

Intérêt du test AlaSTAT pour la mise en évidence d'IgE spécifiques aux allergènes alimentaires

Étude comparative avec le RAST Phadebas Cap System

D.A. MONERET-VAUTRIN¹, G. HALPERN², G. KANNY¹, J. BRIGNON³, J.P. NICOLAS⁴,

RÉSUMÉ

La technique immuno-enzymatique AlaSTAT a été étudiée vis-à-vis des allergènes alimentaires sur 49 séra de sujets allergiques certains, et sur 24 séra de sujets suspects. Vingt-deux allergènes ont été testés. La spécificité a été évaluée sur huit séra non atopiques et huit séra atopiques. La spécificité est de 100 %. La sensibilité est de 76 % (allergènes animaux) et 73 % (allergènes végétaux). La sensibilité des prick-tests est de 87 %, celle du RAST CAP system de 76 %. Les concordances RAST CAP/AlaSTAT sont de 79,6 %, prick-tests/AlaSTAT : 76 %, prick-tests/RAST CAP : 73,9 %. La détection d'IgE spécifiques aux aliments est possible même pour un taux bas d'IgE totales. Les tests de dilution et de reproductibilité sont excellents. La technique AlaSTAT a une efficacité comparable à celle du Phadebas RAST CAP pour la mesure des IgE spécifiques des aliments.

SUMMARY

Value of the AlaSTAT test in demonstrating specific IgE in food allergies. Comparative study with the RAST Phadebas Cap System. – 49 sera from patients with food allergies confirmed by challenge, and 26 with suspected ones were assayed with the DPC AlaSTAT liquid phase EIA, and the Phadebas RAST CAP RIA. 22 foods were tested (4 animals, 18 vegetables). Controls were performed on non-atopics (N = 8) and atopics (N = 8). Specificity was 100 %. Sensitivity was 76 % (animals) and 73 % (vegetables) (87 % for prick-tests, 76 % for RAST). Concordance RAST CAP/AlaSTAT was 79.6 % ; prick-tests/AlaSTAT : 76 % ; prick-tests/RAST CAP : 73.9 %. AlaSTAT detected specific IgE even in sera with low total IgE (< 60 KU/l), while RAST CAP was inconclusive. Dilution studies and reproductibility were excellent. AlaSTAT EIA compares favorably with the Phadebas RAST CAP RIA for measurement of food specific IgE antibodies.

Le diagnostic de l'allergie alimentaire passe par une série d'étapes [12, 13, 17]. A la suite d'un interrogatoire précis, complété par une enquête visant à suspecter des allergènes masqués, les prick-tests aux extraits alimentaires sont complétés par des tests biologiques pour mettre en évidence des IgE spécifiques [13]. Une seconde étape est représen-

tée par des tests de provocation. Ceux-ci sont idéalement réalisés en double aveugle [7, 17].

La mise en évidence d'IgE spécifiques est extrêmement importante. Toute une série de tests a été proposée : RAST Phadebas, classique puis modifié (Cap-System), RAST Phadezym, Fast, Mast-Cla, etc. [2, 3, 14, 15, 18, 19]. La technique radio-immunologique où les unités KU/litre du RAST Phadebas Cap System sont validées par l'OMS, peut servir de référence.

Confronté à la multiplicité des techniques, l'allergologue doit connaître précisément les ser-

¹ Service de Médecine D, Immunologie Clinique et Allergologie, Hôpital de Brabois, rue du Morvan, 54511 NANCY-VANDŒUVRE CEDEX.

² University of California, Davis, Division of Rheumatology/Allergy – Clinical Immunology, School of Medicine – TB 192, DAVIS, California 95616, Etats-Unis.

³ Laboratoire de Biologie Clinique et Médicale, 70, rue Stanislas, 54000 NANCY.

⁴ Laboratoire de Biochimie, Unité INSERM 308, Université de Nancy 1, Faculté de Médecine de Nancy, 9, avenue de la Forêt-de-Haye, B.P. 184, 54505 VANDŒUVRE-LES-NANCY CEDEX.

Tirés à part : Pr D.A. Moneret-Vautrin, adresse ci-dessus.

Reçu le 30 juillet 1992. Accepté le 25 septembre 1992.

vices qu'il peut attendre de chacune [16]. Il doit être clairement informé des trois aspects importants de la fiabilité d'un test, qui sont la sensibilité, la spécificité, et la reproductibilité [6]. Or pour une même technique, les résultats peuvent différer selon qu'on l'applique aux pneumallergènes, ou aux allergènes alimentaires. Car ceux-ci posent des problèmes particuliers. Ainsi, pour les anticorps IgE aux aliments, les tests immuno-enzymatiques déjà commercialisés ont une moindre sensibilité et une reproductibilité moins bonne [14, 15]. D'où l'intérêt de cette étude qui rapporte les résultats d'une nouvelle technique AlaSTAT, comportant la fixation de l'allergène sur une matrice soluble, permettant la réaction avec le sérum testé en phase liquide.

MÉTHODOLOGIE

Technique utilisée

La technique utilisée AlaSTAT a été pratiquée selon les recommandations du fabricant. Brièvement, on dispose d'un contrôle négatif (sérum humain sans IgE spécifiques) et de tests de calibration (standard A B C D utilisant des sérums contenant des IgE spécifiques contre l'allergène de référence (pollen de phléole). L'anti-IgE est un mélange, dans une proportion déterminée, de deux anticorps monoclonaux reconnaissant des épitopes différents de la chaîne epsilon de l'IgE.

La première étape consiste à incuber l'extrait allergénique fixé sur une matrice polysaccharidique soluble, et le sérum à tester, en phase liquide, pendant une heure. Sur cette matrice est fixée, d'autre part, de la polylysine-biotine. Puis l'antigène (avidine) est ajouté, avec incubation d'une heure. Il relie le complexe biotine-polylysine-matrice-allergène-IgE spécifiques, à la paroi du tube, revêtue de biotine. Après deux lavages, l'anti-IgE marqué par l'enzyme (peroxydase de raifort) est ajouté et incubé pendant une heure. Après trois lavages, le substrat (OPD en solution tampon peroxyde) est ajouté et la réaction est stoppée au bout de 15 minutes par addition de SO_4H_2 . L'absorbance est lue au spectrophotomètre (Sopheia 1000 DPC France) à 490 nm dans un délai maximal d'une heure. Le temps total de la technique est de 3 h 30.

Les RAST Cap System Phadebas ont été pratiqués au laboratoire de biochimie médicale (Pr J.P. Nicolas).

Choix des sujets : groupes I et II

Groupe I : 49 patients de sexe féminin (27) ou masculin (29) dont 37 adultes et 12 enfants de moins de 12 ans ont été étudiés. L'histoire clinique était celle de symptômes d'allergie immédiate, ou de dermatite atopique (tableaux I et II). Le diagnostic d'AA a été mené en deux étapes : prick-tests et tests in vitro de détection d'IgE spécifiques, puis tests de provocation labiale ou orale en simple ou double aveugle en milieu hospitalier. Le second a été pratiqué lorsque le test de provocation labiale était négatif.

Les prick-tests ont été pratiqués avec les extraits du laboratoire Stallergènes et avec la pulpe de fruits ou légumes natifs en cas de négativité des tests cutanés aux extraits commerciaux. Un témoin au phosphate de codéine ainsi qu'un témoin négatif au diluant allergénique ont été pratiqués. Le critère de positivité retenu fut une papule de 3 millimètres, le témoin au diluant étant négatif.

Le test de provocation orale est pratiqué le matin à jeun. L'extrait alimentaire est inclus dans une gélule opaque incolore, l'aliment natif dans de la compote de pomme. Des doses croissantes sont testées chaque heure le matin. Le choix de la dose de départ dépend de l'appréciation clinique et du taux d'IgE spécifiques (voir tableaux I et II). Les critères de positivité sont des symptômes survenant dans l'heure suivant une dose : rash, urticaire, œdème de Quincke, conjonctivite, rhinite, asthme, modification du pouls et de la tension, du débit expiratoire de pointe, diarrhées, vomissements, douleurs abdominales. La surveillance est prolongée 24 heures. Aucun des 49 patients ayant subi ces tests de provocation n'a réagi plus tardivement.

Au terme de ce bilan, 49 sujets ont une AA certaine, prouvée 35 fois par test de provocation. Dans 14 cas, le diagnostic a été retenu en raison d'un choc anaphylactique ou parce que des symptômes cliniques typiques avaient récidivé au moins 3 fois après ingestion du même aliment isolé.

Groupe II : 14 sérums de sujets atopiques incriminant un aliment dans leurs symptômes et ayant un prick-test positif, ont fait l'objet de 26 déterminations d'IgE spécifiques.

Allergènes évalués dans les 63 sérums (groupes I et II)

22 allergènes (4 d'origine animale, 18 d'origine végétale) ont fait l'objet d'une évaluation : blanc et jaune d'œuf = 16, poisson = 5, crevette = 3, porc = 2, cacahuète = 11, noisette = 9, pomme = 6, céleri = 6, soja = 4, farines de blé et seigle = 4,

TABLEAU I. - Techniques et tests pratiqués chez 49 sujets présentant une AA IgE-dépendante.

Nom	Sexe	Age	Clinique	Prick (mm)	T. Prov.	IgE (KU/l)	RAST (KU/l)	AlaSTAT			
1	M	30	OQ+ΣO	3,5	Hist	219	3,04	2	2,05	2	Noisette
2	F	39	OQ+Asthme	5	TPO+10 g	33	<0,35	0	0,23	0	
3	F	38	OQ+ΣO	3	Hist	384	2,29	2	0,79	1	
4	F	20	Asthme+ΣO	7	Hist	22	1,53	2	0,25	0	
5	F	24	OQ+Asthme	4	+++100 g	27	<0,35	0	0,20	0	
6	F	28	OQ+ΣO	7	Hist	122	7,1	3	0,20	0	Pomme
7	M	14	Rh+ΣO	3	Hist	75	5,5	3	0,35	0	
8	M	32	OQ+ΣO	11	Hist	278	2,56	2	0,20	0	
9	F	43	ΣO	5	TPO+50 g		0,53	1	0,20	0	
10	F	35	OQ+ΣO	3	Hist	93	4,10	3	0,20	0	
11	F	46	Choc A-Asthme Rh	6	TPO+2 g	1 043	24,1	4	1,06	1	Céleri
12	M	23	Prurit-Asthme	5	TPO+5 g (TPL+)	713	3,4	2	1,76	2	
13	F	33	OQ	10	TPL+	164	2,1	2	0,20	0	
14	F	32	OQ+ΣO	5	Hist	217	<0,35	0	0,20	0	
15	F	28	OQ+ΣO	3	Hist	122	3,3	2	0,64	1	
16	M	31	Asthme	0	TPB+10 ⁺	734	8,4	3	0,20	0	F. blé
17	F	27	Asthme DA	0	TPO+30 g	>1 000	5,2	3	2,17	2	
18	M	24	Asthme Rh	3	TPO+10 g	104	6,6	3	1,06	2	
19	F	27	Asthme DA	5	TPO+10 g	>1 100	<0,35	0	19,4	4	Seigle
20	F	8	DA	7	TPO huile 5 ml+	1 880	>100	5	51,8	5	Cacahuète
21	M	4	DA OQ	6	TPO+10 mg (TPL+)	195	>100	5	60	5	
22	F	6	DA Asthme OQ	10	TPO+10 mg (TPL+)	473	>100	5	58	5	
23	M	5	DA Asthme	6	TPO huile 5 ml+(TPL+)	>1 100	>100	5	46	5	
24	M	1	DA	3	TPO+ 5 g	57	0,64	1	6,10	3	
25	F	14	DA	3	TPO+50 g	>2 000	2,13	2	1,4	1	
26	F	46	Urt ΣO	0	TPO+10 g	1 043	0,40	1	1,6	2	
27	M	27	OQ+OQ laryngé	8	Hist++		12,5	3	61,18	5	
28	F	23	OQ Urt	5	TPO+30 ml huile		33,5	4	15,5	4	Soja
29	M	11	Urt	4	TPO+1 g	514	<0,35	0	0,31	0	Ail
30	F	18	OQ Urt	nf	TPO+1 g	117	7,6	3	0,41	1	
31	F	33	DA	3	TPO+50 g (EV+)	1 370	<0,35	0	0,66	1	Chocolat
32	M	14	Choc A	6B 6J	+1 mg	>1 100	>100	5(B) 4(J)	55,69 60,45	5 5	Œuf
33	M	1	OQ Asthme	3B	TPL+	38	> 54	5(B)	60,70	5	
34	M	31	ASO	7B	TPB+(EV+)	734	28,6	4(B)	15,64	4	
35	M	5	OQ	3B	Hist		35,4	4(J)	22,41	4(J)	
36	F	22	OQ Asthme	3B	TPO+1 g	146	5,4 9,9 5,6J	3(B) 3(B) 3(J)	13,99 6,45 10,36	3 3 3	
37	F	11	OQ Cjtiv	4B	TPO+	1 538	1,48 0,43	2(B) 1(J)	1,34 1,01	1 1(J)	
38	M	37	OQ Urt	0B	TPO+30 g	513	2,75	2(B)	0,20	0	
39	M	45	Urt Chr	0B 0J	TPO+30 g (EV+)	7	<0,35 <0,35	0(B) 0(J)	0,20 0,20	0 0	
40	F	28	DA	3B	Ev+	>1 100	1,51	2(B)	0,20	0	
41	F	24	Choc Asthme	13B 12J	TPL+	994	14,6 28,9	4(B) 4(J)	5,54 22,32	3 4	
42	F	8	Asthme	7	TPL+TPO+1g	968	28,6	4	60,47	5	Poisson
43	F	10	Choc	10	Hist	216	19,7	4	61,14	5	
44	M	7	Asthme Urt OQ	6	TPO+1 g (TPL+)	302	4,3	3	48,23	4	
45	M	48	Choc	3	Hist	59	<0,35	0	1,61	2	
46	M	37	OQ Urt	3	Hist	513	1,87	2	0,75	1	Crevette
47	F	25	OQ Urt	5	Hist	238	0,62	1	0,25	0	
48	M	25	OQ Urt	0	TPL+	80	<0,35	0	0,87	1	
49	M	27	Ecz Gé	3	TPL+	>1 100	<0,35	0	0,97	1	Porc

OQ : Œdème de Quincke, ΣO : syndrome oral, Rh : rhinite, DA : dermatite atopique, TPO : test de provocation orale, Urt : urticaire, TPL : test de provocation labiale, TPB : test de provocation bronchique, Hist : clinique évocatrice (voir texte), EV : éviction, Ecz Gé : eczéma généralisé, B : blanc d'œuf, J : jaune d'œuf.

TABLEAU II. – Comparaison RAST Phadebas Cap System - AlaSTAT chez 14 sujets atopiques ayant un Prick-test positif à un extrait alimentaire ou incriminant l'aliment.

N°	Nom	Sexe	Age	Clinique	Prick	IgE KU/l	RAST KU/l	AlaSTAT UI/ml	Aliment
1	SPAI	M	30	OQ+Asthme	3	219	3,7	3	Orange
					0		2,83	2	Soja
					3		3,4	2	Pomme de terre
15	ARB	F	28	OQ+ΣO	0	122	0,35	0	Soja
					0		1,1	2	Carotte
					3		0,6	1	Noisette
9	TOUS	F	43	OQ+ΣO	3	14	<0,35	0	Kiwi
13	DES	F	33	OQ	7	164	3,7	3	Carotte
					12		1,48	2	Noisette
					2		1,7	2	Cacahuète
14	BAI	F	32	OQ+ΣO	nf	217	0,36	1	Mangue
25	JU	F	14	DA	nf		2,52	2	Riz
					nf		1,94	2	Noisette
					nf		8,40	3	Levure
					nf		0,57	1	Porc
30	VEL	F	18	OQ+ΣO	3	117	1,7	2	Noisette
					3		10,8	3	Pomme
					3		4,7	3	Tomate
50	BON	F	51	Urt	2	188	<0,35	0	Céleri
51	SOL	F	26	Urt	0	<1 100	27,2	2	Fraise
19	NOE	F	27	DA	2	<1 100	2,30	2	Levure
52	PER	M	19	DA	4	<1 100	8,50	2	Levure
53	GRI	F	45	OQ	3	46	<0,35	0	Kiwi
54	GU	F	32	Urt	0	21	<0,35	0	Poisson
55	SAH	F	6	DA	0		14,1	3	Cacahuète
					3 mm		6,3	3	Soja

carotte = 2, levure de boulanger = 3, kiwi = 2, ail = 2, pomme de terre, tomate, orange, mangue, fraise, riz, chocolat = 1 de chaque.

Études in vitro

La sensibilité des tests in vitro (RAST Phadebas Cap System et AlaSTAT) a été évaluée comparativement sur les sérums d'AA (groupe I) (sur 49 déterminations). La même comparaison a été effectuée sur 14 sérums (sur 26 déterminations), correspondant à une AA plausible (groupe II), du fait d'une anamnèse évocatrice, complétée par des prick-tests positifs, mais sans test de provocation.

La spécificité de la technique AlaSTAT a été vérifiée par 16 déterminations pour chacun des 27 allergènes testés. 8 déterminations ont été réalisées sur des sérums de sujets non atopiques (Phadiatop négatif) et 8 sur des sérums d'atopiques (prick-tests ou RASTS positifs aux acariens, épithélia de chat, pollens de graminées). Chacun de ces sérums a été testé vis-à-vis de 9 allergènes.

La reproductibilité intra-essai et inter-essai a été évaluée par 10 mesures respectivement sur des sérums choisis en fonction de taux variables d'IgE totales (14 à 1 538 KU/l par dosage radio-immunologique Pharmacia) et en fonction de taux variables d'IgE spécifiques : 7 sérums de classe 0 ;

6 sérums de classe 1 ; 2 sérums de classe 2 ; 3 sérums de classe 4 ; 4 sérums de classe 4.

Des tests de dilution de 1/2 à 1/64 ont été pratiqués sur 3 sérums de classe 5 AlaSTAT et de 1/2 à 1/8 sur 11 sérums de classes 4 et 5.

RÉSULTATS

La spécificité est donc évaluée par 416 tests (vis-à-vis de 27 allergènes) sur 24 sérums non atopiques et 24 sérums atopiques. Tous sont négatifs. La spécificité est de 100 p. cent.

Dans le groupe I (AA certaine) la sensibilité des prick-tests est de 87,75 p. cent. La sensibilité de l'AlaSTAT est de 76 p. cent pour les allergènes animaux (76 % par RAST) et 73 p. cent pour les allergènes végétaux (76,9 % par RAST), en exceptant les tests à la pomme, tous négatifs par technique AlaSTAT. Toutefois, les six sérums ont été repris avec un autre lot d'allergène pomme, et ont été vérifiés positifs.

La concordance prick-AlaSTAT est de 76 p. cent, équivalente à la concordance prick-RAST, de 73,9 p. cent. La concordance globale AlaSTAT-RAST est de 79,6 p. cent. Pour les allergènes animaux, une concordance de classe existe 14 fois sur 25. L'AlaSTAT donne une classe supérieure six fois, le RAST une classe supérieure cinq fois. Pour

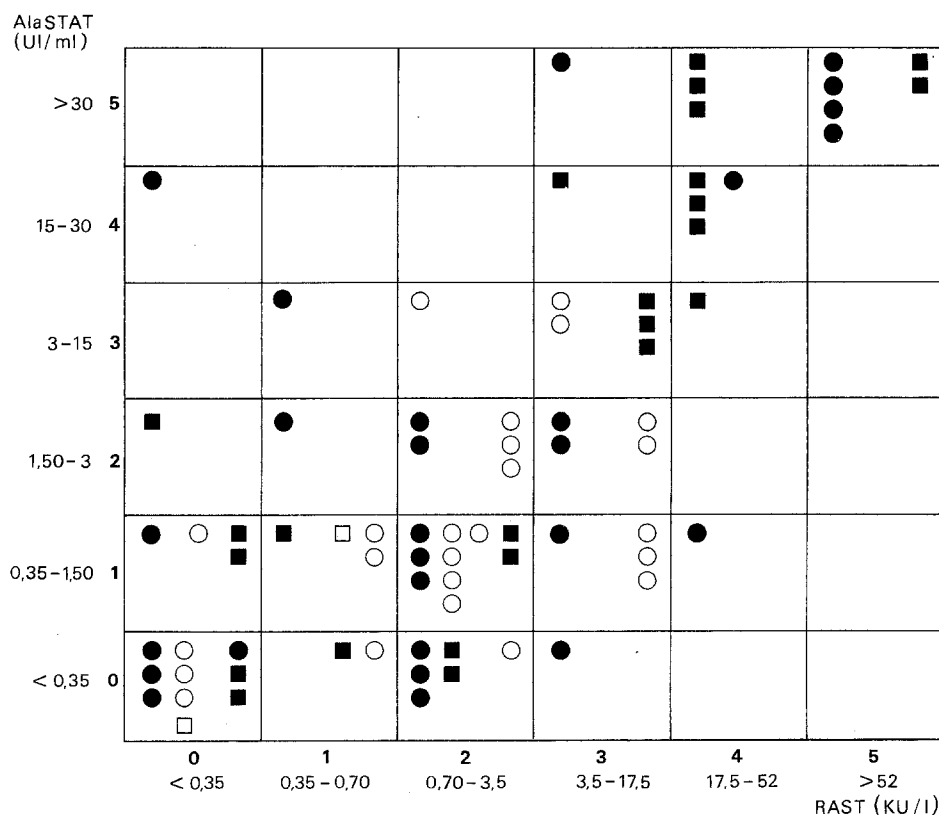


Fig. 1. - Détermination comparative des classes d'IgE spécifiques par AlaSTAT et RAST Phadebas Cap System vis-à-vis de 26 allergènes alimentaires.

les allergènes végétaux, la concordance de classe existe 11 fois sur 26. Les RAST donnent une classe supérieure 10 fois, l'AlaSTAT une classe supérieure 5 fois (fig. 1). Il existe une relation entre la classe des IgE spécifiques et la dose réactive de l'aliment (fig. 2) telle qu'aux taux les plus élevés d'IgE spécifiques, correspondent des doses de provocation positive inférieures à 500 mg dans 77 p. cent des cas. Toutefois, à un taux d'IgE spécifiques moyen ou faible, correspond parfois une dose faible d'aliments donnant une réaction.

La comparaison du RAST et de l'AlaSTAT dans le groupe II, donne des résultats similaires : positivité de 80,7 p. cent du RAST ; 73,1 p. cent de l'AlaSTAT (ns).

La technique AlaSTAT détecte des IgE spécifiques alors que le taux d'IgE totales est bas : 59 KU/l (cas 45) ; 57 KU/l (cas 24) ; 38 KU/l (cas 33) ; 14 KU/l (cas 9, voir tableau II). Le RAST est négatif dans les cas 45 et 9 et inférieur de deux classes dans le cas 24.

Le taux d'IgE spécifiques a été mesuré dans plusieurs sérums à dilutions croissantes. La représentation graphique du taux d'IgE spécifiques en fonction de la dilution montre une droite à partir

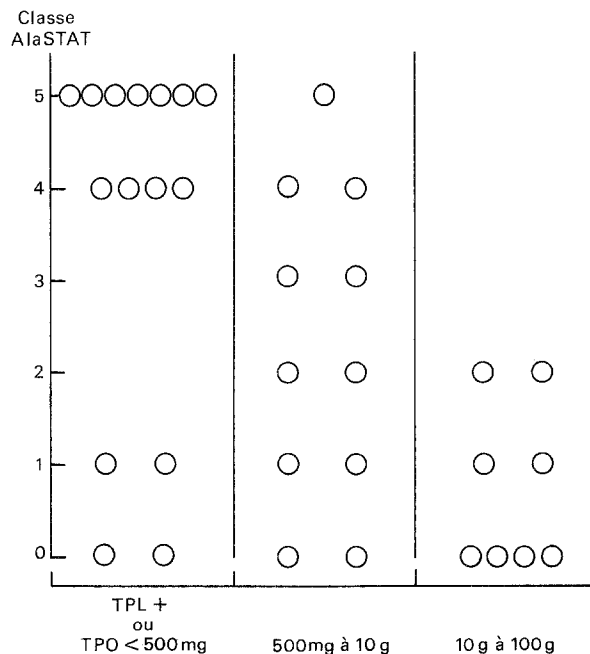


Fig. 2. - Corrélations entre la classe d'IgE spécifiques (AlaSTAT) et la dose alimentaire réactive par voie orale.

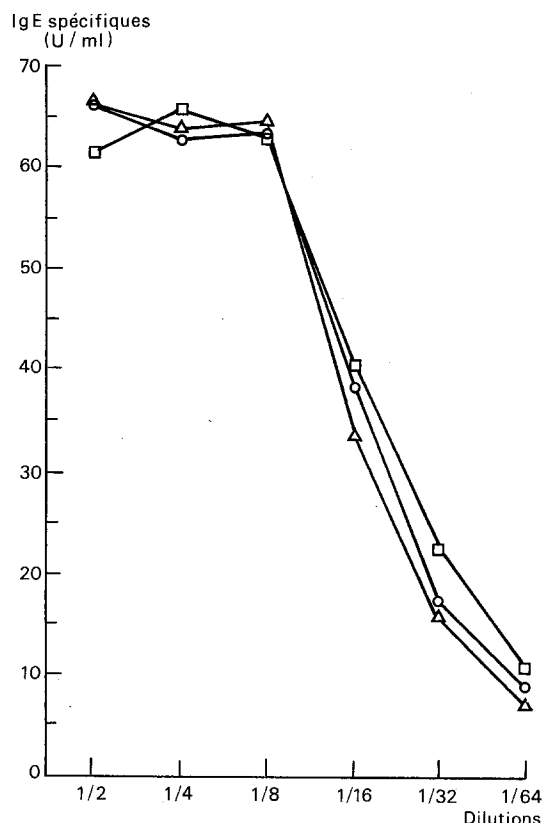


Fig. 3. - Variations du taux des IgE spécifiques en fonction de la dilution, évaluées par technique AlaSTAT.

du 1/8. Pour des valeurs voisines de 60 à 65 U/ml AlaSTAT, il existe un effet de saturation (courbe en plateau). Par contre, lorsque le taux d'IgE spécifiques est inférieur à 60 U/ml dans la dilution au 1/2, il diminue effectivement de moitié aux variations de mesures près, dans les dilutions du quart et du huitième (fig. 3 et 4).

L'étude de reproductibilité montre des coefficients de variation (CV) de 1,68 p. cent à 9,9 p. cent pour les classes 2, 3, 4, et 5. Les coefficients de variation des classes 0 et 1 de 10,9 p. cent à 20,8 p. cent ne correspondent à aucun changement de classe pour 12 sérums sur 13 : un sérum est neuf fois de classe 0, une fois de classe 1. Les coefficients de variation sont comparables dans les études intra-essai et inter-essai. Les différents allergènes évalués paraissent comparables sauf la pomme (CV à 20,8 % pour le premier lot, de 5,2 à 7,6 % pour le second lot) (variant de 15 à 1 370 KU/l).

DISCUSSION

La mise en évidence d'IgE spécifiques est un préalable au diagnostic de l'AA de type immédiat. En effet, la coexistence d'IgG spécifiques est fré-

quente et bien connue. Elle ne paraît pas conférer de particularités cliniques [5]. De même, la recherche d'une sensibilisation lymphocytaire caractérisant un mécanisme d'hypersensibilité retardée n'a de place que dans l'allergie digestive du jeune enfant, aux protéines de lait le plus souvent [11, 12]. Les tests biologiques de détection d'IgE spécifiques sont d'autant plus nécessaires que la pratique des tests cutanés est parfois impossible sur certaines peaux, ou en cas de traitement récent par anti-histaminique ou par application cutanées de corticoïdes.

L'étude d'un test in vitro de détection d'IgE spécifiques anti-aliments nécessite de disposer de sérums de patients chez qui le diagnostic d'AA est certain. Le test de provocation est « l'étalon or du diagnostic » [7]. On peut toutefois considérer que des symptômes typiques survenant au moins à trois reprises dans un délai rapide après ingestion d'un aliment isolé, et confirmés par un prick-test positif, permettent de poser le diagnostic.

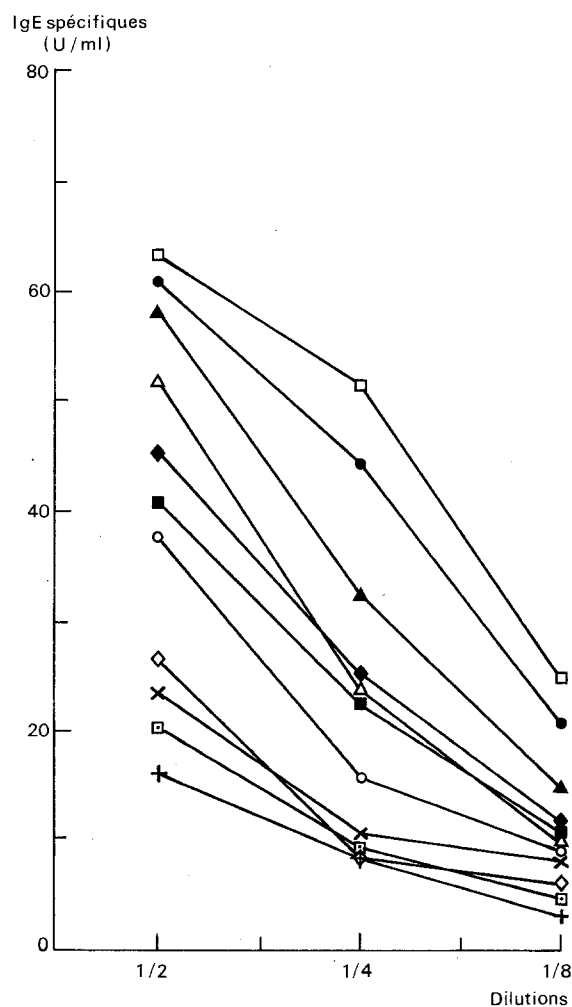


Fig. 4. - Variations du taux d'IgE spécifiques en fonction de la dilution du sérum, évaluées par technique AlaSTAT.

L'excellente sensibilité du prick-test aux extraits alimentaires est bien connue en population pédiatrique [17]. Elle est confirmée par cette étude chez des patients dont 37 sont adultes : 88 p. cent. Ce résultat est obtenu par la pratique systématique de prick-tests à la pulpe des fruits et légumes natifs lorsque les tests sont négatifs aux extraits commerciaux. Toutefois, sa spécificité est considérée comme variable selon les auteurs, et la place des tests in vitro dans le diagnostic en est confortée. La sensibilité des tests in vitro est en général inférieure à celle des prick-tests. Une exception est peut-être représentée par le Phadiatop pédiatrique, et le multi-test Fx5 (comportant 6 aliments) qui serait équivalent aux tests cutanés [9, 18, 19].

En effet le diagnostic in vitro des IgE spécifiques aux aliments pose une série de problèmes : certains allergènes, en particulier d'origine végétale, sont labiles et les extraits correspondants peuvent être dépourvus d'allergénicité. Il semble par cette étude que ce soit le cas de la pomme : le premier lot était dépourvu d'activité allergénique. Inversement, la richesse en lectines d'extraits d'origine végétale pourrait induire des réactions non spécifiques avec les IgE et les tests pourraient manquer de spécificité [4]. Cette étude montre l'excellente spécificité de l'AlaSTAT. Aucun faux positif n'est observé, vis-à-vis de 27 allergènes, sur 24 sérums atopiques, dont 13 comportaient des IgE spécifiques aux pollens de graminées, un au pollen de bouleau, 13 à *Dermatophagoides Pteronyssinus*, un aux épithelia de chat. Il semble donc que le couplage de l'allergène alimentaire à la matrice AlaSTAT expose peu d'épitopes communs aux fruits, légumes et pollens de graminées [1].

Il a été avancé que le couplage de l'allergène à une phase solide bidimensionnelle (disque de papier) pourrait conduire à un nombre moins important d'épitopes disponibles. Ceci serait lié au fait que le couplage par bromide de cyanogène suppose une liaison par groupes amines. Les allergènes alimentaires riches en hydrates de carbone pourraient se lier dans une proportion moindre que d'autres allergènes. On peut espérer que la présentation tridimensionnelle (Cap System) améliore la sensibilité du test. Cette étude évalue la sensibilité du Rast Phadebas Cap System à 76 p. cent (identique à celle du RAST Phadebas classique sur disque de nitrocellulose étudiée dans ce même laboratoire) [14]. Le gain de sensibilité obtenu par la technique Cap System vis-à-vis des pneumallergènes, reste donc à démontrer vis-à-vis des trophallergènes [10].

La technique AlaSTAT utilise pour le couplage une matrice soluble de polysaccharide liée à un copolymère d'acides aminés, à laquelle est ensuite lié l'allergène. Trois réactifs de couplage, diffé-

rents du classique bromide de cyanogène, sont utilisés, dans le but de diversifier le couplage de l'allergène de façon telle que différents épitopes puissent être disponibles. Le couplage avec les IgE spécifiques est effectué en phase liquide. Le couplage ultérieur à la paroi du tube se fait par la biotine-avidine. On peut espérer en fonction de ces considérations théoriques une plus grande quantité de glycoprotéines fixées et disponibles et une meilleure accessibilité des épitopes aux sites anticorps. De fait, la sensibilité de la technique AlaSTAT est identique à celle du RAST Phadebas Cap System. La concordance entre RAST Phadebas Cap System et AlaSTAT est de 79,6 p. cent pour les allergènes (90 % pour les pneumallergènes) [3]. La technique AlaSTAT appliquée aux allergènes alimentaires a une sensibilité supérieure à celle d'autres techniques immuno-enzymatiques.

Un autre problème des techniques immuno-enzymatiques est l'existence d'interactions non spécifiques entre l'enzyme du test et l'extrait alimentaire. Selon l'enzyme utilisée, un même test a une sensibilité différente selon les allergènes testés, d'origine animale ou végétale, comme il a été montré antérieurement pour le RAST Phadezym et le Fast [14]. Une telle interaction n'existe pas dans la technique AlaSTAT (utilisant la peroxydase de raifort) puisque la sensibilité est de 76 p. cent pour les allergènes animaux et de 73 p. cent pour les allergènes végétaux (différence non significative).

La reproductibilité est excellente pour les classes 2, 3, 4, 5 (1,7 % à 9,9 %). Un CV de 10 p. cent à 19 p. cent pour les classes 0 à 1 est correct puisqu'il n'entraîne pas de changement de classe pour 12 sérums sur 13 (ou : pour 129 déterminations sur 130). Ces résultats sont très comparables à ceux obtenus avec le RAST Phadebas dans une étude antérieure.

Les tests de dilution montrent une linéarité de la courbe d'IgE spécifiques ; ceci confirme la linéarité de la courbe de calibration.

Il existe, enfin, une certaine relation entre la classe d'anticorps IgE AlaSTAT et la dose réactive en tests de provocation orale : à une classe 5 correspond dans 77 p. cent des cas une dose réactive inférieure à 500 mg. Par contre, une classe 1 ou même un test négatif peuvent correspondre à une faible dose réactive : ceci indique la nécessité de commencer toujours des tests de provocation orale alimentaire par une dose minimale, inférieure à 500 mg.

Notre équipe fait précéder le test de provocation orale par un test de provocation labiale. Si celui-ci est positif, la procédure de provocation peut être arrêtée ou bien dans ce cas, la dose de départ est fixée à quelques milligrammes [13].

CONCLUSION

La détection de l'allergie alimentaire est abordée par l'allergologue par prick-tests. Les extraits commerciaux sont parfois peu fiables, lorsqu'il s'agit d'aliments végétaux. Il est proposé d'utiliser la pulpe fraîche de l'aliment natif. Cette méthode, utile en pratique, pâtit d'un manque de standardisation [8]. C'est pourquoi, eu égard aux difficultés d'interprétation particulières aux tests cutanés alimentaires, les tests in vitro détectant des IgE spécifiques sont indispensables. La technique radio-immunologique RAST Cap System est la référence, mais ne peut être effectuée en laboratoire de ville. Il est donc particulièrement impor-

tant de connaître les performances des différentes techniques immuno-enzymatiques. L'AlaSTAT est le premier test immuno-enzymatique dont les résultats sont étroitement comparables à ceux du RAST Phadebas Cap System aussi bien pour les allergènes végétaux que pour les allergènes animaux. Il paraît également pouvoir guider utilement le choix de la première dose à tester en provocation orale.

Remerciements

Nous remercions vivement le Docteur J. Schlafer pour sa contribution attentive à la présentation de ce travail.

RÉFÉRENCES

1. Aalberse R.C., Koshte Y., Clemens J.G.J. – Immunoglobulin E antibodies that cross react with vegetable foods, pollen and hymenoptera venom. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1981, 68, 356-364.
2. Adler B.R., Assadullahi T., Warner J.A., Warner J.O. – Evaluation of a multiple food specific IgE antibody test compared to parental perception, allergy skin tests and RAST. *Clin. Exp. Allergy*, 1991, 21, 683-688.
3. Alaba O., El Shami A.S.E. – Evaluation of non specific IgE binding: comparison of two in vitro allergen-specific IgE assays. In: Shami A.S.E., Merrett T.G., *Allergy and Molecular Biology*, pp. 203-214, Oxford, Pergamon Press, 1989.
4. Barnett D., Howden M.E.M. – Lectins and the radio-allergosorbent test. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1987, 80, 558-561.
5. Berrens L., Homedes I.B. – Relationship between IgE and IgG antibodies in type I allergy. *Allerg. Immunol.*, 1991, 37, 131-137.
6. Björkstén B. – In vitro diagnostic methods in the evaluation of food hypersensitivity. In: Metcalfe D.D., Sampson H.A., Simon R.A., *Food Allergy. Adverse Reactions to Foods and Food Additives*, pp. 67-80, Boston, Blackwell Scientific Publications, 1991.
7. Bock S.A. – Oral challenge procedures. In: Metcalfe D.D., Sampson H.A., Simon R.A., *Food Allergy*, pp. 81-95, Boston, Blackwell Scientific Publications, 1991.
8. Dreborg S. – Skin test in diagnosis of food allergy. *Allergy Proc.*, 1991, 12, 251-254.
9. Hochreutener H. – Klinik und allergologisch-immunologische parameter bei 40 kindern von 0-7 jahren mit atopischer dermatitis. *Monatsschr. Kinderheilkd.*, 1991, 139, 618-625.
10. Johansson S.G.O. – In vitro diagnosis of atopic allergy. In: Pichler W.J., Stadler B.M., Dahinden C.A., Pécoud A.R., Frei P., Schneider C.H., de Weck A.L., *Progress in Allergy and Clinical Immunology*, pp. 415-418, Hogrefe et Huber Publishers, 1989.
11. Kondo N., Agata H., Fukutomi O., Motoyoshi F., Orri T. – Lymphocyte responses to food antigens in patients with atopic dermatitis who are sensitive to foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1990, 86, 253-260.
12. May C.D., Bock S.A. – Adverse reactions to food due to hypersensitivity. In: Middleton E., Reed C.E., Ellis E.F., *Allergy. Principles and Practice*, pp. 1159-1171. Saint-Louis, c.v. Mosby Company, 1978.
13. Moneret-Vautrin D.A. – Food allergy: present problems and perspectives. In: Godard Ph., Bousquet J., Michel F.B., *Advances in Allergology and Clinical Immunology*, The Proceedings of the Plenary Sessions and Afternoon Symposia of the XVth European Congress of Allergology and Clinical Immunology, Paris, 10-15 may 1992, 473-483.
14. Moneret-Vautrin D.A., Gueant J.L., Abdel-Ghani A., Maria Y., Nicolas J.P. – Comparative evaluation between two immuno-enzymatic techniques (FAST and Phadezym) and the Phadebas RAST in food allergy. *Allergy*, 1990, 45, 104-108.
15. Moneret-Vautrin D.A., Kanny G., Gerard H., Gueant J.L., Nicolas J.P., Brignon J.J., Maria Y. – Détermination des IgE spécifiques aux allergènes alimentaires par le MAST-CLA. Corrélations avec les tests cutanés et le RAST. *Rev. Fr. Allergol.*, 1990, 30, 225-231.
16. Pécoud A.R. – Optimal use of in vitro diagnostic tests in clinical allergy. In: Pichler W.J., Stadler B.M., Dahinden C.A., Pécoud A.R., Frei P., Schneider C.H., de Weck A.L., *Progress in Allergy and Clinical Immunology*, pp. 428-432, Hogrefe et Huber Publishers, 1989.
17. Sampson H.A., Metcalfe D.D. – Immediate reactions to foods. In: Metcalfe D.D., Sampson H.A., Simon R.A., *Food Allergy*, pp. 92-112. Boston, Blackwell Scientific Pub., 1991.
18. Van Toorenenbergen A.W., Oranje A.P., Vermeulen A.M., Aarsen R.S. – De "Phadiatop Paediatric": een bruikbare in vitro-test op een atopische immuunrespons bij zuigelingen en kleuters. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 1991, 135, 1920-1923.
19. Van Toorenenbergen A.W., Oranje A.P., Vermeulen A.M., Aarsen R.S. – IgE antibody screening in children. Evaluation of the Phadiatop Paediatric. *Allergy*, 1991, 46, 180-185.

