

Original

Intolerancia a proteínas vacunas (IPV) en el área sanitaria de Palencia en los últimos cinco años. Estudio de IgE específica

M.C. ANDRÉS DE LLANO¹, A. SÁNCHEZ¹, J.M. ANDRÉS, J. ALDANA, M.J. SÁNCHEZ, S. CARNICERO, S. ALBEROLA, L. AGUILERA²

¹Servicio de Alergología. Servicio de Pediatría. MIR M. Familia y ²Comunitaria. Hospital «Río Carrión». Palencia.

RESUMEN

Se han escrito muchos artículos sobre los muy diferentes antígenos alimentarios desde la primera comunicación hecha por Filkenstein a principios de este siglo. La alergia alimentaria afecta al 5-8% de la población. Sólo la prevalencia de la IPV oscila entre el 0,3 y el 7%. El objetivo de este estudio es valorar los datos más relevantes de nuestros pacientes recogidos durante los últimos cinco años. Además, estudiamos la eficacia diagnóstica de la determinación de anticuerpos específicos de clase IgE frente a las diferentes proteínas de la leche de vaca.

Palabras clave: Alergia alimentaria; Proteínas de leche de vaca; Anticuerpos IgE.

COW'S MILK INTOLERANCE (CMI) IN THE HEALTH AREA OF PALENCIA DURING THE LAST FIVE YEARS. STUDY OF SPECIFIC IGE

ABSTRACT

Many articles about the sensitisation to very different food antigens have been published after the first article written by Filkenstein in the early years of this century. Food allergy affects to 5-8% of people. The prevalence of only cow's milk intolerance range from 0.3 to 7%. The aim of this work is to assess the most relevant data of our patients collected during the last five years. Besides, we studied the

diagnosis efficiency of the determination of IgE specific antibodies to the several cow's milk proteins.

Key words. Food allergy; Cow's milk proteins; IgE antibodies.

INTRODUCCIÓN

Cada alimento presenta un número importante de proteínas potencialmente alergénicas, existiendo entre ellas antígenos mayores o principales y antígenos menores o secundarios. En lo que respecta a la leche, éste es el primer alimento que el lactante recibe en cantidades considerables, lo cual indica que es el primer antígeno alimentario con el que entra en contacto.

La leche de vaca es una mezcla de proteínas, carbohidratos, lípidos, enzimas, vitaminas y minerales; contiene más de 25 proteínas diferentes, aunque no todas tengan capacidad sensibilizante, ya que muchas de ellas la pierden en los procesos tecnológicos y otras carecen de ella en virtud de su configuración o su peso molecular⁽⁶⁾. Algunas de estas proteínas son específicas de la leche de vaca y otras pueden encontrar reactividad cruzada con la leche de cabra. La caseína es la proteína que es más abundante, representando el 80% del contenido proteico total, estando constituido el 20% restante por proteínas séricas solubles⁽⁷⁾. Todas ellas son posibles alérgenos, pero las más frecuentemente sensibilizantes son las proteínas solubles. La actividad alérgica está ligada, fundamentalmente, a la beta-lactoglo-

Correspondencia: Alejandro Sánchez Alonso. Paseo Isabel la Católica, 25-9A. 47003 Valladolid.

bulina, alfa-lactoalbúmina, seroalbúmina, caseína y gammaglobulina. La beta-lactoglobulina es una proteína termoestable que no existe en la leche humana, siendo uno de los alérgenos mayores de la leche de vaca⁽⁸⁾.

DIAGNÓSTICO DE LA ALERGIA A LA LECHE

Existen dos problemas fundamentales en el diagnóstico y manejo de los pacientes con IPLV: el primero de ellos es la presentación pleomórfica con gran variedad de síntomas que pueden responsabilizar a muchos posibles síndromes. El segundo es la falta de un test «in vivo» o «in vitro» definitivo, siendo el diagnóstico de seguridad la prueba de provocación del alimento sospechoso como la prueba definitiva verdadera positiva/negativa o «gold standard» en el diagnóstico de alergia a alimentos.

La historia clínica sigue siendo el pilar fundamental que lleva a la consecución de un correcto diagnóstico. Es muy importante determinar si son síntomas compatibles con alergia, ya que muchos de los errores diagnósticos de los tests utilizados, se deben a la mala selección de los pacientes en el estudio.

Dentro de las manifestaciones clínicas provocadas por la ingestión de proteínas, destaca la sintomatología cutánea, como la urticaria aguda y angioedema, el síndrome alergia oral, y la dermatitis atópica⁽⁹⁻¹¹⁾. Las manifestaciones digestivas tras la ingestión del alimento se presentan solas o asociadas. El espectro clínico es muy amplio: vómitos, diarrea, náuseas, dolores cólicos, distensión abdominal y flatulencia⁽¹²⁾. Las manifestaciones respiratorias, rinitis, bronquitis espásticas, y el asma son unas patologías frecuentes⁽¹³⁾ atribuyendo algunos autores a la leche de vaca la causa del 10% de ellas⁽¹⁴⁾. La etiología de la otitis media serosa es plurifactorial y algunos estudios prospectivos demuestran un componente alérgico en un 30%⁽¹⁵⁾. Finalmente la anafilaxia alimentaria se trata de una reacción afortunadamente poco frecuente, que se inicia a los pocos minutos de la ingesta de la leche, presentando manifestaciones que engloban a múltiples órganos y que se desencadena por la liberación de multitud de mediadores, cuyo efecto más grave sería el colapso circulatorio y el broncoespasmo⁽¹⁶⁾.

Las pruebas cutáneas y en concreto el prick test, es una

herramienta muy útil para el diagnóstico⁽¹⁷⁻²⁰⁾, siendo utilizado en la práctica alergológica para el diagnóstico de alergia a alimentos en el 92% de los casos⁽²¹⁾. Se trata de un método seguro, sencillo y muy reproducible capaz de detectar la sensibilización a un determinado alimento.

Desde el desarrollo de la técnica de IgE específica por Wide en 1967, el RAST se ha venido utilizando como complemento diagnóstico de las enfermedades alérgicas mediadas por IgE. En general, los métodos de determinación «in vitro» de IgE específica para alimentos, dan una información similar a la que se obtiene por pruebas cutáneas⁽²²⁾. La experiencia clínica ha podido demostrar que esta técnica de utilidad reconocida debe utilizarse como apoyo en el diagnóstico de las enfermedades alérgicas, pero nunca debe ser un sustituto de la historia clínica. La determinación de IgE específica a los alimentos sospechosos puede hacerse por radioinmunoanálisis (RAST) u otros métodos similares enzimáticos. Los resultados de IgE específica obtenidos con las diferentes técnicas existentes en el mercado varían de forma significativa, existiendo una concordancia absoluta en un 60% de los casos⁽²³⁾. No se puede considerar una tecnología mejor que otra, sino que hay que hablar en términos individuales, alérgeno por alérgeno, de tal manera que la detección de IgE específica dependerá directamente del desarrollo de antígenos perfectamente purificados, caracterizados y estandarizados. En un estudio realizado por Sampson encontró que el prick test y la determinación de IgE específica comparados con la provocación doble ciego controlada con placebo tenía una sensibilidad y especificidad semejante⁽²⁴⁾. En nuestro estudio el método seleccionado para la realización del estudio es un método enzimático el CAP-System de Pharmacia, al cual algunos trabajos sitúan con un nivel de sensibilidad, especificidad superior al RAST⁽²⁵⁾.

Finalmente, las pruebas de provocación oral, que consisten en intentar reproducir en el paciente los síntomas que presentan mediante la administración de dosis controlada del alérgeno sospechoso, se considera el verdadero positivo en el diagnóstico de la alergia alimentaria. Hay que tener en cuenta que la prueba de provocación indica que la relación causa efecto entre el alimento y la reacción pero no el mecanismo por el que se desencadena. Únicamente mediante los tests cutáneos o la detección de IgE específica podemos determinar si la reacción es o no alérgica.

OBJETIVOS

1. Obtener datos reales sobre el número de determinaciones realizadas durante cinco años de IgE específica a las fracciones proteicas vacunas en el suero, en pacientes con sospecha de IPV, y el porcentaje de detección de ellas que corresponde a un mecanismo alérgico.

2. Estudiar el comportamiento de la IgE específica frente a los alérgenos más importantes de la leche, analizando los patrones y rangos de positividad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Se ha analizado las determinaciones de IgE específica solicitadas desde junio de 1990 hasta finales de junio de 1995 (cinco años completos) que han llegado a nuestro laboratorio localizado en el Hospital General.

Criterios de inclusión:

1. Enfermos con clínica sugestiva de IPV, siendo la leche el alérgeno sospechoso.

2. Todos los niños han sido estudiados por los pediatras y alergólogos del área sanitaria.

Metodología del trabajo

1. Se recogen datos de filiación del paciente (nombre y apellidos, el sexo y edad del paciente).

2. Se determina la IgE específica a la siguiente batería de alérgenos: leche entera, beta-lactoglobulina, alfa-lactoalbúmina y caseína, siendo realizada en el laboratorio del hospital del área sanitaria.

La medición en suero se realiza mediante el procedimiento desarrollado por Pharmacia, que está basado en la tecnología inmunoCAP para la determinación de IgE específica circulante. La técnica consiste en esencia en una anti-IgE, unida covalentemente a un inmunoCAP que reacciona con la IgE de la muestra de suero. Después de un lavado se añaden anticuerpos anti-IgE marcados con una enzima para formar un complejo. Tras un período de incubación y de un nuevo lavado se realiza otra vez la misma con una sustancia de desarrollo. Se detiene la reacción y la fluorescencia es medida por un fluorómetro.

Hemos tomado como punto de corte para considerar

una determinación positiva unas cifras de IgE específica $> 0,35$ kU/l o clase 1^(23,24).

Metodología estadística

La estadística básica para las variables cuantitativas se realizó a través de los estadígrafos: media, desviación estándar, error estándar, mediana, moda, varianza, máximo, mínimo, rango y suma. Cuando fue necesario se realizó la comprobación de ajuste a la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y de Lilliefors. Para las variables en escala ordinal y nominal se ha calculado la distribución de frecuencias.

Para los datos en escala nominal se han realizado tablas de contingencia (Chi-cuadrado), test de Mantel-Haenszel y test de Fisher cuando así era requerido. Se acepta que el nivel de significación estadística es una $p < 0,05$.

RESULTADOS

El número de muestras analizadas en los últimos cinco años corresponde a 465, siendo el número de pacientes estudiados de 374 casos nuevos (80,4%), correspondiendo el resto, 91 (19,6%) a controles sucesivos de éstos.

A. Análisis para la totalidad de los datos

De estas 465 muestras que son estudiadas, el número de determinaciones positivas de IgE específica corresponde a 85 (18,3%).

1. **Sexo.** De estas 85 determinaciones específicas el 58,8% son varones⁽⁵⁰⁾, mientras que un 41,2%⁽³⁵⁾ son mujeres.

2. **Edad.** En lo que respecta al rango etario, un 63,5% son menores de 1 año⁽⁵⁴⁾ y un 14,1% estarían entre los 1-2 años⁽¹²⁾.

3. **Determinación de IgE específica.** En nuestra serie la sensibilización a proteínas vacunas detectadas mediante esta técnica enzimática, arroja las cifras que podemos observar en la tabla I.

Lo más habitual es que el suero de un mismo paciente presente sensibilización simultánea a varias fracciones proteicas de la leche. En la tabla II mostramos las diferentes asociaciones.

B. Análisis para la primera determinación:

El número de pacientes que presentan una primera determinación positiva corresponde a 59, lo que corresponde a

TABLA I. ALERGENICIDAD DE LAS FRACCIONES SEGÚN CAP-SYSTEM EN TODOS LOS SUEROS CON DETERMINACIÓN POSITIVA

	Número	Porcentaje
Leche entera	52	62,2%
Alfa-lactoalbúmina	34	40%
Beta-lactoglobulina	33	38,8%
Caseína	19	22,4%

TABLA III. ALERGENICIDAD DE LAS FRACCIONES SEGÚN CAP-SYSTEM EN MUESTRAS CON DETERMINACIÓN POSITIVA

	Número	Porcentaje
Leche entera	38	64,4%
Beta-lactoglobulina	23	39%
Alfa-lactoalbúmina	22	37,3%
Caseína	13	22%

un 15,8% del total de enfermos en los que se realiza una medición en suero de IgE específica (374 pacientes).

1. **Sexo.** De estas 59 determinaciones el 61% corresponden a varones⁽³⁶⁾, mientras que un 39%⁽²³⁾ son mujeres.

2. **Edad.** Un 76,3%⁽⁴⁵⁾ son menores de 1 año y un 3,4%⁽²⁾ estarían entre los 1-2 años.

3. **Determinación de IgE específica.** En nuestra serie la sensibilización a proteínas vacunas detectadas mediante esta técnica enzimática arroja las cifras que podemos observar en la tabla III; en la tabla IV mostramos las diferentes asociaciones que hemos encontrado.

DISCUSIÓN

La sospecha de alergia a diferentes alimentos está aumentando tanto en niños como en adultos, pero el diagnóstico cierto suele ser en muchas ocasiones difícil y controvertido. El término intolerancia a proteínas vacunas (IPV) se incluye para definir un síndrome de expresión variable, y de carácter generalmente transitorio que se produce por la sensibilización a una o más proteínas de la leche de vaca. El diagnóstico de la alergia a las proteínas vacunas requiere la existencia de una historia clínica compatible y se apoya en la detección de IgE específica al alimento, bien sea median-

TABLA II. ASOCIACIÓN SIMULTÁNEA EN LOS SUEROS CON OTRAS FRACCIONES PROTEICAS

	Nº
Leche entera + alfa-lactoalbúmina	18
Leche entera + beta-lactoglobulina	14
Leche entera + caseína	12
Alfa-lactoalbúmina + beta-lactoglobulina	13
Alfa-lactoalbúmina + caseína	9
Beta-lactoglobulina + caseína	11

TABLA IV. ASOCIACIÓN SIMULTÁNEA CON OTRAS FRACCIONES PROTEICAS

	Nº
Leche entera + alfa-lactoalbúmina	11
Leche entera + beta-lactoglobulina	11
Leche entera + caseína	8
Alfa-lactoalbúmina + beta-lactoglobulina	9
Alfa-lactoalbúmina + caseína	6
Beta-lactoglobulina + caseína	9

te las técnicas «in vivo» o «in vitro» correspondientes y se suele confirmar mediante una prueba de supresión-provocación.

En este trabajo hacemos un estudio retrospectivo de las determinaciones enzimáticas de IgE específica a proteínas vacunas, realizadas en nuestra área sanitaria en los últimos cinco años en niños con sospecha de IPV, analizando de una manera conjunta los aspectos más llamativos de todos los apartados que en el capítulo de resultados hemos examinado por separado.

Hemos advertido que un 15,8% de un total de 374 pacientes con sospecha de IPV presentan, al menos, una determinación de IgE específica positiva o bien a la leche entera o a alguna de sus fracciones, quizás estas cifras sean bajas si se tiene en cuenta que el valor predictivo positivo de la IgE específica a la leche sea de un 66% con el punto de corte que nosotros hemos tomado⁽²⁵⁾. La explicación de ello pudiera deberse a la petición generalizada de las pruebas de IgE específica por parte de todos los pediatras de nuestra área sanitaria, los cuales, ante la sospecha de un paciente con IPV, solicitan la determinación de IgE específica, como cribado de un mecanismo inmune en dicho proceso.

En nuestro estudio se advierte que la proporción de determinaciones positivas entre varones supera al de mujeres (61% frente al 39%). Esta relación es poco acorde con otros trabajos que no aprecian diferencias importantes, en lo que respecta al sexo. Así, Host, en un estudio de cohortes en 1.749 recién nacidos, seguidos durante 3 años de vida, no encuentra diferencias significativas respecto al sexo⁽²⁶⁾. Sin embargo, hemos de apuntar que no hemos sumado a este grupo a aquellos pacientes que presentando un diagnóstico de alergia a proteínas vacunas mediante prick, no se han realizado las determinaciones «in vitro».

Por lo que se refiere a la alergenidad de las fracciones proteicas, la leche de vaca contiene aproximadamente unas 25 proteínas. Indudablemente no todas ellas son alérgicas, y no todas ellas están suficientemente estandarizadas para determinarlas mediante técnicas enzimáticas. En nuestra serie considerando sólo casos nuevos, hemos encontrado una incidencia de IgE específica dirigida frente a las proteínas del suero, de un 64% a la leche entera, 39% a la beta-lactoglobulina, 37% a la alfa-lactoalbúmina, y un 22% a la caseína.

Goldman, en un grupo de niños, constata un 62% de pacientes sensibles a la beta-lactoglobulina, un 60% a la caseína y un 53% a la alfa-lactoalbúmina⁽²⁷⁾. Martín⁽²⁸⁾ en su serie encuentra anticuerpos IgE específicos dirigidos, en primer lugar hacia la beta-lactoglobulina (77%) y alfa-lactoalbúmina (75%), seguido, a más distancia, de la caseína (45%). Lebenthal en su serie encuentra una positividad dirigida a la beta-lactoglobulina en un 82%, seguida de la caseína con un 43% y alfa-lactoalbúmina con un 27%⁽²⁸⁾.

Coincidimos con todos en que lo común es encontrar en un mismo suero de un enfermo sensibilización a varias proteínas de la leche de manera simultánea. Sin embargo, los resultados referidos por los diferentes autores sobre la sensibilidad a las proteínas vacunas varían dependiendo de los criterios diagnósticos y de la purificación de los alérgenos utilizados en la determinación de la IgE específica, ya sea por RAST o por una medición enzimática. El hecho de que nosotros hallemos una frecuencia más baja en cada una de las fracciones, pudiera deberse a que la muestra analizada corresponda a enfermos que están estudiados por el conjunto de pediatras y alergólogos del área sanitaria, por lo que el diagnóstico IPV es más heterogéneo.

En nuestra serie el alérgeno principal es la «leche ente-

ra», lo que es lógico si tenemos en cuenta que en ella se encuentran las diferentes fracciones alérgicas, determinación a la que no hacen referencia los autores anteriormente comentados. Coincidimos con Martín en que las dos fracciones alérgicas más importantes son la beta-lactoglobulina y alfa-lactoalbúmina; no obstante, hasta que no dispongamos de un test «in vitro» con fracciones que no estén contaminadas por otras proteínas, seguiremos encontrando en la literatura resultados diferentes.

A pesar de los inconvenientes inherentes a los estudios retrospectivos, hemos obtenido puntos suficientes para poder aportar las siguientes conclusiones.

CONCLUSIONES

1. El diagnóstico de alergia a proteínas vacunas realizado mediante técnicas «in vitro» (IgE específica), arroja unas cifras de un 15,5% de todas las determinaciones solicitadas entre los pacientes con IPV en nuestra área sanitaria.
2. Las fracciones alérgicas principales de las proteínas vacunas se encuentran en la beta-lactoglobulina en un 39% y la alfa-lactoalbúmina en un 37%, y a más distancia, la caseína con un 22%.
3. Para un mismo paciente se encuentran de manera simultánea sensibilizaciones a varias fracciones proteicas vacunas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Finkestein H. Kuhmilch als Ursache akuter Ernährungsstörungen bei Säuglingen. *Monatschr Kinderhilk* 1905; 4:65-72.
2. Lau-Schadendorf S, Rugo E, Wahl R, Wahn U. Clinical and immunological studies on hydrolysed infant formulae. En: Food allergy in infancy. Proceedings of the international symposium «Food allergy in infancy». Palma de Mallorca. December 3rd and 4th, 1991. L. Businco, A. Oehling, B. Renner y J. Morán (eds). Madrid: Editorial Garsi, 1992; 253-257.
3. Powell GK. Use of casein hydrolysate formulas in the diagnosis and management of gastrointestinal food sensitivity in infancy. En: Nutrition for special needs in infancy. Protein hydrolysates. Fima Lisfshitz (ed). New York: Marcel Dekker, Inc. 1985; 131-143.
4. Vitoria JC. Cow's milk protein sensitive enteropathy. En: Food allergy in infancy. Proceedings of the international symposium «Food allergy in infancy». Palma de Mallorca. December 3rd and

- 4th, 1991. L. Businco, A. Oehling, B. Renner y J. Morán (eds). Madrid: Editorial Garsi, 1992; 165-177.
5. David TJ. History, prevalence and natural history. En: Food and Food additive intolerance in childhood. Oxford: Blackweel Scientific Publications, 1993; 12-24.
6. Malet A, Valero A, Amat P, Lluch M, Serra E. Alergenos alimentarios. En: Manual de alergia alimentaria. Barcelona. Ed. Masson, 1995; 65-114.
7. David TJ. Food and Food additive intolerance in childhood. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993; 1-498.
8. Martín Esteban M, Pascual Marcos C, Díaz Pena JM, Ojeda Casas JA. Alergia alimentaria: En: Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica Ed. Tratado de Alergología e Inmunología Clínica, Tomo VI. Madrid: Luzán 5 S.A. 1989; 57-91.
9. Rajka G. Prurigo Besnier (atopic dermatitis) with special reference to the role of allergic factors. II. The evaluation of skin reaction. *Acta Derm Venereol* (Stockh) 1961; **41**:1-24.
10. Hanifin JM. Dermatitis atópica. En: Alergia, principios y práctica. Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson F, Yunginger JW. Salvat Editores 1992; 1299-1324.
11. Oehling A, Fernández M, Córdoba H. Cutaneous manifestations and immunological parametres in food allergy in children. En: Food allergy in infancy. Proceedings of the international symposium «Food allergy in infancy». Palma de Mallorca. December 3rd and 4th, 1991. L. Businco, A. Oehling, B. Renner y J. Morán (eds). Madrid: Editorial Garsi, 1992; 141-146.
12. Ros L. Gastrointestinal manifestations of food allergy. En: Food allergy in infancy. Proceedings of the international symposium «Food allergy in infancy». Palma de Mallorca. December 3rd and 4th, 1991. L. Businco, A. Oehling, B. Renner y J. Morán (eds). Madrid: Editorial Garsi, 1992; 157-164. Alergia alimentaria. Departamento de Información Médica de Milupa. Ed. Milupa, 4º trimestre 1991; 19-24.
13. Navarro M, Argüelles F, Campos E. Respiratory manifestations of food allergy. En: Food allergy in infancy. Proceedings of the international symposium «Food allergy in infancy». Palma de Mallorca. December 3rd and 4th, 1991. L. Businco, A. Oehling, B. Renner y J. Morán (eds). Madrid: Editorial Garsi, 1992; 147-156.
14. Gerrard JW. Familial recurrent rhinorrea and bronchitis due to cow's milk. *JAMA* 1966; **198**:605-607.
15. Muñoz MC, Laso MT, Alonso E, Ibarra R. Alergia y otitis media serosa. XII Reunión de la Sección de Inmunología y Alergia de la A.E.P. Córdoba, 1988.
16. Laso Borrego MT, Laffond Yges E, Alonso Lebrero E. Manifestaciones clínicas de la alergia alimentaria en la infancia. En: *Actualidad Nutricional*, nº 8. El pediatra y la alergia.
17. Nieto A. Clinical methods for diagnosis of food allergy. En: Food allergy in infancy. Proceedings of the international symposium «Food allergy in infancy». Palma de Mallorca. December 3rd and 4th, 1991. L. Businco, A. Oehling, B. Renner y J. Morán (eds). Madrid: Editorial Garsi, 1992; 81-90.
18. Saxon A. Hipersensibilidad inmediata: enfoque diagnóstico. En: Manual de alergia e inmunología. Diagnóstico y tratamiento, 2ª edición. Barcelona: Ed. Salvat, 1990; 17-42.
19. Dreborg S. The skin prick test. Methodological studies and clinical applications. De. Linköping University Medical Dissertation, 1987; 239.
20. Clemente Pollán J. Reacciones adversas a los alimentos. En: Alimentación Infantil, 2ª edición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, 1993; 249-263.
21. Alergia a alimentos. En: Alergológica: Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España. SEAIC y Alergia e Inmunología Abelló, 1995; 165-183.
22. Sampson HA, Alberg MD. Comparison of results of skin test, Rast, and double-blind, placebo-controlled food challenges in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1984; **74**:26-33.
23. Sanz ML, Prieto B, García E, Resano A, Pajarón M, Ferrer M, Parra A, Oehling A. Fiabilidad diagnóstica de la determinación de IgE específica. *Rev Esp Alergol e Inmunol Clin* 1995; **10**(2):85-94.
24. Pastorello EA. Skin tests for the diagnosis of IgE-mediated allergy. En: Dreborg S, Frew A. Allergen standarization and skin test. Position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1993; **48**(Suppl 14):57-62.
25. Pascual C, Fernández Crespo J, Caballero MT, Martín Esteban M. Valoración del estudio de IgE específica. *Rev Esp Alergol e Inmunol Clin* 1995; **10**(2):106-110.
26. Hoste A, Halken S. A prospective study cow's milk allergy in Danish infants during the first three years of life. *Allergy* 1990; **45**:587-596.
27. Goldman AS, Sellars WA, Halpern SR. Milk Allergy II Skin testing of allergic and normal children with purified milk proteins. *Pediatrics* 1963; **32**:672-679.
28. Martín Esteban M. Alergia a las proteínas de la leche de vaca en el lactante. Sesiones interhospitalarias de la Sociedad Madrid-Castilla la Mancha de Alergología e Inmunología Clínica. Madrid: Luzán, 1993; 333-350.