

Untersucher-Handbuch  
(Operation Manual)  
Asthma-Genetik-Studie

Stand 21.12.1995

Matthias Wjst

Institut für Epidemiologie

GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Neuherberg

*Für viele konstruktive Hinweise und Textvorlagen sei herzlicher Dank ausgesprochen an  
J. Heinrich, M. Hoeltzenbein, A. Houzer, R. Kruse, R. Nickel und G. Schlenvoigt.*

# Inhaltsverzeichnis

<b>Kapitel 1 Studienbeschreibung</b>	<b>5</b>
Zur Genetik des Asthma bronchiale	5
Kandidaten-Gene	6
Genmarker	7
Statistische Analyse	8
Warum ist eine Studie zur Genetik von Asthma bronchiale sinnvoll?	11
Literatur zum Thema	11
<b>Kapitel 2 Organisation</b>	<b>13</b>
Studienzentrale:	13
Genetische Marker:	13
IgE/allergologisches Labor	13
Biometrische Auswertung	14
klinische Kooperationspartner	14
<b>Kapitel 3 Zeitplan</b>	<b>16</b>
<b>Kapitel 4 Einschlußkriterien für Familien</b>	<b>17</b>
Literatur	17
<b>Kapitel 5 Definition von Asthma bronchiale</b>	<b>19</b>
Literatur	19
<b>Kapitel 6 Ablaufplan der Studie</b>	<b>20</b>
1. Kontakt Hausbesuch	21
2. Kontakt Untersuchungstermin in der Klinik	22
3. Kontakt Nachholtermin	24
Checkliste	25
<b>Kapitel 7 Interview</b>	<b>26</b>
Vollständigkeit der Fragen:	27
Sprungfragen:	27
JA / NEIN Fragen	27
Länge der zugelassenen Antworten	27
Textfelder	28
<b>Kapitel 8 Stammbaum-Erhebung</b>	<b>29</b>
<b>Kapitel 9 Hausstaub-Sammlung</b>	<b>31</b>
Materialien und Vorbereitung	31
Probennahme Wohnzimmer	32

---

<b>Probennahme Matratze</b> _____	<b>32</b>
<b>Reinigung</b> _____	<b>33</b>
<b><i>Kapitel 10 Prick-Test</i></b> _____	<b>34</b>
<b>Auswertung</b> _____	<b>36</b>
<b>Literatur</b> _____	<b>36</b>
<b><i>Kapitel 11 Lungenfunktions-Untersuchung</i></b> _____	<b>37</b>
<b>Messung der basalen Lungenfunktion</b> _____	<b>37</b>
<b>Bronchospasmolyse</b> _____	<b>42</b>
<b>Bronchoprovokation</b> _____	<b>43</b>
<b>Peakflow-Protokoll</b> _____	<b>48</b>
<b><i>Kapitel 12 Blutentnahme</i></b> _____	<b>53</b>
<b><i>Kapitel 13 Weiterverarbeitung der Blutproben</i></b> _____	<b>58</b>
<b>Identifikation der Blutproben</b> _____	<b>58</b>
<b>Die 2 ml-Monovette (EDTA-Blut)</b> _____	<b>58</b>
<b>Die 10 ml-Monovette (Serum)</b> _____	<b>59</b>
<b>Das erste rote 7,5-ml K-EDTA Röhrchen (DNA)</b> _____	<b>60</b>
<b>Das zweite rote 7,5-ml K-EDTA Röhrchen (DNA)</b> _____	<b>60</b>
<b>Versand</b> _____	<b>61</b>
<b><i>Kapitel 14 DNA-Isolierung aus Blut</i></b> _____	<b>63</b>
<b><i>Kapitel 15 Gesamt- und spezifisches IgE</i></b> _____	<b>65</b>
<b><i>Kapitel 16 Datenübergabe, Datenprüfung, Datenschutz</i></b> _____	<b>67</b>
<b><i>Kapitel 17 Sonstiges</i></b> _____	<b>70</b>
<b>Ansprechpartner</b> _____	<b>70</b>
<b>Unkostenerstattung</b> _____	<b>70</b>
<b>Zuständigkeiten</b> _____	<b>70</b>
<b><i>Kapitel 18 Rechtliche Grundlagen und Kooperationsvereinbarungen</i></b> _____	<b>71</b>
<b>Aufgabenteilung</b> _____	<b>71</b>
<b>Terminvereinbarungen</b> _____	<b>72</b>
<b>Datenschutz</b> _____	<b>72</b>
<b>Patent, Publikationsabsprachen</b> _____	<b>73</b>
<b>Schlußbestimmungen</b> _____	<b>73</b>
<b><i>Kapitel 19 Anhang</i></b> _____	<b>75</b>

## Kapitel 1 Studienbeschreibung

Ziel der Studie ist die Identifikation von Genmarkern für Asthma bronchiale, um über das Prinzip der "reversen Genetik" die Pathophysiologie von Asthma weiter aufzuklären.

Ausgangspunkt sind bereits durchgeführte epidemiologische Studien in Bitterfeld und Erfurt. Patienten aus diesen Studien, sowie aus Asthma-Ambulanzen in Kinderkliniken werden ausgewählt, wenn mindestens zwei leibliche Geschwister an Asthma bronchiale erkrankt sind. Bei diesen Kinder erfolgt (zusammen mit den Eltern und Geschwistern) ein umfangreichen klinischen "workup". Dazu wird aus den Blutproben die leukozytäre DNA extrahiert und die Allelvarianten von rund 300 Mikrosatelliten-Markern über das gesamte Genom bestimmt. Eine Assoziation dieser Marker wird darufhin mit verschiedenen biometrischen Methoden getestet.

Die Studie wird interdisziplinär unter Beteiligung von Kooperationspartnern aus Humangenetik, Immunogenetik, genetischer Biometrie, Allergologie und klinischer Epidemiologie durchgeführt. Ferner sind Absprachen mit anderen Arbeitsgruppen ( S. Weiss, D. Marsh, S. Holgate und W. Cookson) erfolgt.

### ***Zur Genetik des Asthma bronchiale***

Eine genetische Beteiligung bei Asthma bronchiale vermutete Salter bereits vor über 100 Jahren: "[...] In Bezug auf die Vererbung von Asthma habe ich eine seltsame Tatsache entdeckt... Es ist nämlich so, daß einige Brüder und Schwestern in der Familie Asthma haben, ohne aber daß die Eltern daran leiden..." [ zitiert bei Bias 1978 ]. Das illustriert zum einen die familiäre Komponente der Erkrankung, zum anderen aber auch den komplexen Sachverhalt, der sich nicht durch einen einfachen Erbgang erklären ließ. So sind bisher mehrere Studien zur Genetik von Asthma bronchiale durchgeführt worden [ zitiert bei Meyers 1989 et al. ], die alle die Vererbung von Asthma bronchiale nicht durch einen einfachen Mendelschen Erbgang erklären konnten.

Daß eine starke genetische Komponente bei der Entwicklung eines Asthma bronchiale besteht, ist allerdings unbestritten. Denn die Asthma-Prävalenz ist erhöht in Gesellschaften mit einem hohen Maß an Verwandten-Ehen [ Wooley 1946 ]. Aber auch in Zwillingen- [ Überblick bei Nieminen et al. 1991, Duffy et al. 1990 ] und weiteren epidemiologischen Studien [ Townley et al. 1986, Dold et al. 1993 ] ließ sich ein deutlicher familiärer Einfluß zeigen. Die wohl umfassendste Übersicht zu dem Thema

findet sich in dem 1993 erschienenen Kongreßband zu einer Veranstaltung zu diesem Thema in Down Hall, London im September 1990 [ Marsh 1993 ].

Hauptproblem aller dieser Studien ist die Definition des Asthma bronchiales. Im deutschen Sprachraum wird Asthma bronchiale meist als chronische, entzündliche Erkrankung der Atemwege beschrieben, die durch verschiedene Stimuli zu einer Atemwegsobstruktion führt, meist aber spontan oder durch Behandlung reversibel ist [ Magnussen 1993 ]. Auf die Frage, wie die Definition von Asthma bronchiale möglichst optimal operationalisiert werden kann, wird später noch ausführlicher eingegangen.

### **Kandidaten-Gene**

Um die Ursache einer Erkrankung zu bestimmen, wurde bisher meist von der klinischen Symptomatik über pathophysiologische Vorgänge auf bestimmte Proteine und dann auf das zugehörige Gen geschlossen. Aber auch ein umgekehrtes Vorgehen ist denkbar ("reverse genetics"), nämlich von einem bestimmten Gen aus (oder einem in naher physikalischer Distanz liegendem Marker) die Assoziation zur Asthma-Erkrankung zu untersuchen. Die erste Erkrankung, bei der diese Strategie erfolgreich war, ist die 1983 Chorea Huntington 1983 gewesen, wobei das Gen allerdings erst fast 10 Jahre später gefunden wurde. 1994 wurde von zwei unabhängigen Arbeitsgruppen, das erste mal auch bei einer komplexen Erkrankung, nämlich dem nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus, eine statistisch signifikante Häufung von Allelvarianten bei mehreren Mikrosatelliten-Markern beschrieben.

Mehrere Kandidaten-Gene sind bisher auf Co-Vererbung mit Asthma bronchiale untersucht worden, allerdings sind die bisherigen Ergebnisse nicht eindeutig (siehe Tabelle am Ende des Kapitels).

Ein besonderer Schwerpunkt bei der Forschung nach Ursachen des Asthma bronchiale, lag dabei bei den allergischen Erkrankungen, da vor allem im Kindesalter Asthma häufig zusammen mit anderen allergischen Erkrankungen auftritt. Deshalb ist auch das IgE- Gen ein potentieller Asthma-Gen-Kandidat [ Cookson et al. 1988 ]. Und da die allergische Reaktion über T-Zell-abhängige Antigene auch über den Histokompatibilitäts (MHC)-Komplex reguliert wird, ist nicht die HLA-Region sondern auch der T-Zell-Rezeptor von Interesse [ Ansari et al. 1989 ]. Bei der allergischen Reaktion ist die Immunantwort gegen ein lösliches Antigen gerichtet. Man kann deshalb annehmen, daß Klasse I-Moleküle an der Reaktion beteiligt sind. Und tatsächlich ist nach den Arbeiten der Arbeitsgruppe um D. Marsh [ Ansari et al. 1989, Ansari et al. 1991, Marsh et al. 1991 ] auch wahrscheinlich, daß die Immunantwort mit den HLA-Antigenen zusammenhängt. Die Situation wird jedoch dadurch kompliziert, daß die

Immunantwort auf ein Antigen mit einer bestimmten HLA-Subklasse, die Reaktion auf ein anderes Antigen aber mit einer anderen Subklasse zusammenhängt ( so ist die Reaktion auf Gras-Pollen *lol p1* stark mit DR3 und DR5 assoziiert, während die Antwort auf das *ragweed*-Antigen mit DRB1\*1501 assoziiert [ Zwollo et al. 1991 ] ). Als Mediator der allergischen Reaktion richtet sich seit 1994 das Interesse auch auf den Interleukin 5-Cluster [Marsh 1994 et al.]

Zusammenfassend läßt sich die Situation also im Moment, daß es noch keinen einzigen Genmarker für Asthma bronchiale gibt, einige Gene aber aufgrund pathophysiologischer Überlegungen aber als Kandidaten-Gene in Betracht kommen.

### **Genmarker**

Die Beschreibung von DNA-Markern, die über das gesamte Genom bestimmt werden können, sowie die Entwicklung computergestützter Analysetechniken ermöglichen erstmals eine umfassende Studie zur molekularen Genetik von Asthma bronchiale. Für eine Beschreibung der molekularbiologischen Analysetechniken werden zunächst die biologischen Grundlagen noch einmal kurz zusammengefaßt.

Gene sind linear auf der DNA in 23 Chromosomenpaaren angeordnet. Das menschliche Genom besteht aus ungefähr 3 Millionen Basen-Paaren und 100.000 Genen. Der Vorgang, bei dem das genetische Material zu gleichen Teilen von Vater und Mutter an die Nachkommen weitergegeben wird, nennt sich Meiose. Während der Meiose paaren sich die Chromosomen in der Zelle, brechen an bestimmten Punkten auseinander, überkreuzen sich mit dem zweiten Paar (crossing over) und rekombinieren zu einem neuen Chromosom, das nun aus Elementen der beiden Originalchromosomen besteht. Nach crossing over und Rekombination bleibt eine einfache Kopie von 23 Chromosomen in der Gamete. Der volle Satz von 46 Chromosomen wird erst nach der Befruchtung wieder hergestellt. Die Zahl der Überkreuzungs-Stellen sind oftmals nur gering, manchmal nur an ein oder zwei Stellen. Deshalb werden zum Teil lange DNA-Segmente (Gene) während der Meiose intakt weitergegeben. Dieser Prozess, die Zusammenvererbung benachbarter Gene und Genmarker, wird als genetische Kopplung oder "linkage" bezeichnet [ Ott, 1992 ].

In den vergangenen Jahren sind eine Reihe polymorpher Dinukleotid-Wiederholungen in menschlichen Chromosomen beschrieben worden.[ Keating et al. 1992 ] Das begann mit den sogenannten RFLP (restriction fragment length polymorphism), führte zu VNTR (variable number of tandem repeats) und zuletzt zu Mikrosatelliten-Markern. Während die biologische Bedeutung dieser DNA-Sequenzen nicht bekannt ist, sind sie wegen der großen Zahl von Allelen aber gut für Kopplungs-Studien geeignet. Mikrosatellitenmarker können mittels der Polymerase-Kettenreaktion ( PCR ) bestimmt

werden. Bei der PCR wird die doppelkettige DNA denaturiert und die interessierende Region enzymatisch kopiert. Wenn dieser Prozess in mehreren Zyklen wiederholt wird, stehen mehrere Kopien der DNA zur Verfügung, die mit weiteren Techniken, wie der Elektrophorese ( z.B. SDS-PAGE ) nachgewiesen werden können. Jedes autosomale Gen ist zweimal auf der DNA repräsentiert. Damit werden beide Allele während der PCR vervielfältigt. Wenn die zwei Allelsequenzen nun identisch sind, ist auch das PCR-Produkt identisch und nicht zu unterscheiden. Wenn aber die vervielfältigten DNA-Stränge einen heterozygoten Polymorphismus enthalten, sind auch die beiden PCR-Produkte etwas unterschiedlich und können durch unterschiedliche Banden in der Elektrophorese erkannt werden.

### ***Statistische Analyse***

Bei der Erforschung genetisch bedingter Krankheiten stellt sich die Frage, ob ein beobachtbarer Markergenort mit einem unbekanntem Krankheitsgenort gekoppelt ist. Von Kopplung von zwei Loci spricht man dabei, wenn die Loci auf einem Chromosom dicht beieinander liegen und deren Allele zusammen vererbt werden (Khoury et al. 1993, S. 284). Selbst wenn eine solche Kopplung vorliegt, darf jedoch nicht darauf geschlossen werden, dass in unterschiedlichen Familien immer die gleichen Markerallele zusammen mit der Krankheit vererbt werden. Um eine Kopplungsanalyse durchzuführen, sind deshalb im Gegensatz zu Assoziationsstudien Familiendaten erforderlich.

Klassische Methoden der Kopplungsanalyse, die Maximum-Likelihood Ansätze verfolgen, stellen hohe Anforderungen an das Wissen über die untersuchte Krankheit. Sie setzen voraus, dass der zugrundeliegende Vererbungsmechanismus bekannt ist. Da bei Krankheiten mit komplexer Ätiologie oft auch nichtgenetische Faktoren wie Umwelteinflüsse eine grosse Rolle spielen und keine genauen Informationen über den Erbgang vorliegen, bereitet die Anwendung dieser Methoden Probleme. In solchen Fällen kann man sich sogenannter nichtparametrischer Methoden wie der affected-sib-pair-Methoden bedienen. Mit ihrer Hilfe lässt sich sowohl der Einfluss genetischer Faktoren genauer bestimmen als auch ein Krankheitslocus einer Kopplungsgruppe zuweisen.

Die ersten Ansätze gehen auf Penrose (1935) zurück. Er beschrieb die sib- pair-Methode, bei der für eine Kopplungsanalyse Geschwisterpaare betrachtet werden. Für affected-sib-pair- Methoden verwendet man nur erkrankte Geschwisterpaare. Die Grundidee basiert auf der Annahme, dass Marker- und Krankheitslocus eng gekoppelt sind, so dass das Krankheitsgen innerhalb einer Familie stets mit dem gleichen Markerallel vererbt wird (Ott 1991, S. 78). Geeignete Daten erhält man über eine

Stichprobe von Familien mit jeweils zwei erkrankten Kindern. Bei jedem erkrankten Geschwisterpaar wird die Anzahl der Markerallele bestimmt, die nach Vererbung gleich (identical by descent, IBD) sind. Zwei Allele heißen dabei nach Vererbung gleich, wenn sie vom selben elterlichen Allel abstammen. Um eindeutig feststellen zu können, ob die Allele der beiden Kinder IBD sind, müssen die Eltern am Markergenort heterozygot mit unterschiedlichem Genotyp sein. Dies wird insbesondere durch Verwendung hochpolymorpher Marker gewährleistet. Damit kann der sogenannte IBD-Score, die Anzahl der nach Vererbung gleichen Markerallele, ermittelt werden. Sind Marker- und Krankheitsgenort nicht gekoppelt, so ist die Wahrscheinlichkeit für kein, ein bzw. zwei Markerallele IBD  $1/4$ ,  $1/2$  bzw.  $1/4$ . Weicht die beobachtete Verteilung für den IBD-Score von der genannten Verteilung ab, so deutet dies auf Kopplung von Marker- und Krankheitslocus hin.

Da bei affected-sib-pair-Methoden nur bereits erkrankte Individuen analysiert werden, wird das Auftreten von Fehlklassifikationen geringgehalten, insbesondere bei Krankheiten mit altersabhängigem Auftreten oder unvollständiger Penetranz. In multiplex Familien, d.h. in Familien mit mehr als einem erkrankten Mitglied, ist die Gefahr, auf nichtgenetisch bedingte Fälle (sogenannte Phänokopien) zu stossen, geringer als in Familien mit nur einem erkrankten Individuum (Khoury et al. 1993, S. 305).

Zum Test der Nullhypothese nicht vorhandener Kopplung stehen verschiedene Statistiken zur Verfügung. Seien mit  $N_j$ ,  $j=0,1,2$  die Anzahl der Geschwisterpaare mit IBD-Score  $j$  bezeichnet. Verbreitete Teststatistiken, die auf  $(N_0, N_1, N_2)$  basieren, sind der Mean und der Proportion Test (Suarez et al. 1978). Dem Mean Test liegt die Anzahl von Markerallelen IBD,  $2N_2 + N_1$ , zugrunde, dem Proportion Test der Anzahl von Geschwisterpaaren mit zwei Markerallelen IBD,  $N_2$ . Blackwelder und Elston (1985) verglichen diese und eine weitere, die  $\chi^2$ -Anpassungsstatistik, unter Annahme verschiedener Krankheitsgenfrequenzen, Rekombinationsfrequenzen und Penetranzen hinsichtlich ihrer Power. In den weitaus meisten Fällen erwies sich der Mean Test als der beste der betrachteten Tests.

Den Ergebnissen von Blackwelder und Elston (1985) liegt die Annahme zugrunde, dass der IBD-Score bekannt ist, d.h. dass der Markerlocus ausreichend polymorph ist. Diese Voraussetzung ist oftmals nicht erfüllt. Die Schwierigkeiten mit einem unvollständig polymorphen Marker lassen sich mit verschiedenen Ansätzen umgehen. Lange (1986) schlägt vor, bei erkrankten Geschwisterpaaren statt der IBD-Scores lediglich die Anzahl der Allele, die nach Erscheinung gleich sind (identical by state, IBS), zu ermitteln. Weeks und Lange (1988) erweitern diese Methode auf alle erkrankten Mitglieder eines Stammbaums. Ein Problem der Methoden, die auf IBS basieren, ist, dass die

Markerallelfrequenzen bekannt sein müssen. Eine weitere Möglichkeit bei nicht-polymorphen Markern besteht darin, nur vollständig informative erkrankte Geschwister zu berücksichtigen (Thomson 1986). Dieses Vorgehen kann jedoch unter Umständen zu einer erheblichen Reduktion der Daten führen. Risch (1990b) führte eine Maximum Lod Score (MLS) Statistik ein, die auf der Maximierung der Likelihood basiert. Seine Aussage, dass die Typisierung der Eltern der erkrankten Geschwister die Power erhöhen kann, ist nur bedingt zutreffend (Risch 1992). Werden die Eltern jedoch nicht in die genetische Analyse einbezogen, so müssen zur Durchführung des Tests die Allelfrequenzen des Markers bekannt sein (Holmans 1993). Eine Verbesserung der MLS-Methode von Risch wurde von Holmans (1993) vorgeschlagen. Er schränkt den Parameterraum der Wahrscheinlichkeiten der IBD-Scores bei zwei erkrankten Kindern auf die genetisch möglichen Werte ein und erreicht dadurch insbesondere bei Markern mit niedrigem PIC (polymorphism information content, Botstein et al. 1980), d.h. mit geringem polymorphen Informationsgehalt, gegenüber dem unbedingten Fall eine grössere Power. Gleichzeitig betont er, dass auch erkrankte Kinder, deren Eltern nicht typisierbar sind, einen Beitrag zur Power seines Tests leisten. Holmans Test erscheint als eine geeignete Methode zur Analyse anhand von Markern, bei denen ein reduzierter Polymorphismus nicht auszuschliessen ist. Ausgehend von der  $\chi^2$ -Anpassungsstatistik führt auch Faraway (1993) Restriktionen der Alternative ein und vergleicht die Power der neu entstandenen Teststatistik mit der bereits existierender Tests.

In den bisher vorgestellten Methoden zur Kopplungsanalyse wurden nur erkrankte Kinder einbezogen. Abhängig von der tatsächlich vorhandenen Rekombinationsfrequenz zwischen Marker und Krankheitsgen, der Penetranz sowie der Prävalenz erreicht man jedoch mit anderen Verwandtschaftspaaren häufig sogar eine höhere Power (Risch 1990a). Die Verfügbarkeit solcher Paare ist jedoch nicht immer gegeben. Eine Beschränkung auf Geschwisterpaare bringt weniger Komplikationen mit sich.

Suarez und van Eerdewegh (1984) analysierten Familien mit mehr als zwei kranken Kindern. Sie fanden heraus, dass unter der Nullhypothese "keine Kopplung" die Varianz des (mittleren) IBD-Scores nicht davon beeinflusst wird, ob die erkrankten Gesschwisterpaare zur gleichen oder verschiedenen Familien gehören. Die ist auf den Umstand zurückzuführen, dass die Paare unkorreliert sind. Der Mean Test kann also auch in Multiplex-Familien angewandt werden.

Eine weitere Auswertungstechnik soll kurz vorgestellt werden, die eventuell in einer späteren Phase der Studie auch zur Anwendung kommen wird. In Assoziations-Studien wird das Auftreten eines Genmarkers bei einer Fallgruppe mit dem Auftreten in einer

Kontrollgruppe verglichen. Assoziations-Studien können sensitiver als Kopplungs-Untersuchungen sein, was besonders für komplexe Krankheiten gilt [ Greenberg 1993 ]. Das größte Problem der Assoziations-Studie ist dabei die Definition der Kontrollen. Um dieses Problem zu umgehen, wurden Methoden vorgeschlagen, die auf einem Familienansatz beruhen, anstatt auf nicht verwandten Personen. So werden bei der HRR-Methode ( *haplotype relative risk* ) Familien mit einem betroffenen Kind untersucht [ Falk 1987 ] und die interne Kontrollgruppe von den väterlichen Markerallelen gebildet, die nicht an das Kind weiter gegeben wurden, wobei weitere Varianten beschrieben sind [ Terwillinger 1992, Knapp 1993 ]. Die Aussagekraft durch falsch positive Ergebnisse ist jedoch deutlich geringer als in den zuerst beschriebenen Strategien, so daß Ergebnisse von Assoziations-Studien mit anderen Verfahren überprüft werden müssen.

### **Warum ist eine Studie zur Genetik von Asthma bronchiale sinnvoll?**

Die Asthmaprävalenz nimmt weltweit zu, ohne daß die Ursachen bekannt sind. Die Auswirkungen auf das Leben der Patienten und Patientinnen, vor allem bei schwerem Verlauf, sind erheblich, die Lebensqualität ist immer eingeschränkt. Dazu steigt die Mortalität in vielen Ländern an. Eine Bestimmung von Genmarkern und Identifizierung möglicher Gene könnte neue Möglichkeiten der Prophylaxe und Therapie eröffnen.

### **Literatur zum Thema**

Meyers DA, Genetics of airway responsiveness in: Weiss ST, Sparrow D. Airways responsiveness and atopy in the development of chronic lung disease. Raven Press, New York 1989

Nieminen MM, Kaprio J, Koskenvuo M. A population based study of bronchial asthma in adult twin pairs. *Chest* 1991; 100:70-75.

Dold S, Wjst M, von Mutius E, Reitmeir P, Stiepel E. Genetic risk for asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. *Archives of Diseases in Childhood* 1992; 67: 1018-1022

Marsh DG, Lockhart A, Holgate ST (ed). *The Genetics of asthma*. Blackwell Scientific Publications, London, 1993.

Cookson WOCM, Hopkin JM. Dominant inheritance of atopic immunoglobulin E responsiveness. *The Lancet* 1988; i: 86-88

Cookson WOCM. Genetic aspects of atopy. in Burr ML (ed) *Epidemiology of Clinical Allergy*, Basel, Karger Vol 31, pp 171-189

Ott J. *Analysis of human genetic linkage*. Johns Hopkins, Baltimore 1992, 2nd edition.

Khoury MJ et al.. *Fundamentals of Genetic Epidemiology*. Oxford University Press, New York, Oxford, 1993.

*Weissenbach J et al. A second generation linkage map of the human genome based on highly informative microsatellite loci. Nature 1992; 359:794-801*

*Ott J, Terwilliger J. Handbook of Linkage Analysis, Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1994.*

*Weeks DE, Lange K (1988). The affected-pedigree-member method of linkage analysis. Am J Hum Genet 42:315-326.*

## Kapitel 2 **Organisation**

Die Konzeption, Finanzierung und Organisation erfolgt(e) über die Studienzentrale in der gsf. Von dort wird die Untersuchung in den klinischen Zentren koordiniert und alle Daten gesammelt. Die DNA wird in zwei Münchner Instituten untersucht, weitere immunologische Parameter in Erfurt. Die biometrische Beratung erfolgt an der Universität Bonn.

### **Studienzentrale:**

Dr.M.Wjst  
Dr.M.Hoeltzenbein  
Prof.Dr.Dr.H.E.Wichmann  
Institut für Epidemiologie  
gsf Forschungszentrum  
Ingolstädter Landstr.1  
85758 Oberschleissheim  
Telefon 089-3187-4565, Fax -3380

### **Genetische Marker:**

Prof.Dr.E.Weiß  
Dr.M.Ullbrecht  
Institut für Anthropologie und Humangenetik  
Richard-Wagner-Str. 10/I  
80336 München  
Telefon 089-5203-390, Fax -266

Prof.Dr.E.Albert  
T.Eisenhut  
Labor für Immungenetik  
Kinderpoliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität  
Paul-Heusestr.33  
80336 München  
Telefon 089-5328-1, Fax -141

### **IgE/allergologisches Labor**

Prof.Dr. Jäger  
Dr.G.Schlehvoigt  
Institut für klinische Immunologie  
Am Johannisfriedhof 9  
D-07740 Jena  
Telefon 03641-635-1, Fax -071

***Biometrische Auswertung***

Dr.M.Knapp  
Dr.R.Kruse \*  
Prof.Dr.M.P.Baur  
Institut für medizinische Statistik, Dokumentation und Datenverarbeitung  
Sigmund-Freud-Str.25  
53105 Bonn

***klinische Kooperationspartner***

M.Kjellman, M.D.  
Dept of Pediatrics  
University Hospital  
S-58185 Linköping  
Sweden

Prof.Dr.Magnussen  
Dr.Richter  
Fr.Janiki \*  
Krankenhaus Großhansdorf  
Zentrum für Pneumologie und Thoraxchirurgie  
Wöhrendamm 80  
22927 Hamburg

Dr.Renate Nickel \*  
Dr.Kirsten Beyer  
Prof.Dr.U.Wahn  
Universitäts-Kinderklinik  
Heubnerweg 6  
14059 Berlin

Dr.Franz  
Dr.Göbel  
Prof.Dr.C.P.Bauer  
Kinderklinik und Poliklinik der TU München  
Kölner Platz 1  
80804 München

PD. Dr.Griese  
Prof.Dr.D. Reinhardt  
Kinderpoliklinik der Universität München  
Pettenkoferstr. 8 a  
80336 München

Dr. von Berg  
Prof.Dr.D. Berdel  
Marienhospital Wesel  
P.-Janssenstr. 8  
46483 Wesel

\* über Studienmittel eingestellte Mitarbeiter

## Kapitel 3 **Zeitplan**

3.1993	Vorbereitungen, Kooperationsgespräche
20.7.1993	1. Version des Studienantrages
5.8.1993	Gutachtersitzung in Basel
7.9.1993	1. Studienbesprechung gsf
22.9.1993	positive Stellungnahme des BMFT
25.-30.9.1993	Kontakte ERS Florenz
7.12.1993	Zusage der Förderung
2.2.1994	2. Studienbesprechung gsf
9.5.1994	3. Studienbesprechung gsf
6.1994	Einstellung von Projektmitarbeitern
9.1994	Prof.Wichmann Workshop in Cannes
10.10.1994	4. Studienbesprechung gsf
10.1994	Kontaktierung der Familien in Berlin
28.12.1994	Zusage der Ethik-Kommission
1.1.1995	Einstellung von Dr.Hoeltzenbein
9.1.1995	5. Studienbesprechung gsf
18.1./3.2.1995	1. Untersucher-Schulung in Berlin
3.2.1995	1. Familie der Pilotstudie untersucht
2.1995	R. Kruse nach Baltimore
3.1995	Auswertung der Pilotstudie
7.4.1995	6. Studienbesprechung gsf
15.4.1995	endgültige Untersuchungs-Protokoll
22.5.1995	2. Untersucher-Schulung
20.6.1995	Ergänzung Hausstaub-Sammlung
25.-29.6.1995	Kontakte EAACI Madrid
3.7.1995	7. Studienbesprechung
7.1995	Untersuchungen in München und Wesel

## Kapitel 4 **Einschlußkriterien für Familien**

Als primäre Einschlußkriterien für die Familien sind vorgesehen:

1. In der Familie muß bei mindestens zwei Kindern Asthma bronchiale ärztlich diagnostiziert sein. Die Kinder müssen leibliche Kinder sein. Rationale: *affected-sib-pair*-Design.
2. Alle Familienmitglieder sollten deutsch sprechen. Rationale: Vermeidung von Verständnisschwierigkeiten vermieden werden. Ausländische Angehörige wären bei einem späteren *upgrade* nicht erreichbar.
3. Beide Kinder dürfen keine Früh-/Mangelgeborene sein (Gestationsalter über der 37. SSW, Geburtsgewicht über 2.500 Gramm) und sollen in den ersten 6 Lebensmonaten nicht mechanisch beatmet worden sein. Rationale: Mit diesem Kriterium soll die Phänokopie Surfactant-Mangel/Lungenreifungs-Störung ausgeschlossen werden.
4. Das Einverständnis der Eltern muß vorliegen. Rationale: Juristische und ethische Gründe.

Schwere Zweiterkrankungen könnten ebenfalls ein Ausschlußgrund sein, im Zweifelsfall bitte Rücksprache mit der gsf halten. Außerdem anzustreben ist ein Alter der Kinder von mindestens 6 und höchstens 18 Jahren. Unter etwa 6 Jahren kann man kaum die Lungenfunktion testen; auch haben bis zu diesem Alter die meisten Kinder bereits Asthma-Symptome entwickelt. Die Alters-Obergrenze von etwa 18 Jahren ist deshalb anzustreben, weil bei relativ jungen Eltern die Lebenszeitanamnese besser zu erheben ist. Ebenfalls vorzuziehen sind Familien, in denen nicht geraucht wird, da hier weniger Bronchitiden auftreten. Günstig wäre es auch, wenn für eine eventuell erweiterte Familienuntersuchung zu einem späterem Zeitpunkt weitere Familien-Angehörige erreichbar wären.

Alle Mitglieder der Kernfamilie sollen während dieser Studie untersucht werden, nicht nur die "affected sibs", sondern auch ihre Eltern und ihre gesunden bzw. ebenfalls kranken Geschwister.

### **Literatur**

Lange K. *The affected sib-pair method using identity by state relations. Am J Hum Genet* 1986; 39:148-150

*Blackwelder WC, Elston RC. A comparison of sib-pair linkage tests for disease susceptibility loci. Genetic Epidemiol 1985; 2:85-97*

*Ott Jurg. Analysis of Human Genetic Linkage. Revised Edition. The John Hopkins University Press, Baltimore, London, 1992. Chapter 4.9. Nonparametric approaches, p 77-79*

## Kapitel 5 **Definition von Asthma bronchiale**

Die Definition von Asthma bronchiale ist der wichtigste Punkt der Studie, denn danach werden die Familien primär ausgewählt. Für das *affected-sib-pair*-Design gilt das besonders, denn jede nachträgliche Veränderung kann durch die verringerte Fallzahl zu einem deutlichem Powerverlust der Studie führen. Die initiale Definition muß nicht nur die Erkrankung bei Kindern sondern auch bei Erwachsenen erfassen. Frühere Asthmasymptome sind im Rahmen einer Genetikstudie genauso als Asthma zu werten, wie die Erkrankung eines Probanden mit gerade akuter Symptomatik. Deshalb sollte der Anamnese das höchste Gewicht bei der Definition der Krankheit gegeben werden.

Der Vorschlag für die initiale Definition von Asthma bronchiale ist folgender: Asthma bronchiale liegt dann vor, wenn nach dem 3.Lbensjahr mehrfach (>10x) und über einen längeren Zeitraum (>3 Jahre) akut rezidivierende Zeichen der Atemwegsobstruktion aufgetreten sind. Zeichen der Atemwegsobstruktion (und/oder Hyperreaktivität) sind Atemnot und pfeifende Atemgeräusche oder ständiger Husten (mehr als 2 mal am Tag), wobei aber die wichtigsten Differentialdiagnosen der Atemwegsobstruktion ausgeschlossen wurden (anatomische Anomalien des Respirationstraktes, bronchopulmonale Dysplasie, Cystische Fibrose, chronische Bronchitis usw.).

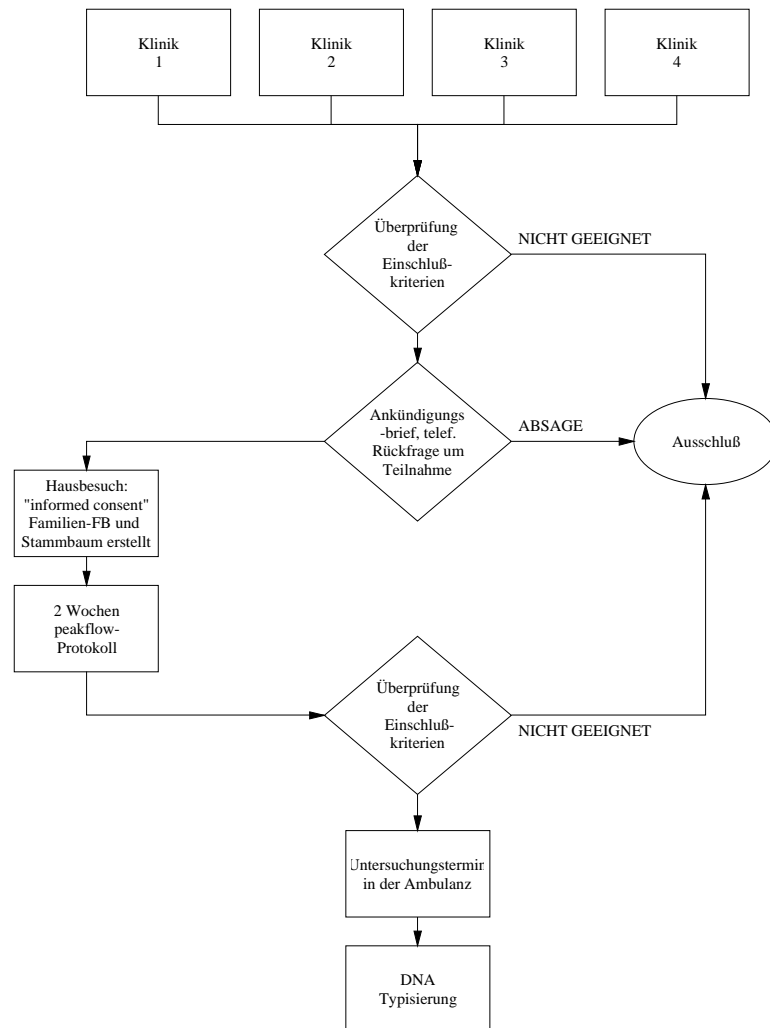
Wenn unter dieser Symptomkonstellation nicht bereits die klinische Diagnose Asthma bronchiale gestellt wurde, kann sie in dieser Studie zusätzlich gestellt werden, wenn mit Lungenfunktions-Tests (peakflow-Variabilität, Methacholin-Provokation, beta-Sympathomimetika) eine bronchiale Hyperreaktivität nachgewiesen wurde, sowie Symptome berichtet wurden. Eventuell müssen aber in einer späteren Phase der Studie noch weitere Definitionen von Asthma bronchiale und separate Untergruppen untersucht werden.

### **Literatur**

*National Asthma Education Program of the National Heart, Lung, and Blood Institute. Executive Summary: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. Bethesda, Maryland 20892, Publication No. 91-3042A, June 1991.*

## Kapitel 6 **Ablaufplan der Studie**

Zunächst werden in den beteiligten Kliniken die Krankenblätter der ambulanten Patienten durchgesehen, beziehungsweise, falls die Ambulanzpatienten in einer Datenbank registriert sind, passende Familien ausgewählt. Parallel dazu sollten alle Ambulanzärzte gebeten werden, über die nächsten 6 Monate während der aktuellen Sprechstunden auf Familien zu achten, auf welche die Einschlusskriterien zutreffen (siehe Ablauf-Diagramm auf der nächsten Seite). Die Adressen können dabei auf ein Erfassungsblatt (im Anhang) notiert werden. Nachdem die Adressen von einigen Familien zusammengekommen sind, wird den Familien zunächst in einem Einladungsschreiben die Studie vorgestellt (Einen Entwurf finden Sie dafür ebenfalls im Anhang). Für eine ausführlichere Beschreibung der Studie sind ebenfalls Formulare vorbereitet, die den Probanden zum Beispiel aber auch schon während der Sprechstunde übergeben werden können.



Einige Tage nach dem Informationsschreiben ruft ein Arzt oder eine Schwester aus der Ambulanz die Familie an und fragt nach, ob die Eltern mit der Teilnahme an der Studie einverstanden sind. Bei Interesse wird dann der Termin für einen Hausbesuch vereinbart. Bei diesem Telefonanruf werden am besten auch noch einmal die Einschlusskriterien überprüft, denn es wäre ärgerlich, wenn die Familie nach dem Hausbesuch wegen falscher Ausgangsinformationen wieder ausgeschlossen werden müßte. Als Dauer für diesen Hausbesuch sollten 2 Stunden veranschlagt werden. Wichtig dabei ist, daß alle Kontaktaufnahmen und Terminabsprachen auf einer Liste notiert werden.

### **1. Kontakt Hausbesuch**

Aufgaben: Überprüfung der Einschlusskriterien, Ausfüllen der Einverständniserklärung, des Familienfragebogens, des Stammbaumes auf der Rückseite des

Familienfragebogens, sowie wenn von der Zeit her möglich auch bereits der einzelnen Probanden-Fragebögen. Erläuterung des Peakflow-Protokolls für die nächsten 14 Tage und Aushändigung des Peak-Flow-Meters.

Bei dem Hausbesuch sollte den Eltern und Kindern zunächst noch einmal der Ablauf der Studie erklärt werden, sowie alle Familienangehörigen um ihre Einverständnis gebeten werden. Das entsprechende Formular kann bei dieser Gelegenheit ausgefüllt werden ( Es kommt dann in die Klinik und wird dort zusammen mit allen anderen Untersuchungsmaterialien verschlossen aufbewahrt). Während des Ausfüllens des Familien-Fragebogens werden automatisch auch die Einschluß-Kriterien noch einmal überprüft (siehe Materialien-Anhang). Dabei wird auch der Stammbaum auf der Rückseite des Familien-Fragebogens eingetragen. Im Anschluß daran kann mit dem mitgebrachten Staubsauger die Hausstaubprobe gesammelt werden. Da im Anschluß an den Hausbesuch auch bei der ganzen Familie eine Peak-Flow-Serie aufgezeichnet werden soll, werden zum Abschluß die Mess-Geräte und -Protokolle verteilt, sowie der Messvorgang erläutert.

## **2. Kontakt Untersuchungstermin in der Klinik**

Es ist nicht unbedingt notwendig, daß die gesamte Familie an demselben Untersuchungstermin teilnimmt, wengleich dieses Vorgehen aber eine organisatorische Vereinfachung mit sich bringt. Möglich wäre auch, daß die Mutter mit einem Kind an einem, der Vater mit dem anderen Kind am nächsten Untersuchungstermin teilnimmt (das ist unter Umständen auch für geschiedene Eltern die beste Möglichkeit).

Für den Fall daß aber die ganze Familie anwesend ist, ist der Vorschlag, daß die Untersuchungsstationen in drei Räumen aufgebaut werden (das Programm kann aber auch "hintereinander" abgearbeitet werden:

- A1 Interview- / Besprechungsplatz (1.Raum, falls nicht bereits bei dem Hausbesuch erledigt)
- B1 Lungenfunktions / Provokations-Messplatz (2.Raum)
- C1 Prick-Test (3.Raum)
- C2 Blutentnahme (3.Raum)

Die Familie sollte je nach sonstigem Ambulanzbetrieb für den späten Nachmittag oder Abend einbestellt werden. Dieser Zeitpunkt ist deshalb wichtig, weil meist ein Familienangehöriger tagsüber arbeitet, zum anderen aber auch, weil dann die Ambulanzräume am besten verfügbar sind. Mindestens eine Krankenschwester (oder MTA bzw. Student(in)) ist für die Assistenz während der Untersuchung notwendig;

wenn möglich, sollten aber zwei Krankenschwestern die Untersuchung begleiten. Darauf ist eventuell schon beider Terminplanung Rücksicht zu nehmen.

Um vergleichbare Untersuchungsbedingungen nicht nur für die Serumparameter sondern auch für die Lungenfunktion zu haben, sollte aber der Zeitpunkt "später Nachmittag" möglichst auch bei Familien eingehalten werden, die auch zu einem anderen Zeitpunkt in die Klinik hätten kommen können.

Das Untersuchungsprogramm nimmt für eine vierköpfige Familie (beide Eltern gesund, deshalb alle Provokationsschritte) bei zwei Untersuchern gut 4 Stunden in Anspruch. Bei 3 Untersuchern kann die Zeit auf knapp 3 Stunden verkürzt werden.

Nach Eintreffen der Familie in dem Zentrum sollte möglichst ohne Wartezeit an Platz A1 das Interview mit allen Familienmitgliedern gemeinsam durchgeführt werden. Eventuell wird bei den Kindern gleich ein EMLA-Okklusionsverband angelegt, um die spätere Blutentnahme schmerzfrei durchführen zu können. Dann werden die Einverständniserklärungen überprüft und die Eltern und Kinder interviewt, falls nicht bereits beim Hausbesuch geschehen. Die Fragen sollten dabei aber an die Eltern gerichtet werden. Wenn die Kinder allerdings widersprechen (was ab und zu vorkommt), sollte den Eltern die Frage noch einmal gestellt werden.

Dann werden die Peakflow-Geräte der letzten 2 Wochen eingesammelt, zusammen mit den Dokumentationsunterlagen. Erst nach Abschluss des Untersuchungsprogrammes sollte dann von den elektronischen Peak-Flow-Metern die Daten auf einen PC sowie eine Diskette überspielt werden.

Die Familie teilt sich nach dem Interview in zwei Gruppen auf, mit jeweils einem Elternteil und einem oder zwei Kindern. Der Vater beginnt an Platz B1 mit der Lungenfunktion. Das Kind kann sich dabei die Technik erstmal anschauen. Während bei dem Vater dann die Provokation durchgeführt wird, sollte bei dem Kind die basale Lungenfunktion durchgeführt werden; das heißt aber auch, daß zwei Lungenfunktionsgeräte gleichzeitig notwendig sind [Bei der gsf kann eventuell ein Laptop mit einem portablen Jäger Pneumoscreen für einige Wochen ausgeliehen werden]. Der Zeitbedarf ist je nach Empfindlichkeit auf Methacholin auf 30-45 Minuten zu veranschlagen.

Parallel dazu geht die Mutter mit dem zweiten Kind zur der Pricktest-Station (C1). Nach Auftragen der Testlösungen wird exakt 15-Minuten gewartet. Nach Ablesen des Prick-Testes wird bei Mutter und Kind Blut abgenommen (Station C2, etwa 15 Minuten). Wenn alle Untersuchungsschritte durchgeführt wurden, werden die Gruppen gewechselt, d.h. die Mutter geht mit ihren Kindern zu B1 und der Vater nach C1.

### **3. Kontakt Nachholtermin**

In Ausnahmefällen, falls einzelne Untersuchungen bei den vorangegangenen zwei Terminen nicht durchgeführt werden konnten, kann noch ein weiterer Termin in der Klinik vereinbart werden. Dafür sollte den Probanden erneut die Fahrtkosten erstattet werden.

**Checkliste**

Vor Einbestellung der Familie zur Untersuchung bitte überprüfen:

1. Untersuchungskit: Ist ein komplettes Untersuchungskit für die Familie vorhanden:
  - codierter, d.h. von der gsf mit Probandennummer versehener Familien-Interview-Bogen
  - Etiketten für alle Probanden
  - Interviewbogen "Proband"
  - Blutabnahme-Protokoll "Proband"
  - Lungenfunktions-Protokoll "Proband"
  - Prick-Test-Protokoll "Proband"
2. Sind genügend Blutabnahme-Röhrchen da?
3. Sind genügend Pricktest-Nadeln und Allergene vorhanden?
4. Funktioniert das Lungenfunktions-Testgerät?
5. Sind die vorgesehenen Räume frei?
6. Wer macht Untersuchungs-Assistenz?
7. Wer zentrifugiert das Blut anschliessend, aliquotiert und bringt die Umschläge zur Post?

## Kapitel 7 Interview

Bitte füllen Sie zunächst die Felder für den Interviewer aus und kleben jeweils ein Barcode-Etikett in die rechte obere Ecke des Interviewbogens. Legen Sie sich die Bilderserie zur Neurodermitis zurecht, die Sie am Ende des Interviews brauchen werden.

Stellen Sie die Fragen immer an die Person, die befragt werden soll, also auch an die Kinder. Die Eltern sollten aber immer dabei sein, wenn irgend möglich die Mutter. Bei Meinungsverscheidenheiten zählt die Aussage der Eltern über die der Kinder, bei Differenzen zwischen Vater und Mutter die Aussage der Mutter.

Für das Interview gelten folgende Grundregeln:

- dem Probanden gegenüber höflich und freundlich sein
- die Fragen immer genauso stellen, wie sie im Fragebogen stehen
- wenn die Frage beim ersten Mal nicht verstanden wurde, die Fragen in der gleichen Weise wiederholen,
- die Frage ein drittes Mal mit anderen Worten, aber nicht sinnverändert, stellen, wenn der Teilnehmer die Frage erneut nicht verstanden hat oder nicht antwortet
- den Teilnehmer bitten mit Zusatzfragen bis nach dem Interview zu warten
- Antwortvorgaben deutlich und langsam vorlesen
- die Antworten sofort in den Fragebogen eintragen; bitte nicht interpretieren
- sich neutral verhalten und dem Probanden keine Antworten in den Mund legen
- am Ende des Interviews überprüfen, ob der Fragebogen vollständig ausgefüllt wurde. Diese Kontrolle sollte wenn möglich nicht von der Person, die den Fragebogen ausgefüllt hat, durchgeführt werden; möglichst jedoch noch während die Probanden im Untersuchungszentrum anwesend sind, damit fehlende Angaben noch ergänzt werden können.

Dazu noch einige Einzelhinweise als Ausfüllanleitung:

***Vollständigkeit der Fragen:***

Es sind **alle** Fragen auszufüllen, außer den Teilfragen, die bei einer bestimmten Antwort, meistens bei "nein", übersprungen werden. Zu den Fragen, die leicht vergessen bzw. übersehen werden zählt z.B. Frage 26 im Probandenbogen.

***Sprungfragen:***

Es gibt Fragen, die nicht für alle Probanden zutreffen. Damit im Interview allen Probanden nur die für sie zutreffenden Fragen gestellt werden, sind sogenannte "Sprünge" oder "Filter" vorgesehen. Sprungfragen sind Fragen, mit den Antwortkategorien "ja", "nein" oder "weiß nicht" besitzen und weitergehen mit dem folgenden Satz: "Wenn ja, bitte die folgenden Fragen stellen, wenn nein weiter mit Frage ...." oder "Falls ja, (dann die weiteren Teilfragen der gleichen Fragenummer ausfüllen, ansonsten weiter mit der folgenden Fragenummer)" z.B. Frage 9 des Probandenfragebogen.

Falls der Proband als Antwortkategorie "weiß nicht" angibt, bitte die Unterfragen stellen; wenn eine der Unterfragen bejaht wird, Eingangsfrage von "weiß nicht" auf "ja" umändern und die Unterfragen vollständig, gegebenenfalls mit "nein" beantworten. Wurde die Eingangsfrage mit "nein" beantwortet, so darf keine der Unterfragen beantwortet werden, d.h. sie werden übersprungen.

Wenn die Unterfrage/n ausgefüllt wird bzw. werden, dann muß auch die Eingangsfrage ausgefüllt werden. z.B: Frage 12 des Probandenbogen: Wenn Medikamente angegeben werden, die in den letzten 12 Monaten eingenommen wurden, muß auch die Frage, "Haben Sie Medikamente in den letzten 12 Monaten eingenommen?" mit "ja" beantwortet werden.

***JA / NEIN Fragen***

Bei ja / nein Fragen muß sich für eine der beiden Kategorien entschieden werden. Ist noch eine Dritte Kategorie "weiß nicht" vorgesehen, kann auch diese angekreuzt werden; den Patienten darauf drängen sich für ja oder nein zu entscheiden. Bei Frage 8 des Probandenbogens ist darauf zu achten, daß alle 5 Fragen ausgefüllt werden; bei allen aufgeführten Personen bzw. Personengruppen die nicht die Fragen beantworten, ist die Kategorie "nein" anzukreuzen.

***Länge der zugelassenen Antworten***

Bei Textfeldern ist der Text kurz zu halten, da für die Erfassung nur 15 Stellen vorgesehen sind. Sollte der einzutragende Text länger sein, so ist er sinnvoll und aussagekräftig abzukürzen. Bei Feldern, in denen Zahlen eingetragen werden sollen, ist die genaue Länge der Zahl durch die Anzahl von Kästchen schon vorgegeben. Ist ein Wert genauer (mit mehr relevanten Stellen) bestimmt worden, so ist er auf die im Fragebogen angegebene Länge zu runden; dabei sind Werte bis 4 abzurunden und Werte

gleich oder größer 5 aufzurunden. So ist z.B.: das Körpergewicht des Probanden im Lungenfunktions-Protokoll ohne Nachkommastellen als ganze Zahl einzutragen; auch wenn das Gewicht genauer bestimmt wurde. d.h. ein Gewicht von 64,4 wird auf 64 abgerundet und eines von 64,5 wird auf 65 aufgerundet.

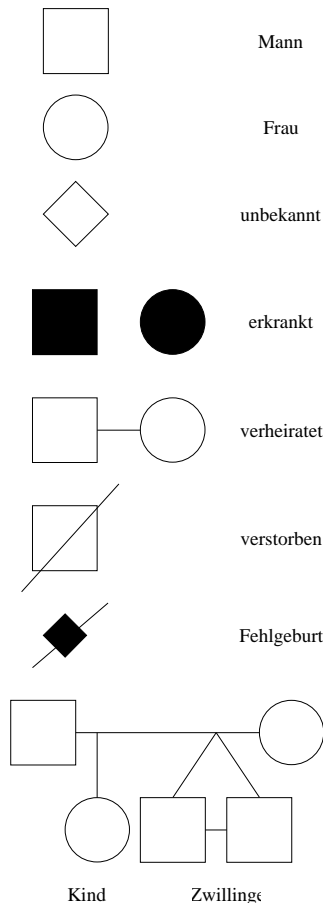
### ***Textfelder***

Pro Textzeile sollte genau eine Information aufgeschrieben werden. So ist z.B. im Lungenfunktions-Protokoll Frage 7 ein Medikament pro Zeile aufzuschreiben. Werden mehrere Medikamente zur gleichen Zeit eingenommen, so muß für jedes Medikament eine neue Zeile benutzt werden. Der Medikamentenname, muß vollständig, also mit Zusätzen wie "mite", "forte", "retard" oder "compositum" aufgeschrieben werden. Es ist darauf zu achten, daß die erfaßten Textfelder gut leserlich sind. Die Lesbarkeit des Textes ist besonders wichtig bei allen Medikamenten- und Krankheitsnamen; da die Dateneingabe/innen praktisch immer Nichtmediziner sind.

## Kapitel 8 Stammbaum-Erhebung

Um die Stammbäume zu zeichnen, bitte die Rückseite des Familien-Interviewbogens nehmen und mit Bleistift HB drei horizontale Hilfslinien ziehen, auf denen später von unten nach oben jeweils die Kinder-, dann die Eltern- und Großelterngeneration eingetragen wird.

**Langsam, deutlich und mit Druckbuchstaben schreiben.** Zur Notierung können die folgenden Symbole benutzt werden:



Weitere, aber weniger wichtige Symbole, finden Sie in allen Lehrbücher der Humangenetik. Am besten beginnen Sie mit den beiden betroffenen Kindern in der Mitte der untersten Hilfslinie (siehe die Beispielfamilie auf der nächsten Seite). Die

- Symbole relativ klein zeichnen, da noch Platz für Text benötigt wird,
- Väter links, Mütter rechts schreiben,

- Kinder in der Geburtsreihenfolge aufführen,
- Symbole schwarz ausmalen, wenn anamnestisch Asthma für dieses Familienmitglied angegeben wird. (Die Angabe wird später korrigiert, wenn sie sich als falsch herausstellen sollte).
- Unter jedes Familienmitglied dann Initialen von Vor- und Nachnamen (wie in der Adressliste) schreiben,
- daneben das Geburtsjahr (ev. auch nur ungefähr-Angaben, wenn es die Probanden nicht ganz genau wissen
- und darunter den aktuellen Wohnort schreiben.
- Im ersten Schritt wird die Indexfamilie erfasst,
- dann alle Geschwister der Eltern (Tanten und Onkel),
- dann deren Kinder (Cousins der "affected sibs"),
- und zuletzt die Großeltern.

Der Übersichtlichkeit halber bitte keine weiteren Personen (zum Beispiel Geschwister der Großeltern u.s.w. aufnehmen)

## Kapitel 9 Hausstaub-Sammlung

Um ein Maß für eine Allergen-Exposition bei Asthma zu haben, sollte auch Hausstaub in der Wohnung der Probanden-Familie gesammelt werden. Das kann in einer späteren Phase der Studie dazu dienen, die Interaktion zwischen einer genetischen Veranlagung und einem wichtigen Umweltfaktor modellhaft zu erklären.

Untersucht werden soll dazu der Fußboden im Wohnzimmer, sowie die Oberfläche der Matratze der beiden betroffenen Kinder. Die Staubprobenahme wird dabei am besten während des ersten Hausbesuches durchgeführt. Bitten Sie die Probanden, mindestens 2 Tage vor der Probenahme keinen Staub in den Probenahmeräumen zu saugen.

### ***Materialien und Vorbereitung***

Alle Geräte bekommen Sie für den Zeitraum der Studie von der gsf ausgeliehen. Die Staubprobe wird mit einem Staubsauger (Fa. Philipps, Hamburg, Typ Flüsterjet Vitall 371, 1000 W) genommen, auf dessen Saugrohr ein Ansatzstück mit Filterkassette und Ansaugstutzen (Fa. ALK, Ho/rsholm, Dänemark) aufgesteckt ist. Zunächst sollte der Staubbeutel aus dem Inneren des Staubsaugers entfernt werden und der Schieber am Knick des Saugrohres (= "Saugleistungsregler") nach vorne geschoben und in dieser Stellung mit Klebeband fixiert sein. Damit soll verhindert werden, daß die Leistung des Staubsaugers durch Ansaugen von Fremdluft wegen Undichtigkeiten im Saugsystem gemindert wird.

Bitte stecken Sie dann das gerade, konische Ansatzstück fest auf das Saugrohr des Staubsaugers. Vergewissern Sie sich, daß der Dichtungsring richtig sitzt. Öffnen Sie nun bitte die Plastiktüte mit der Filterkassette. Nehmen Sie den Deckel ab und setzen Sie die Filterkassette mit der Lochplatte auf das Ansatzstück. Klipsen Sie dann den Ansaugstutzen fest, so daß er mit der Filterkassette am konischen Ansatzstück gehalten wird. Vergewissern Sie sich, daß die Filterkassette richtig sitzt.

Die Probenahmedauer beträgt 2 min pro Quadratmeter besaugte Fläche. Grundsätzlich wird bei jeder Probenahme 1 m<sup>2</sup> abgesaugt. Pro Wohnung werden daher für jedes Kind eine vorgewogene Filterkassetten mit Ansatzstücken und Saugstutzen benötigt, sowie eine weitere für das Wohnzimmer. Zusätzlich werden ein Becher mit Deckel und 70%igem Alkohol, eine Stoppuhr für die Probenahmedauer, ein 1m<sup>2</sup> - Rahmen für die Fußboden-Probenahmefläche sowie zwei Bindfäden und ein Bandmaß für die Matratzen-Probenahmefläche benötigt. Ausserdem notwendig ist ein "Hausstaub"-

Saugprotokoll, das Sie im Anhang finden und das mit der Familiennummer beschriftet werden muß.

### ***Probennahme Wohnzimmer***

Die Probenahmen auf dem Fußboden sollen nach Möglichkeit auf textilen Oberflächen erfolgen (Teppiche, Läufer, Auslegware). Andere textile Oberflächen (Sofa, Sessel etc.) sollen nicht abgesaugt werden. Ausnahmen sind in dem Protokoll zu kennzeichnen. Legen Sie dann den 1m<sup>2</sup> - Rahmen auf die vorgesehene Saugfläche. Schalten Sie den Staubsauger ein. Saugen Sie bitte dann in exakt 2 min den ganzen Quadratmeter ab. Halten Sie während der ganzen Zeit den Ansaugstutzen senkrecht und fest auf die Beprobungsfläche gepreßt, um das Ansaugen von Fremdluft zu begrenzen. Nach genau 2 min drehen Sie bei laufendem Staubsauger die Saugvorrichtung um, so daß der Ansaugstutzen senkrecht nach oben zeigt und kein Staub nach unten herausfallen kann. Dann schalten Sie den Staubsauger ab, montieren den senkrecht nach oben stehenden Ansaugstutzen ab und verschließen die Filterkassette mit ihrem Plastikdeckel. Die verschlossene Filterkassette wird nun vom Ansatzstück abgenommen. Kleben sie bitte nun das entsprechende Etikett "Wohnzimmer" und "Matratze" auf die Plastiktüte, in der sie diese Filterkassette verpacken werden. Die Filterkassette wird nun in die dazugehörige Plastiktüte gepackt und diese verschlossen.

Bei Probenahme auf glatten Bodenflächen sind die Standard-Sammelbedingungen nicht eingehalten und es müssen für das Zimmer die entsprechenden Angaben im Feldprotokoll gemacht werden. Messen Sie mit einem Metermass den Boden aus und tragen Sie die Bodenfläche ins Feldprotokoll ein. Saugen Sie bitte in 2 min die gesamte Fläche des Bodens ab und verschließen und beschriften Sie die Filterkassette wie oben beschrieben.

### ***Probennahme Matratze***

Lassen Sie das Bett abdecken und entfernen Sie das Bettuch, so daß die Matratzenoberfläche freiliegt. Die Oberfläche kann aus einem Aufleger oder aus der Matratze bestehen. Dann sollte die Fläche unter dem Bettuch abgesaugt, gleichgültig, ob es sich dabei um die Oberfläche der Matratze, eines Matratzenschoners oder einer ähnlichen Auflage handelt. Besaugt wird 1 m<sup>2</sup> in der Mitte der Matratze. 1 m<sup>2</sup> Matratze = entspricht dabei bei einer 90 cm Matratze 112 cm Längsseite, bei 80 cm 125 Längsseite, 70 cm 143 cm und 60 cm Kindermatratze 167 cm. Saugen Sie bitte in 2 min den 1 m<sup>2</sup> der Matratze ab und verschließen und beschriften Sie die Filterkassette wie oben beschrieben.

Nach der Probenahme tragen Sie bitte im Feldprotokoll unter dem entsprechenden Zimmer, in dem Sie gerade gesaugt haben, folgendes ein:

1. vor wieviel Tagen diese Flächen zuletzt gesaugt (gereinigt) wurden
2. die Leergewichte der Filterkassetten (steht auf der vorgewogenen Kassette)
3. die ID-Nummern = Kenn-Nummern der Staubsauger

Vermerken Sie, ob für die Beprobung im jeweiligen Zimmer die Standard-Beprobungsbedingungen nach dieser Anleitung bezüglich Beprobungsmodus, -dauer und -fläche "eingehalten" oder "nicht eingehalten" werden konnten.

Bitte legen Sie die in die Plastiktüten verpackten Filterkassetten bei  $-20^{\circ}\text{C}$  in die Tiefkühltruhe und bringen die gesammelten Proben bei dem nächsten Studientreffen in die gsf mit. Die ausgefüllten Protokolle sollten allerdings schon vorher zur gsf per Post mit anderen Unterlagen geschickt werden.

### ***Reinigung***

Reinigen Sie bitte den Ansaugstutzen des Staubsaugers mit Leitungswasser und trocknen die Ansaugstutzen gut ab. Danach tauchen Sie die Ansaugstutzen kurz in einen Becher mit 70%-igem Alkohol. Die Ansatzstücke können am Saugrohr des Staubsaugers verbleiben. Sie brauchen nicht gesäubert werden.

## Kapitel 10 Prick-Test

Die Allergen-Hauttestung stellt nach wie vor die einfachste Methode zur individuellen Feststellung der Reaktivität gegenüber einem bestimmten Allergen dar. Dabei wird die Reaktion gegenüber verschiedenen, häufig vorkommenden Allergenen standardisiert getestet. Die Durchführung der sog. Prick-Testung, bei der die Haut durch ein kleine Nadel oberflächlich angeritzt wird, ist stark von dem Untersucher abhängig. Deshalb ist bei der Schulung der Untersucher/-innen großer Wert darauf zu legen, daß die Einstichtiefe, der Einstichwinkel und die Menge des zuvor auf die Haut aufgetragenen Allergens identisch sind. In den klinischen und epidemiologischen Voruntersuchungen stellte sich heraus, daß nur wenige Allergene erforderlich sind, um die wichtigsten Sensibilisierungen zu erfassen. Wegen der besonderen Wichtigkeit der allergischen Disposition innerhalb der Syndromkomplexes Asthma werden hier neben Positiv- und Negativkontrolle 12 Allergene untersucht:

Frühblüher	Birke ( <i>Betula verrucosa</i> ) ALK SQ108 Hasel ( <i>Corylus avellana</i> ) ALK SQ113
Kräuter	Spitzwegerich ( <i>Plantago lanceolata</i> ) ALK N342 (als Mischung) Beifuß ALK SQ312
Gräser	Gräsermischung ALK SQ299 (Wiesenhafer, Knäuelgras, Wiesenschwingel, Raygras, Wisenlieschgras, Wiesenrispengras)
Milben	<i>Dermatophagoides farinae</i> ALK SQ 504 <i>Dermatophagoides pteronyssimus</i> ALK SQ 503
Epithelien	Katzenhaare ALK SQ555 Hundehaare ALK SQ 553 Kakerlaken (Direktimport durch Scherax, Hamburg)
Pilze	<i>Aspergillus fumigatus</i> ALK N405 <i>Alternaria alternata</i> ALK N402

Die Applikation des Tests ist fast schmerzlos und wird nach den bisherigen Erfahrungen auch von Kindern problemlos akzeptiert. Die Haut-Prick-Tests sollen entsprechend dem Protokoll der EC-Studie (EC Respiratory Health) durchgeführt werden. Verwendete Allergene werden aus einer Charge von SCHERAX, Hamburg (ALK) bezogen werden.

Ausschluß-Kriterien sind

1. frühere anaphylaktische Reaktion während eines Prick-Testes
2. schweres Ekzem an der Untersuchungsstelle (Dabei kann entweder auf eine andere Körperstelle ausgewichen werden; falls das auch nicht möglich erscheint, ist der Test um 3 Monate zu verschieben).
3. Einnahme von Antihistaminika oder systemischer/inhalativer Steroide in den letzten 48 Stunden (Dann ist der Test um 1 Woche zu verschieben).

Testlösungen sind im Kühlschrank aufzubewahren und 1 Stunde vor Applikation herauszunehmen. Als Negativ-Kontrolle dient NaCl-Lösung (0,9%), als Positiv-Kontrolle Histaminchlorid (10 mg/ml). Die Applikation sollte auf der rechten volaren Unterarmfläche stattfinden. Einfaches Waschen des Unterarmes mit Wasser und Seife 10 Minuten vor Testbeginn bei verschmutzten Unterarmen ist ausreichend, eine weitere Desinfektion ist nicht nötig. Zur Applikation bitte

1. zunächst alle Allergenfläschchen öffnen und auf die mitgelieferte Schablone in der richtigen Reihenfolge auf den Tisch stellen.
2. Dann alle ALK-Lanzetten öffnen, indem die Papierhülle an der perforierten Stelle abgerissen wird, ohne aber die Spitze der Nadel zu berühren. So viele Päckchen öffnen, wie insgesamt gebraucht werden.
3. Das Auftragen der Allergene sollte immer in der selben Reihenfolge stattfinden, nämlich von proximal einmal links einmal rechts in der Reihenfolge der Allergenfläschchen auf dem Tisch, die auch der Reihenfolge auf dem Prick-Test-Bogen (siehe Anhang) entspricht.

<< Positivkontr.	Negativkontr.>>
<< Allergen 1	Allergen 2>>
<< Allergen 3	Allergen 4>>
<< u.s.w.	

Die Allergene sollten in derselben Reihenfolge auf dem Untersuchungstisch angeordnet sein, um Verwechslungen auszuschließen. Dann kann jeweils ein **kleiner** Tropfen ohne die Haut zu berühren aufgebracht werden. Bei kleineren Kindern sollte eine Hilfsperson den Arm festhalten, damit die Allergen-Lösungen

nicht verwischt werden. Falls ein Tropfen daneben fällt, vorsichtig mit einem Papier-Taschentuch abwischen.

4. Zum Pricken die Haut etwas anspannen, indem sie unter dem Arm etwas zusammengezogen wird. Die Lanzette im 45<sup>o</sup> Winkel zur Haut halten, durch den Tropfen die Haut kurz und fest eindrücken und mit einer hakenförmigen Bewegung anheben. Die Lanzette danach in den Abwurf geben. Für jedes Allergen eine neue Lanzette nehmen.
5. Mit einem Kugelschreiber jeweils rechts und links lateral der Allergen einen kleinen waagrechten Strich machen, um das spätere Wiederauffinden der Teststelle zu erleichtern.

Die Ablesung erfolgt nach 15 Minuten. Zunächst wird die Allergen-Lösung abgewischt. Dann wird die Fläche der durch den Allergeneffekt bewirkten Hautschwellung ("Quaddel") mit einem Kugelschreiber umfahren und mit Hilfe der mitgelieferten Plexiglas-Schablone mit aufgedruckten Kreisen oder einem Lineal abgelesen und auf das Registrierblatt "Prick-Test-Protokoll" eingetragen. Niemals die Größe der Allergen-Quaddel schätzen, sondern immer korrekt messen!

Dann werden die Quaddelgrößen auf das Pricktest-Protokoll übertragen. Dazu wurden alle Quaddeln mit einem Kugelschreiber umfahren (beziehungsweise bei negativem Ausfall nur mit einem Punkt angezeichnet). Einen 20 mm breiten Tesafilm kurz aufdrücken, wieder abziehen und auf den linken bzw. rechten Rand des Protokollblattes aufkleben. Bitte beschriften Sie anschliessend die Kreise auf dem Tesafilm mit dem Buchstaben des jeweiligen Allergens.

Bei starkem Juckreiz kann anschliessend eine Antihistaminika-Salbe (zum Beispiel Soventol(R)) aufgetragen werden.

### **Auswertung**

Der Test ist auswertbar, wenn die Allergen-Quaddel der Positiv-Kontrolle mindestens zwei Millimeter und die Allergen-Quaddel der Negativ-Kontrolle maximal ein Millimeter beträgt. Ein Allergie-Test ist positiv, wenn die Allergen-Quaddel mindestens drei Millimeter Durchmesser hat.

### **Literatur**

*Dreborg S. Pathophysiology of skin tests. Allergy 1989; 44(Suppl 10):13-21*

*Brunekreef B. Effects of short-term changes in urban air pollution on the respiratory health of children with chronic respiratory symptoms. Wageningen, August 1993.*

## Kapitel 11 **Lungenfunktions-Untersuchung**

Die Lungenfunktions-Untersuchung wird bei Kindern wie Erwachsenen nach dem gleichen Protokoll durchgeführt. Sie besteht aus zwei Teilen: der einmaligen Messung der Lungenfunktion mit anschließender Bestimmung der bronchialen Hyperreaktivität, sowie der wiederholten Messung des Peakflows über zwei Wochen (siehe Ablaufschema auf der folgenden Seite)

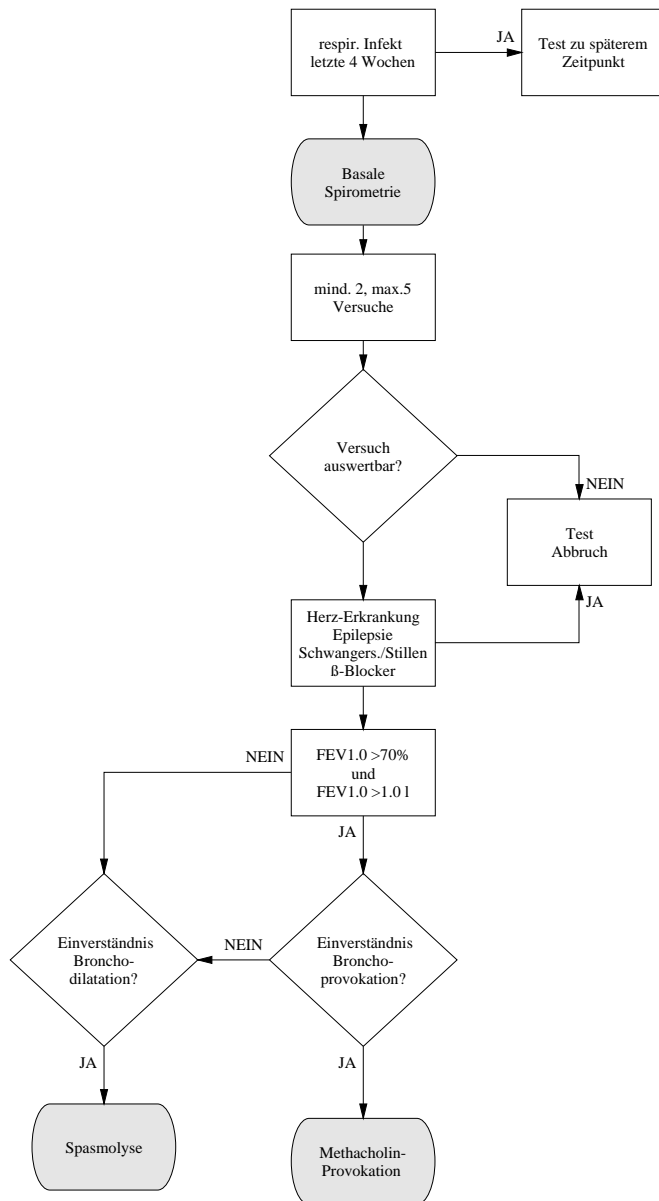
### ***Messung der basalen Lungenfunktion***

Messprinzip ist die Aufzeichnung des Luftflusses während einer forcierten Ausatmung. Das Untersuchungsprogramm läuft nach einem modifizierten Verfahren ab, das von Chai 1975 publiziert wurde und auch von der US-Kooperationsstudie zur Genetik von Asthma verwendet wird. Soweit möglich sind die Durchführungsrichtlinien auch an das Protokoll der EC-Studie angepasst. Je nach Ausfall der initialen Lungenfunktion schliesst sich eine Bronchodilatation mit Sultanol oder eine Bronchoprovokation mit Methacholin an.

Von der Lungenfunktionsuntersuchung ausgeschlossen sind Probanden,

1. die eine akute Infektion des oberen Respirationstraktes haben. Die Untersuchung wird in diesem Fall 4 Wochen später wiederholt.
2. Wenn die Probanden bis eine Stunde vor der Untersuchung geraucht haben, sollte eine Stunde gewartet werden, bis die Lungenfunktion durchgeführt wird.
3. Die Einnahme von Medikamenten ist kein Ausschlußgrund. Die Medikamenteneinnahme in den letzten 12 Stunden muß aber auf dem "Untersuchungsbogen Lungenfunktion" dokumentiert werden.

Vor Bestimmung der Lungenfunktion werden zunächst Größe und Gewicht gemessen. Dazu sollen die Probanden die Schuhe ausziehen und schwere Kleidung wie Jacken oder Westen ablegen. Falls keine Messlatte zur Verfügung steht, kann auch ein Haushalts-Massband mit einer Reisszwecke an die Wand geheftet werden. Man legt dann ein Buch o.ä. auf den Kopf des Probanden, lässt ihn zur Seite treten und liest die Größe in Zentimetern ab. Wenn sich der Proband nicht messen lassen möchte, wird "999" in das Feld Größe eingetragen. Werte bitte deutlich schreiben!



Das Gewicht kann auf der jeweils vorhandenen Waage in der Kliniks-Ambulanz gemessen werden. Werte senkrecht über dem Display ablesen! Wenn sich der Proband nicht wiegen lassen möchte, wird "999" in das Feld "Gewicht" eintragen.

Die Lungenfunktion wird an den in der Kliniksambulanz vorhandenen Geräten untersucht. Falls kein geeignetes Lungenfunktions-Messgerät vorhanden sein sollte, steht in der gsf ein JÄGER Pneumoscop Laptop zur Verfügung (Zur Funktion siehe die Bedienungsanleitung des Gerätes). Alle Lungenfunktions-Messgeräte müssen täglich mit Raumtemperatur, relativer Luftfeuchtigkeit und Luftdruck auf BTPS-Werte geeicht werden. Dazu bitte eine 1-Liter- Volumeneichung mittels Luftpumpe durchführen und

als Kontrolle der dynamischen Flußwerte eine Lungenfunktion des ständigen Untersuchers durchführen.

Die Untersuchungsschritte dann im einzelnen:

1. Überprüfen, ob das Einverständnis-Formular unterschrieben ist.
2. Falls vorhanden, Zahnersatz oder Zahnspange herausnehmen lassen.
3. Den Probanden die Ein- und Ausatmung ohne Gerät vormachen: Langsam maximal einatmen und dann mit maximaler Anstrengung ausatmen.
4. Dann den Probanden aufrecht sitzen lassen und die Höhe des Mundstückes so justieren, daß das Kinn gerade leicht angehoben ist. Die Hände sollten auf den Knien liegen oder sich an der Tischkante festhalten.
5. Die Nase mit einer Nasenklemme verschliessen.
6. Das Mundstück fest mit den Lippen umschließen.
7. Den Probanden 2-3 Atemzüge spontan atmen lassen.
8. Dann zwei Atemzüge die Spontan-Atmung mitzählen: "Einatmen", "Ausatmen".
9. Tief einatmen lassen "Jetzt tief einatmen", "Und mehr!", "Noch mehr!", bis der Proband maximal eingeatmet hat.
10. Dann mit voller Anstrengung ausatmen lassen: "Und fest ausatmen!" um zu dem maximalen Volumen auch einen maximalen Peakflow zu erzielen.
11. Während der Ausatmung auffordern "Weiter ausatmen", "Und weiter!", "Weiter!", um eine möglichst vollständige Ausatmung zu erzielen.
12. Proband spontan weiter atmen lassen.
13. Der Versuch wird akzeptiert, wenn
  - der Start der Expiration nicht verzögert war (ungenügend steiler Aufstrich der Fluß-Volumen-Kurve: die Kurve sieht mehr nach einer "Normalverteilung" aus.)
  - der FVC und der FEV1.0 überschlagsweise innerhalb 5% oder 100 ml Abweichung vom letzten Versuch lag
  - kein Husten während der Expiration aufgetreten ist (kleine Zacken in der Fluß-Volumen-Kurve, ausgenommen bei Rauchern)
  - der Proband nicht kurzfristig die Glottis geschlossen hat oder mit "Stimme" ausgeatmet hat
  - sich kein Leck am Schlauchsystem zeigte (sichtbar durch Drift der Mittellinie in

der Fluß-Volumen-Kurve)

- es nach subjektiver Einschätzung des Untersuchers um eine maximale Expiration bei maximalem Kraftaufwand gehandelt hat (sichtbar an der äusserlichen Bewegung des Thorax, der Mimik des Probanden und dem FEV1.0-Wert in Prozent des Alters-Solls)

14. Dann wieder weiter bei 6. und das Atemmanöver **mindestens zweimal, maximal fünfmal** wiederholen. Als Ergebnis werden die Werte des besten Einzelmanövers in das Lungenfunktions-Protokoll eingetragen.
15. Bitte folgende 7 Werte als Ist-Werte in Liter bzw. Liter/Sekunde in das Protokoll eintragen:
  - FVC** (forcierte Vitalkapazität)
  - FEV1.0** (forciertes 1-Sekunden-Volumen, Tiffeneau-Test)
  - PEF** (Peak-Expiratory-Flow)
  - FEF75** oder MEF75 (expir.Fluss nach 25% Volumen Ausatmung)
  - FEF50** oder MEF50 (expir.Fluss nach 50% Volumen Ausatmung)
  - FEF25** oder MEF25 (expir.Fluss nach 75% Volumen Ausatmung)
16. Bitte auch einen Ausdruck Ihrer jeweilig benützten Software anfertigen und an die Rückseite des Lungenfunktions-Protokolls mit Heftklammern anhängen. Darauf achten, daß am linken Rand genügend Platz zum Ablochen bleibt und daß die Klammern keine Zahlen auf der Vorderseite verdecken! Falls die Ausdrücke der Software größer als DIN A4 sind, bitte den Ausdruck auf Format DIN A4 zusammenfalten.
17. Auch wenn das Messen weiterer Parameter möglich wäre (zum Beispiel eine komplette Body-Plethysmographie), bitte darauf aus Zeitgründen verzichten und zum nächsten Schritt, der Methacholin-Provokation übergehen.

Herz-Erkrankungen, Epilepsie, Schwangerschaft, Einnahme von beta-Blockern sind kein Hinderungsgrund für eine basale Spirometrie. Allerdings sollten dann nicht mehr als 3 Versuche durchgeführt werden.

Noch einige weitere Hinweise zur Lungenfunktion: Die Ausatmung sollte mindestens 6 Sekunden beim Erwachsenen, beziehungsweise 2 Sekunden beim Kind dauern. Ansonsten ist damit zu rechnen, daß nicht vollständig ausgeatmet wurde. Für den Fall, daß ein Kind trotzdem vollständig in der ersten Sekunde ausgeatmet hat, wäre der FEV1.0 mit der FVC identisch und der FVC in der Spalte FEV1.0 einzutragen. Falls unter den fünf durchgeführten Atemmanövern kein qualifizierter Versuch war, bitte erst einen weiteren Probanden untersuchen, bevor bei diesem Probanden eine zweite Serie

gestartet wird. Wenn auch dann keine verwertbare Lungenfunktion möglich ist, bitte den Vermerk "Lungenfunktion nicht möglich" in das Untersuchungsprotokoll eintragen.

Weitere Untersuchungsschritte dürfen nur dann durchgeführt werden, wenn das Programm "basale Spirometrie" erfolgreich abgeschlossen wurde.

Wenn der FEV1.0 über 70% des altersspezifischen Normwertes liegt, beziehungsweise in Absolutzahlen über 1.5 l (1.0 l bei Kindern) schließt sich dann eine Bronchoprovokation mit Methacholin an. Wenn der FEV1.0 unter 70% des altersspezifischen Normwertes liegt, sollte auf alle Fälle eine Bronchospasmyse durchgeführt werden. Für den Fall, daß in der Klinik keine altersspezifischen Normwerte vorliegen, kann auf der Wertetabelle auf der folgenden Seite nachgeschaut werden.

Für die Methacholin-Provokation finden Sie auf der mitgelieferten Diskette ein WINDOWS-Programm, das Sie zusammen mit Ihrer Lungenfunktions-Software installieren können. Näheres steht in der Dokumentation auf der Diskette.

FEV1.0 Sollwerte \*

Alter	Größe	FEV1.0 [l] männlich	FEV1.0 [l] weiblich
6	117	1,19	1,16
7	123	1,38	1,33
8	127	1,51	1,45
9	133	1,72	1,65
10	137	1,88	1,79
11	143	2,12	2,01
12	147	2,30	2,17
13	152	2,53	2,37
>13 J.	150	2,80	2,33
>13 J.	155	3,02	2,52
>13 J.	160	3,23	2,72
>13 J.	165	3,44	2,92
>13 J.	170	3,66	3,12
>13 J.	175	3,88	3,31
>13 J.	180	4,09	3,51
>13 J.	185	4,31	3,71
>13 J.	190	4,52	3,91
>13 J.	195	4,74	4,10
>13 J.	200	4,95	4,30

\* FEV1.0 Sollwert für Kinder berechnet nach Zapletal (Formel in Quanjer PH, Stocks J, Polgar G, Wise M, Karlberg J, Borsboom G. Compilation of reference values for lung function measurements in children. Eur Respir J Suppl. 1989; 4:184-261). FEV1.0 Sollwert für Erwachsene berechnet nach P.H. Quanjer. Standardized lung function testing in the European Community for coal and steel. Bull Europ Physiopathol Resp. 1983, 19(Suppl 5):7-10

**Bronchospasmolyse**

Das Prinzip des Bronchospasmolyse-Testes besteht darin, einen bronchodilatatorisch wirksamen Stoff zu inhalieren und dann die maximale FEV1.0 zu bestimmen.

Ausschlußkriterien für eine Bronchodilatation sind:

1. Herzanfall (Angina pectoris oder Infarkt) in den letzten 3 Monaten

2. sonstige therapierte Herzerkrankung
3. Epilepsie
4. Schwangerschaft / Stillperiode
6. Einnahme von beta-Blockern

Die Bronchospasmolyse soll wie folgt durchgeführt:

1. Das Dosieraerosol mit Sultanol auf den Volumenexpander stecken. Asthmatiker, die sich damit bereits auskennen, können das selbst machen. Dann werden zwei Sprühstöße ausgelöst.
2. Die Probanden atmen ganz aus,
3. verschliessen mit den Lippen das andere Ende des Volumenexpanders und atmen fünfmal langsam tief ein und aus.
4. 10 Minuten nach der zweiten Inhalation wird der Effekt an einer zweite Fluß-Volumen-Kurve gemessen.

### ***Bronchoprovokation***

Das Prinzip der Bronchoprovokation besteht darin, in steigenden Stufen einen bronchokonstriktorisch wirksamen Stoff zu inhalieren und an wiederholten Ausatemmanövern die individuelle Reaktionsschwelle, nämlich einen 20 %igen-Abfall des initialen FEV1.0 zu titrieren. Methacholin ist ein synthetischer Abkömmling von Acetylcholin, das über muskarinerge postganglionäre parasymphatische Rezeptoren die glatte Atemwegsmuskulatur kontrahieren läßt. Die Bronchoprovokation mit Methacholin ist ein häufig durchgeführter, zum Teil auch klinisch verwendeter Test, der relativ gut standardisiert ist. Die Methacholin-Applikation ist bei Beachtung der Durchführungsrichtlinien leicht durchzuführen und hat nur selten systemische Nebenwirkungen. Für die Durchführung ist allerdings eine Schulung des/der Untersuchers in einem der beiden primären Zentren in Hamburg oder Berlin notwendig.

Während der Bronchoprovokation mit Methacholin werden die Versuchspersonen bis zu 30 Atemmanöver durchführen. Um eine vorzeitige Erschöpfung zu vermeiden, werden deshalb alle Ausatemungs-Versuche bereits nach ca. 2 Sekunden abgebrochen, da nur der FEV1.0 notwendig ist. Sobald ein technisch akzeptabler Versuch aufgezeichnet wurde, kann zur nächsten Stufe übergegangen werden.

Ausschlußkriterien für eine Bronchoprovokation mit Methacholin sind:

1. Herzanfall (Angina pectoris oder Infarkt) in den letzten 3 Monaten

2. sonstige therapierte Herzerkrankung
3. Epilepsie
4. Schwangerschaft / Stillperiode
5. Einnahme von beta-Blockern
6. Fehlende Ausgangs-Lungenfunktion
7. Ruhedyspnoe, Ruhezyanose
7. FEV1.0 < 70% des altersspezifischen Normwertes oder absolut unter 1.5 l (1.0 l bei Kindern)
9. >10%-FEV1.0-Abfall bereits während des initialen "Leerwertes" mit Kochsalz (NaCl)
10. kein Arzt anwesend
11. Raum nicht gut belüftbar

Methacholin (Acetyl- $\beta$ -MethychoLin-Chlorid A-2251, kristallin) wird über Dr. Jörres, Hamburg, von Synopharm, Hamburg, Tel. 040-6701902) in 5 ml Gläschen mit 100 mg Methacholin-Chlorid als Trocken-Puder bezogen. Verdünnt wird Methacholin mit 0.9%-NaCl-Lösung, die mit Phosphat-Puffer-Lösung auf einen physiologischen pH eingestellt ist. Dabei ist zu beachten, daß die Verdünnungslösung unter sterilen Bedingungen hergestellt, beziehungsweise nach Herstellung sterilfiltriert wird. Die Verdünnungen werden wie folgt hergestellt:

1. 4 ml Verdünnung zu dem Original-Pulver 100 mg Methacholin ergibt eine Lösung mit 25.00 mg/ml: Lösung "SCHWARZ"  
*Diese Lösung 2x ansetzen.*
2. 4 ml der 25.00 mg/ml Lösung und 6 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 10.00 mg/ml: Lösung "BRAUN"
3. 5 ml der 10.00 mg/ml Lösung und 5 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 5.00 mg/ml: Lösung "ROT"
4. 5 ml der 5.00 mg/ml Lösung und 5 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 2.50 mg/ml: Lösung "VIOLETT"
5. 5 ml der 2.50 mg/ml Lösung und 5 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 1.25 mg/ml: Lösung "BLAU"

6. 5 ml der 1.25 mg/ml Lösung und 5 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 0.625 mg/ml: Lösung "GRÜN"
7. 5 ml der 0.625 mg/ml Lösung und 5 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 0.313 mg/ml: Lösung "ROSA"
8. 5 ml der 0.313 mg/ml Lösung und 5 ml Verdünnung ergibt Lösung mit 0.156 mg/ml: Lösung "GELB"
9. Das Verdünnungsmittel NaCl ist Lösung "WEISS".

Für 4 Personen müssen Sie diese Verdünnungsreihe zweimal herstellen, da die Menge der Endlösung nicht für eine komplette Provokation ausreicht. Alternativ dazu können Sie aber auch einfach alle Menge bei einem Ansatz verdoppeln, sofern Sie ausreichend große Röhrchen haben.

Die verwendeten Pipetten sollten regelmäßig kalibriert worden sein. Alle Lösungen sollten bei 4 °C gekühlt transportiert und im Kühlschrank aufbewahrt werden. Methacholin kann bei unsachgemäßer Lagerung seine Wirkung verlieren! Die Lösung darf deshalb auch nur maximal 6 Wochen aufbewahrt und muß dann neu angesetzt werden. Alle Lösungen, die schon einmal in dem Vernebler eingefüllt waren, dürfen nicht mehr zurückgeschüttet werden, sondern werden abgekippt.

Der Provokations-Vernebler ZAN 200 AIR sollte dann wie auf der Schemazeichnung (im Anhang) zusammengesetzt werden. Wichtig ist dabei, daß der Pfeil auf dem T-Stück von der Halterung der Atemwerkennung weg, auf den Atemfilter hinweist. Zu Beginn der Provokations-Serie werden die Verneblerköpfe mit frischer Lösung gefüllt. Nach einem Provokationsschritt wird die Lösung zurückgeschüttet, nach einer ganzen Familie wird die Lösung weggeschüttet. Zwischen jedem neuen Einfüllen wird der Vernebler gereinigt, getrocknet und erst dann frisch gefüllt. Nach dem abendlichen Auswaschen werden alle Teile, die mit der Ausatemluft in Kontakt waren in alkoholische Desinfektionsmittel eingelegt. Wichtig: Darauf achten, daß anschließend das Desinfektionsmittel wieder vollständig aus dem Vernebler ausgewaschen wird!

Zur Provokation dann wie folgt vorgehen:

1. Den Vernebler an der Kompressoreinheit einschalten. Er ist nach 10 Sekunden betriebsbereit.
2. Den Probanden langsam, aber vollständig ausatmen lassen.
3. Mit den Lippen dabei dicht das Mundstück umschließen.

4. Langsame, nahezu vollständige Inspiration durchführen lassen, dabei kurz vor Beginn des Atemzugs die grüne Starttaste drücken. Die Aerosolfreisetzung wird dabei auf den Beginn der nächsten Inspiration getriggert, der Zähler an der Fernbedienung springt um eine Nummer hoch.
5. Den Atem 3 Sekunden halten.
6. Ohne den Vernebler los zu lassen, langsam ausatmen.
7. 6 Sekunden warten.
8. Die ganze Prozedur so oft wiederholen, wie für den Provokationsschritt notwendig ist (fast immer 5mal, siehe in der folgenden Tabelle).
9. 2 Minuten nach Ende des Provokationsschrittes die Fluß-Volumen-Messung wiederholen.
10. FEV1.0 und Zahl der Versuche auf der entsprechenden Provokationsstufe notieren.
11. Aktueller Prozentwert vom Ausgangswert berechnen (entweder mit dem Programm PC-20 oder einem Taschenrechner)
10. Darauf achten, daß noch mindestens 2ml Füllmenge im Verneblerkof stehen.
11. Wenn das Provokationsende noch nicht erreicht ist, zum nächsten Provokationsschritt übergehen. Die gelbe Taste auf der Fernbedienung stellt den Zähler wieder auf Null zurück.

Begonnen wird zunächst mit Verdünnungsmittel (Lösung "WEISS"). Wenn der FEV1.0 nach dieser Inhalation mehr als 10% von dem Ausgangswert abgefallen ist, wird die weitere Provokation gestoppt. Ansonsten wird der Abbruchwert ausgerechnet: Er beträgt 80% von dem FEV1.0 nach der Verdünnungslösung. Bei diesem Wert muß der Test immer abgebrochen werden und darf auf keinen Fall fortgesetzt werden. Ausserdem abgebrochen wird der Test,

1. wenn der Proband nicht mehr weiter machen möchte
2. oder wenn Hustenanfälle, Atemnot oder hörbare Atemgeräusche auf Distanz auftreten. In diesem Fall werden ( wie unter Bronchospasmyse beschrieben) 2 Hub Sultanol gegeben. Kein Proband darf mit deutlich schlechteren Lungenfunktionswerten, als vor Beginn des Testes das Zentrum verlassen!
3. wenn die 25 mg/ml Methacholin-Konzentration erreicht wurde.

Bitte immer die Abbruchgründe mit auf dem Protokoll eintragen. Ansonsten atmet der Proband auf jeder Stufe 5 Atemzüge der jeweiligen Konzentration ein.

Besonderheiten: Wenn bei dem Probanden kein Asthma bekannt ist, kann die zweite und dritte Stufe (gelb und rosa) übersprungen werden. Auf der letzten Stufe (schwarz) bitte den Probanden erst nur 3 Atemzüge inhalieren lassen, wenn der FEV1.0 bereits 15% reduziert ist. Falls er die 3 Atemzüge ohne Probleme vertragen hat, die letzten beiden Atemzüge anschliessen und nur den letzten FEV1.0 Wert aufschreiben.

Zum Schluß noch das komplette Schema zur Provokation:

Stufe	Konz.	Farbe	Atemzüge	Dosis* Atemz
0	0,00	weiss	5	0,00 mg
1	0,16	gelb	5	0,78 mg
2	0,31	rosa	5	2,35 mg
3	0,63	grün	5	5,47 mg
4	1,25	blau	5	11,72 mg
5	2,50	violett	5	24,22 mg
6	5,00	rot	5	49,22 mg
7	10,00	braun	5	99,22 mg
8	25,00	schwarz	5	224,22 mg

Stückliste zur Metacholin-Provokation ZAN 200 ProvAir

- 1 Atemfilter Ausatmung
- 1 T-Stück
- 1 Atemerkennung
- 1 Stativ
- 1 Druckschlauch
- 1 Fernbedienung
- 1 Kompressor-Einheit mit externem Netzgerät
- 3 Unterteile für deVilbiss Nebulizer 646

- 3 Oberteile für deVilbiss Nebulizer 646
- 5 Mundstücke für deVilbiss Nebulizer 646

#### Auswertung

Die basale Lungenfunktion wird als pathologisch bewertet, wenn der FEV1.0 unter 80% des Sollwertes liegt oder mindestens zwei weitere Parameter unter 80% oder über 120% des Sollwertes liegen.

Der Bronchospasmyse-Test wird als positiv gewertet, wenn ein mindestens 20%iger Anstieg des FEV1.0 stattgefunden hat.

Der Bronchoprovokations-Test wird als positiv bewertet, wenn:

1. FEV1.0 auf Stufe 0 (Verdünnung) unter 10% des basalen FEV1.0 lag
2. es auf irgend einer weiteren Konzentrationsstufe ein Abfall des FEV1.0 um 20% gegenüber Stufe 0 kam.
3. der Test wegen klinischer Symptomatik abgebrochen wurde.

#### Literatur

*Chai H, Farr RS, Froehlich LA, Mathison DA, McLean JA, Rosenthal RR, Sheffer AL, Spector SL, Townley RG. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. J Allergy Clin. Immunol 1975; 56:323-327*

#### **Peakflow-Protokoll**

Da das Risiko relativ hoch ist, bei einer einmaligen Untersuchung nicht alle Probanden mit einer bronchialen Hyperreaktivität zu erfassen, soll mit einem zweiten Test der Lungenfunktionsverlauf zwei Wochen lang unter realen Bedingungen erfasst werden. Messprinzip ist der Nachweis von Peakflow (PEFR-) Abfällen unter natürlichen "Autoprovokation"-Bedingungen.

Das Studien-Protokoll richtet sich dabei nach der Odense-Studie (Siersted 1994). Dazu wird beim ersten Untersuchungstermin ein elektronisches Peakflow-Meter für die gesamte Familie ausgegeben (Micro Plus Spirometer, Micro Medical Ltd, Rochester, Kent ME1 2AZ ) Auf einem Papier-Protokoll tragen die Probanden 2 Wochen lang jeweils morgens und abends zusätzlich ein, ob sie die Messung durchgeführt haben.



```
DIARYCARD (tm) Verwaltung

[k] onfigurieren der Unit
    die Familie wird auf
    dem PC registriert und
    das DIARCARD programmiert
[l] aden von der Unit
    die Daten werden von dem
    DIARYCARD auf PC geholt
[e] rgebnisse der geladenen
    Daten ansehen
[g] sf Diskette
    die Daten werden vom PC
    auf Diskette überspielt
[h] ilfe
    Dieser Hilfe-Text
[e] nde
    Ende des Programmes
```

Wählen Sie mit den Pfeiltasten die gewünschte Funktion und geben dann entweder die bereits bestehende oder eine neue Familie ein. Die Familien-Nummer sollte dabei 6-stellig sein. Dann können Sie je nach Aufgabe CONFIGURE oder UPLOAD oder BROWSE RESULTS wählen [siehe auch die Bedienungsanleitung für das DIARYCARD].

Für den Datentransfer muss das mitgelieferte Kabel links oben in das DIARYCARD und das andere Ende an die Rückseite des PC's in die COM1 Schnittstelle gesteckt sein.

Wenn Sie das DIARYCARD nun konfigurieren, werden alle vorherigen Daten im Speicher des DIARYCARDS gelöscht! Sie sollten deshalb genau überlegen, ob die bisherigen Daten auch schon auf den PC geladen sind! Nach der Konfiguration wird die Kabelverbindung wieder getrennt. Das Gerät ist nun installiert und reicht für eine 14-tägige Messung von 5 Personen.

Die Probanden müssen vorher aber ausführlich die Bedienung des Gerät erklärt bekommen. Dabei ist es wichtig, daß **jedes** Familien-Mitglied einen Mess-Zyklus mindestens einmal in Gegenwart des Untersuchers durchführt (vor allem der Vater ist genau zu instruieren). Zusätzlich zu dem Messkoffer sollten immer auch genügend Mundstücke und eine Ersatz 9V-Blockbatterie mitgegeben werden.

Falls ein Familienmitglied auswärts ist, kann ihm auch ein blaues Peakflow-Meter (nach Wright, Pari, Starnberg) mitgegeben werden (Geräte und Protokolle auf Anfrage bei der gsf).

Ausschluß-Kriterium für die Peakflow-Messung ist jede akute Erkrankung, zum Beispiel ein Infekt des oberen Respirationstraktes. Die Untersuchung sollte dann um 4 Wochen verschoben werden.

1. Die Messung bitte immer vor der Medikamenteneinnahme und nicht direkt nach dem Essen vornehmen (oder den Mund vorher ausspülen).
2. Das Gerät am besten in das Badezimmer legen, wo sowieso morgens und abends Zähne geputzt wird (allerdings aufpassen, daß es nicht naß wird!). Die Messung morgens (6.00 Uhr-8.00 Uhr und abends (19.00-21.00 Uhr) vornehmen. Wenn ein Proband im Schichtdienst arbeitet, kann er eventuell auch ein eigenes Gerät mitbekommen.
3. Wenn möglich, immer zu der selben Zeit messen.
4. Zum Messen des Peakflows bitte dem Probandem erklären, daß er aufrecht stehen muß und zu enge Kleidung lockern soll.
5. Für jedes Familienmitglied den Namen auf das Mundstück schreiben, dann das Mundstück auf das Gerät aufstecken.
6. Mit der Taste "ON" wird das Gerät angeschaltet, die Optionen mit "UP" oder "DOWN" ausgewählt, bevor sie mit <ENTR> bestätigt werden.
7. Bei versehentlich falscher Eingabe solange warten, bis das Gerät von selbst wieder abschaltet.
8. Das Messgerät hinlegen, den Messkopf bitte mit beiden Händen halten und nach einer tiefen Inhalation das Mundstück fest mit den Lippen verschliessen (Nasenklammer ist unnötig).
9. Mit voller Kraft ausatmen. Dabei das Kinn hoch halten.
10. Erklären, daß auch ganz ausgeatmet werden soll. Am wichtigsten ist allerdings die maximale Geschwindigkeit der Ausatmung.
11. Anschliessend den Versuch wiederholen. Für den Fall, dass mit einem manuellen Peakflowmeter gemessen wird, den besten Wert aus beiden Versuche aufschreiben, dabei den Messwert auf 5 l/min genau eintragen. Falls Werte vergessen wurden, bitte nie "geratene" Werte eintragen, sondern den Platz frei lassen. Dem Probanden genau zeigen, wo er auf dem Protokoll die Werte einzutragen hat.

12. Falls eine Messung misslingt, oder falsche Daten eingegeben wurden, bitte das Gerät ausmachen, beziehungsweise warten bis es von selbst ausschaltet und innerhalb einer Minute den Vorgang wiederholen. Nach unserer Konvention wird später nur der jeweils zweite gültige Versuch ausgewertet.
13. Das Gerät bitte bei Raumtemperatur aufbewahren. Das (Plastik-)Mundstück kann entfernt und mit Wasser und Seife gereinigt werden. Bitte nicht das Gerät auseinandernehmen! Der Messkanal kann vorsichtig mit einem trocken Taschentuch gereinigt werden. In der Klinik bitte mit für Kunststoff geeignetem Desinfektionsmittel abreiben.
11. Ein defektes Gerät umgehend austauschen. Bitte den Probanden auch das Einsetzen einer Ersatzbatterie zeigen.
12. Zur Prüfung der Peakflowmeter: Die Peak-Flowmeter werden neu ausgeliefert. Falls irgend ein Zweifel an der Funktion besteht, bitte das Gerät umgehend zurück an die gsf.

#### Auswertung

Die ersten drei Tage der Testserie werden nicht ausgewertet. Durch den Mittelwert der zwei niedrigsten Werten während den verbleibenden 10 Tagen wird das arithmetische Mittel der gesamten 10 Tage dividiert und mit 100 multipliziert. Falls der erhaltene Wert über 88.8% liegt, wird der Test als negativ, unter 88.8% als positiv eingestuft.

#### Literatur

*Siersted HC, Hansen HS, Hansen NCG, Hyldebrandt N, Mostgaard G, Oxho H. Evaluation of peak expiratory flow variability in an adolescent population sample. The Odense Schoolchild Study. Am J Respir Crit Care Med 1994; 149:598-603*

*Brunekreef B. Effects of short-term changes in urban air pollution on the respiratory health of children with chronic respiratory symptoms. Wageningen, August 1993.*

## Kapitel 12 Blutentnahme

Im folgenden Abschnitt wird die Blutabnahme sehr ausführlich beschrieben, da dieser Untersuchungsteil gerade bei Kindern relativ problematisch ist. Falls die Blutabnahme jedoch sorgfältig und professionell vorgenommen wird, stellt sie für den Probanden keine Belastung dar. Der Untersuchungsplatz soll mit einem/einer technisch versierten Untersucher(in) besetzt sein, die Erfahrung in der Blutabnahme hat, vor allem bei Kindern, also keine Studenten oder Praktikanten. Wichtig an dieser Stelle sind noch zwei weitere Gesichtspunkte: Blutproben dürfen auf keinen Fall durch anderes Blut kontaminiert werden und eine Verwechslung muß 100%ig ausgeschlossen werden!

1. Bereiten Sie alles benötigte Material vor:
  - Desinfektionsmittel, Tupfer, Pflaster, Staubbinde
  - 1x Sarstedt Multifly-Kanüle 21 G x 3/4", grün, Nr.2 (Best.Nr. 85.1638.005)
  - 1x Sarstedt Röhrchen rot, Hämatologie (K-EDTA), 2 ml (Best.Nr. 05.1167)
  - 1x Sarstedt Röhrchen, weiß, Serum, 10 ml (Best.Nr. 02.1063)
  - 2x Sarstedt Röhrchen, rot, ohne Granulat, DNA-Spezialanalytik (K-EDTA), 7,5 ml (Best.Nr.02.1608)
  - auch die etikettierten Unterlagen sollten griffbereit sein
  
2. Erklären Sie dem Probanden Ihr Vorgehen. Nehmen Sie sich Zeit, versuchen Sie beruhigend auf ihn einzuwirken und von der Wichtigkeit der Untersuchung zu überzeugen. Zwingen Sie den Probanden nicht zur Blutabnahme. (Vor allem bei Kindern kann es notwendig werden, daß man sie ein zweites Mal einbestellen muß). Bei Kindern kann die Blutentnahme auch 1 Stunde vor Blutentnahme mit EMLA (R) Creme eingerieben werden. **Wenn Sie mit der Blutabnahme vertraut sind, gehen Sie gleich weiter zu Punkt 9.**
  
4. Lassen Sie den Probanden, nachdem er Jacke, Pullover o.ä. ausgezogen hat, bequem auf einem Stuhl (mit Armlehnen) Platz nehmen und den linke Ärmel hochrollen, so daß die Venen der Ellenbeuge frei liegen. Achten Sie auf die richtige Sitzhöhe und gute Lage des Armes auf der Armauflage. Für kleine Kinder ist eventuell ein Elternteil oder eine zweite Hilfsperson notwendig, die das Kind hält und ablenkt.
  
5. Suchen der Punktionsstelle: Betasten und verfolgen Sie mehrmals den Verlauf der Venen mit dem Zeigefinger. Wenn die oberflächlichen Venen nicht gut erscheinen, dann bitten Sie den Probanden eine Faust zu machen. Ein leichtes,

mehrmaliges Beklopfen der Vene mit dem Zeige- und Mittelfinger bewirkt ein Anschwellen der Vene. Durch ein Absenken des Armes über die Armlehne des Stuhles wird bewirkt, daß sich die Venen verstärkt füllen. In schwierigen Fällen kann auch feuchte Wärme das Hervortreten der Venen fördern. Halten Sie ein Handtuch unter heißes Wasser und legen Sie dieses mehrere Minuten lang auf die Ellenbeuge.

6. Gelegentlich wird am linken Arm keine geeignete Vene zu finden sein, oder der Proband wünscht, daß ihm das Blut vom anderen Arm entnommen wird. In diesem Fall nehmen Sie den rechten Arm.
7. Reinigen Sie die Venenpunktionsstelle: Besprühen Sie die von Ihnen gewählte Entnahmestelle mit dem bei Ihnen üblichen Desinfektionsmittel. Säubern Sie die Haut an der Entnahmestelle durch kreisförmige Bewegungen mit einem Zellstofftupfer. Warten Sie bis die Stelle trocken ist, um eine mögliche Hämolyse des Blutes zu vermeiden, da diese zu Veränderungen der Blutwerte führt.
8. Vorsichtsmaßnahmen beim Gebrauch der Staubinde: Lassen Sie die Staubinde niemals länger als zwei, drei Minuten und nur mit geringem Staudruck angelegt. Es kommt sonst zu einer Konzentration des Blutes (Hämokonzentration) und dadurch zu einer Veränderung der Blutwerte.
9. Die Vorbereitung der Röhren: Es werden **zunächst die rote 7,5 ml-** (DNA-Analytik), dann die **weisse 10 ml Monovette** (Serum), dann das **rote 2 ml-Röhrchen** (Blutbild) und zuletzt **das zweite rote 7,5 ml- (DNA-Reserve)** gefüllt: Während das Desinfektionsmittel trocknet, stecken Sie den Schlauch der vorgesehene Nadel auf die erste Monovette, drehen um 95 Grad, bis die kleine Plastiknase fest in dem Adapter einrastet.

Wenn ein Röhrchen schon einmal verwendet oder unsachgemäß benutzt wurde, muß es weggeworfen und darf kein zweites Mal wiederbenutzt werden. Benutzen Sie keine Kanülen, bei denen die Verpackung beschädigt oder verschmutzt wurde. Schauen Sie sich die Spitze der Nadel an, um zu sehen, ob keine Haken an ihrem Ende sind und die Öffnung der Nadel frei von kleinen Partikeln ist, die den Fluß des Blutes behindern könnten. Fassen Sie die Nadel nicht an (die Nadel muß steril sein).

10. Zu Ihrem Schutz und um Kontamination (DNA!) zu vermeiden: Die Blutentnahme darf grundsätzlich nur mit Handschuhen durchgeführt werden.

Sie können eine Staubinde anlegen, um eine geeignete Vene zu finden und zu punktieren. Hat der Proband eine sehr empfindliche Haut, legen Sie die Staubinde

über Hemd oder Bluse an oder benutzen Sie ein Papiertaschentuch, um den Patienten nicht unnötig zu kneifen. Legen Sie die Staubbinde 7,5 - 10 cm oberhalb der Venenpunktionsstelle an.

Suchen Sie die Punktionsstelle unter mäßiger Stauung. Wenn Sie sich für eine Stelle entschieden haben, öffnen Sie die Staubbinde. Anschließend reinigen Sie die Punktionsstelle wie unter 7 beschrieben. Dann stauen Sie erneut und nehmen zügig das Blut ab.

Nehmen Sie den Arm des Probanden mit festem Griff, benutzen Sie den Daumen, um die Haut zu straffen. Dies dient zur Fixierung der Vene. Der Daumen sollte sich dabei 2,5-5,0 cm unterhalb der Venenpunktionsstelle befinden.

Stechen Sie mit einer ruhigen, gleichmäßigen Bewegung in die Vene, die geöffnete Spitze der Nadel soll dabei nach oben zeigen.

Fließt Blut in den Schlauch des Butterflys ein, können Sie die Staubbinde öffnen und eventuell einen Klebestreifen über die Punktionsstelle legen.

Ist die erste Monovette mit Blut gefüllt, legen Sie einen Zellstofftupfer unter den Ansatz Kanüle. Danach wird die Monovette nach einer leichten Linksdrehung von der Kanüle abgezogen. Damit die Kanüle in der Vene nicht verrutscht, wird dabei der weiße Teil ("Adapter") mit zwei Fingern festgehalten. Legen Sie die Monovette auf den Tisch und stecken Sie nun die zweite Monovette mit einer leichten Rechtsdrehung auf das Kanülenende. Dabei wird der Ansatzadapter wiederum mit zwei Fingern fixiert. Jetzt können Sie durch leichten Zug am Spritzenstempel auch diese ganz füllen.

11. Bitten Sie den Probanden, falls nötig, seine Hand zu öffnen, wenn sie genügend Blut entnommen haben.
12. Legen Sie, um die Nadel zu entfernen, einen Zellstofftupfer über die Venenpunktionsstelle. Entfernen Sie die Nadel rasch und üben Sie sofort mit Ihrem Daumen Druck auf die Punktionsstelle aus. Fordern Sie den Probanden auf, den Tupfer fest auf den Arm zu drücken und diesen eine Minute lang hochzuhalten, um ein Hämatom zu vermeiden. Der Arm soll dabei im Ellenbogen nicht abgewinkelt sein.
13. Drehen Sie die Röhren mehrmals um und kleben Sie die vorbereiteten *Blutproben* (LABNR!)-Etiketten an alle 4 Röhren, stellen Sie den Ständer mit den Röhren in den Kühlschrank, wenn sie länger als 10 Minuten im Raum stehen sollten.

14. Drehen Sie den Griff des Ansaugstempels von allen Monovetten ab, säubern Sie eventuell die Röhren mit einem feuchten Lappen und trocknen Sie wieder. Dann alle Röhren 3,4 mal vom Kopf auf Fuß und zurückdrehen, jedenfalls nicht heftig schütteln.
15. Werfen Sie die Nadel in den dafür vorgesehenen Behälter und kleben Sie ein Heftpflaster über die Venenpunktionsstelle, nachdem Sie sich vergewissert haben, daß der Blutfluß aufgehört hat.
16. Falls die Blutabnahme nicht erfolgreich ist:

Verändern Sie die Stellung der Nadel. Falls diese zu weit in die Vene eingedrungen ist, ziehen Sie sie ein wenig zurück. Falls die Nadel nicht weit genug eingedrungen ist, schieben Sie sie noch weiter in die Vene vor. Drehen Sie die Nadel um eine halbe Drehung.

Lösen Sie die Staubbinde. Wenn sie zu eng angelegt wurde, behindert dies den Blutfluß. Legen Sie die Staubbinde erneut etwas weniger straff an. Vergewissern Sie sich jedoch, daß sie bei jedem Versuch nicht länger als zwei Minuten angelegt bleibt.

Ein mehrmaliges Herumprobieren (an derselben Stelle) ist nicht empfehlenswert, da es für den Probanden schmerzhaft ist. In den meisten Fällen empfiehlt es sich, unterhalb der ersten Stelle eine erneute Punktion vorzunehmen.

Machen Sie maximal zwei Versuche: Fragen Sie eventuell den Probanden, ob er bereit wäre, sich von einem anderen Untersucher noch ein drittes Mal eine Blutprobe entnehmen zu lassen.

17. Vermerken Sie Ihren Namen für die Blutabnahme im Untersuchungsbogen, notieren Sie im Blutabnahme-Status, ob es Probleme bei der Blutabnahme gab.
18. Bedanken Sie sich bei dem Probanden.

Noch einige weitere Hinweise:

1. Die Kanülen müssen in Nadelboxen weggeworfen werden.
2. Die Kanülen müssen sicher aufbewahrt sein, wenn Sie die Ambulanz verlassen.
3. Zur Vermeidung des Infektionsrisikos bei direktem Kontakt mit Blut müssen von allen Untersuchern bei der Blutentnahme Handschuhe getragen werden.

4. Falls sich der Untersucher tatsächlich einmal an einer benutzten Nadel verletzt, muß die Wunde sorgfältig mit Seife und Wasser gereinigt und anschließend desinfiziert werden. Den Probanden nach ansteckenden Krankheiten fragen. Ein kurzer Darstellung über den Vorfall für ein eventuellen Bericht an die Versicherung sollte erstellt und an die Studienleitung gesandt werden.

#### Ausrüstung:

Das Blutabnahmematerial muß in angemessener Menge zur Verfügung stehen. Überprüfen Sie kontinuierlich den Bestand und bestellen Sie benötigtes Material rechtzeitig.

#### Mindest-Ausstattung und Materialbestand

50	Serum-Monovetten (10 ml)*
100	K-EDTA-Monovetten (9 ml)*
50	K-EDTA Monovetten (2 ml)*
100	Butterfly-Kanülen 21 G (1 1/2 ")*
1	Röhrchenständer (für Monovetten)*
2	Reagenzglasständer für NUNC-Röhrchen*
450	NUNC-Röhrchen*
450	farbige Deckel für NUNC Röhrchen*
2	Mikroliterpipette und Pipettenspitzen
1	Etikettensatz (DIN A 4 Bogen) pro Proband*
2	Staubbinden
2	Desinfektionsmittel für die Blutabnahme (Kodan)
1	Desinfektionsmittel für die Geräte, usw.
2	Wegwerfboxen für Kanülen
3	Brechschaalen (zum Einmalgebrauch)

\* von der gsf gestellt

## Kapitel 13 Weiterverarbeitung der Blutproben

Die Handhabung und die Weiterverarbeitung der Proben muß genauso sorgfältig wie die Blutabnahme durchgeführt werden. Ein Abweichen von der Vorgehensweise kann die Laborparameter empfindlich beeinflussen. Auch hier wird immer mit Gummihandschuhen gearbeitet!

### **Identifikation der Blutproben**

1. **Bitte versichern Sie sich, daß die Röhrchen wirklich fest zugeschraubt sind. Während der Pilotstudie ist mehrfach Blut auf dem Transport ausgelaufen, weil die Deckel etwas verkantet aufgeschraubt wurden.**
2. Unmittelbar nach der Blutabnahme wird ein Etikett auf jede Monovette geklebt. Bitte nur ein Etikett aus dem unteren Ettikettenblock nehmen und die Etiketten längs (nicht quer) aufkleben, da sonst der Barcode nicht mehr elektronisch abgelesen werden kann. Das Etikett kann dabei teilweise auf den Deckel geklebt werden.
3. Ausserdem wird nach der Blutabnahme die Kanüle entfernt und der Ansaugstempel abgeschraubt. Drehen Sie danach alle Monovetten drei bis viermal vorsichtig auf den Kopf und wieder zurück (nicht schütteln!)

### **Die 2 ml-Monovette (EDTA-Blut)**

1. Kleben Sie jetzt ein Laboretikett (das in Ihrer Klinik üblich ist) auf die rote 2 ml K-EDTA Monovette, sowie einen weiteres Barcode Laboretikett auf Ihren kliniksinternen Anforderungsschein.
2. Tragen Sie die Füllmenge auf dem gsf-Blutentnahme-Bogen ein.
3. Geben Sie die Monovette in Ihr Klinikslabor. Folgende Werte sollen bestimmt werden: Hb, Hkt, Erys, Leukos, Thrombos (per Counter) sowie ein Differentialblutbild. Lassen Sie sich den gefärbten Ausstrich bitte ebenfalls vom Labor wieder zurückschicken und bewahren sie ihn in den dafür zur Verfügung gestellten Transportbehältern auf. Es ist vorgesehen, am Ende der Studie noch einmal alle Blutbilder nachzubefunden.
4. Die Werte nach Eingang der Ergebnisse in den Blutentnahme-Bogen eintragen. Falls Sie in Ihrem Klinikslabor diese Werte nicht bestimmen lassen können, bitte Rücksprache mit der gsf.

**Die 10 ml-Monovette (Serum)**

1. Vermischen Sie das Blut in der 10 ml Serum-Monovette durch mehrfaches Umdrehen für ca. 1 Minute.
2. Die Serum-Monovette soll etwas bei Raumtemperatur stehen bleiben, die beste Zeit zum Zentrifugieren ist ca. 1 Stunde nach Blutabnahme.
3. Bevor Sie zentrifugieren, müssen Sie die Proben ausbalancieren. Bestücken Sie die Einsätze, die sich gegenüberliegen, gleich. Wenn die Monovetten nicht gleichmäßig gefüllt sind, füllen Sie zu jeder Monovette eine entsprechende Monovette mit Wasser und geben Sie diese in den gegenüberliegenden Einsatz. Bestücken Sie den Rotor, indem Sie jeweils gleichgewichtige Einsätze in entgegengesetzte Positionen einsetzen.
4. Stellen Sie die Zeitschaltuhr auf 15 Minuten und erhöhen Sie die Geschwindigkeit langsam auf 4000 Umdrehungen pro Minute (je nach Zentrifugekopf unterschiedlich: das Serum muss klar sein).
5. Zur Aliquotierung werden 3 NUNC-Röhrchen mit Deckelfarbe blau, pink und grün aber gleichem Etikett neben der Zentrifuge in Röhrchenständern für die weitere Verarbeitung bereitgestellt.
6. Nach Stillstand der Zentrifuge nehmen Sie die Einsätze aus der Zentrifuge.
7. Die Pipette wird auf 1.800 µl eingestellt und eine frische Pipettenspitze aufgesteckt. Diese muß vor der Aliquotierung (Probenaufteilung) des Blutes eines anderen Probanden immer gewechselt werden, also für jeden Probanden eine neue Pipettenspitze. Die Verschlüsse der NUNC-Röhrchen werden ebenfalls abgenommen.
8. Herabdrücken der Mikroliterpipette bis zum ersten Anschlag. Die Pipette wird mit der Spitze in die 10 ml-Monovette hineingetaucht. Dies geschieht langsam und vorsichtig und ohne den Bodensatz aufzurühren; die Pipettenspitze taucht nur bis in den klaren Überstand, unter keinen Umständen tiefer. Durch langsames Loslassen des herabgedrückten Pipettenknopfes werden 1.800 µl des Überstandes in die Pipettenspitze aufgezogen.
9. Die Pipette wird aus der Monovette herausgezogen und in das erste NUNC-Röhrchen gesteckt (blauer Deckel)). Durch vollständiges Herabdrücken des Pipettenknopfes bis zum zweiten Anschlag wird der Inhalt der Pipettenspitze in das NUNC-Röhrchen entleert. Die Pipette wird mit herabgedrücktem Knopf zurückgezogen. Dieser Vorgang wird in gleicher Weise wiederholt und das zweite

(pink Deckel) und 3. NUNC-Röhrchen (grüner Deckel) mit je 1,800 µl klaren Überstand gefüllt. Gefüllt werden die NUNC Röhrchen also in folgender Reihenfolge: zuerst blau, dann pink, dann grün. Danach werden alle gefüllten NUNC-Röhrchen **fest** verschlossen. Die jetzt noch in der Monovette verbliebene Menge an Überstand oder Bodensatz kann verworfen werden.

10. Dann noch einmal die Etiketten auf allen 3 NUNC Röhrchen vergleichen.
11. Bitte tragen Sie in den Blutabnahme/Verarbeitungsbogen die Füllmengen ein.
12. Das Serumröhrchen werden dann mit allen weiteren Serumröhrchen des Probanden in eine SARSTEDT-Versandröhre gesteckt und bis zum Versand an die gsf im Kühlschrank gelagert. Die pink und grünen Serumröhrchen werden ebenfalls in eine SARSTEDT-Versandröhre gesteckt und bis zum Versand nach Erfurt an das Labor von Prof. Jäger in den Kühlschrank gelegt (bei ca. 4°C).
13. Alle Abweichung vom vorgeschriebenen Vorgehen sollten in dem Blutabnahme/Verarbeitungs-Bogen vermerkt werden.

#### ***Das erste rote 9-ml K-EDTA Röhrchen (DNA)***

1. Tragen Sie die Füllmenge auf dem Blutentnahme-Bogen
2. Schneiden Sie von dem unteren (Labor-) Etikettenblock 4 Etiketten ab und
3. legen dann **ein** Röhrchen zusammen mit den passenden 4 Etiketten in ein SARSTEDT Versandröhrchen. Die zusätzlichen Etiketten werden gebraucht, um die Proben, die erst im Labor aliquotiert werden, auch beschriften zu können.
4. Bis zum Versand nach München an Prof. Weiß sollten die Röhrchen ebenfalls in den Kühlschrank gelegt werden.

#### ***Das zweite rote 9-ml K-EDTA Röhrchen (DNA)***

1. Vermischen Sie das Blut in der Monovette durch mehrfaches Umdrehen für ca. 1 Minute.
2. Zur Aliquotierung werden 4 NUNC-Röhrchen mit der gleichen LABNR in den Röhrchenständer bereitgestellt (Deckelfarbe weiß, gelb, orange, flieder).
3. Auf die Mikroliterpipette wird eine frische Pipettenspitze aufgesteckt. Diese muß vor der Aliquotierung (Probenaufteilung) des Blutes eines anderen Probanden immer gewechselt werden, also für jeden Probanden eine neue Pipettenspitze. Die Verschlüsse der NUNC-Röhrchen werden ebenfalls abgenommen und 4 Vollblut(!)-Aliquots a 1800 µl hergestellt. Gefüllt werden die NUNC Röhrchen

diesmal in folgender Reihenfolge: zuerst weiss, dann gelb, dann flieder, dann orange. Danach werden alle Röhrchen wieder verschlossen. Falls noch ein Rest in der Monovette verblieben sein soll, wird er verworfen. [Eventuell können Sie mit dem letzten Tropfen aus der Pipette auch noch den Blutausschrieb selbst anfertigen]

4. Dann werden die Etiketten auf allen 4 NUNC Röhrchen mit einander verglichen.
5. Bitte tragen Sie in den Blutabnahme/Verarbeitungsbogen die Füllmengen ein und kleben ein *Laboretikett aus dem unteren Etikettenblock* auf den Bogen (alle sonstige Fragebögen oder Untersuchungsbögen bekommen ein Etikett aus dem *oberen Etikettenblock*).
6. Die Serumröhrchen werden dann wieder nach den Farben sortiert, in SARSTEDT-Versandröhrchen gesteckt und bis zum Versand an die gsf im mittleren Fach des Kühlschranks aufbewahrt.
7. Bitte alle Abweichungen von dem vorgeschriebenen Vorgehen in dem Blutabnahme/Verarbeitungs-Bogen vermerken.

### **Versand**

1. Für den Versand von Blutproben wird das Begleitfax mit Durchschlag ausgefüllt. Der Durchschlag wird in den Versandumschlag gelegt, das Original wird am Versandtag (nicht früher und nicht später!) per Fax an den Adressaten geschickt. Die Faxnummern finden Sie auf dem Kopf des Versand-Protokolles.
2. Der Adressat vergleicht den Inhalt des Paketes mit dem Fax-Versandprotokoll. Treten Unstimmigkeiten auf, oder tritt die Sendung innerhalb 2 Tagen nicht ein, nimmt er zur Klärung Kontakt mit dem Absender auf.
3. Nach der Ankündigung per Fax ist also der Empfänger dafür verantwortlich, daß die Sendung ankommt.
4. Falls die Proben verzögert, das heisst nicht innerhalb von 2 Tagen angekommen sind, muß umgehend die Post bzw. der Paketdienst benachrichtigt werden.
5. Alle Sendungen müssen entweder per EMS oder als Express-Paket geschickt werden, daß es zumindestens am nächsten Tag ankommt. Nach Absprache kommt auch UPS in Frage.
6. Die Proben erst kurz vor dem Abschicken aus dem Kühlschrank nehmen. Die wattierten Umschläge mit den SARSTEDT Versandröhrchen füllen und mit einem Extra-Klebeband zukleben. Zwischenräume eventuell mit Zellstoff auffüllen.

7. Adressaufkleber aufkleben, sowie den Aufkleber "Kühltransport" und am selben Tag aufgeben.

Ausstattung für den Blutprobenverarbeitungsplatz:

1	Kühlschrank
1	Ständer für Serum-Monovetten *
2	Ständer für NUNC-Röhrchen *
1	Mikroliterpipette einstellbar mit 1000 ul Pipettenspitzen
1	Pipettenständer
1	Zentrifuge
20	gepolsterte Versandtaschen
10	Bögen mit Versandetiketten
50	SARSTEDT Versandröhrchen
10	Präparatekartons für Blutbild-Gläschen
20	Blutabnahme/Verarbeitungs-Bogen
	Handschuhe

\* von der gsf gestellt

## Kapitel 14 DNA-Isolierung aus Blut

Alle weiteren Arbeitsschritte werden in den Vertrags-Labors, nicht mehr in der Klinik ausgeführt. DNA wird nach der Aussalzmethode (Miller SA, Dykes DD, Polesky FH. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16:1215) im Labor von Frau Prof. Weiss und Prof. Albert isoliert.

Folgende Arbeitsschritte werden durchgeführt:

1. 9 ml EDTA Blut werden 10 Minuten bei 2.000 rpm (RT, Heraeus Megafuge 1.0R) zentrifugiert.
2. Dann wird das Plasma vorsichtig abpipettiert. Dabei werden die Zellen (PBMC) aus der Interphase nicht abgenommen. Das Plasma wird gesammelt in 1,8 ml NUNC Gefässen, wobei zuerst die Röhrchen mit braunem, dann mit rotem Deckel gefüllt werden.
3. Erythrozyten werden durch Zugabe von gleichem Vol. Ery-Lysepuffer (10 Min., RT oder 37°C, auf dem Rad bewegen) lysiert. Die Lösung wird klar rot.
4. Leukozyten und Lymphozyten werden durch Zentrifugation (10 Min., 2.500 rpm, RT) sedimentiert.
5. Der Überstand wird vorsichtig abgegossen, das Sediment mit 5 ml Ery-Lysepuffer gewaschen (Zellen resuspendiert 10 Min., RT, 2.500 rpm). Dieser Schritt wird eventuell wiederholt.
6. Die Zellen werden in 3 ml Kernlysepuffer sorgfältig resuspendiert.
7. Nach Zugabe von 100 µl 20 % SDS wird gemischt, die Kerne lysiert und damit DNA frei.
8. Nach Zugabe von 150 µl Proteinase K (4mg/ml) wird über 2 Std. bei 37°C inkubiert.
9. Anschließend wird 1 ml gesättigtes (5M) NaCl zugegeben, tüchtig auf dem Vortexschüttler gemischt. Dadurch wird die DNA geschert und die vorher zähe Lösung dünnflüssig.
10. Anschliessend wird 30 Min. auf Eis (oder 4°C) inkubiert.
11. Durch Zentrifugation 15 Min. bei 2.500 rpm werden die Proteine sedimentiert.

12. Der Überstand wird in ein 15-ml-Polypropylenzentrifugenröhrchen (Spitzboden) überführt. Erneute Zentrifugation, 10 Min., 2.500 rpm.
13. Der Überstand wird mit ca. 0,6 Vol. Isopropanol versetzt, die Lösung sorgfältig gemischt. Dabei fällt die DNA fadenförmig aus.
14. DNA nun entweder abzentrifugieren (s.o.) oder mit einer zugeschmolzenen Pasteurpipette mit Häkchen herausgefischt.
15. Die DNA wird zweimal mit 70%igen Ethanol gewaschen, die Alkoholreste entfernt, ablaufen lassen und in 300-500  $\mu$ l H<sub>2</sub>O gelöst.

Die DNA-Konzentrationsbestimmung wird in jeweils 700  $\mu$ l einer Verdünnung 1:100 und 1:200 in Quarzküvetten bei 260 nm und 280 nm gemessen. Dabei entspricht die  $OD_{260}=1$  50  $\mu$ g/ml ds DNA.

Benötigte Lösungen sind:

Ery-Lysepuffer:                    155 mM NH<sub>4</sub>Cl  
    10 mM KHCO<sub>3</sub>  
    1mM EDTA

Kern-Lysepuffer:                10 mM Tris/HCl pH 8,0  
    400 mM NaCl  
    10 mM EDTA

Proteinase K:                    (4 mg/ml), Boehringer Mannheim, EC 3.4.21.14

## Kapitel 15 **Gesamt- und spezifisches IgE**

Mit der Entdeckung des Immunglobulins E wurde es möglich, die immunologischen Aspekte der Allergien zu untersuchen und gleichzeitig in-vitro-Teste zur Allergiediagnostik zu entwickeln. Für die Asthma-Genetik-Studie wird das PHARMACIA CAP SYSTEM verwendet.

Das Pharmacia CAP System RAST FEIA ist ein in vitro-Testsystem auf der Basis der ImmunoCAP - Technologie zur Bestimmung der zirkulierenden IgE-Antikörper im Serum. Das interessierende Allergen, kovalent gebunden an das ImmunoCAP, welches ein hydrophiles Polymer darstellt, reagiert mit dem spezifischen IgE in den Serum-Proben des Patienten. Der so gebildete Allergen-IgE-Komplex wird in einem 2. Schritt mit einem enzymmarkierten Anti-IgE-Antikörper zur Bildung eines Allergen-IgE-Anti-IgE-Enzym-Komplexes gebracht. Durch Reaktion mit dem Enzym-Substrat wird das Ausmaß der stattgefundenen Reaktion als Fluoreszenzintensität bestimmt. Je höher diese ist, desto höher ist die Konzentration des spezifischen IgE im Serum, gemessen an einer parallel gemessenen Standardkurve.

Die Software des PHARMACIA-CAP-Systems erstellt für den Assay die Allergen- und Probenverteilung selbst und leitet deren Positionierung auf der Mikrotiterplatte. In jedes System-Tablett (Tray) werden in die linke und mittlere Position je eine 96er-Assay-Platte und in die linke Position eine 96er-Reading-Platte mit Elutionsrahmen eingesetzt. Nach Aufforderung des Position Guide 96 werden die entsprechenden ImmunoCAPs für den den Ansatz in die mittlere Assay-Platte positioniert, immer beginnend mit den Anti-IgE-ImmunoCAPs für die Standardreihe. Anschließend werden je 50 µl der Standards, der Kontrollen und der Patientenseren in der angegebenen Replikatzahl in die linke Assay-Platte pipettiert. Das Tray wird dann in den Waschautomaten AW 96 eingesetzt und nach der Gebrauchsinformation verfahren. Mit dem Starten des AW 96 erfolgt Vorwäsche der ImmunoCAPs. Danach werden mit Hilfe des ImmunoCAP-Rechens die gewaschenen ImmunoCAPs Reihe für Reihe in die linke, die Proben enthaltende Assay-Platte, übertragen. Es wird 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Vor dem Ende der Inkubation werden 50 µl Enzym-Anti-IgE in jedes Well der mittleren Assay-Platte pipettiert. Die ImmunoCAPs in der linken Assay-Platte werden mit dem AW 96 vom Serum ausgewaschen und dann mit dem Rechen Reihe für Reihe auf die mittlere Assay-Platte übertragen. Mit dem Enzym-Anti-IgE wird 150 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Vor dem Ende der Inkubation werden in jedes Well der linken Assay-Platte 50 µl Substratlösung pipettiert. Die ImmunoCAPs auf der mittleren Assay-Platte werden

mit dem AW 96 gewaschen und danach mit dem Rechen Reihe für Reihe auf die linke Assay-Platte übertragen. Mit Beginn der 1.Reihe wird für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach werden die ImmunoCAPs Reihe für Reihe mit dem Rechen auf den Elutionsrahmen in der rechten Tray-Position übertragen und mit dem Aw96 die Zugabe der Stop-Lösung gestartet. Nach Beendigung des Stoppens wird das Tray aus dem AW 96 entnommen und noch 5 Minuten für das Ablaufen der Lösung aus den ImmunoCAPs in die Wells der Reading-Platte gewartet. Danach wird die Fluoreszenzintensität der Proben im FluoroCount entsprechend den Anweisungen des Gerätes gemessen.

Aus den Meßwerten der Standardreihe wird eine Standardkurve berechnet und daraus die Werte für die Patientenproben ermittelt. Die Ergebnisse werden als CAP-Klassen und kU/l angegeben. Der Bereich liegt zwischen CAP-Klasse 0 bis 6, bzw. Konzentration < 0,35 bis > 100 kU/l.

#### *Literatur*

*Liappis N. Evaluation of the ImmunoCAP fluorescence enzyme immunoassay for determining total IgE and specific IgE antibodies. Allergo J 1993; 2 (Suppl.3):133*

*Kövary PM. Position of the CAP system relative to other assay methods. Allergo J 1993; 2 (Suppl.3):149*

*Bauer R, Böhm I. Pharmacia CAP RAST and Pharmacia CAP IgE in atopic dermatitis. Allergo J 1993; 2 (Suppl.3):152*

*Bousquet J, Chanez P, Chanal I, Michel FB. Comparison between RAST und Pharmacia CAP system ; A new automated specific IgE assay. J Allergy Clin Immunol. 1990; 85:1039-43*

## Kapitel 16 **Datenübergabe, Datenprüfung, Datenschutz**

Zunächst wird in der Vorbesprechung mit den Eltern der Familienfragebogen ausgefüllt, sowie ein Stammbaum mit Initialen und Geburtsjahr der Probanden aufgezeichnet. Parallel dazu werden die Adressen aller Probanden erfasst. Diese Liste bleibt in der Klinik, während der Familienfragebogen mit Stammbaum an die gsf geschickt wird.

Daraus wird in der gsf eine Masterdatenbank angelegt (siehe Ablaufdiagramm auf der nächsten Seite). Jede Familie bekommt eine eindeutige fünfstellige fortlaufende Zahl als Identifikationsnummer (FAMNR). Dazu wird jedem Proband eine fünfstellige Zufallszahl als Identifikationsnummer (IDNR) für alle Interviewbögen sowie eine laufende Untersuchungsnummer (LABNR) für alle Blutparameter zugeteilt.

Die Datenbank mit den Familien-, Identifikations und Labornummern sowie Geburtsdatum und Initialen wird auf einem abschliessbaren Rechner in der gsf geführt.

Eine Kopie des Stammbaumes mit den ergänzten Nummern wird an das Zentrum für die spätere Untersuchung zurückgeschickt, zusammen mit je 15 Etiketten mit passenden Nummern incl. Barcode für die Fragebögen bzw. Blutröhrchen. Damit ist eine sichere Anonymisierung während der Weiterverarbeitung der Proben gewährleistet.

Nach Abschluss der Untersuchung können Fragebogen und Untersuchungsergebnisse jeweils separat in unterschiedliche Datenbanken eingegeben werden.

Im letzten Schritt werden dann mit Hilfe der Masterdatenbank, IDNR und LABNR verknüpft. Nach Abgleich der Einzeldatenbanken zu dem endgültigen Datensatz werden dann die ursprünglichen Codierungen IDNR / LABNR nicht mehr weiter geführt.

Im nächsten Schritt werden die Verwandtschaftsbeziehungen anhand der DNA-Marker überprüft. Nach erfolgreichem Abschluss dieses Tests sollte möglichst keine Re-Identifizierung einzelner Probanden mehr vorgenommen werden. Nur wenn in Ausnahmefällen die Probanden auf die Ergebnisse der DNA-Analyse bestehen, sollte re-identifiziert werden.

Durch die Trennung der IDNR von allen anderen laufendenden Nummern, kann von einer Nummer während der Studie zum Beispiel auf einem Blutröhrchen nicht auf die spätere Nummer im Datensatz geschlossen werden. Allerdings hat diese Datentrennung auch noch Lücken, da eine auffällige Familien-Konstellation anhand der

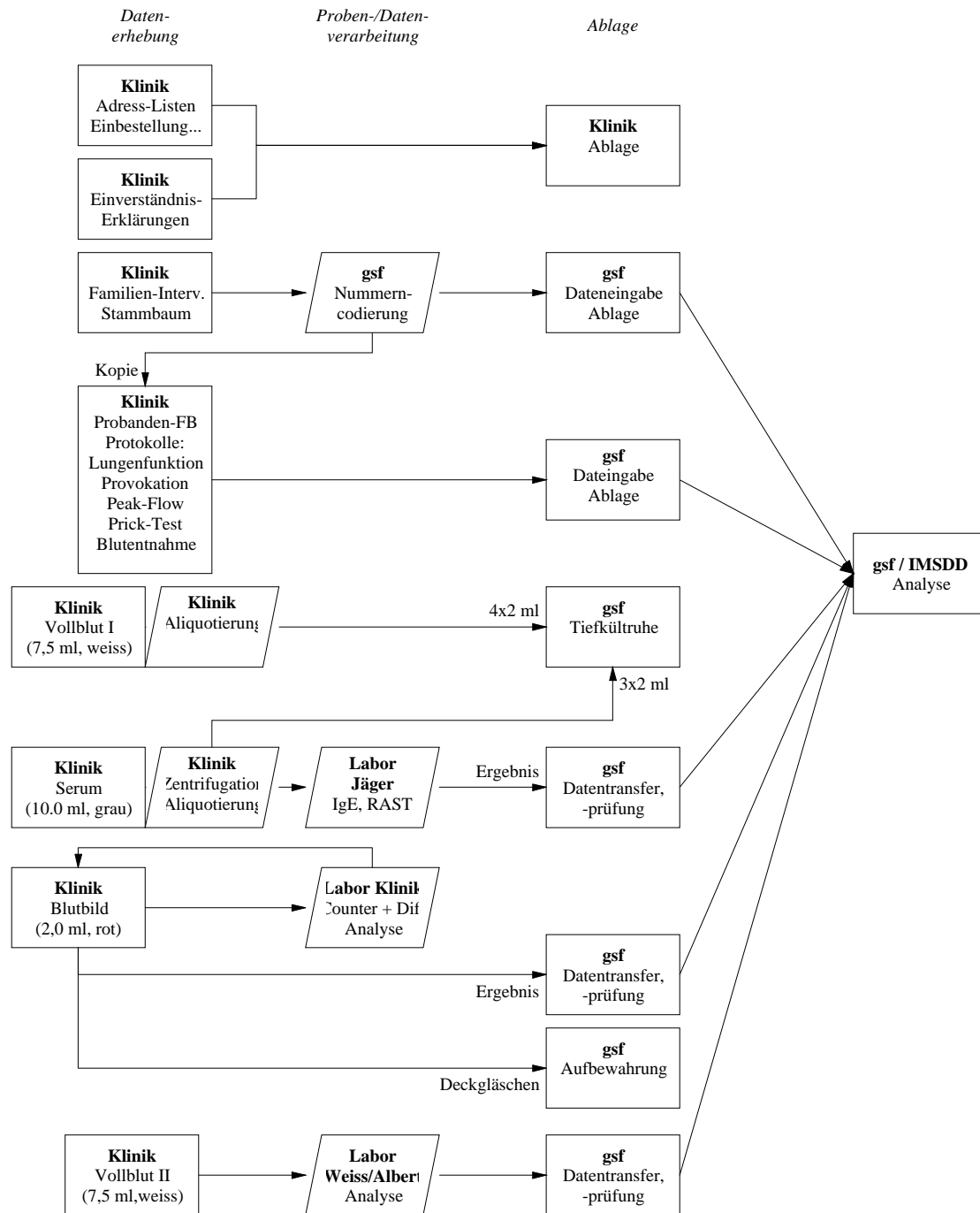
Verwandschaftsbeziehung und damit auch einzelne Probanden im Auswertungs-Datensatz "erkannt" werden können.

Unabhängig von der individuellen Verpflichtung einer(s) jeden Untersucherin(s) auf den Datenschutz und die ärztliche Schweigepflicht, den jede(r) Mitarbeiter(in) persönlich unterzeichnen muß, sind folgende Anweisungen für die tägliche Praxis von allen zu beachten:

- Auf allen Kuverts von Anschreiben, Befundbriefen etc., die an die Probanden versendet werden, sollte nie eine Codier-Nummer erscheinen.
- Die Ambulanz-Anmeldung, in der die Karteiblätter und die Adresslisten verwahrt werden, darf nicht unbeaufsichtigt sein.
- Adreßlisten und Karteiblätter müssen grundsätzlich immer in einem absperrbaren Schrank verwahrt werden, nur die zur aktuellen Arbeit erforderlichen Unterlagen dürfen entnommen werden. Unbefugte, d.h. Probanden, Angehörige von Probanden, Reinigungspersonal sowie alle projektfremden Personen dürfen unter keinen Umständen Einblick in Adressunterlagen erhalten.

Alle Daten, die während des Interviews oder probandenbezogener Untersuchungen sowie im Labor erhoben werden, werden aus Gründen der Datensicherheit zunächst nur auf Papier erfasst und erst später auf Computer eingegeben. (Die einzige Ausnahme sind dabei die elektronischen Peak-Flowmeter). Der Datenfluss ist dabei der folgenden Übersicht zu entnehmen.

Nach der primären Eingabe werden alle Daten ein zweites Mal eingegeben. Erste und zweite Version werden miteinander verglichen und eventuelle Fehler berichtigt. Die Datenhaltung wird dabei nach folgenden Schema organisiert.



## Kapitel 17 Sonstiges

### ***Ansprechpartner***

Der Ansprechpartner ist in allen Fällen, sei es untersuchungstechnischer oder organisatorischer Art, zunächst der Ambulanzzarzt der Klinik, wo untersucht wird. Kann die Anfrage dort nicht geklärt werden, nimmt der Ambulanzzarzt Kontakt mit der gsf-Projektleitung auf. Inhalt des Gespräches wird (in Stichworten) protokolliert. Die gsf-Projektleitung haftet nicht für Vorkommnisse in der Klinik, deshalb ist die Klinik für den Datenschutz selbst verantwortlich.

Für alle Probanden besteht nach Auskunft der gsf-Rechtsabteilung ein allgemeiner Versicherungsschutz während der Untersuchung im Rahmen der Haftpflichtversicherung des gsf-Forschungszentrums bei der ALLIANZ-Versicherung, soweit die Arzt-Haftpflicht des untersuchenden Arztes nicht sowieso für etwaige Schäden aufkommt. Für die Probanden wurde zusätzlich eine Wegeversicherung für den Weg zu und von dem klinischen Zentrum bei der FUNK-Versicherungsgruppe in München abgeschlossen. Fotokopien aller Unterlagen sind bei der gsf-Studienzentrale erhältlich.

### ***Unkostenerstattung***

Allen Probanden kann eine Unkostenerstattung ausgezahlt werden (und eventuell auch noch zusätzliche Fahrkosten für auswärtige Familien) und zwar von dem Betrag, der von der gsf auf Ihr Drittmittelkonto überwiesen wurde. Die Vergütung für jeden Probanden als Entschädigung für Fahrtkostenauslagen o.ä. beträgt 50.- DM. Dieser Betrag kann bar oder per Scheck, aber immer mit Quittung ausgezahlt werden; Eltern bekommen den Betrag für Ihre Kinder ausbezahlt. Die Unkosten-Entschädigung sollte allerdings erst ausbezahlt werden, wenn alle Untersuchungen vollständig abgeschlossen sind. Für den Fall einer Anreise aus einer weiter entfernten Stadt, kann zusätzlich die Fahrkarte der Bahn gegen Vorlage, beziehungsweise auch Kilometer-Geld (in Höhe des aktuellen Steuersatzes) erstattet werden. Alle Beträge bitte quittieren lassen.

### ***Zuständigkeiten***

In der gsf ist für die technische Organisation M. Wjst und in Vertretung M. Hoelzenbein zuständig, für die Dateneingabe und Archivierung A. Houzer, die Kühlagerung der Proben A. Houzer und K. Franke, die finanzielle Abwicklung Heilmaier und für Sekretariatsaufgaben D. Kaiser und A. Frey.

## **Kapitel 18 Rechtliche Grundlagen und Kooperationsvereinbarungen**

Die Studie wurde mit Schreiben vom 27.12.1994 von der Ethik-Kommission der Landesärztekammer Nordrhein begutachtet. Die Datenschutzbestimmungen wurden vom Datenschutzbeauftragten der GSF, sowie dem Datenschutzbeauftragten des Landes Sachsen überprüft. Bitte überprüfen Sie, ob das Studienprotokoll eventuell auch der Ethik-Kommission Ihres Bundeslandes oder Ihrer Universität zur Begutachtung vorgelegt werden soll.

Muster-Kooperationsvereinbarungen Über Kooperation, Aufgabenteilung, Termin- und Publikationsabsprachen zu dem Forschungsantrag "Genetische und umweltabhängige Einflüsse auf Prävalenz und Inzidenz bei Asthma bronchiale" Teilprojekt "Genetik von Asthma"

zwischen dem

Institut für Epidemiologie, GSF - Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, GmbH, Ingoldstädter Landstr. 1, 85758 Neuherberg

und

externen Projektpartnern

(1) Zu dieser Vereinbarung gehört die revidierte Fassung des Forschungsantrages vom 18.8.1993, die bisherigen Unteraufträge, sowie das Untersuchungshandbuch vom 10.4.1995, das in der Anlage beigelegt ist.

(1.4) Abweichungen von dem Studienplan, festgelegt in dem Untersucher-Handbuch vom 1.2.1995, sowie Zusatz-Untersuchungen sind nur nach Konsens unter den ursprünglichen Antragstellern der Studie sowie unter Rücksprache mit dem Mittelgeber möglich.

### ***Aufgabenteilung***

(1.1) Das Institut für Epidemiologie ist für die Koordination der Studie, Auswahl und Untersuchung der Probanden sowie für die Dateneingabe aller Frage- und Untersuchungsbögen verantwortlich.

(1.2) Das Institut für Humangenetik und das Labor für Immungenetik sind gemeinsam für die Genotypisierung zuständig.

(1.3.) Das Institut für klinische Immunologie, Jena, ist für die Bestimmung aller allergologischer Parameter verantwortlich.

(1.4) Das Institut für medizinische Statistik ist zusammen mit dem Institut für Epidemiologie für die Datenprüfung verantwortlich. In Absprache mit dem Institut für Epidemiologie werden die Datensätze abgeglichen und auf Assoziation beziehungsweise Kopplung untersucht.

(1.5.) Weitere klinische Kooperationspartner sind für die ordnungsgemäße Untersuchung von Probanden verantwortlich, wie sie in dem Untersucher-Handbuch festgelegt ist.

### **Terminvereinbarungen**

(2.1) Die Kooperationspartner verpflichten sich, die in dem Forschungsantrag genannten Termine einzuhalten. Nach Untersuchung der Probanden koordiniert das Institut für Epidemiologie die weitere Verarbeitung der Untersuchungsproben.

(2.2) Die in dem Institut für Humangenetik und dem Labor für Immungenetik erhobenen Daten werden nach Anlaufen der Hauptstudie in vierwöchigen Abständen auf Listen an das Institut für Epidemiologie weitergegeben.

(2.3.) Für Zwischen- und Abschlußbericht verpflichten sich alle Kooperationspartner innerhalb vier Wochen nach Aufforderung ihren Beitrag an die Studienzentrale im Institut für Epidemiologie zu liefern.

### **Datenschutz**

(3.1) Alle Kooperationspartner verpflichten sich zur Einhaltung des Datenschutzes, wie er in den gesetzlichen Bestimmungen vorgeschlagen ist.

(3.2) Sie tragen außerdem dafür Sorge, daß alle Mitarbeiter innerhalb ihres Institutes, die Daten der Studie einsehen können und schriftlich die Kenntnis der Datenschutzbedingungen bestätigen.

(3.3) Falls einem Probanden der Studie durch Verletzung des Datenschutzes ein nachweisbarer Schaden entsteht, haftet derjenige, der für die Verletzung des Datenschutzes verantwortlich war, alleinverantwortlich und persönlich für Entschädigung des oder der Probanden.

### **Patent, Publikationsabsprachen**

(4.1) Es besteht Übereinstimmung unter den Kooperationspartnern, daß keine DNA-Sequenzen zum Patent angemeldet werden.

(4.2) Die Publikationsvorschriften der einzelnen Institute sind zu beachten. Für die Beteiligung als Autor von Veröffentlichungen aus der Studie gelten die Richtlinien, wie sie in "Information for authors" des "New England Journals of Medicine" vom 3.1.1991 veröffentlicht sind ("Authorship credit requires substantial contribution to (a) conception and design, or analysis and interpretation of data and (b) drafting the article or revising it critically for important intellectual content")

Diese Absprachen betreffen nur Publikationen, in denen Materialien oder Daten verwendet werden, die mit Hilfe weiterer Kooperationspartner innerhalb dieser Studie erworben wurden. Unter Publikation wird hier jede Weitergabe von Informationen aus der Studie verstanden.

(4.3) Die Studienzentrale im Institut für Epidemiologie der GSF entscheidet auf Antrag nach Rücksprache mit den Kooperationspartnern, ob eine Publikation von Ergebnissen der Studie zulässig ist. Die Entscheidung wird schriftlich begründet.

(4.4) In schriftlichen Veröffentlichungen sollen alle Kooperationspartner mit voller Anschrift genannt werden. Mindestens ein Mitglied aus jedem Institut sollte, wenn möglich, die Veröffentlichung gelesen haben und als Autor mitverantwortlich erscheinen.

(4.5) Von allen Publikationen ist in der Studienzentrale in der GSF eine Kopie oder ein Sonderdruck zu deponieren.

(4.6) Die Studienteilnehmer vereinbaren für den Verstoß gegen 4.1 -4.4 gemäß § 343 BGB eine Vertragsstrafe an die Studienleitung. Die Höhe richtet sich nach dem Ausmaß des Verstoßes, wird von der Studienzentrale festgesetzt und kann im Höchstfall 100.000 DM betragen. Für den Verstoß gegen die vereinbarten Datenschutzbestimmungen haftet jeder Studienteilnehmer persönlich gegenüber dem Probanden dem ein Schaden entstanden ist.

### **Schlußbestimmungen**

(5.1) Bei Ausscheiden einzelner Partner oder Institute wird im Einvernehmen mit dem Förderer zur Sicherung des Forschungszieles festgelegt, welchem neuem Partner die Aufgaben übertragen werden. Die bis dahin erarbeiteten Daten sind dem Förderer zu übergeben.

(5.2) Änderungen und Ergänzungen dieses Abkommens bedürfen der Schriftform sowie der Zustimmung aller Beteiligten und des Förderers. Das Abkommen tritt nach Unterzeichnung in Kraft.

(5.3) Kein Projektpartner ist berechtigt, mit Wirkung für andere Partner ohne deren ausdrückliche schriftliche Zustimmung Verpflichtungen zu übernehmen.

(5.4) Rechte und Pflichten aus diesem Vertrag dürfen ohne Zustimmung der anderen Partner auf Dritte nicht übertragen werden.

# Kapitel 19 Anhang

Materialienzusammenstellung gsf Asthma Genetik Studie:

Methoden-Handbuch

25 Interviewbogen "Familie"

100 Interviewbogen "Proband"

100 Protokolle für elektronische Peak-Flowmeter

100 Prick-Test Protokolle

100 Lungenfunktions Protokolle

100 Blutentnahme Protokolle

50 FAX Begleitprotokolle für Versand

10 Leerdisketten

1 Diskette mit Installationsprogramm für

- Peak-Flow-Programm (MS-DOS 5.0)

- Metacholin PC-20 Programm (MS-WINDOWS 3.1)

- Musterbriefe (Format MS-WORD 5.0)

5 DIN A4 Bögen Versand-Etiketten

2 Prick-Test-Schablonen

2 Farbfotos "Neurodermitis"

1 Kurzbedienungsanleitung JAEGER MasterScope V4.1

## Interview-Bogen "Proband"

*Alle Felder müssen ausgefüllt werden!*

P01 Datum des Interviews	... ...  .  ... ...  . 19  ... ...
P02 Familienname des/der Interviewers/in <i>(Bitte in Druckbuchstaben eintragen)</i>	.....
P03 Fragebogennummer (FBNR) des/der Probanden/-in	... ... ... ... ...
P04 Familiennummer (FAMNR) des/der Probanden/-in	... ... ... ... ...

*Bitte beginnen Sie das Interview mit:* Ich möchte Ihnen jetzt einige Fragen stellen. Für die spätere Auswertung ist es wichtig, daß Sie möglichst genau antworten. Ihre Angaben in diesem Interview werden selbstverständlich vertraulich gehalten.

P05 Wann sind Sie geboren?	am  ... ...  .  ... ...  19  ... ...
P06 Geschlecht des/der Probanden/in	männlich <input type="radio"/> weiblich <input type="radio"/>

P07A Haben Sie die deutsche Nationalität?	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
P07B wenn nein, welche Nationalität? <i>(Nationalität bitte in Druckbuchstaben eintragen)</i>	.....

P08A Wer beantwortet die Fragen ?	Proband selbst .....	ja <input type="radio"/>	nein <input type="radio"/>
P08B	Geschwister .....	ja <input type="radio"/>	nein <input type="radio"/>
P08C	Vater .....	ja <input type="radio"/>	nein <input type="radio"/>
P08D	Mutter .....	ja <input type="radio"/>	nein <input type="radio"/>
P08E	sonstige Person .....	ja <input type="radio"/>	nein <input type="radio"/>

## Fragen zu Asthma und bronchialer Hyperreaktivität

P09A Wurde bei Ihnen **jemals** Asthma  
von einem Arzt diagnostiziert?

ja

nein

weiß nicht

*Wenn ja, bitte die folgenden Fragen stellen, wenn nein weiter bei P10.*

P09B Wie häufig hatten Sie in den **letzten**  
**12 Monaten** Asthma-Anfälle?

keine

höchstens einmal pro Monat

höchstens einmal pro Woche

*Asthmaanfall ist akute Atemnot*  
*mit pfeifender Atmung* mehrmals pro Woche

ständig

P09C Wie schnell entwickelt sich meistens  
ein Anfall? Innerhalb von

Sekunden

Minuten

Stunden

Tagen

P09D Wie lange dauert meist ein Anfall?

Minuten

Stunden

Tage

P09EA Was glauben Sie, löst bei Ihnen  
P09EB Asthma-Anfälle aus?

P09EC Infekte

P09ED Anstrengung

P09EE Klima, Wetter

P09EF Gräserpollen, Hausstaub

P09EE Tierhaare

P09EF Nahrungsmittel, z.B. Erdbeeren

P09EG Aspirin, andere Medikamente

P09EH Tabakrauch, Luftverschmutzung

P09EI Stoffe am Arbeitsplatz

P09EJ Stress, psychische Belastung

P09EK sonstige Auslöser

P09EM weiß nicht

P09F Haben Sie schon einmal wegen  
des Asthmas Cortison-Tabletten oder  
Cortison-Sprays eingenommen?

ja

nein

P09G Sind Sie schon wegen Asthmas im  
Krankenhaus stationär behandelt worden?

ja

nein

P10 Wurde bei Ihnen **jemals** asthmoide,  
spastische oder obstruktive Bronchitis  
von einem Arzt diagnostiziert?

ja

nein

weiß nicht

P11 Haben Sie **jemals** Medikamente (Tabletten, Tropfen, Sprays, o.ä.) ja  O  
 wegen einer Erkrankung von Lunge oder Bronchien genommen? nein  O  
 weiß nicht  O

*ausgenommen bei Erkältung, Bronchitis und Lungenentzündung*

P12A Haben Sie Medikamente oder Sprays in den letzten 12 Monaten eingenommen? ja  O  
 nein  O  
 weiß nicht  O

*wenn ja, welche?*

P12B .....

P12C .....

P12D .....

P12E .....

*(Handelsnamen bitte in Druckbuchstaben eintragen)*

Haben oder hatten Sie jemals eine der folgenden Krankheiten (*bitte ganze Liste vorlesen*):

*Fragen an alle Probanden*

P13A Sind Sie zu früh geboren? *vor der 36. SSW* ja  O nein  O

P13B Atmungsprobleme nach der Geburt ja  O nein  O

P13C mehr als zwei Lungenentzündungen ja  O nein  O

P13D Lungen- oder Rippenverletzung durch Unfall ja  O nein  O

P13E Lungenkollaps oder Pneumothorax ja  O nein  O

P13F Fehlbildungen der Atemwege ja  O nein  O

P13G Intubation und künstliche Beatmung ja  O nein  O

P13H Verschlucken von Mageninhalt (Aspiration) ja  O nein  O

P13I Tuberkulose, Sarkoidose ja  O nein  O

P13J Sichelzellanämie ja  O nein  O

P13K Erkrankungen, wie Lupus erythematodes ja  O nein  O

Wegnersche Granulomatose oder Churg-Strauss-Syndrom

P13L Herzfehler ja  O nein  O

P13M Tumorerkrankung, Leukämie ja  O nein  O

P13N Wurminfektionen des Magendarmtraktes ja  O nein  O

P13O sonstige Parasiten oder Tropenkrankheiten ja  O nein  O

P13P weitere schwere Erkrankung ja  O nein  O

P13Q Erkrankung .....

P13R Erkrankung .....

FORTSETZUNG

Haben oder hatten Sie jemals eine der folgenden Krankheiten (*bitte ganze Liste vorlesen*):

*Fragen nur an KINDER*

P14A	mehr als einmal Pseudokrapp	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P14B	Keuchhusten	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P14C	cystische Fibrose (Mucoviszidose)	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P14D	alpha1-Antitrypsin-Mangel	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>

*Fragen nur an ERWACHSENE*

P14E	chronischer Bronchitis, Emphysem (COPD)	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P14F	Tumor von Bronchien oder Lunge	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P14G	Lungenembolie	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P14H	Bronchiektasen, Lungenabszess, Aspergillose	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>

P15A	Haben Sie <b>jemals</b> pfeifende, giemende, oder fiepende Atemgeräusche im Brustkorb gehabt?	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>	weiß nicht	<input type="radio"/>
------	--	----	-----------------------	------	-----------------------	------------	-----------------------

Falls ja, geben Sie bitte an, in welchem Alter diese Atemgeräusche das erste mal und wann das letzte Mal aufgetreten sind.

*Bitte Zahl in das erste und letzte entsprechende Feld eintragen: 0=nein, 1=ja*

Sind sie Atemgeräusche auch jedes Jahr dazwischen aufgetreten?

*Bitte jetzt die Zeitspanne dazwischen auffüllen.*

P15BA-I *KINDER*

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18

P15CA-I *ERWACHSENE*

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	60-70	>70	unklar

P15DA-L In welchen Monaten traten die Atemgeräusche meist auf?

*Bitte Zahl in das entsprechende Feld eintragen: 0=nie, 1=ja*

...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Jan	Feb	März	April	Mai	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Dez

P16	Wenn wir jetzt noch einmal zusammenfaßen, hatten Sie damit also <b>in mindestens 3 Jahren 10 oder mehr Anfälle</b> mit pfeifender Atmung?	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>	weiß nicht	<input type="radio"/>
-----	---	----	-----------------------	------	-----------------------	------------	-----------------------

P17A Hatten sie <b>in den letzten 12 Monaten</b>	ja	<input type="radio"/>
Husten mit Auswurf?	nein	<input type="radio"/>
	weiß nicht	<input type="radio"/>
P17B Falls ja, über mindestens 3 aufeinanderfolgende Monate?	ja	<input type="radio"/>
	nein	<input type="radio"/>
P18 Hatten sie <b>in den letzten 12 Monaten</b> nachts	ja	<input type="radio"/>
trockenen Husten ohne erkältet zu sein?	nein	<input type="radio"/>
	weiß nicht	<input type="radio"/>

Müssen Sie in folgenden Situationen husten, zum Beispiel  
*Bitte ganze Liste vorlesen.*

P19A nachts und morgens beim Aufstehen	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P19B bei körperl. Anstrengung, z.B. Treppensteigen, Radfahren oder Joggen	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P19C bei Temperaturschwankung, wenn Sie im Winter das Haus verlassen oder aus der Dusche kommen	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P19D während der Pollensaison im Frühjahr/Sommer	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P19E beim Putzen oder Staubsaugen in der Wohnung	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P19F bei Kontakt mit Tieren, z.B. mit Katzen oder Hunden	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
P19G bei verschmutzter Luft, z.B. in verrauchten Räumen	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>

Falls Sie mindestens eine Frage mit ja beantwortet haben, geben Sie bitte an, in welchem Alter der Husten das erste mal und wann das letzte Mal aufgetreten ist.

*Bitte Zahl in das entsprechende Feld eintragen: 0=nie, 1=ja*

**P19GA-I KINDER**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18

**P19HA-I ERWACHSENE**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	60-70	>70	unklar

P20A Hatten sie <b>in den letzten 12 Monaten</b> eine Erkältung?	ja	<input type="radio"/>
(Bronchitis, Infekt der oberen Luftwege, mit oder ohne Fieber)	nein	<input type="radio"/>
	weiß nicht	<input type="radio"/>

Wenn ja, wie oft in den letzten 12 Monaten? |...|...|

P21A Hatten Sie schon einmal das Gefühl, in Ruhe nicht richtig Luft zu bekommen ohne aber erkältet zu sein? ja  O  
 nein  O  
 weiß nicht  O

Wenn ja, geben Sie dann bitte an, in welchem Alter diese Symptome aufgetreten sind.

Bitte Zahl in das entsprechende Feld eintragen: 0=nie, 1=ja

**P21BA-I KINDER**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18

**P19CA-I ERWACHSENE**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	60-70	>70	unklar

P22A Haben Sie schon einmal im Krankenhaus gelegen? ja  O  
 (Entbindungen ausgenommen) nein  O  
 weiß nicht  O

Wenn ja, wann und warum?

P22BA/B	19	... ...	wegen .....
P22CA/B	19	... ...	wegen .....
P22DA/B	19	... ...	wegen .....

Bei über 3 Aufenthalten, bitte nur die letzten 3 aufführen.

**Fragen zu weiteren allergischen Erkrankungen**

Leiden Sie an einer der folgenden Krankheiten (*Liste bitte langsam vorlesen*):

P23A	Heuschnupfen (Allergie auf Pollen/Staub)	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O
P23B	Allergie auf Haustiere (Katzen, Hunde, Meersch., Pferde)	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O
P23C	Allergie auf Insektenstiche (Bienen)	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O
P23D	Allergie auf Lebensmittel oder Zusatzstoffe	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O
P23E	Kontaktallergie (Heftplaster, Nickel)	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O
P23F	Medikamenten-Allergie (Penicillin)	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O
P23G	Nesselsucht (Urticaria)	ja	<input type="radio"/> O	nein	<input type="radio"/> O

P24A Habe Sie manchmal eine laufende oder verstopfte, juckende Nase ohne erkältet zu sein? ja  O  
nein  O  
weiß nicht  O

P24B Haben Sie dabei auch tränende, juckende Augen? ja  O  
nein  O  
weiß nicht  O

Wenn "JA" bei P24A: Geben Sie bitte an, in welchem Alter die Symptome das erste Mal und wann das letzte Mal aufgetreten sind.  
Bitte Zahl in das entsprechende Feld eintragen: 0=nie, 1=ja

**P24CA-I KINDER**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18

**P24DA-I ERWACHSENE**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	60-70	>70	unklar

P25A Hatten Sie schon einmal solche Symptome? ja  O  
nein  O  
Bitte die Bilderserie vorlegen! weiß nicht  O

P25B Waren das mehrfach wiederkehrende juckende, schuppige Hautveränderungen in der Ellbeuge oder Kniekehle (Beugenekezem\*)? ja  O  
nein  O  
weiß nicht  O

Der Schweregrad ist zunächst nicht wichtig, sondern nur ob eine der Hautveränderungen überhaupt aufgetreten ist.

Wenn "JA" bei P25A: In welchem Alter das erste Mal und in welchem Alter sind diese Symptome das letzte Mal aufgetreten.

Bitte Zahl in das entsprechende Feld eintragen 0=nie, 1=ja

Bei "NEIN" weiter mit P26

**P25BA-I KINDER**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18

**P25CA-I ERWACHSENE**

	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Alter	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	60-70	>70	unklar

\* ggf. auch in Kombination mit anderen Lokalisationen

FORTSETZUNG

P26A

Wurde bei Ihnen jemals die Diagnose atopisches Ekzem,  
Neurodermitis oder endogenes Ekzem gestellt? ja  O  
nein  O  
weiß nicht  O

Wenn "JA" bei P25A oder P26A:

P26B Wie häufig waren Sie deshalb beim Arzt? nie  O  
gelegentlich  O  
ständig  O

Geben Sie bitte an, welche Faktoren diese Symptome auslösen oder verschlimmern:

P26CA	Pollen	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CB	Hausstaub	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CC	chemische Substanzen	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CD	Nahrungsmittel	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CE	Infektionen	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CF	Hormonelle Schwankungen	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CG	Stress, psychische Belastung	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CG	Schwitzen	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiß n. <input type="radio"/> O
P26CG	Wetter, Klima, Kälte/Hitze	ja <input type="radio"/> O	nein <input type="radio"/> O	weiss n. <input type="radio"/> O

Bitte alle Probanden (auch Kinder) fragen:

P27A Haben Sie/Hast Du jemals geraucht? ja  O  
nein  O  
weiß nicht  O

P27BA-H Wenn ja, wieviele Zigaretten täglich?\*

	... ...	... ...	... ...	... ...	... ...	... ...	... ...
im Alter	<=10	11-15	16-20	21-30	31-40	41-50	51-60 >60

\* pro 1 Gramm Pfeifentabak 1 Zigarette eintragen, bzw. pro 1 Zigarre 3 Zigaretten eintragen

## Interview-Bogen "Familie"

*Bitte füllen Sie diesen Bogen bei dem ersten Hausbesuch aus und zeichnen Sie den Stammbaum auf die letzte Seite. Während die Adressen für eventuelle Rückfragen in der Klinik bleiben, geht dieser Interviewbogen "Familie" an die GSF, wo die Etiketten für die Untersuchung gedruckt werden. Erläutern Sie bitte den Eltern den Ablauf der Untersuchung und lassen Sie dann vor der Untersuchung das Einverständnisformular ausfüllen.*

F01 Datum des Interviews	... ...  .  ... ...  19  ... ...																																																													
F02 Name des/der Interviewers/in ..... <i>(Name bitte linksbündig in Druchbuchstaben eintragen)</i>																																																														
F03 Familiennummer (FAMNR) ..... <i>(zunächst leer lassen, wird in der gsf ausgefüllt)</i>																																																														
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;"></th> <th style="width: 10%;"></th> <th style="width: 15%;">Fragebogennummer (FBNR) <i>zunächst leer lassen</i></th> <th style="width: 10%;">Initialen V.N.</th> <th style="width: 10%;">Geburts- jahr</th> <th style="width: 10%;">wohnt bei Mutter? (0=nein 1=ja)</th> <th style="width: 10%;">ärztlich diagn. Asthma (0=nein 1=ja)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F04AA-C</td> <td>Mutter</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td></td> <td> ... </td> </tr> <tr> <td>F04BA-C</td> <td>Vater</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td> ... </td> <td> ... </td> </tr> <tr> <td>F04CA-C</td> <td>1. Kind</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td> ... </td> <td> ... </td> </tr> <tr> <td>F04DA-C</td> <td>2. Kind</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td> ... </td> <td> ... </td> </tr> <tr> <td>F04EA-C</td> <td>3. Kind</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td> ... </td> <td> ... </td> </tr> <tr> <td>F04FA-C</td> <td>4. Kind</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td> ... </td> <td> ... </td> </tr> <tr> <td>F04GA-C</td> <td>5. Kind</td> <td> ... ... ... ... ... </td> <td> ... .  ... .</td> <td>19 ... ... </td> <td> ... </td> <td> ... </td> </tr> </tbody> </table>									Fragebogennummer (FBNR) <i>zunächst leer lassen</i>	Initialen V.N.	Geburts- jahr	wohnt bei Mutter? (0=nein 1=ja)	ärztlich diagn. Asthma (0=nein 1=ja)	F04AA-C	Mutter	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...		...	F04BA-C	Vater	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...	F04CA-C	1. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...	F04DA-C	2. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...	F04EA-C	3. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...	F04FA-C	4. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...	F04GA-C	5. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...
		Fragebogennummer (FBNR) <i>zunächst leer lassen</i>	Initialen V.N.	Geburts- jahr	wohnt bei Mutter? (0=nein 1=ja)	ärztlich diagn. Asthma (0=nein 1=ja)																																																								
F04AA-C	Mutter	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...		...																																																								
F04BA-C	Vater	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...																																																								
F04CA-C	1. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...																																																								
F04DA-C	2. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...																																																								
F04EA-C	3. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...																																																								
F04FA-C	4. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...																																																								
F04GA-C	5. Kind	... ... ... ... ...	... .  ... .	19 ... ...	...	...																																																								
<i>Falls die Familie noch mehr Kinder hat, zweiten Bogen ausfüllen und anklammern.</i>																																																														

Wer beantwortet die Fragen ?

- F05A Vater..... jaO nein O  
F05B Mutter..... jaO nein O  
F05C Kinder..... jaO nein O  
F05D sonstige Familienangehörige..... jaO nein O

*Bitte fragen Sie dann noch einmal, ob alle notwendigen Kriterien für die Teilnahme der Familie vorliegen!*

- F06A mind. zwei gemeinsame leibliche Kinder mit Asthma..... jaO nein O  
F06B beide Kinder sind nach der vollendeten 36. SSW geboren..... jaO nein O  
F06C beide Kinder hatten ein Geburtsgewicht über 2.500 Gramm... jaO nein O  
F06D beide Kinder wurden in den ersten 6 Monaten nicht beatmet . jaO nein O  
F06E die Kinder sind zwischen 6 und 18 Jahre alt (*fakultativ*)..... jaO nein O  
F06F die Familienmitglieder verstehen deutsch..... jaO nein O

*Bitte lassen Sie sich die Untersuchungshefte der Kinder geben und überprüfen Sie obige Angaben soweit möglich.*

### Fragen zur Wohnung

- F07 Wohnen Sie in einer  
Großstadt mit über 250.000 Einwohnern? O  
Stadt zwischen 50.000 und 250.000 Einwohnern? O  
Stadt zwischen 5.000 und 50.000 Einwohnern? O  
Dorf unter 5.000 Einwohnern? O

F08 Wann wurde Ihr Haus gebaut? 19 |...|...|  
(00=unbekannt)

F09 Wieviele offene Brennstellen zum Kochen,  
Heizen oder Warmwasserbereiten sind in Ihrer Wohnung? |...|...|  
(00=keine, Herd mit mehreren Flammen bitte als 1 Brennstelle zählen)



*Auf dieser Seite den 3 Generationen-Stammbaum aufzeichnen (Anleitung im Untersucher-Handbuch). Väter (Vierecke) jeweils links, Mütter (Kreise) rechts schreiben. Kinder in der Geburtsreihenfolge. Symbole schwarz ausmalen, wenn anamnestisch Asthma angegeben wird. Unter die Symbole jeweils Initialen von Vor- und Nachnamen (wie in der Adressliste) sowie Alter und aktuellen Wohnort schreiben.*

## Adressliste

*"Initialen" bezieht sich auf den Stammbaum im "Interviewbogen Familie"*

F03 Familiennummer (FAMNR) <i>zunächst leer lassen</i>	... ... ... ... ...			
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 20%; vertical-align: top;">           Initialen ....             (Mutter)         </td> <td style="border: none;">           Nachname.....            Vorname.....            Geb.datum.....            Strasse/Nr. ....            PLZ Ort .....            Telefon/Fax .....         </td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="padding-top: 10px;"> <i>Anmerkungen</i> </td> </tr> </table>	Initialen ....  (Mutter)	Nachname..... Vorname..... Geb.datum..... Strasse/Nr. .... PLZ Ort ..... Telefon/Fax .....	<i>Anmerkungen</i>	
Initialen ....  (Mutter)	Nachname..... Vorname..... Geb.datum..... Strasse/Nr. .... PLZ Ort ..... Telefon/Fax .....			
<i>Anmerkungen</i>				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 20%; vertical-align: top;">           Initialen ....             (Vater)         </td> <td style="border: none;">           Nachname.....            Vorname.....            Geb.datum.....            Strasse/Nr. ....            PLZ Ort .....            Telefon/Fax .....         </td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="padding-top: 10px;"> <i>Anmerkungen</i> </td> </tr> </table>	Initialen ....  (Vater)	Nachname..... Vorname..... Geb.datum..... Strasse/Nr. .... PLZ Ort ..... Telefon/Fax .....	<i>Anmerkungen</i>	
Initialen ....  (Vater)	Nachname..... Vorname..... Geb.datum..... Strasse/Nr. .... PLZ Ort ..... Telefon/Fax .....			
<i>Anmerkungen</i>				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 20%; vertical-align: top;">           Initialen ....         </td> <td style="border: none;">           Nachname.....            Vorname.....            Geb.datum.....            Strasse/Nr. ....            PLZ Ort .....            Telefon/Fax .....         </td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="padding-top: 10px;"> <i>Anmerkungen</i> </td> </tr> </table>	Initialen ....	Nachname..... Vorname..... Geb.datum..... Strasse/Nr. .... PLZ Ort ..... Telefon/Fax .....	<i>Anmerkungen</i>	
Initialen ....	Nachname..... Vorname..... Geb.datum..... Strasse/Nr. .... PLZ Ort ..... Telefon/Fax .....			
<i>Anmerkungen</i>				



## Blutentnahme/-Ergebnis-Protokoll

B01 Datum der Untersuchung	... ...  .  ... ...  19  ... ...																																																												
B02 Uhrzeit	... ...  :  ... ...																																																												
B03 Ärztin/Arzt <i>(Familienname bitte in Druckbuchstaben eintragen)</i>	.....																																																												
B04 Untersuchungsnummer (LABNR) des/der Probanden/-in	... ... ... ... ...																																																												
B05 Familiennummer (FAMNR)	... ... ... ... ...																																																												
B06A Gab es Probleme bei der Blutabnahme?	ja <input type="radio"/> O nein <input type="radio"/> O																																																												
B06B falls ja, welche?	.....																																																												
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;"><i>Abnahme-Röhrchen</i></th> <th style="text-align: left;"><i>geht an</i></th> <th style="text-align: left;"><i>Bezeichnung</i></th> <th style="text-align: left;"><i>Sollmenge</i></th> <th style="text-align: left;"><i>Farbe</i></th> <th style="text-align: left;"><i>Istmenge</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>B07A rot, K-EDTA</td> <td>Lab.Weiss</td> <td>Vollbl.-Orig.</td> <td>9 ml</td> <td>rot</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07B rot, K-EDTA</td> <td>gsf</td> <td>1.Vollbl.-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>weiß</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07C</td> <td>gsf</td> <td>2.Vollbl.-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>gelb</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07D</td> <td>gsf</td> <td>3.Vollbl.-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>flieder</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07E</td> <td>gsf</td> <td>4.Vollbl.-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>orange</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07F weiß, Serum</td> <td>gsf</td> <td>1.Serum-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>blau</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07G</td> <td>Lab.Jäger</td> <td>2.Serum-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>pink</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07H</td> <td>Lab.Jäger</td> <td>3.Serum-Aliq.</td> <td>1,8 ml</td> <td>grün</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> <tr> <td>B07I rot, K-EDTA</td> <td>Lab.Klin.</td> <td>Vollbl.-Orig.</td> <td>2,0 ml</td> <td>rot</td> <td> ...  ,  ...  ml</td> </tr> </tbody> </table>		<i>Abnahme-Röhrchen</i>	<i>geht an</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Sollmenge</i>	<i>Farbe</i>	<i>Istmenge</i>	B07A rot, K-EDTA	Lab.Weiss	Vollbl.-Orig.	9 ml	rot	...  ,  ...  ml	B07B rot, K-EDTA	gsf	1.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	weiß	...  ,  ...  ml	B07C	gsf	2.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	gelb	...  ,  ...  ml	B07D	gsf	3.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	flieder	...  ,  ...  ml	B07E	gsf	4.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	orange	...  ,  ...  ml	B07F weiß, Serum	gsf	1.Serum-Aliq.	1,8 ml	blau	...  ,  ...  ml	B07G	Lab.Jäger	2.Serum-Aliq.	1,8 ml	pink	...  ,  ...  ml	B07H	Lab.Jäger	3.Serum-Aliq.	1,8 ml	grün	...  ,  ...  ml	B07I rot, K-EDTA	Lab.Klin.	Vollbl.-Orig.	2,0 ml	rot	...  ,  ...  ml
<i>Abnahme-Röhrchen</i>	<i>geht an</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Sollmenge</i>	<i>Farbe</i>	<i>Istmenge</i>																																																								
B07A rot, K-EDTA	Lab.Weiss	Vollbl.-Orig.	9 ml	rot	...  ,  ...  ml																																																								
B07B rot, K-EDTA	gsf	1.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	weiß	...  ,  ...  ml																																																								
B07C	gsf	2.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	gelb	...  ,  ...  ml																																																								
B07D	gsf	3.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	flieder	...  ,  ...  ml																																																								
B07E	gsf	4.Vollbl.-Aliq.	1,8 ml	orange	...  ,  ...  ml																																																								
B07F weiß, Serum	gsf	1.Serum-Aliq.	1,8 ml	blau	...  ,  ...  ml																																																								
B07G	Lab.Jäger	2.Serum-Aliq.	1,8 ml	pink	...  ,  ...  ml																																																								
B07H	Lab.Jäger	3.Serum-Aliq.	1,8 ml	grün	...  ,  ...  ml																																																								
B07I rot, K-EDTA	Lab.Klin.	Vollbl.-Orig.	2,0 ml	rot	...  ,  ...  ml																																																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="6" style="text-align: left;"><i>Blutbild</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>B08/B09</td> <td>Leukos</td> <td> ... ...  ,  ...  *10<sup>3</sup>/ul</td> <td>Neutrophile</td> <td> ... ...  %</td> <td></td> </tr> <tr> <td>B10/B11</td> <td>Erys</td> <td> ... ...  *10<sup>6</sup>/ul</td> <td>Lymphozyten</td> <td> ... ...  %</td> <td></td> </tr> <tr> <td>B12/B13</td> <td>Hb</td> <td> ... ...  ,  ...  g/dl</td> <td>Eosinophile</td> <td> ... ...  %</td> <td></td> </tr> <tr> <td>B14/B15</td> <td>Hkt</td> <td> ... ...  ,  ...  %</td> <td>Basophile</td> <td> ... ...  %</td> <td></td> </tr> <tr> <td>B16/B17</td> <td>Thrombos</td> <td> ... ... ...  *10<sup>5</sup>/ul</td> <td>Monozyten</td> <td> ... ...  %</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		<i>Blutbild</i>						B08/B09	Leukos	... ...  ,  ...  *10 <sup>3</sup> /ul	Neutrophile	... ...  %		B10/B11	Erys	... ...  *10 <sup>6</sup> /ul	Lymphozyten	... ...  %		B12/B13	Hb	... ...  ,  ...  g/dl	Eosinophile	... ...  %		B14/B15	Hkt	... ...  ,  ...  %	Basophile	... ...  %		B16/B17	Thrombos	... ... ...  *10 <sup>5</sup> /ul	Monozyten	... ...  %																									
<i>Blutbild</i>																																																													
B08/B09	Leukos	... ...  ,  ...  *10 <sup>3</sup> /ul	Neutrophile	... ...  %																																																									
B10/B11	Erys	... ...  *10 <sup>6</sup> /ul	Lymphozyten	... ...  %																																																									
B12/B13	Hb	... ...  ,  ...  g/dl	Eosinophile	... ...  %																																																									
B14/B15	Hkt	... ...  ,  ...  %	Basophile	... ...  %																																																									
B16/B17	Thrombos	... ... ...  *10 <sup>5</sup> /ul	Monozyten	... ...  %																																																									
Besonderheiten	..... .....																																																												

## Peakflow-Protokoll (elektronisch)

Familiennummer (FAMNR)

|...|...|...|...|...|

Gebrauchsanweisung für das "MICRO MEDICAL"-Messgerät:

1. Bitte **morgens** nach dem Aufstehen und **abends** vor dem Zubettgehen messen.
2. Immer **vor** der Einnahme von Medikamenten oder Sprays und **vor** Mahlzeiten messen.
3. Gerät einschalten mit "ON"
4. Ihre Personenziffer wählen mit "UP"=HERAUF oder "DOWN"=HERUNTER:

- 1 =VATER
- 2 =MUTTER
- 3 = 1.(ÄLTESTES) KIND
- 4 = 2.(ZWEITÄLTESTE) KIND
- 5 = 3.(DRITTÄLTESTE) KIND
- 6 = 4.(VIERTÄLTESTE) KIND

Wenn fertig "ENTR" drücken

5. Symptom angeben für Husten/pfeifende Atemgeräusche:

- 0=KEINE SYMPTOME
- 1=HUSTEN ODER PFEIFEN IN LETZTEN 12 STUNDEN

6. Wenn auf der Anzeige "SPIROMETRY BLOW NOW" steht, bitte tief einatmen und mit maximaler Kraft ausatmen, dabei ganz ausatmen! Wenn fertig "ENTR" drücken.

7. Versuch einmal wiederholen.

8. Auf der Rückseite dieses Blattes Ihren Versuch ankreuzen! Gerät schaltet von selbst aus.

>>>> Bei versehentlich falscher Eingabe "OFF" und wieder "ON" drücken und von vorn beginnen <<<<

Auf dieser Liste als Gedächtnisstütze bitte abhaken, wenn der Test durchgeführt wurde.

FAMNR |...|...|...|...|...|

		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
Tag 1 der .....	morgens	...	...	...	...	...	...
	abends	...	...	...	...	...	...
Tag 2 der .....		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
	morgens	...	...	...	...	...	...
Tag 3 der .....	abends	...	...	...	...	...	...
		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
Tag 4 der .....	morgens	...	...	...	...	...	...
	abends	...	...	...	...	...	...
Tag 5 der .....		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
	morgens	...	...	...	...	...	...
Tag 6 der .....	abends	...	...	...	...	...	...
		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
Tag 7 der .....	morgens	...	...	...	...	...	...
	abends	...	...	...	...	...	...

Tag 8 der .....		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
	morgens	...	...	...	...	...	...
Tag 9 der .....	abends	...	...	...	...	...	...
		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
Tag 10 der .....	morgens	...	...	...	...	...	...
	abends	...	...	...	...	...	...
Tag 11 der .....		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
	morgens	...	...	...	...	...	...
Tag 12 der .....	abends	...	...	...	...	...	...
		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
Tag 13 der .....	morgens	...	...	...	...	...	...
	abends	...	...	...	...	...	...
Tag 14 der .....		Vater	Mutter	1.Kind	2.Kind	3.Kind	4.Kind
	morgens	...	...	...	...	...	...
	abends	...	...	...	...	...	...

# Etikett

Familien-Studie Genetik von Asthma  
(c) GSF Forschungszentrum 089-3187-4565

## Peakflow-Protokoll

(mechanisch)

Familiennummer (FAMNR)

|...|...|...|...|...|

Bitte **jeden Tag morgens** nach dem Aufstehen und **abends** vor dem Zubettgehen den Atemtest machen. Immer vor Medikamenten/Sprays und Mahlzeiten messen. Dabei den besten von 3 Versuchen aufschreiben und angeben, ob in den letzten 12 Stunden Medikamente genommen oder Symptome aufgetreten sind.

	Pfeifen letzte Nacht	Husten letzte Nacht	Pfeifen heute	Nase verstoff/ läuft	Tabl. ja	Spray ja	Wert <b>morgens</b>	Wert <b>abends</b>
Muster	X	X				X	2 9 0	3 0 0
Tag 1	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 2	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 3	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 4	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 5	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 6	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 7	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 8	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 9	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 10	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 11	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 12	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 13	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...
Tag 14	...	...	...	...	...	...	... ... ...	... ... ...

## Lungenfunktions-Protokoll

L01 Untersuchungsdatum |...|...| . |...|...| . 19 |...|...|

L02 Familienname des/der Untersuchers/in.....  
*(Name bitte linksbündig in Druckbuchstaben eintragen)*

L03 Untersuchungsnummer (FBNR) des/der Proband/-in |...|...|...|...|...|

L04 Familiennummer (FAMNR) des/der Probanden/in |...|...|...|...|...|

L05 Grösse cm |...|...|...|

L06 Gewicht kg |...|...|...|

Haben Sie Medikamente in den letzten 48 Stunden eingenommen ja   
nein

Wenn ja, welche

L07AA/B vor |...|...| Std .....  
 L07BA/B vor |...|...| Std .....  
 L07CA/B vor |...|...| Std .....  
 L07DA/B vor |...|...| Std .....  
 L07EA/B vor |...|...| Std .....

*Jeweils ein Medikament pro Zeile*

### 1. Basale Lungenfunktion

**Kontraindikationen vorher abfragen:** akuter Infekt der oberen Luftwege, direkt vor der Untersuchung geraucht

Aus 2 reproduzierbaren (von maximal 5) den besten Versuch auswählen:

	FVC	FEV1.0	PEF	MEF75	MEF50	MEF25
	[ml]	[ml]	[ml/s]	[ml/s]	[ml/s]	[ml/s]
MUSTER	2000	1500	3000	2000	1000	1000
LO8A-G	... ... ...	... ... ...	... ... ... ...	... ... ... ...	... ... ...	... ... ...

## 2. Lungenfunktion nach Bronchoprovokation

**Kontraindikationen vorher abfragen:** A. pectoris / Infarkt letzte 3 Mo., sonst. therapierte Herzerkrankung, Epilepsie, Schwangerschaft / Stillperiode,  $\beta$ -Blockern, keine basale Lufu, Ruhedyspnoe, Ruhezyanose, FEV1.0 < 70% oder < 1.5 l (1.0 l), >10%-FEV1.0-Abfall NaCl.

**Abbruchgrenze:** 20% Abfall des FEV1 nach NaCl-Lösung!

	Lösung [mg/ml]	Farb- codierung	Zahl Lufu- Versuche	FEV1.0 [ml]
<i>jeweils 5 Atemzüge pro Stufe!</i>				
L09AA/B	0.00	weiß	...	... ... ... ...
<i>weiter bei Stufe "grün", falls kein Asthma bekannt</i>				
L09BA/B	0.156	gelb	...	... ... ... ...
L09CA/B	0.313	rosa	...	... ... ... ...
L09DA/B	0.625	grün	...	... ... ... ...
L09EA/B	1.25	blau	...	... ... ... ...
L09FA/B	2.50	violett	...	... ... ... ...
L09GA/B	5.00	rot	...	... ... ... ...
L09HA/B	10.00	braun	...	... ... ... ...
<i>auf letzter Stufe nur 3 Atemzüge, falls FEV1.0 &lt; 15%</i>				
L09IA/B	25.00	schwarz	...	... ... ... ...
L09J		PC-20		... ... ... ... ...
Vorzeitige Abbruchgründe der Provokation				
L10A		10% Abfall auf NaCl		
L10B		20% FEV1.0-Abfall vorzeitig erreicht		O
L10C		Erschöpfung/Konzentrationsprobleme		O
L10D		respiratorische Symptome		O
L10E		Proband will Abbruch		O
L10F		.....		O

## 3. Alternativ: Lungenfunktion nach primärer Bronchospasmyse

**Kontraindikationen vorher abfragen:** A. pectoris / Infarkt letzte 3 Mo., sonst. therapierte Herzerkrankung, Schwangerschaft / Stillperiode,  $\beta$ -Blockern

	FVC	FEV1.0	PEF	MEF75	MEF50	MFEF25
MUSTER	[ml]	[ml]	[ml/s]	[ml/s]	[ml/s]	[ml/s]
L11A-G	... ... ... ...	... ... ... ...	... ... ... ...	... ... ... ...	... ... ... ...	... ... ... ...

## Hausstaub-Protokoll

S01 Untersuchungsdatum	... ...  .  ... ...  . 19  ... ...
S02 Familienname des/der Untersuchers/in .....	
<i>(Name bitte linksbündig in Druckbuchstaben eintragen)</i>	
S03 Untersuchungsnummer (FBNR) des/der Proband/-in	... ... ... ... ...
S04 Familiennummer (FAMNR) des/der Probanden/in	... ... ... ... ...
Vor wieviel Tagen wurde die Fläche zuletzt gesaugt, beziehungsweise ausgeklopft?	
S05A	Wohnzimmer  ... ...
S05B	Matratze  ... ... ...
S06 Staubsauger Nummer?	... ...
S07A Wurden die Sammelbedingungen beim Saugen des Bodens eingehalten?	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
S07B Wenn nein, wieviel m <sup>2</sup> glatter Boden wurde abgesaugt?	... ...
S08A Wurden die Sammelbedingungen beim Saugen der Matratze eingehalten?	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
S08B Was wurde abgesaugt	Matratze <input type="radio"/> Aufleger aus Polyacryl oder Wolle <input type="radio"/> Aufleger aus Baumwolle <input type="radio"/> gefüllter Aufleger <input type="radio"/> allergendichte Auflage in Folienform <input type="radio"/>



# FAX-Versandprotokoll gsf Asthma Genetikstudie

Faxnummern:     *G.Fischer / Dr.M.Wjst*                     089-3187-3380  
                       *Prof.Dr.Weiß / Dr.M.Ulbrecht*             089-5203286  
                       *Prof.Dr.Albert / Fr.Koch*                 089-5328-141  
                       *Prof.Dr. Jäger / Dr.G.Schlehvoigt*       03641-635071.

**Paket-Absender:**

*Bitte schicken Sie dieses Protokoll gleichzeitig mit der Paketsendung per Fax ab!*

**Paket-Empfänger:**

*Wenn die Sendung nach 2 Tagen nicht eingetroffen ist, bitte den Absender informieren.  
 Ansonsten nach Eingang die Proben nachzählen, das Protokoll ganz unten unterschreiben  
 und per Fax zurückschicken.*

*Die Sendung enthält von (den) Familie(n) Nr*

Blutproben	... ... ...	Vollblut-Orig.	7,5 ml grau
	... ... ...	Vollblut-Aliq.	1,8 ml weiß
	... ... ...	Vollblut-Aliq.	1,8 ml gelb
	... ... ...	Vollblut-Aliq.	1,8 ml flieder
	... ... ...	Vollblut-Aliq.	1,8 ml orange
	... ... ...	Serum-Aliq.	1,8 ml blau
	... ... ...	Serum-Aliq.	1,8 ml pink
	... ... ...	Serum-Aliq.	1,8 ml grün
	... ... ...	Vollblut-Orig.	2,0 ml rot
	... ... ...	Blutausstriche	

Protokolle, FB	... ... ...	Interviewbögen "Proband"
	... ... ...	Interviewbögen "Familie"
	... ... ...	Blutentnahme / Ergebnisprotokolle
	... ... ...	Peakflow-Protokolle
	... ... ...	Pricktest-Protokolle
	... ... ...	Lungenfunktionsprotokolle

Sonstiges	... ... ...	Diskette mit Peakflow-Daten
	... ... ...	

**Rückbestätigung**             Die Sendung ist heute komplett eingetroffen:  
 des Empfängers

.....  
 Ort/Datum/Name

## Quittung über Probandenhonorar

Familie .....

Ich bestätige von .....

als Unkostenentschädigung ..... DM

für die Fahrtkosten erhalten zu haben.

.....  
Ort/Datum

.....  
Unterschrift

---

Familien-Studie zur Genetik von Asthma  
GSF Forschungszentrum 089-3187-4066

## Verpflichtung von Studienteilnehmern

Name

Ich bin heute von .....

über die Datenschutzbestimmungen und die Schweigepflicht innerhalb der Studie zur Genetik von Asthma aufgeklärt worden. Ich verpflichte mich, die Bestimmungen, wie sie in dem Untersucher-Handbuch aufgeführt sind, zu beachten. Mir ist bekannt, daß ich für eventuelle Verstöße gerichtlich belangt werden kann und für Schadenersatzforderungen aufkommen muß

.....  
Ort/Datum

.....  
Unterschrift

(Kliniks Briefkopf)

## Muster Anschreiben

Liebe Familie .....,

am ..... wurde Ihr Kind ..... aufgrund eines Asthma bronchiale in unserer Ambulanz vorgestellt, beziehungsweise ist in unserer Ambulanz in ärztlicher Betreuung. Wie Sie sicher aus eigener Erfahrung wissen, handelt es sich beim Asthma bronchiale um eine für Patienten und deren Familien teilweise sehr belastende Krankheit. Asthma ist eine häufige Erkrankung im Kindes- und Erwachsenenalter, ohne daß wir bisher die Ursache dieser Krankheit genau wissen.

Noch in diesem Jahr beginnt in Deutschland in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern aus den USA eine große Asthma-Studie. Hier werden mehrere hundert Familien genauestens untersucht, mit dem Ziel, die genetische Grundlage des Asthma bronchiale zu finden. Diese Untersuchungen ermöglichen es uns, die Erkrankung genau zu verstehen und damit besser therapieren, eines Tages vielleicht sogar heilen zu können.

Für diese Studie suchen wir in ..... Familien wie die Ihre, in denen zumindestens zwei Kinder an Asthma bronchiale leiden. Wenn Sie an einer Teilnahme interessiert sind, würde dies für jedes Familienmitglied folgende Untersuchungen beinhalten: eine Prüfung der Lungenfunktion sowie das Führen eines Peakflow-Protokoll über zwei Wochen, ein Haut-Allergietest und eine Blutentnahme. Weitere Einzelheiten finden Sie auf den beiliegenden Seiten.

Für Fahrtkosten bieten wir Ihnen als Entschädigung 50 DM pro untersuchtem Familienmitglied an, beziehungsweise wenn Sie von weiter her kommen ein zusätzliches Kilometergeld.

Bitte überlegen Sie gemeinsam mit Ihren Kindern, ob für Sie eine Mitarbeit in Frage kommt, wir würden uns darüber sehr freuen. Innerhalb der nächsten Wochen werden wir uns telefonisch mit Ihnen in Verbindung setzen, um Ihre Entscheidung zu erfahren und gegebenenfalls Details zu besprechen.

Mit freundlichen Grüßen

# Muster Informationsblatt

## **Studie zu Vererbung von Asthma**

Wie Sie sicher aus eigener Erfahrung wissen, handelt es sich beim Asthma um eine für die Patienten und deren Familien teilweise sehr belastende Krankheit. Asthma ist eine häufige Erkrankung im Kindes- und Erwachsenenalter, ohne daß wir bisher genau die Ursache dieser Krankheit wissen.

### **(1) Welche Ursachen von Asthma sind bisher bekannt?**

Man kennt viele Auslöser für Asthma-Anfälle: Erkältungen, bestimmte klimatische Veränderungen, Luftverschmutzung durch Zigarettenrauchen oder Abgase, Anstrengung, Pollenflug und Hausstaubmilben. Auch psychische Auslöser sind nicht zu unterschätzen. Alle diese Auslöser führen zu demselben Symptom: mehr oder weniger ausgeprägte Atemnot mit den typisch pfeifenden Geräuschen. Warum diese übermäßige Reaktion aber nur bei Asthmatikern auftritt und nicht bei anderen Menschen, ist nicht recht klar. Man vermutet im Augenblick am ehesten eine verstärkte Entzündungsreaktion in den Atemwegen, vor allem bei den Asthmatikern, die allergisch auf viele Stoffe sind.

### **(2) Was weiß man bisher über die Vererbung?**

Man weiß aus Familienuntersuchungen, daß Asthma in manchen Familien gehäuft auftritt. Allerdings ließ sich bisher keine Vererbung nach den klassischen Vererbungsregeln zeigen. Das hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß nur eine gewisse Bereitschaft zu Asthma veranlagt ist, die erst durch die Umwelteinflüsse zur eigentlichen Krankheit wird. So haben bei eineiige Zwillinge nur zu etwa 60% beide Zwillinge Asthma (obwohl es rein theoretisch 100% sein müßten, wenn nur die Vererbung daran schuld wäre).

### **(3) Was wird in dieser Studie untersucht?**

In Deutschland wird in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern aus den USA eine große Asthma-Studie durchgeführt. Hier werden mehrere hundert Familien untersucht, mit dem Ziel, die genetische Grundlage des Asthmas zu finden.

Fast jede Zelle in unserem Körper hat einen Zellkern. In diesem Zellkern ist die Erbsubstanz (DNA) gespeichert, welche alle die Funktionen der Zelle kontrolliert. Angeordnet ist diese

Information auf 46 einzelnen Strängen, den Chromosomen. Wir werden deshalb aus einigen Ihrer Blutzellen Erbinformation isolieren. Seit einigen Jahren weiß man, daß diese Chromosomen nicht nur Gene tragen, sondern noch viele weitere Eiweiss-Bausteine, deren Funktion unklar ist. Diese DNA-Abschnitte können als Genmarker benützt werden: die Reihenfolge der Eiweiss-Bausteine ist sehr variabel, d.h. jeder Mensch hat ein ziemlich einzigartiges Muster (wie ein Fingerabdruck). Wir vergleichen nun diese Fingerabdrücke von Asthmatikern mit denen Ihrer Angehörigen. Dabei interessieren uns vor allem Genmarker, die zusammen mit der Asthma-Krankheit vererbt werden. Wir werden deshalb in dieser Studie kein "Asthma-Gen" finden, sondern bestenfalls Marker, die in der Nähe eines Gens liegen und sich durch ihre Kopplung an Asthma verraten. Insgesamt werden dabei fast 800 Marker auf allen Chromosomen untersucht. Eine solche Untersuchung ist erst durch die Entdeckung von vielen DNA-Markern in den letzten Jahren möglich geworden und erst Computer mit großer Rechenleistung machen eine solche Studie möglich.

#### **(4) Warum ist gerade Ihre Teilnahme wichtig?**

In Ihrer Familie sind mindestens zwei Kinder an Asthma erkrankt. Wir vermuten deshalb, daß in Ihrer Familie ein besonders starker genetischer Faktor mit verantwortlich ist. Wir würden deshalb in Ihrer Familie untersuchen, ob es einen bestimmten Genmarker gibt, der mit Asthma zusammenhängt. Wenn das tatsächlich der Fall sein sollte, können später auch Familien mit dieser Methode untersucht werden, bei denen nur ein Kind an Asthma leidet. Und in noch viel weiterer Zukunft wird dann auch die Erforschung des oder der "Asthma-Gene" möglich.

#### **(5) Was für einen Sinn hat die Untersuchung?**

Diese Studie ermöglicht es uns, die Erkrankung genauer zu verstehen und damit besser zu behandeln, eines Tages vielleicht sogar heilen zu können.

(Kliniks Briefkopf)

# Muster Patienten-Aufklärung \*

- Erwachsene -

Ich, ..... bin heute von  
Frau/Herrn Dr. ....

über die vorgesehene Untersuchung zur genetischen Ursache von Asthma in einem Gespräch umfassend informiert worden. Diese Untersuchung dient nicht einer verbesserten Behandlung von mir oder meinen Familienmitgliedern, sondern der wissenschaftlichen Frage nach Vererbungsfaktoren von Asthma. Durch Untersuchungen dieser Art war es bei anderen Krankheiten wie Brustkrebs oder der Zuckerkrankheit möglich, wichtige Erkenntnisse über den erblichen Anteil zu gewinnen, was jetzt einer verbesserten Früherkennung und Behandlung dieser Krankheiten genutzt werden kann. Ähnlich ist das Ziel der vorliegenden Studie festgelegt. Für Ihre An- und Abreise in die Klinik wurde für Sie eine Versicherung bei dem Gerling Konzern, München, Versicherungsschein YG-22/30/11546/03, abgeschlossen. Die Obliegenheiten aus den Allgemeinen Versicherungsbedingungen können mir auf Wunsch ausgehändigt werden. Für die Untersuchung selbst verantwortlich sein wird

Frau/Herrn Dr. ....  
Assistenz- /Fach- /Ober- /Chefarzt/ärztin  
aus der Klinik .....

Ich bin damit einverstanden, daß alle meine Angaben und Untersuchungsergebnisse anonymisiert, das heißt ohne meinen vollen Namen, auf Rechenanlagen des Instituts für Epidemiologie (Prof.Dr.Dr.H.E.Wichmann), gsf, Neuherberg, des Instituts für medizinische Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München (Prof.Dr.A. Neiß), im Institut für Humangenetik (Mikrosatellitenzentrum, PD.Dr.A. Reisch) der Humboldt-Universität Berlin sowie des Instituts für Anthropologie und Humangenetik der LMU München (Prof.Dr.E.Weiß) gespeichert und ausgewertet werden. Alle schriftlichen Untersuchungsunterlagen werden verschlossen in dem Institut für Epidemiologie, der gsf, Neuherberg aufbewahrt. Es wird mir versichert, daß keine Angaben, die im Rahmen dieser Studie erhoben wurden, an Dritte insbesondere Versicherungen, Arbeitgeber, usw. weitergegeben werden.

Ich bin mit den einzelnen Untersuchungen einverstanden, wobei die gesamte Untersuchung etwa 2-3 Stunden dauern wird. Die Untersuchungen umfassen dabei einen Lungenfunktionstest mit Methacholin-Provokation, Allergie-Prick-Test auf der Haut und einer Blutentnahme. Hierbei handelt es sich um seit vielen Jahren erprobte Untersuchungsverfahren, die in dieser oder ähnlicher Form auch bei der Diagnostik von Asthma eingesetzt werden. Mit diesen

Untersuchungen sind die folgenden, allerdings nur selten auftretenden Risiken verbunden:  
Durch die Lungenfunktions-Untersuchung beziehungsweise das Einatmen eines Stoffes, der die Bronchien verengt (Methacholin), kann im ungünstigen Fall eine vorübergehende Atemwegsverengung ausgelöst werden. Diese Untersuchung wird daher nicht durchgeführt bei bereits bestehenden starken Asthmasymptomen, eine akute Infektion der oberen Atemwege, schwerer Herzerkrankung (z.B. Herzinfarkt in den letzten 3 Monaten) oder eine Epilepsie (Fallsucht). Ferner wird sie nicht während der Schwangerschaft oder Stillperiode durchgeführt. Während oder kurz nach dem Allergie-Hauttest kann es selten zu Unwohlsein, sehr seltenen auch zu einer ausgeprägten allergischen Reaktion mit Rötung und Juckreiz an der Teststelle kommen. Ausschlußkriterien für einen Allergietest ist eine bereits früher aufgetretene schwere allergische Reaktion (anaphylaktischer Schock) aber auch ein schweres Ekzem an beiden Unterarmen. Es ist vorgesehen, knapp 30 Milliliter Blut zu entnehmen. Das Risiko der Blutabnahme besteht vorwiegend in einer Infektion an der Blutentnahmestelle, vereinzelt auch mit leichtem Unwohlsein. Weitere Untersuchungen sind im Augenblick nicht vorgesehen.

Ich wurde darüber informiert, daß das entnommene Blut tiefgefroren im Institut für Epidemiologie der gsf aufbewahrt wird. Im Serum bestimmt werden zunächst verschiedene allergologische / immunologische Parameter. Aus den entnommenen Blutzellen wird Erbgut (DNA) isoliert und darauf etwa 800 verschiedene Gen-Marker auf allen Chromosomen bestimmt. Die Analyse erstreckt sich dabei auf mögliche genetische Faktoren des Asthma bronchiale und allergische Erkrankungen. Es wird ausgeschlossen, daß weitere molekulargenetische Untersuchungen mit anderen Fragestellungen erfolgen, denen ich nicht vorher zugestimmt habe. Über das Ergebnis dieser Untersuchung kann ich oder ein Arzt meines Vertrauens frühestens nach Studienende informiert werden. Wenn ich es wünsche, kann mir zusätzlich eine humangenetische Beratung im Institut für Humangenetik und Anthropologie, München, oder einem anderen genetischen Institut meiner Wahl vermittelt werden.

Auch über alle anderen Untersuchungsergebnisse kann ich, insbesondere bei positiven Befunden, von dem untersuchenden Arzt beraten werden. Ich bin damit einverstanden, daß eventuell weitere medizinische Befunde betreffend Asthma oder allergische Erkrankungen bei meinem Haus-/oder Kinderarzt eingeholt werden. Ich entbinde für diesen Zweck meinen Haus-/oder Kinderarzt von der Schweigepflicht.

Das Einverständnis zu dieser Untersuchung erstreckt sich auch auf meine minderjährigen Kinder:

.....  
.....  
.....  
.....

Dieses Formblatt habe ich genau durchgelesen und bin mit dem Inhalt einverstanden. Ich hatte ausreichend Zeit, mir diese Entscheidung zu überlegen.

Die Studienteilnahme kann jederzeit und ohne Angabe von Gründen unterbrochen werden, ohne daß sich für mich oder meine Familie irgendein Nachteil ergeben. Mir ist außerdem bekannt, daß ich auch später noch das Einverständnis zur Daten-/und Materialspeicherung jederzeit zurückziehen kann.

Eine Kopie dieser Aufklärung habe ich erhalten.

.....

Ort, Datum	Unterschrift Vater
	.....
	Unterschrift Mutter
	.....
	Unterschr. volljährige Kind
	.....
	Unterschr. volljährige Kind
	.....
	Unterschr. volljährige Kind
	.....
	Unterschr. volljährige Kind
	.....

***Bitte beachten Sie für den Untersuchungstag:***

- 24 Stunden vorher keine Tabletten einnehmen oder nur nach Rücksprache mit Ihrem Arzt***
- 6 Stunden vorher keine Sprays und keine Inhalationen***
- 6 Stunden vorher kein Kaffee und nicht rauchen***

\* Nicht Zutreffendes bitte streichen

(Kliniks Briefkopf)

# Muster Patienten-Aufklärung \*

- Kinder -

Name .....

Herr/Frau Dr. ....

hat mir heute die Untersuchung erklärt, bei der die Ursache von Asthma untersucht werden.  
Dazu müßte ich die folgenden Untersuchungen mitmachen:

- Blutentnahme aus dem Arm mit einer Spritze:

Aus dem Blut werden dann die Blutzellen herausgefischt und untersucht, ob die Zellen von Kindern mit Asthma anders zusammengesetzt sind.

- Allergietest auf dem anderen Arm:

Dabei werden verschiedenen Pflanzensäften auf den Arm getropft und dann die Haut ein bisschen angeritzt. Wenn nach einer Viertelstunde nichts passiert, ist man nicht allergisch. Wenn es aber einen roten Fleck gibt, hat man eine Allergie.

- Lungentest:

Bei dem Puste-Test wird gemessen, wie schnell ich die Luft ausatmen kann. Das wird dann noch ein zweites Mal nach einer Inhalation untersucht.

Alle Ergebnisse werden dann in einen Computer eingegeben und dann wird ausgewertet, wie Asthma von den Eltern auf die Kinder vererbt wird.

Alle diese Untersuchungen sind freiwillig, das heißt, es wird niemand dazu gezwungen. Ich habe mir überlegt, daß ich gerne bei dieser Untersuchung mit meinen Eltern und Geschwistern mitmachen möchte.

.....  
Ort, Datum

Unterschrift minderj. Kind

.....

Unterschr. minderjährige Kind

.....

Unterschr. minderjährige Kind

.....

Unterschr. minderjährige Kind

# Erfassungsformular

---

Familien-Studie zur Genetik von Asthma  
GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit  
Ingolstädter Landstr 1, 85758 Oberschleissheim  
Telefon 089-3187-4066, Fax -3380, (M.WJST)

---

Bitte zunächst hier die Namen von Familien notieren, die

1. mindestens zwei Kinder mit Asthma haben
2. beide Kinder dürfen nicht Frühgeborene vor der vollendeten 36. SSW gewesen sein  
bei Geburt unter 2.500 Gramm gewogen haben  
und nicht in den ersten 6 Lebensmonaten beatmet worden sein,
3. die Kinder sollten mindestens 6 und höchstens 18 Jahre alt sein.
4. die Familienmitglieder sollten alle deutsch sprechen.

*Name / Adresse / Telefon der Familien*

*Klinik .....*

(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

(6)

(7)