

## Artikelen

# Vergelijking van twee systemen voor de bepaling van specifiek IgE in relatie tot klinische bevindingen

P. van 't SANT, E.A.M. VERBRUGGEN en A.W. PENNINGS

De klasse-indeling verkregen met patiëntenmonsters bij de screening en het uittyperen van 7 inhalatie en 5 voedsel allergeen-specifieke IgE-antistoffen van de Pharmacia Cap methode wordt vergeleken met de klasse-indeling verkregen met de AlaTOP en AlaSTAT van DPC.

Bij de inhalatie allergenen blijkt 1 van de 92 met de Phadiatop negatieve monsters en 63 van de 71 met de Phadiatop positieve monsters met de AlaTOP positief. Bij uittyperen van de inhalatie-allergenen worden de grootste verschillen verkregen bij de huisstofmijt. 37 van de 72 monsters zijn met de Pharmacia Cap methode 1 of meer klassen hoger dan de AlaSTAT. Deze hogere uitslagen van de Pharmacia Cap methode correleren niet beter met de klinische bevindingen dan de AlaSTAT resultaten.

Bij de voedselallergenen blijkt geen van de 29 met de screening van Pharmacia negatieve monsters en slechts 6 van de 18 met de Pharmacia Cap methode positieve monsters met de AlaSTAT positief. Ook bij uittyperen zijn AlaSTAT uitslagen vaker negatief. Bij navraag bij de behandelende artsen blijkt dat de positieve Cap test slechts bij 22% van de patiënten bevestigd wordt door het klinische beeld bij een eliminatiedieet.

Wij concluderen dat er bij een aantal allergenen duidelijke verschillen in klasse-indeling zijn tussen Pharmacia en DPC. De over het algemeen hogere uitslagen van de Pharmacia Cap methode blijken volgens onze aanvragers echter dikwijls niet overeen te komen met het klinische beeld.

*Trefwoorden: Specifiek IgE; CAP-test; Phadiatop; AlaTOP; AlaSTAT*

Het aantal aanvragen voor onderzoek op voedsel en inhalatie allergeen-specifieke IgE-antistoffen (screening en eventueel uittypering) neemt de afgelopen jaren sterk toe. Alleen al in 1993 steeg de productie in ons ziekenhuis met 27%. Deze testen brengen hoge kosten met zich mee zowel met betrekking tot reagentia als personele inzet. Wij hebben daarom onderzocht of voor ons huidige systeem namelijk screening

met de Phadiatop en/of de voedselmix en uittypering met het Cap-systeem van Pharmacia, het geautomatiseerde systeem van DPC met de AlaTOP en de AlaSTAT-microplate-testen, als alternatief zou kunnen dienen.

Bij deze studie hebben wij met de beide methoden in onze patiëntenpopulatie de klasse-indeling van de screening en tevens van 7 inhalatie en 5 voedsel allergeen-specifieke IgE-antistoffen vergeleken. Bij grote verschillen in resultaten tussen beide methoden hebben we de resultaten gecorreleerd met de klinische conclusies zoals deze door de diverse aanvragende artsen bij de patiënten zijn getrokken.

De analytische sensitiviteit en specificiteit van de beide analyse methoden zijn in dit onderzoek buiten beschouwing gebleven.

## MATERIAAL EN METHODEN

In samenspraak met de aanvragers (huisartsen en specialisten) is afgesproken dat de aanvraag Phadiatop bij kinderen jonger dan 4 jaar ook altijd een aanvraag voor een voedselmixscreening inhoudt. Het merendeel van de screening op voedselallergenen kwam uit deze groep van patiënten.

Alle monsters werden verzameld over een periode van 3 maanden. Dit leverde 163 patiëntenmonsters waarvan IgE-antistoffen tegen inhalatie-allergenen en 47 patiëntenmonsters waarvan IgE-antistoffen tegen voedselallergenen waren aangevraagd.

Alleen monsters die met één of beide screeningsmethoden positief waren, werden verder uitgetypeerd.

Het Pharmacia Cap-systeem is een methode om allergeen-specifiek IgE te bepalen door middel van een FEIA. De analyse is gebaseerd op covalent aan celuloze gebonden allergenen en enzym-gelabelde konijnantistoffen tegen humaan IgE (2). Pipettering van monsters en plaatsen van de cap's gebeurde met de hand. Voor incubatie en diverse wasstappen werd de Autocap van Pharmacia gebruikt. De kalibratoren bevatten respectievelijk 0,35-0,7-3,5-17,5-50,0 en 100 kU/l IgE en zijn gestandaardiseerd tegen WHO 2nd IRP 75/502 standaard voor humaan IgE. De waarden van de kalibratoren dienen tevens als cut off waarden voor de indeling in klassen.

Het AlaSTAT Microplate Allergeen-Specifiek IgE-systeem is een enzymgelabelde, immunometrische analyse gebaseerd op vloeibare allergenen, monoclo-

*Klinisch chemisch laboratorium, Bosch Medicentrum, locatie Willem Alexander Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch*

Correspondentie: P. van 't Sant, Sint Anna Ziekenhuis, Postbus 10, 5340 BE Oss.  
Ingekomen: 06.12.94

nale antilichamen en een scheiding door middel van een ligand-antiligand-binding (1, 2, 4). De allergenen zijn covalent gebonden aan een oplosbare polymeer/co-polymeermatrix waarop ook een ligand gebonden is, hetzelfde ligand waarmee de wand van de microtiterplaat gecoat is (4). De kalibratoren bevatten respectievelijk 0,35-0,7-3,5-17,5-50,0 en 100 kU/l IgE en zijn gestandaardiseerd tegen WHO 2nd IRP 75/502 standaard. De waarden van de kalibratoren dienen tevens als cut-off waarden voor de indeling in klassen. Het in dit onderzoek gebruikte AlaSTAT Microplate Allergeen-Specifiek IgE-systeem is een semi-automatisch analysesysteem dat opgebouwd is uit een pipetteersysteem, een wasstation, een menger en een meetsysteem (1,2).

De Phadiatop en de AlaTOP zijn de screeningstesten voor inhalatie-allergenen van resp. Pharmacia en DPC. Ze werken volgens hetzelfde principe als bij uityperen door beide firma's wordt gebruikt. Het AlaTOP-mengsel bevat de allergenen D1, E1, E5, G2, G6, T3, T17, W1, W9, W19, M1 en M6. De samenstelling van de Phadiatop wordt door Pharmacia niet vrijgegeven.

Bij screening en uityperen van specifieke IgE-antistoffen werden de volgende allergenen gebruikt bij beide methoden, tussen haakjes de typering van Pharmacia resp. DPC, de inhalatieallergenen: De screening (Phadiatop, AlaTOP), huisstofmijt (D1, D1), katten-epitheel (E1, E1), honden-epitheel (E5, E5), boompollen (Tx9, Tp9), schimmels (Mx1, Mp1), gras-mix (Gx3, Gp1) en kruidenmix (Wx3, Wp3) en de voedselallergenen: De screening (Fx5, Fp5) kippe-eiwit (F1, F1), melk (F2, F2), tarwe (F4, F4), pinda (F13, F13) en soja (F14, F14). De uitypering bij AlaSTAT bevat bij een aantal mengsels meer allergenen dan de screeningstest.

Aangezien rapportage van de resultaten altijd in klassen wordt weergegeven is hier gekozen voor een vergelijking van de resultaten in klassen. Bij beide methoden werd bij de screening klasse 1 (> 0,35 kU/l) als positief beschouwd.

Bij een enquête onder 15 aanvragers van de allergie testen werd gevraagd welke klasse als ondergrens voor positief wordt beschouwd bij uityperen naar allergeen. Aangezien slechts 2 aanvragers bij inhalatie-allergenen en 3 bij voedselallergenen klasse 1 en de overigen vooral klasse 2 en hoger als positief beschouwen hebben we klasse 2 als grens voor een positieve reactie gebruikt.

Als de uitslag van de ene methode klasse 0 of klasse 1 was en bij de andere methode minstens 2 klassen hoger, is bij de behandelende arts nagevraagd welk resultaat het beste klopte met zijn klinische bevindingen, zoals de huidtest, de provocatietest en het effect van de getroffen saneringsmaatregelen. Bij de voedsel screening is voor alle positieve uityperingen navraag gedaan bij de aanvrager. Al deze informatie is eerst schriftelijk verzameld waarna bij het uitblijven van (een duidelijk) antwoord mondeling bij de aanvragers is geïnformeerd naar hun medische conclusies.

De AlaTOP en AlaSTAT bepalingen zijn door ons uitgevoerd in de vestiging van DPC te Apeldoorn.

Totaal IgE werd bepaald met de IMX van Abbott in monsters met grote verschillen in uitslag tussen het Cap systeem en AlaSTAT.

## RESULTATEN

### Inhalatie-allergenen

Tabel 1 geeft een overzicht van de resultaten met beide methoden verkregen bij de screening. De 72 positieve monsters zijn verder uitgetypeerd met beide methoden. Negentig procent van deze monsters zijn met de Pharmacia Cap-methode bij minstens 1 allergeen positief en 72% met de AlaSTAT methode. Van de 71 met Phadiatop positieve monsters zijn 92% met de Pharmacia Cap-methode positief. Als klasse 1 bij uityperen als positief zou worden beschouwd, wordt dit percentage 99%. Van de 64 met de AlaTOP positieve monsters zijn met AlaSTAT resp. 78% (klasse 2) en 94% (klasse 1) positief. Het resultaat van de 72 positieve monsters per allergeen(mix) staat weergegeven in figuur 1. De meeste en grootste verschillen worden verkregen bij de huisstofmijt. De resultaten van de CAP-testen bij de huisstofmijt zijn bij 54% van de monsters minstens 1 klasse hoger en bij 19% zelfs twee klassen hoger. Ook blijken 43% van de bij de CAP-testen voor huisstofmijt positieve monsters bij de AlaSTAT negatief terwijl geen van de bij AlaSTAT positieve monsters bij de CAP-test negatief zijn gevonden.

Bij de 11 patiënten die bij de AlaSTAT voor huisstofmijt negatief zijn en bij de CAP-test 2 klassen hoger, is nagevraagd welk resultaat het beste klopt met de klinische bevindingen. Bij 4 patiënten klopt de CAP-test het best, bij 2 de AlaSTAT en bij 5 is het beeld onduidelijk. Geen van deze patiënten heeft een totaal IgE hoger dan 1000 kU/l.

### Voedselallergenen

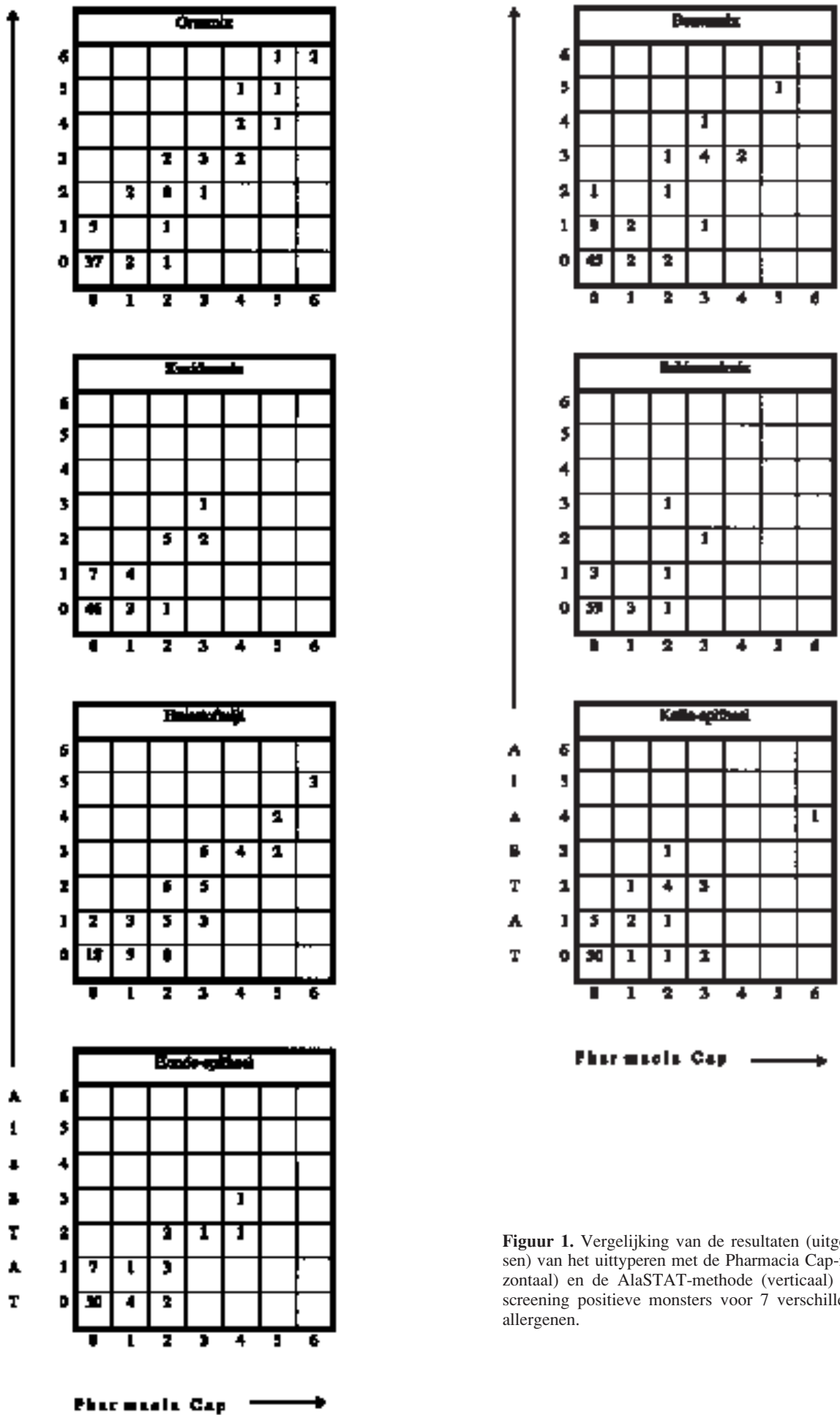
Tabel 2 geeft een overzicht van de resultaten met beide methoden verkregen bij de screening. De 18 met Pharmacia Cap positieve monsters zijn verder uitgetypeerd met beide methoden. Met de Pharmacia Cap methode is 78% van deze monsters bij minstens 1 allergeen positief en slechts 22% bij de AlaSTAT methode. De resultaten zijn samengevat in tabel 3.

De positieve resultaten bij Pharmacia Cap voor melk, tarwe, pinda en soja (vrijwel steeds 2 klassen hoger

**Tabel 1.** Resultaten bij screening voor inhalatie-allergenen

	aantal	AlaTOP	
		positief	negatief
Phadiatop	positief	63 <sup>a</sup>	8 <sup>b</sup>
	negatief	1 <sup>c</sup>	91

a: bij uityperen zijn 61 monsters met Pharmacia Cap en 50 met AlaSTAT voor minstens één allergeen klasse 2 of hoger en 2 monsters zijn met beide methoden negatief; b: 4 monsters zijn bij uityperen met beide methoden negatief, twee monsters zijn negatief bij AlaSTAT en klasse 2 voor huisstofmijt met het Cap-systeem en twee monsters zijn met beide systemen klasse 2 voor resp. kruidenmix en katten-epitheel; c: dit monster is bij uityperen met beide methoden negatief.



**Figuur 1.** Vergelijking van de resultaten (uitgedrukt in klassen) van het uittypen met de Pharmacia Cap-methode (horizontaal) en de AlaSTAT-methode (verticaal) van de 72 bij screening positieve monsters voor 7 verschillende inhalatie-allergenen.

**Tabel 2.** Resultaten bij screening voor voedsel allergenen

	aantal	AlaSTAT	
		positief	negatief
Pharmacia Cap	positief	6 <sup>a</sup>	12 <sup>b</sup>
	negatief	0	29

a: 4 monsters zijn bij uittyperen met beide methoden voor minstens één allergeen positief, één met beide negatief en één monster alleen met het Cap-systeem positief (melk, klasse 2); b: 3 monsters zijn bij uittyperen met beide methoden negatief en 9 monsters alleen bij de AlaSTAT.

dan DPC) worden volgens de behandelende artsen meestal niet bevestigd door verbetering van de klachten bij de patiënten na aanpassing van het dieet. Hetzelfde geldt overigens voor de 3 patiënten positief voor soja bij alleen DPC. Geen van deze patiënten had een totaal IgE hoger dan 1000 kU/l. Van de 6 bij uittypering met beide methoden positieve resultaten zijn volgens de behandelende artsen de symptomen 3 keer niet aan voeding te wijten en de andere 3 negatief bij de huidtest, waarbij echter 2 keer volgens de ouders wel een relatie met de voeding is. Als we de conclusie van de ouders als juist beschouwen geldt toch slechts voor 5 (22%) van alle 23 met Pharmacia Cap positieve reacties (4 patiënten) dat er een duidelijke positieve correlatie is met het klinische beeld.

#### DISCUSSIE

De Pharmacia Cap-test resultaten geven zowel bij screening als uittyperen van het specifieke IgE tegen huisstofmijt, melk en kippe-ei-eiwit hogere uitkomsten dan resp. het AlaTOP en AlaSTAT systeem van DPC. Indien de uitslagen uitgedrukt worden in kU/l specifiek IgE kunnen de verschillen oplopen tot meer dan een factor 10. Redenen hiervoor kunnen een verschil in standaardisatie zijn (5), verschillen in allergeenbindingsmethoden (2,4) en verschillen in allergeenpreparaten zowel voor de screening als voor de uittypering (6). Daarnaast zou een extreem hoge totaal IgE-concentratie tot aspecifieke binding in het Cap-systeem kunnen leiden (2,7). Dergelijke waarden voor totaal IgE hebben wij echter niet gevonden in de monsters met grote discrepanties tussen beide methoden.

De vraag of de hogere uitkomsten van het Cap-systeem klinisch van belang zijn, is moeilijk te beantwoorden. Wij hebben getracht door informatie bij de behandelende artsen op te vragen toch inzicht hierin te krijgen.

Van de 8 bij de Phadiatop positieve doch bij de AlaTOP negatieve monsters blijkt de helft bij uittyperen niet boven klasse 1 uit te komen (dus als negatief te beschouwen), zodat het aantal fout-negatieve uitslagen van AlaTOP t.o.v. de Phadiatop dus maximaal 5,5% is. Bij uittyperen van inhalatie-allergenen geeft vooral de huisstofmijt grote verschillen tussen de twee methoden. De informatie opgevraagd bij de behandelende artsen levert geen duidelijk inzicht op omtrent de waarde van de hogere uitkomsten van het Pharmacia Cap systeem, waarbij men wel moet be-

**Tabel 3.** Samenvatting van de resultaten (in aantallen) van de vergelijking van het uittyperen van de voedselallergenen met Pharmacia Cap en AlaSTAT systeem van de 18 monsters met een positieve screening

Allergeen	beide methoden		alleen Pharmacia Cap	alleen AlaSTAT
	negatief	positief	positief	positief
Kippe-ei-eiwit	12	2	4	0
Melk	12	0	6	0
Tarwe	16	0	2	0
Pinda	12	3	3	0
Soja	12	1	2	3

denken dat de getroffen saneringsmaatregelen moeilijk objectiverbaar zijn.

Voor voedselallergenen is dat anders omdat een specifiek allergeenvrij dieet bij goed dieetadvies te verwezenlijken is. Hoewel het om zeer kleine aantallen gaat, valt juist hier op dat voor de patiënten die positief waren voor tarwe, pinda of soja in de ene methode en negatief in de andere methode een eliminatie dieet geen enkele keer leidde tot duidelijke verbetering van de klachten, zodat de behandelende arts het negatieve resultaat meestal als terechte uitslag beschouwde. Opvallend bij soja is dat de positieve resultaten van beide methoden in de meeste gevallen niet overeenkomen. Bij de voedsel uittypering is een zeer geringe overeenkomst (22%) gevonden tussen positieve reacties met de laboratoriumtesten en de conclusies van de behandelende artsen. Mogelijk moet de cut-off waarde bij voedsel screening en uittyperen met Pharmacia Cap (veel) hoger zijn. Wanneer pas klasse 2 bij screening met Pharmacia Cap als positief zou worden beschouwd daalt het aantal positieve uitslagen in de onderzochte groep van 47 patiënten van 18 (38%) naar 12 (26%) en bij klasse 3 als grens naar 3 (6%). Bij uittyperen zijn nog slechts 5 reacties bij Pharmacia Cap positief als klasse 3 of hoger als positief wordt beschouwd. Hoger dan klasse 3 werd bij geen enkel monster gevonden. Van die 5 positieve reacties met klasse 3 zijn er zeker 3 niet in overeenstemming met het klinische beeld.

Wij concluderen dat er bij een aantal allergenen duidelijk verschil in klasse-indeling is tussen Pharmacia en DPC. De over het algemeen hogere uitslagen van de Pharmacia Cap-methode blijkt echter niet bevestigd te worden door het klinische beeld. De zin van de voedsel screening en de juiste uitgangspunten voor de interpretatie van de voedsel screening en het uittyperen zal met onze aanvragers in (her)overweging moeten worden genomen.

#### Literatuur

- Ito K, Miyamoto T, Makino S, Fukuda T, Kushima A, Kobayashi S, Nakazawa T, et al. Usefulness of AlaSTAT. *Jap J Allerl* 1991; 40: 1-9.
- Said El Shami A, Alaba O. Liquid-phase in vitro Allergen-Specific IgE Assay with in Situ immobilization. *Advances in the biosciences* 1988; 74: 191-202.
- Bousquet J, Chanez P, Chanal I, Michel FB. Comparison between RAST and Pharmacia cap system: a new automated specific IgE assay. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85: 1039-1043.

4. Alaba O, Said El Shami A. Evaluation of non-specific IgE binding comparison of two in vitro allergen-specific IgE Assays. *Advances in the biosciences* 1988; 74: 203-214.
5. Toorenenbergen AW. Standaardisatie van CAP en disc-RAST. *Tijdschr NVKC* 1994; 19: 55-58.
6. Moneret-Vautrin DA, Halpern GM, Brignon JJ, Nicolas JP, Kanny G. Food specific IgE antibodies: a comparative study of AlaSTAT and Pharmacia RAST Phadebas CAP systems in 49 patients with food allergies. *Ann Allergy* 1993; 71: 107-114.
7. Axen R, Drevin H, Kober A, Yman I. A new Laboratory diagnostic system applied to allergy testing. *Clinical Workshop: IgE antibodies and the Pharmacia CAP System in allergy diagnosis*. Lidöping: Landströms 1988.

---

#### Summary

*Comparison between two systems for the determination of specific IgE related to clinical situations. Sant P van't, Verbruggen EAM and Pennings AW. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 188-192.*

The results of screening and classification of the determination of specific IgE to 7 inhalant allergens and 5 food allergens by the Pharmacia CAP method are compared with the results of DPC's AlaTOP and AlaSTAT methods.

For the inhalant allergens, it seems that 1 out of 92 samples negative by Phadiatop and 63 out of 71 samples positive by Phadiatop are positive by AlaTOP. In the inhalant allergen determinations, the most important differences are seen with the house dust mite: 37 out of 72 samples are 1 or more classes higher by the Pharmacia CAP method than by AlaSTAT. However, the Pharmacia CAP method, with its higher results, does not correlate better with the clinical findings than does the AlaSTAT method.

In the food allergen screening, none of the 29 samples negative by Pharmacia and only 6 out of 18 samples positive by Pharmacia are positive by AlaSTAT. Also, in the individual allergen determinations, AlaSTAT was negative more often. After inquiry of the physicians, it seems that only 22% of the positive cap tests are confirmed by the clinical picture after an elimination diet.

We conclude that, for a number of allergens, there are clear differences in classification between Pharmacia and DPC. The generally higher results of the Pharmacia CAP method, however, does not seem to be confirmed often by the clinical picture of the treating physicians.

*Key-words: Specific IgE; CAP-tests; Phadiatop; AlaTOP; AlaSTAT*