

실내환경 주요 호흡기 알레르기 항원 감작검사를 위한 피부단자 시험과 혈청 ELISA시험의 상관성에 대한 연구

허용 · 김형아*†

대구가톨릭대학교 자연대학 산업보건학과,

*가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실

(2008. 9. 19. 접수/2008. 10. 2. 수정/2008. 10. 17. 채택)

Correlation Between Skin Prick Test and Enzyme-linked Immunosorbent Assay Using Serum for Identification of Subjects Positive to Major Indoor Respiratory Allergens

Yong Heo · Hyoung Ah Kim*†

Catholic University of Daegu, College of Natural Sciences, Dept. Occupational Health, Kyongsan si 712-702, Korea

*Dept. Preventive Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea,

505 Banpo-dong, Seocho-gu, Seoul 137-701, Korea

(Received September 19, 2008/Revised October 2, 2008/Accepted October 17, 2008)

ABSTRACT

The indoor environment is an important source of exposure to various aeroallergens and pathogenic micro-organism. It has been shown that exposure to aeroallergens enhances the risk of indoor inhabitants developing asthma. Since the skin prick test, a typical clinical method for identification of subjects positive to allergens, can rarely cause fatal or non-fatal reactions in susceptible persons, an in vitro assay such as ELISA using serum has been considered for testing positivity against various allergens. We evaluated the validity of a serum ELISA kit for screening positive subjects to major aeroallergens including *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, cockroach, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, dog hair, cat fur, mugwort, and ragweed. The ELISA results were compared with the skin prick test results, and sensitivity, specificity, and overall accuracy were calculated to each allergen. Higher sensitivities were obtained from *D. farinae*, (77.8%) and *D. pteronyssinus* (69.2%), but sensitivities to *Aspergillus*, *Penicillium*, dog hair, cat fur, and ragweed were very low down to 0%. Specificity ranged from 88.7% (cat fur) to 100% (mugwort and ragweed). Overall the accuracy of the serum ELISA kit was relatively high, in that the lowest was 85.1% for cat fur and the highest was 98.6% for *Alternaria*, *Cladosporium*, and ragweed. Considering specificity and overall accuracy for the serum ELISA kit, it may be considered reliable. However, when the kit is used for screening purpose, positivity to aeroallergens should be carefully determined since sensitivity for the kit is low.

Keywords: indoor respiratory allergen, skin prick test, ELISA, validity

I. 서 론

산업화, 도시화가 심화되면서 인간은 더욱더 많은 시간을 실내환경에서 지내고 있다. 실내환경, 특히 공기는 다양한 화학적 혹은 생물학적 유해인자를 포함하고

있는데, 이러한 실내공기에 노출됨으로써 천식과 같은 알레르기성 호흡기 질환이 발생되기도 한다.^{1,2)} 우리나라의 경우 주로 병원에 내원한 사람들을 대상으로 한 연구 결과들로서 집먼지진드기, 애완동물들 관련 항원, 곰팡이, 바퀴벌레, 잡초 혹은 수목화분들이 주요 호흡기 알레르기 항원으로 지적되고 있다.^{3,5)} 이들 호흡기 알레르기 항원 중에서 집먼지진드기, 바퀴벌레, 개나 고양이에서 유래하는 항원, 곰팡이류 등은 대부분 실내환경에서 유래하여 유기분진형태로 노출됨으로써 호흡기

†Corresponding author : Dept. Preventive Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea
Tel: 82-2-590-1241, Fax: 82-2-532-3820
E-mail : kimha@catholic.ac.kr

알레르기성 질환을 포함한 각종 건강 장애를 직접적으로 유발하거나 악화시키는 것으로 알려져 있다. 반면, 각종 수목이나 화훼, 잡초에서 유래하는 화분 항원들은 주로 실외에서 노출되거나 외기가 실내로 유입됨으로써 노출되는 것으로 되어있다.^{6,7)}

천식과 같은 알레르기성 호흡기질환은 여러 가지 도구를 이용하여 진단되는데, 메타콜린기관지 유발 시험을 포함한 폐기능 검사, 임상증상 조사, 알레르기 항원에 대한 피부단자검사를 종합하여 확진하는 것이 통례이다. 특히 알레르기를 유발하는 항원을 검색하는 것은 원인물질 동정이라는 측면에서 중요하여 임상적 측면이든 혹은 연구차원에서든 이 목적을 위해 거의 대부분 피부단자검사(skin prick test)가 이용되고 있다. 피부단자검사는 여러 가지 알레르기 항원을 주로 등 부위에 직접 주입한 뒤 일정시간 후 나타나는 팽진의 크기를 판독하여 양성 판정을 하게 된다. 이 방법은 민감도와 특이도가 높은 반면 항원을 인체내에 직접 주입한다는 측면에서 침습성(invasive) 방법으로 지극히 일부 감수성자에 국한되기는 하지만 대상자 일부에서 아나필락시스반응을 초래할 가능성도 제기되고 있다.^{8,9)} 이에 본 피부단자검사를 대체 또는 보완할 수 있는 정확도가 높은 비침입성 알레르기 항원 특이 IgE 검출 시험법의 개발에 대한 요구도가 점증되고 있어 일부 개발사에서는 혈청을 이용한 알레르기 항원 특이 IgE 검출 kit를 개발 판매하고 있다.

본 연구에서는 실내환경에서 주로 유래하여 우리나라 사람들에게 호흡기 알레르기를 유발하는 빈도가 높은 11개 항원(*Dermatophagoides farinae* 집진드기, *Dermatophagoides pteronyssinus* 집진드기, 바퀴벌레, *Alternaria* 곰팡이, *Cladosporium* 곰팡이, *Aspergillus* 곰팡이, *Penicillium* 곰팡이, 개 및 고양이 털, 썩, 두드러기 썩)에 대한 피부단자검사 결과와 혈청을 이용한 해당 항원 특이 IgE 검사 결과를 비교하여 두 시험 결과 간 일치도를 평가하였다. 궁극적으로 본 연구는 시간·비용 측면에서 경제적이고, 시험과정 역시 피부단자검사에 비해 상대적으로 수월한 혈청내 알레르기 항원 특이 IgE 검출 kit를 이용한 알레르기 항원 양성 판정을 하였을 때 이 시험 결과를 피부단자검사에 비추어 어느 정도 신뢰할 수 있는지에 대한 정보를 제공할 것이다.

II. 연구방법

1. 연구 대상자

어린이집, 노인복지시설, 지하철 역사/고속버스터미

널, 대형 할인매장 등 다중이용시설에 근무하는 총 74명의 성인(남: 26명, 여: 48명)을 연구대상자로 하였다. 연구대상자들의 평균 연령은 34.6±10.6 세였다. 을지대학교 의과대학 연구윤리위원회로부터 체혈 및 피부단자검사 관련한 승인을 득하였다.

2. 피부단자검사

독일의 Bencard사(Munchen)로부터 피부단자검사를 위한 항원을 구입하여 전문의의 감독하에 표준지침에 의거 검사를 수행하였다.¹⁰⁾ 히스타민(1 mg/ml)을 양성 물질로 사용하였고 생리식염수를 음성 대조물질로 사용하였다. 사용된 실내 환경 노출 관련 항원은 총 11종으로 *Dermatophagoides farinae* 집진드기, *Dermatophagoides pteronyssinus* 집진드기, 바퀴벌레(German cockroach), *Alternaria* 곰팡이, *Cladosporium* 곰팡이, *Aspergillus* 곰팡이, *Penicillium* 곰팡이, 개 및 고양이 털, 썩(mugwort), 두드러기 썩(ragweed)으로 구성되었다. 검사 시행 15분 후 팽진의 장경과 단경을 측정하고 이 두 측정의 평균을 구한 다음, 히스타민 접촉에 의한 팽진의 장·단경 평균과 비교하여 이보다 크거나 같으면 해당 알레르기 항원에 대한 양성 반응으로 판정하였다.

3. 혈청내 알레르기 항원 특이 IgE 측정

독일의 한 회사에서 개발하여 시판하고 있는 혈청을 이용한 알레르기 항원 특이 IgE 측정 kit를 사용하였다. 피부단자검사서 사용한 항원들과 동일한 종류의 알레르기 항원 11종에 대한 특이 IgE 수준을 측정하여 class 2(특이 IgE 수준이 0.7 IU/ml) 이상인 경우를 양성으로 판정하였다. 본 시험을 위해 해당 알레르기 항원이 부착된 nitrocellulose-membrane에 혈청 250 µl를 떨어트리고 45분간 실온에서 회전 교반시킨 후 검출용 항체(biotinylated anti-human IgE antibody)를 점적하여 45분간 회전 교반시켰다. 이후 alkaline phosphate가 부착된 streptavidin을 떨어트리고 20분간 교반 후 bromochloroindoyl phosphate/nitro blue tetrazolium 발색단을 점적한 후 20분간 추가 교반하였다. 양성 반응 판정은 개발 회사에서 공급한 컴퓨터 프로그램을 이용하여 nitrocellulose-membrane을 판독한 후 이루어졌다.

4. 정확도 검증

혈청내 알레르기 항원 특이 IgE 측정 kit를 이용한 시험 결과의 정확도 평가를 위하여 피부단자검사에 대비한 민감도(sensitivity), 특이도(specificity), 그리고 이 두 지표를 종합한 정확도(overall accuracy)를 계산하였다.

Table 1. Positivity against eleven respiratory allergens by skin prick test or serum specific IgE detection assay

Allergen	Number of subjects			
	Skin prick test (+)/ serum IgE test (+)	Skin prick test (+) only	Serum IgE test (+) only	Skin prick test (-)/ serum IgE test (-)
<i>Dermatophagoides farinae</i>	21	6	3	44
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	18	8	3	45
German cockroach	2	4	1	67
<i>Alternaria</i>	0	0	1	73
<i>Cladosporium</i>	0	0	1	73
<i>Aspergillus</i>	0	1	3	70
<i>Penicillium</i>	0	1	4	69
Cat fur	0	3	8	63
Dog hair	0	7	1	66
Mugwort	4	3	0	67
Ragweed	0	1	0	73

III. 결과 및 고찰

전체 74명의 검사대상자 중에서 피부단자검사 결과 북아메리카 집진드기인 *D. farinae*에 27명이 양성 반응을 보였고, 다음으로 유럽집진드기인 *D. pteronyssinus*에 26명이 양성반응을 보여 두 항원 각각 35% 이상으로 가장 높은 양성률을 보였다(Table 1). 비록 74명의 일반 성인을 대상으로 한 것이지만 이 결과는 알레르기 질환으로 병원에 내원한 사람들을 대상으로 한 피부단자검사 결과에서도 위의 두 가지 진드기 항원 감작률이 가장 높았던 점에 비추어보면 우리나라에서 진드기가 가장 중요한 호흡기 알레르기 항원이라는 점을 다시금 인식케 한다.^{3,5)} 개 털(9.5%)과 바퀴벌레(8.1%)와 같은 실내환경에서 기원하는 항원과 실외 환경에서 유래하는 썩(9.5%)이 다음으로 빈도가 높은 알레르기 항원이었다. 반면, 곰팡이류 항원에 대해서는 단지 2명만이 양성 반응을 보여 낮은 양성률을 나타냈다. 한편, 혈청내 알레르기 항원 특이 IgE 측정 kit를 이용한 시험 결과에서는 피부단자검사 결과와 동일하게 집진드기에 대한 양성반응이 가장 높았다. 그러나 피부감작검사 결과와는 다르게 곰팡이류 항원 및 고양이 털에 대한 양성 반응자가 각각 9명(12.2%), 8명(10.8%)으로 다른 항원에 비해 높았다.

동일한 항원에 대해 피부단자검사와 혈청내 알레르기 항원 특이 IgE 측정 검사를 동시에 실시하여 알레르기 항원 노출 진단에 대한 적합성을 검토한 경우는 별로 많지 않는데, 땅콩 항원, 라텍스 항원 등 식품 알레르기 또는 피부 알레르기 항원에 대한 연구 결과가 보고 되어 있다.^{11,12)} 이처럼 혈청을 이용한 *in vitro* 시험법을

개발하려는 궁극적인 이유는 피부단자검사에 의해 초래될지 모르는 부작용 발생의 위험을 예방하기 위함이다. 미국의 경우 1990년부터 2001년까지 면역치료 혹은 검사 목적으로 알레르기 항원의 피하주사를 시행한 경우 2,500,000 주사 당 1건의 치명적인 부작용(상부, 하부 호흡기도 폐쇄, 쇼크, 저혈압 발생 등)이 발생하였다고 보고한 바 있다.^{8,13)} 특히 이러한 부작용이 천식 등 호흡기 알레르기 질환이 있는 사람에게서 대부분 발생하였다는 점은 피부단자 시험 전에 사전 병력 청취의 중요성을 역설하고 있다. 이러한 사실을 배경으로 현재 임상에서 일부 활용하고 있는 혈청을 이용한 알레르기 항원 특이 IgE kit의 피부단자검사결과에 대비한 상대적인 정확도를 평가하였다. 정확도의 두 요소인 민감도와 특이도 및 이 두 지표치를 종합한 정확도를 계산하였다(Table 2). 민감도는 피부단자검사 양성자 중에서 혈청검사에서도 동일한 항원에 양성인 사람의 백분율이며, 특이도는 피부단자검사 음성자중에서 혈청검사에서 음성인 사람의 백분율을 의미한다. 정확도는 전체 연구대상자 중에서 피부단자검사와 혈청검사에서 동일한 항원에 모두 양성인 사람과 모두 음성인 사람의 백분율을 의미한다. 혈청 알레르기 항원 특이 IgE 측정 kit의 민감도는 북아메리카 집진드기 항원 77.8%, 유럽 집진드기 69.2%, 썩 57.1%, 바퀴벌레 33.3%, *Aspergillus* 및 *Penicillium* 곰팡이, 개 또는 고양이 털, 두드러기 썩의 경우는 0%로 낮았다. 반면, 특이도는 가장 낮은 고양이 털 항원의 88.7%에서부터 썩 및 두드러기 썩의 100%까지 민감도에 비해 아주 높았다. 전체적으로, 피부단자검사를 통하여 우리나라에서 높은 호흡기 알레르기 감작률을 보이고 있는 것으로 알려

Table 2. Validity of serum specific IgE detection assay against skin prick test

Allergen	Percentage		
	Sensitivity*	Specificity**	Overall accuracy [‡]
<i>Dermatophagoides farinae</i>	77.8	93.6	87.8
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	69.2	93.8	85.1
German cockroach	33.3	98.5	93.2
<i>Alternaria</i>	NC*	98.6	98.6
<i>Cladosporium</i>	NC	98.6	98.6
<i>Aspergillus</i>	0.0	95.9	94.6
<i>Penicillium</i>	0.0	94.5	93.2
Cat fur	0.0	88.7	85.1
Dog hair	0.0	98.5	89.2
Mugwort	57.1	100.0	95.9
Ragweed	0.0	100.0	98.6

*sensitivity = [number of subjects positive to both skin prick test and serum IgE test/total number of subjects positive to skin prick test]×100

**specificity = [number of subjects negative to both skin prick test and serum IgE test/total number of subjects negative to skin prick test]×100

‡overall accuracy = [number of subjects positive to both skin prick test and serum IgE test+number of subjects negative to both skin prick test and serum IgE test/total number tested]×100

*NC: not calculated since denominator is zero

진 항원(예를 들면 북아메리카 집진드기, 유럽 집진드기)에^{3-5,14)} 대해서는 민감도가 높았으나 낮은 감작률을 보이고 있는 항원에 대해서는 민감도가 저하된 것으로 판단된다. 민감도와 특이도를 종합한 정확도는 고양이 털 85.1%에서부터 *Alternaria*, *Cladosporium* 곰팡이, 두드러기 썩의 98.6%에 이르기까지 높은 수준(평균: 92.8%)을 보였다. 민감도, 특이도, 정확도에 있어서 남녀간 유의한 차이는 발견되지 않았다. 이 혈청 알레르기 항원 특이 IgE 측정 kit를 개발한 독일 회사에서 제공하는 정보에 의하면 피부단자검사에 대한 민감도 95.1%, 특이도 80.2%, 정확도는 88.3%로 우리나라 사람을 대상으로 한 본 연구 결과에 비해 특이도와 정확도는 다소 낮았지만 민감도는 매우 높았다. 본 연구에서 피부단자검사는 전문의가 국제적인 표준지침에 따른 검사를 수행하여 양성 판정을 하였고 혈청 특이 IgE 검사 역시 개발사에서 공급하고 있는 컴퓨터 프로그램에 의한 양성 반응 판정 결과를 사용하였기에 양성 판정 기준의 차이에 기인하여 민감도가 특히 낮았던 것으로는 보여지지 않는다. 물론 검사대상에 있어서 인종적인 차이라는 변수는 있지만 중요하게 의미를 부여할 것은 아니라고 보며, 본 연구에서는 74명이 대상이었던 반면 독일 개발사에서는 225명을 대상으로 혈청 특이 IgE 검사 kit의 정확도를 평가하였던 점을 고려하면 검사 대상자수의 크기가 민감도 수준에 일부 영향을 미쳤을 가능성은 있다. 이미 지속적으로 수행되었

던 피부단자검사 결과에서 우리나라에서 높은 호흡기 알레르기 항원 양성반응을 보이고 있는 항원에 대해서는 본 혈청검사에 따른 민감도가 높았던 점을 고려하면 호흡기 알레르기 항원 감작률이 민감도 수준에 영향을 미쳤을 가능성은 완전히 배제할 수 없다고 본다.¹⁵⁾ 추후 검사대상자수를 늘려 본 혈청 특이 IgE 측정 kit의 정확도를 재차 평가한 후에 최종 결론을 도출하는 것이 바람직할 것으로 여겨진다. 또한 본 연구에서 민감도가 낮았던 항원(곰팡이류, 개나 고양이 털 항원 등)에 대하여 피부감작검사에서 양성을 보였던 사람들 다수를 대상으로 본 혈청검사의 정확도를 평가해보는 것도 검사대상자 수가 제한적이었던 본 연구의 단점을 보완할 수 있는 방법으로 고려할 수 있을 것이다. 본 연구는 또한 현재 국내에서 사용하고 있는 다양한 알레르기 항원에 대한 감작 여부를 혈청을 이용하여 진단하는 kit가 모두 외국에서 개발된 점을 고려하면 다른 회사의 kit 역시 이를 국내에서 집단검진 혹은 역학 연구 등에 이용하려는 경우에는 사전에 본 연구와 같은 혈청검사 kit의 정확도에 대한 평가가 선행될 필요성을 제시하고 있다.

IV. 결 론

본 연구는 실내환경에서 주로 유래하여 우리나라 사람들에게 호흡기 알레르기를 유발하는 빈도가 높은 11

개 항원에 대한 피부단자검사 결과와 혈청을 이용한 해당 항원 특이 IgE 수준 측정 결과를 비교하여 혈청 특이 IgE 검사법의 정확도를 평가하였다. 주요 결과는 다음과 같다.

1. 11종의 호흡기 알레르기항원 (*Dermatophagoides farinae* 북아메리카 집진드기, *Dermatophagoides pteronyssinus* 유럽 집진드기, 바퀴벌레, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* 곰팡이, 개 및 고양이 털, 쉼, 두드러기 쉼에 대한 혈청을 이용한 알레르기 항원 특이 IgE 검사의 피부단자검사 결과에 대비한 민감도는 북아메리카 집진드기 항원과 유럽 집진드기 항원에서는 각각 77.8%, 69.2%로 비교적 높았으나, *Aspergillus* 및 *Penicillium* 곰팡이, 개 또는 고양이 털, 두드러기 쉼의 경우는 0%였다. 특이도는 매우 높아 고양이 털 항원에서 가장 낮은 88.7%였고 쉼 및 두드러기 쉼의 경우는 100%였다.

2. 혈청 특이 IgE 검사의 정확도는 고양이털 85.1%에서부터 *Alternaria*, *Cladosporium* 곰팡이, 두드러기 쉼의 98.6%에 이르기까지 높은 수준으로 11종 항원에 대한 평균이 92.8%였다. 혈청 특이 IgE 검사법이 특이도, 정확도에서는 높은 수준을 보였다 하더라도 민감도 수준이 낮았던 점을 고려하면 본 검사를 집단검진 혹은 역학조사 등에 채용하려는 경우 혈청 특이 IgE 검사 결과 음성 판정에 대해서는 높은 신뢰성을 부여하는 반면 양성 판정에 대해서는 피부단자검사를 추가로 시행하여 확진하는 것이 바람직하리라 본다.

감사의 글

피부단자검사를 수행해주신 을지대학교 의과대학 김상훈 교수에게 감사드립니다. 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R01-2004-000-10427-1)지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Yu, S-D., Yoo, S-E., Lee, M-J., Choi, W-H., Kim D-S., Lee, C-H. and Park, Y-J.: Pulmonary function and its influence factors of elementary school children in Gangneung. *J. Env. Health Sci.*, **34**(1), 20-26, 2008.
2. Park, J-B., Kim, K-Y., Jang G-Y., Kim C-N. and Lee, K-J. : Size distribution and concentration of airborne fungi in the public facilities. *J. Env. Health Sci.*, **32**(1), 36-45, 2006.
3. Park, H-W., Kim, S-H., Kim S-H., Chang, Y-H., Chung, H., Lee, B-J., Kim, Y-K., Cho, S-H., Min, K-U. and Kim, Y-Y. : Changes of atopy prevalence among asthmatics visiting tertiary referral hospital (1983, 1990, 1997). *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, **20**(1), 99-105, 2000.
4. Kim, S-H., Lee, J-Y., Son, S-W., Chang, Y-S., Jung J-W., Kim, Y-K., Cho, S-H., Min, K-U. and Kim, Y-Y. : Prevalence of adult asthma based on questionnaires and methacholine bronchial provocation test in Seoul. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, **21**(4), 618-627, 2001.
5. Kim, K-H., Kim, K-T., Lee, S-K., Park, H-S., Lee Y-M., Nahm, D-H., Son, C-H., Yang, D-K., Roh, M-S., Choi, P-J., Lee, J-H., Kim K-N. and Lee K-N. : Sensitization rates for inhalant allergens in patients with respiratory allergy in Busan. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, **25**(1), 59-63, 2005.
6. Richardson, G., Eick, S. and Jones, R. : How is the indoor environment related to asthma?: literature review. *J. Adv. Nursing*, **52**, 328-339, 2005.
7. D'Amato, G. : urban air pollution and plant-derived respiratory allergy. *Clin. Exp. Allergy*, **30**, 628-636, 2000.
8. Berstein, D.I., Wanner, M., Borish, L. and Liss, G.M.: Twelve-year survey of fatal reactions to allergen injections and skin testing: 1999-2001. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **113**, 1129-1136, 2004.
9. Park, H-S., Heo, Y-J., Byun, J-A. and Heo, Y. : Immunotoxicological evaluation of pollen intake using mice model. *J. Env. Health Sci.*, **31**(4), 287-293, 2005.
10. Aas, K. and Belin, L. : Standardization of diagnostic work in allergy. *Acta Allergol* **27**, 439-444, 1972.
11. Roberts, G. and Lack, G. : Diagnosing peanut allergy with skin prick test and specific IgE testing. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **115**, 1291-1296, 2005.
12. Blanco, C., Carrillo, T., Ortega, N., Alvarez, M., Dominguez, C. and Castillo, R. : Comparison of skin prick test and specific serum IgE determination for the diagnosis of latex allergy. *Clin. Exp. Allergy*, **28**, 971-976, 1998.
13. Simons, F.E.R., Frew, A.J., Anstegui, I.J., Bochner, B.S., Golden, D.B.K., Finkelman, F.D., Leung, D.Y.M., Lotvall, J., Marone, G., Metcalfe, D.D., Muller, U., Rosenwasser, L.J., Sampson, H.A., Schwartz, L.B., van Hage, M. and Walls, A.F. : Risk assessment in anaphylaxis: current and future approaches. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **120**, S2-S24, 2007.
14. Kim, M-K. and Oh, S-W. : Change of causative inhalant allergens in respiratory allergic patients in Chungbuk district. *Korean J. Asthma Allergy Clin. Immunol.*, **19**(5), 696-702, 1999.
15. Principles of epidemiology: Jung Soon Kim. Sin Kwang Publishing, 116-124, 2000.