

TESTS DE PROVOCATION CHEZ L'ENFANT : INCIDENCE DU GLYCÉROL CONTENU DANS LES EXTRAITS ALLERGÉNIQUES

P. RUFIN, M. C. VONLANTHEN, M. R. BENOIST et J. PAUPE

RÉSUMÉ

Des tests de provocation bronchique à un diluant contenant 10 p. cent de glycérol ont été réalisés chez 25 enfants asthmatiques âgés de 5 à 14 ans 1/2. Chaque patient avait présenté préalablement un bronchospasme après un test de provocation bronchique à la poussière de maison. Quatre fois, soit dans 16 p. cent des cas, le diluant entraîne un bronchospasme significatif (augmentation des RVAS ≥ 100 p. cent). L'horaire de cette réaction est variable, pouvant être retardée. Ainsi pour rendre plus importante la fiabilité des tests de provocation bronchique spécifiques aux allergènes, il est nécessaire soit de contrôler le résultat en effectuant un test au diluant, soit d'utiliser un allergène lyophilisé dilué dans du sérum physiologique.

SUMMARY

Bronchial provocative tests in children : importance of the glycerol diluent in allergy extracts. — Bronchial provocative tests with a diluent containing 10 % glycerol have been performed in 25 asthmatic children aged 5 to 14 1/2. Each one had previously manifested bronchospasm after bronchial provocative tests with house dust extracts. Four cases, i.e. 16 % of the series, showed significant bronchospasm (increase of RVAS more than 100 %) from the diluent. The latent period of this reaction is variable, at times prolonged. Hence to increase the reliability of bronchial provocative tests in cases with specific allergies, it is necessary either to have a control test with the diluent, or to use a lyophilized allergen diluted in physiologic saline.

Les tests de provocation bronchique (TPB) spécifiques d'un allergène sont de plus en plus employés pour confirmer la responsabilité de cet allergène chez un asthmatique.

Dans la majorité des cas, comme il est souhaitable de le faire, le même extrait allergénique est utilisé, pour les tests cutanés et pour le TPB. Or les extraits allergéniques commercialisés contiennent des substances susceptibles d'entraîner une réaction bronchospastique non spécifique et en particulier l'éthylmercurithiosalicylate de sodium, le phénol et le glycérol.

Le but de ce travail est d'étudier le risque d'artefact faussement positif induit par le glycérol utilisé comme conservateur.

MATÉRIEL

Des TPB à la poussière de maison sont réalisés chez 25 enfants asthmatiques (14 garçons et 11 filles) âgés de 5 à 14 ans et demi (âge moyen : 9,5 ans ; taille moyenne : 134 cm).

Service d'Allergologie et de Pneumologie Infantiles (Pr J. Paupe), Hôpital Necker - Enfants-Malades.

Tirés à part : Dr P. RUFIN, Service d'Allergologie et de Pneumologie Infantiles, Hôpital Necker - Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75730 PARIS CEDEX 15.

Reçu le 17 février 1981.

Ces enfants sont hospitalisés pour le bilan de leur asthme dont le diagnostic est basé sur les critères suivants :

- crises dyspnéiques paroxystiques avec sibilances expiratoires,
- existence d'une hyperexcitabilité bronchique au carbachol.

Les traitements en cours sont arrêtés depuis au moins 48 heures en ce qui concerne les bronchodilatateurs et le cromoglycate disodique et 10 jours en ce qui concerne les corticoïdes.

Tous les enfants ont eu des tests cutanés positifs à la poussière de maison et ils ne sont admis dans l'étude que si le TPB à la poussière de maison est positif.

Abréviations utilisées dans le texte :

J1, J2 ou J3 : jour 1, 2 ou 3.

H : taille.

RVAS : résistances spécifiques des voies aériennes.

TPB : test de provocation bronchique.

VEMS : volume expiratoire maximum en une seconde.

VGT : volume gazeux intrathoracique.

RUFIN P., VONLANTHEN M.C., BENOIST M.R., PAUPE J. — Tests de provocation bronchique chez l'enfant : incidence du glycérol contenu dans les extraits allergéniques. *Rev. fr. Allergol.*, 1981, 21 (n° 2), 103-107.

MÉTHODE

Les TPB sont effectués en l'absence d'obstruction bronchique au repos : auscultation pulmonaire normale, valeurs normales des paramètres spirographiques et/ou des résistances spécifiques des voies aériennes (RVAS).

Chaque enfant a eu dans un premier temps un TPB spécifique à la poussière de maison et dans un deuxième temps un TPB au diluant glycérosalin.

TEST DE PROVOCATION BRONCHIQUE A LA POUSSIÈRE DE MAISON

L'allergène utilisé pour réaliser un test de provocation bronchique est un extrait de poussière de maison de l'Institut Pasteur. Le même allergène est employé pour les tests cutanés effectués en intradermoréaction.

Pour réaliser le TPB, deux ampoules de 0,5 ml de poussière de maison au 1/20 sont utilisées ; elles correspondent à 100 mg d'extrait sec glyciné à 50 p. cent et phénolé à 5 p. mille.

Ces deux ampoules sont diluées dans 4 ml de sérum physiologique afin d'obtenir une solution qui contient 100 µg par litre de dispersat avec une concentration en glycérol de 10 p. cent et en phénol de 1 p. mille. L'aérosolisation est réalisée avec un générateur¹ dont le débit est de 20 litres par minute. Le diamètre des particules est inférieur à 5 µ. L'aérosol est stocké dans une cloche volumétrique. Le paramètre de surveillance du calibre bronchique est la mesure des RVAS. Cette mesure est effectuée dans un pléthysmographe de type barométrique². Le sujet est branché par l'intermédiaire d'un robinet à trois voies qui permet la surveillance des RVAS pendant l'inhalation de l'aérosol. Le tracé s'inscrit sur une table XY Omni-graphic 2 000. Le sujet respire à son rythme propre, au niveau du volume courant. Il expire dans un sac de Douglas.

Les RVAS sont mesurées avant l'inhalation, puis à des temps arbitrairement déterminés après la fin de cette inhalation : 5, 30, 60 et 240 minutes. Le sujet est cependant gardé sous surveillance clinique pendant les quatre heures. Le test est considéré comme positif si les RVAS augmentent de 100 p. cent. L'allergène est inhalé dans tous les cas entre 9 h et 10 h du matin.

Le premier jour de l'étude (J1) chaque sujet inhale 1 200 µg de poussière de maison. Si le test est négatif, un deuxième TPB est réalisé avec une dose de 3 600 µg dans un intervalle de temps compris entre 48 h et 1 semaine (J2). Pendant ce laps de temps aucune injection d'allergène n'a lieu.

TEST DE PROVOCATION BRONCHIQUE AU GLYCÉROL

Le TPB au diluant (J3) est réalisé après un TPB

positif à la poussière de maison dans un intervalle de temps compris entre 48 h et 1 semaine.

Le diluant est un mélange glycérosalin fourni par les Laboratoires Stallergènes, la composition est :

NaCl	5,8 g
Glycérine	56 g
Eau distillée	q.s.p. 100 ml

Afin d'obtenir une concentration en glycérol équivalente à celle qui se trouve dans la solution utilisée pour le TPB à la poussière, il est nécessaire de diluer 1 ml de mélange glycérosalin dans 4 ml de sérum physiologique.

La méthodologie de l'aérosolisation et de la surveillance du calibre bronchique est la même que lors du TPB à la poussière.

Le sujet inhale à J3 soit 12 litres soit 36 litres de l'aérosol du mélange glycérosalin selon que le TPB à la poussière est positif après 1 200 µg ou 3 600 µg.

RÉSULTATS

Soixante-quatre TPB sont réalisés chez vingt-cinq enfants asthmatiques :

- 25 fois avec 1 200 µg de poussière,
- 11 fois avec 12 litres de diluant glyciné,
- 14 fois avec 3 600 µg de poussière,
- 14 fois avec 36 litres de diluant glyciné.

En effet, 11 fois le TPB à la poussière est positif après 1 200 µg et 14 fois après 3 600 µg.

Le tableau I donne les caractéristiques des 25 sujets étudiés et les valeurs basales des RVAS avant le TPB positif à la poussière et avant le TPB au diluant.

La valeur théorique des RVAS est calculée selon l'équation suivante :

$$RVAS = 0,01 H + 3,45 (\text{cmH}_2\text{O/l} \times \text{s}^{-1} \times \text{VGT}).$$

H = taille en centimètres [4].

La valeur moyenne des RVAS est de 4,39 cmH₂O/l × s⁻¹ × VGT (SEM ± 0,25) avant le TPB positif à la poussière, soit 90 p. cent de la valeur théorique.

Au cours de l'ensemble de 64 TPB aucun incident n'est survenu.

Sur un total de 25 TPB au glycérol, le test est positif 4 fois, soit dans 16 p. cent des cas. Enfin dans un cinquième cas, il existe une augmentation des RVAS de 88 p. cent.

Sur les 4 TPB positifs, une fois il s'agit d'un sujet ayant inhalé 12 litres de diluant et trois fois 36 litres.

Le tableau II indique les pourcentages de variation des RVAS en fonction du temps par rapport à la valeur basale.

Le tableau III compare l'horaire de la réponse bronchique à la poussière et au glycérol. Dans trois cas le bronchospasme induit par la poussière est labile et n'est retrouvé qu'à la 5^e minute. Dix-neuf fois soit dans 76 p. cent des cas, la réponse est mise en évidence à la 60^e minute après l'inhalation. Huit fois

¹ Gauthier, Paris.

² Fenyves et Gut, Bâle.

TABLEAU I
CARACTÉRISTIQUES DES 25 SUJETS TESTÉS ; VALEURS BASALES DES RVAS AVANT LES TESTS

SUJETS	SEXE	AGE	TAILLE (cm)	VALEUR THÉORIQUE DES RVAS (cmH ₂ O/l × s ⁻¹ × VGT)	VALEUR BASALE LORS DU TPB POUSSIÈRE	VALEUR BASALE LORS DU TPB DILUANT GLYCÉRINÉ
1	M	8	119	4,73	3,8	3,5
2	F	14	164	5,18	6,4	6,6
3	M	6	113	4,67	3,8	5,7
4	M	11	139	4,93	3,5	3,8
5	F	9	125	4,79	4,6	4,8
6	F	7	121	4,75	3,6	4,4
7	F	5,5	113	4,67	5,5	6,1
8	F	11	143	4,97	6,2	6,1
9	M	11,5	147	5,01	4,3	4,3
10	F	13,5	131	4,85	2,5	4,2
11	M	8,5	131	4,85	5,4	7,4
12	F	9,5	133	4,87	5,8	5,5
13	F	10	144	4,98	5,7	6,3
14	M	10,5	130	4,84	4,4	5,9
15	M	10,5	134	4,88	3,2	5,5
16	M	10	131	4,85	3,8	4,2
17	M	14,5	174	5,28	3,9	3,5
18	M	12,5	147	5,01	7,7	7,6
19	F	8	124	4,78	4,2	4,2
20	F	5	113	4,67	4,2	5,7
21	M	5	105	4,59	3,6	5,8
22	M	9,5	129	4,83	3,5	6,5
23	F	7,5	130	4,84	2,5	2,8
24	M	8	129	4,83	4	4,1
25*	M	14,5	173	5,27	3,8	5,4

TABLEAU II
VARIATION DES RVAS EN POURCENTAGE DE LA VALEUR BASALE : FONCTION DU TEMPS
POUR LES TESTS A LA POUSSIÈRE (Po) ET AU GLYCÉROL (Gly)

SUJETS	DOSE	5 min		30 min		60 min		240 min	
		Po	Gly	Po	Gly	Po	Gly	Po	Gly
1	3 600	142	100	415	100	313	108	181	100
2	3 600	209	90	142	95	117	85	100	79
3	3 600	332	120	300	100	360	100	282	107
4	1 200	349	129	131	121	151	129	174	129
5	1 200	461	100	304	91	206	108	156	108
6	3 600	143	90	303	109	153	100	111	118
7	3 600	100	88	—	75	205	88	136	100
8	1 200	208	126	132	139	82	100	132	118
9	1 200	172	116	181	144	235	144	135	135
10	3 600	660	110	628	110	224	110	160	136
11	3 600	100	69	—	89	215	89	128	49
12	3 600	525	122	250	136	140	122	126	122
13	1 200	121	135	342	95	263	117	175	117
14	3 600	239	100	284	100	432	94	232	81
15	3 600	228	93	306	100	266	87	—	100
16	1 200	150	138	192	90	161	100	284	138
17	1 200	270	100	270	65	210	88	179	87
18	3 600	275	226	210	146	210	176	221	130
19	3 600	274	257	650	195	267	152	193	231
20	1 200	293	121	110	188	229	175	229	128
21	3 600	478	107	325	100	389	128	306	133
22	3 600	663	304	786	99	374	93	266	—
23	1 200	364	89	504	89	428	89	288	75
24	1 200	90	124	223	96	205	96	175	144
25	1 200	439	111	302	292	287	161	180	150

TABLEAU III
COMPARAISON DE L'HORAIRE (min)
DE LA RÉPONSE BRONCHIQUE LORS DES TPB
A LA POUSSIÈRE DE MAISON ET AU GLYCÉROL

	POUSSIÈRE	GLYCÉROL
5	3	2
5 et 30	1	0
30	1	1
30 et 60	3	0
60	3	0
5 - 30 et 60	6	0
5 - 30 - 60 et 240	6	0
5 - 60 et 240	1	0
240	1	0
5 et 240	0	1

soit 32 p. cent des cas, le bronchospasme est retrouvé à la 4^e heure. Enfin, dix-sept fois, la réponse positive est enregistrée à 2, 3 ou 4 temps. L'inhalation de glycérol entraîne un bronchospasme rapide, puisque dans trois cas sur quatre la réponse est positive à la 5^e minute. Cependant il peut exister des réponses plus tardives : dans un cas la réponse est positive à la 30^e minute uniquement et dans un autre cas le bronchospasme est retrouvé à la 5^e minute et à la 4^e heure.

La figure 1, compare l'intensité du bronchospasme et son évolution dans le temps chez les quatre sujets présentant une positivité pour les deux tests. L'augmentation des RVAS est plus importante après le TPB à la poussière qu'après le TPB au diluant. A l'état basal, il n'existe pas de différence significative de la valeur des RVAS pour ces quatre sujets (test de Student : $t = 0,46$).

DISCUSSION

De nombreuses études comparent les résultats des tests cutanés, des TPB spécifiques et des dosages des IgE spécifiques. Si la corrélation de ces trois méthodes est bonne, il existe cependant des divergences et en particulier avec les TPB.

Ces tests sont très fréquemment réalisés avec des extraits allergéniques commerciaux. Quel que soit l'allergène, les expérimentateurs utilisent l'extrait le plus concentré de la gamme et le diluent ensuite dans du sérum physiologique.

L'extrait allergénique contient donc outre l'allergène, soit un mélange 50 p. cent glycérine + 50 p. cent solution de chlorure de sodium à 9 p. mille soit un mélange 50 p. cent glycérine + 5 p. mille phénol.

Très peu de travaux ont été consacrés à l'étude des réactions bronchospastiques induites par ces diluants. Chez l'enfant, l'importance de la poussière de maison parmi les allergènes susceptibles de provoquer un

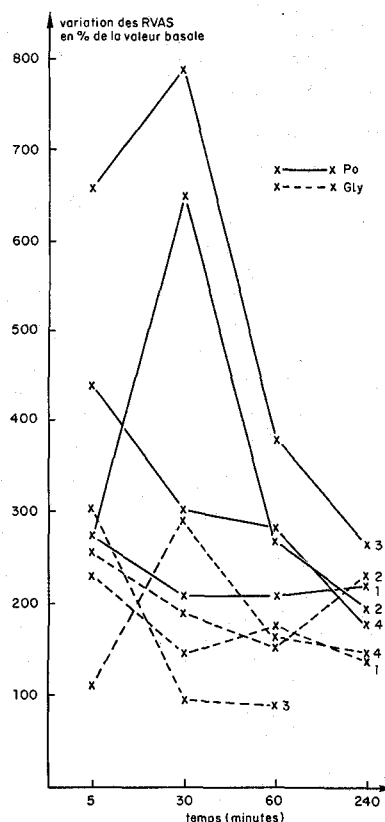


FIG. 1. — Comparaison de l'intensité de la réponse bronchique en fonction du temps, chez les sujets présentant un bronchospasme lors des deux tests ($n = 4$).

asthme est primordiale et il est parfois souhaitable d'avoir recours à un TPB spécifique à la poussière pour confirmer son rôle.

Le glycérol ou glycérine (propane 1.2.3. triol) est un alcool de poids moléculaire 92,09, dont la formule est :



Il est difficile de connaître avec précision la quantité de produit actif responsable du bronchospasme : cette quantité est en effet fonction de trois facteurs : la quantité de produit émis, la quantité inhalée et la quantité atteignant effectivement les bronches.

Bien que les imprécisions restent nombreuses, la méthodologie utilisée est la même chez tous les sujets : même générateur, même cloche de stockage, tuyauterie de même longueur. Un robinet à trois voies permet de brancher le patient sans qu'il s'en aperçoive et l'aérosol n'ayant aucun goût, l'enfant ne modifie pas sa ventilation-minute qui reste au niveau du volume courant. L'état fonctionnel basal est équivalent lors des deux tests.

L'âge des sujets entrant dans l'étude variant de 5 à 14 ans 1/2, les paramètres spirométriques ne peuvent être pris en compte. La mesure des résistances

pulmonaires totales nécessite la mise en place d'un cathéter œsophagien et rend difficile des mesures échelonnées dans le temps. La mesure pléthysmographique des RVAS est aisée, même chez les jeunes enfants puisqu'elle ne demande pas de coopération importante et qu'elle n'est pas douloureuse. C'est pourquoi le choix du paramètre de surveillance du calibre bronchique s'est porté sur la mesure des RVAS.

Le critère de positivité du test est une augmentation de 100 p. cent des RVAS. D'autres auteurs se contentent d'une augmentation de 50 p. cent ou de 75 p. cent [1]. Cependant au repos les valeurs des RVAS variant chez ces sujets asymptomatiques entre 2,7 et 7,7 cm H₂O/l × s⁻¹ × VGT, il nous semble préférable de conserver une augmentation de 100 p. cent comme critère de positivité, ce qui augmente la fiabilité des résultats. Dans cette série, il existe une positivité du TPB au glycérol dans quatre cas soit dans 16 p. cent des cas. Enfin, chez un cinquième sujet il existe également une augmentation des RVAS de + 88 p. cent à la trentième minute et de + 75 p. cent à la soixantième minute. Si l'on tient compte de ce dernier sujet la positivité atteint 20 p. cent.

Cependant l'intensité de la réponse bronchique au glycérol étant toujours inférieure à celle produite par l'inhalation de l'aérosol de poussière, il est donc pensable que l'allergène poussière joue également un rôle bronchoconstricteur chez ces quatre patients.

Haahtela et Lahdensuo [3] réalisant des TPB au glycérol mettent en évidence un bronchospasme chez 37 p. cent des sujets testés à la quinzième minute. Cependant ils utilisent des concentrations en glycérol plus fortes (atteignant 50 p. cent) et le critère de surveillance du calibre bronchique est le VEMS.

Klaustermeyer et coll. [5] réalisant des TPB avec un diluant à base de bicarbonate de sodium et de phénol retrouvent un bronchospasme significatif dans 20 p. cent des cas.

Les temps choisis pour la mesure des RVAS ont été fixés de manière arbitraire à 5, 30, 60 et 240 minutes afin d'apprécier les réponses soit immédiates soit retardées [7]. Klaustermeyer et coll. [6] insistent sur la pluralité des mesures pour affirmer le rôle bronchoconstricteur du diluant.

La réponse bronchique au glycérol est rapide : dans 75 p. cent des cas la réponse positive est retrouvée à la 5^e minute. Cependant il existe des réponses plus tardives au bout de plusieurs heures (sujet n° 19). Ce fait a également été constaté par Haahtela et Lahdensuo [3].

Les aérosols de poussière et de diluant ont la même concentration en glycérol. Ainsi les trois sujets qui présentent un bronchospasme après l'inhalation de 36 litres de diluant n'ont pas présenté de bronchospasme après l'inhalation de 1 200 µg de poussière soit après une quantité en glycérol équivalente à 12 litres de diluant. Il semble donc exister un seuil de réactivité bronchique au glycérol. Il aurait été possible de réaliser des courbes dose/réponse. Pour une même quantité de diluant la réponse bronchique est reproductible [6].

Le glycérol contenu dans les extraits allergéniques est également capable d'induire des réactions faussement positives au niveau des tests cutanés. Guérin et Tioulong [2] suggèrent de réduire le taux du glycérol à 3 p. cent pour limiter le risque d'erreur.

Si lors des TPB les imprécisions sont nombreuses, il reste possible d'agir sur la qualité de l'allergène utilisé et sur le diluant. Les nouveaux extraits lyophilisés qui pourront être dilués dans du sérum physiologique éviteront ainsi les réactions induites par les diluants.

CONCLUSION

Les TPB spécifiques à un allergène apportent souvent des arguments précis en faveur de la responsabilité d'un allergène.

La méthodologie de ces tests doit être très stricte au niveau de la préparation de la solution d'allergène, de la technique d'aérosolisation, mais également au stade d'enregistrement des paramètres étudiés.

Les diluants utilisés peuvent être la source de réaction faussement positive et en particulier le glycérol.

Cette étude montre qu'il est nécessaire pour interpréter les résultats d'un TPB spécifique, soit de réaliser un test contrôle avec le diluant, soit d'utiliser un allergène lyophilisé dilué ensuite dans du sérum physiologique.

REFERENCES

1. Aas K. — *The bronchial provocation test*. Springfield, C.C. Thomas, 1975.
2. Guérin B., Tioulong S. — Analysis of the non-immunological activity of allergen extracts in cutaneous tests. *Clin. Allergy*, 1979, 9, 283-291.
3. Haahtela T. et Lahdensuo A. — Non-specific reactions caused by diluents containing glycerol in nasal and bronchial challenge tests. *Clin. Allergy*, 1979, 9, 225/227.
4. Jean R., Benoist M.R. — *Exploration fonctionnelle pulmonaire en pédiatrie*. Paris, Flammarion, 1979.
5. Klaustermeyer W.B., Hale F.C., Prescott E.J. — Characteristics of the asthmatic airway response to inhaled diluent. *Ann. Allergy*, 1979, 43, 14-18.
6. Klaustermeyer W.B., Hale F.C., Prescott E.J. — Reproducibility of the response to diluent challenge in adult asthma. *Ann. Allergy*, 1979, 43, 84-87.
7. Pepys J., Hutchcroft B.J. — Bronchial provocation tests in etiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am. Rev. respir. Dis.*, 1975, 112, 829-859.