

Évaluation comparative du test AlaSTAT Behring et du CAP RAST Pharmacia pour le dépistage des IgE spécifiques du latex

S. FRÉMONT *, H. BRULÉ, St. BIEBER *, G. DEJARDIN *,
J.-P. NICOLAS *, D.-A. MONERET-VAUTRIN **

RÉSUMÉ

Le diagnostic de l'allergie au latex est habituellement réalisé par des prick tests à des extraits commerciaux, du matériel fin en latex (gants chirurgicaux) ou une émulsion de latex. Face à l'absence de standardisation de ces extraits, le dosage des IgE spécifiques *in vitro* est essentiel. Cette étude se propose de comparer deux méthodes de dosage : le test AlaSTAT (Behring) et le test CAP RAST (Pharmacia). Les 58 patients sélectionnés sont répartis en 2 groupes : un groupe de témoins (I) et un groupe de sujets sensibilisés au latex (II). Les valeurs d'IgE latex sont bien corrélées dans le groupe (I). Dans le groupe (II), la corrélation est correcte dans 11 cas sur 20. Dans 7 cas les résultats sont supérieurs d'une classe avec le test AlaSTAT. Pour 2 sujets, l'écart est de plusieurs classes. Les prick tests sont en faveur d'une réelle allergie au latex et les western blots révèlent la présence d'IgE antilatax. En conclusion, les 2 tests sont bien corrélés, mais AlaSTAT offre une meilleure sensibilité.

SUMMARY

Comparative evaluation of the Behring AlaSTAT and Pharmacia CAP RAST tests for the detection of latex IgE.

– The diagnostic of latex allergy is usually based on prick tests using commercial extracts, thin latex material (surgical gloves) or latex emulsion. The absence of standardisation of these extracts makes *in vitro* measurement of latex IgE essential. The aim of this study is to compare two methods of IgE determination: AlaSTAT (Behring) and CAP RAST (Pharmacia). Selected patients were divided to two groups: a control group (I) and a group of subjects suspected for latex allergy (II). The results were well correlated in group (I). In group (II), the correlation was correct for 11 out of 20 cases. In 7 cases the results were one class higher with AlaSTAT. For 2 subjects, the disparity was greater than 2 classes. Prick tests are in favor of a real latex allergy and the western blots revealed the presence of latex IgE. In conclusion, the two tests are well correlated, but AlaSTAT provides a better sensitivity.

La fréquence grandissante de l'allergie au latex motive un intérêt croissant pour les méthodes de diagnostic. Celui-ci est couramment effectué en France par des tests cutanés (Prick tests) utilisant des extraits commercialisés par Stallergènes (Fresnes) ou Allerbio (Varennnes-en-Argonne).

D'autres tests cutanés consistent à utiliser² du matériel en latex, en particulier des gants chirurgicaux. Une émulsion de latex (Revultex, laboratoires Porgès) est également utilisée [2]. Ces préparations commerciales ne sont pas standardisées : la quantité exacte de protéines de latex dans

* Laboratoire de Biochimie Médicale et Pédiatrique, Unité INSERM U 308, Faculté de Médecine, B.P. 184, 54505 VANDEUVRE-LES-NANCY Cedex.

** Service de Médecine D, Immunologie Clinique et Allergologie, Hôpital Central, boulevard de Lattre-de-Tassigny, 54000 NANCY.

Tirés à part : Dr S. Frémont (adresse ci-dessus).

Reçu le 23 février 1995. Accepté le 16 mars 1995.

FRÉMONT S., BRULÉ H., BIEBER St., DEJARDIN G., NICOLAS J.-P., MONERET-VAUTRIN D.-A. – Évaluation comparative du test AlaSTAT Behring et du CAP RAST Pharmacia pour le dépistage des IgE spécifiques du latex. *Rev. fr. Allergol.*, 1996, 36 (1), 33-37.

chaque matériel est inconnue. Aux États-Unis, il n'existe pas de préparations commerciales de latex [7, 11, 12]. Des extraits préparés par certains auteurs et utilisés lors de tests cutanés, ont abouti à la survenue de chocs anaphylactiques [7]. Lors des dernières Journées Parisiennes d'Allergie, les laboratoires Stallergènes présentaient un travail sur la standardisation d'un extrait de latex, extrait dorénavant commercialisé (Turjanmaa K., Leynadier F., Autegarden J.E., Sicard H., Tran Xuan Thao, André C. – Standardisation *in vivo* de l'extrait latex Stallergènes. Journées Parisiennes d'Allergie, 1995, Abstract A 37).

C'est pourquoi la détection des IgE spécifiques *in vitro* est particulièrement intéressante. La première technique, commercialisée par la société Kabi Pharmacia (RAST®), donne des résultats variables selon les publications. Sa sensibilité n'est pas définitivement fixée. Les publications faisant état des résultats comparés des tests cutanés et des RAST signalent souvent la performance supérieure des premiers [1, 2, 9, 13, 14, 15].

Cette étude s'attache à préciser les caractéristiques du test AlaSTAT, commercialisé par Behring Diagnostic, en comparant ses résultats à ceux des tests cutanés et du RAST (CAP System Pharmacia). L'étude a porté sur 58 sérums de sujets pour lesquels on dispose de renseignements cliniques et d'une évaluation allergologique complets. Elle indique une très bonne concordance, permettant de conclure à l'intérêt diagnostique de ce test.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sélection des sérums et des patients

Cinquante-huit patients sont inclus dans cette étude. Ils sont répartis en deux groupes :

– *Groupe I* : 38 sujets témoins. Parmi eux, 29 sujets sont atopiques avec une nette sensibilité aux acariens, établie par tests cutanés et par CAP RAST d1 et d2 Pharmacia (*Dermatophagoïdes pteronyssinus* et *Dermatophagoïdes farinae*). 9 sujets sont non atopiques ;

– *Groupe II* : 20 sujets sensibilisés au latex, présentant des symptômes cliniques souvent associés à une exposition quotidienne (personnel de santé, employés des industries agro-alimentaires, etc.). Il s'agit d'urticaires de contact, de rhinites ou d'asthmes professionnels pour lesquels la responsabilité du latex a été rigoureusement établie par des tests de provocation.

Tests cutanés

Les tests cutanés sont effectués sur 8 sujets du groupe I et sur les 20 sujets du groupe II avec trois préparations :

- une émulsion de latex Revultex (laboratoires Porgès, Sarlas),
- un extrait Stallergène (Fresnes),
- un extrait Allerbio (Varennes-en-Argonne).

Un témoin négatif (soluté NaCl 9 ‰) est pratiqué ainsi qu'un contrôle de positivité au phosphate de codéine 9 p. cent.

Le critère de positivité est la mesure d'un diamètre supérieur de 50 p. cent au contrôle codéine, lui-même supérieur ou égal à 3 mm. Le diamètre minimal d'un test positif au latex est donc de 2 mm.

Méthodes de dosage des IgE spécifiques du latex

Le dosage des IgE spécifiques du latex a été effectué par la méthode AlaSTAT Behring en comparaison avec la méthode CAP RAST Pharmacia.

- CAP RAST Pharmacia.

Il s'agit d'une technique radioimmunologique de type sandwich.

L'allergène est fixé de façon covalente sur l'immuno-CAP (CAP System Pharmacia) constitué d'une mousse de cellulose. Lorsque le sérum du patient est mis en contact avec l'immuno-CAP, les IgE spécifiques du latex se fixent sur l'allergène insolubilisé. L'addition du conjugué (anti-IgE marqué à l'iode 125) permet la formation d'un complexe radioactif dont la concentration est proportionnelle à la concentration des IgE spécifiques du latex présentes dans le sérum du patient.

- AlaSTAT Behring.

Il s'agit d'une méthode immunoenzymatique.

L'allergène biotinylé est fixé sur une matrice soluble, composée d'un polymère de type ficoll et dextran, sur laquelle sont greffées des chaînes d'acides aminés. La fixation des IgE spécifiques se fait donc en phase liquide.

Les complexes « allergènes-IgE » sont retenus par une molécule de streptavidine. Celle-ci se lie de façon covalente à deux molécules de biotine : l'une présente à la surface du tube, l'autre fixée à l'allergène.

L'anti-IgE est marqué à la peroxydase. L'addition d'un chromogène permet le développement de la coloration.

- Western blot.

L'étude des IgE dirigées contre les différents épitopes du latex a été effectuée par la Société DPC sur 3 sérums, selon la méthode de Laemmli [8].

RÉSULTATS

Spécificité

La spécificité est étudiée sur les 38 sérums de sujets témoins.

Sur 29 sérums de sujets atopiques présentant une nette sensibilisation aux acariens, 3 sont positifs (1,3 UI/ml, 7,2 UI/ml et 8,86 UI/ml) dont un préparateur en pharmacie ; 26 sont négatifs.

Parmi les 9 sujets non atopiques, 8 présentent un taux d'IgE latex inférieur à 0,35, qu'il soit évalué par CAP RAST ou AlaSTAT. Pour un sujet, le résultat obtenu par la méthode Pharmacia est de 0,47 KUI/l (classe 1) et il est inférieur à 0,35 UI/ml (classe 0) avec la méthode Behring. Les classes diffèrent mais les valeurs sont proches et ces tests peuvent être considérés comme négatifs.

Au total, la spécificité de l'AlaSTAT est de 92 p. cent et celle du CAP RAST est comparable.

Sensibilité

La sensibilité est étudiée sur 20 sérums de sujets sensibilisés au latex. Parmi eux, 1 seul présente un taux d'IgE latex inférieur à 0,35. La sensibilité est de 95 p. cent pour le test AlaSTAT et de 90 p. cent pour le CAP RAST (différence non significative).

Les tests cutanés sont négatifs chez 8 témoins et positifs chez 14 sujets sur 16 (sensibilité de 88 %).

Comparaison

Parmi les sujets témoins, le CAP RAST est équivalent à l'AlaSTAT dans 79 p. cent des cas. Dans 2 cas, il est inférieur d'une classe (résultat de classe 2 avec CAP RAST et de classe 3 avec AlaSTAT) et supérieur dans deux autres cas (résultat de classe 2 avec CAP RAST, et de classe 1 et 0 avec AlaSTAT) (fig. 1).

En ce qui concerne les sujets allergiques au latex, dans 11 cas sur 20 (55 % des cas), les résultats exprimés en classe d'IgE latex, obtenus par les deux méthodes, sont parfaitement corrélés. Dans 7 cas, les résultats obtenus par la méthode AlaSTAT sont supérieurs d'une classe à ceux donnés par la méthode CAP RAST (passage d'une classe 3 à une classe 4 dans 6 cas, d'une classe 1 à une classe 2 dans 1 cas).

Les résultats sont divergents dans 3 cas :

– Le premier cas concerne une patiente, infirmière, qui porte quotidiennement des gants de latex. Elle présente une dermatite de contact avec un test cutané au latex à 3 mm, mais également un patch-test très positif au latex à 48 heures, alors que les patchs aux accélérateurs de vulcanisation sont négatifs. Pour cette patiente, deux prélèvements ont été effectués à 3 semaines d'intervalle et montrent des résultats similaires : RAST latex de classe 1 avec le réactif commercialisé par Pharmacia et de classe 4 avec le réactif commercialisé par Behring. La divergence des résultats entre les deux méthodes est donc effective. L'étude par Western blot met en évidence des bandes à 15, 36 et 38 kDa (fig. 2 a).

– Dans le second cas, il s'agit d'une lingère portant fréquemment des gants de latex, et qui a consulté pour anaphylaxie aux abricots et intolérance au port de gants. Chacun de ces résultats a été confirmé par un second dosage. Les tests cutanés sont positifs avec l'émulsion au latex « Révultex » et négatifs avec les extraits commerciaux. Le test de provocation réaliste (port d'un gant) est positif. Le RAST latex est de classe 0 avec la méthode Pharmacia et de classe 3 avec la méthode Behring.

Pour ce sérum, des bandes principales à 15 et 30 kDa sont identifiées. Ces bandes correspondent aux allergènes majeurs du latex [2, 3, 12, 13, 14] (fig. 2 a).

– Un troisième sérum a fait l'objet d'un CAP RAST positif (classe 2) et d'un test AlaSTAT négatif au laboratoire (classe 0). Un nouveau test AlaSTAT avec un autre lot était positif (classe 3). Le Western blot a permis de confirmer ce dernier résultat, en montrant la fixation d'IgE spécifiques sur des protéines de 30, 36, 38 et 45 kDa (fig. 2 b).

DISCUSSION

Les résultats de cette étude montrent que 10 p. cent des sérums d'atopiques présentent des IgE spécifiques au latex. Ceci correspond aux données obtenues par tests cutanés, réalisés lors d'une étude épidémiologique antérieure, qui indiquaient une incidence de sensibilisation de 9 p. cent [10]. Par contre, les tests sont négatifs sur les sérums de témoins non atopiques.

La sensibilité est respectivement de 95 p. cent pour l'AlaSTAT et de 90 p. cent pour le CAP RAST, et non différente de celle des tests cutanés.

La figure 1 montre la bonne concordance entre les deux tests biologiques exprimés en classes, avec des valeurs plus élevées d'IgE spécifiques par la technique AlaSTAT dans 11 cas sur 14.

ALASTAT

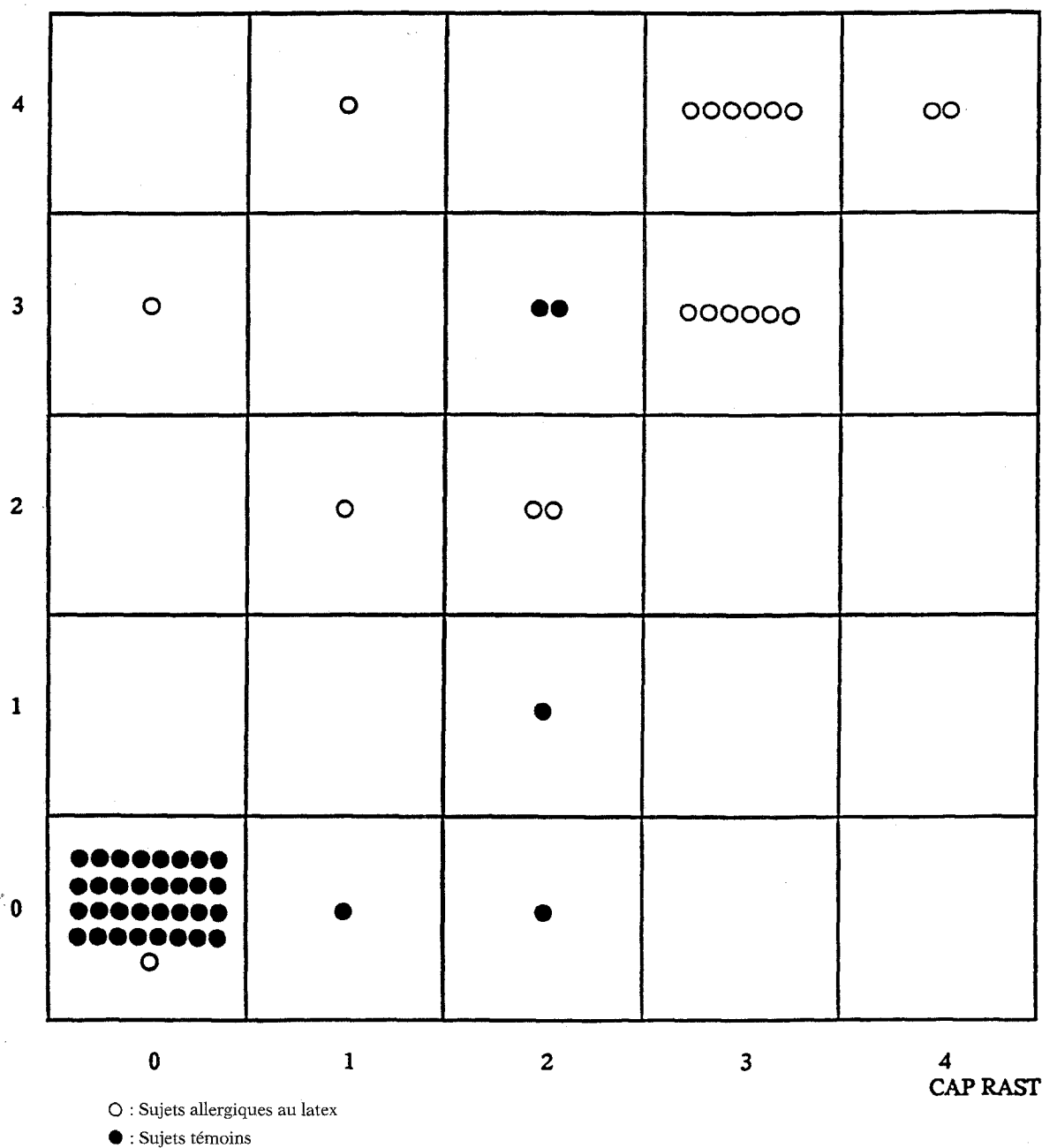


Fig. 1. – Comparaison des classes d'IgE latex par AlaSTAT et CAP RAST.

Les rares discordances, en faveur de l'AlaSTAT, doivent être envisagées en fonction de la positivité des Western blots, certifiant la présence d'IgE spécifiques au latex. Il apparaît donc que l'exposition des épitopes n'est pas exactement similaire dans les deux techniques. Dans certains cas, les anticorps pourraient être dirigés contre des épitopes non représentés ou peu représentés dans le CAP RAST.

L'hypothèse que les méthodes de couplage de la technique AlaSTAT offriraient plus d'épitopes disponibles que la technique CAP RAST mériterait d'être prouvée par un plus grand nombre d'expériences.

Il est cependant possible que le couplage n'assure pas, d'un lot à l'autre de réactif, la même configuration épitopique. Dans cette étude, un sérum donne un test AlaSTAT négatif lors du pre-

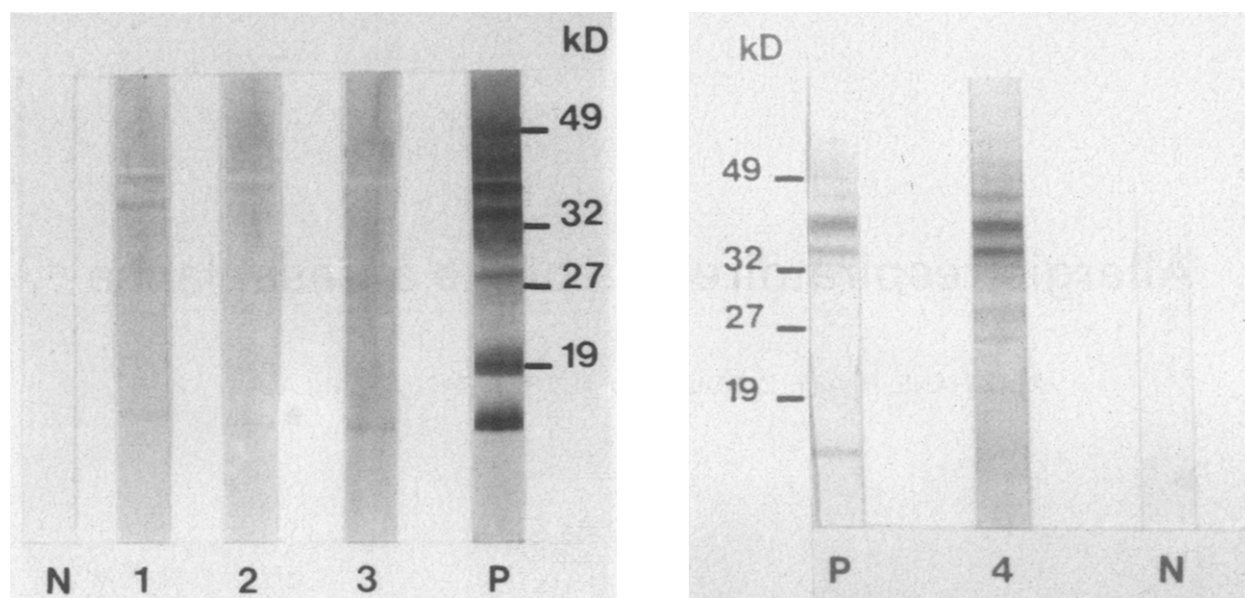


Fig. 2. – Western blot des sérums présentant des résultats d'IgE spécifiques du latex, divergents selon la méthode CAP RAST ou AlaSTAT utilisée. a) N : Témoin négatif. 1 et 2 : Sérum présentant des IgE latex de classe 1 avec le réactif CAP RAST et de classe 4 avec le réactif AlaSTAT. 3 : Sérum présentant des IgE latex de classe 0 avec le réactif CAP RAST et de classe 3 avec le réactif AlaSTAT. P : Témoin positif. b) P : Témoin positif. 4 : Sérum présentant des IgE latex de classe 2 avec le réactif CAP RAST et de classe 0 puis de classe 3 (après contrôle avec un autre lot) avec le réactif AlaSTAT. N : Témoin négatif.

mier dosage, et positif lorsqu'il a été testé de nouveau avec un autre lot de réactif.

En conclusion, le test AlaSTAT paraît bien corrélé au test CAP RAST. Lorsque les classes diffèrent, c'est en faveur d'une classe supérieure pour le réactif commercialisé par la société Behring. Enfin, chez les deux patients présentant des valeurs d'IgE latex nettement différentes, le Western blot montre l'existence de bandes correspondant à quelques épitopes du latex, témoin dans ce cas de la plus grande sensibilité du test Behring.

Ces résultats confirment l'intérêt des tests biologiques actuellement disponibles pour le diagnostic de l'allergie immédiate IgE dépendante, au latex. Ils indiquent par ailleurs une variabilité possible des extraits allergéniques selon les marques commerciales et selon les lots. On peut donc conclure qu'actuellement, en cas de suspicion clinique et de test biologique négatif, il peut être intéressant de rechercher des IgE spécifiques par un autre test, en attendant que les extraits soient rigoureusement standardisés.

RÉFÉRENCES

1. Axelsson I.G.K., Eriksson M., Wrangsjö K. – Anaphylaxis and angioedema due to rubber allergy in children. *Acta Paediatr. Scand.*, 1978, 77, 314-316.
2. Beaudoin E., Pupin P., Jacson F., Laxenaire M.C., Moneret-Vautrin D.A. – Allergie professionnelle au latex. Enquête prospective sur 907 sujets du milieu hospitalier. *Rev. Fr. Allergol.*, 1990, 30, 157-161.
3. Czuppon A.B., Chen Z., Bennert S., Engelke T., Meyer H.E., Heber M., Baur X. – The rubber elongation factor of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in the major allergen in latex. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, 92, 690-697.
4. Fink J.N., Kelly K.J. – Latex hypersensitivity. An emerging problem. *ACI News*, 1994, 6, 4-6.
5. Hamann C.P. – Natural rubber latex protein sensitivity in review. *Am. J. Contact Dermatitis*, 1993, 4, 4-21.
6. Jaeger D., Kleinhans D., Czuppon A. – Latex specific proteins causing immediate type cutaneous, nasal, bronchial and systemic reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 89, 759-767.
7. Kelly K.J., Kurup V., Zacharisen M., Resnick A., Fink J.N. – Skin and serologic testing in the diagnosis of latex allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, 91, 1140-1145.
8. Laemmli U.K. – Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature*, 1970, 227, 680-685.
9. Lagier F., Vervloet D., Lhermet I., Poyen D., Chardin D. – Prevalence of latex allergy in operating room nurses. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 319-322.
10. Moneret-Vautrin D.A. – Prospective study of risk factor in natural rubber latex hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 93, 668-677.
11. Slater J.E. – Latex allergy. What do we know? *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 279-281.
12. Slater J.E., Chhabra S.K. – Latex antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 89, 673-678.
13. Turjanmaa K., Reunala T., Rasanen L. – Comparison of diagnostic methods in latex surgical glove contact urticaria. *Contact Dermatitis*, 1988, 19, 241-247.
14. Turjanmaa K., Rasanen L., Lehto M., Makinen-Kiljunen S., Reunala T. – Basophil histamine release and lymphocyte proliferation tests in latex contact urticaria. *Allergy*, 1989, 44, 181-186.
15. Wrangsjö K., Wahlberg J.E., Axelsson I.G.K. – IgE-mediated allergy to natural rubber in 30 patients with contact urticaria. *Contact Dermatitis*, 1988, 19, 264-271.