

Die Internationale Studie zu Asthma und Allergien im Kindesalter (ISAAC)

Forschungsstrategie und Methoden der Phase II

E. von Mutius¹, S.K. Weiland² und U. Keil² für das ISAAC Steering Committee

¹Kinderklinik der Universität im Dr. von Haunerschen Kinderspital, Ludwig-Maximilians-Universität, München, und ²Institut für Epidemiologie und Sozialmedizin, Universität Münster

Schlüsselwörter

Asthma – Allergien – Kindesalter – Epidemiologie

Key words

asthma – allergies – childhood – epidemiology

Die Internationale Studie zu Asthma und Allergien im Kindesalter (ISAAC): Forschungsstrategie und Methoden der Phase II

Nach dem großen Erfolg der weltweit durchgeführten ISAAC-Phase-I-Studien hat die Phase II in manchen Regionen bereits begonnen, welche einerseits zum Ziel hat, die in Phase I gefundenen Prävalenzen mittels objektiver Tests zu bestätigen und andererseits neue Erkenntnisse über die Determinanten des Asthmas, der allergischen Rhinokonjunktivitis und der atopischen Dermatitis im Kindesalter zu bringen. Hierfür ist ein ausführliches Protokoll ausgearbeitet worden, welches sowohl zur Stichprobenziehung der zu untersuchenden Populationen Stellung nimmt als auch die einzelnen Untersuchungen detailliert beschreibt. Zu diesen Untersuchungen gehören einerseits eine Erweiterung des Fragebogens mit Fragen zu anderen Atemwegserkrankungen, zur Behandlung der Kinder und zu potentiellen Risikofaktoren, andererseits aber auch eine Inspektion der Haut nach standardisierten Kriterien, die Durchführung von Hautpricktests und bronchialen Provokationen, eine Blutabnahme für serologische und genetische Analysen sowie die Bestimmung des Allergengehalts im Hausstaub. Es ist zu erwarten, daß diese internationalen Vergleiche unter Zuziehung objektiver Parameter, Beachtung strikter Qualitätskriterien und der sorgfältigen Erfassung von Risikofaktoren zu einer weiteren Aufklärung der Determinanten des Asthma bronchiale und anderer allergischer Erkrankungen im Kindesalter führen werden.

The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): study design and methods of phase II

Following the success of worldwide ISAAC phase I surveys subsequent ISAAC phase II studies have started in some areas. The aim of these studies is to confirm the

differences in the prevalence of atopic conditions shown in phase I by objective measures of disease and to extend our understanding of the determinants of childhood asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic dermatitis. A comprehensive protocol has been developed describing the sampling procedure and the different methods to examine study subjects. An extended questionnaire asking for other respiratory symptoms, management of affected children, and for potential risk factors has been developed. Moreover, child contact modules for skin examination for flexural dermatitis, skin prick tests, bronchial challenge, blood sampling for serologic and genetic analyses, and dust sampling procedures to measure indoor allergen levels are described. We expect that the ongoing international studies using these objective measures of disease, which apply strict quality criteria for implementation of the field work, and carefully assess the exposures of interest will further contribute to our understanding of childhood asthma and allergies in the near future.

Einführung

Die Internationale Studie zu Asthma und Allergien im Kindesalter (ISAAC) hat sich mehrere Ziele gesetzt, wie im vorigen Beitrag beschrieben wurde. Zum einen sollte die Verteilung der Prävalenz und des Schweregrads des Asthmas, der allergischen Rhinokonjunktivitis und der atopischen Dermatitis in 2 Altersstufen im Kindes- und Jugendlichenalter weltweit beschrieben werden, zum anderen sollte ein Rahmen für die weitere ätiologische Erforschung der Bedeutung von verschiedenen Lebensstil- und Umweltfaktoren, der genetischen Prädisposition und der medizinischen Versorgung für die Manifestation

dieser Erkrankungen geliefert werden. Das erste Ziel ist durch die weltweite Beteiligung an ISAAC Phase I realisiert worden, das zweite Ziel soll durch die für Phase II entwickelte Forschungsstrategie verwirklicht werden.

Nach dem großen Erfolg der ISAAC Phase I ist zu erwarten, daß eine Anzahl weiterer Studien weltweit unternommen werden, um die Hypothesen zu testen, die durch die Ergebnisse der Phase-I-Untersuchungen generiert worden sind. Daher hat das Steering Committee von ISAAC mit Hilfe weiterer Experten ein Protokoll für Wissenschaftler, die derartige Studien planen, entwickelt, um eine standardisierte Methodik, die den Vergleich der in verschiedenen Zentren erhaltenen Resultate erlaubt, an die Hand zu geben. Dies Protokoll empfiehlt einerseits ein bestimmtes, im weiteren näher erläutertes Vorgehen zur Ziehung der Stichproben und Auswahl der zu untersuchenden Kinder. Andererseits wird die Verwendung weiterer Fragen zu anderen Atemwegsbeschwerden, zu Umweltfaktoren und zur medizinischen Betreuung der Probanden sowie die Anwendung standardisierter Verfahren zur Durchführung objektiver Untersuchungen wie Hautpricktests, bronchiale Provokation, Bestimmung des Gesamt-IgE und spezifischen IgE und die Abklärung genetischer Marker empfohlen.

Methoden

Auswahl der zu untersuchenden Populationen

Eine Zufallsstichprobe von mindestens 10 Schulen wird aus allen Schulen einer definierten geographischen Region gezogen. Die Schulteilnehmeraten müssen dokumentiert werden. Diejenige Jahrgangsstufe wird untersucht werden, in welcher die Mehrzahl der Kinder zwischen 10 und 11 Jahre alt sind. Das ist eine andere Altersgruppe als diejenige, die an den ISAAC-Phase-I-Untersuchungen teilgenommen hat. Ein derartiges Vorgehen ermöglicht eine unabhängige Bestätigung der Prävalenzunterschiede, die aus den Phase-I-Studien bekannt wurden. Diese Altersgruppe wurde auch deshalb ausgewählt, weil davon auszugehen ist, daß zehnjährige Kinder gut an allen vorgeschlagenen Untersuchungen wie Spirometrie, Blutabnahmen (schwierig bei jüngeren Kindern) und der Hautinspektion (in manchen Kulturen bei älteren Kindern problematisch) teilnehmen können.

Zur Auswahl der Kinder in den jeweiligen Schulen werden 2 alternative Möglichkeiten empfohlen. Diejenige Option sollte gewählt werden, die abhängig von den lokalen Ressourcen den größten Erfolg verspricht.

Option A

Sofern das Einverständnis der Eltern vorliegt, nehmen alle Kinder in den ausgewählten Schulklassen an allen Untersuchungen (Fragebogen, Hautinspektion, Hautpricktestung, Blutabnahmen und bronchiale Provokation) teil.

Option B

Bei allen Kindern wird ein Fragebogen eingesetzt. Zudem werden alle Kinder auf Hauterscheinungen hin untersucht und nehmen an Hautpricktestungen teil. Die Blutabnahmen und die Testung der bronchialen Reaktivität erfolgen jedoch nur in ausgewählten, im weiteren genauer definierten Untergruppen.

Vorgehensweise

Option A

Die Untersuchung wird mindestens 2.000 Kinder, denen die ISAAC-Fragebögen ausgehändigt werden, in jedem Zentrum einbeziehen. In Regionen, wo aus den ISAAC-Phase-I-Studien bekannt ist, daß die Prävalenz obstruktiver Symptome niedrig ist, wird eine größere Stichprobe von bis zu 3.000 Kindern notwendig sein, um mindestens 100 Kinder mit obstruktiven Atemwegsbeschwerden im letzten Jahr zu rekrutieren. Alle Kinder der ausgewählten Schulklassen sollen an allen Untersuchungen (Fragebögen an die Eltern, Hautinspektion, Hautpricktest, bronchiale Provokation, Blutabnahme) teilnehmen. Wenn man davon ausgeht, daß ungefähr 50% der Eltern ihr Einverständnis zu den klinischen Untersuchungen ihres Kindes geben, werden mindestens 1.000 Kinder untersucht werden können.

Option B

Die Auswahl der Kinder wird zunächst wie in Option A erfolgen. Allen einbezogenen Probanden wird ebenfalls ein Fragebogen an die Eltern ausgehändigt und die Kinder nehmen an den Hautpricktestungen und der Hautinspektion teil. Den Angaben aus dem

Fragebogen zufolge werden dann jedoch in jedem Zentrum Untergruppen von je 100 Kindern ausgewählt, die in den letzten 12 Monaten obstruktive Atemwegsbeschwerden aufgewiesen hatten. Zudem wird eine Zufallsstichprobe von mindestens 100 Kindern aus all den Probanden, die im letzten Jahr keine obstruktiven Atemwegsbeschwerden aufwiesen, gezogen. Diesen mindestens 200 Kindern soll dann neben der bronchialen Provokation ebenfalls Blut für die Bestimmung des IgE und für genetische Analysen abgenommen werden. Ferner soll bei diesen Probanden Hausstaub aus den Wohnräumen zur Bestimmung des Allergengehalts (Milbe und Katze) gesammelt werden.

Diese stratifizierte Auswahlprozedur wird den Anteil der Kinder mit obstruktiven Atemwegsbeschwerden erhöhen und so einen Vergleich des Musters der bronchialen Reaktivität innerhalb der Gruppe symptomatischer Kinder zwischen den verschiedenen Zentren ermöglichen. Ferner wird auch eine gewichtete Abschätzung der Prävalenz der bronchialen Hyperreaktivität in der jeweiligen Gesamtpopulation möglich sein. Dieses Vorgehen weist schließlich auch den praktischen Vorteil dadurch auf, daß es die Dauer der Untersuchung, die wesentlich von der zeitintensiven Messung der bronchialen Reaktivität bestimmt wird, verkürzt.

Fragebögen

Neben den ISAAC-Phase-I-Fragebögen werden in Phase II ausführlichere Fragebögen mit Fragen zu weiteren Atemwegsbeschwerden wie Husten, Auswurf und Atemnot, zur medizinischen Betreuung dieser Kinder wie zu potentiellen Risikofaktoren eingesetzt werden. Damit soll einerseits eine bessere Abgrenzung asthmatischer Beschwerden von anderen Atemwegserkrankungen, insbesondere der rezidivierenden obstruktiven Bronchitis erfolgen, andererseits die Beziehung zwischen verschiedenen Therapieformen und der Morbidität innerhalb und zwischen den einzelnen Zentren und Ländern untersucht werden. Die Fragen zu potentiellen Risikofaktoren umfassen diverse Bereiche von der Familienanamnese, der Familiengröße bis zur Passivrauchbelastung und anderen Innenraumfaktoren wie z.B. Haustierhaltung, Heizungstyp und anderes.

Hautinspektion

Die direkte Inspektion der Haut an Prädiaktionsstellen auf das Vorliegen einer atopi-

schen Dermatitis stellt eine die Fragebogenangaben ergänzende Erfassung der Punktprävalenz der atopischen Dermatitis dar. Das Vorliegen oder Fehlen eines sichtbaren Ekzems der Beugen hat sich in britischen Studien als valides und reproduzierbares Maß für die Erfassung einer atopischen Dermatitis herausgestellt [14, 16]. Die Spezifität der Falldefinition konnte dabei von 94% – basierend auf den ISAAC-Fragebogenangaben – auf 98% in einer Krankenhauspopulation [15] bzw. 97% in einer epidemiologischen Untersuchung [17] gesteigert werden. Die Sensitivität ist jedoch herabgesetzt, da nur eine Momentaufnahme des Hautbefundes erfolgt, wohingegen Fragebogenangaben den Befund im Zeitraum der letzten 12 Monate widerspiegeln.

Das ISAAC-Phase-II-Hautinspektionsmanual schließt eine ausführliche photographische Anleitung, nach welchen Hautläsionen wo zu suchen ist, ein. Darüber hinaus wird ein detailliertes Trainingsmanual für die beteiligten Feldmitarbeiter angeboten. In einer Validierungsstudie in London an ca. 700 Kindern im Alter von 3 – 11 Jahren konnten derart ausgebildete Feldmitarbeiter die Hautinspektion korrekt durchführen [17]. Keines der Kinder hatte sich gegen die Hautinspektion der Arme, Beine, des Halses und des Gesichts gestäubt.

Hautpricktestung

Die Hautpricktestung wird mit 6 Allergenextrakten (ALK) und den ALK-Pricknadeln erfolgen. Die Reproduzierbarkeit und Präzision der mit der ALK-Pricknadel erzielten Quaddeln mit Positivkontrollen wie mit Allergenextrakten ist in verschiedenen Voruntersuchungen als gut bzw. besser als andere Methoden bewertet worden [4, 6]. Die Anwendung ist einfach, sicher und von Kindern, Eltern und Mitarbeitern gut akzeptiert. Diese Methode ist zudem bereits in zahlreichen epidemiologischen Untersuchungen angewandt worden, so daß weitreichende Erfahrungen damit vorliegen. Auch sind sowohl die Nadeln als auch die Allergenlösungen weltweit erhältlich. Im einzelnen werden die folgenden Allergene in der gegebenen Reihenfolge getestet werden:

Positivkontrolle: *D. pteronyssinus*, Katze, Graspollenmischung; Negativkontrolle: *D. farinae*, *Alternaria tenuis*, Baumpollenmischung.

Die Positivkontrolle besteht aus Histamin 10 mg/dl, da diese Lösung in verschiedenen Studien hinsichtlich Reproduzierbarkeit und Präzision bessere Resultate erbracht hat als

andere Positivkontroll-Lösungen [12]. Die Graspollenmischung besteht aus einer Mischung der in Zentraleuropa am häufigsten vorkommenden Gräser, nämlich *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Poa pratensis*, *Phleum pratense* und *Avena elatior*. Die Baumpollenmischung besteht aus einer Mischung der in Zentraleuropa am relevantesten Baumpollen, nämlich *Betula verrucosa* (Birke), *Alnus glutinosa* (Erle) und *Corylus avellana* (Hasel). Jedes Zentrum kann noch weitere 8 Allergene nach eigener Wahl hinzufügen. Allerdings müssen diese Allergene dann auf dem anderen, dem rechten Arm getestet werden. Wegen des zirkadianen Rhythmus der Hautquaddelgrößen auf Histamin und Allergene [3] sollen alle Hautpricktestungen in den Morgenstunden zwischen 8.00 Uhr und 13.00 Uhr erfolgen. Das ISAAC-Phase-II-Hautpricktestprotokoll beinhaltet darüber hinaus detaillierte Angaben zu Platzierung, Ablesung und Dokumentation der Pricktestresultate sowie zum Training der beteiligten Mitarbeiter im Feld.

Wegen der Schwierigkeiten der Standardisierung der Pricktestausführungen durch einzelne Feldmitarbeiter wird die zusätzliche Durchführung von Validierungsstudien empfohlen. Wo immer es möglich ist, sollten verschiedene Feldmitarbeiter nicht in unterschiedlichen Untersuchungsregionen eingesetzt werden, da es nicht immer möglich ist, reale Unterschiede in der Prävalenz der Atopie, gemessen im Hautpricktest, von den Techniken einzelner Feldmitarbeiter zu unterscheiden. Insbesondere ist es schwierig, die Andruckstärke, die für den Quaddeldurchmesser bestimmend ist, bei verschiedenen Feldmitarbeitern konstant zu halten.

Es gibt keine publizierten Berichte zu anaphylaktischen Reaktionen nach Hautpricktestungen. Eine Übersichtsarbeit zu Todesfällen nach Desensibilisierung und Allergietestungen konnte keine Anaphylaxie nach Prick- oder Scratchtestung aufzeigen [5]. In einer großen epidemiologischen Untersuchung an über 1.600 Kindern und Erwachsenen erfolgte keine anaphylaktische Reaktion nach der Hautpricktestung [13]. Bei 6 Probanden trat allerdings eine Ohnmacht ein, im Vergleich dazu wurden 26 Probanden bei der Blutabnahme ohnmächtig.

Blutabnahmen

Blutproben können zur Messung des Gesamt-IgE sowie anderer Parameter erfolgen, Restproben sollten immer sorgfältig aufbewahrt werden und für zukünftige Analysen z.B. genetischer Marker zugänglich gemacht werden. Je nach angestrebter Bestimmung

müssen unterschiedliche Aufbewahrungsmodalitäten beachtet werden. Nach der venösen Blutentnahme sollten 6 Blutstropfen auf eine Guthrie-Karte getropft werden, bis sich die markierten Felder ganz mit Blut vollgesogen haben. Diese Karten müssen dann ohne Kontamination durch Fingerabdrücke sorgfältig mit einer Identifikationsnummer und dem Datum der Entnahme versehen werden. Sie können dann im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt werden.

Von der übrigen Blutprobe wird das Serum durch Zentrifugation gewonnen und in 1 ml Plastikröhrchen mit verschraubbaren Verschlüssen (z.B. von NUNC) pipettiert. Alle Serumproben werden bei mindestens -20° C in einer Tiefkühltruhe aufbewahrt. Zur Bestimmung der IgE-Konzentrationen werden die Serumproben möglichst auf Trockeneis in ein Pharmacia Referenzlabor geschickt. So kann eine Verzerrung der Ergebnisse durch unterschiedliche Labortechniken minimiert werden. Die benötigten Mindestmengen für Gesamt-IgE betragen 100 µl Serum und für spezifisches IgE 50 µl Serum pro Allergen.

Testung der bronchialen Reaktivität

In vielen epidemiologischen Studien zu Asthma im Kindesalter ist die bronchiale Reaktivität auf pharmakologische Stimuli, wie Methacholin oder Histamin, als ein objektiver Parameter, der eng mit Asthma assoziiert ist, bestimmt worden. Da diese Substanzen in einigen Ländern nicht mehr zur Verfügung stehen und die elterliche Zustimmung zur pharmakologischen Testung möglicherweise schwerer einzuholen ist als zur physikalischen Provokation, ist ein zunehmendes Interesse an anderen Provokationsverfahren entstanden. Provokationen mit hyperosmolaren Aerosolen haben sich in klinischen wie epidemiologischen Studien bewährt, da sie keine große Kooperation von Seiten der Probanden erfordern und die benötigte Ausrüstung relativ kostengünstig, einfach zu beschaffen und tragbar ist. Hyperosmolare Aerosole führen über eine endogene Mediatorenausschüttung indirekt zu einer Bronchialobstruktion. In den bisher durchgeführten epidemiologischen Studien [7, 9, 10] wurde gezeigt, daß die Sensitivität und Spezifität dieser Methode diejenige einer Methacholin- und Histaminprovokation fast erreicht. Die Sensitivität für Asthma mit Beschwerden in den letzten 12 Monaten lag dabei bei annähernd 50%, die Spezifität bei ca. 90% [7]. Die Wiederholbarkeit der Methode ist mit einer Differenz der PD₂₀ bzw. PD₁₅ über einen 2-Wochen-

Abstand um den Faktor 1,64 bei Erwachsenen [2] und 1,70 bei Kindern [8] gut.

Wie mit anderen Provokationsverfahren auch, kann die Provokation mit 4,5%iger Kochsalzlösung zu einer plötzlichen Bronchialobstruktion und zu einem signifikanten Abfall der Sauerstoffsättigung führen. Es wird daher empfohlen, die von Sterk und Mitarbeitern [11] im Detail ausgeführten Sicherheitsmaßnahmen einzuhalten. Kinder mit einem FEV₁ von weniger als 75% des Sollwertes sollten nicht provoziert werden. Auch sollte im Bedarfsfall eine entsprechende Therapie (Bronchodilatoren, Sauerstoffzufuhr) verfügbar sein. Nur ausgebildetes Fachpersonal sollte die Provokationen durchführen und die Kinder sollten nach einer Provokation nicht unbeaufsichtigt bleiben. Sie sollten den Ort der Testung erst dann verlassen dürfen, wenn der FEV₁ nach der Testung wieder mindestens 90% des Ausgangswertes erreicht hat.

Da einige Pharmaka die bronchiale Reaktivität auf 4,5%ige Kochsalzlösung beeinflussen können, sollten verschiedene Antiasthmatika vor der Provokation nicht eingenommen werden. Detaillierte Anweisungen dazu sind im ISAAC-Manual zur bronchialen Hyperreaktivitätstestung dargelegt. Zu Beginn der Testung wird nach den Qualitätsrichtlinien der ATS (American Thoracic Society) [1] die Basislungenfunktion bestimmt. Die anschließende Provokation besteht aus einem stufenweisen Vorgehen. In ansteigender jeweils sich verdoppelnder Inhalationsdauer von 30 sec, 1 min, 2 min, 4 min und 8 min wird 4,5%ige hypertone Kochsalzlösung mittels Vernebler (z.B. De Vilbiss Ultraneb) vom Probanden inhaliert, bis der FEV₁ um 15% des Ausgangswerts abgefallen ist oder bis die Gesamtinhalationsdauer von 15,5 Minuten erreicht wurde. Daraus kann die PD₁₅, die Menge vernebelter Kochsalzlösung, die einen Abfall des FEV₁ um 15% bewirkt, berechnet werden. Detaillierte Anweisungen zur Durchführung der Provokation, zur benötigten Ausrüstung und zur Dokumentation und Auswertung der Resultate befinden sich im ISAAC-Manual zur bronchialen Hyperreaktivitätstestung.

Hausstaubproben auf Innenraumallergene

Die Konzentration von Innenraumallergenen ist in zahlreichen Studien mit dem Auftreten von allergischen Erkrankungen im Kindesalter in Verbindung gebracht worden. Daher sollten auch im Rahmen von ISAAC-Phase-II-Studien Bestimmungen der Innenraumallergenkonzentration im Hausstaub als einer potentiell wichtigen Determinante vor-

genommen werden. Staubsauger mit mindestens 800 W und einem Schutz gegen Überhitzung während des Saugens sollten benützt werden. Der ALK-Filter, welcher 74% der Staubpartikel im Größenbereich 0,3–0,5 µm, 81% der Partikel der Größe 0,5–1,0 µm, 95% der Partikel der Größe 1–10 µm, und fast 100% aller größeren Partikel zurückhält, ist geeignet. Der Staub sollte von mindestens 2 Stellen, z.B. der Matratze des Kindes und dem Teppichboden, dem Boden oder den Polstermöbeln aufgesaugt werden. Die Matratze sollte mit den Laken für 2 Minuten pro Quadratmeter über mindestens 2 m², besser 4 m² abdeckend abgesaugt werden. Auf der nördlichen Erdhalbkugel sollte die Hausstaubsammlung möglichst in den Monaten Oktober bis Januar, auf der südlichen Erdhalbkugel in den Monaten April bis Juli erfolgen, da dann die höchsten Allergenkonzentrationen zu erwarten sind.

Die Hausstaubproben müssen anschließend gesiebt werden, um alle großen Partikel, welche das Gewicht der Probe beeinflussen, zu entfernen. Die Allergenkonzentration kann dann mittels ELISA oder, weniger wünschenswert, mittels RIA bestimmt werden. Die Ergebnisse sollten als Allergenkonzentration pro Gramm Feinstaub und als Allergenmenge pro m² ausgedrückt werden.

Ethikkommission

Die Einholung der Zustimmung der örtlichen Ethikkommission ist für jedes teilnehmende Zentrum erforderlich. Allen Elementen der ISAAC-Phase-II-Studie ist bereits von verschiedenen Ethikkommissionen in Deutschland zugestimmt worden. Ferner müssen die Datenschutzbestimmungen strikt eingehalten werden.

Ausblick

Die ersten ISAAC-Phase-II-Studien haben bereits begonnen. Diese erfolgen zum einen in Deutschland multizentrisch als auch in den Niederlanden, Schweden und Estland. Da die Felduntersuchungen entweder erst vor kurzem beendet wurden oder noch durchgeführt werden, liegen derzeit noch keine Ergebnisse vor. Es ist jedoch zu erwarten, daß diese internationalen Vergleiche unter Hinzuziehung objektiver Parameter und der sorgfältigen Erfassung von Risikofaktoren zu einem besseren Verständnis der Determinanten des Asthma bronchiale und anderer allergischer

Erkrankungen im Kindesalter führen werden. Die Auswahl besonders interessanter Populationen, die entweder in Phase I deutliche Unterschiede in der Prävalenz dieser atopischen Erkrankungen oder aber Unterschiede in vermuteten Risikofaktoren bei ähnlicher Prävalenz der Erkrankungen aufweisen, welche unter Beachtung der notwendigen Qualitätskontrollen sorgfältig untersucht werden, stellt einen erfolgversprechenden Weg für die weitere Erforschung dieser Volkskrankheiten dar. Der weltweite Koordinator der ISAAC-Phase-II-Studien ist Herr PD Dr. S. Weiland, Institut für Epidemiologie und Sozialmedizin der Universität Münster. Bei Interesse an der Teilnahme an derartigen Untersuchungen sollte Kontakt mit ihm aufgenommen werden, um das weitere Vorgehen zu besprechen.

Literatur

- [1] *American Thoracic Society*: Standardization of spirometry. 1987 update. *Am. Rev. Respir. Dis.* 136, 1285-1289 (1987).
- [2] *Anderson S.D., C.M. Smith*: The use of non-isotonic aerosols for evaluating bronchial hyperresponsiveness. In: *Spector S.*: Provocative challenge procedures. Futura, Mount Kisco 1989, 227-252.
- [3] *Dreborg S.*: Skin tests used in type I allergy testing. Position paper prepared by the sub-committee on skin tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 44 (Suppl.), 22-59 (1989).
- [4] *Illi S., L. Garcia-Marcos, V. Hernando, J.J. Guillen, A. Liese, E. von Mutius*: Reproducibility of skin prick test results in epidemiological studies: a comparison of two devices. *Allergy*, in press.
- [5] *Lockey R.F., L.M. Benedict, P.C. Turkeltaub, S.C. Bukantz*: Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 660-677 (1987).
- [6] *Nelson H.S., D.M. Rosloniec, L.I. McCall, D. Iklé*: Comparative performance of five commercial prick skin test devices. *J. Allergy Clin. Immunol.* 92, 750-756 (1993).
- [7] *Riedler J., T. Reade, M. Dalton, D.I. Holst, C.F. Robertson*: Hypertonic saline challenge in an epidemiological survey of asthma in children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 150, 1632-1639 (1994).
- [8] *Riedler J., T. Reade, C.F. Robertson*: Repeatability of the response to 4.5% NaCl challenge in children with mild to severe asthma. *Pediatr. Pulmonol.* 18, 330-336 (1994).
- [9] *Salome C.M., J.K. Peat, W.J. Britton, A.J. Woolcock*: Bronchial hyperresponsiveness in two populations of Australian schoolchildren. I. Relation to respiratory symptoms and diagnosed asthma. *Clin. Allergy* 17, 271-281 (1987).
- [10] *Schoeffel R.E., S.D. Anderson, R.E. Altounyan*: Bronchial hyperreactivity in response to inhalation of ultrasonically nebulised solutions of distilled water and saline. *Br. Med. J.* 283, 1285-1287 (1981).
- [11] *Sterk P.J., L.M. Fabbri, P.H. Quanjer, D.W. Cockcroft, P.M. O'Byrne, S.D. Anderson, E.F. Juniper, J.-L. Malo*: Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physiological and sensitizing stimuli in man. *Eur. Respir. J.* 6 (Suppl. 16), 53-83 (1993).
- [12] *Taudorf E., H.J. Malling, L.C. Laursen, A. Lanner, B. Weeke*: Reproducibility of histamine skin prick test. Inter- and intravariation using histamine dihydrochloride 1, 5, and 10 mg/ml. *Allergy* 40, 344-349 (1985).
- [13] *Turkeltaub P.C., P.J. Gergen*: The risk of adverse reactions from percutaneous prickpuncture allergen skin testing, venipuncture, and body measurements: Data from the second National Health and Nutrition Examination Survey 1976-80 (NHANES II). *J. Allergy Clin. Immunol.* 84, 886-890 (1989).
- [14] *Williams H.C., P.G.J. Burney, D. Strachan, R.J. Hay*: The UK Working Party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. II: Observer variation of clinical diagnosis and signs of atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 131, 397-405 (1994).
- [15] *Williams H.C., P.G.J. Burney, A.C. Pembroke, R.J. Hay*: The UK Working Party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. III: Independent hospital validation. *Br. J. Dermatol.* 131, 406-416 (1994).
- [16] *Williams H.C., H. Forsdyke, G. Boodoo, R.J. Hay, P.G.J. Burney*: A protocol for recording the sign of visible flexural dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 133, 941-949 (1995).
- [17] *Williams H.C., P.G.J. Burney, A.C. Pembroke, R.J. Hay*: Validation of the UK diagnostic criteria for atopic dermatitis in a population setting. U.K. Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis Working Party. *Br. J. Dermatol.* 135, 12-17 (1996).

PD Dr. med. Erika von Mutius
 Kinderklinik der Universität
 im Dr. von Haunerschen Kinderspital
 Klinikum Innenstadt
 Ludwig-Maximilians-Universität
 Lindwurmstraße 4
 D-80337 München