

Valoración diagnóstica especializada

I. ALVAREZ SUÁREZ y D. GONZÁLEZ LAMUÑO

Actualmente el asma infantil ha dejado de ser una enfermedad crónica, cuando se realiza un diagnóstico precoz y un tratamiento correcto.

Para cualquier médico que trata enfermedades alérgicas en general y asma en particular, ha de tener siempre presente que los síntomas atópicos o alérgicos resultan de la interacción entre un huésped que ha heredado la capacidad para producir anticuerpos reagínicos (IgE) y los alérgenos a los cuales se expone. Si la exposición a los alérgenos es breve, no habrá producción de anticuerpos reagínicos, pero si la exposición antigénica es duradera o recurrente, es muy probable que la persona genéticamente alérgica se sensibilice, pudiendo presentar síntomas atópicos en distintos territorios del organismo. Cuando el órgano de choque afectado es el aparato respiratorio, se manifestará por crisis asmáticas periódicas de mayor o menor intensidad y frecuencia. Se describen otro tipo de pacientes asmáticos, no mediados por IgE, conocidos como asma intrínseco, asma ocupacional o tras el consumo de aspirina, de escasa incidencia a nivel pediátrico.

A la luz de los nuevos conceptos etiopatogénicos del asma, el pediatra ha de tener siempre presente una serie de premi-

sas importantes al manejar a estos pacientes:

1.º El niño asmático ha de ser estudiado de forma integral lo más precozmente posible, valorando no solamente al niño sino también a su familia y entorno.

2.º El diagnóstico y tratamiento integral de un niño asmático, requiere no solo la participación del pediatra y del alergólogo, sino que muchas veces necesita la colaboración de otras ramas de la pediatría, como pueden ser psicólogos, farmacólogos, cardiólogos, etc.

DIAGNÓSTICO DEL ASMA INFANTIL

Aunque la primera valoración de un niño asmático puede ser realizada por un médico generalista, su diagnóstico específico y las indicaciones de la inmunoterapia deben ser establecidos exclusivamente por un especialista en alergología, adecuadamente formado, dados los riesgos que pueden ocasionar un manejo incorrecto de estos pacientes. Un diagnóstico precoz y un tratamiento correcto evitan la aparición de posibles complicaciones como: deformidades anatómicas, incapacidad física, alteraciones psíquicas, absentismo escolar o yatrogenismo.

El fin primordial de todo procedimiento diagnóstico es la demostración de que el proceso está mediado por IgE y además, probar la posible implicación del alérgeno en el órgano de choque. La valoración diagnóstica por tanto, de un niño asmático para el especialista en alergología, tiene la finalidad de descubrir el alérgeno o alérgenos responsables de la hiperreactividad bronquial. Suelen ser neumoaérgenos del tipo de ácaros del polvo doméstico, pólenes de flores, árboles y gramíneas, epitelios de animales, mohos ambientales o domésticos, veneno de himenópteros, etc.

Esta valoración requiere una metódica a seguir para llegar a un diagnóstico definitivo de asma bronquial infantil y comprende distintos apartados (Tabla I).

TABLA I. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO ESPECIALIZADO A SEGUIR EN EL ASMA BRONQUIAL INFANTIL

-
1. PRUEBAS CUTÁNEAS DIRECTAS
 - PRICK TEST
 - ESCARIFICACIÓN
 - INTRADERMORREACCIÓN
 2. PRUEBAS CUTÁNEAS INDIRECTAS
 - REACCIÓN DE PRAUNITZ-KÜSTNER (P.K.)
 3. DETERMINACIÓN DE IgE SÉRICA
 4. CUANTIFICACIÓN DE IgG₄ EN SUERO
 5. LIBERACIÓN DE HISTAMINA
 6. DEGRANULACIÓN DE MASTOCITOS BASÓFILOS
 7. TRANSFORMACIÓN BLÁSTICA DE LINFOCITOS (T.T.L.)
 8. EOSINOFILIA NASAL
 9. PRUEBAS DE PROVOCACIÓN BRONQUIAL
 10. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS
-

Pruebas cutáneas directas

Las pruebas cutáneas son el método de diagnóstico más genuino y empleado en patología alérgica. Consiste en la adminis-

tración del alérgeno a través de la piel y tienen gran valor en el diagnóstico de neumoaérgenos, indicando la presencia de anticuerpos IgE en el lugar de la reacción (17).

El objetivo de las pruebas cutáneas es determinar el antígeno responsable del proceso y se pueden realizar mediante distintas técnicas. En la actualidad la técnica más usual es la conocida como «prick test» o puntura, aunque en ciertos casos como en venenos, mohos, estaría indicado efectuar la intradermorreacción.

En el prick se coloca una gota del extracto alérgico y probar y se perfora la piel con una aguja o lanceta especial, a través de ella, con lo que se introduce una cantidad mínima de dicho alérgeno. La respuesta se obtiene en 15-20 minutos, valorándose una pápula de 3 mm. de diámetro o bien una lectura de tres cruces cuando la pápula es igual a la que proporciona el control con histamina, a la concentración de 1 mg./ml, pero una respuesta menor de dos cruces no debe tenerse en consideración así como el eritema (2).

Una variante de esta técnica es la escarificación, en que mediante una lanceta o estilete se hace una incisión superficial, sin que llegue a extravasarse sangre y se coloca encima la gota del alérgeno. Posiblemente el mayor logro alcanzado en los últimos tiempos con relación a las pruebas cutáneas es la elaboración de extractos de mayor calidad, cada vez más purificados y el poder valorar mejor la actividad biológica de los mismos en Unidades Biológicas (B.U.) (6) en vez de las utilizadas hasta hace unos años, Unidades de Nitrógeno Proteico (PNU), así como poder utilizar estos extractos así valorados en la inmunoterapia.

En la intradermorreacción se inyecta en la capa dérmica de la piel, con aguja muy fina, 0,1 c.c. de un extracto de solución

acuosa al 1:1000 peso/volumen del alérgeno a investigar. El riesgo con esta técnica es mayor y la posibilidad de reacciones locales intensas de irritabilidad puede dar lugar a correlaciones erróneas con la realidad clínica.

En general, se recomienda hacer intradermorreacción cuando, ante una sospecha clínica fundada, el prick ha sido negativo así como para veneno de himenópteros, hongos y medicamentos.

Prueba cutánea indirecta (P.K.)

En 1921 PRAUSNITZ y KUSTNER (22) descubrieron la existencia de cierto factor sérico que transfería el habón alérgico y las reacciones inflamatorias de un individuo a otro. PRAUSNITZ inyectó en su piel suero tomado de su colega KUSTNER, que era alérgico al pescado. Dos días más tarde, cuando se inyectó el extracto del pescado en la misma zona de piel de PRAUSNITZ, apareció rápidamente una pápula con eritema. Reconocida más tarde como prueba de PRAUSNITZ-KUSTNER o P. K. de gran utilidad clínica en los estudios de asma infantil. Se realiza inyectando intradérmicamente el suero del paciente alérgico (niños de corta edad, dermatofismo positivo o dermatitis) a una persona adulta no alérgica. A las 48 h. se inyectan los alérgenos a testar donde se colocó el suero. Se valora igual que las realizadas directamente. Hoy día para realizar esta prueba tendremos que descartar previamente la presencia de anticuerpos del SIDA en el suero del paciente.

Determinación de IgE sérica

Dado que la IgE es el principal mediador inmunológico (en ciertos casos como veremos luego IgG 4) de las enfermedades alérgicas (14), la determinación de la misma en el suero del niño se considera de gran valor diagnóstico. Las cifras de IgE

van aumentando paulatinamente en el niño alcanzando valores superiores a los del adulto hacia los 12 años igualándose en la adolescencia (Tabla II) y en más de la mitad de los niños recién nacidos no es detectable en el cordón umbilical (20).

TABLA II. VALORES NORMALES DE IgE

Edad	u.i./ml, PRIST
Nacimiento	0,22 ± 1,28
6 semanas	0,69 ± 6,12
6 meses	2,68 ± 16,3
1 año	3,50 ± 15,2
2 años	3,03 ± 29,5
3 años	1,80 ± 16,9
4 años	8,60 ± 70,00
7 años	13,00 ± 161,30
10 años	23,70 ± 570,60
14 años	20,00 ± 195,00
Adultos	14,00 ± 122,00

Según Kjellman, N. I. M.; Johansson, S. G. O., y Roth, A.: «Serún IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique (PRIST)». Clin. Allergy, 6: 51, 1976.

La IgE sérica se encuentra elevada en el asma infantil de etiología atópica, pero una cifra elevada no la afirma exclusivamente y hemos de tener siempre presente que cifras de esta inmunoglobulina se encuentran elevadas en otras entidades (Tabla III) algunas de las cuales de neta personalidad pediátrica y que hemos de tener siempre presente en el momento de establecer un diagnóstico diferencial. El 95 % de los niños asmáticos tienen niveles superiores de IgE a dos desviaciones estándar por encima de la media (15).

La determinación de la IgE se lleva a cabo por distintos medios de laboratorio, basados en su mayoría en un mismo principio:

— Un soporte sólido al que está adherido el alérgeno.

— Suero del paciente con posible IgE que al unirlo al soporte alérgico se una a él.

— Antisuero anti-IgE que se añade posteriormente previo lavados.

TABLA III. ENFERMEDADES QUE CURSAN CON IgE SÉRICA ELEVADA

ENFERMEDADES ALÉRGICAS:

Asma bronquial extrínseco (asma alérgico)

Rinoconjuntivitis alérgica.

Dermatitis atópica

Aspergilosis broncopulmonar.

PARASITOSIS:

Ascaridiasis.

Larva migrans visceral

Equinococosis

Triquinosis.

Esquistosomiasis.

Anquilostomiasis.

Fascioliasis.

INMUNODEFICIENCIAS:

Síndrome de Wiscott-Aldrich.

Alinofplasia tímica.

Síndrome de hiper IgE (R. Buckley).

OTROS PROCESOS:

Acrodermatitis crónica.

Penfigoide bulloso.

Hemosiderosis pulmonar.

Fibrosis quística del páncreas.

Artritis reumatoide.

Hodgkin (estadios tardíos).

Nefritis intersticial por medicamentos.

Enfermedades hepáticas severas.

Mieloma IgE.

Posteriormente lo que hay que hacer es evidenciar la unión del suero al soporte para lo que se dispone de distintos métodos dependiendo del elemento que se utilice:

— Isótopo: *Radioinmunoensayo* (RAST)

— Enzima: *Enzimoinmunoensayo* (ELISA).

— Fluorocromo: *Fluoroinmunoensayo* (FAST).

De estos métodos, el radioinmunoensayo y el enzimoinmunoensayo son los más sensibles y utilizados actualmente.

Con la técnica del RAST tratamos de medir la IgE específica de distintos alérgenos y se valora de la siguiente forma:

— RAST negativo (clase 0): IgE específica no detectable.

— RAST dudoso (clase I): El alérgeno probado no es indudablemente el mayor determinante antigénico.

— RAST positivo (clase II-III y IV): Hay IgE específica detectable (el 90 % de la IgE está fijada).

El método del RAST ha sido el más empleado en la determinación de los niveles *in vitro* de IgE específica (29) utilizándose de forma especial en niños de corta edad para evitar los falsos negativos, en niños con dermatografismo positivo y cuando el niño tomando antihistamínicos, podía interferir las pruebas cutáneas. Las dificultades que ocasionaba el radioinmunoensayo y la buena correlación de resultados entre ellos (26) ha hecho que últimamente se vea desplazado por el enzimoinmunoensayo.

El enzimoinmunoensayo (ELISA) tiene aproximadamente el mismo grado de sensibilidad que el radioinmunoensayo (entre 1 y 10 nanogramos/ml. (10) (23) y tiene sobre esto varias ventajas:

Según Adkinson, N. F., y Lichtenstein L. M.: En *Clinical Immunology* núm. 3. Edit. por F. H. Bach y R. A. Good. Public. por Academic Press, págs. 305-344. Nueva York, 1976.

— Está exento de las limitaciones técnicas y legales de los radioisótopos.

— El tiempo de realización menor y es menos costoso.

— Da cierta autonomía, que permite testar mayor número de pacientes.

— La mayor estabilidad y duración de los reactivos.

La IgE total y la IgE alérgico específica se pueden detectar con precisión y seguridad en el laboratorio mediante enzimo-inmunoensayo (28). El enzimo-inmunoensayo para la IgE alérgico específica es similar al de la IgE total, excepto en que el alérgico, y no el anticuerpo anti IgE es el que se une al inmuno adsorbente en la fase sólida.

Como variante de estos métodos, nosotros hemos pasado a utilizar para «screening» un método basado en quimioluminiscencia (C.L.A.-test) que dispone de dos paneles de treinta y dos alérgicos específicos e IgE total que se testan simultáneamente. Los resultados vienen interpretados en clase I-II-III y IV y solo las clases III y IV que indican unas concentraciones altas o muy altas de IgE específica deben ser consideradas de valor diagnóstico y siempre congruentes con historia clínica, prick test y resto de estudios realizados al paciente.

Cuantificaciones de IgG 4 en suero

Con el descubrimiento y diferenciación de las subclases de las inmunoglobulinas IgG (IgG₁ IgG₂ IgG₃ IgG₄) y sobre todo con los avances técnicos que han permitido una mejor cuantificación, se ha abierto un nuevo campo de debate sobre el papel que la IgG₄ juega en la inmunopatología atópica.

Cuando tiene lugar una reacción tipo I de Gell y Coombs se forma un anticuerpo anómalo, llamado reagina, que generalmente es de tipo IgE, pero se ha podido

establecer que un 20 % aproximadamente es de tipo IgG₄. Estas dos inmunoglobulinas se fijan a la superficie de los mastocitos y basófilos y al reaccionar con los alérgicos provocan la salida de mediadores, histamina, factores quimiotácticos, etc. de la célula previamente sensibilizada con la consiguiente sintomatología dependiendo del órgano de choque (7).

Las concentraciones séricas de la IgG₄ varían de forma directamente proporcional con la edad en niños sanos, alcanzando los niveles del adulto entre los 8 y 10 años de edad (12).

La producción de IgG₄ tiene lugar preferentemente en las células plasmáticas de las mucosas y concentraciones séricas elevadas de esta inmunoglobulina se encuentran casi siempre en niños y adultos con asma (11) (18). Se ha afirmado que una concentración de la IgG₄ por encima de lo normal puede indicar un mal pronóstico en niños con asma (9) sin embargo un estudio prospectivo posterior en niños asmáticos, no pudo confirmar la existencia de una asociación entre los niveles de IgG₄ y la respuesta al tratamiento antiastmático (11).

En los niños asmáticos, los anticuerpos IgG₄ séricos frente a alérgicos (alternaria, leche, huevo, etc.) son más frecuentes que en niños no alérgicos, aunque anticuerpos IgG₄ son también detectables en niños no alérgicos pero que pueden tener otra posible patología no aclarada. La presencia de anticuerpos IgG₄ establece un diagnóstico definitivo en el asma lo que sí parece estar suficientemente probado es en aquellos casos en que se asocian asma y dermatitis atópica (4), (8), (13) (25).

Posiblemente nuevos estudios puedan aclarar el papel de la IgG₄ como anticuerpo sensibilizante hasta el punto de que pudiera haber subtipos de IgG₄ con diferentes funciones (5) (21).

Test de la liberaciones de histamina

Esta técnica descrita por LICHTENSTEIN y OSLER, 1969, (16) consiste en reproducir «in vitro» la reacción antígeno-anticuerpo (IgE previamente unida a la superficie del basófilo). Se basa en medir la cantidad de histamina liberada por los basófilos tras añadir cantidades crecientes de alérgeno (24). La cantidad de histamina liberada se mide generalmente por espectrofotometría y tiene buena correlación con la clínica, pruebas cutáneas y RAST (19).

Esta prueba se considera de gran utilidad para el diagnóstico de neuroalérgenos.

Test de la Degranulación de los basófilos

La técnica de degranulación de basófilos humanos (3) se basa en medir el porcentaje de basófilos degranulados tras incubar una muestra de sangre heparinizada en una serie de diluciones del alérgeno sospechoso. Se considera positivo el test si la degranulación es superior al 50 %. Su grado de inespecificidad es grande con relación a las pruebas cutáneas ya que en ocasiones es posible observar una degranulación espontánea no inmunológica. Su utilidad es mayor en el diagnóstico de sensibilización a medicamentos.

Transformaciones blástica de linfocitos

Esta técnica se basa en la propiedad que tienen los linfocitos de transformarse en linfoblastos cuando se cultivan en un medio en el que existe el alérgeno al cual han sido sensibilizados. Esta técnica es de gran utilidad para diferenciar linfocitos T y B de un pool de linfocitos al enfrentarlos con ciertos mitógenos (Pokoweed y Cancriavalina A respectivamente) y aunque ha sido utilizada para el diagnóstico de alergia a medicamentos y otros procesos alérgicos los resultados son poco satisfactorios.

Eosinófilos en moco nasal

El estudio microscópico del moco nasal muestra gran predominio de eosinófilos sobre polimorfonucleares en la mayoría de pacientes con asma extrínseco. Sin embargo, es posible que se observe un predominio de eosinófilos en casos de rinitis eosinofílica no alérgica y en algunos casos de rinitis vasomotora y sinusitis hiperplásica.

Pruebas de provocación bronquial

Las pruebas de provocación inhalativa bronquial sirven para determinar la dosis mínima del alérgeno administrado en aerosol que es capaz de provocar un trastorno ventilatorio obstructivo con un descenso superior al 20 % del VEMS inicialmente observado. Esta prueba de provocación puede tener un valor diagnóstico definitivo en patología respiratoria por neuroalérgenos al reproducir los síntomas cuando se hace inhalar el alérgeno responsable seguido de espirometría.

Algunos autores han sugerido que el diagnóstico debería ser confirmado mediante provocación bronquial positiva antes de empezar la inmunoterapia en asmáticos (1) (27) sin embargo se utilizan fundamentalmente en los casos en que los test cutáneos sean negativos y la historia clínica es muy sospechosa de sensibilización.

A nivel pediátrico, dependiendo de la edad y la colaboración por parte del niño, esta prueba puede ser difícil de realizar para alérgenos inhalados, aunque no para alimentos y medicamentos por vía oral o conjuntival en rinoconjuntivitis con asma.

Exámenes complementarios:

Todo estudio alérgico ha de ir acompañado de una serie de exámenes complementarios como norma en el que se incluye.

— *Hemograma*: El número de eosinófilos oscila entre 1-3 de la fórmula leucocitaria equivalente a 50-300 eosinófilos por mm³, que corresponde al 5-6 % de la fórmula. A nivel pediátrico la eosinofilia es muy constante, aunque no exclusiva de los procesos asmáticos, algo que muchas veces no se suele tener en consideración.

— *Parásitos*: La investigación de huevos y parásitos en heces y porta (Test de Graham) es algo que debería estar implantado como norma, ya que puede ser causa de eosinofilia sanguínea que podría ser erróneamente atribuida a un proceso asmático alérgico. Hemos de tener siempre presente en esta prueba la existencia de

falsos negativos, que la parasitosis es endémica en nuestro medio y que la historia clínica nos dará en estos casos la actitud a tomar con el paciente.

— *Frotis faringeo, nasal* (en ciertos casos ocular), mantoux, electrolitos en sudor (iontoforesis), radiografías de senos, lateral de cuello y tórax, así como estudios inmunológicos precisos (IgA sérica y/o secreta, cuantificación de subclases de IgG, determinación del número y tipos de linfocitos T y B, presencia de inmunocomplejos circulantes, etc.) es algo que no puede faltar para establecer un diagnóstico diferencial y definitivo de asma bronquial.

BIBLIOGRAFIA

1. AAS, K.: *Adequate clinical trials of immunotherapy*. Allergy 1982; 37: 1-17.
2. BAHNA, S. L.: *Diagnostic tests for food allergy*. Cl. Rev. Allergy 1988; 6: 259-284.
3. BENVENISTE, J.: *The human basophil degranulation test as an in vitro method for the diagnosis of allergies*. Clin. Allergy 1981; 11: 1-10.
4. BJORKSTEN, B.; AHLSTEDT, S.; BJORKSTEN, F.; CARLSSON, B.; FALLITROM, S. and KOBER, A.: *Immunoglobulin E and immunoglobulin G4 antibodies to cow's milk in children with cow's milk allergy*. Allergy 1983; 38: 119-124.
5. BLANCO, A. y ARRANZ, E.: *Valor de los anticuerpos IgG 4 en alergia*. Rev. Esp. Allergol Immunol. Clin. 1986; 1: 8-10.
6. BRIGHTON, W. D.; TOPPING, M. D. and HENOLQ, E.: *Activity units for allergen extracts*. Clin. Allergy. 1979; 9: 591-596.
7. FAGAN, D. L.; SLAUCHTER, C. A.; CAPRA, J. A. and SULLIVAN, T. J.: *Monoclonal antibodies to immunoglobulin G4 induce histamine release from human basophils in vitro*. J. Allergy Clin. Immunol. 1982; 79: 399-412.
8. GARCÍA, B. E.; SANZ, M. L.; FERNÁNDEZ, M.; DIÉGUEZ, I. y OEHLING, A.: *Value of IgG 4 antibodies against foods in atopic dermatitis*. Allergol Immunopathol. 1990; 18: 187-190.
9. GWYNN, C. M.; MORRISON, S.; MITH, J.; LEÓN, G. and STANWORTH, D.: *Role of IgG 4 subclass in childhood allergy*. Lancet 1978; 1: 910-911.
10. HOFFMAN, H. E.: *Estimation of serum IgE by an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)*. J. Allergy Clin. Immunol., 1972; 51: 303-321.
11. HOMBURGER, H. A. and WOLD, L. E.: *Immunoglobulin G4: Serology of a mucosal associated IgG subclass in asthma*. Fed. Proc. 1983; 42: 444-457.
12. HOMBURGER, H. A.; MAUER, K.; SACHS, M. I. and all.: *Serum IgG 4 concentrations and allergen specific IgG4 antibodies compared in adults and children with asthma and nonallergic subjects*. J. Allergy Clin. Immunol. 1986; 77: 427-452.
13. HUSBY, S.; SCHULT, Z.; LARSAN, F.; SVAHA, G.: *IgG subclass antibodies to dietary antigens in atopic dermatitis*. Acta Derm. Venerol. 1989; 144: 88-92.
14. ISHIZAKA, K.; ISHIZAKA, T.: *Identification of IgE antibodies as a carrier of reaginic activity*. J. Immunol. 1967; 99: 1187-1198.
15. JOHANSSON, S. G. O.: *Radioimmunoassay of IgE and IgE antibody and its clinical application* En symposium on disorders of protein metabolism. J. Clin. Pathol. 1975; 28: 33-62.
16. LICHTENSTEIN, L. M.; et OSLER, A. G.: *Studies on the mechanisms of hypersensitivity phenomena IX Histamine release from human leukocytes by ragweed pollen antigen*. J. Exp. Med. 1964; 120: 507-530.

17. MALLING, H. J.; DREBORG, S.; WEEKE, B.: *Diagnosis and immunotherapy of mould allergy. III Diagnosis of cladosporium allergy by means of symptom score bronchial provocation test, skin prick test, rast, crie and histamine release.* Allergy 1986; 41: 57-71.
18. MIYAMOTO, T.; KOYA, N.; SUZUKI, S.; and all: *Clinical significance of IgG 4 antibody in serum.* Allergy 1991;40 (3): 215-223.
19. NORMAN, P. S.; LICHTENSTEIN, L. M.; e ISHIZAKA, K.: *Diagnostic tests in ragweed hay fever. A comparison of direct skin tests, IgE antibody measurements, and basophil histamine release.* J. Allerg. Clin. Immunol. 1973; 52: 210-224.
20. ORGEL, H. A.; HAMBURGER, R. N.; BAZAREL, M. and all: *Development of IgE and allergy in infancy.* J. Allergy Clin. Immunol. 1975; 65: 296-307.
21. PEREGMUTTER, L.: *IgG 4: Non-IgE mediated atopic disease.* Ann. Allergy 1984; 52: 64-68.
22. PRAUSNITZ, C.; KÜSTNER, H.: *Studies on super-sensitivity.* Zentralbl. -Bakteriol. 1921; 86: 160-169.
23. SCHUVRS, A. H. W. M. and Van WEEMEN, B. K.: *Enzyme-immunoassay.* Clin. Chim. Acta 1977; 81: 1-12.
24. SIRAGANIAN, R. P. and BRODSKY, M. J.: *Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. I. A method utilizing allergen-induced histamine release from whole blood.* J. Allergy Clin. Immunol. 1976; 57: 525-540.
25. TIIKKAINEN, V. and KLOCKARS, M.: *Clinical significance of IgG subclass antibodies to wheat flour antigens in bakers.* Allergy 1990; 45 (7): 497-504.
26. TSAY, Y. G.; HALPERN, G. M.: *IgE Fluoroallergosorbent (IgE Fast) test: Concept and clinical applications.* Immunol Allergy Practice 1984; 6: 27-32.
27. WARNER, J. O.; SOOTHILL, J. F.; PRICE, J. F.; HEY, E. N.: *Controlled trial of hyposensitisation the dermatophagoides pteronyssinus in children with asthma.* Lancet 1978; I.: 912-926.
28. WELMAN, J. K.: *Detection and cuantitation of IgE antibodies in rhinitis;* G. A. Settipne ed. New. Engl. Regional. Allergy Proc, Providence. R. I. 1984, pp. 22-23.
29. WIDE, L.; BENNICH, H.; JOHANSSON, S. G. O.: *Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies.* Lancet 1967; 2: 1105-1124.