019, 293 patients with various forms of ColdU were seen at our UCARE. In 12 of these patients, CPs were determined. CGs were determined in 9 patients, CA were determined in 5 patients, both CG and CA were analyzed in 2 patients. CFs were not determined in any of the patients. The main reasons for CP determination were the high disease severity (in 9 of 12 patients) and suspicion of autoimmunity or hematological disease (in 3 of 12 patients). We found no anomalies in the 9 patients tested for CGs, but one of the 5 ColdU patients tested for CAs showed a positive result. However, this patient is known to have Raynaud's syndrome, which may be associated with the presence of CAs.

Prospective Study: Rates of CP- Positive ColdU Patients Were Very Low

Of the 49 analyzed ColdU patients, 73.5% (N = 36) were female and 26.5% (N = 13) were male, the median age was 40 years (IQR: 40 – 53 years). 69.5% (N = 34) were diagnosed with typical ColdU. Patient characteristics are described in Table 3 and anonymized data of these patients is described in the supplementary material.

None of 48 patients tested positive for CGs or CFs, and 2 of 46 patients (4.3%) tested positive for CAs. The two patients with positive CAs were female and aged 30 and 16 years, respectively. Both reported having experienced pruritus, wheals and angioedema within the 12 months prior to study inclusion. One woman had been diagnosed with classic acquired (ice cube test negative,

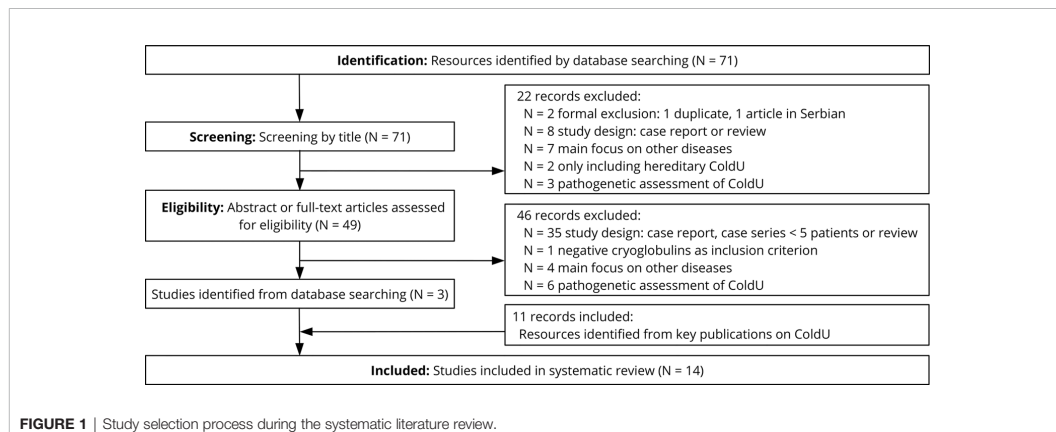


TABLE 2 | Overview of the existing literature on ColdU and the rate of positive cryoproteins.

| Author, Year, Country ¹ , Reference | ColdU forms | N in study (M/F) | N tested: CG / CA / CF | Age ² | Age of disease onset ² | ColdU duration ² | CG: % | CA: % | CF: % |
|--|---|-----------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Neittaanmäki, 1985, FIN (25) | All forms | 220(81/139) | 208 / 208 / 208 | N/A | M 25.1y (R 1-74y) | M 6.3y (R 3w-37y) | 2: 1.0% | 0: 0% | 0: 0% |
| Wanderer, 1986, USA (4) | Primary, secondary, atypical | 50(23/27) | 50 / - / - | N/A | M 17.8y (R 3-63y) | M 4.8y (R 3m-22y) | 2: 4.0% | N/T | N/T |
| Doeglas, 1986, NLD, (28) | No combined cold contact- and cholinergic-heat urticaria | 39(14/25) | 39 / 39 / - | Mdn 36y (R 10-71y) | N/A | Mdn 5y (R 4m-35y) | 4: 10.3% | 0: 0% | N/T |
| Henquet, 1992, NLD (52) | All + cold induced cholinergic urticaria | 30(10/20) | 18 / 14 / 5 | N/A | M 26.2y (R 9-58y) | Mdn 2y (R 0-20y) | 0: 0% | 3 "slightly": 21.4% | 1 "slightly": 20% |
| Husz, 1994, HUN (53) | Cold contact urticaria | 42(14/28) | 42 / 42 / - | 12-63y | N/A | 4m - 5y | 0: 0% | 0: 0% | N/T |
| Koepffel, 1996, FRA (34) | Superficial and deep cold urticaria | 104(41/63) | 72 / - / 56 | N/A | M 33.5y (R 1-74y) | M 57m (R 5d-62y) | 4: 5.6% | N/T | 1: 1.8% |
| Möller, 1996, DEU (31) | All forms | 56(25/31) | 34 / - | M 41.0y ± SD 15.6 (R 5-72y) | N/A | M 7.9y ±SD 5.8 | (1: 2.9%)* | | N/T |
| Santaolalla, 2002, ESP (30) | Probably all forms, children's hospital | 12(4/8) | 9 / 7 / - | N/A | M 12.75y | M 3.5y (R 10m-8y) | 0: 0% | 0: 0% | N/T |
| Tosoni, 2003, ITA (29) | ColdU where hydroxyzine and cetirizine therapy was not fitting, only positive CST | 14(4/10) | 14 / - / - | M 30.4y (R 11-50y) | N/A | M 48.9m (R 7-102m) | 4: 28.6% | N/T | N/T |
| Alangari, 2004, USA (54) | Age onset <18 | 30 (13/17) | 19 / 17 / - | Mdn 12.0y (R 2.0-19y) | Mdn 7.0y (R 0.5-14.5y) | Mdn 3.2y (R 0.5-13.5y) | 0: 0% | 1: 5.9% | N/T |
| Katsarou-Katsari, 2008, GRC (36) | No familiar ColdU | 62(30/32) | 50 / - / - | M 41.5y ± SD 15.6 (R 20-75y) | M 32.5 ±SD 16.5 (R 4-65y) | M 5.6y ±SD 3.5 | 2: 4% | N/T | N/T |
| Stepaniuk, 2018, CAN (55) | No combined urticaria | 50(15/35) | 16 / 15 / - | Mdn 28.5y (R 2-62y) | N/A | N/A | 0: 0% | 0: 0% | N/T |
| Yee, 2018, USA (35) | Acquired ColdU, age <19J | 415(210/205) | 71 / - / - | N/A | Mdn 8.0y (IQR: 4.6-12y) | N/A | 1: 1.4% | N/T | N/T |
| Kulthanan, 2019, THA (56) | All forms, age >18J | 27(6/21) | 20 / 15 / 14 | M 37.5y ±SD 15.0 | M 34.8y ±SD 16.5 | M 8.0y ± 5.6 (6 patients) | 0: 0% | 0: 0% | 0: 0% |
| Summary³ | Different forms | 1151 (490/661) | 628 / 357 / 283 | | | | 19: 3.0% (R 0-28.6%) | 4: 1.1% (R 0-21.4%) | 2: 0.7% (R 0-20%) |

M, Male; F, Female; N, number of patients; CST, Cold Stimulation Test; d, day(s); m, month(s); y, year(s); CG, cryoglobulins; CA, cold agglutinins; CF, cryofibrinogens; CP, cryoprotein(s); N/A, information not available; N/T, Not tested; SD, Standard Deviation; R, Range; IQR, Interquartile Range; M, Mean; Mdn, Median.

¹country code according to ISO 3166.

²if median and mean were given, only median was mentioned in this table.

³including only studies with available data, calculation: sum of positive tests in all studies divided by the total number of patients tested in all studies.

*This study was not included in the summary of cryoproteins.

TempTest positive) and the other with atypical ColdU (IceCubeTest and TempTest negative). The classic acquired ColdU patient also reported cold-induced anaphylaxis and breathing difficulties in response to cold exposure, suffered from hypothyroidism and has experienced a systemic reaction after a hymenoptera sting. The atypical ColdU patient reported no further diseases or systemic reactions. Information on the clinical differences between patients with physiological, elevated, and undetectable CAs is shown in

Table 3. We could not detect major differences between patients with physiological and undetectable CAs.

DISCUSSION

In this study, we showed that the frequency of positive CPs in ColdU patients was low with all three methods used. Moreover,

TABLE 3 | Demographic characteristics of 49 ColdU patients included at Charité Berlin between July 2019 and July 2020.

| | | Overall (N = 49) | Negative CAs (N = 22) | Physiologic CAs (N = 22) | Positive CAs (N = 2) |
|--|----------------------------|-------------------|-----------------------|--------------------------|----------------------|
| Age , Median [Min, Max] | | 40.0 [14.0, 82.0] | 44.5 [17.0, 67.0] | 39.0 [14.0, 82.0] | 23.0 [16.0, 30.0] |
| Gender | Female | 36 (73.5%) | 15 (68.2%) | 16 (72.7%) | 2 (100%) |
| | Male | 13 (26.5%) | 7 (31.8%) | 6 (27.3%) | 0 (0%) |
| Ethnicity | Caucasian | 46 (93.9%) | 22 (100%) | 21 (95.5%) | 2 (100%) |
| | Latino/Hispanic | 1 (2.0%) | 0 (0%) | 1 (4.5%) | 0 (0%) |
| | Middle East | 2 (4.1%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Age of onset of the disease , Median [Min, Max] | | 31.0 [0, 81.0] | 28.0 [0, 64.0] | 34.5 [10.0, 81.0] | 21.0 [12.0, 30.0] |
| Time since onset of symptoms in months , Median [Min,Max] | | 60.0 [3.00, 600] | 95.0 [4.00, 600] | 37.0 [3.00, 480] | 26.0 [4.00, 48.0] |
| Cold-induced reactions ≤ 12 months | | | | | |
| Pruritus | | 49 (100%) | 22 (100%) | 22 (100%) | 2 (100%) |
| Wheals | | 40 (81.6%) | 18 (81.8%) | 18 (81.8%) | 2 (100%) |
| Angioedema | | 28 (57.1%) | 12 (54.5%) | 13 (59.1%) | 2 (100%) |
| Cold stimulation tests | Ice Cube Test positive | 31 (63.3%) | 14 (63.6%) | 15 (68.2%) | 0 (0%) |
| | Temp7est positive | 33 (67.3%) | 15 (68.2%) | 15 (68.2%) | 1 (50.0%) |
| Cryoproteins | | | | | |
| Cryoglobulins | Negative | 48 (98.0%) | – | – | – |
| | Not determined* | 1 (2.0%) | – | – | – |
| Cold agglutinins | Positive | 2 (4.1%) | – | – | – |
| | Negative | 22 (44.9%) | – | – | – |
| | Within physiological range | 22 (44.9%) | – | – | – |
| | Not determined* | 3 (6.1%) | – | – | – |
| Cryofibrinogens | Negative | 48 (98.0%) | – | – | – |
| | Not determined* | 1 (2.0%) | – | – | – |
| Diagnosis | | | | | |
| Typical cold urticaria | | 34 (69.4%) | 16 (72.7%) | 16 (72.7%) | 1 (50.0%) |
| Atypical cold urticaria | | 3 (6.1%) | 2 (9.1%) | 0 (0%) | 1 (50.0%) |
| Probably atypical cold urticaria | | 10 (20.4%) | 3 (13.6%) | 6 (27.3%) | 0 (0%) |
| Cholinergic cold urticaria | | 1 (2.0%) | 1 (4.5%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Cold-induced pruritus | | 1 (2.0%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Cold-induced anaphylaxis | | 23 (46.9%) | 11 (50.0%) | 10 (45.5%) | 1 (50.0%) |
| First-degree relatives with ColdU | | 3 (6.1%) | 1 (4.5%) | 1 (4.5%) | 0 (0%) |
| Past medical History | | | | | |
| Raynaud's syndrome | | 7 (14.3%) | 3 (13.6%) | 2 (9.1%) | 0 (0%) |
| Lip cyanosis after cold exposure | | 7 (14.3%) | 5 (22.7%) | 0 (0%) | 0 (0%) |
| Asthma bronchiale | | 6 (12.2%) | 3 (13.6%) | 3 (13.6%) | 0 (0%) |
| Allergic rhinitis/conjunctivitis, atopic dermatitis | | 20 (40.8%) | 10 (45.5%) | 8 (36.4%) | 0 (0%) |
| Current or previous malignancies | | 1 (2.0%) | 0 (0%) | 1 (4.5%) | 0 (0%) |
| Thyroid disorders | | 12 (24.5%) | 5 (22.7%) | 5 (22.7%) | 1 (50.0%) |
| Connective tissue disorders | | 2 (4.1%) | 1 (4.5%) | 1 (4.5%) | 0 (0%) |
| Systemic reaction after hymenoptera sting | | 7 (14.3%) | 3 (13.6%) | 2 (9.1%) | 1 (50.0%) |

*Sample not suited for analysis.

N, number of patients; CAs, Cold agglutinins.

ColdU patients were rarely assessed for CPs in routine clinical practice and testing positive was rarely linked to clinical features or consequences. Our results discourage routine clinical testing of ColdU patients for CPs and call for further characterization of the role and relevance of CPs in ColdU patients who test positive.

Comparison with Previous Literature

When compared to previous publications, the findings of our literature review are consistent with the review by Alain Claudy, with whose dataset we calculated a proportion of 2% positive CGs in ColdU patients (20). Contradictory results with a proportion of 20% positive CGs in ColdU patients were reported in the review by Houser et al. (38), which was cited in the teaching book by Czarnetzki (39). In order to summarize all publications until 1970, Houser et al. divided the number of publications with ColdU patients and cryoglobulinemia by the total number of publications with ColdU patients. Since the majority of the

included studies are case reports, their result can be explained by the distortion due to a presumably high reporting and publication bias.

The frequency of positive CGs in the studies identified through our systematic literature review ranged between 0% and 28.6%, with strikingly high values in Doeglas (24), 10.3%, and Tonsoni (30), 28.6%. The high percentage in Doeglas et al. can be plausibly explained by the different study design, as it is the only study with a measurement of CPs in patients at 3-6 different points in time. The high proportion in Tonsoni et al. of 4 patients with slightly positive CGs (28.6%) can only be partly attributed to the small number of cases (N = 14) and remains largely unexplained.

Limitations

When evaluating the literature on CPs and ColdU, limitations on several levels must be considered: On the one hand, distortion by

a reporting bias should be considered, meaning that purely negative laboratory tests and cases with negative CGs may not be reported or published. This effect is reflected in the fact that the proportion of positive CGs in the case reports is much higher and decreases with increasing sample size.

The heterogeneity of the studies included in this review is a further potential constraint when summarizing the literature (see **Table 1**). Two studies (29, 30) did not clearly report their inclusion criteria and one (28) did not differentiate between the different CPs (28). Moreover, 7 studies did not explain the reasons for their incomplete laboratory results. Different authors included and excluded different forms of ColdU, while others did not define criteria at all. None of the papers reported on the handling of blood samples or on the laboratory procedure used, which could lead to distortions due to different measurement standards (7) and reference values (40) in different countries, as a survey of 137 European laboratories showed (41). Moreover, most publications did not report on possible underlying diseases in CP-positive patients, so that we could not distinguish between primary and secondary cryoproteinemia.

The validity of the prospective and retrospective study might be limited by the specific patient selection at our UCARE: Patients who had already been seen by a specialist before study enrollment may have been given a different diagnosis or referred directly to other departments, such as hematology, as a result. Additionally, because this study was conducted at a tertiary hospital, patients with particularly severe ColdU may have been primarily enrolled in the study. In addition, due to the study design, we could not reconstruct the exact blood collection and transport logistics in the retrospective analysis.

Nonetheless, this study analyzed a substantial number of well-characterized ColdU patients with quality-controlled sampling and transport, and only 5 other studies known to us had included similar or higher numbers of patients (4, 23, 27, 32, 34).

Explanatory Approaches for the Low Frequency of CPs and the Large Scatter of Results of Previous Publications

Our results raise the question of why, on the one hand, such disparate results were reported in the literature and why, on the other hand, we observed such a low frequency of CPs.

First, according to a theory by Wanderer (42), many laboratory results on CP could be false negatives and the actual true frequency of positive CP in ColdU patients might be much higher. However, this theory is contradicted by the fact that all studies known to us involving a large number of patients reported a very low percentage of positive CP [such as (23, 27, 34)].

More likely, therefore, is the theory that there are two manifestations of ColdU: a CP-negative and a much rarer CP-positive form. This theory is supported by the numerous case reports of patients suffering from CG-positive ColdU and additionally other diseases such as infections (38, 43–50) or hematologic disorders/malignancies (5, 51–55). In these patients, the underlying disease could have caused cryoproteinemia and as

a consequence ColdU. It is possible that the underlying disease may also be diagnosed later, as Polliack and Lugassy found out (56). Furthermore, it is conceivable that the symptoms and the clinical course of CP-positive and CP-negative ColdU differ, although to our knowledge there have been no publications on this subject to date.

Another explanatory approach is that the presence of CP in a patient and the occurrence of ColdU could be completely independent of each other. To verify this theory, a comparison with the frequency of positive CPs in the general population would be helpful, but we could not find any published data on this. Furthermore, it seems possible that a third disease has caused both cryoglobulinemia and ColdU in CP-positive patients. In this case, CPs might have a diagnostic, but only an indirect pathogenetical relation to ColdU.

Implications

Overall, we have found that CPs are rare in ColdU patients, suggesting that physicians may limit the measurement of CPs even more to patients with a clinical suspicion of secondary ColdU. In addition to cost savings, this automatically leads to fewer false positive findings and fewer unnecessary blood samples taken from patients. It remains to be clarified to what extent positive CPs have a diagnostic and therapeutic benefit for ColdU patients or to what extent they influence the course of the disease or the patients' symptoms. Furthermore, we recommend the development of an international standardized protocol and defined threshold values for CP detection to reduce false negative and false positive results. The pathomechanism of ColdU with and without CPs continues to remain unclear and requires further research.

Conclusion

In summary, both through our literature review and through the analysis of our patient data, we could show that only few ColdU patients exhibit CPs and that the pathogenesis of ColdU might mainly be driven by other mechanisms, which remain to be identified and characterized in detail.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data was generated at Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany. All data shown in the study is in the **Supplementary Material**, further data supporting the findings of this study is available from the corresponding author on request.

ETHICS STATEMENT

Ethical approval and consent details: Ethical approval was obtained from the ethics committee of the Charité – Universitätsmedizin Berlin, number EA1/069/19. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

KG performed the statistical analysis and drafted the manuscript. DA, KK, and SA were involved in patient recruitment and proof-reading of the manuscript. MM and MB were involved in study planning and proof-reading of the manuscript. DT-M has planned the study, coordinated the study, collected patient data, was involved in statistical analysis and drafted the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

Open access publication fund of Charité Universitätsmedizin Berlin.

REFERENCES

- Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Abdul Latif AH, Baker D, Ballmer-Weber B, et al. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO Guideline for the Definition, Classification, Diagnosis and Management of Urticaria. *Allergy* (2018) 73:1393–414. doi: 10.1111/all.13397
- Siebenhaar F, Weller K, Mlynek A, Magerl M, Altrichter S, dos SRV, et al. Acquired Cold Urticaria: Clinical Picture and Update on Diagnosis and Treatment. *Clin Exp Dermatol* (2007) 32:241–5. doi: 10.1111/j.1365-2230.2007.02376.x
- Maltseva N, Borzova E, Fomina D, Bizjak M, Terhorst-Molawi D, Košnik M, et al. Cold Urticaria - What We Know and What We do Not Know. *Allergy* (2020). doi: 10.1111/all.14674
- Wanderer AA, Grandel KE, Wasserman SI, Farr RS. Clinical Characteristics of Cold-Induced Systemic Reactions in Acquired Cold Urticaria Syndromes: Recommendations for Prevention of This Complication and a Proposal for a Diagnostic Classification of Cold Urticaria. *J Allergy Clin Immunol* (1986) 78:417–23. doi: 10.1016/0091-6749(86)90027-8
- Hauptmann G, Lang JM, North ML, Oberling F, Mayer G, Lachmann PJ. Lymphosarcoma, Cold Urticaria, IgG1 Monoclonal Cryoglobulin and Complement Abnormalities. *Scand J Haematol* (1975) 15:22–6. doi: 10.1111/j.1600-0609.1975.tb01051.x
- Costanzi JJ, Coltman CA. Kappa Chain Cold Precipitable Immunoglobulin G (Igg) Associated With Cold Urticaria. I. Clinical Observations. *Clin Exp Immunol* (1967) 2:167–78.
- Kolopp-Sarda M-N, Miossec P. Cryoglobulins: An Update on Detection, Mechanisms and Clinical Contribution. *Autoimmun Rev* (2018) 17:457–64. doi: 10.1016/j.autrev.2017.11.035
- Brouet J-C, Clauvel J-P, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and Clinical Significance of Cryoglobulins: A Report of 86 Cases. *Am J Med* (1974) 57:775–88. doi: 10.1016/0002-9343(74)90852-3
- Trejo O, Ramos-Casals M, Garcia-Carrasco M, Yagüe J, Jiménez S, De La Red G, et al. Cryoglobulinemia: Study of Etiologic Factors and Clinical and Immunologic Features in 443 Patients From a Single Center. *Med (Baltimore)* (2001) 80:252–62. doi: 10.1097/00005792-200107000-00004
- Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins. *J Clin Pathol* (2002) 55:4–13. doi: 10.1136/jcp.55.1.4
- Michaud M, Pourrat J. Cryofibrinogenemia. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis* (2013) 19:142–8. doi: 10.1097/RHU.0b013e318289e06e
- Moiseev S, Luqmani R, Novikov P, Shevtsova T. Cryofibrinogenemia-a Neglected Disease. *Rheumatol Oxf Engl* (2017) 56:1445–51. doi: 10.1093/rheumatology/kew379
- Roccatello D, Saadoun D, Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Fervenza FC, Cacoub P, et al. Cryoglobulinaemia. *Nat Rev Dis Primer* (2018) 4:11. doi: 10.1038/s41572-018-0009-4
- Maire MA, Mittey M, Lambert PH. The Presence of Cryoprecipitable Immunoglobulins in Normal Human Sera may Reflect Specific Molecular Interactions. *Autoimmunity* (1989) 2:155–64. doi: 10.3109/08916938909019952
- Romaszko JP, Tridon A, Jouanel P, Subtil E, Dibet P, Betail G. [Detection and Analysis of Cryoglobulins: Comparative Study of a Population of Patients and One of Healthy Controls]. *Pathol Biol (Paris)* (1993) 41:525–9.
- Felber N. Cold Agglutinin Disease. *Postgrad Med* (1976) 60:89–94. doi: 10.1080/00325481.1976.11714476
- Maurer M, Metz M, Bindslev-Jensen C, Bousquet J, Canonica GW, Church MK, et al. Definition, Aims, and Implementation of GA(2) Len Urticaria Centers of Reference and Excellence. *Allergy* (2016) 71:1210–8. doi: 10.1111/all.12901
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DGPRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *J Clin Epidemiol* (2009) 62:1006–12. doi: 10.1016/j.jclinepi.2009.06.005
- Kulthanan K, Hunnangkul S, Tuchinda P, Chularojanamontri L, Weerasubpong P, Subchookul C, et al. Treatments of Cold Urticaria: A systematic Review. *J Allergy Clin Immunol* (2019) 143:1311–31. doi: 10.1016/j.jaci.2019.02.005
- Claudy A. Cold Urticaria. *J Investig Dermatol Symp Proc* (2001) 6:141–2. doi: 10.1046/j.0022-202x.2001.00028.x
- Dressler C, Werner RN, Eisert L, Zuberbier T, Nast A, Maurer M. Chronic Inducible Urticaria: A systematic Review of Treatment Options. *J Allergy Clin Immunol* (2018) 141:1726–34. doi: 10.1016/j.jaci.2018.01.031
- Moola S, Munn Z, Tufanaru C, Aromataris E, Sears K, Sfetcu R, et al. “Chapter 7: Systematic Reviews of Etiology and Risk.” In: *Joanna Briggs Institute Reviewer’s Manual*. The Joanna Briggs Institute. Available at: <https://reviewersmanual.joannabriggs.org/>.
- Neittaanmäki H. Cold Urticaria. Clinical Findings in 220 Patients. *J Am Acad Dermatol* (1985) 13:636–44. doi: 10.1016/s0190-9622(85)70208-3
- Doeglas HM, Rijntjes WJ, Schröder FP, Schirm J. Cold Urticaria and Virus Infections: A Clinical and Serological Study in 39 Patients. *Br J Dermatol* (1986) 114:311–8. doi: 10.1111/j.1365-2133.1986.tb02822.x
- Henquet CJM, Martens BPM, Van Vloten WA. Cold Urticaria: A Clinico-Therapeutic Study in 30 Patients; With Special Emphasis on Cold Desensitization. *Cold Urticaria Clin-Ther Study 30 Patients Spec Emphas Cold Desensitization* (1992) 2:75–7.
- Husz S, Tóth-Kása I, Kiss M, Dobozy A. Treatment of Cold Urticaria. *Int J Dermatol* (1994) 33:210–3. doi: 10.1111/j.1365-4362.1994.tb04956.x
- Koepffel MC, Bertrand S, Abitan R, Signoret R, Sayag J. [Urticaria Caused by Cold. 104 Cases]. *Ann Dermatol Venerol* (1996) 123:627–32.
- Möller A, Henning M, Zuberbier T, Czarnetzki-Henz BM. [Epidemiology and Clinical Aspects of Cold Urticaria]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb* (1996) 47:510–4. doi: 10.1007/s001050050461
- Santaolalla Montoya M, Martinez Molero MI, Santaolalla San Juana F, Baeza ML, Alonso Lebrero E, Zapatero Remón L. [Cold Urticaria: Review of 12 Cases]. *Allergol Immunopathol (Madr)* (2002) 30:259–62. doi: 10.1016/s0301-0546(02)79134-9
- Tosoni C, Lodi-Rizzini F, Bettoni L, Toniati P, Zane C, Capezzer R, et al. Cinnarizine is a Useful and Well-Tolerated Drug in the Treatment of Acquired Cold Urticaria (Acu). *Eur J Dermatol EJD* (2003) 13:54–6.

ACKNOWLEDGMENTS

We want to thank Prof. Pruß from the Institute for Transfusion Medicine, Charité Universitätsmedizin Berlin, for his excellent medical advice and Sophie Harms and Beate Schinzel for their excellent technical assistance.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.675451/full#supplementary-material>

31. Alangari AA, Twarog FJ, Shih M-C, Schneider LC. Clinical Features and Anaphylaxis in Children With Cold Urticaria. *Pediatrics* (2004) 113:e313-7. doi: 10.1542/peds.113.4.e313
32. Katsarou-Katsari A, Makris M, Lagogianni E, Gregoriou S, Theoharides T, Kalogeromitros D. Clinical Features and Natural History of Acquired Cold Urticaria in a Tertiary Referral Hospital: A 10-Year Prospective Study. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV* (2008) 22:1405-11. doi: 10.1111/j.1468-3083.2008.02840.x
33. Stepaniuk P, Vostretsova K, Kanani A. Review of Cold-Induced Urticaria Characteristics, Diagnosis and Management in a Western Canadian Allergy Practice. *Allergy Asthma Clin Immunol* (2018) 14:85. doi: 10.1186/s13223-018-0310-5
34. Yee CSK, El Khoury K, Albuhairei S, Broyles A, Schneider L, Rachid R. Acquired Cold-Induced Urticaria in Pediatric Patients: A 22-Year Experience in a Tertiary Care Center (1996-2017). *J Allergy Clin Immunol Pract* (2019) 7:1024-31.e3. doi: 10.1016/j.jaip.2018.10.025
35. Kulthanan K, Tuchinda P, Chularojanamontri L, Kiratiwongwan R. Cold Urticaria: Clinical Features and Natural Course in a Tropical Country. *Allergy Asthma Immunol Res* (2019) 11:538-47. doi: 10.4168/air.2019.11.4.538
36. Mlynek A, Magerl M, Siebenaar F, Weller K, Vieira Dos Santos R, Zuberbier T, et al. Results and Relevance of Critical Temperature Threshold Testing in Patients With Acquired Cold Urticaria. *Br J Dermatol* (2010) 162:198-200. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09441.x
37. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. (2018).
38. Houser DD, Arbesman CE, Ito K, Wicher K. Cold Urticaria. Immunologic Studies. *Am J Med* (1970) 49:23-33. doi: 10.1016/s0002-9343(70)80110-3
39. Czarnetzki BM. *Urticaria*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag (1986). doi: 10.1007/978-3-642-70313-3
40. Motyckova G, Murali M. Laboratory Testing for Cryoglobulins. *Am J Hematol* (2011) 86:500-2. doi: 10.1002/ajh.22023
41. Vermeersch P, Gijbels K, Mariën G, Lunn R, Egner W, White P, et al. A Critical Appraisal of Current Practice in the Detection, Analysis, and Reporting of Cryoglobulins. *Clin Chem* (2008) 54:39-43. doi: 10.1373/clinchem.2007.090134
42. Wanderer AA. A Potential New Therapy for Cold Urticaria and Chronic Idiopathic Urticaria. *J Allergy Clin Immunol* (2007) 119:517. doi: 10.1016/j.jaci.2006.10.041
43. Zucchi E, Cavallieri F, Giovannini G, Antonelli F, Mascia MT, Bedin R, et al. Post-Infectious Sensory Neuropathy With anti-GT1a and GQ1b Antibodies Associated With Cold Urticaria. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas* (2018) 56:175-7. doi: 10.1016/j.jocn.2018.06.056
44. Miralles López JC, López Andreu FR, Sánchez-Gascón F, López Rodríguez C, Negro Alvarez JM. Cold Urticaria Associated With Acute Serologic Toxoplasmosis. *Allergol Immunopathol (Madr)* (2005) 33:172-4. doi: 10.1157/13075702
45. Morais-Almeida M, Marinho S, Gaspar A, Arêde C, Loureiro V, Rosado-Pinto J. Cold Urticaria and Infectious Mononucleosis in Children. *Allergol Immunopathol (Madr)* (2004) 32:368-71. doi: 10.1016/s0301-0546(04)79270-8
46. Ito A, Kazama T, Ito K, Ito M. Purpura With Cold Urticaria in a Patient With Hepatitis C Virus Infection-Associated Mixed Cryoglobulinemia Type III: Successful Treatment With Interferon-Beta. *J Dermatol* (2003) 30:321-5. doi: 10.1111/j.1346-8138.2003.tb00394.x
47. Lin RY, Schwartz RA. Cold Urticaria and HIV Infection. *Br J Dermatol* (1993) 129:465-7. doi: 10.1111/j.1365-2133.1993.tb03179.x
48. Barranco Sanz P, López Serrano C. [Cold Urticaria Associated With Serologic Markers of Hepatitis B and Cryoglobulinemia]. *Allergol Immunopathol (Madr)* (1987) 15:167-9.
49. Tyson CJ, Czarny D. Cold-Induced Urticaria in Infectious Mononucleosis. *Med J Aust* (1981) 1:33-5. doi: 10.5694/j.1326-5377.1981.tb135285.x
50. Wands JR, Perrotto JL, Isselbacher KJ. Circulating Immune Complexes and Complement Sequence Activation in Infectious Mononucleosis. *Am J Med* (1976) 60:269-72. doi: 10.1016/0002-9343(76)90436-8
51. Morrison JG, Hull PR, Fourie E. Erythema Elevatum Diutinum, Cryoglobulinaemia, and Fixed Urticaria on Cooling. *Br J Dermatol* (1977) 97:99-104. doi: 10.1111/j.1365-2133.1977.tb15435.x
52. Rawnsley HM, Shelley WB. Cold Urticaria With Cryoglobulinemia in a Patient With Chronic Lymphocytic Leukemia. *Arch Dermatol* (1968) 98:12-7. doi: 10.1001/archderm.98.1.12
53. Thiers H, Moulin G. Urticaria Caused by Cold and Cryoglobulinemia Revealing a Myeloma. *Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr* (1969) 76:578-81.
54. Chodirker WB, Komar RR. Angioimmunoblastic Lymphadenopathy in a Child With Unusual Clinical and Immunologic Features. *J Allergy Clin Immunol* (1985) 76:745-52. doi: 10.1016/0091-6749(85)90681-5
55. Török L, Borka I, Szabó G. Waldenström's Macroglobulinaemia Presenting With Cold Urticaria and Cold Purpura. *Clin Exp Dermatol* (1993) 18:277-9. doi: 10.1111/j.1365-2230.1993.tb02188.x
56. Polliack A, Lugassy G. Autoimmunity and Auto-Immune Syndromes Associated With and Preceding the Development of Lymphoproliferative Disorders. *Leukemia* (1992) 6(Suppl 4):152-4.

Conflict of Interest: KK is or recently was a speaker and/or advisor for and/or has received research funding from Berlin Chemie, CSL Behring, Moxie, Novartis, Roche and Shire/Takeda. SA is or recently was a speaker and/or advisor for and/or has received research funding from AstraZeneca, Allakos, Sanofi, Moxie and Novartis. MM is or recently was a speaker and/or advisor for and/or has received research funding from Allakos, Amgen, Aralez, ArgenX, AstraZeneca, Celldex, Centogene, CSL Behring, FAES, Genentech, GILInnovation, Gilead, Innate Pharma, Kyowa Kirin, Leo Pharma, Lilly, Menarini, Moxie, Novartis, Roche, Sanofi/Regeneron, Third HarmonicBio, UCB, and Uriach. MB is or recently was a speaker and/or advisor for Novartis.

The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Ginter, Ahsan, Bizjak, Krause, Maurer, Altrichter and Terhorst-Molawi. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Zu finden unter: PMID: 34113348, PMCID: PMC8186313 oder DOI: [10.3389/fimmu.2021.675451](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.675451)

Lebenslauf

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

Komplette Publikationsliste**Development of the Cold Urticaria Activity Score.**

Ahsan DM, Altrichter S, Gutsche A, Bernstein JA, Altunergil T, Brockstaedt M, Maurer M, Weller K, Terhorst-Molawi D. *Allergy*. 2022 Aug;77(8):2509-2519. doi:

10.1111/all.15310. Epub 2022 Apr 18. PMID: 35403217 (Impact Factor: 14.710)

Risk factors for systemic reactions in typical cold urticaria: Results from the COLD-CE study.

Bizjak M, Košnik M, Dinevski D, Thomsen SF, Fomina D, Borzova E, Kulthanan K, Meshkova R, Ahsan DM, Al-Ahmad M, Altrichter S, Bauer A, Brockstädt M, Costa C, Demir S, Fachini Criado R, Ensina LF, Gelincik A, Giménez-Arnau AM, Gonçalo M, Gotua M, Holm JG, Inomata N, Kasperska-Zajac A, Khoshkhui M, Klyucharova A, Kocatürk E, Lu R, Makris M, Maltseva N, Miljković J, Pasali M, Paulino M, Pesqué D, Peter J, Ramón GD, Ritchie C, Rodrigues Valle SO, Rudenko M, Sikora A, de Souza Lima EM, Wagner N, Xepapadaki P, Xue X, Zhao Z, Terhorst-Molawi D, Maurer M. *Allergy*. 2022 Jul;77(7):2185-2199. doi: 10.1111/all.15194. Epub 2021 Dec 23. PMID: 34862605 (Impact Factor: 14.710)

Adrenaline autoinjector is underprescribed in typical cold urticaria patients.

Bizjak M, Košnik M, Dinevski D, Thomsen SF, Fomina D, Borzova E, Kulthanan K, Meshkova R, Aarestrup FM, **Ahsan DM**, Al-Ahmad M, Altrichter S, Bauer A, Brockstädt M, Costa C, Demir S, Criado RF, Ensina LF, Gelincik A, Giménez-Arnau AM, Gonçalo M, Gotua M, Holm JG, Inomata N, Kasperska-Zajac A, Khoshkhui M, Klyucharova A, Kocatürk E, Lu R, Makris M, Maltseva N, Pasali M, Paulino M, Pesqué D, Peter J, Ramón GD, Ritchie C, Rodrigues Valle SO, Rudenko M, Sikora A, Wagner N, Xepapadaki P, Xue X, Zhao Z, Terhorst-Molawi D, Maurer M. *Allergy*. 2022 Jul;77(7):2224-2229. doi: 10.1111/all.15274. Epub 2022 Mar 14. PMID: 35258111 (Impact Factor: 14.710)

Cryoglobulins, Cryofibrinogens, and Cold Agglutinins in Cold Urticaria: Literature Review, Retrospective Patient Analysis, and Observational Study in 49 Patients.

Ginter K, **Ahsan DM**, Bizjak M, Krause K, Maurer M, Altrichter S, Terhorst-Molawi D. *Front Immunol*. 2021 May 25;12:675451. doi: 10.3389/fimmu.2021.675451. eCollection 2021. PMID: 34113348 (Impact Factor: 6.429)

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meiner Doktormutter PD. Dr. Dorothea Terhorst-Molawi und bei meiner Zweitbetreuerin PD Dr. Dr. Sabine Altrichter bedanken, die mich tatkräftig bei meinen Projekten unterstützt haben.

Zudem bedanke ich mich bei allen Co-Autorinnen und Co-Autoren für die Zusammenarbeit.

Zuletzt möchte ich mich bei allen Patientinnen und Patienten bedanken, die an den Studien teilgenommen haben und einen großen Schritt für die Kälteurtikaria-Forschung geleistet haben.