

DIAGNOSTICUL POZITIV AL ALERGIEI ALIMENTARE MEDIATE IgE LA COPIL

Dr. Monica Alexoae, Dr. Stela Goția

Clinica II Pediatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T. Popa“, Iași

REZUMAT

Diagnosticul alergiei alimentare este dificil în pofida progreselor recente înregistrate în descifrarea patogeniei bolii. Suspiciunea clinică necesită confirmare printr-o baterie de investigații (anamneză, examen fizic, jurnal alimentar, teste cutanate alergologice, determinarea IgE serice totale și specifice, investigarea leziunii țesutului intestinal prin biopsie și/sau testul permeabilității intestinale, alte teste folosite în special în scop de cercetare: eliberarea de histamină din bazofile și mastocitele intestinale, determinarea complexelor imune circulante, testul transformării limfoblastice, dozarea triptazei și a proteinei cationice a eozinofilului). Proba de provocare alimentară dublu orb controlată placebo reprezintă *gold standardul* diagnostic în alergia alimentară la copil, dar nu se poate efectua decât în centre specializate de către personal instruit în acest sens, fiind inaccesibilă practicii curente.

Cuvinte cheie: alergie alimentară, diagnostic, copil

Asemănările simptomatologiei alergiei alimentare cu cele ale altor boli și lipsa unui test de diagnostic cu valențe reale de *gold standard* fac dificilă depistarea acestei boli. Amploarea investigațiilor alergologice se stabilește în funcție de vârstă, anamneza familială, simptomatologie, caracterul simptomelor (variații sezoniere sau diurne), expunerea individuală la alergeni de interior și exterior.

Anamneza reprezintă primul pas în diagnosticul alergiei alimentare. Poate preciza singură diagnosticul doar în cazuri excepționale, cum ar fi existența unei reacții anafilactice apărute la mai puțin de o oră după ingestia alimentului izolat și care a necesitat un tratament medical de urgență (17). Pre-dispoziția familială atopică, simptomele reproductibile corelate cu ingestia unui anumit aliment, prezența a două sau mai multe simptome corelate cu ingestia sunt elemente anamnestic care pledează pentru diagnostic (10).

Ancheta alimentară realizată minuțios cu ajutorul familiei trebuie să aducă informații privitoare la simptomatologie, alimentul incriminat anamnestic în producerea simptomatologiei, intervalul de timp de la ingestie la debutul simptomelor, frecvența și intensitatea reacțiilor alergice, cantitatea de aliment care declanșează simptomatologia, răspunsul la tratament, reproductibilitatea (mai ales, în cazul

acuzelor subiective, comportamentale), factorii asociați exacerbărilor (activitate fizică, medicație) (6).

În cazul suspiciunii unei alergii alimentare, datele relatate de familie trebuie preluate cu prudență, fiind necesară aplicarea unor chestionare standardizate. Numeroase raportări demonstrează că doar 40% dintre reacțiile alimentare raportate de părinți se verifică ulterior prin teste de provocare. Părinții sunt instruiți pentru alcătuirea unui jurnal dietetic în care notează fiecare aliment, inclusiv pe cele care vin în contact doar cu mucoasa bucală (de exemplu, guma de mestecat); dieta oligoantigenică timp de câteva zile poate fi utilă în situațiile de incertitudine etiologică.

Examenul fizic obiectiv poate fi normal sau poate evidenția stigmată ale afecțiunii atopice exprimate la nivel cutanat, digestiv și/sau respirator. Simptomatologia poate interesa mai multe organe, se modifică cu vârsta și în general, este mai severă la adolescent decât la copilul mic.

Testele cutanate alergologice

Vor fi testate alimentele selectate pe baza datelor anamnestic. În cazul unei suspiciuni cu anamneză neconcludentă, se aplică testarea unui panel de șapte alergeni (ou, lapte, alune, grâu, nuci, pește, crustacee); valoarea predictivă negativă ridicată infirmă, practic, alergia alimentară.

Principiul metodei testelor cutanate alergologice constă în realizarea contactului mastocitelor dermice purtătoare de IgE specifice cu unul sau mai mulți alergeni, urmat de degranularea acestora și eliberarea de mediatori care determină apariția triadei Lewis: edem, eritem, prurit. La aceasta se adaugă inflamația neurogenă, deoarece histamina (mai mult decât alți mediatori) poate determina eliberarea substanței P prin reflex axonal, iar aceasta crește eliberarea histaminei din mastocite (feedback pozitiv) (4).

Extracțele alergice utilizate sunt soluții apoase stabilizate în glicerol 50% sau albumină serică umană. Standardizarea alergenilor alimentari este mai puțin satisfăcătoare decât cea pentru principalii pneumoalergeni.

Reactivitatea cutanată la un anumit alergen depinde de cantitatea de alergen injectată și de gradul sensibilizării.

Există mai multe tehnici de testare cutanată alergologică, dar cel mai utilizat, având rezultatele cele mai fidele este *prick-testul cutanat* (PTC) sau testul prin înțepare. Testul prin zgâriere (*scratch-test*) este rar folosit, iar testele intradermice sunt utilizate pentru alergeni inhalatori, nefiind recomandați pentru alergeni alimentari din cauza porției crescute de rezultate fals pozitive și a valorii predictive pozitive scăzute (2).

În cazul alimentelor pentru care nu există extracțe alergice comerciale standardizate, în general fructe și legume, s-a imaginat o variantă a PTC (*prick-prick test*) în care acul înțepă inițial alimentul proaspăt, apoi tegumentul după regulile PTC; în acest caz, este necesar ca cel puțin o altă persoană să fie utilizată drept martor negativ pentru excluderea iritațiilor nespecifice (2).

Testele cutanate au o sensibilitate de peste 95%, dar specificitatea este de doar 50% (5).

La copiii cu vârstă mai mare de un an, un test cutanat negativ are valoare predictivă crescută, excluzând practic alerggia alimentară IgE mediată; testul cutanat pozitiv are o valoare predictivă pozitivă de numai 50%. Un test cutanat pozitiv în absența anamnezei puternic sugestive necesită confirmare prin teste de provocare (2). Global, doar aproximativ 40% dintre copiii cu teste cutanate pozitive prezintă simptome clinice la ingestia alimentului respectiv. La copiii cu vârstă mai mică de 1-1,5 ani, valoarea predictivă negativă a testelor cutanate este mai scăzută decât la vârste mari, în jur de 80-85% datorită particularităților mastocitelor cutanate (număr mic și reactivitate scăzută) astfel încât Hill și colaboratorii au propus o dimensiune a papulei de cel puțin 8 mm pentru a considera rezultatul pozitiv (2).

Testele intradermice folosesc extracțe alergice diluate în cantitate de 0,01-0,05 ml introduse sub-epidermic; tehnica corectă presupune apariția unei mici bule (ca o coajă de portocală). Testele intradermice au sensibilitate mult mai mare decât cele percutanate (alergenul testat este de 10-100 ori mai diluat), dar au specificitate scăzută și sunt preferate pentru testarea alergiei la penicilină și venin de himenoptere (9).

Testele epicutanate (patch test) explorează hipersensibilitatea întârziată. Este necesară întreruperea administrării medicației antihistaminice și corticosteroidilor orali sau topici cu cel puțin 4 zile înaintea efectuării testării. Alergenul este plasat într-un godeu de aluminiu fixat pe un petic adeziv care se aplică pe tegument sănătos, paravertebral, în regiunea medio-dorsală; confirmarea clinică o face asemănarea leziunii cutanate cu cea din dermatita atopică. Citirea se face la 48 și 72 ore, după 20 minute de la îndepărtarea peticului adeziv. Testele epicutanate sunt folosite în asociere cu PTC pentru a crește acuratețea diagnosticului la copiii cu dermatită atopică (14, 20). Sensibilitatea metodei este de 61%, iar specificitatea de 81% (14). Incidentele posibile sunt reprezentate de apariția urticariei localizate, pigmentărilor cutanate sau necrozei cutanate (17).

Testele cutanate alergologice, în special intradermice comportă riscul reacțiilor sistemice, dar această probabilitate este rară, sub 0,02% după cum o demonstrează un studiu prospectiv pe 10 000 pacienți la care s-au efectuat un număr de 513 368 testări (12).

Testele serologice

Cea mai utilă investigație serologică în alerggia alimentară este determinarea IgE serice specifice față de diverși alergeni alimentari.

TABEUL 1. Investigații serologice în alerggia alimentară (7)

Scop diagnostic	IgE specifice IgE totale anticorpi specifici precipitanți triptaza (α , β) alte teste: hemoleucograma, eozinofilele și neutrofilele în spută
Scop terapeutic	IgG specifice
Scop de cercetare	autoanticorpi specifici IgE proteina cationică eozinofilică mediatori (amine biogene preformate: histamina sau sintetizate de novo: LT C ₄ , PG D ₂) proteoglicani: (heparina, condroitin sulfatul E) proteaze (chimaza și carboxipeptidaza mastocitară, catepsina G) factorul de creștere fibroblastică citokine (γ IFN, TNF α , IL ₄ , 5, 6, 13)

70-90% a testelor imunologice serologice comparativ cu testele epicutanate (3).

Titrul IgE specifice are importanță în determinarea momentului dobândirii toleranței orale, dar valoarea lor la momentul diagnosticului nu poate fi considerată indicator predictiv pentru prognosticul alergiei alimentare, respectiv persistența sau dobândirea toleranței după o perioadă de evicție a alergenului (14).

Detectarea IgE specifice pentru ou la vârsta de sugar se corelează cu apariția alergiei respiratorii la vârsta de 7 ani cu o specificitate de 97%, sensibilitate de 50% și valoare predictivă pozitivă de 70% și s-a dovedit un marker predictiv mai bun pentru atopie decât nivelul IgE totale în sângele cordonului ombilical pe un lot de 86 de copii (19).

Dieta de eliminare

Ameliorarea simptomatologiei după eliminarea alimentului suspiciat prin anamneză, teste cutanate alergologice și/sau dozare de IgE specifice și reapariția manifestărilor la reintroducerea alimentului în dietă sunt elemente puternic sugestive pentru diagnosticul etiologic. Efectele dietei de eliminare depind de simptome – ameliorarea este imediată în cazul urticariei și astmului, dar mai lentă în cazurile de dermatită atopică (69% după 2 luni de eliminare, 80% după 6 luni 91% după un an) (17). Dieta de eliminare este utilă atât pentru diagnosticul, cât și pentru tratamentul alergiei alimentare. Recomandarea unei diete de eliminare are la bază suspiciunea clinică, rezultatul testelor cutanate și prezența IgE specifice, fiind necesare 2 etape:

- elaborarea de către părinți/copiii mai mari a unui jurnal alimentar în condițiile unei diete libere timp de 2 săptămâni cu notarea alimentelor consumate și a ingredientelor lor, inclusiv a celor care vin în contact doar cu mucoasa bucală și a simptomelor înregistrate.
- eliminarea alimentului suspectat pentru alte 2 săptămâni. Succesul dietei de eliminare ține de identificarea corectă a alimentului alergizant, de evitarea alimentului suspectat sub toate formele și îndepărtarea altor factori care pot agrava simptomatologia în timpul perioadei de observație (infecția cutanată stafilococică la copilul cu dermatită atopică, infecția respiratorie virală la copilul cu astm sau intoleranța secundară la lactoză la copilul cu enterocolită alergică). Dacă se suspectează o polisensibilizare alimentară sau nu s-a putut corela simptomatologia cu un anumit aliment, se prescrie o dietă oligoantigenică, dietă elementală (exemplu, EleCare, Neocate) sau

chiar nutriție parenterală totală. Dieta oligoantigenică conține alimente care nu pot fi asociate cu simptomatologia și dau teste cutanate negative; aceasta trebuie să conțină carne (pui sau curcan), carbohidrați (orez sau cartof), fructe (mere, pere, piersici, struguri), legume (cartofi, spanac, varză, broccoli) și suplimente vitaminice (2).

Testele de provocare alimentară

Testele de provocare orală constau în administrarea alimentului suspiciat în scopul reproducerii manifestărilor clinice și departajării între o simplă sensibilizare și adevărata alergie alimentară. Sunt considerate *gold standard*-ul diagnosticului în alergologia alimentară, adesea de neînlocuit prin alte metode de diagnostic.

Testul de provocare labial speculează caracteristicile anatomice ale buzelor: vascularizația bogată, bogăția în mastocite, cheratinizarea ușoară a versantului extern. Tehnica de realizare constă în aplicarea unei picături de extract alimentar sau a alimentului proaspăt pe fața externă a buzelor timp de 10 secunde-2 minute și supravegherea reacțiilor locale; citirea se face după 15 minute.

Provocarea labială este utilă în sindromul alergiei orale.

Testele de provocare orală constau în administrarea unui aliment alergizant în scopul reproducerii simptomatologiei, departajând astfel simpla sensibilizare documentată de pozitivitatea testelor cutanate de alergologia alimentară adevărată. Procentul de confirmare prin teste de provocare a alergiei alimentare suspiciate prin anamneză, teste cutanate și dozarea IgE specifice este de aproximativ 50% (16).

Există mai multe tehnici de efectuare, dar în toate cazurile sunt necesare anamneza alimentară detaliată și eliminarea alimentului suspectat pentru o perioadă medie de 7-14 zile, mai mare în bolile cronice (8 săptămâni – dermatita atopică, peste 3 luni – afectare gastro-intestinală).

Studii multiple au încercat standardizarea procedurii de efectuare a testelor de provocare alimentară, atât pentru creșterea siguranței pacientului, cât și pentru a permite compararea rezultatelor între diferite centre medicale (9).

Există mai multe tehnici de efectuare a probei de provocare alimentară după posibilitatea îndepărtării influențelor psihologice:

Proba de provocare alimentară deschisă în care atât medicul, cât și pacientul cunosc alergenul și constă în administrarea alimentului proaspăt și urmărirea bolnavului. Se poate practica și la domiciliu, dar sub supraveghere medicală după eliminarea din dietă a alimentului suspiciat timp

de 14 zile și reintroducerea progresivă, prin creșterea dozelor la fiecare 15-20 minute până la atingerea cantității normale pentru vârstă.

Proba de provocare deschisă este aplicabilă și suficientă la sugar și copilul cu vârsta sub 3 ani mai puțin expuși influențelor psihologice, pentru negarea unei sensibilizări în unele familii anxioase care supun copilul la diete restrictive excesive și pentru restabilirea dietei normale după excluderea unui aliment. Un rezultat negativ face provocarea dublu orb să nu mai fie necesară, după cum un test dublu orb negativ trebuie întotdeauna urmat de un test deschis (9).

Valoarea predictivă negativă a probei deschise este asemănătoare cu a testului dublu orb, dar pentru predicția pozitivă este necesară verificarea prin teste dublu orb.

Proba de provocare alimentară simplu orb, în care doar medicul, nu și pacientul, cunoaște alergenul este un test accesibil pentru afirmarea sau negarea sensibilizării alimentare. Pacientul primește alimentul suspectat și proba placebo. Proba de provocare alimentară simplu-orb confirmă rezultatele fals negative obținute prin provocarea deschisă.

Proba de provocare alimentară dublu-orb controlată placebo (PPADOCP) este considerată *gold standard*-ul diagnosticului alergiei alimentare cu care se compară eficiența celorlalte teste (2).

PPADOCP se efectuează doar în mediu spitalicesc de către personal special instruit în terapia urgențelor medicale, dotat cu echipament de resuscitare (inclusiv adrenalină și oxigen), după abordarea unei linii venoase periferice și cu urmărirea permanentă a pulsului, tensiunii arteriale, auscultației cardio-pulmonare, aspectului tegumentelor și mucoaselor, parametrilor spirometrici.

Procedura constă în administrarea alternativă a alimentului suspectat și a probei placebo care poate fi, fie un alt aliment care nu este suspect, fie dextroza sub formă de pudră sau granule (2).

Proba placebo și proba activă trebuie să fie identice în ceea ce privește aspectul, gustul, mirosul, vâscozitatea și cantitatea; la sugari și copii, alimentele sub formă lichidă pot fi încorporate în formule extensiv hidrolizate sau pe bază de aminoacizi, eventual după adaos de coloranți sau agenți aromatizanți (sirop de coacăze sau mentă) (9).

Manifestările clinice sugestive pentru alergia alimentară IgE mediată apar în primele 4 ore. Simptomele cu debut la peste 4 ore de la provocare sugerează un mecanism nonIgE mediat.

Testul colonoscopic de provocare cu alergen (COLAT – *Colonoscopic Allergen Provocation Test*).

Imaginat de Bischoff pentru depășirea limitelor testului de provocare alimentară dublu orb, acesta

presupune injectarea extractelor alergice în mucoasa cecală prin colonoscopie cu ajutorul unui ac fin. Un test pozitiv înseamnă eritem și edem al mucoasei intestinale.

ALTE TESTE DIAGNOSTICE

Investigarea mucoasei intestinale se practică în cazurile cu simptome predominant digestive prin **biopsii** multiple care pot demonstra atrofiie vilozitară totală sau parțială, reversibilă sub dieta de eliminare. *Testul de permeabilitate intestinală* este mai sensibil în detectarea anomaliilor minime ale mucoasei decât studiul biptic; utilizează molecule inerte hidrosolubile nontoxice, nondegradabile de către bacteriile intestinale și nemetabolizabile după absorbție, ușor de măsurat în fluidele biologice (urină): lactuloză, lactitol, cerobioză, manitol, polietilenglicol, EDTA Cr⁵¹.

Determinarea IgG4 specifice în ser și materiile fecale arată valori crescute la pacienții cu alergii gastro-intestinală, dar nu are valoare predictivă.

Determinarea eliberării de histamină din bazofile este utilizată mai mult în scop de cercetare; utilizarea unor filtre speciale din fibră de sticlă care funcționează ca fază solidă ce leagă cu mare afinitate și specificitate histamina eliberată din bazofile a redeschis interesul pentru această metodă; rezultatele sunt comparabile cu cele ale determinării IgE specifice.

Determinarea eliberării de histamină din mastocitele intestinale obținute prin biopsie furnizează rezultate comparabile cu cele ale provocării dublu-orb.

Testul de activare a bazofilelor pune în evidență eliberarea de leucotriene din bazofilele periferice în contact cu extractul alergen.

Dozarea triptazei mastocitare

Mastocitele activate în cursul reacției de hipersensibilitate de tip I eliberează proteaze și mediatori preformați și neoformați în țesuturile înconjurătoare. Triptaza mastocitară, o esterază cu greutate moleculară de 134000 Da se degradează rapid după eliberare în monomeri, pierzându-și activitatea enzimatică; bazofilele conțin, de asemenea triptază, dar în cantități de 300-700 ori mai mici decât cea din mastocitele cutanate sau pulmonare. Astfel, nivelul seric al triptazei (valori normale 1-10 ng/ml) este un marker al activării mastocitelor sistemice. Două fracțiuni ale acestei enzime pot fi detectate în serul uman: α protriptaza care servește ca indicator al numărului de mastocite și β protriptaza, considerată indicator al activării mastocitare. Valoarea normală a β protriptazei este sub 1 ng/ml,

dar crește la 30-60 minute după acțiunea unui trigger; dozarea post-mortem a acestei enzime în ser poate indica anafilaxia sistemică drept cauză a morții subite dacă se obțin valori mai mari de 10 ng/ml. Triptaza poate fi detectată și în lichidul de lavaj bronhoalveolar și nazal, lacrimi, piele.

Dozarea proteinelor eozinofilice (proteina cationică, neurotoxina eozinofilică) în ser sau materiile fecale are, de asemenea, interes științific și nu a intrat în practica curentă.

În concluzie, diagnosticul alergiei alimentare mediate IgE întâmpină încă numeroase dificultăți. În prezența manifestărilor clinice sugestive, anamneza și dieta de eliminare sunt elemente puternice

în favoarea diagnosticului, la îndemâna oricărui practician. Testele cutanate alergologice obiectivează sensibilizarea alergică, dar valoarea predictivă negativă este scăzută la vârsta de sugar. Determinarea IgE serice specifice furnizează rezultate superpozabile peste cele ale testelor cutanate, fiind preferate în anumite situații și pot elimina necesitatea provocării orale. Testul de provocare orală este singurul capabil de departajarea între o simplă sensibilizare alimentară și adevărata alergie alimentară, dar implică timp și costuri ridicate, precum și personal specializat, fiind inaccesibil practicii curente.

IgE mediated food allergy diagnosis in child

Monica Alexoae, Stela Gotia

2nd Clinic of Pediatrics, Medicine and Pharmacy University, Iasi, Romania

ABSTRACT

Food allergy diagnosis is a difficult task despite the recent advances in the disease's pathogenesis. The clinical suspicion must be confirmed through a lot of *in vivo* and *in vitro* tests (history, physical examination, diet dairy, skin testing, measurement of total and antigen-specific serum immunoglobulin E, gut biopsy and permeability intestinal assessment, other tests for research purpose mainly: gut basophils and mast cell release of histamine, circulating immune complexes test, lymphoblastic transformation test, eosinophil tryptase and cation protein measurement). The double-blind placebo controlled food challenge is the gold standard of food allergy diagnosis in children, but it could be performed only in specialized medical centers by specially trained personnel.

Key words: food allergy, diagnosis, children

The similarities between food allergy and other diseases symptoms and the lack of a real *gold standard* diagnostic test make difficult the diagnosis of immunoglobulin E (IgE)-mediated food allergy in children. Patient age, family history, symptoms and individual exposure to indoor and outdoor allergens are critical in the decision of the magnitude of allergy testing.

History is the first step in food allergy diagnosis. It could diagnose the disease in the only case of an anaphylactic reaction in the first hour after the ingestion of an isolated food that needs an emergency treatment (17). Allergic family history, reproducible symptoms correlated with a certain food ingestion, one or more symptoms provoked by ingestion are key history arguments for the diagnosis (10).

History obtained from the parents of a child reporting an adverse reaction to food is essential for

the description of symptoms and signs, timing from the ingestion to onset of symptoms, frequency and intensity of allergic reactions, quantity of food required to evoke reaction, reproducibility (especially in the case of subjective behavioral symptoms), associated factors (activity, medication) (6). These details must be cautiously interpreted with the help of standardized questionnaires. Only 40% of adverse reactions to foods reported by parents are confirmed by food challenges. Parents must be educated to note all foods ingested for a few days, including these only in contact with oral mucosa (e.g., chewing gum); the oligoantigenic diet could be helpful when there are etiological doubts.

The **physical examination** can be normal or can ascertain cutaneous, respiratory and/or gastrointestinal signs of the allergic disease. The symptoms

can refer to many organs and usually, the severity is greater in teenagers than in small children.

Skin testing

It is recommended that the chosen foods to be tested on the history basis. If there is a great suspicion of food allergy, but the history fails to suspect a certain food, it is accepted to test a seven allergens panel (egg, cow's milk, wheat, soy, peanuts, tree nuts, fish, shellfish); the high negative accuracy excludes the food hypersensitivity.

There are several skin testing techniques, but the skin prick test (SPT) is the most used. The scratch test is seldom used. The intradermal tests are recommended for indoor allergens and not for food allergens because their results are often false positive and their positive predictive accuracy is low (2).

The technique of skin testing is ment to put together the dermis mast cells carrying the specific IgE antibodies with one or more allergens; degranulation of these cells release the mediators responsible for the Lewis' triple response: edema, erythema and itching. The neurogenic inflammation also plays a major role because histamine, more than other mediators can release the P substance *via* an axon reflex and then, it is enhanced the release of histamine from the mast cells (positive *feed-back*) (4).

A wheal of 3 mm or larger compared with the negative control is currently considered to be a significant positive result. The skin reactivity depends on the amount of the allergen injected and the degree of the sensitization.

The food extracts used in skin testing are aqueous solutions stabilized in glycerol or human serum albumin. Food extracts standardization is not as good as for inhalant allergens.

There is a variant of SPT, namely *prick-prick test* recommended to be performed when no commercial extracts are available (fresh fruits and vegetables). The food is pricked with an appropriate needle, and then the needle pricks the patient skin. At least one person is used as a negative control in order to rule out the nonspecific skin irritations (2).

The sensitivity of SPT is greater than 95%, but the specificity is only 50% (5).

For children greater than 1 year of age, the predictive value of a negative test is high so a negative test essentially excludes IgE mediated food hypersensitivity. When the SPT is positive, but the history does not strongly suggest a food allergy, food challenges must be performed (2). Only 40% of children with positive SPT present signs and symptoms of food allergy when they ingest the certain food. For children less than 1 to 1.5 years of age, the negative predictive accuracy of SPT is not

quite as high (80% to 85%) because the mast cells have some age-dependent characteristics (low reactivity and small number). Hill and others have proposed a SPT wheal of 8 mm or larger to be diagnostic of reactivity (2).

Intradermal skin testing use allergenic extracts injected under the epidermis; the test is considered correct performed if it is obtained a small bubble (like the orange peel). The sensitivity of the intradermal skin tests is much higher than this of the SPT, but their specificity is low and they are preferred for penicillin or hymenoptera venom testing (9).

Epicutaneous tests (patch test) identify the delayed hypersensitivity allergic reactions. The patient must interrupt the antihistamins and corticosteroids at least 4 days before testing. The allergen is placed into an aluminum well applied on a paravertebral unaffected skin; a lesion resembling atopic dermatitis is considered a positive test. The results are read after 48 and then, 72 hours in the first 20 minutes after the removal of the adhesive patch. The sensitivity is 61% and the specificity is 81% (14). Combined skin prick and patch testing are a useful tool for the diagnosis of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis (14, 20). Hives, skin pigmentations or necrosis could be some possible unwanted incidents (17).

Skin testing, especially the intradermal ones have a smaller risk for systemic allergic reactions; a prospective study including 10 000 patients and 513 368 skin tests had established this risk to 0.02% (12).

Laboratory testing

The most useful *in vitro* testing for food allergy is the detection of the specific circulating IgE antibodies.

TABLE 1. Laboratory tests in food allergy (7)

Diagnosis purpose	Allergen-specific IgE Total serum IgE Precipitating specific antibodies Tryptase (α,β) Other tests: complete blood cell count, sputum examination for eosinophils and neutrophils
Management purpose	Allergen-specific IgE
Research purpose	IgE specific autoantibodies Eosinophilic cationic protein Mediators (preformed biogenic amines: histamine; newly formed: leukotriene C4 and prostaglandin D2) Proteoglycans: heparin, chondroitin sulfate E Proteases: mast cells chymase, mast cell carboxypeptidase, cathepsin G Fibroblast growth factor Cytokines: interferon- γ , tumor necrosis factor- α , IL-4,5,6,13.

Elimination diet

The improvement of signs and symptoms after the exclusion of the food suspected on the basis of the history, skin testing and/or IgE measurement and their worsening after the reintroduction are strong arguments for food allergy diagnosis. The effects of the elimination diet depend on symptoms, so the improvement is immediately in the case of hives and bronchial asthma and more slowly in atopic dermatitis (69% after 2 months, 89% after 6 months, 91% after one year)(17). The elimination diet is useful both for the diagnosis and the treatment of food allergy.

An elimination diet must be recommended when there is a strong clinical suspicion and on the basis of skin testing and specific IgE results.

It involves:

- A strict diet dairy kept by parents when the child is on a free diet for a 2 weeks period. Parents are instructed to note all the ingested foods and their ingredients, including items just placed in the mouth.
- The exclusion of the suspected food for another 2 weeks period. The success of this procedure requires the exclusion of the correct allergen, the ability of the patient to maintain a diet completely free of all the forms of the offending allergen and the absence of other factors that may aggravate symptoms (eg. *S aureus* skin infection in children with atopic dermatitis, a respiratory viral infection in children with asthma and secondary lactase deficiency in an infant with dietary protein induced enterocolitis syndrome). If multiple food allergies are suspected, an oligoantigenic diet, an elemental diet or rare, total parenteral nutrition may be necessary to establish the diagnosis. The oligoantigenic diet could contain foods which are not associated with the symptoms and provide negative skin testing results such as meat (chicken or turkey), carbohydrates (rice, potatoes), fruits (apples, pears, peaches, grapes), vegetables (potatoes, spinach, broccoli, cabbage) and vitamin supplements (2).

Food challenges

The oral food challenges are designed to reproduce the individual's symptoms when the suspected food is ingested under strict medical supervision. They can make the difference between food sensitivity and a real true allergy and they are considered the *gold standard* diagnosis test in food allergy against which all other tests must be assessed.

There are several protocols that are used for the administration of food challenges.

The labial testing uses the anatomical characteristics of the lips: the rich vascularization and the great number of mast cells.

It consists in applying fresh foods or food extracts to the inner lip of the oral mucosa for 10 seconds to 2 minutes and observing the local reactions. The results are read after 15 minutes.

The labial test is useful in allergy oral syndrome.

The oral food challenges confirm the clinical and laboratory suspected food hypersensitivity in 50% of cases (16). There are several techniques, but all of them require the detailed diet history and the exclusion of the suspected food for 7 to 14 days, a period that is greater in chronic diseases (8 weeks in atopic dermatitis, more than 3 months in gastrointestinal diseases).

Many studies have tried to standardize the technique in order to increase the patient safety and to obtain comparable results between different medical centers (9).

The open food challenges in which both the physician and the patient know the administered food consist in observing the clinical reactions after the patient ingest the fresh food. It can occasionally be performed at home rather in a medical facility progressively increasing the doses every 15 to 20 minutes to the normal-age quantity.

The open food challenge is often sufficient for suspected immediate type reactions in infants and children less 3 years of age which are less affected by subjective influences, for infirming the clinical suspicion in anxious families which impose unnecessary restricted diet to their children and in order to reestablish a normal diet after a food exclusion. A negative result make unlikely the double food challenge, whereas a negative double food challenge should always be followed by an open food challenge.

The single-blind open challenge in which only the physician, not the patient knows the administered food is an accessible test for infirming or refuting food hypersensitivity. It confirms the false negative results of the open food challenge.

The double blind placebo-controlled food challenge (DBPCFC) is the *gold standard* test against all the others must be assessed (2). It may be performed in settings with immediate access to intensive care units by personnel specially trained in the management of emergency situations and the equipment for resuscitation (including adrenaline and oxygen) must be readily available. Intravenous

access should be available before initiating the test. The cardiac rate, blood pressure, cardiac and pulmonary auscultation, the skin and mucosa aspect, spirometry values are the main parameters to be kept under supervision.

The challenge protocol consists in alternatively administration of the food and the placebo that may be either an unsuspected food, either dextrose (2).

Active and placebo challenges must be identical regarding taste, looks, smell, viscosity and volume. In infants and children, the foods can be masked in extensively hydrolysed formulas or in amino acids formulas, eventually with addition of colorants or flavouring agents such as black currant juice or peppermint (9).

In classical type I allergy reactions, the objective signs appear in the first 4 hours. In contrast, the reactions with onset after 4 hours tend to have delayed hypersensitivity mechanism.

The colonoscopic allergen provocation test (COLAT) was imagined by Bischoff in order to avoid the DBPCFC limitations. It consists in a needle caecal mucosa injection of a food extract. The edema and erythema of the gut mucosa significant a positive result.

OTHER DIAGNOSTIC TESTS

Gut mucosa examination should be performed in the cases with gastrointestinal symptoms. Multiple biopsies could reveal total or partial villous atrophy that is reversible under a gluten free diet. *Gut permeability test* is most sensitive than the biopsy in detecting the minimum mucosa changes; it uses water soluble, nontoxic, non degradable and easy-to-measure in biological fluids molecules such as lactose, lactulose, mannitol, polyethilen glycol, EDTA Cr⁵¹.

Serum and feces specific IgG₄ measurement reveals high values in patients with gastrointestinal allergy, but it is not a good predictor indicator.

Measurement of histamine release from basophils obtained by biopsy is a test used in research purpose; special fiberglass filters play the solid phase role and bind the histamine with high affinity. It provides the same accuracy results with the antigen specific serum IgE.

Measurement of histamine release from gut mast cells provides comparable results with DBPCFC.

The basophils activation test reveals leukotriene release from the basophils put in contact with the food allergen.

The mast cell tryptase measurement

Mast cells that have been activated during an IgE-mediated hypersensitivity reaction release proteases as well as prestored and newly generated mediators into surrounding soft tissues. The mast cell tryptase (MW 134 000kDa) is a serine esterase that rapidly degrades into its monomers soon after release and loses enzymatic activity. The basophils also contain tryptase, but their levels are 300-700 fold less than those in skin or lung mast cells. The serum tryptase level (the normal range of values: 1-10 ng/ml) is marker for systemic mast cells activation. Two forms of tryptase could be detected in human serum; α protryptase serves as a measure of the mast cells count and β protryptase indicates the mast cells activation. The normal value of serum β protryptase is less than 1 ng/ml, but it increase in the first 30 to 60 minutes after a trigger action; the post mortem serum value much than 10 ng/ml could suggest that the cause of death is the systemic anaphylaxis. The tryptase could also be detected in bronchoalveolar lavage fluid, tears, skin, but there are not clinical indications for such measurements.

Measurement of serum and feces eosinophils proteins (cationic protein, neurotoxin) is, also, interesting from a research point of view and is not accessible to the current practice.

In conclusion, food allergy diagnosis is still difficult. History and elimination diet are strong arguments in the favor of the diagnosis if there are suggestive clinical signs and symptoms. Skin testing reveals the allergic hypersensitivity, but their negative accuracy is low in infants. Food specific IgE measurement provides comparable results with those of the skin testing and can eliminate the need of food challenges. The oral food challenge is the only test that could make the difference between food hypersensitivity and a real food allergy, but involves time, costs and need specially instructed personnel, so it is not appropriate for the current practice.

REFERENCES

1. **Armstrong D, Rylance G** – Definitive diagnosis of nut allergy. *Arch Dis Child* 1999; 80: 175-177.
2. **Bock SA** – Diagnostic evaluation. *Pediatrics* 2003; 111 (6):1638-1644
3. **Dolen WK** – IgE antibody in the serum -detection and diagnostic significance. *Allergy* 2003; 58: 717 - 723
4. **Dreborg S, Frew A** – Position paper: allergen standardization and skin tests. *Allergy* 1993;48 (suppl 14): 49-54
5. **Ewan PW, Clark AT** – IgE mediated food allergy: when is food challenge needed? *Arch Dis Child* 2005; 90: 555-556
6. **Goția S, Rugină A, Enache G** – Alergia alimentară în: *Pediatrie – tratat sub redacția Ciofu E, Ciofu C, Editura Medicală* 2001: 560-566
7. **Hamilton RG, Adkinson NF** – Clinical laboratory assessment of IgE-dependent hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(2): S687-S701
8. **Host A** – Cow's milk allergy. *J R Soc Med* 1997; 90(30): 34-39; Isolauri E, Turjamaa K. Combined skin prick and patch testing enhances identification of food allergy in infants with atopic dermatitis. *J All Clin Immunol* 1996; 1996 ;97(1):9-15
9. **James T** – Allergy testing. *American Family Physician* 2002; 66 (4):621 - 624
10. **Kagan RS** – Food allergy: an overview. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111 (2): 223 – 225
11. **Leung DYM** – Diagnosis and treatment of allergic disease in: *Pediatric Allergy – principles and practice* edited by Leung DYM, Mosby 2003: 233-277
12. **Lin MS, Tanner E, Lynn J, Friday GA Jr** – Nonfatal systemic allergic reactions induced by skin testing and immunotherapy. *Ann Allergy* 1993; 71 (6): 557-562
13. **Motala C** – Atopic dermatitis and food hypersensitivity. *Current Allergy and Clinical Immunology* 2003; 16 (3): 89-95 ,40
14. **Niggeman B, Reibel S, Wahn U** – The atopy patch test (APT) - a useful tool for the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *Allergy* 2000; 55: 281-285
15. **O'Brien RM et al** – Skin prick testing and in vitro assays for allergic sensitivity. *Austr Prescr* 2002; 25: 91-93
16. **Perry TP et al** – The relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114 (1): 143-149
17. **Rance F, Bidat E** – Allergie alimentaire chez l enfant. 2000
18. **Ree R, Vieths S** – Utility and methods of allergen specific IgE testing in the diagnosis of food allergy. <http://www.hesiglobal.org>
19. **Yunginger JW et al** – Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 1077-1084
20. **Wahn U** – The atopy patch test (APT) - a useful tool for the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *Allergy* 2000; 55: 281-285