

**Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten
(Leiter: Univ.-Prof. Dr. Th. Luger)
Zentrum für Dermatologie**

**Vergleichende quantitative Bestimmung der Konzentration wasserlöslicher
Proteine aus verschiedenen Latexhandschuhen**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des doctor medicinae dentium
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster**

**vorgelegt von
Groddeck, Stefanie
aus Bad Driburg**

Münster 2007

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. V. Arolt
1. Berichterstatter: PD Dr. R. Brehler
2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Dr. L. Figgener

Tag der mündlichen Prüfung:

03.04.2007

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten

Direktor: Univ.-Prof. Dr. Th. Luger

Referent: PD Dr. R. Brehler

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. L. Figgenger

ZUSAMMENFASSUNG

Vergleichende quantitative Bestimmung der Konzentration wasserlöslicher
Proteine aus verschiedenen Latexhandschuhen

Stefanie Grodeck

Die Kenntnis allergologisch relevanter Eigenschaften von Latexhandschuhen und deren Berücksichtigung im Herstellungsprozess ist angesichts der seit mehreren Jahren registrierten deutlichen Zunahme von Typ-I-Allergien gegen Naturlatex von außerordentlicher prophylaktischer Bedeutung. Studien belegen, dass das allergologische Potential eines medizinischen Naturlatex-Handschuhs insbesondere durch seine Konzentration an extrahierbaren, wasserlöslichen Proteinen beeinflusst wird.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Variationsbreite der Konzentrationen dieser Proteine bei verschiedenen Latexhandschuhen zu bestimmen und aufzuzeigen. Zur Proteinbestimmung wurden die Methoden nach Lowry und Bradford herangezogen. Hierbei konnte unter Anwendung unterschiedlicher Medien und Eluationszeiten ein Maximum an extrahierbaren Proteinen nach zwei Stunden festgestellt werden. Ebenfalls wurden bei festgelegter Eluationszeit von zwei Stunden an verschiedenen Operationshandschuhen stark unterschiedliche Proteinkonzentrationen ermittelt. In Anbetracht des praxisrelevanten Ziels einer Allergieprophylaxe sollte die Untersuchung anhand wiederholter Waschprozesse zeigen, dass hiermit ein Verfahren zur Reduzierung des Proteingehaltes zur Verfügung steht. Mit Hilfe der standardisierten Lowry-Methode können Handschuhe unterschiedlicher Marken ausgetestet werden. Der Proteingehalt der Handschuhe kann hiermit unter standardisierten Bedingungen bestimmt und deren Eignung festgestellt werden. Im Hinblick auf die „grundlegenden Anforderungen an Medizinprodukten“ ist somit eine möglichst weitgehende Reduzierung des Proteingehaltes und damit gleichzeitig der Allergene geboten. Zahlreiche Handschuhmarken mit Proteingehalten unter 10 µg/g Handschuh sind bereits auf dem Markt. Auf die Verwendung gepuderter Handschuhe aus Naturkautschuk-Latex sollte zugunsten proteinarmer puderfreier Handschuhe geeigneter Qualität vollkommen verzichtet werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 03.04.2007

in memoriam
meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Kap.		Seite
1.	Einleitung und Zielsetzung	1
2.	Herstellung von Latexhandschuhen	3
2.1	Natur Rubber Latex (NRL)	3
2.2	Anforderungskatalog von OP-Handschuhen.....	3
2.3	Grundgerüst zur Herstellung eines OP-Handschuhes	4
2.4	Fertigung	8
3.	Immunologische Reaktionen	9
3.1	Allergie vom Soforttyp.....	9
3.2	Allergie vom Spättyp.....	10
3.3	Nicht immunologische Reaktion	11
3.4	Kreuzallergene.....	12
3.5	Diagnostik	12
4.	Material und Methode	14
4.1	Herstellung der Extrakte.....	14
4.2	Prinzip der Rocket-Immunelektrophoresen.....	15
4.3	Verfahren zur Proteinbestimmung	16
4.3.1	Methode nach Lowry.....	16
4.3.2	Methode nach Bradford.....	18
4.3.3	Herstellung der Gelplatten.....	19
4.4	Geräte und Instrumente	19
4.5	Reagenzien	20
4.6	Versuchsdurchführung	21
4.7	Statistische Auswertung	23
5.	Ergebnisse	24
5.1	Vergleich der Methoden Biorad und Pierce im Intra-/bzw. Inter-Assay	24
5.2	Untersuchung des Operationshandschuhes Peha taft	25

5.2.1	Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 1 - 60 Minuten	25
5.2.2	Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 120 Minuten.....	28
5.2.3	Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten .	29
5.2.4	Rocket-Immunelektrophorese bei einer Eluationszeit von 10 – 240 Minuten.....	31
5.3	Untersuchung verschiedener Operationshandschuhe	32
5.3.1	Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 120 Minuten.....	32
5.3.2	Rocket-Immunelektrophorese bei einer Eluationszeit von 10 – 240 Minuten.....	34
5.3.3	Waschwiederholungen an verschiedenen Handschuhe	35
5.4	Operationshandschuhe Peha taft unterschiedlichen Alters	37
6.	Diskussion.....	39
7.	Zusammenfassung	47
8.	Literaturverzeichnis	49
9.	Danksagung.....	62
11.	Lebenslauf	63

Verzeichnis der Abbildungen

<u>Abb.</u>	<u>Seite</u>
Abb. 1: Nach Biorad bestimmte Proteinkonzentration bei einer Eluationszeit von 120 Minuten in synthetischem Schweiß am Tag 1 und Tag 2	24
Abb. 2: Nach Pierce bestimmte Proteinkonzentration bei einer Eluationszeit von 120 Minuten in synthetischem Schweiß am Tag 1 und Tag	24
Abb. 3: Nach Biorad bestimmte Proteinkonzentration des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 1 – 60 Minuten in den Medien aqua bidest. und synthetischer Schweiß.....	27
Abb. 4: Nach Pierce bestimmte Proteinkonzentrationen des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 1 – 60 Minuten in den Medien aqua bidest. und synthetischer Schweiß.....	27
Abb. 5: Nach Biorad bestimmte Proteinkonzentration des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß.....	30
Abb. 6: Nach Pierce bestimmte Proteinkonzentrationen des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten in dem Medium synthetischer Schweiß.....	30
Abb. 7: Rocket-Immunelektrophoresen des Operationshandschuhes Peha taft nach Eluationszeiten von 10, 30, 60, 120 und 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß.....	31
Abb. 8: Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß nach der Messmethode Biorad ..	33
Abb. 9: Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß nach der Messmethoden Pierce ..	33
Abb. 10: Rocket-Immunelektrophorese verschiedener Handschuhe unterschiedlicher Hersteller nach einer Eluationszeit von 120 Minuten in synthetischem Schweiß..	34
Abb. 11: Proteinkonzentrationen nach Biorad der Handschuhe Microtouch, Peha taft und Biogel nach Waschwiederholungen von 2, 4 und 6 Stunden im Medium synthetischer Schweiß.....	36

Abb.		Seite
Abb. 12:	Proteinkonzentrationen nach Pierce der Handschuhe Microtouch, Peha taft und Biogel nach Waschwiederholungen von 2, 4 und 6 Stunden im Medium synthetischer Schweiß.....	36
Abb. 13:	Proteinkonzentrationen in µg/g des Handschuhes Peha taft alt/neu im Medium aqua bidest./ synthetischer Schweiß nach einer Eluationszeit von 120 Minuten nach der Messmethode Biorad	38
Abb. 14:	Proteinkonzentrationen in µg/g des Handschuhes Peha taft alt/neu im Medium aqua bidest./ synthetischer Schweiß nach einer Eluationszeit von 120 Minuten nach der Messmethode Pierce dar.	38

Verzeichnis der Tabellen

Tab.		Seite
Tab. 1:	Schweregradeinteilung der Soforttypallergien (Kontakturtikaria-Syndrom) bei dermalen Allergenaufnahme nach Krogh und Maibach (1981) [83]	9
Tab. 2:	Untersuchte Operationshandschuhe.....	14
Tab. 3:	Herstellung der Verdünnungsreihe für die Methode nach Lowry	17
Tab. 4:	Herstellung der Verdünnungsreihe für die Methode nach Bradford	18
Tab. 5:	Proteinkonzentrationen der Intra- und Inter-Assay Bestimmung	25
Tab. 6:	Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 1 – 60 Minuten.....	26
Tab. 7:	Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß	28
Tab. 8:	Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß	29
Tab. 9:	Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß	32
Tab. 10:	Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach dem 1., 2. und 3. Waschvorgang	35
Tab. 11:	Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce der Operationshandschuhe Peha taft unterschiedlichen Alters bei einer Eluationszeit von 120 Minuten in den Medien aqua bi dest. und synthetischer Schweiß	37
Tab. 12:	Literaturvergleich zum Proteingehalt von Latexhandschuhen	42

1. Einleitung und Zielsetzung

Nach der erstmaligen intraoperativen Verwendung von Latexhandschuhen durch den Chirurgen William Steward Halsted im Jahre 1894 setzte sich um die Jahrhundertwende die Benutzung steriler Latexhandschuhe als konsequente Folgerung aus den von Sir Joseph Lister aufgestellten Regeln zur Asepsis beziehungsweise Antisepsis in der Chirurgie durch [64]. In der Folgezeit wurde das Tragen von Latexhandschuhen einerseits zu einer der wichtigsten Schutzmaßnahmen des medizinischen Personals und andererseits der zu behandelnden Patienten vor mikrobieller Kontamination.

Mit der Entdeckung des Aids-Erregers in den Jahren 1983/84 kam es in den folgenden Jahren aufgrund der AIDS-Prävention zu einem erneuten Anstieg des weltweiten Verbrauchs von Naturgummi-Handschuhen (NRL, Natur Rubber Latex). Die im Rahmen dieser AIDS-Prävention kontinuierlich steigende Zahl der Anwender von Latexhandschuhen sowie die längeren täglichen Tragezeiten haben jedoch zu einer drastischen Zunahme von Allergien gegen Handschuhe speziell beim Personal im operativen Bereich geführt [28, 63, 67, 68, 69, 71, 77, 86, 90, 130, 134, 137, 139].

Von besonderer Bedeutung sind Typ I-Allergien in Form von Kontakturtikarien, allergischem Schnupfen, Entzündungen der Bindehaut, Asthma und zum Teil lebensbedrohlichen Schockzuständen.

Hauptauslöser von Soforttyp-Allergien gegen Latexhandschuhe sind in mehr als 96% der Fälle wasserlösliche Latexproteine unterschiedlicher Molekulargewichte (vorwiegend von 2 - 200 kD) [2, 22, 59, 67, 77, 70, 85, 95, 121]. Während in den ersten Jahren vorwiegend über kontakturtikarielle Reaktionen berichtet wurde [52, 135], mehren sich nach der Erstbeschreibung durch Axelsson und Kollegen im Jahre 1987 in den letzten Jahren Berichte über schwere anaphylaktische Reaktionen [49].

Die zunehmende Bedeutung von Latex als Berufsallergen im medizinischen Bereich hat deshalb inzwischen intensive Aktivitäten der Hersteller zur Reduzierung des allergischen Potentials von Latexhandschuhen induziert [67].

Die Kenntnis allergologisch relevanter Handschuheigenschaften und deren Berücksichtigung im Herstellungsprozess ist angesichts der seit mehreren Jahren registrierten deutlichen Zunahme von Typ I-Allergien gegen NRL von außerordentlicher prophylaktischer Bedeutung.

Studien belegen, dass das allergologische Potential eines medizinischen NRL-Handschuhs insbesondere durch seine Konzentration an extrahierbaren, wasserlöslichen Proteinen beeinflusst wird. Ferner werden für die Allergenität die vorhandenen Akzeleratoren (wie Thiurame, Carbamate, Mercaptoethanol, etc.) verantwortlich gemacht.

Im klinischen Alltag zeigt sich, dass Handschuhe verschiedener Hersteller von Latexallergikern unterschiedlich toleriert werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Konzentration der extrahierbaren, wasserlöslichen Proteine aus verschiedenen Handschuhen vergleichend zu untersuchen.

Um die Proteingehalte unterschiedlicher OP-Handschuhe bestimmen zu können, werden Extrakte aus den Handschuhen hergestellt. Die Proteine werden in einem festgelegten Zeitintervall eluiert und

1. durch die Methode nach Lowry (Pierce BCA Protein Assay Reagent) und
2. durch die Methode nach Bradford (Bio Rad Protein Assay) gemessen.

Dabei werden zuerst Eluationszeiten von 1 - 60 Minuten und 10 - 240 Minuten gewählt und schließlich auf eine Extraktionszeit von zwei Stunden festgelegt. Hiermit führen wir die anschließenden Versuche an verschiedenen Handschuhen durch. Die Versuche finden ebenfalls durch Waschwiederholungen an von uns ausgewählten Handschuhen statt. Zum Abschluss wird die Konzentration der Proteinmengen von Peha taft Handschuhen neueren und älteren Herstellungsdatum verglichen.

Die Methode der Rocket-Immunelektrophoresen dient der semiquantitativen Bestimmung der Proteine. Verwendet wurde ein poliklonaler gegen NRL gerichteter Antikörper. Das Prinzip bei dieser Methode ist die Ausbildung von Präzipitationslinien am Äquivalenzpunkt zwischen Antigenen und entsprechendem Antikörper. Die Präzipitate sind als weiße Linien im Gel sichtbar und können mit Proteinfarbstoffen (Coomassie blue) angefärbt werden. Der Nachweis ist spezifisch, und die Empfindlichkeit ist sehr hoch, da sich scharfe Zonen ausbilden.

Die Antigene wandern elektrophoretisch in ein Agarose-Gel, welches Antikörper in einer bestimmten Konzentration enthält. In einem Agarose-Gel mit hoher Elektroosmose ist der Puffer auf einen pH-Wert von 8,6 eingestellt, damit die Antikörper keine Ladung tragen. Bei der elektrophoretischen Wanderung der Probe werden von den Antikörpern im Gel so lange jeweils ein Antigen pro Antikörper gebunden, bis das Konzentrationsverhältnis dem Äquivalenzpunkt für den Immunkomplex entspricht. Dabei bilden sich raketenförmige Präzipitationslinien aus, die eingeschlossenen Flächen sind proportional zu den Konzentrationen der Antigene in den Proben.

2. Herstellung von Latexhandschuhen

2.1 Natur Rubber Latex (NRL)

Ausgangsstoff der meisten Latexhandschuhe (NRL) ist der Milchsaft des Kautschukbaumes *Hevea brasiliensis* vorwiegend aus Südostasien. Dieser Naturlatex besteht aus einem 50-60%-igen wässrigen Anteil ("Serum"), aus einer 30-40%-igen dispergen Kautschukphase und aus Nichtkautschukbestandteilen (5-8%). Zu dessen Gewinnung werden die bis zu 20m hohen Bäume vorsichtig entrindet [63]. Damit es nach der Zapfung nicht zu einer bakteriellen Zersetzung des Latex kommt, werden Konservierungsmittel zugesetzt. Ammoniak ist das am häufigsten verwendete Konservierungsmittel. Naturlatex wird im Allgemeinen durch Zentrifugieren konzentriert. Hierbei werden Latices mit einem Kautschukgehalt von bis zu 60% erzielt. Zur Herstellung von Gummi- und Operationshandschuhen werden dem Latex verschiedene Zusatzstoffe beigemischt, die für die Eigenschaft des Endproduktes von Bedeutung sind. Die Polymerisation des Monomers (cis-1,4-Poliisopren) erfolgt durch Zugabe von schwefelhaltigen Vulkanisatoren (z.B. 4,4-Dithiodimorpholin). Dieser Prozess kann durch die Verwendung von sogenannten Akzeleratoren (Thiurame, v. a. Tetramethylthiuramdisulfid und Carbamate, v. a. Zinkdiäthylthiocarbamat) erheblich beschleunigt werden. Der Zusatz von Antioxidantien (z. B. 2-p-Methylcyclohexyl-4,6-dimethylphenol) erhöht die Haltbarkeit des Gummis [54].

Latex eignet sich für die Herstellung der Operationshandschuhe auch deshalb besonders gut, da es nicht nur widerstandsfähig, sondern auch gleichzeitig hauchdünn und tastsensibel ist [115].

Diese im Rahmen der heute üblichen modernen Herstellungsverfahren eingesetzten Zusatzstoffe wie Vulkanisatoren, Akzeleratoren und Antioxidanzien führen zwar zu einer Produktoptimierung, sind aber gleichzeitig die häufigste Ursache einer Kontaktallergie gegen Handschuhe [63].

2.2 Anforderungskatalog von OP-Handschuhen

Hauptaufgabe des Operationshandschuhs ist es, sowohl den Träger als auch den Patienten gegen Mikroorganismen zu schützen. Dem medizinischen Personal wird zudem noch Schutz vor

Hautschädigungen durch häufiges Feuchtarbeiten geboten. Der Hersteller versucht, die Qualitätsanforderungen, die an einen Handschuh gestellt werden, im Endprodukt zu erreichen [107].

Im Einzelnen umfasst der Anforderungskatalog

- Griffsicherheit (ausreichende Oberflächenrauigkeit),
- Abrutschsicherheit (Manschette und Stulpe),
- absolute Dichtigkeit,
- Zug- und Reißfestigkeit,
- Alterungsbeständigkeit,
- Hygiene, Sterilität und Umweltfreundlichkeit,
- hohe Tastempfindlichkeit durch Dünnwandigkeit und gleichmäßige Stärke, geringe Ermüdung durch hohe Dehnbarkeit und große Bewegungsfreiheit,
- hoher Tragekomfort durch gute Gleitfähigkeit beim Anziehen, hohe Saugfähigkeit für Schweiß, anatomische Passform und optimalen Sitz,
- optimale Hautverträglichkeit,
- funktionsgerechte Verpackung zur einfachen Entnahme und optimale Präsentation,
- vielseitige Verwendbarkeit für alle chirurgischen Bereiche,
- Preisgünstigkeit und
- DIN-Konformität.

2.3 Grundgerüst zur Herstellung eines OP-Handschuhs

Zwischen den verschiedenen Unternehmen besteht auf dem Markt für OP-Handschuhe ein harter Wettbewerb. Somit versteht es sich von selbst, dass der einzelne Anbieter über die Qualität seiner Handschuhe, die letztlich in deren Rezeptur begründet liegt, als Betriebsgeheimnis wahren.

Trotzdem lässt sich ein sogenanntes Grundgerüst für die Herstellung der OP-Handschuhe erkennen. Die von den Herstellerfirmen zum Mischungsaufbau verwendeten Zusatzstoffe können in die nachfolgend beschriebenen Gruppen aufgeteilt werden:

Die einzelnen Mischungsbestandteile werden nach genau bestimmter Art, Konzentration und Dosis in vorgesehener Reihenfolge stufenweise in die aufkonzentrierte Lösung des Naturlatex eingemischt

[107]. Insbesondere während des Produktionsschrittes „Mischungsaufbau“ (Compounding) fließen dabei nahezu alle potentiell allergisierend wirkenden Substanzen in den Verarbeitungsprozeß ein.

Latex (NRL)

„Latex (NRL) ist eine kolloidale Dispersion von Natur- oder Synthetikautschuk in Wasser“. Als Naturlatex wird der aus *Hevea brasiliensis* stammende Milchsaft bezeichnet, der 30 % Kautschuk enthält [56, 107].

Dispergatoren, Emulgatoren, Stabilisatoren und Konservierungsmittel

Damit sich die zahlreichen Ingredienzien auch tatsächlich mit dem Latex-Konzentrat vermischen können, müssen sie ihm entweder als wässrige Lösung, als Dispersion oder als Emulsion zugegeben werden. Das bedeutet, dass alle wasserunlöslichen, festen Bestandteile vor ihrer Zugabe mit Hilfe von Dispergatoren in Dispersionen und alle wasserunlöslichen, flüssigen Bestandteile mit Hilfe von Emulgatoren in Emulsionen überführt werden müssen.

Weitere Zusätze sind thermische Stabilisatoren und Konservierungsmittel.

Vulkanisationsagenzien

Die bedeutsamste Gruppe unter den Mischungsbestandteilen bilden wohl die Vulkanisationsagenzien. Die Latexmischung wird im Anschluss an die Formgebung durch die Vulkanisation vom zähen, aber noch flüssigen Zustand der „Plastizität“ in den durch Dehnung verformbaren, aber festen Zustand der „Elastizität“ überführt. Fast immer wird als Vulkanisiermittel Kolloidschwefel benutzt [40, 56, 107].

Um den Kautschuk zu schonen seine physikalischen Eigenschaften zu wahren, werden Vulkanisationsbeschleuniger verwendet, insbesondere Thiurame und Dithiocarbamate. Thiurame sind gerade bei der Herstellung von Tauchartikeln wie OP-Handschuhen begehrte Ultrabeschleuniger. Insbesondere wenn mit hohem Thiuram- und niedrigem Schwefeleinsatz („Niedrig-Schwefel-Vulkanisation“) vulkanisiert wird, weisen die Produkte besonders günstige physikalische Eigenschaften und eine ausgezeichnete Alterungsbeständigkeit sowie günstige Hysterese- und Festigkeitseigenschaften, einen relativ hohen Spannungswert, optimale Wärmebeständigkeit und auch keinerlei Verfärbung auf. Zu den am schnellsten wirkenden Beschleunigern zählen die Dithiocarbamate. Die wasserunlöslichen Zinkdithiocarbamate sind problemloser und vielseitiger anwendbar, während die Domäne der Natriumdithiocarbamate in der Herstellung dünnwandiger Artikel wie OP-Handschuhe liegt und ihr Einsatz zu ungefärbten, praktisch geschmacksfreien und nur leicht geruchsbelasteten Vulkanisaten führt.

Schließlich ist es zur Erhöhung der Verarbeitungssicherheit wegen der damit zuweilen einhergehenden hohen Verarbeitungstemperatur notwendig, in Ausnahmefällen Vulkanisationsverzögerer einzusetzen [107].

Alterungsschutzmittel

Im Laufe der Zeit verschlechtern sich nach der Fertigstellung u. a. die mechanischen Eigenschaften von OP-Handschuhen bis hin zur völligen Zerstörung. Diese „Alterung“ wird im wesentlichen durch das Zusammenwirken von Autooxidation durch Aufnahme von Sauerstoff aus der Luft (Alterung i.e.S.), Rissbildung in statisch gedehntem Zustand durch Einwirkung des in der Atmosphäre vorkommenden Ozons, Rissbildung durch Ermüdung aufgrund dynamischer Beanspruchung und UV-Licht.

Bei den zur Herstellung von OP-Handschuhen verwendeten, nicht färbenden Alterungsschutzmitteln handelt es sich weit überwiegend um substituierte Phenole. Als geeignetes Alterungsschutzmittel hat sich das Benzolradikal Di(hydr)oxydiphenyl bewährt, das 0,2%-ig allein oder auch in Kombination angewandt wird [107].

Verdickungsmittel

Um eine gewünschte Wandstärke zu erreichen, ist es gerade zur Herstellung von Tauchartikeln wie OP-Handschuhen erforderlich, die Viskosität von Latexmischungen durch Einbringen von Verdickungsmitteln zu erhöhen. Diese sind entweder pflanzlicher oder tierischer Herkunft (z. B. pflanzliche Gummiarten, Albumine, Polysaccharide, Gelatine, Kasein, Pectin, Leim, Tragant und Agar-Agar) oder aber synthetisch erzeugt (z. B. Salze der Polyacrylsäure und Polyvinylalkohol) [107].

Füllstoffe

Eine Verbesserung der Verarbeitbarkeit des Materials und insbesondere der mechanischen Eigenschaften des Vulkanisates soll durch den Einsatz von Füllstoffen erreicht werden, die in aktive, halbaktive und inaktive Füllstoffe eingeteilt werden [56, 107].

Pigmente

Um dem OP-Handschuh ihre zumeist weiße Farbe zu verleihen, beschränkt man sich seit der Einführung organischer Vulkanisationsbeschleuniger auf die einsetzbaren organische Pigmente, die sich durch bessere Brillianz, Leuchtkraft und Nuancierung der Farbtöne auszeichnen [56, 107].

Weichmacher

Dem Einsatz von Weichmachern kommt beim Aufbau von Latexmischungen für OP-Handschuhe eine erhebliche Bedeutung zu. Durch Verbesserung der Füllstoffverteilung sowie der Fließ- und Benetzungsfähigkeit begünstigen sie nicht nur die Verarbeitbarkeit der Mischung selbst, sondern auch die Dehnbarkeit und Elastizität daraus gefertigter Vulkanisate [56, 107].

Koaguliermittel

Eine Stufe des Herstellungsprozesses von Latex-OP-Handschuhen kann je nach Tauchverfahren in der (gesteuerten) Koagulation der Tauchmischung bestehen. Diese Phase erfordert den Einsatz von stark und spontan bzw. schwach, allmählich oder bei Erwärmung wirkenden Koaguliermitteln [56, 107].

Formentrennmittel

Die Hauptaufgabe sogenannter Formentrennmittel besteht darin, das Abstreifen der ausvulkanisierten OP-Handschuhe von den Tauch- und Vulkanisierformen soweit zu erleichtern, dass möglichst weder Vulkanisate noch Formen beschädigt werden. In den letzten Jahren ist man dazu übergegangen, als Trennmittel Puder zu verwenden, zumeist resorbierbare Maisstärke, die als flüssige Dispersion aufgebracht wird. Die meisten Formentrennmittel – vor allem wenn sie erst nach der Vulkanisation und damit auf die später durch Abstreifen der OP-Handschuhe zu deren Innenseite umgestülpten Schicht aufgetragen werden – haben gleichzeitig Gleitmittelfunktion, weil sie dem Benutzer das Anziehen und Tragen der OP-Handschuhe erleichtern [56, 107].

2.4 Fertigung

Nach isolierter Darstellung der einzelnen in Frage kommenden Mischungsbestandteile und unter Beachtung der Reihenfolge der Ingredienzienzugabe, kann die Mischung zum Tauchbad eingesetzt werden. Die Fertigung der OP-Handschuhe findet in fertigungstechnisch bestimmter Reihenfolge statt:

- Tauchen,
- Aufrauhern,
- Auslaugen („Leaching“),
- Trocknen und Rändern,
- Vulkanisation,
- Trennmittelaufbringung, Identifikationsaufdruck und Abstreifen von der Tauchform und
- Qualitätskontrolle, Sterilisation und Verpackung [56, 107].

3. Immunologische Reaktionen

Im Rahmen der Allergien gegen Latexhandschuhe lassen sich zwei Typen unterscheiden:

1. Die Allergie vom Soforttyp (Typ I-Allergie, IgE-vermittelt)
die fast ausschließlich durch Proteine des Naturlatex hervorgerufen werden und sich klinisch mit Kontakturtikaria bis hin zum anaphylaktischen Schock zeigen und
2. die Allergie vom Spättyp (Typ IV-Allergie, T-lymphozytär vermittelt)
ausgelöst durch Akzeleratoren die zur Beschleunigung des Vulkanisationsprozesses in der Herstellung der Gummihandschuhe eingesetzt werden und klinisch als allergisches Kontaktekzem mit Papeln, Erythem oder Vesiculae darstellt voneinander abgrenzen [62].

3.1 Allergie vom Soforttyp

Bezüglich des Typs I haben Krogh und Maibach eine Klassifizierung des klinischen Schweregrades einer Reaktion vorgenommen (Tab. 1).

Tab. 1: Schweregradeinteilung der Soforttypallergien (Kontakturtikaria-Syndrom) bei dermalen Allergenaufnahme nach Krogh und Maibach (1981) [84]

Stadium	Beschreibung
I	Lokalisierte Kontakturtikaria (im Kontaktareal) mit Rötungen und Juckreiz
II	Generalisierte Kontakturtikaria (inklusive Lidödeme und Lippenschwellung)
III	Urtikaria mit Schleimhautsymptomen (Rhinokonjunktivitis allergica, Asthma bronchiale allergicum, orolaryngeale und gastrointestinale Symptome)
IV	Urtikaria mit anaphylaktischem Schock

Die mit einer Soforttyp-Allergie einhergehenden klinischen Symptome treten bereits 5 - 20 Minuten nach Handschuhkontakt auf und bilden sich innerhalb von 6 - 20 Stunden nach Handschuhentfernung wieder zurück [62].

Die antikörpervermittelten Allergien vom Typ I werden durch IgE-Antikörper vermittelt, die an Membranrezeptoren von Mastzellen und basophilen Leukozyten gebunden sind. Die Freisetzung von Histamin und weiterer vasoaktiver und immunmodulierender Mediatoren führt zu einer Permeabilitätssteigerung der Gefäße mit nachfolgender Ödembildung (Kontakturtikaria) sowie einer langanhaltenden Kontraktion der glatten Muskulatur (z. B. Bronchospasmus) [13, 84].

Die innerhalb der letzten Jahre zunehmend an Bedeutung gewinnenden Typ I-Allergien gegen Latexhandschuhe werden zu mehr als 90% durch wasserlösliche Latexproteine unterschiedlicher Molekulargewichte (10 - 70 kD) hervorgerufen [55, 74, 87]. Naturlatex enthält über 250 Proteine; inzwischen wurden 56 davon als Allergene identifiziert, die alle bereits im Pflanzensaft enthalten sind [28].

Die Auslösung der Typ I-Reaktionen gegen Latex können durch den direkten Hautkontakt zu Naturlatex-Handschuhen hervorgerufen werden. Eine Auslösung von Schleimhautsymptomen durch ausschließliche Inhalation von Latexproteinen, die an Handschuhpuderpartikel gebunden sind, ist ebenfalls möglich [13, 15, 16, 17, 74]. Bereits das Öffnen von Handschuhpackungen kann unter Umständen rhinitische oder asthmatische Beschwerden bis hin zum Schock verursachen [116, 118, 125, 126].

3.2 Allergie vom Spättyp

Auf einer Spätreaktion des zellgebundenen (T-lymphozytären) Immunsystems basieren die zellvermittelten Allergien vom Typ IV (Kontaktallergien). Die mit dieser Allergieform einhergehenden Hauptsymptome treten erst 6 - 48 Stunden nach Allergenkontakt auf und verstärken sich typischerweise auch nach Allergenentfernung noch über bis zu 96 Stunden hinweg.

Klinisches Kennzeichen ist das allergische Kontaktekzem, das aus Papeln (Knötchen), Erythem (Rötung), Vesiculae (Bläschen) kombiniert mit Nässen und Juckreiz besteht. Über das Kontaktareal der Handschuhe hinausreichende Hauterscheinungen ("Streuphänomen") sind ein typisches Begleitphänomen.

Hervorgerufen werden diese Reaktionen überwiegend durch Chemikalien aus dem Handschuh. Die Moleküle penetrieren durch die vorgeschädigte Haut und binden als Haptene (Halbantigene) an körpereigene Proteine. Allein können sie aufgrund ihrer geringen Molekülgröße nicht immunogen

wirksam werden. Durch Bindung an ein epidurales Trägerprotein (Hapten-Carrier-Komplex) löst sie die antigene Eigenschaft aus [36].

Bestimmte im Herstellungsprozess eingesetzte Gummiadditiva müssen in ca. 80 % der Fälle als Auslöser der Typ IV-Allergien angesehen werden [14, 48]. Hierbei kommt den allergologisch potenten Thiuramen die größte Bedeutung zu [65, 69, 127, 129], während die übrigen Akzeleratoren der Dithiocarbamat- und Benzothiazolreihe sowie die Diphenylthioharnstoffe deutlich seltener als Auslöser nachzuweisen sind [13, 65, 84, 123, 127, 35, 53]. Konservierungsstoffe, Farbpigmente und Desinfektionsstoffe im Handschuhpuder oder auch in der Innenbeschichtung von Latexhandschuhen (z. B. Sorbinsäure, Benzoessäure, Benzalkoniumchlorid, Cetylpyridiniumchlorid oder auch Isothiazolin-3-on-derivate) sowie Antioxidanzien (Paraphenylendiamin-Derivate Phenole, Chinolone) und Vulkanisatoren (z. B. 4,4'-Dithiodimorpholin) sind nur vereinzelt Ursache eines allergischen Kontaktekzems gegen Latexhandschuhe [53, 65, 69, 112, 118, 127].

3.3 Nicht immunologische Reaktion

Neben den immunologisch ausgelösten Allergien lassen sich auch sogenannte nicht immunologische Reaktionen auf Latexhandschuhen beobachten, die bei negativer allergologischer Abklärung das klinische Bild einer Soforttyp-Allergie imitieren. Die Pseudoallergie zeichnet sich nach klinisch-ätiologischen Gesichtspunkten durch eine nichtimmunologische Kontakturtikaria aus.

Eine Pseudoallergie tritt gehäuft als Reaktion auf Handschuhpuder auf. Als mögliche Ätiologie werden sowohl chemische, mechanische als auch Schweiß bedingte Faktoren verantwortlich gemacht. Die bis vor kurzem als Konservierungsmittel in einem häufig eingesetzten Handschuhpuder enthaltene Sorbinsäure ist nach Lahti [88] zu den typischen Auslösern einer nichtimmunologischen Kontakturtikaria zu zählen [67]. Dagegen handelt es sich bei der durch Maisstärkepuder ausgelösten Reaktion um eine echte Typ I-Allergie mit Anaphylaxie.

Hautirritationen, die durch Handschuhe ausgelöst oder verstärkt werden, können einem allergischem Kontaktekzem ähneln.

3.4 Kreuzallergene

Proteine einer Reihe von exotischen Früchten (Avocado, Kiwi, Banane, Esskastanie) weisen mit in Naturlatex enthaltenen Proteinen eine im Hauttest und serologisch nachweisbare, oftmals auch klinisch relevante Kreuzallergenität auf. Um auf die Kreuzreaktionen hinzuweisen wird die Bezeichnung eines "Latex-Frucht-Syndroms" vorgeschlagen [24, 29]. Bislang unbeantwortet ist allerdings die Frage, ob der Genuss dieser Früchte eine Latexallergie bahnen oder gar verursachen kann.

Nach anderen Untersuchungen kommen auch in dem weit verbreiteten *Ficus benjamina* Proteine vor, die mit Latexproteinen kreuzreagieren können [31].

3.5 Diagnostik

Nicht zuletzt durch die Vielzahl der Publikationen zur Problematik der Latexallergie wird die Verdachtsdiagnose „Latexallergie“ von Betroffenen und von Ärzten vermehrt gestellt. Durch die Bereitstellung entsprechender diagnostischer Instrumente kann die Diagnose relativ einfach bestätigt werden [107, 109, 136].

Für die Hauttestung zur Allergiediagnostik von Sofortreaktionen eignen sich zum einen das Reiben mit dem Handschuhmaterial im Reibtest sowie das Tragen der Handschuhe im Expositionstest und zum anderen Verfahren wie der Prick- und Scratch-Test. Da Hauttests mit einzelnen Latexextrakten meist eine Sensitivität unter 100% aufweisen, ist es erforderlich, unterschiedliche Allergenextrakte zu verwenden [28].

Das diagnostische Vorgehen umfasst auch die quantitative Bestimmung spezifischer Latex-IgE-Antikörper *in vivo*. Verfahren wie der Radioallergosorbent-Test (RAST), der Radioimmunosorbent-Test (RIST), der indirekte Enzyme-Linked Immunosorbent Test (ELISA) oder Reverse Enzyme Immunoassay (REIA) zielen auf die *In-vitro*-Bestimmung der Gesamt-IgE bzw. spezifischer Latex-IgE-Antikörper im Serum ab. Die Sensitivität spezifischer IgE-Analysen variiert zwischen 8% und 100% [28]. Die Sensitivität der weitverbreiteten Pharmacia CAP-RAST-Methode liegt zwischen 50% und 80%. Angaben zur Spezifität von *In-vitro*-Diagnostica sind rar. Mit Hilfe verschiedener neuerer

Assayverfahren (CAP-FEIA, AlaSTAT) wurde Naturlatex-spezifische IgE in den Sera von Patienten trotz negativer Hauttests und ohne anamnestische Naturlatexallergie entdeckt [28].

Zur Diagnostik allergischer Reaktionen vom Spättyp dienen der Epikutantest, „Use-Test“ und der Provokationstest [107].

4. Material und Methode

4.1 Herstellung der Extrakte

Die Proteinbestimmungen wurden an sterilen Operationshandschuhen unterschiedlicher Hersteller durchgeführt (Tab. 2).

Tab. 2: Untersuchte Operationshandschuhe

Untersuchungshandschuh	Hersteller, Vertrieb	Lot No.
Peha taft	Fa. Hartmann	34 904 002
Peha taft	Fa. Hartmann	33 401 002
Peha taft	Fa. Hartmann	21 002 002
Gammex	Ansell medical	310489804
Peha taft puderfrei	Fa. Hartmann	712726 B
Nutex	Ansell medical	304412204
Neutralon	Johnson & Johnson	31332633011
Peha taft hypoallergenic	Fa. Hartmann	21002002
Peha taft microptic	Fa. Hartmann	32703104
Vasco	Braun	93 E 0701-273 D 7
Manex puderfrei	Beiersdorf	92 K 25 CK
Microtouch	Johnson & Johnson	07822507819
Biogel	Regent Hospital	9308931028

Zunächst wurde das Gewicht jedes einzelnen Handschuhs bestimmt. Für die Extrakte wurden die Handschuhe in 1 x 1 cm große Stücke geschnitten. (Zum Anfassen der Handschuhe wurden latexfreie Handschuhe getragen.) Diese wurden in Röhrchen (Greiner) gefüllt und mit 30 ml des gewünschten Mediums (aqua bidest., synthetischer Schweiß) versetzt. Die Röhrchen wurden auf dem Schüttler (KS 10, Edmund Bühler) in einheitlichen oder unterschiedlichen Zeitintervallen bei Raumtemperatur eluiert. Nach Abgießen des Eluates, das bedingt durch den Handschuhpuder als trübe Suspension

vorlag, wurde dieser zentrifugiert (3 min., 4,5 U/min.). Der Überstand wurde durch einen Sterilfilter (Milex GV) gedrückt um sie, von Partikeln gereinigt, direkt in die Proteinmessung einzusetzen.

Die flüssigen Extrakte wurden zur Proteinbestimmung nach den Methoden von Lowry und Bradford eingesetzt.

Ferner wurden zur Abschätzung der Proteingehalte Rocket-Immunelektrophoresen, unter Verwendung eines gegen nativen *Havea brasiliensis* hergestellten Sheep-anti-Latex Antikörper, durchgeführt (hergestellt bei The Binding Side, Birmingham, UK, mit high ammoniated NRL aus Malaysia).

Von den somit gewonnenen Extrakten wurden 8 ml in Sterilröhrchen abgefüllt und eingefroren. Die gefrorenen Extrakte wurden anschließend lyophilisiert, um die Gesamtextrakte durch Abwiegen der entstandenen festen Bestandteile bestimmen zu können.

4.2 Prinzip der Rocket-Immunelektrophoresen

Das Prinzip bei dieser Methode ist die Ausbildung von Präzipitationslinien am Äquivalenzpunkt zwischen Antigen und entsprechendem Antikörper.

Die Präzipitate sind als weiße Linien im Gel sichtbar und können mit Proteinfarbstoffen angefärbt werden. Der Nachweis ist spezifisch, und die Empfindlichkeit ist sehr hoch, da sich scharfe Zonen ausbilden.

Die Antigene wandern elektrophoretisch in ein Agarose-Gel, welches Antikörper in einer bestimmten Konzentration enthält. In einem Agarose-Gel mit hoher Elektroosmose ist der Puffer auf einen pH-Wert von 8,6 eingestellt, damit die Antikörper keine Ladung tragen. Bei der elektrophoretischen Wanderung der Probe wird von den Antikörpern im Gel so lange ein Antigen pro Antikörper gebunden, bis das Konzentrationsverhältnis dem Äquivalenzpunkt für den Immunkomplex entspricht. Dabei bilden sich raketenförmige Präzipitationslinien aus, die eingeschlossenen Flächen sind proportional zu den Konzentrationen der Antigene in den Proben. Der Tris-Tricin-Puffer dient als Laufmittel im Elektrophoresegerät.

Um die Versuchsreihe zu starten wurden Eluationsmedien aqua bi dest. und synthetischer Schweiß angesetzt.

Das von uns eingesetzte Antikörper gegen Latex wurde durch Immunisierung von Schaf gegen ein Latex aus frisch gewonnener hochammoniakalischer (5-10 %) Latexmilch hergestellt. Latex wurde von uns hergestellt und zur Immunisierung an die Firma The Binding Side, Birmingham geschickt.

4.3 Verfahren zur Proteinbestimmung

4.3.1 Methode nach Lowry

Das von uns angewendete Pierce BCA Protein Assay Reagent (Lowry-Methode) ist in seiner Form als wasserlösliches Natriumsalz ein empfindliches, stabiles und hochspezifisches Reagenz für das Kupferion-Verfahren zur spektrometrischen Messung der Proteinkonzentration [122].

Das Prinzip beruht auf der gut bekannten Reaktion von Proteinen mit Cu^{2+} Ionen in einem alkalischen Medium, bei dem Cu^{1+} Ionen entstehen. Diese Ionen ergeben mit dem BCA einen BCA-Cu^{1+} -Komplex. Dieser Komplex ist wasserlöslich und zeigt eine starke Absorption bei 562 nm. Dieses erlaubt eine spektrometrische Quantifikation von Proteinen in Wasserlösung.

Bei der Versuchsmethode nach Lowry [93] wurde eine 96 Loch-Mikropipettierplatte eingesetzt. Die Arbeitsverdünnung bestand aus den Reagenzien A + B des Standard BSA (Bovine serum albumine, fraction V). Die Standards wurden in Konzentrationen von 1:2 bis 1:128 mit den Verdünnungsmedien vermischt. Die Proben wurden in Konzentrationen von 1:5, 1:10 und 1:50 angesetzt.

Als Verdünnungsmedium wurde aqua bi dest. oder synthetischer Schweiß eingesetzt.

Es wurden je 10 μl von den Standards und der Probe in die Wells pipettiert. Danach konnten in jede Vertiefung 200 μl Arbeitsverdünnung (A + B) hinzugegeben werden.

Der Ansatz wurde bei 37 °C eine halbe Stunde im Vorwärmofen inkubiert. Danach wurde sofort die photometrische Messung im Dynatech MR 500 durchgeführt.

Die Arbeitsverdünnung bestand aus:

- Reagenz A: mit 24,5 ml entspricht 49 Teile
- Reagenz B: mit 500ml entspricht 1 Teil

des Standard BSA (Bovine serum albumine, fraction V). Die Konzentration betrug 2,0 mg/ml und entsprach 2000 µg/ml, die zur Ansetzung der Verdünnungsreihe dementsprechend eingesetzt wurden.

Tab. 3: Herstellung der Verdünnungsreihe für die Methode nach Lowry

Verdünnungsreihe	Standard	Verdünnungsmedium
1:2	200 µl Standard	+ 200 µl
1:4	200 µl (aus 1:2)	+ 200 µl
1:8	200 µl (aus 1:4)	+ 200 µl
1:16	200 µl (aus 1:8)	+ 200 µl
1:32	200 µl (aus 1:16)	+ 200 µl
1:64	200 µl (aus 1:32)	+ 200 µl
1:128	200 µl (aus 1:64)	+ 200 µl

Die Proben wurden in Konzentrationen von:

- 1:5 aus 400 µl Verdünnung und 100µl Probe
- 1:10 aus 250µl (aus 1:5) mit 250 µl Verdünnung und
- 1:50 aus 100 µl (aus 1:10) mit 400µl Verdünnung hergestellt.

Unverdünnt wurden 10 µl Standard und 200 µl Arbeitsverdünnung angesetzt.

Als Verdünnungsmedium kam entweder aqua bi dest. oder synthetischer Schweiß zum Einsatz.

Es wurden je 10 µl von den Standards und der Probe in die Wells pipettiert. Danach konnten in jede Vertiefung 200 µl Arbeitsverdünnung (A + B) hinzugegeben werden.

Der Ansatz wurde bei 37 °C eine halbe Stunde im Vorwärmofen inkubiert. Danach wurde sofort die photometrische Messung im Dynatech MR 500 durchgeführt.

4.3.2 Methode nach Bradford

1976 stellte Bradford [25] eine quantitative Proteinbestimmung (Biorad) vor, bei der die Proteine mit Coomassie Blue G 250 angefärbt werden. Die Biorad Proteinbestimmung beruht auf der Beobachtung, dass das Absorptionsmaximum für Coomassie Blue G 250 von 465 auf 595 nm wechselt, wenn der Farbstoff eine Bindung mit einem Protein in einer sauren Lösung eingeht.

Der große Vorteil der Methode liegt in der Einfachheit und Schnelligkeit, wie dieses bei Bio Rad Protein Assay der Fall ist.

Bei der Methode nach Bradford wurden Standards in den Konzentrationen von 1 bis 20 µg angesetzt.

Als Verdünnungsmedium wurde ebenfalls aqua bi dest. oder synthetischer Schweiß eingesetzt.

Die Proben und Standards wurden jeweils mit 800 µl und 200 µl Dyl Concentrate gemischt.

Es wurden pro Wells je 250µl einpipettiert.

Die photometrische Messung konnte sofort durchgeführt werden (Dynatech MR 500).

Da bei kleinen Pipettierolumina leicht Schwankungen auftreten können, wurden bei beiden Methoden von allen Proben und Standards Zweifach-Bestimmungen durchgeführt.

Der Standard beträgt 1,4 mg/ml und entspricht 1400µg/ml.

Tab. 4: Herstellung der Verdünnungsreihe für die Methode nach Bradford

Konzentration	Verdünnungsreihe	Standard	Verdünnungsmedium
20 µg	1:70	100 µl	+ 6900 µl
15 µg	1:1,3	1000 µl	+ 333 µl
10 µg	1:2	2000 µl	+ 2000 µl
8 µg	1:1,25	2000 µl	+ 500 µl
4 µg	1:2	1000 µl	+ 1000 µl
2 µg	1:2	1000 µl	+ 1000 µl
1 µg	1:2	1000 µl	+ 1000 µl

Als Verdünnungsmedium wurden entweder aqua bidest. oder synthetischer Schweiß eingesetzt.

Die Proben und Standards wurden jeweils mit 800 µl und 200 µl Dyl Concentrate gemischt.

Es wurden pro Well je 250µl einpipettiert.

Die photometrische Messung konnte sofort durchgeführt werden (Dynatech MR 500).

4.3.3 Herstellung der Gelplatten

Agarose Gel 1% wurde durch Erwärmen gelöst. 6 ml wurden zusammen mit Antikörpern (Latex-anti sheep) auf eine Glasplatte (5 cm x 7,5 cm x 1 mm), die vorher mit Aceton gereinigt wurde, aufgefüllt. Nach Erhärten wurden 4-6 Löcher in das Gel gestanzt. Es wurden je Loch 12 µl Probe mit Bromphenolbau angefärbt und in die vorgestanzten Löcher gegeben. Die Elektrophorese wurde mit Tris Ticin Puffer 8,6 bei 50 V und 0,30 A über Nacht durchgeführt. Danach wurden sie innerhalb von 10 Minuten 6 x in NaCl gewaschen und zum Schluß getrocknet. Anschließend wurden sie in Coomasie angefärbt und in einem Wasser-Essig-Ethanol Gemisch wieder entfärbt. Zum Schluss wurden die Gele auf Gelbondfilmen getrocknet.

4.4 Geräte und Instrumente

Die verwendeten Geräte und Instrumente sind der folgenden Auflistung zu entnehmen:

Wägearbeiten:	Elektronische Waage Sartorius MC 1 (Sartorius GmbH, Göttingen)
Rühr- und Mischvorgänge:	Magnetrührer IKA-COMBIMAG RCO (Jahnke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen)
Pipettieren:	Eppendorf Varipipetten (in Größen (in µl): 0,5 - 10, 10 - 100, 50 - 250, 100 - 1000, 200 - 1000, 500 - 2500) Eppendorf Gerätebau (Netheler und Hinz GmbH, Hamburg)
pH-Wert-Einstellung:	pH-Meth CG 840 von Schott
Eluieren:	Röhrchen (Greiner 50 ml) Schüttler KS (Edmund Bühler, Tübingen)
Filter:	Millex-GV von Millipore (Millipore, Molsheim, France)
Reaktionsansätze:	Reagenz- und Zentrifugenröhrchen von Sarstedt No. 55473
Zentrifuge:	Beckmann Model TJ - 6 Zentrifuge
Mikroplatten:	Assay Microplate A1 Lot. No. 18768 (Pharmacia Cap system)

Photometrische Messungen:	Dynatech MR 500
Elektrophoresegerät:	Biometra Typ No. 645 mit Microcomputer Elektrophoresis Power Supply (Renner GmbH)
Waschen der Gele:	Heidolph Titramax 1000
Blotgerät:	Biometra Fast Blot Typ No. B33
Lyophilisator:	Maxi dry lyo Heto Wika

4.5 Reagenzien

Folgende Reagenzien wurden eingesetzt:

Aqua bi dest.

- Synthetischer Schweiß:**
- 0,1 % Urea (0,5 g)
 - 0,1 % Milchsäure (555 l)
 - 0,5 % NaCl (2,5 g)
 - 0,1 % NH₃ auf pH 6,6 (für 500 ml)

- Tris-Tricin-Lactat-Puffer pH 8,6:**
- 39,2 g Tris
 - 17,2 g Tricin
 - 4,2 g Calciumlactat
 - 0,8 g NaN₃
- mit H₂O bidest. auf 1 l auffüllen

- 1 % Agarose Gel**
- 250 ml Tris-Tricin-Lactat-Puffer pH 8,6
 - 2,5 g Agarose L (Behring)

Reagenzien für die Methode Lowry (Pierce Chemical Company)

- Reagenz A
- Reagenz B
- Bio-Rad DC Protein Assay Dye Reagent Package (No. 500-0116)
- Chicken Egg Albumin (Ovalbumin, Sigma No. A-5503)
- Protein stock solution: 100 mg Ovalbumin in 100 ml Extraktionspuffer
- Protein standard solution: Standards in 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 und 128 µl/ml

Reagenzien für die Methode Bradford (Bio Rad Laboratories GmbH):

- Biorad Protein Assay Dye Reagent Concentrate (No. 500-00006)
- Albumin vom Chicken Egg (Ovalbumin, Sigma A-5503)
- Protein stock solution: 100mg in 100 ml extraction buffer
- Protein standard solution: Standard: 1,4mg/ml Vorbereitung in Standards zu 1, 2, 4, 8, 10, 15 und 20 µg/ml
- Blank: Verdünnungsmedium und Dye Concentrate

4.6 Versuchsdurchführung

Die Versuchsdurchführung gliedert sich in mehrere Abschnitte mit unterschiedlichen Vorgehen:

1. Variabilität der Proteinwerte anhand der Methoden nach Biorad und Pierce

Die Messuntersuchungen für die Inter-/Intra-Assay Variabilität wurden am sterilen Operationshandschuh Peha taft (Lot Nr.34 904 002), nach Abwiegen der einzelnen Handschuhe und Eluation, in synthetischem Schweiß durchgeführt. Hierzu wurden die Proteine eines Handschuhes (Peha taft 11,6 g) eluiert und 10fach mit den Methoden Biorad und Pierce am Tag 1 und Tag 2 bestimmt.

2. Einfluss der Zeit auf die ausgeschwemmte Proteinmenge am Material Peha taft

In einer weiteren Versuchsreihe wurde exemplarisch am sterilen Operationshandschuh Peha taft der Einfluss der Eluationszeit auf die eluierte Proteinmenge untersucht.

Methoden von Biorad und Pierce:

In der 1. Messreihe (Lot. Nr.:34 904 002) betrug die Eluationszeit 1 - 60 Minuten, wobei die Medien synthetischer Schweiß und aqua bidestillata verwendet wurden.

Für die 2. Messreihe (Lot. Nr.:34 904 002) erfolgte die Eluation nur im Medium synthetischer Schweiß für einen Zeitraum von 120 Minuten.

In der 3. Messreihe (Lot. Nr.:33 401 002) betrug die Eluationszeit 10 - 240 Minuten, wobei nur synthetischer Schweiß verwendet wurde.

Rocket-Immunelektrophorese:

Die Rocket-Immunelektrophoresen des Operationshandschuhes Peha taft (Lot. Nr. 34 904 002) erfolgten nach Eluationszeiten von 10, 30, 60, 120 und 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß.

3. Variabilität der Messung

Methoden von Biorad und Pierce:

Des Weiteren wurden die Proteinkonzentrationen von acht verschiedenen Handschuhen derselben oder verschiedener Chargen bestimmt. Die Messungen nach Biorad und Pierce erfolgten nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß.

Rocket-Immunelektrophorese:

Die Rocket-Immunelektrophoresen erfolgten unter gleichen Bedingungen. 12 µl Eluat der Handschuhe Gammex, Vasco, Microtouch, Peha taft und Biogel wurden in die Vertiefungen aufgetragen und im elektrischen Feld aufgetrennt, mit Coomasie angefärbt und auf Gelbondfilm getrocknet.

4. Auswirkung von Waschwiederholungen

Die Untersuchungen nach den Messmethoden Biorad und Pierce wurden an den sterilen Operationshandschuhen Peha taft, Microtouch und Biogel durchgeführt. Nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß wurden die Eluate ein erstes Mal bestimmt. Anschließend wurden die Handschuhe ein zweites Mal eluiert. Nach weiteren 120 Minuten fand eine dritte Eluation statt.

5. Auswirkung des Alters der Handschuhe

Die Untersuchungen nach den Messmethoden Biorad und Pierce erfolgten an sterilen Operationshandschuhen Peha taft unterschiedlichen Herstellungsdatums: alt Lot. Nr. 34 904 002; neu Lot Nr. 221 002 002. Die Untersuchungen erfolgten nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß.

4.7 Statistische Auswertung

Die Messwerte wurden mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms MS Excel 4.0 erfasst und ausgewertet. Die vergleichende statistische Bewertung der gewonnenen Daten erfolgte mit dem Programmpaket SAS.

Die Doppelbestimmungen aller Messwerte wurden jeweils gemittelt, nachdem die varianzanalytische Betrachtung eine gute Übereinstimmung der Messwiederholungen ergab.

Die Proteinkonzentrationen, der im Versuchsaufbau beschriebenen Gruppen, wurden anhand von Mittelwerten und Standardabweichungen dargestellt.

Anstelle der Vielzahl der resultierenden Einzelvergleiche mit t-Tests empfahl sich hier die Anwendung einer Varianzanalyse mit den Faktoren Methode (Biorad/Pierce), Medium (Aqua bidest./synthetischer Schweiß), Messzeitpunkt und Handschuhmaterial. Die statistischen Aussagen wurden hierdurch nicht nur überschaubarer, sondern hielten auch besser das vorgegebene Niveau von $2\alpha=0,05$ für die Irrtumswahrscheinlichkeit ein.

Die gewünschten Aussagen über Einzelvergleiche wurden im Anschluss hieran mit dem Scheffe-Test getroffen. Auf eine weitere Adjustierung, der immer noch erheblichen Anzahl von p-Werten, wurde verzichtet. Die Daten wurden zur Normalisierung und Homogenisierung der Varianzen in den Gruppen logarithmisch transformiert.

5. Ergebnisse

5.1 Vergleich der Methoden Biorad und Pierce im Intra-/bzw. Inter-Assay

Die Proteinkonzentration nach der Methode Biorad veränderte sich von Tag 1 zu Tag 2 nicht signifikant ($p > 0,1$) (Abb. 1). Dagegen fand sich nach der Methode Pierce von Tag 1 zu Tag 2 ein signifikanter Abfall der Werte ($p < 0,01$) (Abb. 2). Generell wurden nach Pierce hochsignifikant höhere Werte bestimmt als nach Biorad ($p < 0,0001$) (Tab. 5).

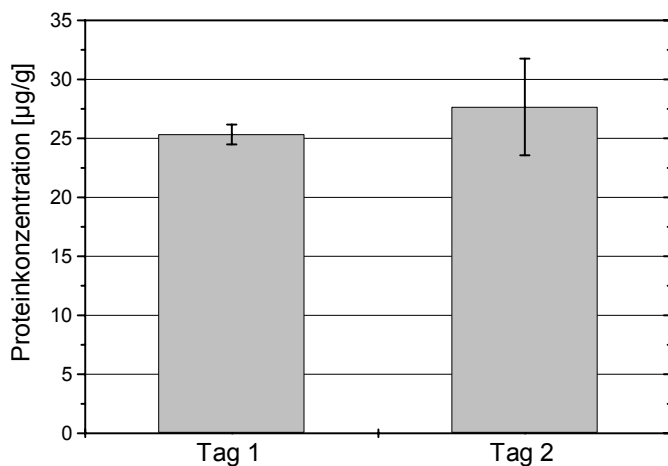


Abb. 1: Nach Biorad bestimmte Proteinkonzentration bei einer Eluationszeit von 120 Minuten in synthetischem Schweiß am Tag 1 und Tag 2

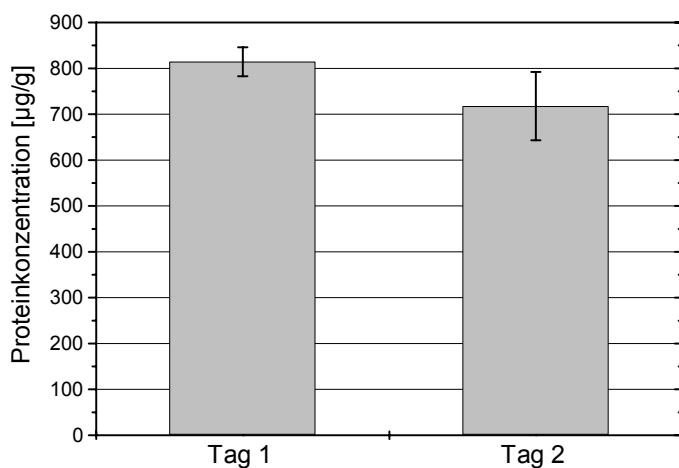


Abb. 2: Nach Pierce bestimmte Proteinkonzentration bei einer Eluationszeit von 120 Minuten in synthetischem Schweiß am Tag 1 und Tag 2

Tab. 5: Proteinkonzentrationen der Intra- und Inter-Assay Bestimmung

	Biorad		Pierce	
	Tag 1 (µg/g)	Tag 2 (µg/g)	Tag 1 (µg/g)	Tag 2 (µg/g)
Mittelwert	25,3	27,7	814,3	717,5
Standardabweichung	0,8	4,1	31,6	74,6
Minimum	24,3	18,2	779,5	569,3
Maximum	26,9	32,4	878,8	819,7
Median	25,2	28,5	810,7	700,3

5.2 Untersuchung des Operationshandschuhes Peha taft

5.2.1 Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 1 - 60 Minuten

Die Proteinkonzentrationen stiegen nach den Methoden von Biorad (40 auf 84 µg/g Handschuh) und Pierce (933 auf 1064 µg/g Handschuh), abhängig von der Eluationszeit, an. Bei beiden Methoden zeigte sich, von Schwankungen abgesehen, ein annähernd gleichartiger Verlauf der Proteinkonzentrationen in Schweiß und Aqua bidestillata (Tab. 6).

Unter Anwendung der Methode nach Biorad zeigte sich ein Gipfel im Eluationsmedium Schweiß nach 40 Minuten mit 105,8 µg/g Handschuh, in aqua bidest. wurde das Maximum erst nach 60 Minuten mit 111,3 µg/g Handschuh erreicht (Abb. 3).

Die Proteinkonzentration nach Pierce ließ einen annähernd gleichlaufenden Anstieg beider Kurven erkennen mit Höchstwerten in Schweiß nach 50 Minuten von 1103,4 µg/g Handschuh und in aqua bidest. nach 60 Minuten von 1172,6 µg/g Handschuh (Abb. 4).

Die Gesamtextrakte der lyophilisierten Eluate zeigten keine großen Streuungen. Die Werte lagen im Mittel bei 0,0026 g in synthetischem Schweiß bzw. in aqua bidest. bei 0,0025g (Tab. 6).

Tab. 6: Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 1 – 60 Minuten

Medium	Probe/ Zeit in Min.	Handschuh- gewicht trocken (g)	Biorad ($\mu\text{g/g}$)	Pierce ($\mu\text{g/g}$)	Lyophilisat (g)
synthetischer Schweiß	1/1	11,4	40,5	933,3	0,0029
	2/5	11,3	53,6	945,3	0,0027
	3/10	11,2	58,5	925,3	0,0031
	4/15	11,7	65,8	965,7	0,0021
	5/20	12,1	56,4	899,8	0,0024
	6/30	11,6	83,7	954,9	0,0021
	7/40	11,9	105,8	1063,9	0,0023
	8/50	11,5	104,2	1103,4	0,0033
	9/60	11,3	84,3	1065,5	0,0026
aqua bi dest.	10/1	11,2	79,1	880,1	0,0028
	11/5	11,9	69,9	875,7	0,0023
	12/10	11,5	70,9	906,8	0,0018
	13/15	11,4	79,3	972,3	0,0032
	14/20	11,2	81,8	996,2	0,0023
	15/30	11,6	62,1	896,8	0,0028
	16/40	11,6	83,1	956,1	0,0024
	17/50	11,4	98,3	1164,5	0,0030
	18/60	11,7	111,3	1172,6	0,0025

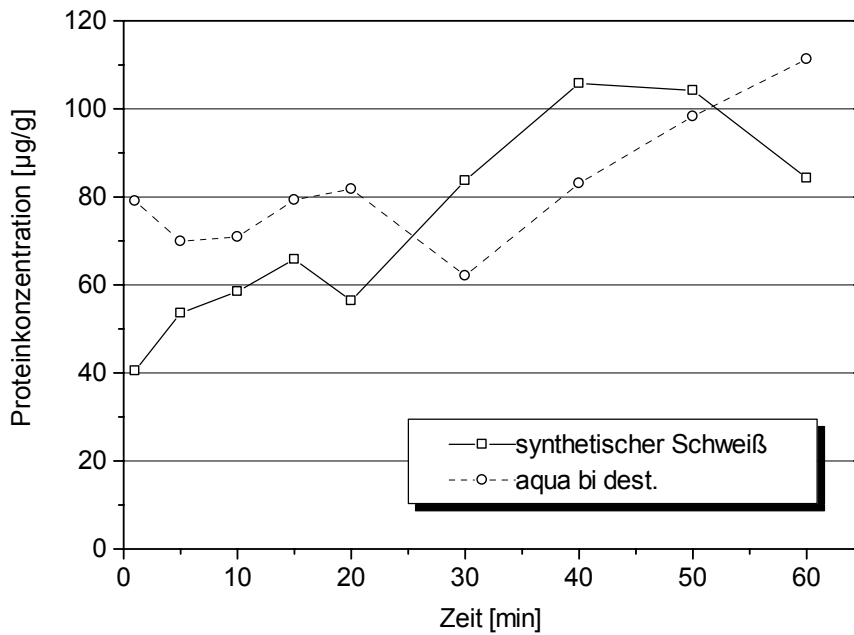


Abb. 3: Nach Biorad bestimmte Proteinkonzentration des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 1 – 60 Minuten in den Medien aqua bidest. und synthetischer Schweiß

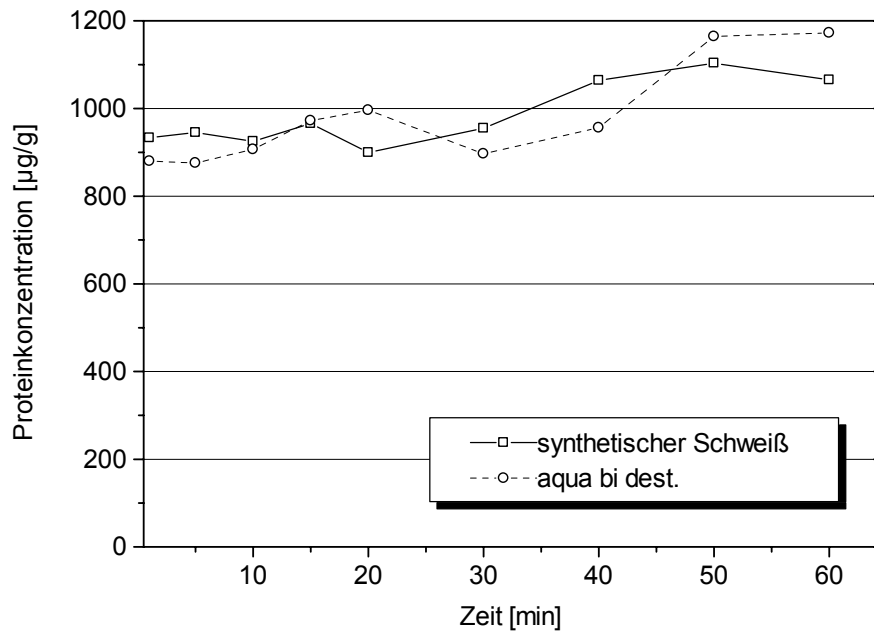


Abb. 4: Nach Pierce bestimmte Proteinkonzentrationen des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 1 – 60 Minuten in den Medien aqua bidest. und synthetischer Schweiß

5.2.2 Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 120 Minuten

Nach zweistündiger Eluationszeit in synthetischem Schweiß wurden die Proteine nach Biorad und Pierce bestimmt (Tab. 7). Für Biorad und Pierce wurden Maxima von 46,6 µg/g Handschuh bzw. 1309,3 µg/g Handschuh bestimmt.

Tab. 7: Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß

Probe	Handschuhgewicht trocken (g)	Biorad (µg/g)	Pierce (µg/g)	Lyophilisat (g)
Mittelwert	11,4	42,6	1182,5	0,00365
Standardabweichung	0,3	2,2	61,5	0,00086
Minimum	10,8	39,8	1112,9	0,0023
Maximum	11,9	46,6	1309,3	0,0049
Median	11,5	42,5	1172,1	0,0037

5.2.3 Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten

Ein zeitlicher Anstieg der Proteinkonzentrationen wurde sowohl mit der Methode Biorad als auch Pierce nachgewiesen. Ein Maximum an Proteinen wurde nach beiden Methoden bereits nach 120 Minuten erreicht (Tab. 8, Abb. 5, Abb. 6). Der Anstieg war unter Pierce relativ stärker.

Bei der Lyophilisation zeigte sich ein mit der Zeit sinkender Anteil an festen Bestandteilen.

Tab. 8: Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß

Probe/ Zeit in Min.	Handschuhgewicht trocken (g)	Biorad (µg/g)	Pierce (µg/g)	Lyophilisat (g)
1/10	11,343	40,211	712,70	0,00688
2/30	11,28	43,918	873,26	0,00656
3/60	10,941	50,558	800,20	0,00548
4/120	11,556	52,178	1140,23	0,00579
5/240	11,939	45,212	1120,68	0,00544

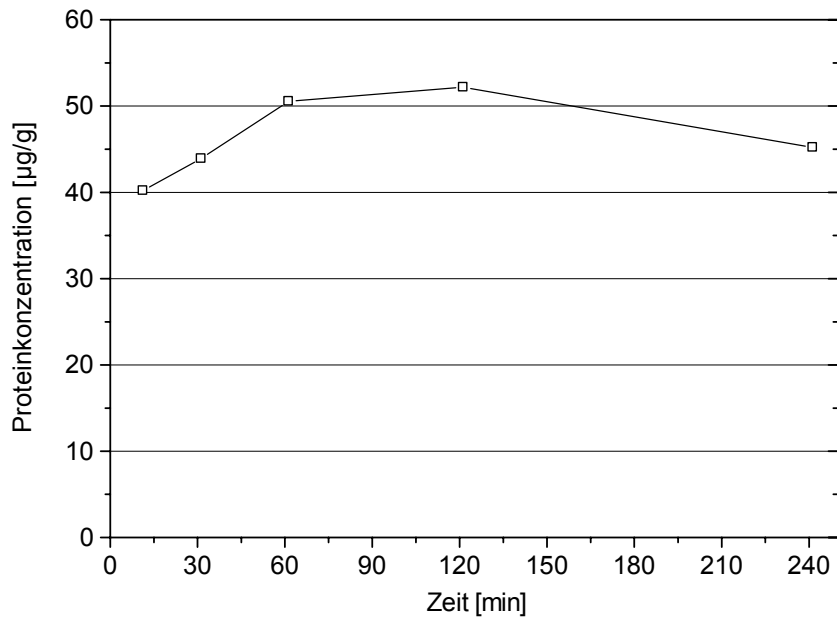


Abb. 5: Nach Biorad bestimmte Proteinkonzentration des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß

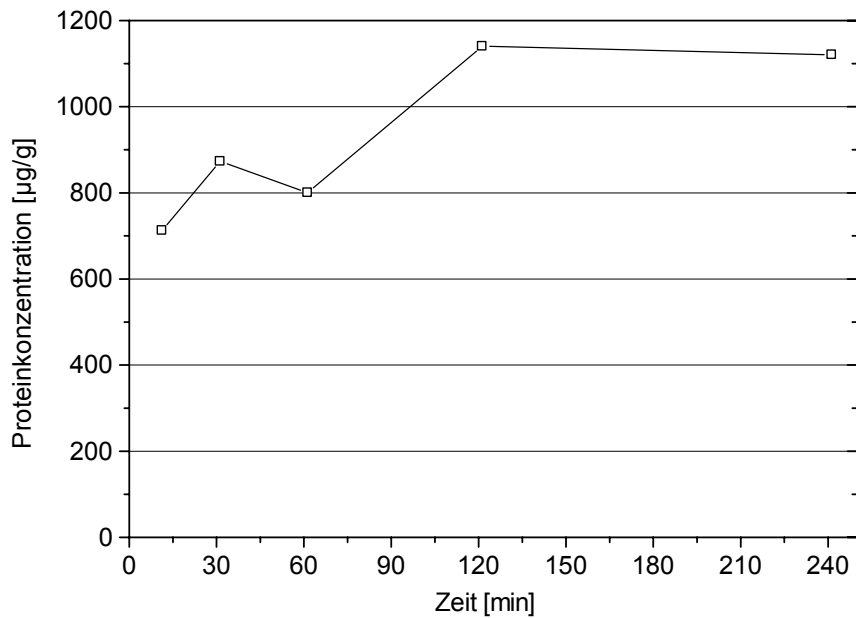


Abb. 6: Nach Pierce bestimmte Proteinkonzentrationen des Handschuhes Peha taft nach einer Eluationszeit von 10 - 240 Minuten in dem Medium synthetischer Schweiß

5.2.4 Rocket-Immunelektrophorese bei einer Eluationszeit von 10 – 240 Minuten

Die Rocketimmunelektrophorese dient der semiquantitativen Bestimmung der Proteine. Beim Operationshandschuh Peha taft war, mit zunehmender Eluationszeit von 10 bis 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß, ein Anstieg der Proteine zu erkennen (Abb. 7).

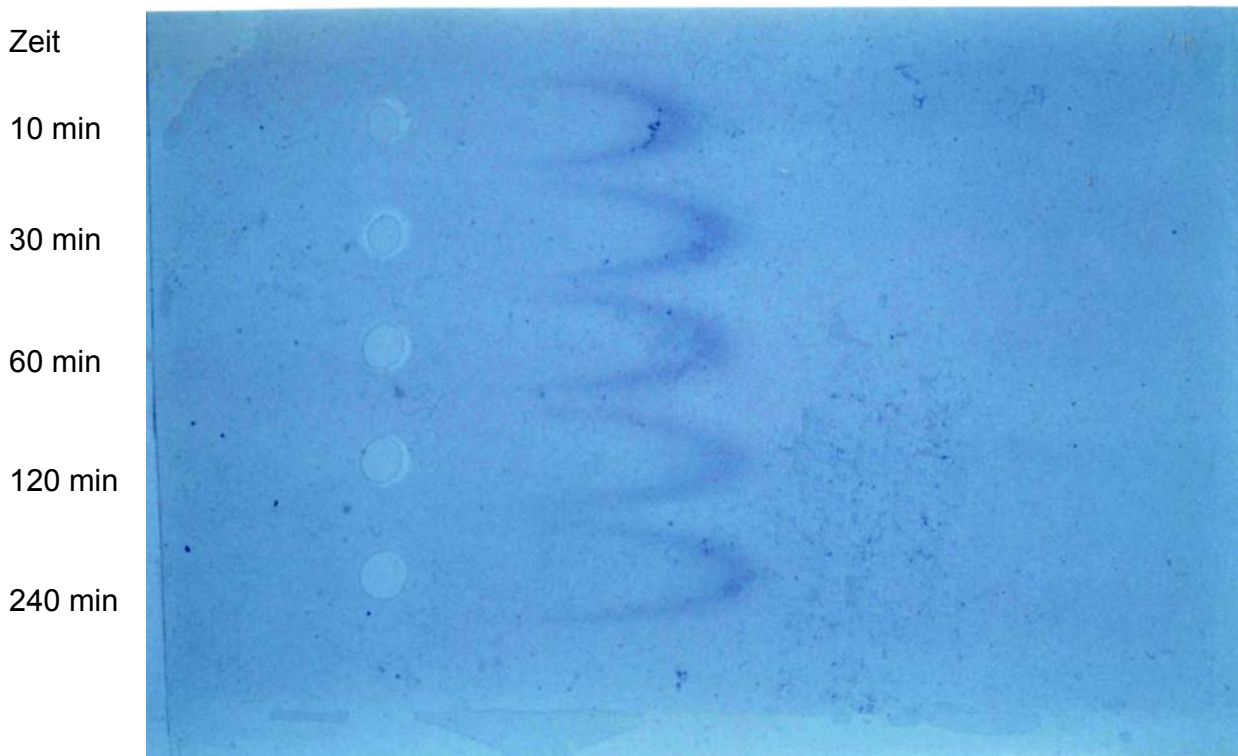


Abb. 7: Rocket-Immunelektrophoresen des Operationshandschuhes Peha taft nach Eluationszeiten von 10, 30, 60, 120 und 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß

5.3 Untersuchung verschiedener Operationshandschuhe

5.3.1 Methoden von Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 120 Minuten

Es wurden Operationshandschuhe verschiedener Hersteller (Gammex, Peha taft puderfrei, Nutrex, Neutralon, Peha taft hyperallergenic, Peha taft microptic, Vasco, Manex puderfrei) untersucht. Die Eluationszeit betrug jeweils 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß.

Die Handschuhe verschiedener Hersteller wiesen zum Teil deutliche Unterschiede in den Proteinkonzentrationen auf. Der Handschuh Gammex zeigte nach Biorad mit (6,3 µg/g Handschuh), und der Handschuh Peha taft puderfrei nach Pierce (67,3 µg/g Handschuh) die niedrigsten Werte an. Die höchsten Werte wurden nach der Methode Biorad bei Manex mit 60,4 µg/g Handschuh und nach Pierce bei Neutralon mit 1931,2 µg/g Handschuh gefunden.

Wie bereits für den Operationshandschuh Peha taft dargestellt, wurden mit den Methoden Biorad und Pierce auch für die übrigen Handschuhe sehr stark voneinander abweichende Ergebnisse gefunden.

Die Gesamtextrakte nach Lyophilisation liegen bei Neutralon, Peha taft puderfrei und Gammex oberhalb der Nachweisgrenze von 0,003 g. Bei Nutrex, Peha taft hypoallergenic und Peha taft microptic lagen die Gesamtextrakte unterhalb der Nachweisgrenze.

Tab. 9: Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach Biorad und Pierce bei einer Eluationszeit von 240 Minuten im Medium synthetischer Schweiß

Handschuh	Lot. Nr.	Handschuhgewicht trocken (g)	Biorad (µg/g)	Pierce (µg/g)	Lyophilisat (g)
Gammex	310489804	13,831	6,298	151,19	0,00405
Peha taft puderfrei	712726B	11,055	13,245	67,28	0,00552
Nutrex	304412204	12,667	52,198	204,80	0
Neutralon	31332633011	11,109	38,806	1931,25	0,00561
Peha taft hypoallergenic	21002002	10,942	43,141	605,80	0
Peha taft microptic	32703104	8,402	51,269	194,80	0
Vasco	93E0701-273D7	10,896	56,076	1064,32	0,00367
Manex puderfrei	92K 25CK	11,348	60,425	504,97	0

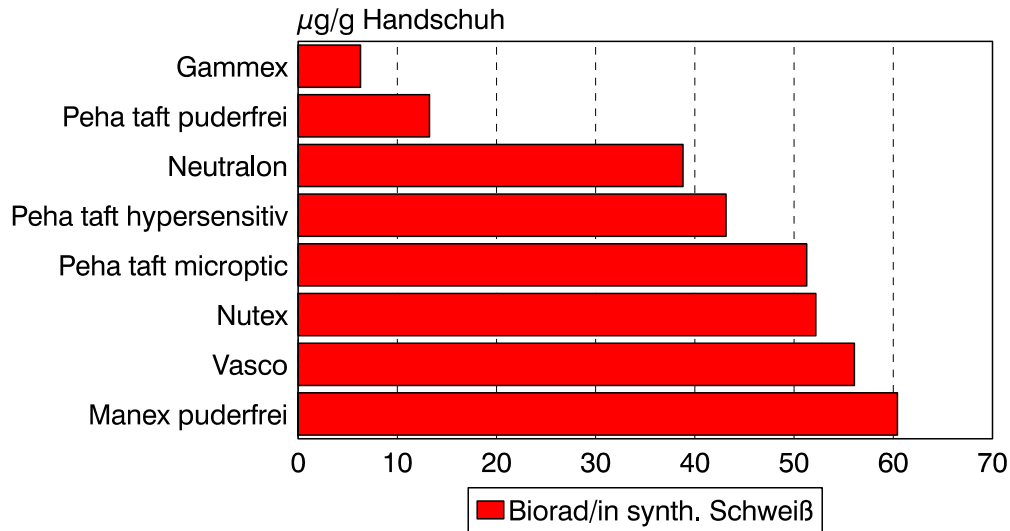


Abb. 8: Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß nach der Messmethode Biorad

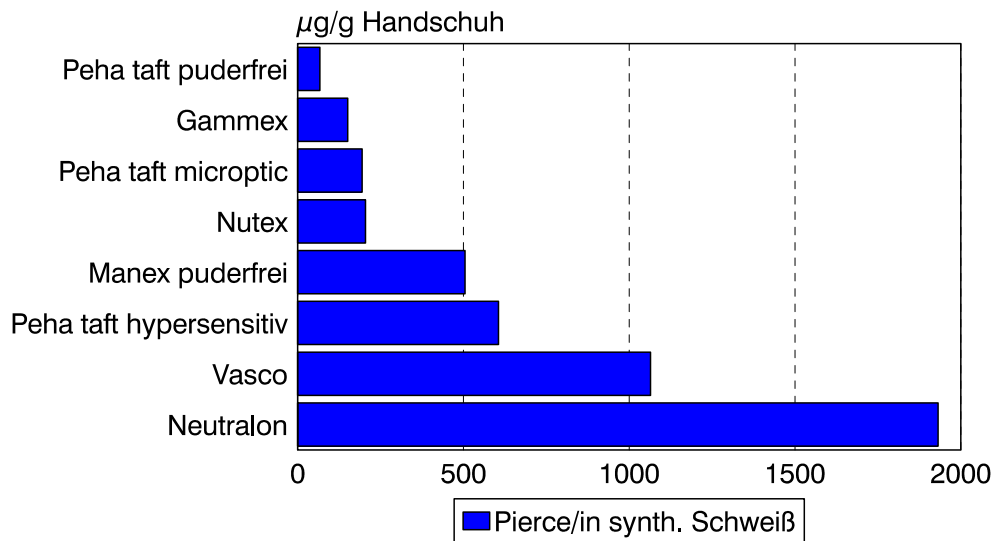


Abb. 9: Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach einer Eluationszeit von 120 Minuten im Medium synthetischer Schweiß nach der Messmethoden Pierce

5.3.2 Rocket-Immunelektrophorese bei einer Eluationszeit von 10 – 240 Minuten

Auch die semiquantitativen Ergebnisse der Rocketimmunelektrophorese zeigten unterschiedliche Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe bei einer Eluation über 120 Minuten in synthetischen Schweiß (Abb. 10).

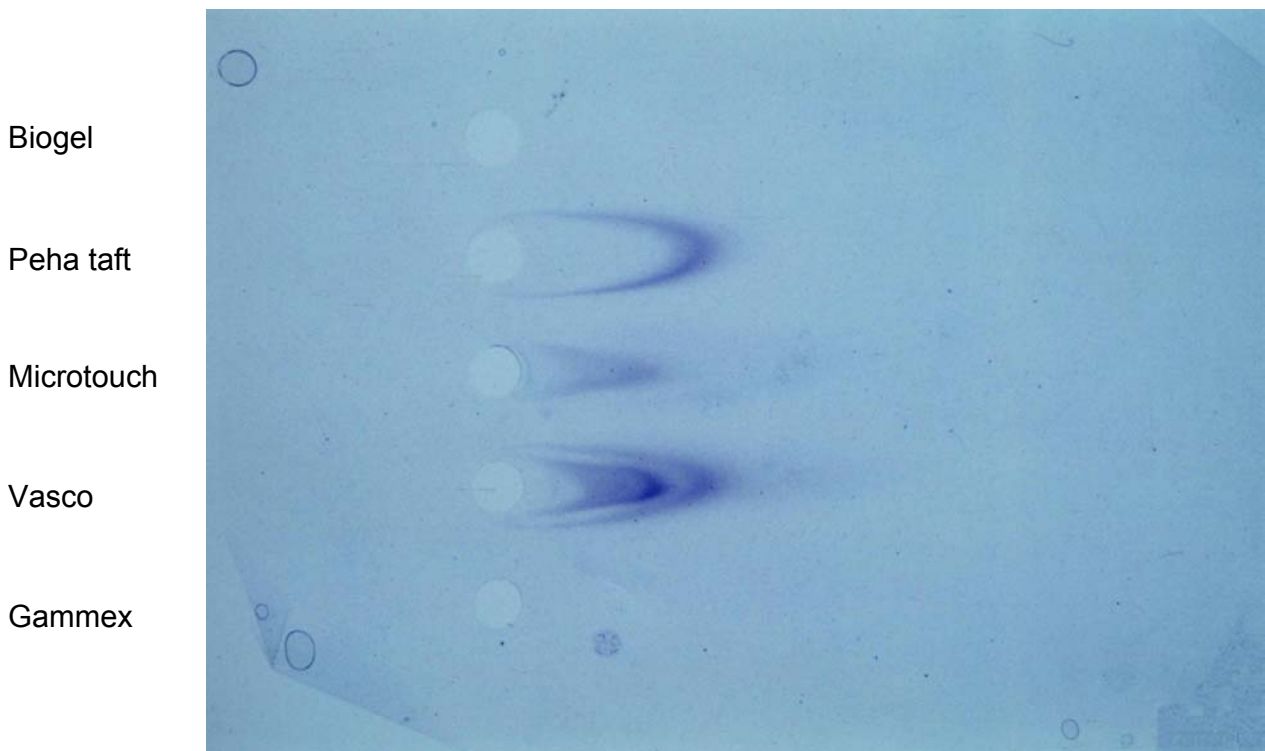


Abb. 10: Rocket-Immunelektrophorese verschiedener Handschuhe unterschiedlicher Hersteller nach einer Eluationszeit von 120 Minuten in synthetischem Schweiß

5.3.3 Waschwiederholungen an verschiedenen Handschuhen

In der Bestimmung nach Biorad zeigten die Handschuhe Microtouch und Peha taft erhöhte Werte in der ersten Eluation an. Nach den aufeinanderfolgenden Waschgängen nahmen bei Microtouch die Proteinwerte in der Eluationszeit um mehr als die Hälfte ab, während sich bei Peha taft erst eine wesentliche Senkung auf ca. 50% im dritten Waschgang erkennen ließ. Die Proteinwerte des Handschuhes Biogel blieben nahezu konstant.

Ähnliche Ergebnisse wurden in der Proteinbestimmung nach Pierce gefunden. Die Proteinangaben waren in der 1. Eluation am höchsten. Der Handschuh Peha taft wies hier die höchsten Proteinwerte auf. In der 2. Eluation waren die Proteine stark gesunken. Ein leichter Rückgang an Proteinen zeigte sich auch nach weiteren 120 Minuten im 3. Eluat. Auch hier lag der Handschuh Biogel mit seinem Anfangswert weit unter den ermittelten Proteinen der anderen Handschuhe.

Tab. 10: Proteinkonzentrationen verschiedener Handschuhe nach dem 1., 2. und 3. Waschvorgang

Handschuh	Lot. Nr.	Handschuhgewicht trocken (g)	Biorad			Pierce		
			1. (µg/g)	2. (µg/g)	3. (µg/g)	1. (µg/g)	2. (µg/g)	3. (µg/g)
Microtouch	07822507819	11,751	212,49	62,03	23,26	610,17	251,41	182,55
Peha taft	34904002	11,209	43,66	39,35	21,63	901,31	390,42	234,18
Biogel	9308931028	14,214	20,743	19,86	19,09	235,84	113,28	78,37

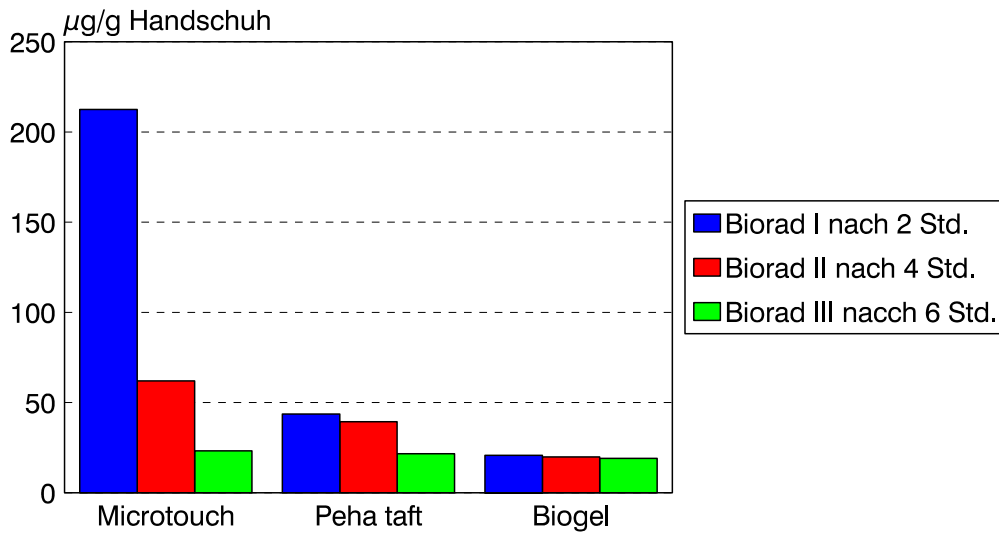


Abb. 11: Proteinkonzentrationen nach Biorad der Handschuhe Microtouch, Peha taft und Biogel nach Waschwiederholungen von 2, 4 und 6 Stunden im Medium synthetischer Schweiß

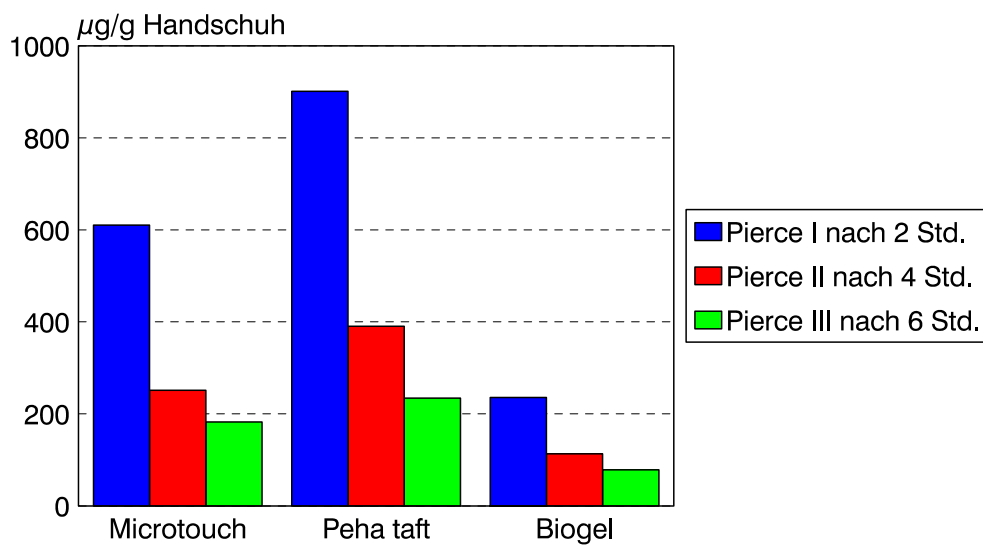


Abb. 12: Proteinkonzentrationen nach Pierce der Handschuhe Microtouch, Peha taft und Biogel nach Waschwiederholungen von 2, 4 und 6 Stunden im Medium synthetischer Schweiß

5.4 Operationshandschuhe Peha taft unterschiedlichen Alters

In den Handschuhen älteren Herstellungsdatums war die Proteinkonzentration sowohl in aqua bidest. als auch synthetischem Schweiß erhöht. Dabei war der Unterschied nach der Methode von Pierce noch stärker ausgeprägt als nach der Methode nach Biorad ($p < 0,01$). So war die Proteinkonzentration in synthetischem Schweiß bei älteren Handschuhen nach der Methode nach Pierce mehr als doppelt so hoch wie in den Handschuhen neueren Herstellungsdatums (Tab. 11, Abb. 13, Abb. 14).

Tab. 11: Proteinkonzentrationen nach Biorad und Pierce der Operationshandschuhe Peha taft unterschiedlichen Alters bei einer Eluationszeit von 120 Minuten in den Medien aqua bidest. und synthetischer Schweiß

	Handschuhgewicht trocken (g)	Biorad ($\mu\text{g/g}$)	Pierce ($\mu\text{g/g}$)
alt in aqua bidest	11,511	44,396	1481,65
neu in aqua bidest	11,298	36,009	892,10
alt in synthetischem Schweiß	11,852	44,791	1516,27
neu in synthetischem Schweiß	11,446	33,171	571,62

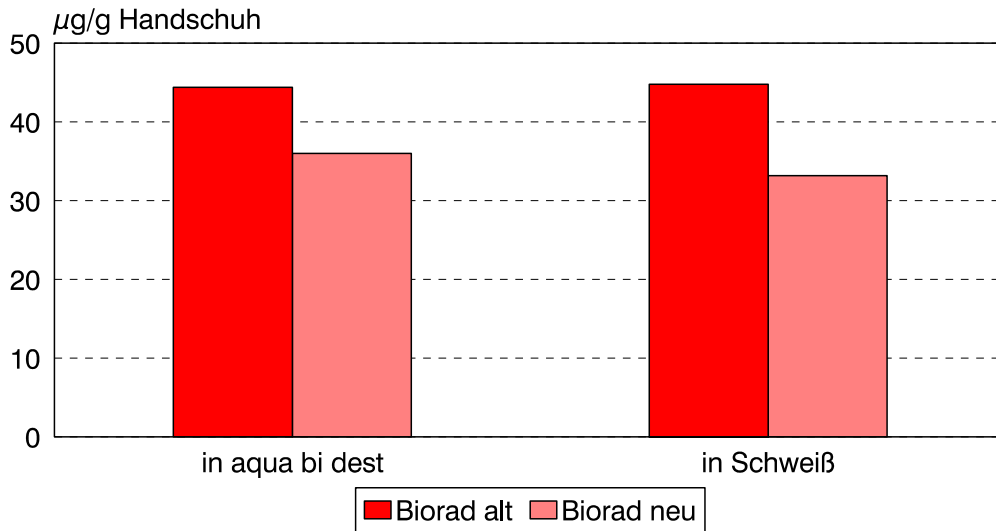


Abb. 13: Proteinkonzentrationen in µg/g des Handschuhes Peha taft alt/neu im Medium aqua bidest./ synthetischer Schweiß nach einer Eluationszeit von 120 Minuten nach der Messmethode Biorad

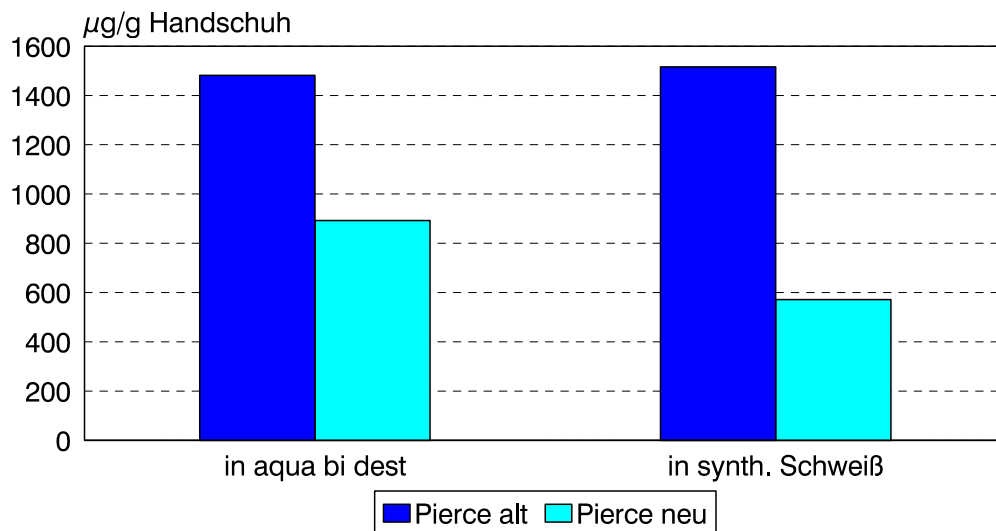


Abb. 14: Proteinkonzentrationen in µg/g des Handschuhes Peha taft alt/neu im Medium aqua bidest./ synthetischer Schweiß nach einer Eluationszeit von 120 Minuten nach der Messmethode Pierce

6. Diskussion

Ausgelöst durch die HIV-Pandemie hat in den letzten Jahren weltweit der Verbrauch an Schutzhandschuhen erheblich zugenommen. Insbesondere Latexhandschuhe zeigen mechanische und preisliche Vorteile und sind bezüglich der Entsorgung wenig problematisch, was angesichts eines Verbrauchs von 800 Millionen Einmalhandschuhen allein in Deutschland ein nicht unerhebliches Argument ist. Die gestiegene Nachfrage nach Naturgummiprodukten führte rasch zu Produktionssteigerungen. Dabei wurden zumindest in den 80er Jahren auch ungenügend ausgewaschene Einmalhandschuhe auf den Markt gebracht, die sich durch einen besonders hohen Proteinanteil auszeichneten. Das Tragen von allergologisch günstigeren Handschuhen ist angesichts der deutlichen Zunahme der Typ I-Allergie gegen Naturlatex in medizinischen Berufen eine absolut notwendige Präventivmaßnahme. Neben den Angehörigen der Heil- und Pflegeberufe sind auch OP-Patienten durch Kontakt mit Latexallergenen gefährdet. Kürzlich konnten beispielsweise Theißen und Mitarbeiter zeigen, dass Kinder mit drei oder mehr operativen Eingriffen in ihrer Anamnese eine Hochrisikogruppe für eine Sensibilisierung gegen Latex darstellen [128].

Als Kriterium für die Einstufung des allergologischen Potentials von Latexhandschuhen wird einerseits der Proteingehalt und andererseits der Allergengehalt herangezogen [47, 56]. Die im Naturlatex enthaltenden Proteine verursachen eine allergenisierende Wirkung vom Soforttyp [34]. Allergien vom Spättyp werden hauptsächlich durch sog. Gummihilfsstoffe oder Ingredienzien ausgelöst, die dem Rohmaterial Naturlatex, zur Sicherung einer Verarbeitungsfähigkeit oder Erreichung wünschenswerter Eigenschaften des Endproduktes, bei der Fertigung zugesetzt werden [63].

Von den zugeführten Gummiinhaltsstoffen haben sich vor allem die Vulkanisationsbeschleuniger aus der Thiuram- und Carbamatgruppe, seltener diejenigen aus der Thiazol-, Aldehydamin- und Guanidingruppe, sowie phenolische Alterungsschutzmittel, als häufigste Allergieauslöser erwiesen [137].

Bei Allergien des Typ I kann es, über primäre Krankheitssymptome an den Händen hinaus, auch zu Fernreaktionen wie Quaddelbildung an den Körperpartien, Gesichts-, insbesondere Lidschwellung, Augenjucken, Niesreiz, Rhinitis, Asthma oder sogar Anaphylaxie kommen [83].

Als Allergen wurde ein im Naturlatex enthaltendes wasserlösliches Protein ausfindig gemacht [34]. Es handelt sich dabei um ein erstmalig von Light und Dennis beschriebenen und sequenzierten Rubber elongation factor, REF (14 kD-Protein), welcher als Bestandteil von Latexmilch, Handschuhextrakten und Handschuhpuder nachgewiesen und als Hauptauslöser der Typ I-Allergie gegen Naturlatex angenommen wird [63, 82, 108]. Alenius und Mitarbeiter gelangten allerdings zu dem Schluss, dass REF nur eines, aber nicht das bedeutendste Latexallergen darstellt und vielmehr auch Prohevein eine wesentliche Rolle spielt [4]. Eine Typ I-Allergie gegen das aus Maisstärke hergestellte Handschuhpuder ist eine Rarität. Studien von Seggev et al. [117] sowie Crippa und Pasolini [41] beschrieben Handschuhpuder nur in wenigen Fällen als das entscheidende, auslösende Allergen für Reaktionen vom Soforttyp.

Der Gehalt an löslichen Proteinen steht in Beziehung zur Häufigkeit allergischer Reaktionen [50, 60, 121, 134]. Die Allergieprophylaxe verlangt somit die Suche nach Handschuhen, die sich durch einen möglichst niedrigen Proteinanteil auszeichnen.

Zur Ermittlung des Proteingehaltes in Latexhandschuhen werden heute überwiegend chemisch-analytische Verfahren herangezogen, wie sie in vorliegender Arbeit mit der modifizierten Lowry-Methode und der Bradford-Methode zum Einsatz kamen. Daneben kann auch die HPLC-Methode (High Pressure Liquid Chromatography) zur Überprüfung der Ergebnisse herangezogen werden. In Anbetracht der niedrigen Korrelation zwischen Protein- und Allergengehalt in Handschuhen mit niedrigen Proteingehalten [3, 20] richten sich die derzeitigen Bemühungen vor allem auf die direkte Bestimmung der Allergenität [103]. Die entsprechenden immunologischen Methoden zur Bestimmung des Allergengehaltes in Latexhandschuhen basieren auf einem ELISA-Inhibitionsverfahren, einer RAST-Inhibition oder Analyse einzelner allergener Proteine.

Im Rahmen eines, durch die Europäische Union geförderten Projektes (Commission of the European Communities, Measurements and Testing Programme, MATI-CT 94 00 60, Universität Erlangen, Österreichisches Forschungsinstitut für Chemie und Technik, Universität Kopenhagen), wurden wesentliche Parameter zur Optimierung und Standardisierbarkeit der herkömmlichen Messmethoden für Latexproteine in medizinischen Einmalhandschuhen (modifizierte Lowry-Methode, Bradford-Methode, Leap und HPLC) erarbeitet [72].

Die Ergebnisse dieser Studie gingen in den Europäischen Standard EN 455-3 ein und sind, in der Form von 1999, zur Zeit immer noch gültig (modifizierte Lowry-Methode (ASTM 5712 und EN 455-3)).

Die vorliegende Studie hatte das Ziel, anhand der untersuchten Latexhandschuhe zu überprüfen, inwieweit es - wahrscheinlich aufgrund der Unterschiede im Herstellungsverfahren - zu Differenzen der Konzentrationen an extrahierbaren Latexproteinen kommt. Deshalb wurde der Proteingehalt unterschiedlicher Latexhandschuhe mit Hilfe der Methoden nach Lowry und Biorad getestet. Neben aqua bidest. wurde vor allem das Medium synthetischer Schweiß eingesetzt. Die Versuche wurden in verschiedenen und festgelegten Eluationszeiten durchgeführt.

Betrachtet man die Bestimmungen nach den Methoden Biorad und Pierce, so verdeutlicht vor allem die Abbildung 2, dass nach der Methode Biorad in unterschiedlichen Extraktionsmedien (aqua bidest., synthetischer Schweiß) abweichende Ergebnisse zu verzeichnen waren. Alenius und Mitarbeiter berichteten, dass die Bradford-Methode niedrigere Konzentrationen ergaben als das Lowry-Verfahren [3].

Im Unterschied hierzu zeigten die mit der modifizierten Lowry-Methode ermittelten Proteinkonzentrationen recht gute Übereinstimmungen. So ergaben die nach Pierce ermittelten Werte (Abb. 2), bei unterschiedlichen Medien, annähernd parallele Werte (Piks in synthetischem Schweiß: 37,4 µg/g Handschuh; aqua bidest.: 42 µg/g Handschuh).

Es war festzustellen (Abb. 2,3,5), dass mit dem Anstieg der Eluationszeit ein Anstieg der Konzentration an extrahierbaren Proteinen zu einher ging [67]. Ein Maximum lag dabei durchschnittlich bei zwei Stunden (siehe Abb 3,5).

Unterstützung erfuhren die Ergebnisse in den Rocket-Immunelektrophoresen, unter Anwendung eines gegen nativen *Hevea brasiliensis* Baumsaft hergestellten Sheep-anti-Latex Antikörpers, wo nur geringe Unterschiede in der Nähe der einzelnen Raketen jedoch mit einem Maximum bei zwei Stunden zu verzeichnen waren (Abb. 4).

Gesamtextrakte wurden in verschiedenen Versuchen durch Abwiegen der festen Bestandteile nach Gefriertrocknen bestimmt. Die Gewichte der einzelnen lyophilisierten Eluate zeigten keine starken Streuungen. So lagen die Werte bei Peha taft bei 0,0025 g/ml.

Beim Vergleich der Proteingehalte unterschiedlicher Latexhandschuhe (Biogel, Gammex, Peha taft puderfrei, Nutex, Neutralon, Peha taft hypoallergenic, Peha taft microptic, Vasco, Manex, Microtouch) in einer Eluationszeit von zwei Stunden erzielten wir, ähnlich anderen Studien, stark abweichende Ergebnisse (siehe nachfolgende Tabelle). Hierbei fielen vor allem der Handschuh Microtouch (Biorad: 3,9 µg/g Handschuh) und Biogel (Biorad: 0.2 µg/g Handschuh) auf. Nach der Methode Pierce zeigte der Handschuh Vasco (48,8 µg/g Handschuh) einen Höchstwert an Proteinen, im Gegensatz zu Peha taft puderfrei mit 4 µg/g Handschuh (Abb. 7).

Tab. 12: Literaturvergleich zum Proteingehalt von Latexhandschuhen

Handschuh	Proteingehalt nach modif. Lowry-Test (µg/g Latex)					
	vorliegen- de Arbeit	Yunginger et al. [142]	Alenius et al. [3]	Baur et al. [18]	Heese et al. [72]	BGW [23]
Biogel Standard	7,43	< 15	15	25	24,3	22
Gammex	9,8		68	155	107	<10
Manex pf	33			37	10	16,9
Microtouch OP	25,2	225	138		< 10	31,2
Neutralon (N. alt)	12,9	(494)		(563)	15,6	25,5
Nutex steril	13,7			141	58,3	33,6
Peha taft alt	34,8				488	
Peha taft neu	4,04				41,8	
Peha Microptic	46,2			622	279	

Vergleichende Studien [18, 19, 72, 142] zeigten annähernd gleiche Ergebnisse nach der Lowry-Methode bei den Handschuhen Biogel und Manex. Starke Abweichungen bestanden, wie auch die Studie von Baur und Mitarbeitern [18] zeigt, bei Peha taft microptic und Neutralon.

Aktuelle Vergleiche mit den Studien nach BGW [23] ergaben höhere Werte für Biogel, Microtouch Neutralon und Nutex steril Handschuhe, während Manex puderfrei und Gammex geringere Werte aufwiesen.

Die dazugehörigen Rocket-Immunelektrophoresen geben in den Höhen der einzelnen Raketen ebenfalls die Unterschiede der vorhandenen Proteine wieder (Abb. 8). Die Lyophilisate lagen bei 0,0026 g/ml.

Variationen von Extraktionsmedien (aqua bidest., synthetischer Schweiß) und Extraktionsparametern (Extraktionszeit) können, selbst bei Anwendung derselben Messmethoden, zu unterschiedlichen Resultaten der Proteingehalte in Latexhandschuhen identischer Lot-Nummern führen. Problematisch ist auch, dass bestimmte Inhaltsstoffe der Latexhandschuhe (z.B. Detergenzien, Silikon, Akzelerator) mit den oben angegebenen kalorimetrischen Messmethoden interferieren können und somit gegebenenfalls zur Ermittlung falscher Proteinkonzentrationen führen können [72]. In Einzelfällen kann es bei der Anwendung der modifizierten Lowry-Methode durch interferierende Substanzen, zugesetzte Fremdproteine oder Oberflächeneffekte verfälschte, meist zu hohe Proteinwerte resultieren. Deshalb wird eine Überprüfung der Ergebnisse durch Aminosäureanalyse nach Totalhydrolyse mittels HPLC empfohlen.

Der europäische Norm-Entwurf zur Prüfung und Kennzeichnung der Biokompatibilität medizinischer Einmalhandschuhe EN 455-3 [45] empfiehlt als Standardprotokoll die Anwendung der modifizierten Proteinbestimmung nach Lowry, mit kalorimetrischer Messung des Proteins, unter Verweis auf die weitverbreitete Verfügbarkeit und einfache Durchführung dieser Methode, die rasche und stabile Farbentwicklung und die Reinigung durch einen Fällungsschritt. In einem normativen Anhang zum Normentwurf werden die einzelnen Schritte zur Proteinbestimmung im Detail festgelegt, um das Erreichen eines unteren Grenzwerts von 10 µg Protein/g Handschuh zu gewährleisten. In Deutschland gilt derzeit eine Konzentration unter 30 µg als niedrig [28].

Bereits Anfang der neunziger Jahre wurde der Einsatz ungepuderter OP-Handschuhe als Beitrag zur Adhäsionsprophylaxe in der Allgemeinchirurgie gefordert [58, 81] und wiederholte Auswaschung zur Verringerung der Allergenität empfohlen [91]. Laut Baur et al. [15], Brehler et al. [32], Fuchs [56], Heese [67], Ruëff und Przybilla [113] gibt es heute keine medizinische Indikation, die den Einsatz gepuderter Handschuhe erforderlich macht.

Fuchs [56] weist allerdings auf die irreführende, nicht standardisierte Bezeichnung „hypoallergen Handschuhe“ hin, auf dessen Deklaration inzwischen verzichtet wird. Diese Handschuhe stellen keine Sicherheit dar, da nicht definiert ist, ob sie wenig oder keine Allergene enthalten oder ob sie proteinarm oder proteinfrei sind. Sie können zum einen die mit den Thiuramen strukturell verwandten Dithiocarbamate enthalten, zum anderen aus Naturlatex gefertigt sein. „Hypoallergene Handschuhe“ sind nicht mit „verträglich“ gleichzusetzen. Erfahrungsgemäß wird dies jedoch oft missverstanden und führt zu langwierigen, vermeidbaren Krankheitsverläufen [91].

In den vom Bundesministerium für Arbeit und Sozialordnung publizierten Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) wird Naturgummilatex unter den atemwegssensibilisierenden und allergenen Stoffen aufgeführt [132] und begründet [133 pp 46f], was zu einer Einstufung der Heil- und Pflegeberufe, insbesondere bei Tätigkeiten in operativen Bereichen, als auch Berufe mit erhöhtem Risiko für die Entstehung einer Soforttyp-Allergie führt. Entsprechend wird in der neuen TRGS 540 [101] der Ersatz gepuderter Latexhandschuhe durch puderfreie, allergenarme Latexhandschuhe oder geeignete latexfreie Handschuhe und als Schutzmaßnahme gegen staubförmige atemwegssensibilisierende Stoffe, der Einsatz von Partikelfiltern, mindestens der Schutzstufen P2 bzw. FFP2 für Arbeitgeber der Heil- und Pflegeberufe verbindlich vorgeschrieben (pp 58ff). Auch die Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege, die im Jahre 1997 eine Kampagne gegen Latexallergien startete, und der Verband der gesetzlichen Unfallversicherungen unterstützen die entsprechenden Bemühungen. In den Vereinigten Staaten empfahlen 1997 die American Academy of Allergy, Asthma & Immunology, und das American College of Allergy, Asthma & Immunology in einer gemeinsamen Erklärung, die ausschließliche Verwendung puderfreier Latexhandschuhe [28].

Nach übereinstimmenden Aussagen der neuen Literatur stellt die zunehmende Verbreitung puderfreier Latexhandschuhe einen weiteren wesentlichen Fortschritt aus allergologischer Sicht in Krankenhäusern und medizinischen Praxen dar. Brehler et al. geben einen Überblick über Studien, die die Prävalenz einer Latexsensibilisierung bei Krankenhauspersonal vergleichen und ziehen Schlussfolgerungen für den Ersatz gepuderter, durch puderfreie Latexhandschuhe mit niedrigem Proteingehalt [30]. Durch herstellungsbedingte Chloridierung und nachfolgende Intensivierung der Auswaschverfahren wiesen puderfreie Latexhandschuhe meistens deutlich niedrigere Proteinkonzentrationen auf als gepuderte [18, 142]. Die geschätzte Gesamt-Pudermenge für einen

gepuderten Handschuh beträgt 100-400mg. Um einen Handschuh als „ungepudert“ bezeichnen zu können, ist ein Pudergehalt von 2mg/Handschuh nicht zu überschreiten.

Betrachtet man, wie in Abbildung 11 und 12 zu erkennen, einen Handschuh unterschiedlicher Artikelnummer, so konnten wir feststellen, dass der Handschuh Peha taft sowohl in aqua bidest. als auch in synthetischem Schweiß mit älterer Artikelnummer einen wesentlich höheren Proteinanteil zeigt als Handschuhe neueren Herstellungsdatums.

Studien von Heese an Neutralon-Handschuhen alten und neuen Typs belegen dieses Ergebnis ebenfalls und lassen erkennen, dass dieses durch die intensiven Bemühungen der Hersteller zur Reduzierung des allergologischen Potentials von Latexhandschuhen, z. B. durch die Verlängerung der Auswaschzeiten, erreicht werden kann [72].

Dass durch mehrere Waschprozesse Proteine zu verringern sind, belegen die vorliegenden Versuchsergebnisse (Abb. 9,10), und zwar insbesondere bei Handschuhen mit anfänglich sehr hohen Proteinkonzentrationen (Microtouch). Schon nach dem zweiten Waschprozess ist eine Verringerung an Proteinen um mehr als die Hälfte zu erkennen. Dies bestätigen ebenfalls Studien von Baur und Mitarbeitern, die neben Waschprozessen chemische Behandlungsverfahren oder beidseitiges Beschichten zur Proteinminderung empfehlen [19, 20].

Um Prophylaxemaßnahmen gegen eine Sensibilisierung für Naturlatex bei Angehörigen der Heil- und Pflegeberufe zu evaluieren, führten Allmers und Kollegen eine Prospektivstudie durch [9]. 7 der 90 Probanden wiesen vor der Intervention positive Hauttests, naturlatexspezifische IgE-Antikörper und allergische Symptome beim Umgang mit Latexhandschuhen auf. Nach Austausch der gepuderten Latexhandschuhe gegen puderfreie oder synthetische Schutzhandschuhe zeigten 6 der 7 sensibilisierten Probanden signifikant niedrigere IgE-Antikörperkonzentrationen. Innerhalb von 24 Stunden nach der Substitution fielen die Latex-Allergenkonzentrationen in der Raumluft, die bis zu 49,9 ng/m³ betragen hatten, unter die Nachweisgrenze, und zwar sowohl beim Einsatz puderfreier als auch synthetischer Handschuhe. Auch bei latexfreien Handschuhen musste allerdings die Möglichkeit einer Kontakturtikaria in Betracht gezogen werden [27]. Nach bisherigen Ergebnissen sind Soforttyp-Sensibilisierungen gegen Gummiakzeleratoren ausgesprochen selten, können aber ein Problem für Individuen darstellen, die Kontakturticaria auch durch Gummiakzeleratoren aufweisen.

Insgesamt belegen die bisherigen Ergebnisse jedoch eindeutig, dass mit Hilfe der genannten Prophylaxemaßnahmen ein Verbleiben von sensibilisierten bzw. allergiekranken Personen an ihrem Arbeitsplatz und ein besserer Schutz von Risikopatienten gewährleistet werden kann.

7. Zusammenfassung

Die Kenntnis allergologisch relevanter Eigenschaften von Latexhandschuhen und deren Berücksichtigung im Herstellungsprozess ist angesichts der seit mehreren Jahren registrierten deutlichen Zunahme von Typ-I-Allergien gegen Naturlatex von außerordentlicher prophylaktischer Bedeutung.

Studien belegen, dass das allergologische Potential eines medizinischen Naturlatex-Handschuhs insbesondere durch seine Konzentration an extrahierbaren, wasserlöslichen Proteinen beeinflusst wird. Ferner werden für die Allergenität die vorhandenen Akzeleratoren verantwortlich gemacht.

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Variationsbreite der Konzentrationen der extrahierbaren, wasserlöslichen Proteine von verschiedenen Latexhandschuhen zu bestimmen und aufzuzeigen.

Die Versuche wurden an verschiedenen Latexhandschuhen (Peha taft, Biogel, Gammex, Peha taft puderfrei, Nutex, Neutralon, Peha taft hypoallergenic, Peha taft microptic, Vasco, Manex, Microtouch) durchgeführt. Zur Proteinbestimmung wurden die Methoden nach Lowry und Bradford herangezogen.

Unter Anwendung unterschiedlicher Medien und Eluationszeiten konnte ein Maximum an extrahierbaren Proteinen nach zwei Stunden festgestellt werden. Nach festgelegter Eluationszeit von zwei Stunden wurden an verschiedenen Operationshandschuhen starke unterschiedliche Proteinkonzentrationen ermittelt.

Im Vergleich mit anderen Studien zeigten die Ergebnisse auch, dass es bei einigen allergologisch günstigen Latexhandschuhen (z. B. Biogel, Gammex) zur Ermittlung falsch hoher Proteinkonzentrationen kommen kann. Bestimmte Inhaltsstoffe können offensichtlich mit der Lowry-Methode interferieren. Hieraus lässt sich schließen, dass weitere Verfahren (wie z. B. HPLC-Methode) angewandt werden sollten, um die nach der Lowry-Methode bestimmten Messwerte zu überprüfen und zu validieren.

Im Hinblick auf das praxisrelevante Ziel einer Allergieprophylaxe sollte die Untersuchung anhand wiederholter Waschprozesse zeigen, dass hiermit ein Verfahren zur Reduzierung des Proteingehaltes

zur Verfügung steht. Vor allem mit Hilfe der standardisierten Lowry-Methode können Handschuhe unterschiedlicher Marken ausgetestet werden, der Proteingehalt der Handschuhe unter standardisierten Bedingungen bestimmt und deren Eignung festgestellt werden.

Die bereits eingeleitete Umstellung medizinischer Einrichtungen auf latexfreie bzw. auf puderfreie, proteinarme Latex-Einmalhandschuhe konnte inzwischen mit Erfolg in Deutschland umgesetzt werden.

Im Hinblick auf die „grundlegenden Anforderungen an Medizinprodukten“ sind somit eine möglichst weitgehende Reduzierung des Proteingehaltes und damit gleichzeitig der Allergene geboten. Grundsätzlich stehen im Falle der medizinischen Handschuhe risikoärmere Alternativen zur Verfügung. Zahlreiche Handschuhmarken mit Proteingehalten unter 10 µg/g Handschuh sind bereits auf dem Markt. Auf die Verwendung gepuderter Handschuhe aus Naturkautschuklatex sollte, zugunsten proteinarmer puderfreier Handschuhe geeigneter Qualität, vollkommen verzichtet werden.

8. Literaturverzeichnis

1. Abeck D.:
Nahrungsmittelanaphylaxie bei Latexallergie, *Hautarzt* 45 (1994) 364-367
2. Alenius H., Palosuo T., Kelly K., Kurup V., Reunala T., Mäkinen-Kiljunen S., Turjanmaa K., Fink J.:
IgE reactivity to 14-kD and 27-kD natural rubber proteins in latex-allergic children with spina bifida and other congenital anomalies, *Int. Arch Allergy Immunol.* 102 (1993) 61-66
3. Alenius H., Mäkinen-Kiljunen S., Turjanmaa K., Palosuo T., Reunala T.:
Allergen and protein content of latex gloves, *Ann Allerg* 73 (1994) 315-320
4. Alenius H., Kalkkinen N., Lukka M., Reunala T., Turjanmaa K., Mäkinen-Kiljunen S., Yip E., Palosuo T.:
Prohevein from the rubber tree (*Hevea brasiliensis*) is a major latex allergen, *Clin Exp Allergy* 25(7) (1995) 659-665
5. Alenius H., Kalkkinen N., Reunala T., Turjanmaa K., Palosuo T.:
The main IgE-binding epitope of a major latex allergen, prohevein, is present in its N-terminal 43-amino acid fragment, hevein, *J Immunol* 156(4) (1996) 1618-1625
6. Alenius H., Kalkkinen N., Yip E., Hasmin H., Turjanmaa K., Mäkinen-Kiljunen S., Reunala T., Palosuo T.:
Significance of rubber elongation factor as a latex allergen, *Int Arch Allergy Immunol* 109(4) (1996) 362-368
7. Allmers H., Kirchner B., Huber H., Chen Z., Walther J. V., Baur X.:
Latenzzeit zwischen Exposition und Symptomen bei Allergie gegen Naturlatex, *Dtsch. Med. Wschr.* 121 (1996) 823-828
8. Allmers H., Huber H., Wirtz C., Raulf-Heimsoth M., Baur X.:
Expositionstestungen mit gepuderten Handschuhen bei 60 Latexallergikern aus dem Gesundheitswesen, *Dtsch. Med. Wschr.* 122 (1997) 1308-1312
9. Allmers H., Brehler R., Chen Z., Raulf-Heimsoth M., Fels H., Baur X.:
Reduction of latex aeroallergens and latex-specific IgE antibodies in sensitized workers after removal of powdered natural rubber latex gloves in a hospital, *J Allergy Clin Immunol* 102(5) (1998) 841-846

10. Ansell Medical:
Quality control procederes, employed by Ansell medical Sdn. Bhd. (a wholly owned subsidiary of Ansell Malaysia Sdn. Bhd.) for the manufacture of Gammex surgical gloves, April (1987) PH/TMC 1-15
11. Arellano R., Bradley J., Sussman G.:
Prevalence of latex sensitization among hospital physicians occupationally exposed to latex gloves, *Anesthesiology* 77 (1992) 905-908
12. Banerjee B., Wang X., Kelly K.J., Fink J.N., Sussman G.L., Kurup V.P.:
IgE from latex-allergic patients binds to cloned and expressed B cell epitopes of prohevein, *J Immunol* 159(11) (1997) 5724-5732
13. Baur X., Jäger D.:
Airborne antigens from latex gloves, *Lancet* 335 (1990) 912
14. Baur X., Jäger D.:
Latex-induzierte Asthmaanfälle und Schockreaktionen im OP-Bereich, *Dt. rztebl.* 87 (1990) 290
15. Baur X., Jäger D., Engelke T., Rennert S., Czuppon A.B.: Latexproteine als Auslöser respiratorischer und systemischer Allergien, *Dtsch Med Wochenschr* 117 (1992) 1269-1273
16. Baur X., Kerz G., Schürmann M.:
Berufsbedingte Allergie gegen Latex, *Arbeitsmed Sozialmed Praventivmed* 28 (1993) 19-20
17. Baur X., Ammon J., Chen Z., Beckmann U., Czuppon A.B.: Health risk in hospitals through airborne allergens for patients presensitized to latex, *Lancet* 342 (1993) 1148-1149
18. Baur X., Chen Z., Allmers A., Raulf-Heimsoth M.:
Reduktion des Allergierisikos durch Naturgummi-Produkte, *Dtsch rzteblatt* 93, 16, 57 (1996) 1043-1045
19. Baur X., Rennert J., Chen Z.:
Latex allergen elimination in natural latex sap and latex gloves by treatment with alkaline potassium hydroxide solution, *Allergy* 52 (1997) 306-311
20. Baur X., Chen Z., Allmers A., Raulf-Heimsoth M., Degens P.:
Protein and allergen content of various natural latex articles, *Allergy* 52 (1997) 661-664

21. Baur X., Chen Z., Allmers H.:
Can a threshold limit value for natural rubber latex air borne allergens be defined? *J Allergy Clin Immunol* 101 (1998) 24-27
22. Beezhold D.:
Identification of latex protein allergens, In: *Latex protein allergy: the latest position, International Conference, Paris January 11 th, 1995*, 19-27
23. BGW Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege:
ACHTUNG Allergiegefahr: Ungepuderte Latex-Untersuchungshandschuhe.
<http://www.gesundheitsamt-bw.de/servlet/PB/menu/1155485/index.html>
24. Blanco C., Carrillo T., Castillo R., Quiralte J., Cuevas M.:
Avocado hypersensitivity, *Allergy* 49 (1994) 454-459
25. Bradford M.:
Anal. Biochem. 72(1976) 248
26. Brandão F.M.:
Rubber, In: Adams RM (ed.) *Occupational skin disease*, 2nd ed., WB Saunders, Philadelphia 1990: 462-485
27. Brehler R.:
Contact urticaria caused by latex-free nitrile gloves. *Contact Dermatitis* 34 (1996), 296
28. Brehler R., Sedlmayr S.:
NRL allergy: a problem with relevance to the present ? Unveröff. Manuskript, Münster 1998
29. Brehler R., Theißen U., Mohr C., Luger T.:
„Latex-fruit syndrome“: frequency of cross-reacting IgE antibodies, *Allergy* 52 (1995) 404-410
30. Brehler R., Kolling R., Webb M., Wastell C.:
Glove powder - a risk factor for the development of latex allergy?
Eur J Surg 163 (1997) Suppl. 579:23-5
31. Brehler R., Abrams E., Sedlmayr S.:
Cross-reactivity between *Ficus benjamina* (weeping fig) and natural rubber latex. *Allergy* 53 (1998) 402-406
32. Brehler R., Kolling R., Webb M., Wastell C.:
Glove Powder – a risk factor for the development of latex allergy? *Eur J Surg Suppl.* 579 (1997): 23-25

33. Calvert K.O.:
Introduction, Chapter 1, In: Calvert K.O.: Polymer latices and their applications, Applied Science Publishers Ltd., London 1982: 1-10
34. Carillo T., Cuevas M., Munoz T., Hinojosa M., Moneo I.:
Contact urticaria and rhinitis from latex surgical gloves, *Contact Dermatitis* 15 (1986) 69
35. Castelain M., Castellain P.Y.:
Allergic contact dermatitis from cetyl pyridinium chloride in latex gloves, *Contact Dermatitis* 28 (1993) 118
36. Charous B.L.:
The puzzle of latex allergy: some answers: still more questions, *Ann Allergy* 73 (1994) 227-281
37. Chen Z., Cremer R., Baur X.:
Latex allergy correlates with operation, *Allergy* 52(8) (1997) 873
38. Chen Z., Cremer R., Posch A., Raulf-Heimsoth M., Rihs H.P., Baur X.:
On the allergenicity of Hev b 1 among health care workers and patients with spina bifida allergic to natural rubber latex, *J Allergy Clin Immunol* 100(5) (1997) 684-693
39. Chen Z., Posch A., Lohaus C., Raulf-Heimsoth M., Meyer H.E., Baur X.:
Isolation and identification of hevein as a major IgE-binding polypeptide in Hevea latex, *J Allergy Clin Immunol* 99(3) (1997) 402-409
40. Conde-Salazar L., del-Rio E., Guimaraens D., Domingo AG:
Typ IV Allergy to rubber additives: A 10-year study of 686 cases, *J Am Acad Dermatol* 29 (1993) 176-180
41. Crippa M., Pasolini G:
Allergic reactions due to glove-lubricant-powder in health-care workers. *Int. Arch.occup. Environ Health* 70 (1997) 399-402
42. Cronin E.:
Rubber, In: Cronin E (ed.), *Contact Dermatitis* Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York 1980: 714-770
43. Czuppon A., Chen Z., Rennert S.:
The rubber elongation factor of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) is the major allergen in latex, *J Allergy Clin Immunol* 92 (1993) 690-697

44. De Zotti R., Larese F., Fiorito:
Asthma and contact urticaria from latex glooves in a hospital nurse, Br J Indust Med 49 (1992) 596-598
45. DIN: (Deutsches Institut für Normung e.V.)
EN 455-3. Medizinische Handschuhe zum einmaligen Gebrauch. Teil 3: Prüfung der Biokompatibilität und Anforderungen an die Kennzeichnung der Biokompatibilität, 1996
46. Dinges K., Kranz D.:
Latex-Technologie, Vorlesungsmanusscript, Aachen o.J.
47. Drexler H., Lehnert G.:
Latexallergie-das geht uns alle an, Dtsch. Med. Wschr. 121 (1996) 1198-1203
48. Ehl W:
Latex-Allergien als IgE-vermittelte Sofortreaktionen, Allergol 11 (1988) 182
49. Espin M., Didier A., Peez T., Carre P., Leophonte P.: Manifestations anaphylactiques au cours dun rapport protese revelant une allergie an latex, Rev Med Int 12 (1991) 447-448
50. Esser H., Sinn G.:
Die Verarbeitung von Naturlatex, Bayer AG Leverkusen 1961
51. Fabro L., Mühlenthaler U., Wüthrich B.:
Anaphylaktische Reaktion auf Latex, ein Soforttypallergen von zunehmender Bedeutung, Hautarzt 40 (1989) 208
52. Forstrom L.:
Contact urticaria from latex surgical gloves, Contact Dermatitis 6 (1980) 33-34
53. Foussereau J., Brändle I., Boujnah- Khouadja A.:
Allergisches Kontaktekzem durch Isothiazolin-3-on Derivate, Dermatosen 32 (1984) 208-211
54. Frosch P., Wahl R., Bahmer F.A., Maasch H.J.:
Contact Urticaria to Rubber Gloves is IgE- Mediated, Contact Dermatitis 14 (1986) 214
55. Frosch P.J., Born C.M., Schütz R.:
Kontaktallergien auf Gummi-, Operations- und Vinylhandschuhe, Hautarzt 38 (1987) 210
56. Fuchs T.:
Gummi und Allergie, Med. Habil-Schr. Göttingen 1993

57. Fuchs T., Spitzauer S., Vente C., Hevler J., Kapiotis S., Rumpold H., Kraft D., Valenta R.:
Natural latex, grass pollen, and weed pollen share IgE epitopes, *J Allergy Clin Immunol* 100(3)
(1997) 356-364
58. Furay Fay M., Doohar D.T.:
Surgical gloves - measuring cost and barrier effectiveness, *AORN J* 55(6) (1992) 1500
59. Hamann C.P.:
Natural rubber latex protein sensitivity in review, *Am. J. Contact Derm.* 4 (1993) 4-21
60. Hamann C.P., Kick S.A., Update:
Immediate and delayed hypersensitivity to natural rubber latex, *Cutis* 52 (1993) 307-311
61. Harvell J., Bason M., Maibach H.I.:
Contact urticaria (immediate reaction syndrome), *Clin Rev Allergy* 10 (1992) 303-323
62. Heese A.:
Allergien gegen Latexhandschuhe Erfahrungsbericht über einen neuen latexfreien OP-
Handschuh.
63. Heese A.:
Allergien und Intoleranzreaktionen gegen Latex Handschuhe im medizinischen Fachbereich,
Dtsch. Ärzteblatt 86 (1989) 2409-2414
64. Heese A.:
Was ist Latex und was ist eine Latexallergie?, *BGW Mitteilungen* Nr. 2 (1996) 11-13
65. Heese A., v. Hintzenstern J., Peters K.P., Koch H.U., Hornstein O.P.:
Allergic and irritant reactions to rubber gloves in medical health services, *J Am Acad Dermatol*
25 (1991) 831-839
66. Heese A., v. Hintzenstern J., Peters K.P., Koch H.U.:
Typ IV-Allergien gegen Gummihandschuhe - Inzidenz, Allergene, Diagnostik und Therapie, *Z.
Hautk.* 66 (1991) 25-32
67. Heese A.:
Allergien gegen Latexhandschuhe. Studien zu Ursachen, Häufigkeit und Risikofaktoren,
Habilitationsschrift, Medizinische Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg, 1994

68. Heese A., Peters K.P., Koch H.U., Hornstein O.P.:
Allergien gegen Latexhandschuhe. Welche Bedeutung haben sie und was sollte der Gynäkologe berücksichtigen, *Gynäkologe* 27 (1994) 336-347
69. Heese A., Peters K.P., Koch H.U., Hornstein O.P.:
Allergologic evaluation and data on 173 glove-allergic patients, In: Melström, G.A., Wahlberg, J.E., Maibach, H.I. (eds) *Protective gloves for occupational use*, CRC Press Inc., Boca Raton 1994: 185-205
70. Heese A., Peters K.P., Koch H.U., Hornstein O.P.:
Soforttyp-Allergien gegen Latexhandschuhe, *Dtsch. Ärzteblatt* 92, H. 43 (1995) B-2127-2134
71. Heese A., Peters K.P., Stahl J., Koch H.U., Hornstein O.P.:
Häufigkeit und Zunahme von Typ I-Allergien gegen Gummihandschuhe bei Zahnmedizinstudenten, *Hautarzt* 46 (1995) 15-21
72. Heese A., Lacher U., Koch H.U., Kubosch J., Ghane Y., Peters K.P.:
Aktuelles zum Thema Latex-Allergie, *Hautarzt* 47 (1996) 817-824
73. Heese A., Peters K.P., Koch H.U., Hornstein O.P.:
Soforttyp-Allergien gegen Latexhandschuhe, *Zahnärztl Mitteil* 86 (1996) 114-122
74. Heese A., Peters K.P., Koch H.U.:
Type I allergies to latex and the aeroallergenic problem, *Eur J Surg* 163 (1997) Suppl. 579: 19-22
75. Hofmann W.:
Vulkanisation und Vulkanisationsmittel unter besonderer Berücksichtigung der Bayer-Produkte, Versuch einer zusammenfassenden Darstellung, Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen, Verlag Berliner Union, Stuttgart 1965
76. Hofmann W.:
Kautschuk-Technologie, Habil.-Schr., Fak. f. Maschinenwesen TH Aachen 1975
77. Jäger D., Kleinhans D., Czuppon A.B., Baur X.:
Latex-specific proteins causing immediate-type cutaneous, nasal, bronchial, and systemic reactions, *J. Allergy Clin. Immunol.* 89 (1992) 759-768
78. Johnson and Johnson:
Fernschreiben von Johnson and Johnson Pty. Ltd., Victoria, USA, an C. Jarling i. H. Johnson and Johnson Medical GmbH, Norderstedt (23.10.1987)

79. Jones R.T., Scheppmann D.L., Heilman D.K., Yunginger J.W.:
Prospective study of extractable latex allergen contents of disposable medical gloves, *Annals of Allergy* 73 (1994) 321-325
80. Kanerva L., Jolanki R., Estlander T.:
Organic pigment as a cause of plastic glove dermatitis, *Contact Dermatitis* 13 (1985) 41-43
81. Keese-Röhrs T., Röhn D.:
Ungepuderte OP-Handschuhe - ein Beitrag zur Adhäsionsprophylaxe in der Allgemeinchirurgie?
Ergo-Med 15 (1991) 106-110
82. Kisch H., Jacobs P., Thiel M.:
Anästhesiologische Besonderheiten bei Patienten mit Latexallergie, *Anästhesist* 45 (1996) 587-596
83. Kleinhans D.:
Soforttyp-Allergien gegen Latex: Kontakt-Urtikaria und Ekzem, *Akt Dermatol* 10 (1984) 227-228
84. Krogh G., Maibach H. I.:
The contact urticaria syndrome - an updated review. *J. Am. Acad. Dermatol.* 5 (1981) 328-342
85. Kurup V.P., Kumar A., Kelly K.J., Fink J.N.:
Characterization of monoclonal antibody against latex protein associated with latex allergy, *J. Allergy Clin. Immunol.* 92 (1993) 638-643
86. Lagier F., Vervloet D., Lhermet I., Poyen D., Charpin D.:
Prevalence of latex allergy in operating room nurses, *J. Allergy Clin. Immunol.* 90 (1992) 319-322
87. Lammintaista K., Kalino K.:
Sensitivity to Rubber, *Dermatosen* 33 (1985) 204
88. Lathi A., Maibach H.I.:
Immediate contact reactions (Contact urticaria syndrome), In: Maibach HI (ed.) *Occupational and industrial dermatology*, 2nd ed., Mosby Year Book, St Louis 1987: 32-44
89. Lathi A.A.:
Immediate contact reactions, In: Rycroft RJG, Menne T, Frosch PJ, Benezra C (eds.), *Contact Dermatitis*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1992: 62-74

90. Leynadier F., Dry J.:
Allergy to latex, *Clin. Rev. Allergy* 9 (1991) 371-377
91. Leynadier F., Tran Xuan T., Dry J.:
Allergenicity suppression in natural latex surgical gloves, *Allergy* 46(8) (1991) 619-625
92. Liss G., Sussman G., Deal K., Brown S., Cividino M., Siu S., Beezhold D., Smith G., Swanson M., Yunginger J., Douglas A., Holness D., Lebert P., Keith P., Wasserman S., Turjanmaa K.:
Latex allergy: epidemiological study of 1351 hospital workers, *Occup Environ Med* 54(5) (1997) 335-342
93. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.:
Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.* 193 (1951) 265-275
94. Lundberg M., Wrangsjö K., Johansson S.G.:
Latex allergy from glove powder - an unintended risk with the switch from talc to cornstarch?
Allergy 52(12) (1997) 1222-1228
95. Mäkinen-Kiljunen S., Turjanmaa K., Palosuo T., Reunala T.: Characterization of latex antigens and allergens in surgical gloves and natural rubber by immunoelectrophoretic methods, *J. Allergy Clin. Immunol.* 90 (1992) 230-235
96. Masmoudi M.L., Lachapelle J.M.:
Occupational dermatitis to dihydroxydiphenyl and diphenylthiourea in neoprene gloves, *Contact Dermatitis* 16 (1987) 290-291
97. Maso M.J., Goldberg D.J.:
Contact dermatoses from disposable glove use: a review, *J Am Acad Dermatol* 23 (1990) 733-737
98. Meding G., Fregert S.:
Contact urticaria from natural latex gloves, *Contact Dermatitis* 10 (1984) 52-53
99. Milcovic-Kraus S.:
Glove powder as a contact allergen, *Contact Dermatitis* 26 (1992) 198
100. MRPRA, The Malaysian Rubber Producers' Research Association:
L1: Natural latex concentrates general-purpose types, L3: Natural latex concentrates special-purpose types, L51: Surgeons' gloves-formulations for disposable and sterilizable gloves, L56: Natural latex concentrates specifications for general purpose types, *Natural Rubber Technical Information Sheet, Latex Series*, Brickendonbury, Hertford (England) (L1 u. L3, 1976) bzw. (L51 u. L56, 1982)

101. Neue TRGS 540. BArbBl 12/1997
102. Nutter A.F.:
Contact urticaria to rubber, *Br J Dermatol* 101 (1979) 597-598
103. Palosuo T., Makinen-Kiljunen S., Alenius H., Reunala T., Yip E., Turjanmaa K.:
Measurement of natural rubber latex allergen levels in medical gloves by allergen-specific IgE-ELISA inhibition, RAST inhibition, and skin prick test, *Allergy* 53(1) (1998) 59-67
104. Pendle T.D.:
Current users of natural latex concentrate, *Schriftliche Mitteilung Brickendonbury* (23.4.1987)
105. Pendle T.D., Gorton A.D.T.:
Tauchen mit Naturkautschuk-Latex, In: *The Malaysian Rubber Producers' Research Association (MRPRA): Naturkautschuk Technisches Bulletin*, (Dt. Fassung) Brickendonbury, Engl. 1982
106. Perrin L.:
Banning of powdered latex gloves, *Br Dent J* 185(4) (1998) 158-159
107. Plümer F.:
Herstellung und Allergenität von OP-Handschuhen aus Natur-Latex, *Med. Diss., Göttingen* 1990
108. Posch A., Chen Z., Raulf-Heimsoth M., Baur X.:
Latexallergen: Übersicht zum gegenwärtigen Kenntnisstand, *Pneumologie* 51 (1997) 1058-1062
109. Posch A., Chen Z., Wheeler C., Dunn M.J., Raulf-Heimsoth M., Baur X.:
Characterization and identification of latex allergens by two-dimensional electrophoresis and protein microsequencing, *J Allergy Clin Immunol* 99(3) (1997) 385-395
110. Pschrembel:
de Gruyter, 256 Auflage
111. Raulf-Heimsoth M., Chen Z., Liebers V., Allmers H., Baur X.:
Lymphocyte proliferation response to extracts from different latex materials and to the purified latex allergen Hev b 1 (rubber elongation factor), *J Allergy Clin Immunol* 98(3) (1996) 640-651
112. Rich P., Belozer M.L., Norris P., Storrs F.J.:
Allergic contact dermatitis to two antioxidants in latex gloves: 4,4-thiobis (6-tert-butyl-metacresol) (Lowinox 44S36) and butylhydroxyanisole, allergen alternatives for glove-allergic patients, *J Am Acad Dermatol* 24 (1991) 37-43

113. Ruëff, F. und Przybilla, B.:
Prävention der Latex-Allergie. Vortrag zum 21. Interdisziplinären Forum „Fortschritt und Fortbildung in der Medizin“ der Bundesärztekammer in Köln, 11/96
114. Rycroft R.J.G., Menne T., Frosch P.J., Benezrac (eds.):
Textbook of Contact Dermatitis, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1992
115. Schiffner U.:
Defekthäufigkeit an Einmalhandschuhen nach längerer Behandlungsdauer, Dtsch. zahnärztl. Z. 44 (1989) 661-663
116. Seaton A., Cherrie B., Turnbull J.:
Rubber glove asthma, Br Med J 296 (1988) 531-532
117. Seggev J.S., Mawhinney T.P., Yunginger J.W., Braun S.R.:
Anaphylaxis due to cornstarch surgical glove powder. Ann. Allergy 65 (1990) 152-155
118. Seifert H.U., Wahl R., Vocks E., Borelli S., Maasch H.J.: Immunglobulin E-vermittelte Kontakturtikaria bzw. Asthma bronchiale durch Latex-enthaltende Haushaltsgummihandschuhe, Dermatosen 35 (1987) 137-139
119. Semperit GmbH:
Die Herstellung von Tauchartikeln in EW!, Wimpassing 1974
120. Semperit GmbH:
Sempermed Operations- und Untersuchungshandschuhe aus Naturkautschuklatex - Der Werdegang vom Gummibaum zum fertigen Handschuh, Produktgruppe Medizinische Handschuhe, Produktinformation Nr. 28/86/1, Wimpassing 1986: 1-7
121. Slater J.E., Mostello L.A., Shaer C., Honsinger R.W.:
Type I hypersensitivity to rubber, Ann. Allergy 65 (1990) 411-414
122. Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K., Goeke N.M., Olson B.J., Klenk D.C.:
Measurement of Protein Using Bicinchonic Acid, Anal. Biochem. 150 (1985) 76-85
123. Song M., Degreef H., De Maubeuge J., Dooms-Gossens A., Oleffe J.:
Contact sensitivity to rubber additives in Belgium, Dermatologica 158 (1979) 163-167
124. Sussman L., Beezhold D.H., Perrella F.W., Jones J.:
IgE-dependent reactions to urologic catheter extracts by skin testing in latex-allergie patients, Annals Allergy Asthma Immunol 75 (1995) 133-137

125. Swanson M.C., Bubak M.E., Hunt L.W., Reed CE.: Occupationally respiratory allergic disease from latex, *J Allergy Clin Immunol* 89 (1992) 329
126. Tarlo S.M., Wong L., Roos J. Booth N.: Occupational asthma caused by latex in a surgical glove manufacturing plant, *J Allergy Clin Immunol* 85 (1990) 626-631
127. Taylor J.S.: Rubber, In: Fisher AA (ed.) *Contact Dermatitis*, 3rd ed., Lea & Febiger, Philadelphia 1986: 603-643
128. Theissen U., Theissen JL., Mertes N., Brehler R.: IgE-mediated hypersensitivity to latex in childhood, *Allergy* 52(6) (1997) 665-669
129. Themido R., Brandão F.M.: Contact allergy to thiurams, *Contact Dermatitis* 10 (1984) 251
130. Tomazic V.J., Withrow T.J., Fisher B.R., Dillard S.F.: Latex-associated allergies and anaphylactic reactions, *Clin. Immunol. Immunopathol.* 64 (1992) 89-97
131. Travenol GmbH:
(1987) S.1
132. TRGS (Techn. Regeln für Gefahrenstoffe) 907. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin BArbBl 12/1997
133. TRGS (Techn. Regeln für Gefahrenstoffe) 908. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin BArbBl 1/1998
134. Turjanmaa K.: Incidence of Immediate allergy to latex gloves in hospital personnel, *Contact Dermatitis* 17 (1987) 270-275
135. Turjanmaa K., Reunala T., Alenius H., Brummer-Korvenkontio H., Palosuo T.: Allergens in latex surgical gloves and gloves powder, *Lancet* 336 (1990) 1588
136. Turjanmaa K., Palosuo T., Alenius H., Leynadier F., Autegarden J.E., Andre C., Sicard H., Hrabina M., Tran T.X.: Latex allergy diagnosis: in vivo and in vitro standardization of a natural rubber latex extract, *Allergy* 52(1) (1997) 41-50

137. Warshaw E.:
Latex allergy. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39: 1-24
138. West G.:
Sterilization of medical products by gamma irradiation – a brief insight, *Schriftliche Mitteilung Ansell International Pty., Victoria* (30.03.1987)
139. Wrangsjö K., Wahlberg J. E., Axellson J. G.:
IgE mediated allergy to natural rubber in 30 patients with contact urticaria, *Contact Dermatitis* 19 (1988) 264-271
140. Yagami T., Sato M., Nakamura A., Komiyama T., Kitagawa K., Akasawa A., Ikezawa Z.:
Plant defense-related enzymes as latex antigens, *J Allergy Clin Immunol* 101(3) (1998) 379-385
141. Yassin M.S., Lierl M.B., Fischer T.J., O'Brien K., Cross J.:
Latex allergy in hospital employees, *Ann Allergy* 72 (1994) 245-249
142. Yunginger J.W., Jones R.T., Fransway A.F., Kelso J.M., Warner M.A. Hunt L.W.:
Extractable latex allergens and proteins in disposable medical gloves and other rubber products, *J Allergy Clin Immunol* 93 (1994) 836-842

9. Danksagung

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich an dieser Stelle bei Herrn PD Dr. Randolph Brehler, Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten, der diese Arbeit inaugurierte und mich bei der Durchführung so hilfreich unterstützte.

Des weiteren gilt mein Dank den Mitgliedern des allergologischen Labors, insbesondere Frau Wolters und Frau Lutterbeck, die durch ihre Anleitung beim praktischen Teil dieser Arbeit behilflich waren und viel zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

10. Lebenslauf