

# Mikrobielle Labersatzstoffe: Endothiapepsin, Mucorpepsin

<b>Sensibilisierende Wirkung (2012)</b>	<b>Sa</b>
Endothiapepsin	37205-60-0
Mucorpepsin	148465-73-0

Aspartatproteasen mikrobieller Herkunft können als Lab-Austauschstoffe verwendet werden und Chymosin-haltige Produkte bei der Käseherstellung ersetzen. So wurde ein Lab-Ersatz aus dem Schlauchpilz *Endothia parasitica* (heutiger Name: *Cryphonectria parasitica*) bereits seit 1967 in den USA unter der Handelsbezeichnung Suparen® verkauft (Wüthrich 1976). Nach heutiger Nomenklatur handelt es sich hierbei um das relativ thermolabile, nicht glycosylierte Enzym Endothiapepsin (EC 3.4.23.24). Aus Kulturen der Zygomyceten *Rhizomucor miehei* oder *Rhizomucor pusillus* werden glycosylierte Mucoraspartatproteasen (Mucorpepsin; EC 3.4.23.23) gewonnen (Baudys et al. 1988), die nahezu identisch und relativ thermostabil sind (Yang et al. 1997). Endothiapepsin ähnelt dem Penicillopepsin (EC 3.4.23.20; 9074-08-2) aus *Penicillium roqueforti* und anderen *Penicillium*-Arten. Mit Chymosin oder Pepsin sowie mit Mucorpepsin besteht jedoch eine wesentlich geringere Ähnlichkeit der Aminosäuresequenz (Barkholt 1987; Baudys et al. 1988; Blundell et al. 1990).



## Allergene Wirkung

### Erfahrungen beim Menschen

#### Hautsensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

#### Atemwegssensibilisierende Wirkung

Bereits 1976 wurde bei einem 45-jährigen Käsermeister eine allergische Reaktion auf das synthetische Labferment **Endothiapepsin** beschrieben. Der Patient litt seit der vier Jahre zuvor begonnenen Verwendung des synthetischen Labferments vier Jahre zunächst unter berufsbedingter Rhinitis, später unter asthmoider Bronchitis und Auswurf und schließlich unter Asthma. Die spirometrische Untersuchung ergab eine deutliche obstruktive Ventilationsstörung mit spastischer Komponente. Während der Intrakutantest mit Umweltallergenen und Schimmelpilzen negativ verlief, ergab der Scratchtest

## 2 Mikrobielle Labersatzstoffe: Endothiapepsin, Mucorpepsin

mit **Endothiapepsin**-Pulver (k. w. A.) ein dreifach positives Ergebnis. Im Gegensatz dazu verlief der Scratchtest bei drei Kontrollpersonen negativ. Die Schwellenwert-Bestimmung mit steriler **Endothiapepsin**-Lösung zur Erfassung des Sensibilisierungsgrades ergab im Pricktest eine einfach positive Reaktion bei einer Konzentration von 1:100 000, im Intrakutantest bei 1:10 Mio. Die Präzipitinanalyse mit **Endothiapepsin** (k. w. A.) verlief negativ. Unter Einhaltung einer entsprechenden Expositionskaenz und bei Verwendung von tierischem Lab aus Kälbermagen verschwanden die Symptome des Beschäftigten (Wüthrich 1976).

Auch eine 38-jährige Käsermeisterin, die Umgang mit pulverförmigem **Endothiapepsin** hatte, klagte ein Jahr nach Tätigkeitsbeginn über berufsbezogene Atemwegsbeschwerden. Der Scratchtest am Rücken mit **Endothiapepsin** verlief positiv, bei zehn Kontrollpersonen jedoch negativ. Ebenfalls negativ war der Scratchtest mit einem natürlichen Labferment aus Kälbermägen. Nachdem in dem Betrieb Labfermente in flüssiger anstatt in pulverförmiger Form verwendet wurden, war die Beschäftigte beschwerdefrei. Aufgrund dieser Kasuistik wurden 16 Beschäftigte von zwei Käsereien befragt und untersucht. Zwei Beschäftigte hatten Umgang mit einer Labferment-Zubereitung aus *Rhizomucor miehei* angegeben und fünf mit pulverförmigem Labferment. Fünf Beschäftigte klagten über Rhinitis und Husten beim Umgang mit Labfermenten, drei berichteten über Bläschenbildung an den Händen und Unterarmen. Die Hautsymptome verliefen mild und bedurften keiner Behandlung. Alle 16 Beschäftigten wurden im Scratchtest mit beiden verwendeten sowie mit fünf weiteren Labferment-Zubereitungen getestet. Die Ergebnisse wurden nach 15 Minuten und 24 Stunden abgelesen – alle Tests verliefen negativ (Niinimäki und Saari 1978).

In einer Firma, in der sowohl natürliches als auch synthetisches Labenzym hergestellt wurde, nahmen 35 der insgesamt 38 Beschäftigten an einer medizinischen Untersuchung teil. Das Alter der Teilnehmer betrug im Mittel 40,6 Jahre (Range: 27–61), die Beschäftigungsdauer lag zwischen 3 Monaten und 30 Jahren. Mittels eines Fragebogens wurden die Symptome der Beschäftigten erfasst: 24 der 35 Befragten gaben asthmatische Beschwerden an, 12 davon mit Arbeitsplatzbezug. Rhinokonjunktivitis gaben 21 an, bei zehn Beschäftigten verschlimmerte sich diese Symptomatik am Arbeitsplatz. Für den Haut-Pricktest wurden verschiedene Enzymlösungen hergestellt, die mit NaCl-Lösung auf eine Enzymaktivität von 200 IMCU/ml (International Milk Clotting Units/ml) eingestellt wurden. Quaddeln mit einem Durchmesser von 3 mm oder größer galten als positiv. Auf mindestens ein Labenzym reagierten im Pricktest 14 der 35 Beschäftigten positiv. Dabei reagierten auf natürliches Pepsin-reiches Lab aus Rindermägen bzw. Chymosin-reiches, jedoch auch geringe Mengen Pepsin enthaltendes Lab aus Kälbermägen 12 bzw. 10 Beschäftigte positiv. Auf **Mucorpepsin** aus *Rhizomucor miehei* sowie auf **Endothiapepsin** aus *Cryphonectria* reagierten zehn (29%) bzw. zwei (6%) Patienten und auf ein höher gereinigtes/angereichertes Chymosin aus *Aspergillus niger*-Kulturen nur vier der 35 Untersuchten. Von 28 nicht-exponierten Kontrollpersonen reagierte lediglich eine auf eines der fünf Labenzyme. Sechs der 14 Beschäftigten, die im Hauttest auf mindestens eines der Labenzyme reagierten, wiesen ein erhöhtes Gesamt-IgE auf (Mittelwert: 322,7 IU/ml, Maximum 505,1 IU/ml) (k. w. A.). Insgesamt zeigten die Personen, die Umgang mit pulverförmigen Labenzymen hatten, häufiger eine Sensibilisierung (drei von vier) als diejenigen, die Umgang mit flüssigen Enzym-Zubereitungen hatten (vier von acht) (Jensen et al. 2006).

Bei einer 38-jährigen Beschäftigten trat kurz nach Aufnahme der Tätigkeit in der Käseherstellung Husten, Atemnot und Giemen auf. Die Beschäftigte mixte drei Liter einer flüssigen **Mucorpepsin**-Zubereitung aus *Rhizomucor miehei* mit sieben Litern Wasser und versetzte 4000 Liter Milch mit diesem Gemisch. Spritzer der Labferment-Zubereitung führten zu urtikariellen Hautreaktionen. Trotz Behandlung mit Corticoid-Spray traten weiterhin arbeitsplatzbezogene Symptome auf, Messungen des expiratorischen Spitzenflusses (PEF) lieferten jedoch normale Befunde. Die Patientin wies eine mäßige unspezifische bronchiale Hyperreaktivität auf. Im Pricktest zeigten sich positive Reaktionen auf das Enzym (0,01%) und auf die Molke. Bei einem bronchialen Provokationstest mischte die Patientin 15 ml Ferment-Zubereitung in einer Schale mit 350 ml kaltem Wasser und zeigte eine Sofortreaktion mit 20%igem Abfall des forcierten expiratorischen Volumens der ersten Sekunde (FEV<sub>1</sub>) sowie eine Spätreaktion mit Abfall des FEV<sub>1</sub> um 31% nach 7 Stunden (Suojalehto et al. 2008)

### Tierexperimentelle Befunde

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

### Bewertung

Durch mehrere Studien sind Fälle von spezifischer Überempfindlichkeit der Atemwege durch die mikrobiellen Labersatzstoffe Endothiapepsin und Mucorpepsin belegt. Zwar handelt es sich überwiegend um Kasuistiken, jedoch besteht in der Regel eine gute Korrelation zwischen Symptomen, Hauttest-Ergebnissen und den Ergebnissen spezifischer Provokationsteste. Somit kann ein immunologischer Wirkmechanismus zumindest als wahrscheinlich angesehen werden. Endothiapepsin und Mucorpepsin werden daher mit „Sa“ markiert. Da es keine Hinweise auf eine zellvermittelte kontaktallergene Wirkung gibt, erfolgt keine Markierung mit „Sh“.

### Literatur

- Barkholt V (1987) Amino acid sequence of endothiapepsin. Complete primary structure of the aspartic protease from *Endothia parasitica*. *Eur J Biochem* 167: 327–338
- Baudys M, Foundling S, Pavlik M, Blundell T, Kostka V (1988) Protein chemical characterization of *Mucor pusillus* aspartic proteinase. Amino acid sequence homology with the other aspartic proteinases, disulfide bond arrangement and site of carbohydrate attachment. *FEBS Lett* 235: 271–274
- Blundell TL, Jenkins JA, Sewell BT, Pearl LH, Cooper JB, Tickle IJ, Veerapandian B, Wood SP (1990) X-ray analyses of aspartic proteinases: the threedimensional structure at 2.1 Å resolution of endothiapepsin. *J Mol Biol* 210: 919–941
- Jensen A, Dahl S, Sherson D, Sommer B (2006) Respiratory complaints and high sensitization rate at a rennet-producing plant. *Am J Ind Med* 49: 858–861

#### **4 Mikrobielle Labersatzstoffe: Endothiapepsin, Mucorpepsin**

- Niinimäki A, Saari S (1978) Dermatological and allergic hazards of cheesemakers. *Scand J Work Environ Health* 4: 262–263
- Suojalehto H, Tuppurainen M, Lindstrom I, Nordman H (2008) Occupational asthma due to milk coagulant protease. Poster-Abstract P3845. European Respiratory Society Annual Congress, Berlin, 7. Oktober 2008, [http://www.ersnet.org/learning\\_resources/player/abstract\\_print\\_08/files/376.pdf](http://www.ersnet.org/learning_resources/player/abstract_print_08/files/376.pdf)
- Wüthrich B (1976) Zum Allergenkatalog beruflicher Inhalationsallergien: Asthma bronchiale auf ein synthetisches Labferment, Rhinitis allergica auf Protease und Rhinoconjunctivitis allergica auf Puppe des Fallers *Galleria mellonella*. *Berufsdermatosen* 24: 123–131
- Yang J, Teplyakov A, Quail JW (1997) Crystal structure of the aspartic proteinase from *Rhizomucor miehei* at 2.15 Å resolution. *J Mol Biol* 268: 449–459

abgeschlossen am 29.02.2012