

Determinazione delle immunoglobuline E specifiche

Diego Faggian¹, Ignazio Brusca², Barbara Cinti³, Beatrice Caruso⁴, Bruno Dente⁵, Maria Grazia Mazzarello⁶, Tiziana Scacchetti⁷ per il Gruppo di Studio SIBioC "Allergologia di Laboratorio"

¹U.O.C. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova

²U.O. di Patologia Clinica, P.O. Buccheri La Ferla, Palermo

³Laboratorio Analisi, A.O.U. Ospedali Riuniti, Ancona

⁴Laboratorio di Biochimica Clinica, Università di Verona

⁵U.O.C. Medicina di Laboratorio, P.O. San Paolo, Napoli

⁶Laboratorio Analisi, P.O. Novi Ligure (AL)

⁷Dipartimento di Patologia Clinica, Ospedale Sant'Agostino Estense-NOCSAE Baggiovara, Modena

ABSTRACT

SIBioC Position statement about *in vitro* immunoglobulin E (IgE) testing. The aim of this document is to contribute to increase the knowledge of the diagnostic significance and the clinical value of laboratory tests that are included in the *in vitro* category of allergy tests. In this context, the clinical benefits of the *in vitro* determination of specific immunoglobulins E (IgE) for complete extracts or single allergen molecules is to be strongly reaffirmed. This test is to be considered central in the diagnostic algorithm of allergic diseases compared to Skin Prick Test.

INTRODUZIONE

La valutazione dello stato di sensibilizzazione di un paziente sospetto di allergia, può essere effettuata con test cutanei *in vivo* o mediante test *in vitro* (1, 2, 3). I test cutanei più frequentemente utilizzati sono gli "Skin Prick Test" (SPT) (4, 5), mentre più raramente si ricorre ai test intradermici per la valutazione delle reazioni immediate o a test epicutanei da contatto ("Patch Test") per la valutazione delle reazioni ritardate cellulo-mediate. I test *in vitro* a loro volta comprendono numerose indagini di laboratorio effettuabili su sangue o su secrezioni.

Lo scopo del presente documento è fornire uno strumento utile per approfondire le conoscenze sul reale significato diagnostico e clinico dei principali esami di laboratorio che, a vario titolo, sono considerati nella categoria dei test allergologici *in vitro*. In tale contesto si ritiene utile rimarcare l'oggettiva utilità della determinazione delle immunoglobuline E (IgE) specifiche (sIgE), per gli estratti completi o per le singole molecole allergeniche, rimarcando la centralità di tale determinazione nell'algoritmo diagnostico delle allergopatie rispetto al SPT.

CENNI STORICI

Il termine allergia fu introdotto per la prima volta nel 1906 dal pediatra viennese von Pirquet per segnalare un'alterata reazione in un organismo ospite. Nel 1921 due ricercatori tedeschi, Prausnitz e Küstner, dimostrarono che l'allergia era correlata a un fattore sierico che successivamente fu definito "reagina". Nel 1923 Coca e Cooke usarono il termine atopia per definire la condizione costituzionale che predispone allo sviluppo di allergia. Infine, nel 1966-67 il gruppo di Ishizaka, a Denver nel Colorado, identificò nel siero dei soggetti atopici una proteina ancora sconosciuta della frazione gammaglobulinica con attività reaginica. Contemporaneamente in Svezia, altri due ricercatori, Bennich e Johansson, identificarono in un paziente con mieloma una nuova immunoglobulina definita IgND e successivamente rilevarono che questa molecola era presente in concentrazione elevata anche nel siero di soggetti atopici. Fu solo nel 1968 a Losanna che una commissione internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) decise di denominare ufficialmente e definitivamente questa immunoglobulina come IgE (6). Negli anni '70 del secolo scorso, furono

Corrispondenza a: Diego Faggian, U.O.C. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, via Giustiniani 1, 35128 Padova. Tel. 0498218481, Fax 0498211290, E-mail diego.faggian@aopd.veneto.it

Ricevuto: 31.08.2017

Accettato: 22.09.2017

Pubblicato on-line: 02.02.2018

DOI: 10.19186/BC_2018.010

introdotte in commercio le prime metodiche di laboratorio per la determinazione delle IgE da parte dell'azienda svedese Pharmacia: il "Paper Radio Immuno Sorbent Test" (PRIST) per la misura delle IgE totali sieriche e il "Radio Allergo Sorbent Test" (RAST) per la misura delle sIgE, cioè orientate verso uno specifico allergene. La scoperta delle IgE ha aperto la strada alla comprensione dei meccanismi delle manifestazioni allergiche e, di conseguenza, allo sviluppo di tecniche diagnostiche e alla standardizzazione degli estratti allergenici. In anni recenti le conoscenze relative a reazioni allergiche non IgE-mediate hanno consentito di acquisire altre metodiche diagnostiche, talvolta utilizzabili nella pratica clinica (7).

La diagnostica delle allergie *in vitro* si avvale sia di test specifici (volti a evidenziare le sensibilizzazioni allergiche) che di test aspecifici (volti a misurare la produzione di IgE totali e/o la flogosi allergica) (8).

TEST SPECIFICI

Queste indagini sono considerate di supporto alla clinica. Si tratta prevalentemente di determinazioni quantitative e standardizzate, che presentano una accettabile affidabilità clinica. Nondimeno, richiedono tempi di risposta più lunghi rispetto agli SPT. Rientrano in questo gruppo la determinazione delle sIgE per estratti completi o componenti molecolari di allergeni, test di screening per atopia, la determinazione di marcatori di membrana cellulari legati all'attivazione dei basofili (9, 10).

TEST ASPECIFICI

Sono anche questi esami di laboratorio quantitativi, alcuni dei quali di facile esecuzione come ad esempio la conta degli eosinofili nasali, che può essere eseguita anche nell'ambulatorio pediatrico. Comprendono la determinazione delle IgE sieriche totali, la determinazione della triptasi, la conta degli eosinofili circolanti nel sangue e nelle secrezioni mucose, la determinazione dei mediatori della flogosi eosinofila. Per quanto riguarda la determinazione dell'istamina, nonostante le premesse teoriche, la sua utilità clinica è inficiata dalla breve emivita di questo mediatore chimico, per cui è utilizzata prevalentemente a scopo di ricerca.

In questo documento si tratterà principalmente delle metodiche *in vitro* volte alla determinazione delle sIgE.

DETERMINAZIONE DELLE IgE SPECIFICHE

La ricerca delle sIgE dirette contro un determinato allergene rimane il più utile tra i test di laboratorio per la diagnosi delle malattie allergiche da ipersensibilità immediata. Si basa su metodiche immunologiche, modificate continuamente negli ultimi anni a partire dal RAST, primo ad essere introdotto nella diagnostica clinica.

La determinazione delle sIgE su siero si basa su varianti applicative del metodo ELISA. In una variante, il

campione del paziente è incubato con una fase solida alla quale è stata adesa e immobilizzata una preparazione di allergeni che a loro volta legano e catturano gli specifici anticorpi IgE eventualmente presenti nel siero del paziente. La reazione prosegue con l'aggiunta di un coniugato enzimatico, costituito da un anticorpo monoclonale che riconosce specificamente gli anticorpi IgE e un enzima in grado di trasformare un substrato generando così un segnale facilmente quantificabile. Il segnale è direttamente proporzionale alla concentrazione delle sIgE verso l'allergene ricercato, eventualmente presente nel campione, ed è utilizzata come parametro per la determinazione quantitativa delle stesse IgE allergene-specifiche. In una seconda variante di questa tecnica, anticorpi IgE presenti nel siero del paziente sono dapprima catturati e immobilizzati, e successivamente cimentati con gli antigeni marcati. A questo processo segue, come nel caso precedente, la rilevazione e successiva determinazione quantitativa. In un terzo tipo di tecnica, gli anticorpi IgE del paziente sono complessati in fase liquida con antigeni marcati. Il complesso allergene-anticorpo è quindi catturato mediante la marcatura dell'antigene. La rilevazione avviene poi utilizzando un coniugato enzimatico che riconosce genericamente gli anticorpi IgE (11). In tutti e tre i casi sono utilizzate curve di calibrazione realizzate con standard a titolo noto riferito al 2° International Reference Preparation WHO 75/502 (12) per le IgE umane. Recentemente è stata implementata una calibrazione aggiornata contro il 3° International Standard WHO 11/234, espressa in unità quantitative kUa/L (13). I risultati ottenuti sono quindi rapportati a tali curve di calibrazione onde generare un risultato quantitativo (14-17).

La quantificazione del segnale appare particolarmente importante dal punto di vista clinico: per quanto riguarda le allergie alimentari è stata dimostrata una stretta correlazione tra concentrazione di sIgE e probabilità di reazione allergica dopo test orale, soprattutto per alcuni alimenti allergenici tra i quali arachidi, latte, uova e pesce (18). Per quanto riguarda le allergie respiratorie, la determinazione quantitativa di sIgE è premessa estremamente importante nel selezionare i pazienti da sottoporre a immunoterapia. E' comunque necessario usare sempre cautela nell'interpretazione del risultato quantitativo, poiché in alcuni casi si possono osservare elevati valori di sIgE in soggetti che non hanno mai mostrato una reazione avversa. Contestualmente, è possibile osservare importanti reazioni cliniche in soggetti con bassi valori di sIgE. I parametri di qualità richiesti per la determinazione delle sIgE (a prescindere da quale dei tre metodi sia utilizzato) si basano sulla specificità delle molecole di anticorpi utilizzate, sull'assenza di legami aspecifici, sul livello di segnale di fondo ("background"), sul controllo dell'interferenza da parte di anticorpi di classe IgG, sulla linearità di diluizione del campione, sull'imprecisione nella serie, e quindi sulla precisione analitica generale del sistema in uso (19). Se questi parametri sono

mantenuti sotto controllo, la determinazione degli anticorpi IgE-specifici è particolarmente utile. Questi anticorpi sono presenti nella gran parte dei pazienti con allergia clinicamente manifesta, e la loro assenza può essere utilizzata con una certa affidabilità per escludere la sensibilizzazione nei confronti dell'allergene testato. Numerose pubblicazioni dimostrano che la determinazione delle sIgE è il miglior indicatore oggi disponibile nella pratica clinica per la diagnosi delle allergie oltre ad essere diffusamente utilizzata nella pratica clinica. L'allergia è un disordine progressivo, in cui la sensibilizzazione rappresenta lo stadio precoce, mentre la comparsa dei sintomi di malattia rappresenta lo stadio successivo. Ne consegue che la presenza di una sensibilizzazione individuabile con esami di laboratorio può essere rilevata in pazienti che ancora non hanno manifestato i segni clinici dell'allergia. Al contrario, nello stadio avanzato della malattia possono essere generati anticorpi specifici contro strutture raramente coinvolte nello scatenamento dei sintomi allergici. Da questa prospettiva, la determinazione delle sIgE può essere utilizzata per stabilire la presenza di sensibilizzazione anche in assenza di sintomatologia clinica. Si tratta quindi di un dato assai utile e potenzialmente idoneo per individuare tempestivamente la presenza di sensibilizzazione.

La determinazione delle sIgE presenta però anche limiti caratteristici, in larga parte attribuibili alla presenza di cross-reattività talvolta difficilmente interpretabili dal punto di vista clinico. Un ulteriore limite è rappresentato dal fatto che gli estratti alimentari utilizzati per la produzione di alcuni allergeni sono instabili e/o presenti in quantità basse, generando così il rischio di risultati falsamente negativi. La continua ricerca in questo settore ha comunque prodotto un costante miglioramento di questi preparati, ed essi presentano una qualità, in termini di completezza allergenica e stabilità, notevolmente superiore agli estratti allergenici per lo SPT. In definitiva, soprattutto nella diagnosi di allergia alimentare, la determinazione delle sIgE gode di un valore predittivo negativo superiore rispetto ai test cutanei.

Le nuove possibilità offerte dalla tecnologia consentono di studiare e isolare allergeni sotto-rappresentati, a partire da un ampio ventaglio di fonti differenti. La possibilità di utilizzare direttamente le molecole allergeniche ottenute anche con le tecnologie ricombinanti supera le problematiche relative alla ridotta concentrazione e instabilità degli allergeni ricavati dagli estratti naturali.

Un allergene sintetico o ricombinante è una molecola frutto delle moderne biotecnologie che rendono possibile l'identificazione prima, e la riproduzione poi, di proteine specifiche da un estratto allergenico (20). La maggior parte degli allergeni ricombinanti è espressa in *Escherichia coli* e ha caratteristiche epitopiche generalmente paragonabili alle molecole naturali, sia dal punto di vista strutturale, sia per quanto concerne la sequenza degli aminoacidi (struttura proteica primaria). La designazione delle molecole allergeniche è stabilita

secondo una nomenclatura ufficiale dell'International Union of Immunological Societies (IUIS) (www.allergen.org), sottocomitato del WHO, e rispecchia fedelmente la classificazione binomiale di C. Limneo in latino. Essi sono raggruppati secondo le loro funzioni biochimiche. Comprendono pertanto gruppi di proteine strutturali, proteine regolatorie, proteine di riserva, proteine patogenesi-relative (proteine PR), e così via. Una migliore comprensione dell'epidemiologia delle allergie mediante analisi *in vitro* con allergeni ricombinanti consente di studiare fenomeni complessi quali differenze nella reattività clinica in funzione dell'area geografica o l'esistenza di reazioni crociate tra fonti allergeniche apparentemente divergenti. Più concretamente, le possibilità offerte dalla determinazione delle sIgE con allergeni ricombinanti per evidenziare profili di sensibilizzazione, consentono di spiegare perché nel Nord e Centro Europa i sintomi caratteristici di un'allergia da frutta e verdura sono spesso orali, mentre i pazienti del Sud Europa presentano più frequentemente sintomi sistemici (21). Lo studio di questi profili, in realtà, dimostra che la sensibilizzazione al Bet v 1 (l'allergene maggiore della betulla) domina nel Nord Europa, indirizzando la sensibilizzazione verso la reattività a omologhi di questa proteina presenti in altre specie, mentre nelle regioni mediterranee dominano le sensibilizzazioni alle proteine responsabili del trasferimento di lipidi ["Lipid Transfer Proteins" (LTP)] con una predominanza di vere allergie alimentari.

Gli allergeni ricombinanti aprono nuovi campi di studio e offrono informazioni finora inaccessibili, soprattutto per la determinazione di profili di reattività e nell'analisi di reazioni crociate. Questo è quanto accade, per esempio, per una fonte allergenica come il polline di graminacee, in cui essi permettono di identificare precisamente gli allergeni molecolari responsabili dei sintomi. Infatti, durante la stagione pollinica, i pazienti con allergia alle graminacee sono esposti contemporaneamente a diversi allergeni di varie specie tassonomicamente vicine (almeno 10), ma tra loro differenti. Tuttavia, non tutte le graminacee, come ad esempio la Codolina (*Phleum Pratense*), rilasciano il loro polline nel picco pollinico, che corrisponde al picco sintomatico (22).

Le differenti specie tassonomiche, pur avendo una struttura aminoacidica e morfologica simile, inducono una produzione abbastanza differenziata di sIgE monomolecolari che possono essere riconosciute attraverso la diagnostica molecolare, permettendo così una valutazione precisa e personalizzata nell'ambito dell'immunoterapia specifica.

Nel caso di piante tassonomicamente vicine che impollinano durante lo stesso periodo, la diagnostica molecolare consente anche di distinguere la fonte allergenica realmente responsabile dei sintomi (23). Mediante analisi degli allergeni ricombinanti, è possibile identificare le proteine in grado di indurre reattività primaria specifica e quelle invece responsabili di reattività crociata, onde guidare la gestione terapeutica

del paziente, soprattutto nell'ambito delle immuno terapie specifiche (ITS) (24-26). Utilizzando la determinazione delle sIgE per allergeni molecolari in associazione con allergeni tradizionali è possibile ottenere profili di reattività che consentono di comprendere meglio l'origine delle reazioni e analizzare le potenziali interazioni eterospecifiche. È inoltre possibile determinare il profilo di sensibilizzazione prima di un trattamento ITS, onde valutare se le reazioni allergiche del paziente siano realmente causate dalla sensibilizzazione verso i marcatori molecolari primari (per esempio il Phleum p1 nel polline di graminacea). In questo caso è molto probabile che il paziente risponda meglio all'immunoterapia, giacché l'estratto del vaccino contiene una quantità adeguata e controllata dell'allergene primario.

Se fino a poco tempo fa, infatti, era possibile definire genericamente un paziente come allergico ad un polline o ad un alimento, ora è possibile definirne l'allergogramma monomolecolare attraverso la "component resolved diagnosis" (CRD) (20, 26).

La CRD consente di identificare il reale fattore scatenante di una reazione allergica a livello molecolare, discriminare tra paziente mono e polisensibile, spiegare i sintomi causati da cross-reazioni e identificare il giusto paziente per la giusta ITS.

Nelle allergie alimentari complesse, la CRD consente inoltre di valutare il rischio e la gravità di una reazione allergica, di ridurre la necessità del Test di Provocazione Orale, di evitare diete non necessarie (suggerendo per esempio che un particolare cibo deve essere solo ben cotto) di identificare il giusto paziente per l'appropriato uso di adrenalina e di smascherare false positività dovute a cross-reattività da panallergeni (ad es., profilina Hev b8 come unica positività verso il lattice K82).

Ci si aspetta ovviamente che gli allergeni ricombinanti possano essere utilizzati, oltre che per la diagnosi, anche per realizzare immunoterapie mirate volte a ridurre il tasso di allergenicità del farmaco a parità di immunogenicità. A ciò si aggiunge il fatto che i sistemi di ultima generazione sono dotati di sensibilità, specificità e riproducibilità superiori, grazie anche alla maggiore automazione e all'impiego di parametri standard internazionali di riferimento.

I test *in vitro* sono generalmente più sensibili, specie per allergeni alimentari. Nell'allergia respiratoria è stato osservato che la determinazione delle sIgE con metodiche di ultima generazione può fornire risultati correlabili in termini qualitativi, ma decisamente più accurati in termini quantitativi, rispetto allo SPT, il quale presenta maggiori problemi di standardizzazione degli estratti. A questi si sommano i ben noti problemi derivanti dalla soggettività dell'interpretazione, dall'interferenza della terapia in uso e dall'impossibilità di esecuzione in presenza di dermatiti. Gli SPT rappresentano ancora oggi uno dei migliori esempi di point of care testing, ma non possono essere considerati test conclusivi od omnicomprensivi nell'algoritmo diagnostico delle allergopatie.

I test *in vitro* presentano caratteristiche di

standardizzazione e completezza diagnostica superiori a quella dei test cutanei (2, 3), e sono effettivamente da considerare il vero "gold standard" diagnostico negli studi clinici, malgrado questo ruolo rimanga ancora di pertinenza dello SPT in numerosi studi.

CONCLUSIONI

Alla luce di quanto descritto, il gruppo di studio SiBioC-Medicina di Laboratorio per l'Allergologia *in vitro* ripropone la necessità di considerare la determinazione *in vitro* delle sIgE come esame di I livello, e non succedaneo allo SPT. Il Gruppo di studio si ripropone inoltre di organizzare nel futuro una serie di incontri in cui si enfatizzi ulteriormente l'importanza della determinazione delle sIgE, anche alla luce della continua implementazione di nuovi allergeni ricombinanti per la diagnostica molecolare.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Johansson SGO. ImmunoCAP Specific IgE test: an objective tool for research and routine allergy diagnosis. *Exp Rev Mol Diagn* 2004;4:273-9.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. I/LA 20. Analytical Performance Characteristics, Quality Assurance, and Clinical Utility of Immunological Assays for Human Immunoglobulin E Antibodies of Defined Allergen Specificities, 3rd ed. October 2016. <https://clsi.org/standards/products/immunology-and-ligand-assay/documents/ila20/> (Ultimo accesso: Dicembre 2017)
3. Clinical and Laboratory Standard Institute. I/LA 37. Analytical Performance Characteristics and Clinical Utility of Immunological Assays for Human Immunoglobulin E (IgE) Antibodies and Defined Allergen Specificities, Approved Guideline, 1st ed. October 2016. <https://clsi.org/standards/products/immunology-and-ligand-assay/documents/ila37/> (Ultimo accesso: Dicembre 2017)
4. Johansson SG, Yman L. In vitro assay for immunoglobulin E, methodology, indications, and interpretation. *Clin Rev Allergy* 1988;6:93-139.
5. Jongkonnee W, Narissara S, Sadudee B, et al. Comparison of specific IgE detection by immunoblotting and fluorescence enzyme assay with in vivo skin prick test. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2017. doi: 10.12932/AP-270217-0035.
6. Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SGO, et al. Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. *Bull World Health Organ* 1968;38:151-2.
7. Plebani M, Borghesan F, Faggian D. Clinical efficiency of in vitro and vivo tests for allergic diseases. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:23-8.
8. Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, et al. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of NIAID-Sponsored Expert Panel. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:S1-S58.
9. Carroccio A, Brusca I, Mansueto P, et al. A comparison between two different in vitro basophil activation tests for

- gluten- and cow's milk protein sensitivity in irritable bowel syndrome (IBS)-like patients. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1257-63.
10. Yunginger JW, Ahlstedt S, Eggleston PA et al. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1077-84.
 11. Paganelli R, Ansotegui IJ, Sastre J, et al. 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;53:763-8.
 12. van Ree R. Analytic aspects of the standardization of allergenic extracts. *Allergy* 1997;52:795-805.
 13. Expert Committee on Biological Standardisation The 3rd International Standard for serum IgE, WHO/BS/ 2013.2220.
 14. Williams PB. Usefulness of specific IgE antibody tests: a progress report. *Ann Allerg Asthma Immunol* 2003;91:518-24.
 15. Faggian D. Valutazione del sistema UNICAP 1000 per il dosaggio delle IgE specifiche in completa automazione. *Biochim Clin* 2004;28:337-44.
 16. Yman L. Standardization of in vitro methods. *Allergy* 2001;56(Suppl. 67):70-4.
 17. Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, et al. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004;53:1459-64.
 18. Liccardi G, Mazzarello MG, Senna G, et al. The degree of serological sensitization to cat allergen in patients with or without cat at home. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2005;37:87-9.
 19. Valenta R, Duchene M, Vrtala S, et al. Recombinant allergens for immunoblot diagnosis of tree-pollen allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:889-94.
 20. Shek LPC, Bardina L, Castro R, et al. Humoral and cellular responses to cow milk proteins in patients with milk-induced IgE-mediated and non-IgE-mediated disorders. *Allergy* 2005;60:912-19.
 21. Frenguelli F, Bonini S, Fiocchi A, et al. Bridging allergologic and botanical knowledge in seasonal allergy: a role for phenology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;105:223-7.
 22. Cox LS, Casale TB, Nayak AS, et al. Clinical efficacy of 300IR 5-grass pollen sublingual tablet in a US study: the importance of allergen-specific serum IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:1327-34.
 23. Moverare R, Elfman L, Vesterinen E, et al. Development of new IgE specificities to allergenic components in birch pollen extract during specific immunotherapy studied with immunoblotting and Pharmacia CAP System™. *Allergy* 2002;57:423-30.
 24. Duran-Tauleria E, Vignati G, Guedan MJA, et al. The utility of specific immunoglobulin E measurements in primary care. *Allergy* 2004;59:35-41.
 25. Tripodi S, Frediani T, Lucarelli S, et al. Molecular profiles of IgE to *Phleum pratense* in children with grass pollen allergy: implications for specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:834-9.
 26. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:891-6.