

Nhân một trường hợp tràn dịch đa màng do tăng bạch cầu ái toan được chẩn đoán và điều trị thành công tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

A case report of eosinophilic multiple membrane effusion accompanying hypereosinophilic syndrome

Nguyễn Văn Thái*, Phạm Thảo Tố*,
Phạm Thị Thảo**, Trần Văn Hiền**

*Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,

**Bệnh viện Quân y 175

Tóm tắt

Hội chứng tăng bạch cầu ái toan là tình trạng rối loạn tế bào máu đặc trưng bởi sự sản xuất quá mức bạch cầu ái toan trong tủy xương với tăng bạch cầu ái toan ngoại biên dai dẳng, gây tổn thương cơ quan do giải phóng các chất trung gian bạch cầu ái toan. Là một bệnh lý hiếm gặp, nguyên nhân có thể do các bệnh dị ứng, truyền nhiễm, ung thư và vô căn. Chúng tôi trình bày 1 trường hợp bệnh nhân nam 53 tuổi có số lượng bạch cầu ái toan tăng cao 8910 tế bào/mm³, nhập viện vì đau bụng, khó thở, tràn dịch đa màng. Hội chứng tăng bạch cầu ái toan được chẩn đoán sau khi loại trừ các nguyên nhân gây tăng bạch cầu ái toan khác. Bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn với điều trị bằng corticoid.

Từ khóa: Hội chứng tăng bạch cầu ái toan, tràn dịch đa màng.

Summary

Hypereosinophilic syndrome is a blood disorder characterized by the overproduction of eosinophils in the bone marrow with persistent peripheral eosinophilia, associated with organ damage by the release of eosinophil mediators. As a rare disease, the cause can be caused by allergic, infectious, cancerous and idiopathic diseases. We present a 53-year-old male patient with an absolute eosinophil count of 8910 cells/ μ L, admitted to the hospital because of abdominal pain, dyspnea, and multi-membrane effusion. Hypereosinophilic syndrome was diagnosed after excluding other causes of eosinophilia. The patient responded completely to corticosteroid therapy.

Keywords: Hypereosinophilic syndrome, multi-membrane effusion.

1. Đặt vấn đề

Tăng bạch cầu ái toan (Hypereosinophilic) được định nghĩa khi số lượng bạch cầu ái toan trong máu ngoại vi > 1500 tế bào/ μ L trên 2 lần xét nghiệm với thời gian tối thiểu 4 tuần và hoặc mô bệnh học xác định có tăng bạch cầu ái toan [10]. Hội chứng tăng

bạch cầu ái toan là một bệnh hiếm gặp được đặc trưng bởi mối liên quan giữa tăng bạch cầu ái toan, xâm nhập và gây tổn thương hoặc rối loạn chức năng cơ quan qua giải phóng các chất trung gian bạch cầu ái toan. Biểu hiện lâm sàng của bệnh không đặc trưng vì nó tương quan chặt chẽ với tổn thương cơ quan qua chất trung gian hóa học của bạch cầu ái toan. Các triệu chứng có thể biểu hiện âm thầm dẫn tới bệnh không được phát hiện; tuy nhiên, ở một số bệnh nhân sự tiến triển của các biến chứng tim mạch, tiêu hóa... có thể diễn tiến nhanh chóng dẫn tới tình trạng nguy kịch [8].

Ngày nhận bài: 8/3/2022, *ngày chấp nhận đăng:* 25/4/2022

Người phản hồi: Nguyễn Văn Thái

Email: thaisalem0203@gmail.com - Bệnh viện TWQĐ 108

Qua các nghiên cứu, trong 5 năm trở lại đây tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 chưa có tài liệu nào đăng hoặc báo cáo trường hợp bệnh nhân hội chứng tăng bạch cầu ái toan.

Chúng tôi trình bày trường hợp lâm sàng tràn dịch đa màng (màng phổi, màng tim, màng bụng) do tăng bạch cầu ái toan được chẩn đoán và điều trị có hiệu quả tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

2. Trường hợp lâm sàng

Bệnh nhân nam L.V.I, 56 tuổi, tiền sử khỏe mạnh, không sử dụng thuốc gì trước đó. Vào viện ngày thứ 3 của bệnh do đau bụng vùng thượng vị, khó thở khi gắng sức. Khám tại tuyến trước được chẩn đoán viêm tụy cấp, điều trị không đỡ. Tình trạng lúc nhập viện: Thể trạng trung bình (BMI: 22,58kg/m²), không sốt, phù nhẹ 2 cẳng chân; tim nhịp đều 96 chu kỳ/phút, huyết áp: 100/60mmHg; phổi không có ran, thông khí hai đáy phổi giảm, SpO₂ 95% (thở khí trời); bụng cổ trướng tự do mức độ vừa, gan - lách không to, ấn thượng vị đau nhẹ, mendel (-), ấn điểm Mayo - robson không đau. Kết quả cận lâm sàng: Công thức máu: Hồng cầu: 4.6T/L, hemoglobin: 143g/l, bạch cầu: 11,08G/L, neutro: 39%, eosino: 32,5% (3,6G/L), tiểu cầu: 168g/l, ure: 8,9 mmol/l, creatinin: 110micromol/l, amylase: 38u/l, lipase: 14,5u/l, GOT: 132u/l, GPT 198,8u/l, albumin: 36,4g/l; protein 61,2g/l, proBNP: 4566pg/ml, troponin I: 133,83ng/ml.

Chẩn đoán hình ảnh: Siêu âm ổ bụng: Dịch ổ bụng tự do lượng nhiều; siêu âm Doppler tim có dày thất trái, chức năng tâm thu thất trái trong giới hạn bình thường, tràn dịch màng ngoài tim 6mm; Siêu âm màng phổi có tràn dịch màng phổi hai bên (màng phổi phải 200ml, màng phổi trái 50ml); Hình ảnh chụp cắt lớp vi tính động mạch vành cho thấy tràn dịch màng ngoài tim và không thấy tổn thương hệ động mạch vành.

Nhận định chẩn đoán ban đầu: Tràn dịch đa màng (màng phổi, màng bụng, màng tim) chưa rõ nguyên nhân.

Điều trị bằng lợi tiểu trong 5 ngày, tình trạng đau bụng và tràn dịch đa màng không cải thiện. Xét nghiệm lại công thức máu thấy bạch cầu ái toan tiếp tục tăng lên 57,1% (8,91G/L). Định lượng nồng độ IgE tăng rất cao (969µmol/mL). Tủy đồ tăng bạch cầu ái toan, các xét nghiệm chẩn đoán rối loạn tăng sinh tủy

(gen FIP1L1/PDGFRA, JAK2 V617F và Philadelphia (BCR/ABL) P 190) âm tính. Kết quả xét nghiệm dịch màng phổi: Dịch tiết, có sự thâm nhiễm bạch cầu ái toan (protein 30,6g/l, rivalta dương tính, tỷ lệ bạch cầu ái toan 5%). Các xét nghiệm hóc môn tuyến giáp và huyết thanh chẩn đoán kí sinh trùng đều âm tính (Bảng 1). Khai thác bệnh nhân không có tiền sử dị ứng với các thuốc hoặc dị nguyên khác cũng như không có bằng chứng bệnh lý ác tính. Từ đây chúng tôi đưa ra chẩn đoán xác định: Hội chứng tăng bạch cầu ái toan biến chứng tràn dịch đa màng. Bệnh nhân được khởi động ngay liệu pháp corticoid với liều methyl prednisolone 40mg/24h. Sau điều trị 7 ngày, bệnh nhân hết đau bụng, tình trạng tràn dịch đa màng hết, xét nghiệm bạch cầu eosino và dấu ấn tim mạch trở về bình thường (Bạch cầu 10,43G/L; Neutro 66,1%; Eosino: 0,12%; ProBNP 77pg/ml; Troponin I 6,23ng/L). Bệnh nhân tái khám sau 1 tháng, 3 tháng trong tình trạng khỏe mạnh, không khó thở, không đau bụng, không phù, các xét nghiệm công thức máu, sinh hoá chức năng gan thận, men tim trong giới hạn bình thường; siêu âm ổ bụng, màng phổi, màng ngoài tim không có dịch. Hiện tại đã ngừng corticoid.

Bảng 1. Kết quả cận lâm sàng

Chỉ số	Kết quả	Giá trị bình thường
Sán lá gan lớn	0,019 (âm tính)	
Sán lá gan bé	0,069 (âm tính)	≤ 0,177 OD
Sán dây chó IgG	0,08 (âm tính)	0 - 0,3 OD
Giun đầu gai IgG	0,13 (âm tính)	< 0,3 OD
Giun lươn IgG	0,16 (âm tính)	< 0,2 OD
Giun tròn IgM/IgG	0,3/0,57 (âm tính)	< 1 S/Co
Sán lá phổi IgG	0,13 (âm tính)	< 0,2 OD
Giun chỉ IgG	0,12 (âm tính)	< 1 S/Co
Sán dây lợn IgM	0,03 (âm tính)	< 0,3 S/Co
Sán dây lợn IgG	0,1 (âm tính)	< 0,3 OD
Giun xoắn IgM	0,09 (âm tính)	< 1 S/Co
Giun xoắn IgG	0,01 (âm tính)	< 0,3 OD
Sán máng IgG	0,02 (âm tính)	0 - 0,2 OD
Giun đũa IgG	0,06 (âm tính)	< 0,1 OD
Giun đũa chó mèo	0,29 (âm tính)	≤ 0,3 OD
Định lượng T3	1,45 nmol/L	1,3 - 3,1nmol/L
Định lượng FT4	15,85 pmol/L	12 - 22pmol/L
Định lượng TSH	2,03 µIU/ml	0,27 - 4,2IU/ml

3. Bàn luận

Hội chứng tăng bạch cầu ái toan được Chusid và cộng sự mô tả lần đầu vào năm 1975 và đưa ra tiêu chuẩn chẩn đoán hội chứng tăng bạch cầu ái toan, bao gồm: Tăng bạch cầu ái toan > 1500 tế bào/mm³ kéo dài trên 6 tháng (hoặc tử vong trong vòng 6 tháng do các triệu chứng liên quan tới tăng bạch cầu ái toan) và không có nguyên nhân gây tăng bạch cầu ái toan thứ phát đồng thời có các biểu hiện của tăng bạch cầu ái toan bao gồm triệu chứng tổn thương tại da, tim, phổi, hệ thống tiêu hóa hoặc thần kinh [2]. Năm 2010, các tiêu chuẩn chẩn đoán này đã được sửa đổi do một số bệnh nhân hội chứng tăng bạch cầu ái toan có thể tiến triển nặng, gây tổn thương di chứng lâm sàng trước thời gian được chẩn đoán 6 tháng được nêu trong định nghĩa ban đầu của Chusid, do vậy nên loại bỏ thời gian này. Thay vào đó, người ta sử dụng tiêu chuẩn xét nghiệm số lượng bạch cầu ái toan > 1500 tế bào/mm³ ở ít nhất hai lần xét nghiệm trong thời gian tối thiểu 4 tuần (ngoại trừ các trường hợp cần chẩn đoán và điều trị ngay lập tức vì rối loạn chức năng cơ quan liên quan đến tăng bạch cầu ái toan) và hoặc sự thâm nhiễm bạch cầu ái toan đáng kể ở mô và cơ quan nội tạng mà không cần yêu cầu có tình trạng tổn thương các cơ quan này cũng như loại trừ các nguyên nhân thứ phát gây tăng bạch cầu ái toan như nhiễm ký sinh trùng hoặc virus, dị ứng, do thuốc hoặc hóa chất gây ra [9]. Bệnh nhân của chúng tôi tại thời điểm nhập viện vì đau bụng, tức ngực, có tràn dịch đa màng (màng bụng, màng tim, màng phổi), nồng độ ProBNP tăng, xét nghiệm số lượng bạch cầu ái toan ở máu ngoại chiếm 32,5% tế bào bạch cầu (3200 tế bào/mm³). Quá trình theo dõi, sau 5 ngày điều trị kể từ khi nhập viện, triệu chứng bệnh không đỡ. Kết quả xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu lần 2 cho thấy tỷ lệ bạch cầu ái toan tiếp tục tăng cao 57,1% (8910 tế bào/mm³). Chúng tôi tiến hành chọc dịch màng phổi thấy rằng có sự xâm nhập bạch cầu ái toan trong dịch màng phổi (5%). Các xét nghiệm chẩn đoán bệnh lý tân tăng sinh tủy (gen FIP1L1/PDGFRA, JAK2 V617F và Philadelphia (BCR/ABL) P 190) âm tính cũng như xét nghiệm kí sinh trùng âm tính ở bệnh nhân không có tiền sử dị ứng các dị nguyên. Mặc dù chưa đủ tiêu chuẩn thời gian tăng bạch cầu ái toan giữa 2 lần xét nghiệm trong máu ngoại vi tối thiểu 4 tuần nhưng theo Valent P. trong một số trường hợp cần chẩn đoán và điều trị ngay lập

tức vì rối loạn chức năng cơ quan liên quan tới tăng bạch cầu ái toan không nhất thiết phải đủ 4 tuần [8]. Từ đó chúng tôi đưa ra nhận định: Tràn dịch đa màng do tăng bạch cầu ái toan.

Hội chứng tăng bạch cầu ái toan gồm có 2 biến thể:

1. Thể tăng sinh dòng tủy: Thường liên quan đến việc mất đoạn nhiễm sắc thể số 4 tại vị trí CHIC2 tạo ra gen lai FIP1L1/PDGFRA (có hoạt tính tyrosinkinase gây chuyển dạng tế bào máu). Lâm sàng thường biểu hiện gan lách to, tăng nồng độ vitamin B12 huyết thanh, thiếu máu, giảm tiểu cầu, bạch cầu ưa acid giảm đoạn và có không bào, xơ tủy. Những bệnh nhân nhóm này thường phát triển xơ cơ. Thường gặp ở bệnh nhân nam giới, trẻ tuổi, có tiên lượng xấu, đáp ứng kém với điều trị (có thể đáp ứng với imatinib - thuốc ức chế tyrosine kinase).

2. Thể Lympho: Bạch cầu ái toan được sinh ra bởi tăng sản xuất yếu tố tạo tế bào bạch cầu ái toan, đặc biệt là interleukin-5 (IL-5), bởi hoạt hóa tế bào Lympho T. Bệnh nhân thường biểu hiện triệu chứng: Phù, bắt thường tại da hoặc cả hai; tăng gammaglobulin (đặc biệt là IgE); phức hợp miễn dịch lưu hành (đôi khi có bệnh huyết thanh). Bệnh đáp ứng tốt với corticoid và đôi khi tiến triển thành u lympho tế bào T.

Các biến thể hội chứng tăng bạch cầu ái toan khác bao gồm bạch cầu kinh leukemia dòng bạch cầu ưa acid; hội chứng Gleich (tăng bạch cầu ưa acid và phù chu kỳ); hội chứng tăng bạch cầu ưa acid gia đình có bất thường 5q3-33 và các hội chứng đặc hiệu về cơ quan khác [12].

Hội chứng tăng bạch cầu ái toan là một bệnh cảnh hiếm gặp, tỷ lệ gặp khoảng 0,035/100.000 bệnh nhân thường gặp ở nam giới, độ tuổi từ 20 đến 50 tuổi, cũng có thể gặp ở trẻ em [4]. Biểu hiện lâm sàng ban đầu các trường hợp bệnh thường âm thầm không đặc trưng. Thường gặp là mệt mỏi, ho, khó thở, đau cơ, phát ban và tổn thương võng mạc. Tăng bạch cầu ái toan có thể gây tổn thương nhiều cơ quan, bao gồm tim, da, thần kinh, phổi, lách, gan, mắt và đường tiêu hóa. Tổn thương tim mạch là nguyên nhân chính gây tử vong ở bệnh nhân tăng bạch cầu ái toan. Bệnh cơ tim và loét nội tâm mạc là triệu chứng phổ biến. Cơ chế do bạch cầu ái toan và chất trung gian lắng đọng trên nội tâm mạc, dẫn đến thoái hóa, xơ hóa cơ tim [5]. Biểu hiện tổn thương ở hệ thần kinh cũng rất khác nhau, có thể

hình thành huyết khối gây thuyên tắc mạch não dẫn đến các cơn thiếu máu cục bộ hoặc đột quỵ. Ngoài ra có thể gặp rối loạn chức năng thần kinh trung ương (suy giảm trí nhớ, thay đổi hành vi), cũng như bệnh thần kinh ngoại vi (rối loạn vận động, cảm giác) [6]. Tổn thương phổi thường gặp ở 40% bệnh nhân, các triệu chứng bao gồm ho khan kéo dài, tổn thương thâm nhiễm phổi khu trú hoặc lan tỏa, có thể tiến triển gây xơ phổi [7]. Hệ thống tiêu hóa có thể bị tổn thương do sự xâm nhập của tế bào ái toan vào lớp biểu mô, tác động của các cytokin gây viêm cũng như rối loạn hệ thần kinh ruột nội tại. Biểu hiện triệu chứng thường không rõ rệt như đau bụng, buồn nôn, tiêu chảy và khó nuốt [11]. Bệnh nhân của chúng tôi có biểu hiện tổn thương tại hệ tim mạch (tràn dịch màng ngoài tim, tăng enzym tim), hệ thống hô hấp (tràn dịch màng phổi, thâm nhiễm bạch cầu ái toan), hệ thống tiêu hóa (đau bụng, tràn dịch ổ bụng). Tại Việt Nam, năm 2021 Nguyễn Trường Duy cũng mô tả một trường hợp bệnh cơ tim thâm nhiễm eosinophil được chẩn đoán điều trị thành công tại Bệnh viện Chợ Rẫy [1].

Việc điều trị hội chứng tăng bạch cầu ái toan dựa vào mức độ tăng bạch cầu ái toan hoặc rối loạn chức năng cơ quan liên quan, cần giảm bạch cầu ái toan nhanh chóng. Một số biện pháp điều trị thường được sử dụng phổ biến bao gồm:

- Corticoid là biện pháp điều trị được chỉ định rộng rãi và có hiệu quả cao trong điều trị hội chứng tăng bạch cầu ái toan. Một nghiên cứu đa trung tâm trên 188 bệnh nhân tăng bạch cầu ái toan thấy rằng 81% bệnh nhân đã được điều trị ban đầu bằng corticoid, liều trung bình được sử dụng 40mg/ngày. Gần 75% trường hợp sử dụng corticoid duy trì với liều 10mg/ngày trong thời gian 2 tháng đến 20 năm. 85% bệnh nhân dùng đơn trị liệu corticoid đã thuyên giảm một phần hoặc hoàn toàn trong vòng 1 tháng kể từ được điều trị [12]. Những nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng bệnh nhân có nồng độ IgE huyết thanh cao, hội chứng tăng bạch cầu ái toan thể lympho đáp ứng tốt với corticoid do làm giảm mức độ bất thường tế bào T CD3⁺CD4⁺. Bệnh nhân tăng bạch cầu ái toan thể tăng sinh tủy đáp ứng kém với liệu pháp corticoid [3]. Chúng tôi sử dụng methylprednisolon 40mg/ngày, đường tĩnh mạch, chỉ sau 7 ngày điều trị bệnh nhân đáp ứng nhanh và gần như hoàn toàn, hết đau bụng và tràn dịch đa màng, bạch cầu ái toan, enzym tim trở

về trị số bình thường, sau đó giảm liều dần và ngừng corticoid sau 30 ngày. Điều này giúp củng cố hơn chẩn đoán hội chứng tăng bạch cầu ái toan của chúng tôi.

- Hydroxyurea là thuốc được khuyến cáo điều trị hàng thứ hai sau corticoid, là loại thuốc trước đây sử dụng điều trị các bệnh lý tủy ác tính, giá thành thấp tuy nhiên có nhiều tác dụng phụ trên hệ tạo máu, tiêu hóa cũng như hiệu quả thấp hơn corticoid trong việc làm giảm nhanh số lượng tế bào bạch cầu ái toan [3].

- Interferon- α có hiệu quả tiềm năng trong điều trị nhiều thể tăng bạch cầu ái toan do tác động đến nhiều tế bào ngoài bạch cầu ái toan còn ức chế tăng sinh tế bào TCD4 và IL-5 từ TCD3⁺CD4⁺ [3]. IFN- α được chỉ định khi bệnh nhân không đáp ứng với điều trị corticoid và hydroxyurea.

- Các chất ức chế enzym tyrosine kinase: có vai trò quan trọng trong điều trị hội chứng tăng bạch cầu ái toan thể tăng sinh tủy, mặc dù có nhiều hoạt chất khác nhau nhưng nhiều nghiên cứu thấy rằng imatinib có hiệu quả tốt nhất hiện nay [5].

- Chất điều hòa miễn dịch (Mepolizumab) ức chế IL-5 được sử dụng trong điều trị các bệnh lý do tăng bạch cầu ái toan như hen phế quản, viêm dạ dày ruột và bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan. Liệu pháp này chưa được chấp thuận rộng rãi, cần có nhiều nghiên cứu để đánh giá tính hiệu quả của liệu pháp này, đặc biệt trong các trường hợp tăng bạch cầu ái toan nặng đe dọa tử vong nhưng đã thất bại với các liệu pháp điều trị cơ bản trước đây [3].

- Các biện pháp điều trị khác như thuốc gây độc tế bào (cyclophosphamide, cyclosporin...), ghép tủy không được xem là phương pháp điều trị ban đầu nhưng có thể xem xét sử dụng khi các phương pháp điều trị khác không đáp ứng điều trị [3].

4. Kết luận

Hội chứng tăng bạch cầu ái toan là tình trạng bệnh lý hiếm gặp, chẩn đoán dựa vào tăng nồng độ tế bào bạch cầu ái toan > 1500 tế bào/mm³ và tổn thương/ rối loạn chức năng do thâm nhiễm bạch cầu ái toan. Nên nghĩ tới tràn dịch đa màng do tăng bạch cầu ái toan ở các trường hợp có tăng nồng độ bạch cầu ái toan trong máu ngoại vi đặc biệt khi đã có tổn thương hệ tim mạch, hô hấp thì cần chẩn đoán và điều trị sớm mà không cần đợi tiêu chuẩn tăng bạch cầu ái toan ít

nhất 4 tuần. Điều trị chủ yếu bằng corticoid, có thể kết hợp với imatinib khi có đột biến gen FIP1L1-PDGFR4.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Trường Duy (2021) *Một trường hợp bệnh cơ tim thâm nhiễm EOSINOPHIL*. Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh 25(2), tr. 112-119.
2. Chusid MJ et al (1975) *The hypereosinophilic syndrome: Analysis of fourteen cases with review of the literature*. Medicine (Baltimore) 54(1): 1-27.
3. Cogan E, Roufosse F (2012) *Clinical management of the hypereosinophilic syndromes*. Expert Rev Hematol 5(3): 275-89. quiz 290.
4. Crane MM et al (2010) *Incidence of myeloproliferative hypereosinophilic syndrome in the United States and an estimate of all hypereosinophilic syndrome incidence*. The Journal of allergy and clinical immunology 126(1): 179-181.
5. Curtis C, Ogbogu P (2016) *Hypereosinophilic Syndrome*. Clin Rev Allergy Immunol 50(2): 240-251.
6. Moore PM, Harley JB, Fauci AS (1985) *Neurologic dysfunction in the idiopathic hypereosinophilic syndrome*. Ann Intern Med 102(1): 109-114.
7. Parrillo JE, Fauci AS, Wolff SM (1977) *The hypereosinophilic syndrome: dramatic response to therapeutic intervention*. Trans Assoc Am Physicians 90: 135-44.
8. Radin M et al (2018) *Severe Multi-Organ Failure and Hypereosinophilia: When to Call It "Idiopathic"?*. Journal of investigative medicine high impact case reports, 6, 2324709618758347.
9. Simon HU et al (2010) *Refining the definition of hypereosinophilic syndrome*. J Allergy Clin Immunol 126(1): 45-49.
10. Valent P et al (2012) *Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes*. J Allergy Clin Immunol 130(3): 607-612.
11. Zuo L, Rothenberg ME (2007) *Gastrointestinal eosinophilia*. Immunol Allergy Clin North Am 27(3): 443-555.
12. Ogbogu PU et al (2009) *Hypereosinophilic syndromes: A multicenter, retrospective analysis of clinical characteristics and response to therapy*. J Allergy Clin Immunol 124(6): 1319-25.e3. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.022.