

Metody ilościowej oceny przeciwciał IgE stosowane w alergologii *

Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases *

JOHN W. YUNGER ^{1/}, STAFFAN AHLSTEDT ^{3,4/}, PEYTON A. EGGLESTON ^{5/}, HENRY A. HOMBURGER ^{2/}, HAROLD S. NELSON ^{6/}, DENNIS R. OWNBY ^{7/}, THOMAS A. E. PLATTS-MILLS ^{8/}, HUGH A. SAMPSON ^{9/}, SCOTT H. SICHERER ^{9/}, ALLAN M. WEINSTEIN ^{10/}, BROCK WILLIAMS ^{11/}, ROBERT A. WOOD ^{5/}, ROBERT S. ZEIGER ^{12/}

^{1/} Allergic Diseases Research Laboratory, Mayo Clinic and Foundation, Rochester, Minn

^{2/} Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic and Foundation, Rochester, Minn

^{3/} Department of Clinical Immunology, University of Göteborg, Göteborg, Sweden

^{4/} Pharmacia and Upjohn Diagnostics, Kalamazoo, Mich.

^{5/} Department of Pediatrics, Johns Hopkins University, Baltimore, Md

^{6/} National Jewish Medical and Research Center, Denver, Colo

^{7/} Section of Allergy-Immunology, Medical College of Georgia, Augusta, Ga

^{8/} Division of Asthma, Allergy, and Immunology, Department of Medicine, University of Virginia Health Sciences Center, Charlottesville, Va

^{9/} Jaffe Food Allergy Institute, Mt Sinai School of Medicine, New York, NY

^{10/} Georgetown University School of Medicine, Washington, DC

^{11/} IBT Reference Laboratory, University of Missouri-Kansas City School of Medicine, Lenexa, Kan

^{12/} Department of Allergy, Southern California Permanente Medical Group, San Diego, Calif.

Artykuł jest podsumowaniem dyskusji prowadzonej podczas konferencji „Aspekty ilościowych oznaczeń przeciwciał IgE w chorobach alergicznych” sponsorowanej przez Pharmacia Upjohn, Arlington, Va, 17 marca 1999.

Reprinted from: **J. Allergy Clin. Immunol 2000; 105: 1077-84**

Testy immunologiczne (immunotesty) służące do wykrywania obecności swoistych przeciwciał klasy IgE zostały unowocześnione w ciągu ostatnich kilku lat w sposób pozwalający na przedstawienie uzyskanych wyników w jednostkach masy. Tak więc, ilościowe oznaczanie miana swoistych przeciwciał IgE może być uzupełnieniem testów skórnych. W przypadkach alergii pokarmowej u dzieci z atopowym zapaleniem skóry graniczne poziomy przeciwciał IgE dla mleka, jaj, orzeszków arachidowych i ryb zostały ustalone w sposób pozwalający na uzyskanie 95% wartości predykcji dodatniej i 90% wartości predykcji ujemnej. Określenie poziomu swoistych przeciwciał IgE przeciwko antygenom pokarmowym może być także przydatne dla przewidywania, które alergię pokarmowe ustępują samoistnie. Podwyższony poziom swoistych przeciwciał przeciwko antygenom jaja u niemowląt wiąże się z istotnie podwyższonym ryzykiem alergii na antygeny wziewne w późniejszym dzieciństwie. W przypadkach alergii wziewnej wykazano także ścisłą korelację między poziomami swoistych przeciwciał IgE a wynikami prowokacji

u osób uczulonych na antygeny kota. Także poziom przeciwciał IgE przeciwko roztoczom kurzu domowego koreluje istotnie ze stężeniem antygenów roztoczy w rezerwuarach kurzu w mieszkaniach osób uczulonych. Metody ilościowej oceny poziomu swoistych przeciwciał IgE mogą być wykorzystywane do dokumentacji rozwoju uczulenia w czasie i do oceny ryzyka wystąpienia reakcji na ekspozycję na alergen. Jednakże testy immunologiczne *in vitro* (immunotesty) i testy skórne nie mogą być traktowane jako całkowicie zamienne i w określonych okolicznościach jeden nie może zastąpić drugiego.

Słowa kluczowe: przeciwciała IgE, ilościowe immunotesty, choroby alergiczne

Key words: IgE antibody, quantitative immunoassay, allergic disease

* Opublikowano w J. Allergy Clin. Immunol 2000; 105: 1077-84 i przedrukowano za pozwoleniem i dzięki uprzejmości Mosby, Inc.

* Reprinted from J. Allergy Clin. Immunol 2000; 105: 1077-84 with kind permission of Mosby, Inc.

Stosowane skróty:

FDA	–	US Food and Drug Administration Amerykańska Agencja Żywności i Leków
kU/L	–	kilojednostki na litr
kUA/L	–	kilojednostki antygenu na litr
PPV*	–	wartość predykcji dodatniej
NPV**	–	wartość predykcji ujemnej

Od czasu odkrycia przed ponad 30 laty immunoglobulin IgE, a następnie opracowania immunotestów dla swoistych przeciwciał IgE, pojawiło się wiele kontrowersji. Początkowe dyskusje koncentrowały się na porównaniu czułości i swoistości immunotestów z testami skórnymi, a także na ocenie różnych metod przedstawiania wyników. W szczególności, ciągłym problemem jest ustalenie wartości granicznej między prawidłowym i podwyższonym poziomem IgE. W ostatnich latach immunotesty zostały udoskonalone pod wieloma względami: oryginalną metodę radioimmunologiczną ze znakowanymi enzymatycznie przeciwciałami poliklonalnymi zastąpiono metodą enzymatyczną ze znakowanymi enzymatycznie przeciwciałami monoklonalnymi; rozwinięto systemy, w których antygen połączony jest ze stałym podłożem (*solid phase*) zwiększając możliwości wiązania alergenu; wprowadzono testy, w których alergen znajduje się w fazie ciekłej, a z fazą stałą wiąże się dopiero po związaniu się z przeciwciałami IgE rozpuszczonymi również w fazie ciekłej. Jakkolwiek starsze testy są nadal używane, nowe immunotesty pozwalają na ilościową ocenę poziomu przeciwciał IgE w jednostkach masy, choć znaczenie kliniczne takich oznaczeń ilościowych pozostaje przedmiotem badań. Artykuł stanowi podsumowanie prac dotyczących technicznych i klinicznych zalet udoskonalonych immunotestów.

OZNACZANIE POZIOMU PRZECIWCIAŁ IgE W JEDNOSTKACH MASY

Opis immunotestów

Antygenowo swoiste przeciwciała IgE są oceniane w obecności innych przeciwciał o tym samym izotypie oraz swoistych dla badanego alergenu przeciwciał o innych izotypach. Wymaga to swoistego rozpoznania w tym

samym teście miejsc wiążących alergen (Fab) i epitopów specyficznych izotypowo (Fc). W związku z tym wszystkie testy zawierają fazę stałą dla oddzielenia związanych i niezwiązanych przeciwciał IgE. Stosowany w testach materiał źródłowy alergenu musi być dobrze określony, a najważniejsze antygeny nie powinny być utracone w procesie produkcji; pozwala to na uzyskanie dokładnych i powtarzalnych wyników w badaniach klinicznych.

Oznaczenie, w którym antygeny główne (*major*) i mniejsze (*minor*) dodawane są w nadmiarze prowadzi do maksymalnego wiązania przeciwciał IgE. Powoduje to trudniejsze hamowanie przez przeciwciała kompetycyjne o innych izotypach. Stwarza to również warunki dla ilościowej oceny sumy wszystkich związanych przeciwciał w oparciu o ich swoistość, w sposób niezależny od powinowactwa. Działanie prawa masy zastosowanego do analizy heterogennych immunotestów wykorzystujących fazę stałą pozwala przewidzieć, że kiedy stężenie następnego alergenu wzrasta do poziomu, przy którym 90% przeciwciał IgE w surowicy jest związanych z fazą stałą, test staje się w zasadzie niezależny od powinowactwa między przeciwciałem IgE i jego epitopem [2].

Przeciwciała anti-IgE powinny być swoiste dla fragmentu Fc-IgE. W immunotestach pierwszej generacji stosowano przeciwciała poliklonalne oczyszczone chromatograficznie, natomiast w nowszych testach stosowana jest mieszanina przeciwciał poliklonalnych i monoklonalnych, o wzajemnie uzupełniającym się zakresie krzywej dawka – odpowiedź dla różnych stężeń alergenu. Zapewnia to większą precyzję testu w czasie pomiaru. Ilościowe immunotesty do oznaczania poziomu swoistych przeciwciał IgE wymagają uwzględnienia krzywej standardowej. Wzorce stosowane do przygotowania krzywej wzorcowej do oznaczenia poziomu swoistych i całkowitych przeciwciał IgE powinny być zgodne z dokumentem WHO „*International Reference Preparation for Human IgE, 75/502*”. Obecność w nadmiarze antygenu fazy stałej, mającego zdolność ilościowego wiązania IgE w zakresie całego szeregu stężeń pozwala na wykazanie równoległości między różnymi próbkami i krzywą wzorcową, nawet powyżej tego zakresu [3,4]. Przykład oznaczenia poziomu całkowitych i swoistych przeciwciał IgE w seryjnie

OD REDAKCJI

* PPV – wartość predykcji dodatniej oznacza przewidywane prawdopodobieństwo rozwoju choroby w oparciu o dodatni wynik ocenianego testu diagnostycznego; obliczana jest wg wzoru

$$PPV = TP \times P / [TP \times P + FP \times (1-P)]$$

gdzie TP (true positive) – liczba wyników prawdziwie dodatnich

FP (false positive) – liczba wyników fałszywie dodatnich

P (prevalence) – stosunek liczby osób z wywiadem dodatnim do ogólnej liczby badanych

** NPV – wartość predykcji ujemnej oznacza przewidywane prawdopodobieństwo braku rozwoju choroby w oparciu o ujemny wynik ocenianego testu diagnostycznego

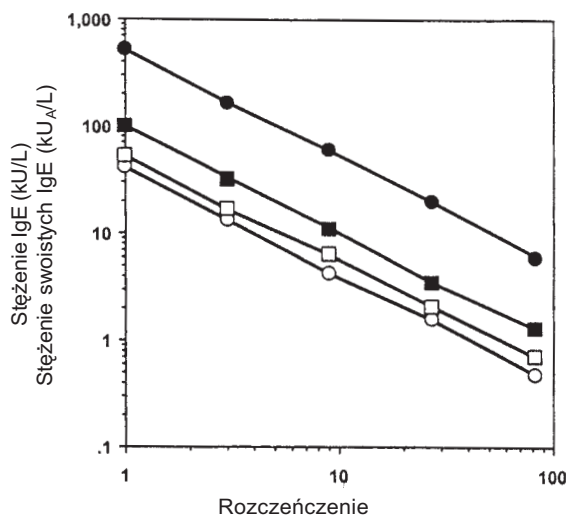
$$NPV = TN \times (1-P) / [TN \times (1-P) + FN \times P]$$

gdzie TN (true negative) – liczba wyników prawdziwie ujemnych

FN (false negative) – liczba wyników fałszywie ujemnych

P (prevalence) – jw

rozcieńczonych próbkach obrazuje ryc. 1 [5]. W modelowych doświadczeniach potwierdzono, że jednostki alergonowo swoistych przeciwciał IgE (kU_A/L) odpowiadają międzynarodowym jednostkom (kU_A/L) dla białek IgE [5].



Ryc. 1. Równoległość rozcieńczeń badanej próbki i wzorca dla całkowitej (pełne symbole) i swoistych alergonowo IgE (puste symbole) w serii 3-krotnych rozcieńczeń dwóch surowic (kwadraty, koła), zawierających różne ilości przeciwciał IgE swoistych dla pyłków brzozy

Ocena ilościowa i kontrola poziomu przeciwciał IgE: zapewnienie i kontrola jakości testów

Zapewnienie i kontrola jakości obejmują wszystkie te oznaczenia, których uwzględnienie gwarantuje właściwe wykonanie testu. Gwarancja jakości ze strony producentów zawiera opis wszystkich faz produkcji, umożliwiającą sprawdzenie, czy odczynniki są przygotowane zgodnie z procedurą. Przed wydaniem licencji, *US Food and Drug Administration* (FDA) wymaga spełnienia tych warunków.

Producenci ekstraktów alergonowych mają stosunkowo proste wymagania dla zapewnienia jakości, ponieważ ekstrakty te traktowane są raczej jako produkty biologiczne, a nie narzędzia testujące. W ciągu minionego dziesięciolecia w USA wystandaryzowanych zostało szereg najczęściej używanych alergenów, w tym ekstrakty roztoczy kurzu domowego, jadów owadów błonkoskrzydłych, naskórka i sierści kotów, pyłków chwastów (*short ragweed pollen*) i wielu pyłków traw. Standaryzowane ekstrakty zawierają określoną ilość głównych alergenów lub są oznaczane w jednostkach korelujących z ich aktywnością biologiczną. Ponadto wymagana jest sterylność ekstraktów alergonowych i oznaczenie terminów ważności, zarówno w odniesieniu do daty produkcji alergenu, jak i zastosowanego rozpuszczalnika.

Urządzenia do oznaczeń poziomu IgE podlegają różnym uregulowaniom, obejmującym gwarancję bezpieczeń-

stwa. Producentów obowiązuje kalibracja aparatury, charakterystyka odczynników alergonowych, udokumentowanie ich swoistości, ocena powtarzalności wewnątrz i międzytestowej oraz podanie tych informacji przy każdej nowo wyprodukowanej partii produktu.

Uzyskana została znacząca poprawa w przeprowadzaniu testów na obecność przeciwciał IgE przez laboratoria kliniczne. Oprócz opisanych powyżej udoskonaleń systemów oceny oraz technologii stosowanej w laboratoriach klinicznych, wiele uwagi poświęcono samym laboratoriom. Wymogi dla laboratoriów klinicznych *The Clinical Laboratory Improvement Amendments* z 1988 roku ustanawiają standardy dla wszystkich laboratoriów wykonujących testy kliniczne [6]. Standardy te obejmują wymagania dla wyszkolonego personelu nadzorującego i wykonującego oznaczenia, przechowywania dokumentacji i konserwacji urządzeń, codziennych procedur kontroli jakości, zapisów wyników, kontroli i akredytacji laboratorium. Dodatkowo, szczegółowe zalecenia rekomendacyjne dotyczące wykonywania testów na obecność IgE opisane zostały w ostatniej publikacji Narodowego Komitetu Standardów dla Laboratoriów Klinicznych (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) [7]. Zalecenia te obejmują procedury kontroli jakości dla codziennie wykonywanych oznaczeń w warunkach laboratorium klinicznego oraz minimalne kryteria, które muszą spełniać immunotesty dla IgE. Na przykład, współczynnik zmienności między testami oznaczeń przeciwciał IgE nie powinien przekraczać 15%. Laboratoria kliniczne są również zachęcane do uczestniczenia w międzylaboratoryjnych programach kontroli jakości wykonywanych oznaczeń. Programy takie są udostępniane przez niektórych producentów odczynników używanych do wykonywania oznaczeń [8] i przez niezależnych dostawców, takich jak Towarzystwo Amerykańskich Patologów (*College of American Pathologists*). Kontrola jakości stanowi gwarancję dokładności wyników uzyskiwanych w laboratoriach klinicznych. Wyniki te umożliwiają także laboratoriom ocenę własnych oznaczeń oraz różnych komercyjnie dostępnych systemów i technologii. W badaniach oceniających jakość ilościowych oznaczeń poziomu przeciwciał IgE wykazano, że międzylaboratoryjny współczynnik zmienności wyników oznaczeń przeprowadzonych dla surowic zawierających IgE skierowanych przeciwko kilku często występującym alergenom wynosił poniżej 15% dla wielu (choć nie wszystkich) laboratoriów klinicznych [9]. Testy uwierzytelniające nie zostały jednak przeprowadzone ze wszystkimi dostępnymi alergenami. Klinicyści powinni zwracać uwagę na wykonanie oznaczeń we własnych laboratoriach, a także zapytać kierownika laboratorium o typ stosowanej procedury i jej zachowanie się w testach kontroli jakości.

Prościowe oznaczenia poziomu przeciwciał IgE w przewidywaniu rozwoju chorób atopowych

Prawidłowa identyfikacja niemowląt z wysokim ryzykiem wystąpienia atopii ma ogromne znaczenie w podejmowanych działaniach prewencyjnych, ponieważ okresem krytycznym jest wczesny okres okołoporodowy, w którym u dzieci z genetycznymi uwarunkowaniami atopii istnieje zwiększone ryzyko rozwoju uczulenia. Niestety, nie istnieje dzisiaj żaden prenatalny wskaźnik o wystarczająco dużej wartości predykcyjnej dla wykorzystania w praktycznym skryningu niemowląt. Podwyższony poziom IgE we krwi pępowinowej może być użyteczny dla identyfikacji dzieci wysokiego ryzyka w badaniach naukowych [10]. Alternatywnie, dzieci wysokiego ryzyka mogą być wyodrębnione dla celów prewencji alergii, po pojawieniu się markerów atopii, takich jak swoiste prze-

ciwiała IgE przeciwko alergenom pokarmowym lub wziewnym.

W testach skryningowych istotna jest łatwość ich wykonania i dokładność. Częstość występowania markerów atopii w badanej populacji wpływa na czułość testu, maleje wraz z obniżeniem występowania danej cechy w populacji. Ważny jest również czas pojawienia się markera (w tym wypadku dodatniego testu); im moment ten jest wcześniejszy tym większe prawdopodobieństwo, że test ten będzie miał znaczenie kliniczne.

Za marker rozwoju chorób atopowych uznawane jest pojawienie się we wczesnym dzieciństwie alergii na białko jaja kurzego. Wykazano, że pojawienie się swoistych IgE skierowanych przeciwko białku jaja kurzego ($\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$) do 8 miesiąca życia (częstość występowania 9%) w nieselekcjonowanej grupie 86 szwedzkich

Tabela I. Możliwości przewidywania rozwoju uczulenia na alergeny wziewne oraz wystąpienia alergicznego nieżyty nosa i astmy oskrzelowej w wieku 3-7 lat w oparciu o obecność uczulenia na pokarmy w wieku niemowlęcym i we wczesnym dzieciństwie; badania w grupach nieselekcjonowanych i w grupach wysokiego ryzyka

Badanie	Kohorta	Czynnik ryzyka (częstość występowania %)	Wynik (częstość występowania %)	Czułość (%)	Swoistość (%)	PPV* (%)	NPV** (%)	Istotność statystyczna
Hattevig i wsp. [11]	nieselekcjonowana; dziewczynki (n=86)	sIgE przeciwko białku jaja kurzego $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$ (9%) w 8 mies. ż.	sIgE przeciwko antygenom wziewnym (11%) w 7 r. ż.	56	96	63	95	P<.001
			atopia (15%) w 7 r. ż.	50	97	70	92	P<.001
Nickel i wsp. [12]	nieselekcjonowana (n = 434)	sIgE przeciwko białku jaja kurzego $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$ (10%) w 1 r.ż.	sIgE przeciwko alergenom środowiskowym IgE $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$ (10%) w 7 r. ż.	20	93	36	93	P<.001
Zeiger i Heller [13]	wysokiego ryzyka (n = 165)	<i>prick</i> testy z alergenami jaja (16%) ≤ 1 r.ż.	<i>prick</i> testy z alergenami wziewnymi (45%) w 7 r. ż.	24	92	72	58	P<.001
			alergiczny nieżyt nosa (39%) w 7 r. ż.	28	93	72	65	P<.001
			astma (31%) w 7 r. ż.	24	88	48	72	P<.046
Burr i wsp. [14]	wysokiego ryzyka (n = 427)	<i>prick</i> testy z alergenami jaja (7%) w 6 mies. ż.	<i>prick</i> testy z roztoczymi (19%) w 7 r. ż.	20	96	48	83	P<.001
Kulig i wsp. [15]	nieselekcjonowana (n = 165)	sIgE przeciwko alergenom pokarmowym (jaja, mleko, mąka pszenna, soja) $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$ (14%) w 1 r. ż.	IgE przeciwko roztoczom $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$ (30%) w 5 r. ż.	35	94	71	77	P<.001
Kulig i wsp. [16]	Nieselekcjonowana (n=459)	przetrwale przeciwciała sIgE przeciwko alergenom pokarmowym $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$ (10%) poniżej 2 lat	alergiczny nieżyt nosa (18%) w 5 r. ż.	24	93	44	93	P<.001
			astma (9%) w 5 r. ż.	40	93	36	94	P<.001

* PPV – wartość predykcji dodatniej

** NPV – wartość predykcji ujemnej

sIgE – swoiste przeciwciała IgE

dziewczynek pozwoliło z 50% czułością, 97% swoistością i 70% prawdopodobieństwem PPV przewidzieć atopię w 7 roku życia, co było lepszym czynnikiem prognostycznym niż podwyższony poziom IgE we krwi pepownej w tej samej kohorcie (tabela I) [11]. Podobnie, dodatni wynik testu punktowego z owalbuminą w wieku 6 miesięcy (charakteryzujący się 40% czułością i 95% swoistością) wskazuje na zwiększone ryzyko rozwoju chorób atopowych w wieku 18 miesięcy [17]. Podwyższenie poziomu swoistych IgE skierowanych przeciwko białku jaja kurzego ($\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$) przed ukończeniem 1 roku życia w dobranej losowo kohorcie noworodków związane było ze znacząco zwiększoną częstością uczuleń na alergeny domowe i środowiskowe w wieku 3 lat (tabela I) [12]. Zwiększenie granicznego poziomu swoistych przeciwciał IgE przeciwko białkom jaja do wartości powyżej $\geq 2 \text{ kU}_A/\text{L}$ zwiększyło do 75% wartość predykcji dodatniej, chociaż obniżyło czułość testu do ok. 15%. Jednakże, zaledwie u 3% dzieci z badanej grupy poziom swoistych przeciwciał IgE skierowanych przeciwko białkom jaja wynosił $\geq 2 \text{ kU}_A/\text{L}$, w porównaniu z 10% dzieci, u których poziom ten był $\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$.

Badając noworodki z grup wysokiego ryzyka Burr i wsp. [14] oraz Zeiger i Heller [13] stwierdzili, że dodatni wynik testu punktowego (*prick*) na obecność swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko białkom jaja kurzego w 1 roku życia (częstość 7% i 15%, odpowiednio w pierwszym i drugim badaniu) miał umiarkowaną wartość predykcji dodatniej (48%) (PPV) w stosunku do rozwoju uczulenia na roztocza kurzu domowego (48%) i wysoką (79%) w stosunku do rozwoju uczulenia na alergeny wziewne, zarówno domowe, jak i środowiskowe oraz wystąpienia alergicznego nieżyty nosa lub astmy oskrzelowej. Niestety, czułość tych testów była wyjątkowo niska (20%-30%), jakkolwiek ich swoistość była wysoka (> 90%). Częstość występowania alergicznego nieżyty nosa i uczulenia na alergeny wziewne była co najmniej dwukrotnie wyższa u niemowląt wysokiego ryzyka z dodatnim testem skórnym na białka jaja kurzego [13,14].

Podwyższone stężenie swoistych przeciwciał IgE ($\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$) przeciw jednemu z czterech badanych alergenów pokarmowych (jaja, mleko, soja czy pszenica) w 1 roku życia (14% dzieci w kohorcie 165 noworodków) wskazywało, przy wysokiej swoistości i niskiej czułości testu, na wysokie prawdopodobieństwo (PPV) wystąpienia uczulenia na alergeny wziewne w wieku 5 lat ($P < 0,001$) (tabela I) [15]. Utrzymujący się przewlekłe podwyższony poziom przeciwciał swoistych IgE przeciwko alergenom pokarmowym ($\geq 0,35 \text{ kU}_A/\text{L}$) do końca 2 roku życia wskazuje na znamienne wyższe ryzyko wystąpienia alergicznego nieżyty nosa i astmy u tych dzieci w wieku 5 lat ($P < 0,001$) (tabela I) [16]. Jednakże, badania przesiewowe w wieku 2 lat, wykonane celem wykrycia przewle-

kłego uczulenia na alergeny pokarmowe, opóźniają identyfikację dzieci wysokiego ryzyka i odraczają w czasie rozpoczęcie działań prewencyjnych.

Meta-analiza badań epidemiologicznych pozwala na ilościową ocenę zmiennych czynników ryzyka wystąpienia astmy. Palenie tytoniu przez rodziców, karmienie pierśią krócej niż 3 miesiące i zbyt niskie spożycie ryb (diety zawierającej kwasy omega-3) są czynnikami ryzyka rozwoju astmy, zwiększając je odpowiednio: 1,3, 1,5 i 1,7 razy [18]. Natomiast uczulenie na roztocza kurzu domowego obecne we wczesnym niemowlęctwie, wiąże się z 3,4 i 19,7-krotnym wzrostem ryzyka astmy, odpowiednio dla niskiego i wysokiego stężenia alergenów [18]. Tak więc, potwierdza to zasadność zmniejszania stężenia alergenów roztoczy w otoczeniu, w celu efektywnego zapobiegania rozwojowi astmy oskrzelowej. Ostatnie badania, w których istotnie zredukowano ekspozycję na roztocza poprzez zastosowanie zabezpieczeń fizycznych (pokrowce przeciwalergiczne, zamieszkanie na dużej wysokości) wskazują na znaczący efekt takich działań w odniesieniu do zapobiegania uczuleniom na alergeny roztoczy [19], zmniejszenia dolegliwości u osób już uczulonych na roztocza [20], oraz obniżenia stężenia swoistych IgE przeciwko roztoczom u tych osób [21,22]. Te zachęcające wyniki powinny zostać potwierdzone w szerszych, wieloośrodkowych badaniach. Potwierdzenie skuteczności unikania kontaktu z roztoczami dla supresji produkcji swoistych IgE przeciwko roztoczom mogłoby uzasadnić identyfikację dzieci wysokiego ryzyka i podjęcie drugo- i trzeciorzędowej prewencji alergii.

Ilościowa ocena IgE w alergii pokarmowej

Wcześniejsze badania sugerowały, że testy ilościowe dla swoistych IgE przeciwko alergenom pokarmowym mogą być pomocne w ustaleniu istotności klinicznej uczulenia oraz śledzeniu rozwoju tolerancji u tych pacjentów na przestrzeni czasu [23,24]. W kolejnych badaniach Sampson i Ho [25] zbadali 196 dzieci i młodzieży (średnia wieku 5,2 lat, 60% chłopców) z atopowym zapaleniem skóry, randomizowanych z próbki 300 pacjentów z alergią pokarmową ocenianych na przestrzeni okresu 10 lat. Przechowywane surowice badano na obecność swoistych przeciwciał IgE przeciwko pokarmom będącym powszechnie przyczyną alergii u dzieci, w tym alergeny jaja, mleka, orzeszków ziemnych, soi, mąki pszennej i ryb. Alergię pokarmową rozpoznawano na podstawie podwójnie ślepej, kontrolowanej *placebo* doustnej próby prowokacyjnej z pokarmem lub przekonującego wywiadu odnośnie reakcji anafilaktycznych w przeszłości. Częstość występowania swoistych alergii pokarmowych w grupie wynosiła od 22% dla mąki pszennej do 73% dla jaj. Wyniki punktowych testów skórných (wynik dodatni testu – bąbel $\leq 3 \text{ mm}$ od kontroli negatywnej) i ilościowego

Tabela II. Wartości predykcyjne (PPV* i NPV**) stężeń swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom pokarmowym w przewidywaniu wyniku reakcji na testy prowokacji doustnej u dzieci i młodzieży z atopowym zapaleniem skóry [25]

	>95% PPV*	>90% PPV	>95% NPV**	>90% NPV
jaja	6	2	—	0,6
mleko	32	23	0,8	1,0
orzeszki ziemne	15	9	najlepsze NPV = 85% dla < 0,35 kU _A /L	
ryby	20	9,5	0,9	5
soja	najlepsze PPV = 50% dla 65 kU _A /L		2	5
mąka pszenna	najlepsze PPV = 75% dla 100 kU _A /L		5	79

Nie było związku między poziomem przeciwciała IgE a ciężkością przebiegu reakcji

* PPV – wartość predykcji dodatniej

** NPV – wartość predykcji ujemnej

immunotestu (test dodatni $\geq 0,35$ kU_A/L) (jaja, mleko, orzeszki ziemne, ryby) były porównywalne, wykazując doskonałą czułość i dokładność przewidywania wyniku ujemnego (*negative predictive accuracy*), lecz słabą swoistość i dokładność przewidywania wyniku dodatniego (*positive predictive accuracy*) próby prowokacyjnej. Ustalono zostały, co przedstawia tab. II, diagnostyczne stężenia przeciwciał IgE swoistych dla alergenów pokarmowych pozwalające na osiągnięcie odpowiednio 95%

wartości predykcji dodatniej (PPV) oraz 90% wartości predykcji ujemnej (NPV). Nasze doświadczenie wskazuje, że zastosowanie tych poziomów granicznych jako punktów decyzyjnych dla doustnych prowokacji pokarmowych może zmniejszać potrzebę ich wykonywania o ok. 50%. Słaba zdolność przewidywania wyniku dla soi i mąki pszennej są najprawdopodobniej spowodowane reakcjami krzyżowymi białek między tymi pokarmami a odpowiednio orzeszkami ziemnymi (dla soi) i pyłkami traw (dla mąki).

Crespo i wsp. [26] także badali przydatność ilościowej oceny poziomu przeciwciał IgE w przewidywaniu reakcji natychmiastowych na białko jaja. Czterdzieścioro dzieci z natychmiastową reakcją na białko jaja kurzego, ale bez cech atopowego zapalenia skóry, było prowokowanych doustnie alergenami jaja po 2,5 roku eliminacji tego pokarmu z diety. Wyniki prowokacji doustnej korelowały ze stężeniem swoistych przeciwciał IgE przeciwko jajku, w okresie wykonywania prowokacji. Współczynniki prawdopodobieństwa wystąpienia dodatniego wyniku prowokacji (poziom swoistych IgE przeciwko białku jaja kurzego $\geq 0,35$, 0,70 i 1,20 kU_A/L) wynosiły odpowiednio 2,2, 3,0 i 6,3. W badaniu dzieci z natychmiastowymi odpowiedziami w wywiadzie na orzeszki ziemne, orzechy włoskie czy australijskie, u dzieci, u których aktualnie obserwowano reakcję natychmiastową, stężenia swoistych przeciwciał IgE były znamienne wyższe niż u dzieci, które tolerowały przyjmowanie tych pokarmów [27].

Monitorowanie stężenia swoistych przeciwciał IgE przeciwko pokarmom, takim, jak mleko, jaja, soja i mąka

Tabela III. Porównanie efektywności różnych testów diagnostycznych w rozpoznawaniu astmy związanej z uczuleniem na alergen kota

Test diagnostyczny	Czułość (%)	Swoistość (%)	PPV (%)*	NPV (%)**	Skuteczność (%)
<i>Prick</i> testy					
FEV ₁	96,9 (± 3,8)	80,9 (± 8,6)	78,5 (± 9,0)	97,4 (± 3,5)	87,5 (± 7,2)
każdy +	79,2 (± 8,9)	90,6 (± 6,4)	92,6 (± 5,7)	74,3 (± 9,6)	83,4 (± 8,2)
Testy śródskórne (głębokie i powierzchniowe)					
FEV ₁	0	31,6 (± 14,6)	0	92,3 (± 8,4)	30,8 (± 14,5)
każdy +	60,0 (± 15,3)	31,0 (± 14,5)	23,1 (± 13,2)	69,2 (± 14,5)	38,5 (± 15,3)
Test na obecność swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom kota					
FEV ₁	90,9 (± 6,6)	84,1 (± 8,3)	74,1 (± 9,9)	94,9 (± 5,0)	86,4 (± 7,1)
każdy +	69,2 (± 10,5)	100	100	72,7 (± 10,1)	83,1 (± 8,5)

Czułość, swoistość, PPV, NPV i skuteczność punktowych testów skórnych, testów śródskórnych i poziomu swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom kota są przedstawione w odniesieniu do maksymalnego spadku w FEV₁ i każdego dodatniego wyniku testu prowokacji (każdy +) z 95% przedziałem ufności wskazanym w nawiasach.

* PPV – wartość predykcji dodatniej

** NPV – wartość predykcji ujemnej

jest obiecujące w ocenie skuteczności eliminacji tych produktów z diety i przewidywaniu rozwoju klinicznej tolerancji. Całkowite wykluczenie z diety pokarmów wywołujących uczulenie może dawać poprawę objawów u dzieci z atopowym zapaleniem skóry [28]. Eliminacja jaj z diety u osób uczulonych (z atopowym zapaleniem skóry) wiązała się ze zmniejszeniem nasilenia objawów skórnych i obniżeniem poziomu swoistych przeciwciał IgE [29]; gdy pokarm nie był eliminowany z diety nie obserwowano spadku swoistych IgE. W końcu, u dzieci z potwierdzoną alergią na mleko, które „wyrastały” z uczulenia na mleko stwierdzano niższe poziomy swoistych przeciwciał IgE niż u tych, u których reaktywność utrzymywała się do późnego dzieciństwa (średnia 4 vs. 78 kU_A/L) [30].

Ilościowa ocena poziomu przeciwciał IgE w alergii na antygeny wziewne

Podobnie, jak ilościowa ocena poziomu swoistych IgE może być stosowana w monitorowaniu diet eliminacyjnych u osób z alergią pokarmową, poziom swoistych IgE skierowanych przeciwko niektórym alergenom wziewnym może być stosowany w kontroli warunków środowiskowych u osób z alergią wziewną. Obserwacje te potwierdzają trzy rodzaje dowodów: pomiary te są dokładnymi markerami uczulenia alergicznego, poziom swoistych IgE jest zależny od ekspozycji na alergen, unikanie kontaktu z alergenem może prowadzić do zmniejszenia poziomu swoistych IgE.

Po pierwsze – jest jasnym, że ilościowy poziom swoistych IgE w odpowiedzi na alergeny wziewne jest dokładnym wskaźnikiem indywidualnego uczulenia pacjenta. W ostatnich badaniach Wooda i wsp. [31] wykazano, że w diagnostyce klinicznych uczuleń na alergeny kota, wartość pomiaru poziomu swoistych IgE przeciwko tym alergenom jest równoważna wartości punktowych testów skórnych i wyższa niż testów śródskórnych (tabela III). U wszystkich osób z podwyższonym poziomem przeciwciał IgE stwierdzono co najmniej jeden dodatni wynik prowokacji w porównaniu z jedynie 12 na 44 osób, u których poziom swoistych IgE przeciwko alergenom kota był niemierzalny. Ponadto, podwyższonych poziomów IgE przeciwko alergenom kota nie obserwowano u żadnego pacjenta z ujemnym wynikiem punktowych testów skórnych, włączywszy tych z dodatnim wynikiem testu śródskórnego. Analiza danych w aspekcie jakiegokolwiek dodatniego wyniku prowokacji wykazała dla testu swoistych IgE czułość równą 69%, swoistość równą 100%, wartość predykcji dodatniej – 100% oraz wartość predykcji ujemnej – 73%.

Po drugie – przynajmniej w aspekcie uczulenia na roztocza kurzu domowego wykazano, że poziom swoistych IgE może być stosowany zarówno jako marker aktualnej ekspozycji na alergen, jak i uczulenia. W badaniach 40 osób,

uczulonych na roztocza kurzu domowego, De Lovinfosse i wsp. [32] stwierdzili silną korelację między stężeniem swoistych przeciwciał IgE a stężeniem alergenów kurzu domowego w materacach ($P=0,001$). U pacjentów ze stężeniem swoistych IgE powyżej 2kU_A/L prawdopodobieństwo narażenia na wysoki poziom alergenów roztoczy (>10μg/g kurzu) wynosiło 77%, natomiast u osób, u których stężenie swoistych IgE było niższe niż 2kU_A/L stwierdzono 77% prawdopodobieństwo narażenia na alergeny roztoczy w stężeniu <10μg/g kurzu. Wyniki te są szczególnie istotne, ponieważ mogą one pozwolić klinicyście nie tylko na identyfikację pacjentów uczulonych, lecz również tych, którzy szczególnie wymagają redukcji alergenów w środowisku.

Po trzecie – wiele badań wykazało spadek stężeń alergenowo-swoistych IgE po wprowadzeniu postępowania mającego na celu unikanie kontaktu z alergenem. Na przykład średnie stężenie swoistych IgE skierowanych przeciwko *Dermatophagoides pteronyssinus* obniżyło się ze 117kU_A/L do 89kU_A/L u 18 dzieci z uczuleniem na roztocza kurzu domowego po 3 miesiącach przebywania w wolnych od roztoczy (<2μg antygeny/g kurzu) pomieszczeniach szkolnych we włoskich Alpach [21].

Taki wynik wyraźnie potwierdza korzyści wynikające ze stosowania pomiaru poziomu przeciwciał IgE przeciwko powszechnie występującym alergenom wziewnym i silnie sugeruje porównywalną czułość punktowych testów skórnych i ilościowych immunotestów. Dla innych alergenów zależność ta może być bardziej złożona, a w odniesieniu do niektórych grzybów nawet zupełnie inna. Generalnie, trudno jest ustalić, czy objawy u danego pacjenta są swoiście związane z danym grzybem (np. *Alternaria*), jakkolwiek wykazano, że testy skórne i ocena swoistych przeciwciał IgE są pomocne w przewidywaniu tych objawów [33,34]. Dla innych grzybów zależność pomiędzy ekstraktami stosowanymi w testach skórnych, a tymi, wykorzystywanymi w immunotestach jest słabiej określona. Różnice te mogą być ilościowe lub jakościowe [35]. Potrzebne są zatem dalsze badania nad alergenami grzybów i poprawą standaryzacji metod stosowanych w rozpoznawaniu alergii na grzyby.

Specyficzne zastosowanie testów oceny ilościowej IgE w innych układach alergenowych

Jak przedstawiono wyżej, ilościowa informacja o poziomie swoistych przeciwciał IgE w stosunku do alergenów pokarmowych może redukować potrzebę wykonywania dodatkowych testów takich, jak prowokacja pokarmowa. Pozostaje natomiast do ustalenia, czy ilościowa ocena alergenowo-swoistych IgE może poprawić postępowanie w odniesieniu do alergii na lateks gumy naturalnej, jad owadów błonkoskrzydłych, leków lub innych alergenów.

W kilku ostatnich badaniach oceniana była przydatność ilościowej oceny swoistych przeciwciał IgE w alergii na lateks. U osób z rozszczepem kręgosłupa (*spina bifida*), stanowiących grupę ryzyka alergii na lateks, Bernardini i wsp. [36] stwierdzili, że stężenia swoistych IgE $> 3,5$ kU/L miały istotną wartość w przewidywaniu wystąpienia objawowego uczulenia na lateks. Czy zatem w przypadku narażeń zawodowych oznaczenie poziomu swoistych IgE może być stosowane jako wskaźnik efektywnej redukcji kontaktu z alergenami? Hamilton i Brown [37] przedstawili wyniki badań u 11 anestezjologów, którzy ograniczyli kontakt z alergenem bezpośrednio po rozpoznaniu alergii na lateks. Po 15 miesiącach działań prewencyjnych średni poziom swoistych przeciwciał IgE w stosunku do lateksu obniżył się u tych osób z $2,8 \pm 0,8$ kU_A/L do $2,1 \pm 0,9$ kU_A/L ($P < 0,1$, test Spearmana). Badania te sugerują, że poziom swoistych IgE może obniżyć się wraz z odpowiednim unikaniem kontaktu z alergenem. Potrzeba jednak znacznie więcej danych, zanim monitorowanie poziomu swoistych IgE zostanie zalecone w rutynowej praktyce klinicznej.

W badaniach alergii na jady owadów błonkoskrzydłych [38] i w mniejszym stopniu uczulenia na antybiotyki β -laktamowe [39] wysoce czuła ocena *in vitro* swoistych IgE miała zbliżoną czułość i swoistość do punktowych testów skórnych. Istotne byłoby zbadanie, czy ilościowa ocena swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom owadów i lekom, ma wartość predykcyjną w odniesieniu do wystąpienia alergii objawowej na każdy z tych alergenów.

CZY TESTY SKÓRNE I ILOŚCIOWA OCENA PRZECIWCIAŁ IgE MOGĄ BYĆ STOSOWANE ZAMIENNIE?

Testy skórne są oryginalną i nadal w Stanach Zjednoczonych najszerszej stosowaną metodą oceny obecności przeciwciał IgE. Reakcja skóry na wprowadzenie ekstraktu alergenów jest tylko częściowo uzależniona od poziomu swoistych przeciwciał. W badaniach epidemiologicznych wykazano bowiem, że osobnicza reakcja skóry na histaminę silnie wpływa na wynik testów skórnych [40].

Wykazano, że na odpowiedź skóry na alergen wpływa wiele zmiennych, w tym pora roku, pora dnia oraz powierzchnia skóry, na którą zakładany jest test. Wpływ większości z nich jest niewielki i wpływa na wyniki jedynie wtedy, gdy reaktywność skóry jest niska.

Innym czynnikiem wpływającym na wynik testu skórniego, niezależnym od poziomu swoistych IgE w organizmie, jest stosowanie leków o działaniu przeciwhistaminowym, włączając wiele preparatów przeciwdepresyjnych. Na wynik testów skórnych mogą wpływać narzędzia stosowane do ich wykonywania, które stwarzają możliwość wprowadzenia różnych ilości ekstraktu do skóry [41]. Różnice w wynikach testów skórnych, mogą być

uzależnione od jakości użytego do badań ekstraktu alergenowego; ten sam problem dotyczy immunoesejów oceniających poziom swoistych IgE.

Względna czułość testu skórniego różni się znacznie między metodą testowania naskórkową i śródskórną. Jeśli celem testu skórniego ma być wykrycie uczulenia IgE-zależnego, istotnym jest porównanie obu tych metod. Wykazano, że testy skórne typu *prick*, z zastosowaniem dobrej jakości ekstraktu alergenowego, mogą wypadać dodatnio u wielu osób nie wykazujących klinicznych objawów uczulenia [42,43]. W wielu badaniach wykazano również, że u osób z ujemnym wynikiem punktowych testów skórnych wynik testów śródskórnych nie koreluje ze stanem klinicznym pacjenta [31,44,45].

W badaniach, w których punktowe testy skórne akceptowane są jako złoty standard, testy *in vitro* cechowały się mniejszą czułością. Mieściła się ona w przedziale od 74% [46] do 92,2% [43]. W ostatnim z cytowanych badań czułość ta była większa (95,1%) u osób z uczuleniem objawowym w porównaniu z 88,7% czułością u osób bez objawów klinicznych, ale z dodatnim wynikiem testu punktowego. Kliniczne znaczenie obecności przeciwciał IgE, stwierdzone zarówno w punktowym teście skórny, jak i immunoteście, musi być określone przez lekarza przeprowadzającego badanie podmiotowe i przedmiotowe danego pacjenta.

Jeśli w ocenie diagnostycznej czułość immunotestów oceniających poziom swoistych IgE jest zbliżona do czułości testów punktowych to czy alergiczne testy skórne stają się przestarzałe? Oczywiście nie, co więcej prawdopodobnie ze względu na wygodę i koszty będą nadal dominujące. Przykładowo, wyniki alergicznych testów skórnych są dostępne natychmiast, a koszt ich wykonania jest niewielki. Ich zaletą jest również możliwość udowodnienia reakcji skórnej pacjentom, którzy mają wątpliwości odnośnie postawionej diagnozy (np. w przypadkach uczulenia na alergeny zwierząt domowych). Z drugiej strony, dla osób nieszkolonych w zakresie wykonywania alergicznych testów skórnych oraz dla osób chcących wykonywać badania porównawcze na przestrzeni czasu, ilościowe immunotesty mają zdecydowaną przewagę. Wydaje się jednak, że istnieje jedno pole, na którym oba podejścia diagnostyczne nie są zamiennie. Chociaż w odpowiedzi na immunoterapię swoistą dochodzi początkowo do podwyższenia swoistych IgE, z następnym stopniowym ich spadkiem [47], to odczynowość skórna w testach punktowych spada gwałtownie w momencie dojścia do dawki podtrzymującej [48]. Spadek reakcji skórnej ma dużą wartość predykcyjną w odniesieniu do uzyskania trwałej remisji choroby po przerwaniu immunoterapii swoistej [49]. Tak więc, pomiary swoistych IgE *in vitro* i *in vivo* nie są całkowicie zamiennie i w szczególnych warunkach jeden test nie jest w stanie zastąpić drugiego.

Piśmiennictwo

- Paganelli R, Ansotegui IJ, Sastre J i wsp. Specific IgE antibodies in the diagnosis of atopic disease: clinical evaluation of a new *in vitro* test system, UniCAP, in six European allergy clinics. *Allergy* 1998; 53: 763-768.
- Petennan JH. Immunochemical considerations in the analysis of data from non-competitive solid-phase immunoassays. w: Butler JE, editor. *Immunochemistry of solid-phase immunoassay*. Boca Raton: CRC Press 1991: 47-65.
- Costongs GMPJ, Janson PCW, Hermans WJTA i wsp. Evaluation of performance characteristics of automated measurement systems for allergy testing. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33: 295-305.
- Brunnee T, Seeberger A, Kleine-Tebbe J, Kunkel G. Comparison between two automated systems to determine specific IgE: CAP and ELItest. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1420-1427.
- Lindqvist A, Maaninen E, Zimmerman K i wsp. Quantitative measurement of allergen specific IgE antibodies applied in a new immunoassay system, UniCAP. w: Basomba A, Hernandez F, de Rojas MD, editors. *Proceedings of the XVI European Congress of Allergology and Clinical Immunology ECACT'95*. Bologna: Monduzzi Editore 1995: 195-200.
- Clinical laboratory improvement amendment of 1988: final rule. *Fed Reg* 1992; 57: 7002-7288.
- Review criteria for the assessment of allergen-specific immunoglobulin E (IgE) *in vitro* diagnostic devices using immunological methods. Washington (DC): Public Health Service, Division of Clinical Laboratory Devices, Office of Device Evaluation: 1-18.
- Liappis N, Lantto O, Nilsson G, Ryden B. The role of inter-laboratory comparisons in quality improvement of specific IgE measurements with the Pharmacia CAP System RAST, RIA, and FEIA. *Clin Lab* 1996; 42: 707-713.
- Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, Sullivan TJ. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: establishing a standard. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 1221-1230.
- Croner S, Kjellman N-IM. Development of atopic disease in relation to family history and cord blood IgE levels: eleven-year follow-up in 1654 children. *Pediatr Allergy Immunol* 1990; 1: 14-20.
- Hattevig G, Kjellman B, Bjorksten B. Clinical symptoms and IgE responses to common food proteins and inhalants in the first 7 years of life. *Clin Allergy* 1987; 17: 571-578.
- Nickel R, Kulig M, Forster J i wsp. Sensitization to hen's egg at the age of twelve months is predictive for allergic sensitization to common indoor and outdoor allergens at the age of three years. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 613-617.
- Zeiger RS, Heller S. The development and prediction of atopy in high-risk children: follow-up at age seven years in a prospective randomized, study of combined maternal and infant food allergen avoidance. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 1179-1190.
- Burr ML, Merrett TG, Dunstan FDJ i wsp. The development of allergy in high-risk children. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 1247-1253.
- Kulig M, Bergmann R, Niggemann B i wsp. Multicentre Allergy Study Group. Prediction of sensitization to inhalant allergens in childhood: evaluating family history, atopic dermatitis and sensitization to food allergens. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1397-1403.
- Kulig M, Bergmann R, Tacke U i wsp. Multicentre Allergy Study Group. Long-lasting sensitization to food during the first two years precedes allergic airway disease. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9: 61-67.
- Lilja G, Oman H. Prediction of atopic disease in infancy by determination of immunological parameters: IgE, IgE- and IgG-antibodies to food allergens, skin prick tests, and T-lymphocyte subsets. *Pediatr Allergy Immunol* 1991; 2: 6-13.
- Peat JK, Li J. Reversing the trend: reducing the prevalence of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1-10.
- Hide DW, Matthews S, Tariq S, Arshad SH. Allergen avoidance in infancy and allergy at 4 years of age. *Allergy* 1996; 51: 89-93.
- Nishioka K, Yasueda H, Saito H. Preventive effect of bedding encasement with microfine fibers on mite sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 28-32.
- Sensi LG, Piacentini GL, Nobile E i wsp. Changes in nasal specific IgE to mites after periods of allergen exposure-avoidance: a comparison with serum levels. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 377-382.
- Boner AL, Peroni DG, Piacentini GL, Venge P. Influence of allergen avoidance at high altitude on serum markers of eosinophil activation in children with allergic asthma. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 1021-1026.
- James JM, Sampson HA. Immunologic changes associated with the development of tolerance in children with cow milk allergy. *J Pediatr* 1992; 121: 371-377.
- Bernhisel-Broadbent J, Dintzis HM, Dintzis RZ, Sampson HA. Allergenicity and antigenicity of chicken egg ovomucoid (Gal d III) compared with albumin (Gal d I) in children with egg allergy and in mice. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 1047-1059.
- Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 444-451.
- Crespo JF, Pascual C, Ferrer A i wsp. Egg white-specific IgE level as a tolerance marker in the follow up of egg allergy. *Allergy Proc* 1994; 15: 73-76.
- Sicherer SH, Burks AW, Sampson HA. Clinical features of acute allergic reactions to peanut and tree nuts in children. *Pediatrics* 1998; 102: 131-132.
- Sampson HA, Scanlon SM. Natural history of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 1989; 115: 23-27.
- Agata H, Kondo N, Fukutomi O i wsp. Effect of elimination diets on food-specific IgE antibodies and lymphocyte proliferative response to food antigens in atopic dermatitis patients exhibiting sensitivity to food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91: 668-679.
- Sicherer SH, Sampson HA. Cow's milk protein-specific IgE concentrations in two age groups of milk-allergic children and in children achieving clinical tolerance. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 507-512.
- Wood RA, Phipatanakul W, Hamilton RG, Eggleston PA. A comparison of skin prick tests, intradermal skin tests, and RASTs in the diagnosis of cat allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 773-779.
- De Lovinfosse S, Charpin D, Dornelas A i wsp. Can mite-specific IgE be used as a surrogate marker for mite exposure? *Allergy* 1994; 49: 64-66.

33. O'Hollaren MT, Yunginger JW, Offord KP i wsp. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. *N Engl J Med* 1991; 324: 359-363.
34. Halonen M, Stern DA, Wright AL i wsp. *Alternaria* as a major allergen for asthma in children raised in a desert environment. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155: 1356-1361.
35. Perzanowski MS, Sporik R, Squillace SP i wsp. Association of sensitization to *Alternaria* allergens with asthma among school-age children. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 626-632.
36. Bernardini R, Novembre E, Lombardi E i wsp. Risk factors for latex allergy in patients with spina bifida and latex sensitization. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 681-686.
37. Hamilton RG, Brown RH. Natural history of latex allergy in sensitized healthcare workers (HCWs). *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: S52.
38. Leimgruber A, Lantin JP, Frei PC. Comparison of two *in vitro* assays, RAST and CAP, when applied to the diagnosis of anaphylactic reactions to honeybee or yellow jacket venoms: correlation with history and skin tests. *Allergy* 1993; 48: 415-420.
39. Sanz ML, Garcia BE, Prieto I i wsp. Specific IgE determination in the diagnosis of beta-lactam allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1996; 6: 89-93.
40. Stuckey MS, Will CS, Schmitt LH i wsp. Histamine sensitivity influences reactivity to allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75: 373-376.
41. Nelson HS, Lahr J, Buchmeier A, McCormick D. Evaluation of devices for skin prick testing. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 153-156.
42. Adinoff AD, Rosloniec DM, McCall LL, Nelson HS. Immediate skin test reactivity to Food and Drug Administration-approved standardized extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 766-774.
43. Pastorello EA, Incorvaia C, Ortolani C i wsp. Studies on the relationship between the level of specific IgE antibodies and the clinical expression of allergy, I: definition of levels distinguishing patients with symptomatic from patients with asymptomatic allergy to common aeroallergens. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 580-587.
44. Brown WG, Halonen MJ, Kaltenborn WT, Barbee RA. The relationship of respiratory allergy, skin test reactivity, and serum IgE in a community population sample. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63: 328-335.
45. Nelson HS, Oppenheimer J, Buchmeier A i wsp. An assessment of the role of intradermal skin testing in the diagnosis of clinically relevant allergy to timothy grass. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 1193-1201.
46. Kelso JM, Sodhi N, Gosselin VA, Yunginger JW. Diagnostic performance characteristics of the standard Phadebas RAST, modified RAST, and Pharmacia CAP system versus skin testing. *Ann Allergy* 1991; 67: 511-514.
47. Norrnan PS, Lichtenstein LM, Marsh DG. Studies on allergoids from naturally occurring allergens, IV: efficacy and safety of long-term allergoid treatment of ragweed hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 460-470.
48. Dantzler BS, Tipton WR, Nelson HS, O'Barr TP. Tissue threshold changes during the first months of immunotherapy. *An Allergy* 1980; 45: 213-216.
49. Des Roches A, Paradis L, Knani J i wsp. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract, V: duration of the efficacy of immunotherapy after its cessation. *Allergy* 1996; 51: 430-433.