

Article original

Valeur diagnostique des prick-tests, des IgE spécifiques et du test de libération d'histamine pour le diagnostic de routine d'allergie aux hyménoptères

Diagnostic value of skin prick-tests, specific IgE assay and basophil histamine release to assess hymenoptera venom allergy in routine allergy practice

B. Royer^{a,b,*}, S. Harraga^a, J.-P. Meyer^a, V. Lustgarten^a, B. Adessi^a,
J.-P. Kantelip^b, D.A. Vuitton^a

^a Réseau d'allergologie de Franche-Comté (RAFT), fédération d'allergologie du CHU de Besançon, France

^b Laboratoire de pharmacologie, CHU Jean-Minjoz, boulevard Fleming, 25030 Besançon cedex, France

Reçu le 22 janvier 2003 ; accepté le 7 novembre 2003

Résumé

Objectifs. – Les études destinées à déterminer les valeurs diagnostiques des tests de l'allergie aux venins d'hyménoptères ont été souvent réalisées dans un objectif de validation méthodologique, mais on dispose de très peu d'études d'évaluation dans des situations de routine diagnostique. De fait, la valeur diagnostique des tests de libération d'histamine, par exemple, a rarement été étudiée systématiquement chez des patients adressés par leur médecin pour une confirmation diagnostique et/ou l'indication d'une désensibilisation. Le but de cette étude était d'évaluer les valeurs diagnostiques des prick-tests, des IgE spécifiques et des tests de libération d'histamine en pratique de routine dans une unité d'allergologie.

Patients et méthode. – Les tests diagnostiques ont été réalisés prospectivement chez 25 patients consécutifs atteints d'allergie aux venins d'hyménoptères attestée par l'histoire clinique et la positivité des intradermo-réactions, incluant des patients avec réaction locorégionale accompagnée de malaise et/ou de dyspnée, de même que chez 21 sujets témoins. Les hyménoptères étudiés ont été la guêpe *Vespula* (V) et l'abeille (A). Ont été étudiées : la sensibilité, la spécificité, la concordance et les valeurs prédictives.

Résultats. – Les valeurs de sensibilité, spécificité, valeur prédictives positives et négatives ont été respectivement de (en pourcentage) : pour les prick-tests (100 µg/mL) : 33,3 ; 100 ; 100 ; 85,7 (A) ; 30 ; 100 ; 100 ; 85,1 (V) ; pour les prick-tests (300 µg/mL) : 75 ; 100 ; 100 ; 94,1 (A) ; 57,1 ; 100 ; 100 ; 90,3 (V) ; pour les IgE spécifiques : 100 ; 95,2 ; 84 ; 100 (A) ; 100 ; 76,2 ; 51,2 ; 100 (V) ; et pour le test de libération d'histamine : 88,9 ; 100 ; 100 ; 97,3 (A) ; 94,1 ; 88,9 ; 67,9 ; 98,4 (V).

Conclusions. – Pour le diagnostic de l'allergie aux hyménoptères par les prick-tests, des concentrations de venins inférieures à 300 µg/mL sont trop peu sensibles. Le test de libération d'histamine représente un bon test complémentaire dont la standardisation devrait être améliorée.

© 2003 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Objectives. – Studies performed to assess the diagnostic value of tests for hymenoptera allergy are usually designed to validate the test whereas very few have evaluated these tests in routine diagnostic situations. In fact, the diagnostic value of such tests, especially skin prick-tests and basophil histamine release, has rarely been studied systematically in patients referred by their physician to an allergist for confirmation of the diagnosis and recommendations for immunotherapy. The aim of the present study was to assess the diagnostic value of skin prick-tests, specific IgE assay and basophil histamine release in patients referred to an allergy unit for suspected hymenoptera venom allergy.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : bernard.royer@ufc-chu.univ-fcomte.fr (B. Royer).

Patients and methods. – Diagnostic tests were done prospectively in 25 consecutive patients with allergic reactions to hymenoptera venom defined by clinical history and positive intradermal skin tests, including patients with a localized or a more extensive skin reaction associated with malaise and/or respiratory symptoms, and in 21 control subjects. The hymenoptera studied included yellow jacket (YJ) and honeybee (HB). The sensitivity, specificity, concordance and predictive values of the tests were calculated.

Results. – The observed sensitivity, specificity, and positive and negatives predictive values of skin prick-tests with 100 µg/mL HB venom (in percent) 33.3; 100; 100; and 85.7, respectively, and with 100 µg/mL YJ venom 30; 100; 100 and 85, respectively. For skin prick-tests with 300 µg/mL HB venom the values were 75; 100; 100 and 94, respectively and for skin prick-tests with 300 µg/mL YJ venom 57; 100; 100 and 90.3, respectively. For specific IgE assays, the values for HB were 100; 95.2; 84 and 100, respectively and for YJ 100; 76.2; 51.2, and 100, respectively. For basophil histamine release the values for HB were 89; 100; 100 and 97.3 for YJ they were 94; 89, 6 and 98.4, respectively.

Conclusions. – Skin prick-tests with venom concentrations under 300 µg/mL are not sensitive enough for an accurate diagnosis of hymenoptera allergy. Basophil histamine release appears to be a good complementary test but it needs better standardization.

© 2003 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Valeur diagnostique ; IgE spécifiques ; Tests cutanés ; Test de libération d'histamine ; Situation de routine ; Hyménoptères

Keywords: Hymenoptera allergy; Diagnosis; Skin prick-tests; Specific IgE assay; Histamine release assay

1. Introduction

Les intradermo-réactions (IDR) et le dosage des IgE spécifiques (sIgE) sont les standards du diagnostic de l'allergie aux venins d'hyménoptères (VH) [1,2] ; les tests d'histaminolibération ont une place mal définie dans la procédure diagnostique [3,4]. Cependant, les études ayant pour but de déterminer les valeurs diagnostiques des tests ont été réalisées avec des protocoles spécifiquement construits dans cette optique et avec des patients adéquats dont les caractéristiques cliniques sont sans ambiguïté et dont le statut allergique est souvent connu au préalable. La pratique de routine est néanmoins différente de ces protocoles et les situations rarement aussi simples que celles rencontrées dans ces derniers. Par exemple, en routine, l'insecte piqueur n'est pas toujours déterminé avec précision, ni la gravité réelle évaluée par un médecin expérimenté et l'anxiété des proches est un paramètre à prendre également en compte. En outre, la distinction entre réaction généralisée et/ou locale étendue accompagnée de malaise n'est pas toujours facile à faire et des tests de provocation par piqure sont rarement réalisés.

Peu d'informations sont disponibles sur les valeurs diagnostiques réelles des prick-tests (PT), des tests de libération d'histamine (TLH) ou même encore des dosages des sIgE lorsqu'ils sont utilisés pour établir un diagnostic en routine. En effet, dans ce cadre particulier du diagnostic d'allergie aux VH, la valeur diagnostique des PT est faiblement documentée voire controversée [5–7], de même que celle des TLH [8,9]. Or les PT remplacent le plus souvent les IDR pour le diagnostic des allergies alimentaires et respiratoires [10,11] ; mieux acceptés par le patient, moins risqués, ils simplifieraient le diagnostic d'allergie aux venins. Par ailleurs, dans de nombreux pays, les tests cutanés ont tendance à être remplacés par des test *in vitro* ; l'intérêt comparé du dosage des IgE spécifiques et du TLH, pour une décision d'immunothérapie spécifique, est cependant peu connu.

En raison de ce peu d'information disponible sur la valeur diagnostique réelle des tests effectués lors du diagnostic de sensibilité aux VH dans les conditions usuelles d'exercice, le

but de cette étude était de mesurer les paramètres d'efficacité diagnostique des PT, des dosages des sIgE et des TLH réalisés en routine pour le diagnostic d'allergie aux venins d'hyménoptères. Les IDR et l'histoire clinique servaient de référence pour définir le statut allergologique des patients.

2. Méthodes

2.1. Patients et sujets témoins

L'étude a été réalisée, après approbation du comité consultatif pour la prévention des personnes en recherche biomédicale (CCPPRB) de Franche-Comté, chez 25 patients adressés consécutivement à l'unité d'allergologie du CHU de Besançon pour confirmation diagnostique d'allergie aux VH et indication éventuelle d'immunothérapie. Les critères d'inclusion étaient : l'acceptation du protocole par consentement écrit, être âgé de six ans et plus, ne pas être sous traitement susceptible d'interférer avec les tests cutanés (antihistaminiques, glucocorticoïdes locaux), avoir des prick-tests cutanés positifs avec l'histamine (10 µg/mL) et le phosphate de codéine (0,9 %), et un test négatif avec le diluant des venins. Le diagnostic d'allergie à la guêpe *Vespula* (*Vespula vespula*) et/ou à l'abeille (*Apis mellifera*) était fondé sur l'historique des réactions cliniques après la ou les piqure(s) d'hyménoptères survenue(s) l'année précédente, et la positivité des IDR réalisées plus d'un mois après la piqure avec une dilution de VH inférieure ou égale à 0,1 µg/mL. La sévérité de la réaction allergique a été évaluée comme suit : les réactions généralisées ont été cotées de I à IV selon Müller et al. [12] ; et les réactions locorégionales accompagnées de malaise isolé et/ou de dyspnée ont été cotées « V ». L'étude a également inclus 21 sujets volontaires sains, ayant déjà subi des piqures d'hyménoptères, mais sans aucune réaction clinique pouvant évoquer une sensibilisation allergique.

2.2. Tests cutanés

Les IDR n'ont été effectuées que chez les patients adressés pour diagnostic d'allergie et ce avec des concentrations

croissantes (0,001 ; 0,01 ; 0,1 µg/mL) de venins de guêpe *Vespula* et d'abeille (Albay®, Bayer Pharma, Sens, France). Le CCPPRB n'a pas autorisé la pratique des IDR chez les sujets témoins. Les diamètres des papules et des érythèmes ont été consignés sur un calque, et conservés dans le dossier du patient. Les IDR ont été considérées comme positives lorsque le diamètre de la papule était supérieur à 5 mm ou de plus de 2/3 du diamètre obtenu avec l'histamine pour le même sujet. Tous les patients et sujets témoins ont été testés en PT avec les venins de guêpe *Vespula* et d'abeille (ALK — Abello, Horsholm, Danemark) aux concentrations suivantes : 1, 10 et 100 µg/mL. Les tests étaient considérés comme positifs lorsque le diamètre de la papule était supérieur à 3 mm ou de plus de 2/3 de celui obtenu avec l'histamine pour le même sujet. Huit patients et les 21 sujets témoins ont également été testés à la concentration de 300 µg/mL.

2.3. Dosage des sIgE

Les sIgE dirigés contre les venins d'abeille ou de guêpe *Vespula* ont été dosés au moyen du système Cap® (Pharmacia, Uppsala, Suède) selon les instructions du fabricant. Les concentrations supérieures à 0,35 UI/mL ont été considérées comme positives.

2.4. Tests de libération d'histamine

Les mêmes VH que ceux utilisés pour les IDR ont été préalablement dialysés pendant 48 heures au moyen d'une membrane ayant un seuil de 1000 Da (Spectrum, Lafuma Hill, Californie), afin d'en éliminer les composants de faible poids moléculaire, dont l'histamine. Les TLH ont été réalisés en incubant le sang total, prélevé sur héparinate de lithium (dilué au 1/5 avec du tampon), avec les venins dialysés (3 et 1 µg/mL) pendant 30 minutes à 37 °C. Pour tous les TLH ont été déterminées : la libération d'histamine spontanée (en présence du tampon), ainsi que celle obtenue après incubation avec des anti-IgE (concentration finale 200 µg/mL ; Immunotech®, Marseille – Lumigny, France), afin d'estimer la réactivité des basophiles [13]. L'histamine totale contenue dans les basophiles a été obtenue après dilution (1/10) dans de l'eau distillée et deux cycles de congélation–décongélation dans l'azote liquide. Après incubation du sang avec les venins ou les anti-IgE, les surnageants ont été recueillis et congelés à –20 °C en vue du dosage ultérieur de l'histamine. Celle-ci a été dosée en utilisant le kit EIA d'Immunotech® (Marseille – Lumigny, France) selon les recommandations du fabricant. Les résultats ont été exprimés en pourcentage net de libération d'histamine, en tenant compte des différentes dilutions réalisées, selon la formule : (histamine libérée – histamine spontanée/histamine totale) × 100. Un TLH a été considéré comme positif lorsque l'histaminolibération obtenue avec l'un et/ou l'autre des venins est de 10 %. Des études préalables de spécificité et de sensibilité variant de 5 à 30 % ont en effet montré que ce seuil était le mieux approprié. De même, il a été calculé que, conformément à la littérature [14],

un seuil d'histaminolibération supérieur ou égal à 5 % permettait de s'assurer de la réactivité des basophiles.

2.5. Expression des résultats et analyse statistique

La spécificité, la sensibilité et la concordance pour chaque type de venin ont été calculées pour chaque test. Les patients allergiques ont été considérés comme « vrai positifs », les sujets témoins avec des tests positifs comme « faux positifs ». La concordance entre les tests diagnostiques et le statut allergique correspond au nombre de vrais positifs et négatifs divisé par le nombre total de tests réalisés.

Les valeurs prédictives ont été calculées en tenant compte de la prévalence (p) des patients allergiques aux hyménoptères parmi ceux couramment adressés à l'unité d'allergologie du CHU. Cette prévalence est de 20 %. La valeur prédictive positive est calculée comme suit (1) ; et les valeurs prédictives négatives comme suit (2) :

$$\frac{p \cdot Se}{[(p \cdot Se) + (1 - p) \cdot (1 - Sp)]} \quad (1)$$

$$\frac{(1 - p) \cdot Sp}{[(1 - p) \cdot Sp + p \cdot (1 - Se)]} \quad (2)$$

(Avec p = prévalence, Sp = spécificité et Se = sensibilité).

La valeur statistique de la concordance entre l'état allergique (ou non) et les différents tests ont été calculés par le χ^2 de Mac-Nemar avec une correction de Yates si besoin. Le test a été considéré comme significatif lorsque $p < 0,05$. Le même type d'analyse a été utilisé pour éprouver les corrélations entre les TLH, les PT et les sIgE.

Pour les prick-tests, la valeur diagnostique n'a été calculée que pour les valeurs de concentration égale ou supérieure à 100 µg/mL.

3. Résultats

3.1. Statut allergique des patients

Tous les patients adressés pour diagnostic d'allergie aux hyménoptères se sont révélés sensibilisés à l'un des deux ou aux deux venins. Le statut allergique exact de tous les patients est résumé dans le [Tableau 1](#). Aucun TLH ne s'est révélé positif chez les sujets témoins.

Dans le cas particulier des PT, aucun des PT réalisés avec les concentrations 1 et 10 µg/mL ne s'est révélé positif et seuls cinq patients sur 17 ont eu un PT positif à la concentration de 100 µg/mL (pour les deux venins). Six des huit patients testés à 300 µg/mL ont eu un prick-test positif, alors que les tests effectués à cette concentration ont été négatifs chez tous les sujets témoins. Les prick-tests à 300 µg/mL ont été positifs en lecture retardée chez un témoin, avec une papule d'un diamètre moyen de 4 mm à la 36^e heure.

Tableau 1

Statut allergologique et manifestations cliniques des patients inclus dans l'étude

N° et statut allergologique	Score de Mueller	Insecte incriminé	N° et statut allergologique	Score de Mueller	Insecte incriminé
1-GV	V	NI	17-AB	V	AB
2-GV	V	GV + AB	18-AB	II	NI
3-GV	IV	NI	19-AB	IV	AB
4-GV	IV	GV	20-AB	II	AB
5-GV	V	NI	21-AB	II	AB
6-GV	V	GV	22-GV + AB	I	NI
7-GV	II	GV	23-GV + AB	II	GV
8-GV	II	GV	24-GV + AB	V	NI
9-GV	V	GV	25-GV + AB	IV	NI
10-GV	V	NI			
11-GV	I	GV			
12-GV	V	GV			
13-GV	II	GV			
14-GV	I	GV			
15-GV	IV	GV			
16-GV	IV	GV			

Parmi les 25 patients inclus dans l'étude, 16 sont suspectés d'allergie à la guêpe *Vespula* (GV), cinq d'allergie à l'abeille (AB) et quatre aux deux insectes. L'insecte incriminé est celui reconnu (ou non identifié : NI) par le patient comme l'ayant piqué. Le « statut allergologique » indiqué pour les patients avec réactions locorégionales accompagnées de malaise et/ou dyspnée correspond à l'association de cette réaction clinique suspecte et de la positivité d'une intradermo-réaction au venin à une concentration égale ou supérieure à 0,1 µg/mL.

3.2. Concordance des tests avec le diagnostic d'allergie aux VH

Une concordance statistiquement significative a été observée entre le diagnostic d'allergie aux VH et les résultats du bilan allergologique quel que soit le test considéré (Tableau 2). Les valeurs de concordance les plus élevées ont été obtenues avec les sIgE, les TLH et les PT à 300 µg/mL, et la plus faible avec les PT à 100 µg/mL. Il faut néanmoins remarquer que les résultats des PT à 300 µg/mL portent sur un nombre plus faible de patients.

3.3. Spécificité et sensibilité des tests

Tous les tests réalisés avec le venin d'abeille ont montré une excellente spécificité (100,0 %), sauf pour les sIgE

Tableau 2

Concordance entre le statut allergologique et les tests diagnostiques

	Venin d'abeille		Venin de guêpe <i>Vespula</i>	
	Conc (%)	<i>p</i>	Conc (%)	<i>p</i>
PT 100	80,0	< 0,05	65,9	< 0,05
PT 300	96,0	< 0,001	89,3	< 0,01
SigE	96,6	< 0,001	86,6	< 0,001
TLH	96,3	< 0,001	91,4	< 0,001

Les prick-tests (PT) ont été réalisés avec les concentrations de 1, 10 et 100 µg/mL chez 25 patients et 21 témoins ; une concentration additionnelle de 300 µg/mL a été testée chez huit patients et les 21 témoins ; en l'absence de réactions positives aux concentrations inférieures, seules les concentrations de 100 et 300 µg/mL ont fait l'objet d'analyse. Les tests de libération d'histamine (TLH) ont été analysables chez 23 patients et chez tous les témoins (deux patients dont les basophiles se sont révélés non répondeurs (absence de réponse avec les anti-IgE) ont été écartés de l'analyse afin d'éviter de faux négatifs)... Les dosages d'IgE spécifiques (sIgE) ont été réalisés chez les 25 patients et 21 témoins. Les résultats sont exprimés en pourcentage et une valeur de *p* inférieure à 5 % a été considérée comme statistiquement significative.

Tableau 3

Sensibilité et spécificité des tests

	Venin d'abeille		Venin de guêpe <i>Vespula</i>	
	Sens (%)	Spec (%)	Sens (%)	Spec (%)
PT 100	33,3	100,0	30,0	100,0
PT 300	75,0	100,0	57,1	100,0
SigE	100,0	95,2	100,0	76,2
TLH	88,9	100,0	94,1	88,9

La sensibilité (Sens) et la spécificité (Spe) ont été évaluées avec à partir de 25 patients (23 pour les TLH) et 21 sujets témoins. Les prick-tests (PT) à 300 µg/mL ont été réalisés chez huit patients et 21 témoins.

SigE, dosage des IgE spécifiques ; TLH, test de libération d'histamine

(95,2 %) (Tableau 3). La meilleure sensibilité a été observée avec le dosage des sIgE (100,0 %), suivi des TLH (88,9 %) et des PT à 300 µg/mL, alors que les PT à 100 µg/mL ont eu une sensibilité très basse.

En ce qui concerne le venin de guêpe *Vespula*, la meilleure spécificité a été obtenue avec les PT quelle que soit la concentration (100,0 %), suivi par les TLH (88,9 %) et les sIgE (76,2 %). De même que pour le venin d'abeille, la sensibilité la plus élevée a été obtenue avec le dosage des sIgE (100,0 %), suivi par les TLH (94,1 %), alors que la sensibilité des PT a été beaucoup plus faible (Tableau 3).

3.4. Corrélations entre les différents tests

Les tests les plus concordants entre eux, quel que soit le venin, ont été les dosages des sIgE et les TLH (91,9 et 83,8 %). Les résultats sont décrits dans le Tableau 4.

3.5. Valeurs prédictives positives et négatives

Les valeurs prédictives permettent d'interpréter les tests en termes d'efficacité à prédire ou rejeter le diagnostic. Les

Tableau 4

Valeurs des concordances entre les tests diagnostiques

	PT 100	PT 300	sIgE	TLH
PT 100		87,5	76,7	80,0 ($p < 0,05$)
PT 300	93,1 ($p < 0,01$)		92,3 ($p < 0,01$)	87,5
sIgE	60,5 ($p < 0,05$)	76,9 ($p < 0,05$)		91,9 ($p < 0,001$)
TLH	55,0	70,8	83,8 ($p < 0,001$)	

Les valeurs des concordances sont exprimées en pourcentage et le seuil statistiquement significatif quand $p < 0,05$. Les résultats de la zone ombrée sont ceux obtenus avec l'abeille, ceux de la zone claire avec la guêpe *Vespula*. Les tests ont été effectués de façon comparables au Tableau 2.

Tableau 5

Valeurs prédictives positives et négatives

	Venin d'abeille		Venin de guêpe <i>Vespula</i>	
	VPP	VPN	VPP	VPN
PT 100	100,0	85,7	100,0	85,1
PT 300	100,0	94,1	100,0	90,3
sIgE	84,0	100,0	51,2	100,0
TLH	100,0	97,3	67,9	98,4

Les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) ont été calculées à partir des résultats des tests effectués comme décrit dans le Tableau 2.

résultats des TLH comme ceux des dosages des sIgE ont eu une excellente valeur prédictive négative quel que soit le venin testé (Tableau 5). Les valeurs obtenues avec les PT à 300 µg/mL ont été acceptables (90,3 et 94,1 %), et celles obtenues avec les PT à 100 µg/mL insuffisantes (85,7 et 85,1 %).

Les PT ont cependant eu d'excellentes valeurs prédictives positives, quels que soient les concentrations et les venins utilisés (100,0 % dans tous les cas). Les résultats obtenus avec les TLH ont également été excellents avec le venin d'abeille (100,0 %) mais nettement plus faibles avec le venin de guêpe *Vespula*. Enfin, les valeurs prédictives positives des sIgE ont été faibles en regard de celles obtenues avec les autres tests.

4. Discussion

Le but de cette étude était de calculer et comparer les paramètres diagnostiques de trois tests utilisés en routine pour évaluer l'allergie aux VH. Nous avons choisi d'utiliser comme éléments de référence l'anamnèse, qui représente le motif de consultation, et donc d'indication d'une procédure diagnostique étiologique complémentaire, ainsi que les IDR, dans la mesure où ce sont les tests qui sont habituellement recommandés pour décider d'une immunothérapie spécifique [1,15]. En effet, les tests de provocation réalistes (piqûre délibérée) apportent beaucoup d'informations, mais ne sont pas couramment effectués lors du diagnostic d'allergie aux VH [16,17]. Les PT n'ont pas encore définitivement acquis le statut de test fiable en matière d'allergie aux hyménoptères et celui des TLH, couramment pratiqué dans notre CHU et dont la technique a été depuis plusieurs années standardisée dans notre laboratoire, est encore moins validé par des études « d'usage », même si le TLH aux venins d'hyménoptère a fait l'objet de multiples publications [3,9,14,18,19].

Le fait de se placer délibérément en situation de routine nous a amené à considérer différents problèmes qui ne sont pas rencontrés dans des protocoles spécialement dévolus à une étude. Par exemple, il ne nous a pas été possible d'utiliser le même venin pour les IDR (réalisés préalablement, comme tests de référence) et les PT. De plus, les patients pour lesquels des réactions locorégionales importantes accompagnées de malaise et/ou de dyspnée, retrouvées par l'anamnèse et/ou confirmées par le médecin traitant ou l'entourage, ont été inclus. De tels patients sont généralement écartés des cohortes destinées à l'évaluation des paramètres diagnostiques des tests [3,20,21]. Cependant, ces patients sont relativement fréquemment rencontrés dans les unités spécialisées dans la prise en charge de l'allergie aux VH, en particulier dans les régions rurales de l'Est de la France (30 % des cas de cette étude) ; ils sont adressés pour diagnostic et éventuelle indication d'immunothérapie par leur médecin traitant, et peuvent difficilement être systématiquement renvoyés sans qu'une procédure diagnostique complémentaire ait été mise en œuvre ; les événements entourant la piquûre, la crainte d'une récurrence sont générateurs d'angoisse et le médecin allergologue ne peut s'y soustraire. Nous avons donc décidé que de tels cas devaient être inclus dans une étude dédiée à la pratique de routine, puisque les IDR pratiquées en première intention s'étaient révélées positives selon les critères habituellement retenus dans la littérature. Cette inclusion est susceptible de biaiser certaines conclusions d'une telle étude sur les valeurs prédictives positives ou négatives des tests, mais il s'est avéré que les tests complémentaires réalisés pour l'étude (PT, dosage des sIgE, TLH) ne permettaient pas de les distinguer de la population considérée comme « allergique », et qu'il n'était donc pas justifié de les exclure d'une analyse qui avait pour but d'explorer l'allergie et non les indications d'un traitement ultérieur, quel qu'il soit. Qu'une immunothérapie soit envisagée pour ces patients peut être débattu dans la mesure où les recommandations actuelles ne préconisent pas ce type de traitement [22]. Il ne s'agit pas cependant de l'objet de cette étude, même si des données récentes semblent indiquer que cette pratique améliore la qualité de vie de tels patients [23] et que nos résultats iraient également dans ce sens, en particulier s'il s'agit de sujets fréquemment exposés (agriculteurs, golfeurs, cyclistes...).

Avant la fin de l'étude, en raison de la très faible sensibilité des PT réalisés avec les venins aux concentrations de 1, 10 et 100 µg/mL, il a été décidé de tester les patients et les sujets témoins avec une concentration supplémentaire de 300 µg/mL pour les deux venins, afin d'essayer d'améliorer la sensibilité et de tester la spécificité de ce test. Cela a effectivement permis, malgré le faible nombre de patients testés à la concentration de 300 µg/mL, de confirmer certaines observations antérieures [5,7]. Nos résultats suggèrent qu'une concentration d'au moins 300 µg/mL devrait être utilisée lors du diagnostic de sensibilisation aux VH au moyen des PT. Il est vraisemblable que le relatif discrédit des PT dans le diagnostic d'allergie aux venins d'hyménoptères, alors que ce type de test s'est progressivement imposé dans le

diagnostic de l'allergie immédiate dans d'autres domaines, vient de la faible sensibilité de la concentration à 100 µg/mL et de la mauvaise spécificité de la concentration à 1000 µg/mL : la concentration de 300 µg/mL apparaît donc un bon compromis. Une étude complémentaire devrait cependant être réalisée afin de déterminer la spécificité des prick-tests effectués à cette concentration lorsque des IDR peuvent être pratiqués chez les sujets témoins.

Les tests les mieux corrélés entre eux ont été les dosages des sIgE et les TLH. Les PT à 100 µg/mL n'ont été corrélés qu'aux TLH, et encore de façon modeste. Le manque de concordance entre les PT à 100 µg/mL et les autres tests est probablement dû à la très faible sensibilité de ce test à cette concentration. Cette explication est confortée par les résultats des PT à 300 µg/mL qui, malgré le faible nombre de patients testés, ont amélioré la sensibilité des PT, gardé leur excellente spécificité (100,0 %), et amélioré leur corrélation avec les autres tests (Tableau 4).

La sensibilité diagnostique la plus importante a été obtenue avec les dosages des sIgE (100,0 %, quel que soit le venin), mais ce résultat est associé aux plus faibles valeurs de spécificité. L'amélioration de la technique de dosage des sIgE, et particulièrement celui du système CAP® Pharmacia, a conduit à une augmentation importante de la sensibilité analytique, et donc de la sensibilité, potentiellement aux dépens de la spécificité. Une telle sensibilité analytique, jointe à la possibilité qu'ont certains individus de synthétiser des IgE spécifiques sans jamais développer de réactions allergiques cliniques, est particulièrement gênante pour le diagnostic de sensibilisation aux VH [24]. Dans une autre étude, les dosages des sIgE vis-à-vis des venins d'hyménoptères ont été positifs chez 26 % des sujets d'une population dont la fréquence des réactions généralisées (systémiques) aux VH est de 3,3 % [25]. Ce manque de spécificité explique la faible valeur prédictive positive observée avec les VH (particulièrement pour la guêpe : 51,2 %). Des études supplémentaires devraient éventuellement permettre de ré-évaluer le seuil de positivité clinique de cette technique particulièrement sensible.

Si de nombreuses études ont porté sur les TLH et la libération d'histamine à partir de sang de patients sensibilisés, la plupart se sont intéressées à la caractérisation des antigènes, ou encore à la capacité de libération d'histamine de ces venins, mais très peu se sont attachées à comparer cette technique aux autres méthodes disponibles dans le cadre d'un diagnostic de routine [8,9]. Dans notre étude prospective, correspondant à une situation diagnostique usuelle, le TLH s'est révélé le test le plus fiable en terme de performance globale (sensibilité, spécificité, concordance, valeurs prédictives positive et négative). Ce test a fait preuve à la fois de valeurs prédictives négative et positive excellentes (Tableau 5), et d'une spécificité meilleure que celle observée avec les dosages des sIgE. Le TLH semble donc particulièrement pertinent en tant que test complémentaire pour le diagnostic de la sensibilité aux VH en routine. Les résultats obtenus dans cette étude ont même conduit les allergologues

cliniciens à modifier leur stratégie diagnostique et leur prise de décision en incluant les résultats des TLH dans leur batterie d'examen, en particulier lors de résultats discordants entre les tests cutanés et les dosages des sIgE. Le fait que le processus mis en jeu au cours des TLH (activation immunologique des basophiles) soit proche des phénomènes physiopathologiques actifs lors d'une réaction clinique peut éventuellement et partiellement expliquer que les TLH aient une meilleure valeur prédictive que la présence des sIgE dans le sérum, qui reflète la synthèse d'IgE spécifiques mais ne donne aucune information sur la phase effectrice de la réaction allergique. Une standardisation et une automatisation du TLH, qui le rendraient facilement utilisable et reproductible, quel que soit le laboratoire qui le met en œuvre, apporteraient certainement un complément diagnostique précieux pour le clinicien. Une réflexion générale sur d'éventuelles extensions des indications d'immunothérapie spécifique pourrait ainsi avoir lieu sur la base d'études multicentriques utilisant des méthodologies communes.

5. Conclusion

Cette étude avait pour but d'évaluer les tests réalisés in vivo et in vitro pour le diagnostic de routine de l'allergie aux VH. Ces résultats nous amènent à proposer, entre autres, d'augmenter la concentration en venin des PT à 300 µg/mL. De plus, cette étude a confirmé la faible spécificité et la faible valeur prédictive positive du dosage des sIgE. Au vu des résultats des TLH (avec lesquels est obtenue la meilleure efficacité clinique globale), nous suggérons de pratiquer ce test lorsque les données des tests plus « classiques » sont insuffisantes et/ou discordantes. Cette étude prospective utilisant quatre tests d'exploration diagnostique de l'allergie aux venins d'hyménoptères a également montré que des patients pour lesquels une réaction loco-régionale étendue s'était accompagnée de malaise et/ou de dyspnée, étaient susceptibles d'être effectivement allergiques au venin, même si dans l'état actuel des recommandations ils ne sont pas justiciables d'une immunothérapie spécifique.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier l'équipe des techniciens du service de pharmacologie du CHU de Besançon pour leur aide technique et leur participation en tant que sujets témoins.

Références

- [1] Bousquet J, Muller UR, Dreborg S, Jarisch R, Malling HJ, Mosbech H, et al. Immunotherapy with Hymenoptera venoms. Position paper of the Working Group on Immunotherapy of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1987;42: 401–13.

- [2] Position paper: Immunotherapy. (EAACI) The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1993;48:7–35.
- [3] Sainte-Laudy J, Sabbah A, Drouet M, Lauret MG, Loiry M. Diagnosis of venom allergy by flow cytometry. Correlation with clinical history, skin tests, specific IgE, histamine and leukotriene C4 release. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1166–71.
- [4] Tamim S, Lauret MG, Drouet M, Sabbah A. Level of histamine in supernatants from the basophil activation test: applications to hymenoptera allergy and drug allergy--preliminary study. *Allerg Immunol (Paris)* 1999;31:35–44.
- [5] Annala IT, Karjalainen ES, Morsky P, Kuusisto PA. Clinical symptoms and immunologic reactivity to bee and wasp stings in beekeepers. *Allergy* 1995;50:568–74.
- [6] Jeep S, Reiprich G, Kunkel G. Yellow jacket allergy. Comparison of skin prick-tests and intradermal tests with three different yellow jacket venom extracts. *Allergy* 1992;47:35–40.
- [7] Green-Graif Y, Ewan PW. Diagnostic value of the skin-prick-test and RAST assay in insect sting allergy. *Clin Allergy* 1987;17:431–8.
- [8] Maly FE, Marti-Wyss S, Blumer S, Cuhat-Stark I, Wuthrich B. Mononuclear blood cell sulfidoleukotriene generation in the presence of interleukin-3 and whole blood histamine release in honey bee and yellow jacket venom allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1997;7:217–24.
- [9] Przybilla B, Ring J, Wielgosch J. The basophilic histamine liberation test as a diagnostic method in Hymenoptera venom allergy. *Hautarzt* 1988;39:662–70.
- [10] Eriksson NE. Diagnosis of IgE mediated allergy in clinical practise. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1994;22:139–51.
- [11] Sicherer SH. Food allergy: when and how to perform oral food challenges. *Pediatr Allergy Immunol* 1999;10:226–34.
- [12] Müller HL. Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res* 1966;3:331–3.
- [13] Proceedings of the Task Force on Guidelines for Standardizing Old and New Technologies Used for the Diagnosis and Treatment of Allergic Diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:487–526.
- [14] Yamaguchi M, Hirai K, Ohta K, Suzuki K, Kitani S, Takaishi T, et al. Nonreleasing basophils convert to releasing basophils by culturing with IL-3. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1279–87.
- [15] Skin tests used in type I allergy testing Position paper. Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1989;44(Suppl 10):1–59.
- [16] Dubois AE. Investigational and clinical use of the sting challenge. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:283–5.
- [17] Rueff F, Przybilla B, Muller U, Mosbech H. The sting challenge test in Hymenoptera venom allergy. Position paper of the Subcommittee on Insect Venom Allergy of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1996;51:216–25.
- [18] Radermecker MF, Leclercq MD, Mariz SD, Louis RE. Basophil releasability in patients with hymenoptera venom allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 1993;101:283–7.
- [19] Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Lichtenstein LM. Diagnosis of allergy to stinging insects by skin testing with Hymenoptera venoms. *Ann Intern Med* 1976;85:56–9.
- [20] Cahen YD, Maly FE, Wuthrich B. Cellular antigen stimulation test (CAST)--applicability in the diagnosis of insect toxin allergies. *Schweiz Med Wochenschr* 1997;127:5–11.
- [21] Annala I, Saarinen JV, Nieminen MM, Moilanen E, Hahtola P, Harvima IT. Bee venom induces high histamine or high leukotriene C4 release in skin of sensitized beekeepers. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2000;10:223–8.
- [22] Position paper: Immunotherapy with hymenoptera venoms. (EAACI) The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1993;48:36–46.
- [23] Oude Elberink JNG, de Monchy JGR, Guyatt GH, Dubois AEJ. Venom-immunotherapy (VIT) improves health-related quality of life (HRQL) in patients with allergic reactions following yellow-jacket sting. *Allergy* 1999;5:5–6.
- [24] Egner W, Ward C, Brown DL, Ewan PW. The frequency and clinical significance of specific IgE to both wasp (*Vespula*) and honey-bee (*Apis*) venoms in the same patient [see comments]. *Clin Exp Allergy* 1998;28:26–34.
- [25] Golden DB, Addison BI, Gadde J, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Prospective observations on stopping prolonged venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:162–7.