



REVUE GENERALE

Place des allergènes moléculaires en pratique courante en allergologie.

Place molecular allergens in common practice in allergology

Brahim BELAID¹, Merzak GHARNAOUT², Réda DJIDJIK¹

1.Service d'immunologie médicale, CHU ISSAAD HASSANI de Béni Messous, Alger.

2.Service de Pneumologie et d'allergologie, EPH Rouiba,Alger.

Résumé :

L'allergologie moléculaire s'est imposée, ces dernières années, comme un outil de diagnostic, notamment pour l'interprétation des sensibilisations croisées et polysensibilisation.

En effet, Ces différents problèmes ont pu être résolus par l'utilisation des IgE spécifiques dirigées contre des allergènes moléculaires détectés soit d'une manière unitaire ou sous forme « multiplex » utilisant la technologie des biopuces. Deux possibilités de production existent : la purification des protéines naturelles et la synthèse sous forme de protéines recombinantes après clonage du gène correspondant et expression dans un vecteur.

L'intérêt pratique des allergènes moléculaires dans l'interprétation d'une polysensibilisation cutanée et/ou biologique est particulièrement évident dans la pollinose. Leur utilisation combinée à celle d'IgE spécifiques des recombinants d'allergènes majeurs des pollens permet d'appréhender certaines situations cliniques difficiles. Les protéines de transfert lipidique, isolées dans différents tissus de nombreux végétaux, sont considérées comme des pan-allergènes susceptibles d'expliquer une polysensibilisation. D'une manière générale, les symptômes cliniques sont de plus en plus sévères dans l'ordre des familles suivantes : cross-reactive carbohydrate déterminants (CCD), profilines, PR-10, protéines de transfert des lipides (LTP) et protéines de stockage. La structure des protéines permet d'expliquer cette variabilité de réaction clinique.

La détermination des profils allergéniques des patients permet également de mieux les phénotyper, d'approcher plus aisément l'implication clinique de leurs sensibilisations, et donc d'adapter au mieux les mesures d'éviction et la prise en charge thérapeutique.

© 2019 Académie Algérienne d'Allergologie . Tous droits réservés.

Mots clés : allergène moléculaire, polysensibilisation, sensibilisation croisée, profilines, protéines de stockage, CCD, protéines de transfert des lipides, PR-10

Key words: molecular allergen, polysensitization, cross sensitization, profilins, storage proteins, CCD, lipid transfer proteins, PR-10

Abstract:

Molecular allergology has emerged in recent years as a diagnostic tool, particularly for the interpretation of cross-sensitization and polysensitization.

Indeed, these various problems have been solved by the use of specific IgE directed against molecular allergens detected either unitarily or in "multiplex" form using microarray technology. Two production possibilities exist: purification of natural proteins and synthesis in the form of recombinant proteins after cloning of the corresponding gene and expression in a vector.

The practical interest of molecular allergens in interpreting cutaneous and/or biological polysensitization is particularly evident in pollenosis. Their use combined with that of IgE specific recombinants of allergens major pollens can apprehend some difficult clinical situations. Lipid transfer proteins, isolated in different tissues of many plants, are considered as pan-allergens likely to explain a polysensitization. In general, clinical symptoms are becoming more severe in the following families: cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs), profilins, PR-10, lipid transfer proteins (LTPs), and storage proteins. The structure of the proteins makes it possible to explain this variability of clinical reaction.

The determination of the allergenic profiles of the patients also makes it possible to better phenotype them, to approach more easily the clinical implication of their sensitizations, and thus to adapt as well as possible the measures of evicton and the therapeutic management.

© 2019 Algerian Journal of Allergology. All rights reserved.

* Auteur correspondant :

Adresse e-mail : djidjikreda@gmail.com

1. Introduction :

Au milieu du siècle dernier, la poussière était considérée comme l'allergène le plus fréquent de notre environnement et les industriels tentaient d'obtenir la "meilleure" poussière en diagnostic ou en thérapeutique. En 2008, nous voyons que le chemin parcouru de la poussière à l'allergologie moléculaire s'est fait par des étapes essentielles : IgE réactivité, source d'allergènes, dérivés glycosylés, homologie de structure [1]. Nous avons quitté la poussière, il nous faut maintenant sortir du brouillard.

En effet, Au cours des dernières années l'allergologie moléculaire s'est imposée dans la pratique quotidienne des allergologues avec l'emploi des allergènes moléculaires comme outil diagnostique, notamment pour l'interprétation des sensibilisations croisées, la compréhension des polysensibilisations et/ou le diagnostic de certaines allergies alimentaires [2].

2. Des extraits allergéniques naturels aux allergènes moléculaires :

Les extraits allergéniques sont obtenus par extraction aqueuse d'une source allergénique naturelle telle que les pollens, les

aliments ou squames et phanères d'animaux. Ces extraits présentent un certain nombre de limites pour la recherche d'IgE spécifiques. Ce sont des mélanges complexes qui renferment des molécules allergéniques et des molécules non allergéniques, ce qui apporte un « bruit de fond » qui peut nuire à la sensibilité des tests diagnostiques. Ils posent un problème de standardisation car leur contenu en allergènes peut différer d'un lot à l'autre du fait de la variabilité de ces sources naturelles [3]. L'extraction aqueuse ne permet pas de recueillir les allergènes qui ne sont pas hydrosolubles (oléosines de l'arachide, par exemple), certains procédés de fabrication notamment le chauffage (en particulier pour les extraits de plantes et de fruits) peuvent conduire à la dégradation d'allergènes fragiles expliquant ainsi les résultats faussement négatifs de la recherche d'IgE spécifiques [4]. Ces différents problèmes ont pu être résolus par l'utilisation des allergènes moléculaires (Figure 1). Les IgE spécifiques dirigées contre des allergènes moléculaires sont détectées soit d'une manière unitaire (un seul allergène moléculaire est fixé sur le support réactionnel), soit sous forme « multiplex » utilisant la technologie des biopuces.



Sources allergéniques	Chien		Chat	
Composants allergéniques				
Variabilité interindividuelle du profil de sensibilisation				
Recherche d'IgE avec des extraits de phanères				
Détermination du profil de sensibilisation aux allergènes moléculaires	Can f 1 Can f 2 Can f 3	Can f 1 Can f 3	Fel d 1 Fel d 2 Fel d 3 ? Fel d 4	Fel d 1 Fel d 2
Risque de réaction croisée chien - chat	Oui: Can f 2/Fel d 4 Can f 3/Fel d 2	Oui: Can f 3/Fel d 2	Oui: Fel d2/Can f3 Fel d4/Can f2	Oui: Fel d2/Can f3

Figure 1 : Source allergénique, allergène, épitope, profil de sensibilisation et leur reflet en pratique [5]

3. Obtention et nomenclature des allergènes moléculaires:

Une protéine allergénique est désignée par les trois premières lettres du nom de genre, la première ou les deux premières lettres du nom d'espèce et un nombre indiquant l'ordre chronologique de description. Exemples : allergènes du chat (*Felis domesticus*) : Fel d1, Fel d2, Fel d3. Lorsque cette protéine est utilisée pour des tests, il faut préciser son mode d'obtention : protéine naturelle ou recombinante, en adjoignant la lettre n ou r aux trois premières lettres.

Les allergènes moléculaires pour le diagnostic doivent être produits en quantité suffisante, sous forme de lots comparables sinon identiques, avec une réactivité IgE et une activité biologique satisfaisante (dégranulation des basophiles *in vitro*, dégranulation des mastocytes *in vivo* lors de tests cutanés, voire induction de symptômes lors des tests de provocation).

Deux possibilités de production existent :

- La purification des protéines naturelles à partir des sources allergéniques ;
 - Et leur synthèse sous forme de protéines recombinantes après clonage du gène correspondant et expression dans un vecteur.
- La définition de familles moléculaires, qui dépasse souvent les classifications botaniques et zoologiques habituelles, a permis de mieux comprendre l'origine de ces réactions croisées. Ainsi, ont été caractérisées des familles (correspondant souvent à des panallergènes) représentées chez les végétaux par les protéines de défense PR-10 (pathogenesis related), les lipid transfer proteins (LTP), les thaumatin-like proteins, les albumines 2S, les profilines, les polcalcines et chez les animaux par les tropomyosines, les parvalbumines ou les albumines (Tableau 1).

Allergènes d'origine végétale	
PR-10 ou Bet v 1-like (pathogenesis related)	Bouleau (Bet v 1), noisette (Cor a 1), arachide (Ara h 8), soja (Gly m 4), céleri (Api g 1), pêche (Pru p 1), kiwi (Act d 8), pomme (Mal d 1), cerise (Pru av 1)...
LTP (lipid transfer proteins, PR-14)	Pêche (Pru p 3), noisette (Cor a 8), arachide (Ara h 9), armoise (Art v 3), pariétaire (Par j 2), pomme (Mal d 3), cerise (Pru av 3)...
TLP (Thaumatococcus-like Proteins)	Pêche (Pru p 2), pomme (Mal d 2), kiwi (Act d 2), banane (Mus a 4)...
Albumines 2S	Arachide (Ara h 2, Ara h 6), noix du Brésil (Ber e1), sésame (Ses i 1)...
Protéines 11S	Arachide (Ara h 3), noisette (Cor a 9), soja (Gly m6), noix cajou (Ana o 2)
Protéines 7S	Arachide (Ara h 1), noisette (Cor a 11), soja (Gly m 5), lentille (Len c 1)...
Profilines	Bouleau (Bet v 2), phléole (Phl p 12), latex (Hev b 8), pêche (Pru p 4)...
Polcalcines	Bouleau (Bet v 4), phléole (Phl p 7), olivier (Ole e3)...
Bêta expansines	Pollens de graminées (Phl p 1)...
Allergènes d'origine animale	
Tropomyosines	Crevette (Pen a 1), acariens (Der p10), blatte (Bla g 7), anisakis (Ani s 3)...
Parvalbumines	Carpe (Cyp c 1), morue (Gad c 1)
Lipocalines	Chat (Fel d4), chien (Can f1, Can f2), vache (Bos d5), souris (Mus m 1)...
Albumines	Chat (Fel d2), chien (Can f3), vache (Bos d6)...

Tableau 1 : Familles biochimiques et allergènes [4].

4. Interprétation des polysensibilisations :

L'intérêt pratique des allergènes moléculaires dans l'interprétation d'une polysensibilisation cutanée et/ou biologique est particulièrement évident dans la pollinose. La mise en évidence d'IgE spécifiques vis-à-vis de certains pan-allergènes comme les profilines (rBet v2, Phl p12) ou les polcalcines (rBet v4, rPhl p7) y est fort utile car ces molécules sont présentes dans les extraits allergéniques totaux employés et peuvent être à l'origine de résultats positifs multiples sans pertinence clinique [5]. Leur utilisation combinée à celle d'IgE spécifiques des recombinants d'allergènes majeurs des pollens, comme rBet v1 pour le bouleau, rPhl p1 et rPhl p5 pour les graminées, ou Ole e1 pour l'olivier et le frêne, permet d'appréhender plus aisément certaines situations cliniques difficiles [6]. De même, l'expression clinique des sensibilisations alimentaires croisées observées chez les patients allergiques aux pollens est susceptible de différer en fonction des molécules en cause selon qu'il s'agit de protéines PR-10 ou de profilines. Une sensibilisation des protéines de transfert lipidique, indépendante d'une pollinose et dont l'expression clinique est plus sévère, sera quant à elle recherchée par la mise en évidence d'IgE sériques spécifiques de rPru p 3 [7].

Les protéines de transfert lipidique (LTP), que l'on sait responsables de réactions croisées entre pollens et aliments, sont également considérées comme des pan-allergènes susceptibles d'expliquer une polysensibilisation. Isolées dans différents tissus de nombreux végétaux, dont plus d'une

centaine sont répertoriés, elles présentent des homologies de structure importante mais ne sont cependant pas systématiquement responsables de réactivités croisées multiples.

D'autres supports moléculaires de réactions immunologiques croisées multiples entre végétaux non apparentés seront peut-être identifiés dans les années qui viennent. Les 1,3- β -glucanases présentes dans de nombreuses plantes, et à la famille desquelles appartiennent l'allergène majeur Ole e 9 de l'olivier et l'allergène Hev b 2 du latex, sont par exemple à l'origine de réactions biologiques croisées mais sans pertinence clinique évidente [8].

5. Diagnostic de certaines allergies alimentaires :

La possibilité de rechercher une sensibilisation aux allergènes moléculaires de certains aliments constitue aussi une avancée majeure dans la prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient. Ils ont, en outre, permis de mettre en évidence des marqueurs de sévérité de l'allergie alimentaire. La sévérité des réactions est différente selon les familles moléculaires auxquelles appartiennent les allergènes à l'origine de la sensibilisation du patient. D'une manière générale, les symptômes cliniques sont de plus en plus sévères dans l'ordre des familles suivantes : cross-reactive carbohydrate determinants (CCD), profilines, PR-10, LTP et protéines de stockage. La structure des protéines permet d'expliquer cette variabilité de réaction clinique.

Ainsi pour l'allergie à l'arachide, la mauvaise spécificité du test conventionnel f13 (42,5%) était très améliorée en recherchant les IgE spécifiques dirigées contre Ara h 2 qui est un marqueur d'allergie grave à l'arachide (spécificité : 96 %, sensibilité : 93 %) [7]. L'identification d'allergènes majeurs dont l'importance clinique est démontrée dans les allergies les plus sévères, à l'exemple de Cor a9 et Cor a14 pour la noisette, permet d'approcher plus aisément la pertinence diagnostique et le potentiel de gravité d'une sensibilisation aux légumineuses ou aux fruits à coque correspondants.

Dans l'allergie alimentaire aux allergènes d'origine animale, le classique « syndrome » « acariens-blattes-crustacés » est expliqué par une réaction croisée à la tropomyosine. En outre, la recherche des IgE spécifiques de la tropomyosine de la crevette (Pen a 1) a une efficacité diagnostique supérieure à celle des IgE spécifiques de l'extrait allergénique conventionnel et à celle des tests cutanés (88,5 %, 74,2% et 65,7 %, respectivement) [9]

6. Implications thérapeutiques :

L'apport diagnostique des allergènes moléculaire a déjà modifié notre approche de l'immunothérapie spécifique chez les patients poly-sensibilisés dont on disait classiquement qu'ils ne pouvaient bénéficier d'une désensibilisation. Cette dernière pourra en effet être envisagée chez les sujets mono-allergiques dont le caractère positif multiple des tests cutanés et/ou biologiques repose sur une sensibilisation à un panallergène d'expression clinique mineure comme une profiline.

En matière d'allergie alimentaire, la détermination du profil de sensibilisation moléculaire du patient permettra d'éviter un régime d'éviction trop strict lorsque les protéines impliquées sont connues comme sensibles à la chaleur et à la protéolyse, ou au contraire d'en approcher un peu mieux le risque potentiel et l'intérêt d'un test de provocation.

7. Conclusion :

L'allergologie moléculaire est incontestablement devenue un outil diagnostique précieux pour l'allergologue, tant en termes d'interprétation des poly-sensibilisations que de diagnostic d'une allergie donnée par la mise en évidence d'une sensibilisation à un ou plusieurs allergènes majeurs. La détermination des profils allergéniques des patients permet également de mieux les phénotyper, d'approcher plus

aisément l'implication clinique de leurs sensibilisations, et donc d'adapter au mieux les mesures d'éviction et la prise en charge thérapeutique. Pour autant, il convient d'en connaître aussi les limites.

Références :

- [1] Philippe Auriol. Evolution des connaissances depuis la poussière. Allerdatabank. 2007
- [2] Matricardi PM, and al. EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol* 2016; 27:(suppl23): 1–250.
- [3] Lundberg M, Chen Z, Rihs HP, Wrangsjö K. Recombinant spiked allergen extract. *Allergy* 2001;56:794–5.
- [4] J. Bienvenu, P. Rouzaire, F. Bienvenu. Les allergènes moléculaires : évolution ou révolution dans le diagnostic de l'allergie, *Revue française d'allergologie* 51 (2011) 186–191
- [5] Vitte J, Bienvenu F. Allergènes moléculaires. *EMC - Biologie médicale* 2012;7(3):1-8 [Article 90-30-0001-A].
- [6] Pauli G, et al. Pertinence clinique des tests cutanés dans la pollinose au plantain : apport du dosage des allergènes moléculaires. *Rev Fr Allergol* (2015).
- [7] Salcedo G and al. Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1336-1341.
- [8] Palomares O and al. 1,3-β-glucanases as candidates in latex-pollen-vegetable food cross-reactivity. *ClinExp Allergy* 2005; 35:345-351.
- [9] Codreanu F, Collignon O, Roitel O, Thouvenot B, Sauvage C, Vilain AC, et al. A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:216–26.
- [10] Yang AC, Arruda LK, Santos AB, Barbosa MC, Chapman MD, Galvao CE, et al. Measurement of IgE antibodies to shrimp tropomyosin is superior to skin prick testing with commercial extract and measurement of IgE to shrimp for predicting clinically relevant allergic reactions after shrimp ingestion. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:872–8.