

Determinación de IgE específica para cinco ácaros en pacientes atópicos y su relación con las pruebas cutáneas. Estudio multicéntrico

Specific IgE and skin prick test to five house dust mite allergens in atopic patients. A multicenter study

LRF Arduso, CD Crisci, NIH Bertoya, J Galimany, A Marcipar, A Massara, M Strass, N Daguerre, D Arduso, R Claeys*

Resumen

El objetivo del presente trabajo ha sido valorar la presencia de anticuerpos IgE frente a las principales especies de ácaros presentes en nuestro medio y su relación con la reactividad cutánea específica.

Se estudiaron 131 pacientes con sintomatología alérgica respiratoria, 68 (51,9%) de ellos con asma, 25 (19,1%) con rinitis y 38 (29%) con ambas manifestaciones; 70 de sexo femenino (53,4%) con edades comprendidas entre los 5 y 50 años ($\bar{x} = 22,9 \pm 13,4$ años), residentes en Rosario.

Se realizó prick-test (SPT) y determinación de IgE específica con extractos de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Blomia tropicalis* (Bt), *Lepidoglyphus destructor* (Ld), *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) y *Chortoglyphus arcuatus* (Cha), obtenidos a partir de cultivos propios de especies locales. Se midió el área de la pápula y calculó el índice de histamina (IH) y los resultados de la IgE específica fueron expresados como el porcentaje de fijación de cuentas totales (%TCB). La mayoría de los pacientes (n= 117; 89,3%) mostró reactividad cutánea a dos o más de las especies estudiadas y la presencia de sensibilizaciones exclusivas resultó rara. En la determinación de los valores de IgE específica, el rango de dispersión del %TCB resultó sumamente amplio y variable para los distintos alergenios. El análisis de los niveles de IgE específica para alergenios de ácaros en función del mayor o menor nivel de reactividad cutánea, mostró una correlación significativa entre el grado de respuesta cutánea (IH) y el nivel de IgE específica (%TCB) para Dp (p=0,05), Bt (p<0,02), Ld (p<0,01) y Tp (p<0,001).

En conclusión, es posible demostrar IgE específica en el suero de aquellos pacientes que presentan un SPT positivo para ácaros y los niveles de la misma están en relación con el tamaño de la respuesta cutánea, al menos para Dp, Bt, Ld y Tp.

Arch Alergia Inmunol Clin 2001; 32:2:45-51.

Abstract

The aim of this study was to assess specific IgE to the main mites found in the houses of Rosario and to determine their relationship with specific skin reactivity.

We studied 131 patients aged 5 to 50 years old ($\bar{x} = 22,9 \pm 13,4$ years): 68 (51,9%) with bronchial asthma, 25 (19,1%) with allergic rhinitis and 38 (29%) with both pathologies. Seventy patients were females (53,4%) with ages between 5 and 50 years ($\bar{x} = 22,9 \pm 13,4$ years), and all of them live in Rosario city. Skin prick test (SPT) and IgE determinations to *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Blomia tropicalis* (Bt), *Lepidoglyphus destructor* (Ld), *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) and *Chortoglyphus arcuatus* (Cha) were carried out in all the subjects.

The wheals obtained from each extract were compared with a positive control (Histamine Cl 1mg/ml). A histamine rate (HR) ≥ 0.5 was recorded as positive (histamine rate = mean wheal diameter of an extract / mean wheal diameter of histamine). The IgE concentrations were expressed as percentage of the total count binding (%TCB).

Most of the patients (n= 117; 89.3%) had a positive SPT to two or more mite species. The dispersion range of specific IgE levels (%TCB) was high and variable according to the mite extract. The correlation coefficients (r) between SPT (HR) and specific IgE (%TCB) to the same mite were significant for Dp (p=0.05), Bt (p<0.02), Ld (p<0.01) and Tp (p<0.001).

In conclusion, patients with positive SPT to house dust mite had demonstrable circulating specific IgE to the same allergens, and those levels correlated with the corresponding wheal diameters.

Arch Alergia Inmunol Clin 2001; 32:2:45-51.

* Asociación de Alergia e Inmunología de Rosario. España 931 (2000) Rosario, Santa Fe, Argentina. aaair@citynet.net.ar

Introducción

Los alérgenos derivados de los ácaros domésticos representan la principal causa de sensibilización entre los pacientes atópicos en Argentina (1-6).

Numerosas especies han sido identificadas en muestras de polvo domiciliario en Rosario (7) y Córdoba (8) superando en muchos casos el nivel de concentración necesario tanto para inducir sensibilización como para desencadenar síntomas en pacientes genéticamente predispuestos (7,9-11).

Estudios multicéntricos previos realizados a partir de la Asociación de Alergia e Inmunología de Rosario han puesto de manifiesto la relevancia del *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis* (1), *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae* y *Chortoglyphus arcuatus* (2) como responsables de reactividad cutánea en pacientes con asma y/o rinitis alérgica residentes en esta región.

La mayoría de los pacientes con síntomas respiratorios debidos a la inhalación de alérgenos, presentan pruebas cutáneas positivas y anticuerpos IgE específicos en el suero. Estudios epidemiológicos han demostrado que la presencia de anticuerpos IgE frente a los ácaros domésticos, constituyen el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de asma (12-14). Sin embargo, los niveles de anticuerpos IgE específicos no siempre correlacionan con las pruebas cutáneas y la naturaleza y severidad de los síntomas (15,16).

En este sentido, dado que no existen datos nacionales acerca de la correlación entre la respuesta cutánea a antígenos de ácaros y los niveles de IgE específica para los mismos, el propósito de este estudio multicéntrico ha sido valorar la presencia de anticuerpos IgE frente a las principales especies de ácaros presentes en nuestro medio y su relación con la reactividad cutánea específica.

Material y métodos

Pacientes

Los criterios de inclusión para este estudio fueron: a) presencia de asma y/o rinitis definidos clínicamente; b) edad comprendida entre los 5 y 50 años; y c) tener al menos una prueba cutánea positiva para alguno de los ácaros estudiados.

Se estudiaron 131 pacientes con sintomatología alérgica respiratoria, 68 (51,9%) de ellos con asma, 25 (19,1%) con rinitis y 38 (29%) con ambas manifestaciones; 70 de sexo femenino (53,4%) y 61 masculino (46,6%), con una edad media de 22,9±13,4 años.

Alergenos

Recolección de muestras domiciliarias

Se efectuaron recolecciones de polvo en 20 domicilios de la ciudad de Rosario. La muestra se obtuvo con

aspiradora de 1.000 watts de potencia, en un metro cuadrado de la superficie de colchones, almohadas y piso bajo la cama, durante 3 minutos en cada sitio. El polvo obtenido se tamizó con malla de 1 mm y el polvo fino resultante se guardó una parte a -20°C para identificación y recuento y otra a 23°C y a 75% humedad relativa ambiente (HRA) para aislamiento y cultivo.

Identificación

Para la identificación y recuento de las diferentes especies de ácaros se utilizó el método de suspensión modificado por EF Caldas y que consiste en colocar 25 mg de polvo tamizado en una placa de Petri pequeña, agregarle 5 ml de una solución salina saturada y 20% de ácido láctico. Los ácaros que se encuentran suspendidos en dicha solución se recogen con la punta de una aguja fina bajo lupa binocular de 45 aumentos, se montan en dos gotas de medio de Hoyer sobre un portaobjetos y se sella con cubreobjetos N° 1 (22 mm) para su posterior análisis con microscopio con aumento de 400x. Se dejó transcurrir al menos una semana para que la cubierta esclerótica se trasparente suficientemente, permitiendo de ese modo identificar en forma correcta cada especie.

Aislamiento y cultivo

En el Área de Alergia e Inmunología de la Cátedra de Patología Médica II, Facultad de Ciencias Médicas de Rosario (UNR), se aislaron bajo lupa binocular de 45 aumentos ácaros vivos de las especies más frecuentemente halladas en los domicilios estudiados. Se separaron 20 acáridos adultos de cada especie en frascos de cultivo celular con alimento para pescado (Shuleet®) con alto contenido proteico en incubadoras a 23°C y a 75% HRA. Los cultivos pertenecientes a las diferentes especies fueron aislados en diferentes incubadoras para evitar la contaminación.

Las especies cultivadas fueron *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Blomia tropicalis* (Bt) *Lepidoglyphus destructor* (Ld), *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) y *Chortoglyphus arcuatus* (Cha).

Separación y preparación de extractos

Para separar los ácaros del medio de cultivo se utilizaron tamices de distinto tamaño de poro (1 mm, 0,5 mm y 0,2 mm) y receptáculo. La extracción de los antígenos de ácaros se realizó a una dilución de 1/50 p/v en bicarbonato amónico 0,2 M, pH 9, durante 24 horas a 4°C. El sobrenadante fue separado mediante vacío con un filtro de nitrato de celulosa estéril con un tamaño de poro de 0,2 mm (Nalgene Company, Rochester, NY, USA).

Estos extractos alérgénicos fueron utilizados tanto para la realización de las pruebas cutáneas como para la valoración de IgE específica.

Pruebas cutáneas

Se realizó prick-test (SPT) en la cara anterior del antebrazo con prick lanceter (*Hollister-Stier, Spokane WA, USA*). La lectura inmediata se realizó a los 15 minutos, midiendo el área de la pápula y calculando el índice de histamina (IH) para los extractos de ácaros, considerando como positivo un índice de histamina $\geq 0,5$ y un diámetro de pápula ≥ 3 mm. El índice de histamina se definió como el cociente entre el promedio de los diámetros ortogonales de la pápula del alérgeno y los de la histamina (clorhidrato de histamina 1 mg/ml) provista por el Laboratorio IPI ASAC Argentina. El IH fue categorizado en cuatro grupos: grado 0 = IH $< 0,5$; grado 1 = IH 0,5-1,0; grado 2 = IH 1,1-1,5; y grado 3 = IH $> 1,5$.

IgE específica

Las proteínas de los extractos de ácaros fueron adsorbidas a pocillos de Immulon 4 (Dynatech Laboratories, Inc., Chantilly, VA). Cada pocillo recibió 1 mg de proteína en 100 ml de 0,1 M de buffer carbonato/bicarbonato de amonio, pH 9,6. Las placas fueron incubadas durante la noche a temperatura ambiente en cámara húmeda y lavadas posteriormente cuatro veces con buffer fosfato 0,1 M, pH 7,5 con 1% de Tween 20 (buffer de lavado). Luego de agregar 100 ml de suero no diluido en cada pocillo, éstos fueron nuevamente incubados durante la noche y posteriormente lavados cuatro veces con el buffer de lavado. Seguidamente se agregó 100 ml de anti-IgE de conejo marcada con yodo¹²⁵ (*Sanofi Diagnostic Pasteur Inc., Chaska, MN*) diluidas 1:2 en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,5 conteniendo 1% de Tween 20 y 1% de BSA (buffer de dilución), se incubó durante la noche y nuevamente lavó para finalmente leer las cuen-

tas por minuto (cpm) en un contador gamma de pozo. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de fijación de cuentas totales (%TCB).

Este procedimiento fue llevado a cabo para cada una de las cinco especies de ácaros estudiados.

Análisis estadístico

Los resultados fueron volcados en una base de datos de EPI INFO v6.0. Para estimar la fuerza de la relación alérgica entre las especies de ácaros, se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman entre los resultados del SPT y del %TCB. Los niveles de IgE específica entre pacientes con SPT (+) y (-) fueron comparados con el test no paramétrico para dos grupos de Kruskal-Wallis. Para todas las pruebas se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

Resultados Pruebas cutáneas

Considerando que el criterio de inclusión establecía que los pacientes debían tener al menos un SPT (+) para un ácaro estudiado, el 90,8% (n = 119) de los pacientes tuvo SPT (+) para Dp, el 87% (n = 114) para Bt, el 75,6% (n = 99) para Ld, el 71,8% (n = 94) para Cha y el 68,7% (n = 90) para Tp.

La mayoría de los pacientes (n = 117; 89,3%) mostró reactividad cutánea a dos o más de las especies estudiadas. La presencia de sensibilizaciones exclusivas resultó rara: 8 casos de reactividad exclusiva a Dp, 3 a Bt y 3 para Ld.

La correlación entre los resultados del SPT expresado como índice de histamina para las cinco especies de ácaros, se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Coefficiente de correlación (r) e intervalo de confianza 95% (IC) para los IH de los SPT para cinco especies de ácaros.

Ácaros	<i>Blomia tropicalis</i>	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	<i>Chortoglyphus arcuatus</i>
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	r = 0,47 IC= 0,04-0,43 f = 34,2	r = 0,52 IC= 0,09-0,43 f = 43,5	r = 0,48 IC= 0,05-0,40 f = 35,4	r = 0,37 IC= -0,04-0,31 f = 18,6
<i>Blomia tropicalis</i>	—	r = 0,43 IC= 0,01-0,35 f = 27,2	r = 0,46 IC= 0,03-0,39 f = 31,7	r = 0,44 IC= 0,02-0,36 f = 28,8
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	—	—	r = 0,56 IC= 0,14-0,46 f = 52,7	r = 0,46 IC= 0,04-0,38 f = 31,6
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	—	—	—	r = 0,59 IC= 0,17-0,49 f = 59,9

Tabla 2 Valores promedios de IgE específica para los cinco ácaros estudiados.

Ácaros	RAST (%TCB)	
	$\bar{x} \pm DS$	Mediana (rango)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	87,6 $\pm$ 104,8	32,2 (0,0-403)
<i>Blomia tropicalis</i>	64,5 $\pm$ 90,4	21,1 (0,0-388)
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	40,3 $\pm$ 86,4	10,6 (0,0-568)
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	72,8 $\pm$ 103,9	26,1 (0,0-591)
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	29,5 $\pm$ 50,5	13,5 (0,0-347)

IgE específica

En la determinación de los valores de IgE específica, el rango de dispersión de la captación de cuentas totales (%TCB) resultó sumamente amplio y variable para los distintos alérgenos. Los valores promedios para las cinco especies estudiadas se observan en Tabla 2.

La correlación entre los resultados del RAST, expresado como porcentaje de captación de cuentas totales para las cinco especies de ácaros, se muestra en la Tabla 3.

Comparaciones entre pruebas cutáneas e IgE específica

Los pacientes que tuvieron prueba cutánea (positiva) para los alérgenos de ácaros presentaron valores de IgE específica marcadamente superiores a aquellos cu-

yas pruebas fueron negativas. Los promedios de los resultados del RAST, en relación con la reactividad en el SPT para las cinco especies de ácaros, se muestran en la Tabla 4.

Cuando se analizaron los resultados del RAST para los alérgenos de ácaros en función del mayor o menor nivel de reactividad cutánea, se observó una correlación significativa entre el grado de respuesta cutánea para Dp, Bt, Ld y Tp, valorado como IH y el porcentaje de cuentas captadas en el radioinmunoensayo para IgE específica. En el caso de Cha, si bien se observa una tendencia en el mismo sentido, es probable que el escaso número de individuos con IH grado 3 no haya permitido alcanzar una diferencia significativa. El promedio de los porcentajes de captación de cuentas totales para cada grado de reactividad cutánea de las diferentes especies de ácaros se muestra en la Tabla 5.

Tabla 3 Coeficiente de correlación (r) e intervalo de confianza 95% (IC) para los %TCB de los RAST para cinco especies de ácaros.

Ácaros	<i>Blomia tropicalis</i>	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	<i>Chortoglyphus arcuatus</i>
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	r = 0,67 IC= 0,31-0,58 f = 106,9	r = 0,39 IC= -0,02-0,31 f = 22,5	r = 0,58 IC= 0,18-0,48 f = 66	r = 0,44 IC= 0,03-0,43 f = 49,6
<i>Blomia tropicalis</i>	—	r = 0,52 IC= 0,10-0,42 f = 47,4	r = 0,84 IC= 0,61-0,78 f = 309,7	r = 0,53 IC= 0,11-0,45 f = 49,6
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	—	—	r = 0,40 IC= -0,02-0,32 f = 23,9	r = 0,73 IC= 0,41-0,65 f = 151
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	—	—	—	r = 0,38 IC= -0,03-0,31 f = 21,4

Tabla 4

Valores medios de IgE específica (%TCB) en relación con la respuesta cutánea (SPT) a los alérgenos de ácaros.

Ácaros	SPT (+)			SPT (-)			p
	n	%	$\bar{x}$ %TCB	n	%	$\bar{x}$ %TCB	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	119	90,8	92,8±107,6	12	9,2	36,1±49,7	0,05
<i>Blomia tropicalis</i>	114	87	70,3±94,8	17	13	25,8±39,5	<0,02
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	99	75,6	50,1±97,3	32	24,4	10,0±11,3	<0,01
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	90	68,7	92,4±115,4	41	31,3	29,9±52,0	<0,001
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	94	71,8	34,6±57,7	37	28,2	16,2±18,9	n.s.

Discusión

Los alérgenos intradomiciliarios representan uno de los factores más importantes en la inducción y desencadenamiento de enfermedades alérgicas respiratorias (17) y la exposición a ácaros del polvo doméstico constituye

un factor de riesgo mayor para el desarrollo de asma y rinitis alérgica perenne (18,19).

La mayoría de los pacientes con enfermedades alérgicas respiratorias en Argentina presenta reactividad cutánea frente a alérgenos de diferentes especies de ácaros (6).

Tabla 5

Valores medios de IgE específica (%TCB) en relación con el grado de reactividad cutánea (IH) para los alérgenos de ácaros.

Ácaros	Grado IH	Pacientes n (%)	% TCB		Significado estadístico
			$\bar{x}$ ±SD	Mediana	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	0	12 (9,2)	36,2±49,7	21,0	p <0,001
	1	37 (28,2)	51,9±70,9	3,0	
	2	47 (35,9)	90,1±116,9	31,6	
	3	35 (26,7)	139,6±110,9	94,9	
<i>Blomia tropicalis</i>	0	17 (13,0)	25,8±39,5	11,8	p <0,005
	1	43 (32,8)	40,0±69,8	16,0	
	2	40 (30,5)	80,9±105,3	28,2	
	3	31 (23,7)	98,5±100,4	78,3	
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	0	32 (24,4)	9,9±11,3	6	p <0,005
	1	45 (34,4)	29,9±54,9	10,3	
	2	27 (20,6)	38,0±100,6	10,8	
	3	27 (20,6)	90,3±114,8	39,5	
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	0	41 (31,3)	29,9±52,0	13,3	p <0,0005
	1	47 (35,9)	74,9±110,3	27,8	
	2	34 (26,0)	109,1±114,3	73,9	
	3	9 (6,9)	120,2±143,5	86,5	
<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	0	37 (28,2)	16,2±18,9	12	p= n.s.
	1	57 (43,5)	30,2±57,7	11	
	2	32 (24,4)	39,9±57,1	17,5	
	3	5 (3,8)	51,7±68,7	22	

En el grupo de pacientes estudiados en este trabajo, la prevalencia relativa de pruebas cutáneas positivas a las cinco especies de ácaros valoradas, fue similar a las referidas en publicaciones previas de nuestro grupo (1,2).

El escaso número de individuos con reactividad cutánea para una única especie sugiere la existencia de una fuerte reactividad cruzada entre géneros, en concordancia con numerosos estudios en diversas poblaciones (20,21). Las especies de ácaros pertenecientes a una misma familia taxonómica presentan varios antígenos con reactividad cruzada. Así, los miembros de una familia resultan ser más antigénicamente similares (22,23). Otra explicación posible para esta aparente polisensibilización a ácaros podría ser atribuida a que en el polvo de casa de los domicilios estudiados en Rosario, frecuentemente se encontró más de una especie compartiendo el mismo nicho ecológico (7), condicionando de esta manera una exposición múltiple.

En nuestro trabajo, la correlación del tamaño de la pápula en el SPT para las cinco especies estudiadas en Rosario fue similar, aunque en un rango menor, a la hallada en un grupo de 80 niños de San Pablo, Brasil (16). Las correlaciones más significativas correspondieron a Tp con Cha ($r = 0,59$) y Ld ($r = 0,56$), especies pertenecientes a diferentes familias, *Acaridae*, *Chortoglyphidae* y *Glycyphagidae* respectivamente, pero que integran todas ellas el grupo de los ácaros de almacenamiento, compartiendo un mismo há-

bitat. Contrariamente a lo que se podría esperar, ya que pertenecen a la misma familia *Glycyphagidae*, la correlación entre la reactividad cutánea para Bt y Ld ($r = 0,43$) resultó menor a la referida en la literatura (24).

La menor correlación de la respuesta cutánea para Dp y Cha ($r = 0,37$) confirmaría la inexistencia de una reactividad cutánea significativa entre estas dos especies (25).

En este grupo de pacientes con sintomatología alérgica respiratoria sensibles a ácaros del polvo doméstico, los niveles de IgE específica para la mayoría de las especies estudiadas resultaron significativamente superiores en aquellos individuos que tenían SPT (positiva). Asimismo, el análisis de regresión para los niveles de IgE específica entre las diferentes especies de ácaros mostró correlaciones significativas que se encuentran dentro del rango hallado por otros autores (16).

Numerosos estudios indican que la SPT y el RAST tienen una precisión diagnóstica similar, aunque existen discrepancias (26). Las mismas en parte se deberían a fuentes de alérgenos comerciales diferentes para ambos métodos, interferencias en el RAST debido a altos niveles de IgE policlinal, diferente expresión de epítopes, etcétera (27).

En este primer trabajo en nuestro medio que valora respuesta cutánea y niveles de IgE específica a ácaros del polvo doméstico, la correlación entre SPT y RAST resultó altamente significativa para la mayoría de las especies

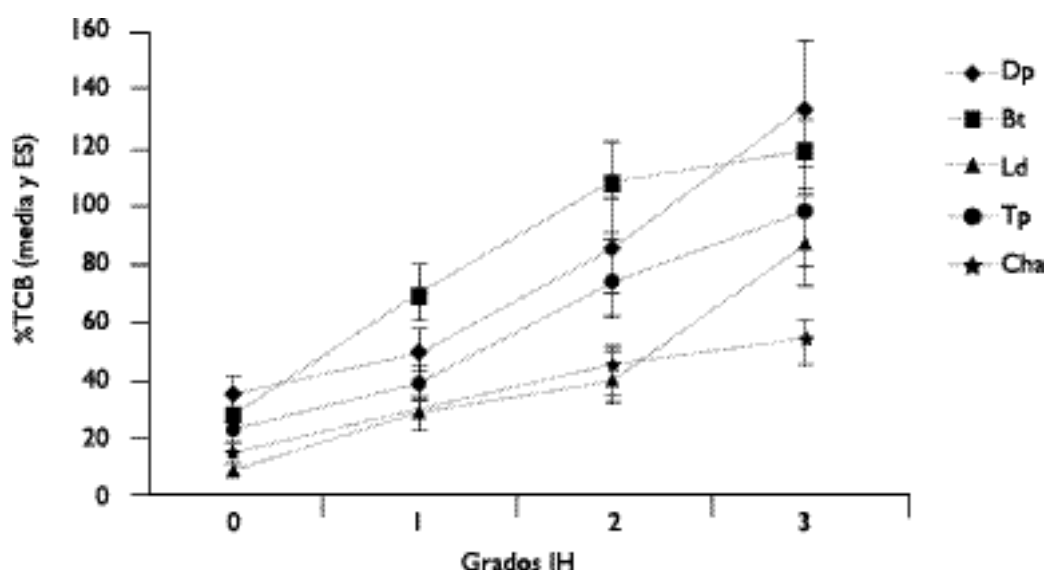


Gráfico 1

Relación entre tamaño de la pápula expresada como índice de histamina (IH) y niveles de IgE específica expresados como porcentaje de captación de cuentas por minuto (%TCB) para cada uno de los cinco ácaros estudiados: *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *Blomia tropicalis* (Bt), *Lepidoglyphus destructor* (Ld), *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) y *Chortoglyphus arcuatus* (Cha).

(Gráfico 1). Esta mayor concordancia se debería a que se evaluó un número importante de pacientes y a que ambos métodos fueron realizados con los mismos extractos antigénicos obtenidos a partir de especies locales.

Centros participantes del estudio

Centro de Alergia del Hospital Centenario, FCM-UNR; Clínica del Tórax; Hospital de Niños Víctor J. Vilela; Sanatorio Británico; Clínica de Enfermedades Alérgicas.

Colaboradores

Los autores de este trabajo agradecen la inestimable colaboración de los siguientes profesionales: Gloria Bandín, Elsa Míndel, Norberto Procopio y Gustavo Arnolt.

Referencias

1. Arduso LRF, Crisci CD, Arduso DD, Procopio N, Muñoz E, Galimany J, Marcipar A, Celentano O, Vacirca AI, Bertoya NHI, Fernández Caldas E. Prevalencia de sensibilización a *Blomia tropicalis* en Rosario. Estudio Multicéntrico. Arch Arg Alergia Inmunol Clín 1996; 27:265-70.
2. Arduso LRF, Crisci CD, Procopio N, Galimany J, Marcipar A, Massara A, Gloria B, Strass M, Daguerre N, Mindel E, Arduso D. Prevalencia de sensibilización a *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae* y *Chortoglyphus arcuatus* en pacientes con asma y/o rinitis residentes en Rosario. Arch Arg Alergia Inmunol Clín 1998; 29(4):15-22.
3. Fernández-Caldas EF, Baena Cagnani CE, López M, Patiño C, Neffen HE, Medina MS, Caraballo LR, Huerta López J, Malka S, Nasipitz CK, Lockey RF. Cutaneous sensitivity to six mite species in asthmatic patients from five Latin American countries. J Invest Allergol Clin Immunol 1993; 3:245.
4. Fernández AM, Patiño CM, Salvucci KD, Fernández-Caldas E, Lockey RF, Baena-Cagnani CE. Prevalence of skin test sensitivity to 6 mite species in asthmatics adults. J Allergy Clin Immunol 1993; 91:354.
5. Neffen H, Fernández-Caldas E, Predolini N, Trudeau WL, Sánchez-Guerra ME, Lockey RF. Mite sensitivity and exposure in the city of Santa Fe, Argentina. J Invest Allergol Clin Immunol 1996; 6:278-82.
6. Crisci CD y Arduso LRF. Aeroalergenos relevantes en Argentina e importancia en asma y rinitis alérgica. Arch Arg Alergia Inmunol Clín 2000; 31(1):32-47.
7. Arduso LRF, Strass M, Grippo S, Crisci CD, Massara A, Bertoya NHI. House dust mite fauna in Rosario, Argentina. Allergy 1999; 54(suppl 52):119.
8. Fernández-Caldas E, Patiño C, Cuello M, Lockey RF, Baena-Cagnani C. Mite allergen levels and mite fauna in pillows and mattresses in Córdoba, Argentina. ACI News 1994 (suppl 2):458.
9. Baena-Cagnani C, Fernández-Caldas E, Patiño C, Swanson MC, Trudeau WL, Cuello M, Lockey RF. Comparison of mite allergen levels in pillows and mattresses. J Allergy Clin Immunol 1993; 91(1):352-356.
10. Patiño C, Cuello M, Trudeau WL, Fernández-Caldas E, Puerta L, Lockey RF, Baena-Cagnani C. Seasonal variation of group I allergens in Argentina. J Allergy Clin Immunol 1994; 93: 174.
11. Predolini N, Araoz J, Fernández-Caldas E, Codina R, Lockey RF, Neffen H. Variación anual de los alérgenos derivados de ácaros (grupo 1) en Santa Fe, Argentina. Arch Arg Alergia Inmunol Clín 1996; 27:16.
12. Platts-Mills, TAE, Chapman MD. Dust mites: Immunology, allergic control and environmental control. J Allergy Clin Immunol 1987; 80:755-75.
13. Pollart SM, Chapman MD, Fiocco GP, Rose G, Platts-Mills TAE. Epidemiology of acute asthma: IgE antibodies to common inhalant allergens at a risk factor for emergency room visits. J Allergy Clin Immunol 1989; 83:875-82.
14. Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TAE, Cogswell N. House dust mite allergen (Der p I) exposure and the development of sensitization and asthma in childhood: A perspective study. N Engl J Med 1990; 323:502-7.
15. Rawle FC, Mitchel EB, Platts-Mills TAE. T-cell responses to the mayor allergen from the dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*, antigen P1: Comparison of patients with asthma, atopic dermatitis and perennial rhinitis. J Immunol 1984; 133:195-201.
16. Rizzo MC, Fernández-Caldas E, Solé D, Nasipitz CK. IgE antibodies to aeroallergens in allergic children in São Paulo, Brazil. J Invest Allergol Clin Immunol 1997; 7:242-8.
17. Custovic A, Simpson A, Woodcock A. Importance of indoor allergens in the induction of allergy and elicitation of allergic disease. Allergy 1998; 53:115-20.
18. Korsgaard J. House-dust mite and asthma. A review on house-dust mites as a domestic risk factor for mite asthma. Allergy 1998; 53:77-83.
19. Marks GB. House dust mite exposure as a risk factor for asthma: benefits of avoidance. Allergy 1998; 53:108-14.
20. Aalberse RC. Allergens from mites: implications of cross-reactivity between invertebrate antigens. Allergy 1998; 53:47-8.
21. Arlian LG, Vyszynski-Moher DL, Fernández-Caldas E. Allergenicity of the mite, *Blomia tropicalis*. J Allergy Clin Immunol 1993; 91:1042-50.
22. Arlian LG, Bernstein IL, Geis DP, Vyszynski-Moher DL, Gallagher JS, Martin B. Investigation of culture medium-free house dust mites. IV. Cross antigenicity and allergenicity between the house dust mites, *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*. J Allergy Clin Immunol 1987; 79:467-70.
23. Yasueda H, Mita H, Akiyama K. Allergens from *Dermatophagoides* mites with chymotryptic activity. Clin Exp Allergy 1993; 23:384-90.
24. Llerena LP, Fernández-Caldas E, Gracia LRC, Lockey R. Sensitization to *Blomia tropicalis* and *Lepidoglyphus destructor* in *Dermatophagoides* spp allergic individuals. J Allergy Clin Immunol 1991; 88:943-50.
25. Puerta L, Fernández-Caldas E, Lockey RF, Caraballo LR. Sensitization to *Chortoglyphus arcuatus* and *Aleuroglyphus ovatus* in *Dermatophagoides* spp allergic individuals. Clin Exp Allergy 1993; 23:117-23.
26. Eriksson NE, Ahlstedt S, Bilin L. Diagnosis of reaginic allergy with house dust, animal dander and pollen allergens in adult patients. A comparison between RAST, skin tests and provocation tests. Int Arch Allergy Appl Immun 1976; 52:335-40.
27. García-Robaina JC, Eraso E, De la Torre F, Guisantes J, Martínez A, Palacios R, Martínez J. Extracts from various mite species contain cross-reactive and noncross-reactive IgE epitopes. A RAST inhibition study. J Invest Allergol Clin Immunol 1998; 8:281-84.