

\$OUT =str_replace(")", ") ", \$OUT);

François Spertini, Annette Leimgruber, Pierre-Alexandre Bart

Qu'attendre du futur du diagnostic en allergologie ?

Rev Med Suisse 2011;7:856-859

Résumé

Le diagnostic en allergologie se trouve face à de nouveaux défis du fait de la disponibilité récente non seulement d'allergènes purifiés, ou sous forme recombinante, mais aussi du développement de tests multiples (multi-allergènes). Les nouvelles possibilités diagnostiques apportent une meilleure compréhension des réactivités croisées entre allergènes respiratoires et alimentaires. De plus, les nouveaux tests pourront vraisemblablement donner une meilleure information sur le risque de réaction à l'allergène et sur sa sévérité, et ceci mieux que l'approche à ce jour basée sur des extraits totaux d'allergènes. Ces nouvelles technologies diagnostiques ont toutefois leur coût, non négligeable, et vont faire l'objet d'une sérieuse réflexion stratégique sur leur pleine utilité en allergologie.

Introduction

A ce jour, le diagnostic d'une allergie dépendante des IgE repose essentiellement sur l'anamnèse, un pilier du raisonnement clinique, ainsi que sur les tests cutanés *prick-tests* (*Skin prick-tests* – SPT) et sur les intradermoréactions (IDR). Ces tests *in vivo* s'opposent à la recherche des IgE spécifiques mesurées à l'aide de méthodes *in vitro* en phase solide, dérivées de la méthode de l'ELISA telle que le CAP (Pharmacia, Uppsala, Suède). Depuis peu, la possibilité de doser les IgE spécifiques d'un grand nombre d'allergènes définis, sous forme purifiée ou recombinante (obtenus par génie génétique), a de fortes chances de modifier de manière marquée l'approche traditionnelle du diagnostic allergologique.

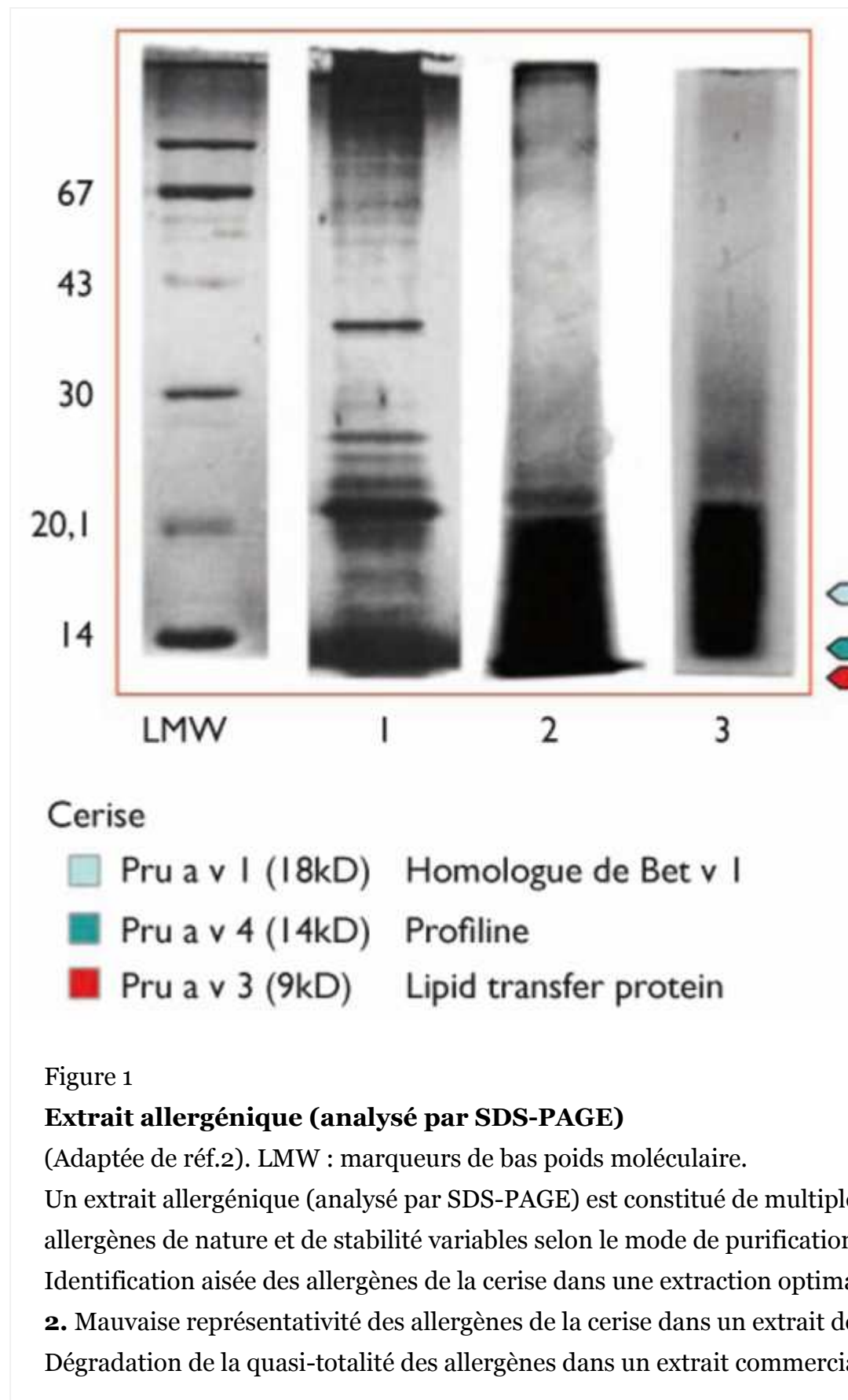
Tests allergologiques classiques

Les tests cutanés *in vivo* classiques sont basés sur l'utilisation d'extraits co

d'allergènes. Si ces tests ont une sensibilité et une spécificité très bonnes, et une très bonne valeur prédictive positive et négative, concernant les allergènes respiratoires, il n'en est pas de même pour les allergènes alimentaires dont la sensibilité et la spécificité, pour ne pas évoquer leurs valeurs prédictives, sont particulièrement médiocres. La faute en est, le plus vraisemblablement, à la faible activité enzymatique,¹ propriété intrinsèque de nombreux allergènes, qui entraîne une autodigestion de l'extrait allergénique, et donc aussi à sa capacité à lier les IgE. Les extraits totaux d'allergènes souffrent d'autres handicaps : beaucoup comprennent non seulement des allergènes en nombre variable non standard, mais aussi de multiples protéines et autres contaminants sans propriété allergénique particulière.

Allergènes purifiés ou recombinants

C'est à cause de leur médiocre qualité diagnostique que les extraits allergéniques alimentaires (et petit à petit respiratoires également) sont et pourraient plus fréquemment être remplacés par des allergènes purifiés ou des allergènes recombinants pour la recherche d'IgE spécifiques in vitro du moins² (figure 1). Ces deux classes d'allergènes ne représentent pas pour autant une solution définitive car, en effet, un certain nombre de conditions de qualité doivent être remplies pour permettre de libéraliser l'usage des allergènes purifiés ou recombinants. Même purifiés mieux, l'allergène peut néanmoins être associé à des impuretés. De même, un allergène recombinant peut devenir un outil efficace, mais pour autant que sa structure tertiaire soit conservée et qu'il lie les IgE de manière comparable à l'allergène naturel. Enfin, pour que l'allergène recombinant utilisé isolément dans un test in vivo acquiert une valeur diagnostique, il doit absolument être représentatif de l'ensemble des patients allergiques et doit donc avoir fait l'objet d'une étude épidémiologique approfondie pour connaître sa représentativité dans un groupe défini d'allergie.



Nouvelles ordonnances

On voit donc que dans ce contexte rapidement brossé, il y a nécessité urgente

définir, lorsqu'on discute d'un extrait allergénique, d'un allergène purifié ou d'un allergène recombinant, leur niveau optimal de pureté, de stabilité et de représentativité sinon de toxicité (pour l'usage en test cutané). L'obtention d'un produit de qualité doit passer par une méthodologie maintenant bien définie et reproductible telle que le recommandent les Good laboratory ou Good manufacturing practices. Depuis peu, les autorités d'enregistrement des médicaments, autant en Suisse (Swissmedic) qu'en Allemagne (Paul-Ehrlich Institut) ou qu'en Europe (EMA), ont récemment émis des ordonnances concernant le développement d'outils diagnostiques ou thérapeutiques dans le domaine de l'allergologie. Le 1^{er} mars 2010 est entrée en vigueur une ordonnance de l'Institute of Swiss Medicine sur l'autorisation simplifiée des préparations à base d'allergènes, une ordonnance qui fait suite aux exigences européennes consolidées de l'EMA (www.swissmedic.ch/zulassungen/00173/01224/) qui édicte notamment que des préparations à base d'allergènes destinées au diagnostic in vivo doivent faire la preuve de leur stabilité et être documentées par des données pharmacologiques et toxicologiques aptes à démontrer la sécurité de la préparation en question. Une ordonnance de même type est édictée en parallèle pour les préparations à base d'allergènes, destinées à l'immunothérapie spécifique, en particulier une documentation sur les essais cliniques et attestant d'un programme de développement conforme aux bonnes pratiques des essais cliniques (Good clinical practice – GCP guidelines).

Si ces ordonnances paraissent a priori restrictives, elles doivent être accueillies favorablement dans la mesure où elles contribueront enfin à un effort de standardisation dans le domaine du diagnostic allergologique et de l'immunothérapie des maladies allergiques. Effectivement, à ce jour, compte tenu des commentaires mentionnés ci-dessus, les extraits allergéniques composés de multiples protéines autant allergéniques que non allergéniques n'ont été l'objet d'efforts de standardisation qu'à l'interne. Il est de fait extrêmement difficile de comparer à la fois la qualité et l'efficacité soit d'un test diagnostique, soit d'une préparation thérapeutique allergénique d'une compagnie à l'autre. Compte tenu de leur instabilité physicochimique, les extraits allergéniques sont difficilement défendables à moyen terme tant comme agents diagnostiques que thérapeutiques et devront maintenant satisfaire a minima aux ordonnances des autorités d'enregistrement. Ceci est heureusement le cas pour la plupart des préparations essentielles d'immunothérapies de base, comme la désensibilisation aux pollens de graminées, aux pollens d'arbres, à certaines herbacées et aux acariens notés.

En revanche, certaines préparations « plus exotiques » sont vouées à disparaître définitivement du catalogue diagnostique et thérapeutique. Une fois de plus, il ne s'agit pas de s'en attrister puisque dans bien des cas, soit les caractéristiques des tests, soit le pronostic des désensibilisations effectuées avec de tels produits sont difficilement objectivables.

On peut donc s'attendre sous l'impulsion des autorités d'enregistrement à ce que le marché du diagnostic allergologique se renforce qualitativement tout en augmentant momentanément son volume d'offre. Une telle approche qualitative ne peut être qu'une incitation à développer des produits de substitution parmi lesquels nous citerons les allergènes hautement purifiés, les allergènes synthétiques et les allergènes recombinants. Aujourd'hui, les compagnies responsables du développement de tests allergologiques *in vitro* ont une avance considérable sur les compagnies productrices d'extraits allergéniques. Dans ces conditions, on ne s'étonnera pas d'une évolution probable vers un biais de sélection de tests vers la recherche d'IgE spécifiques, basés soit sur les allergènes purifiés, soit sur les allergènes recombinants. On sait toutefois que les allergènes recombinants, bien qu'adéquatement pelotonnés dans leur structure tertiaire, peuvent servir d'excellents supports de tests *in vivo* par *prick-tests*.³ Malheureusement, les questions de marchés et de brevets font à ce jour obstacle au développement de tests *in vivo* basés sur ces nouveaux développements technologiques.

Les tests du futur proche

Le fait qu'un allergène soit bien défini, qu'il soit purifié ou obtenu par recombinant génétique, n'est pas une garantie immédiate que ce produit obtiendra l'aval des autorités d'enregistrement comme test diagnostique. Pour remplacer un extrait allergénique par un ou plusieurs allergènes recombinants, il s'agira, comme mentionné plus haut, de démontrer non seulement la bonne facture biochimique du test, mais aussi la représentativité d'un petit nombre d'allergènes recombinants soigneusement sélectionnés et leur capacité à diagnostiquer l'ensemble des patients souffrant d'une allergie donnée.⁴ Deux stratégies sont actuellement en cours parmi les approches les plus pointues du diagnostic allergologique, dont la première possibilité est la détermination de l'origine de l'allergie sur la base de l'identification des IgE spécifiques d'un nombre restreint et choisi d'allergènes (purifiés ou recombinants) et représentatifs de l'allergie présentée par le patient. Ceci présuppose une excellente connaissance des éventuelles réactivités croisées des allergènes impliqués dans l'atteinte à diagnostiquer. L'autre approche est

robuste et consiste à tester l'ensemble des allergènes les plus fréquemment rencontrés et connus (*Component-resolved diagnosis*).⁶ Ceci a permis à ces compagnies de mettre récemment au point une miniaturisation de tests en phase solide sous forme de *micro-arrays* (tests type ISAC, Phadia)⁷ (figure

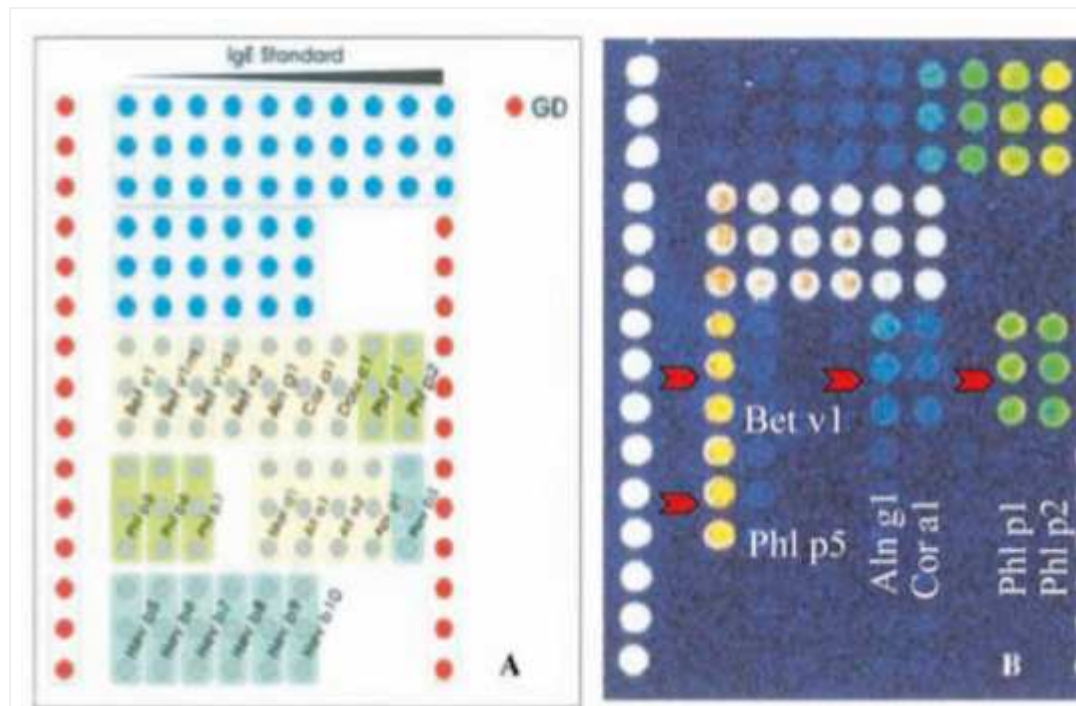


Figure 2

Test de type allergènes multiples, basé sur les allergènes recombinants

(Adaptée de réf.7). Les allergènes recombinants sont disposés en micro-array. Courbe standard d'IgE purifiées et allergènes recombinants de bétulacées: Bet v 1m, Bet v 1a, Bet v 2, AIn g 1 et Cor a 1), d'aliments (Dau c 1, Mal d 1, Dau c 2, Mal d 2, Dau c 3, Mal d 3, Dau c 4, Mal d 4, Dau c 5, Mal d 5, Dau c 6, Mal d 6, Dau c 7, Mal d 7, Dau c 8, Mal d 8, Dau c 9, Mal d 9, Dau c 10, Mal d 10), de pollen de graminées (Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6 et Phl p 7), de mûre (Alt a 1 et Alt a 2) et du latex (Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 8, Hev b 9, Hev b 10) en triplicats. **B.** Réactivité IgE d'un patient sensible à rBet v 1, rCor a 1, rPhl p 2 et rPhl p 5.

Cette miniaturisation permet de tester d'un seul coup plus d'une centaine d'allergènes purifiés ou recombinants isolés, exprimés en triplicats et garantit donc une bonne reproductibilité. Ce type de test est encore en développement. Il a déjà été comparé en tout ou partie à d'autres tests, tels que le CAP (in vitro cutané (in vivo) avec extrait total, et s'est révélé de sensibilité et spécificité comparables tout en apportant en sus des informations complémentaires (réactivités croisées notamment).⁸ En effet, la possibilité de disposer de nombreux allergènes, issus à la fois des allergènes respiratoires ou alimentaires, permet

d'identifier de nombreuses réactivités croisées potentielles et de mieux expliquer certains syndromes cliniques, notamment les allergies alimentaires complexes. Grâce à ces systèmes multitests, il a été possible de grouper les allergènes en familles principales, telles que les familles *Pathogen related* (PR10) ou *Lipid transfer proteins* (LTP) (tableau 1). On sait que les protéines de la famille PR10 sont en fait la plupart des homologues de l'allergène principal du bouleau Bet v 1, thermolabiles, souvent associées à des symptômes cliniques localisés tels que le syndrome orofaryngé, croisé, syndrome le plus souvent bénin. Les réactivités croisées avec les fruits et légumes sont nombreuses. Quant aux LTP, il s'agit d'allergènes le plus souvent stables à la chaleur et à la digestion, provoquant des réactions parfois aussi graves que l'allergie au pollen, même si l'aliment est cuit. De nombreux rapports semblent associer cette famille à des réactions systémiques éventuellement sévères.^{9,10} De manière intéressante, la sensibilisation aux LTP est le plus souvent due à une sensibilisation alimentaire primaire et se retrouve fréquemment chez les patients originaires du sud de l'Europe. A l'inverse, les patients nord-européens se sensibilisent d'abord à des protéines allergéniques du pollen de bouleau (Bet v 1) avant d'étendre leur allergie aux fruits et aux légumes.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Protéines PR10 (Pathogen related) <ul style="list-style-type: none"> – Protéines homologues de Bet v 1, thermolabiles – Souvent associées à des symptômes locaux tels que le syndrome orofaryngé – Souvent associées à des réactions allergiques à des fruits et des légumes dans le nord de l'Europe |
| <ul style="list-style-type: none"> • LTP (Non-specific lipid transfer proteins – nsLTP) <ul style="list-style-type: none"> – Protéines stables à la chaleur et à la digestion, provoquant des réactions aux aliments cuits également – Souvent associées à des réactions systémiques sévères |
| <ul style="list-style-type: none"> • Profilines <ul style="list-style-type: none"> – Rarement associées à des symptômes cliniques mais, chez une minorité de patients, peuvent provoquer des réactions parfois sévères |
| <ul style="list-style-type: none"> • Protéines de stockage, déterminants carbohydrates (CCD), tropomyosines, parvalbumines, albumines |

Tableau 1

Principales familles d'allergènes telles qu'elles peuvent être analysées par un multitest en micro-array de type ISAC (Phadia)

Une autre large famille, celle des profilines, une chaperonne, regroupe des rarement associées à des symptômes cliniques, quoique capables néanmoins une minorité de patients de provoquer des réactions qui peuvent parfois être sévères.¹¹ Pour ne faire que les citer, d'autres allergènes sont regroupés dans d'autres familles comme les allergènes de stockage, les tropomyosines, les parvalbumines, les albumines ou les protéines à forte charge de chaînes glycosylées. Il y a lieu de penser que cette approche diagnostique multi-allergénique peut progresser dans la qualité du diagnostic de l'allergie alimentaire grâce à une standardisation des allergènes utilisés et une stabilité établie de ces molécules. On peut s'attendre aussi à parvenir de la sorte à mieux comprendre certaines réactions cliniques, puisque pour certains allergènes, notamment pour les allergènes de cacahuète ou pour ceux du latex, des profils de réponse IgE anti-allergéniques s'associent à des réactions cliniques plus ou moins sévères lors de l'ingestion ou du contact de l'aliment en question.¹³ De plus, sur le plan thérapeutique, P. S. Grendelmeier et coll., à Zurich, ont récemment rapporté que le pronostic de la désensibilisation pour des allergies respiratoires pouvait dépendre également du profil de réponse allergénique à certains pollens.^{14,15} Dans une étude effectuée sur 746 patients sensibilisés aux pollens de graminées ou de bouleau, les patients qui présentaient une réponse IgE, essentiellement contre des allergènes majeurs appartenant à deux grandes catégories d'allergènes, avaient un pronostic très favorable de la désensibilisation. À l'inverse, les patients qui présentaient essentiellement une réponse IgE contre des allergènes mineurs avaient, eux, un relativement mauvais pronostic postdésensibilisation.

Conclusion

Nous nous trouvons donc actuellement à la croisée de nouvelles perspectives diagnostiques en allergologie avec le développement rapide de technologies nouvelles et reproductibles. Outre le diagnostic, ces technologies devraient permettre d'établir le pronostic d'une thérapie telle que la désensibilisation. D'autre part, elles permettront de mieux connaître ou de mieux comprendre certaines réactions cliniques dans leur sévérité. Il reste évidemment un problème-clé à résoudre : celui du coût de cette technologie de plusieurs centaines de francs à l'heure actuelle.

Cette approche multi-allergique ne s'applique certainement pas à des situations simples d'allergologie où le test cutané gardera toujours son applicabilité, et

particulier lorsque les extraits auront reçu l'aval des organismes d'enregistrement. Cela est vrai pour l'immense majorité des patients allergiques sensibles à ces allergènes respiratoires. En revanche, les cas complexes d'allergies respiratoires et/ou alimentaires bénéficieront certainement dès lors d'une meilleure application. La bonne définition d'un profil allergénique est une condition à un régime alimentaire ou à une immunothérapie qui devrait conduire à l'amélioration de la qualité de vie du patient et de sa santé.

Implications pratiques

- > Un effort considérable de standardisation des allergènes permet maintenant de renforcer la puissance des tests diagnostiques en allergologie, sans parler de leur impact sur l'immunothérapie spécifique
- > L'utilisation en diagnostic d'allergènes recombinants ou purifiés bien caractérisés permet une meilleure compréhension des réactions croisées entre aliments
- > Des tests allergéniques multiples basés sur les allergènes purifiés ou recombinants facilitent le diagnostic de l'allergie alimentaire tout particulièrement
- > Leur utilisation optimale reste encore à définir

Bibliographie

1. **Sokol CL, Barton GM, Farr AG, Medzhitov R.** A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol* 2008;9:310-8. [Medline]
2. **[**] Vieths S, Scheurer S, Reindl J, et al.** Optimized allergen extracts and recombinant allergens in diagnostic applications. *Allergy* 2001;56(Suppl. 67):78-82.
3. **Pauli G, Oster JP, Deviller P, et al.** Skin testing with recombinant allergens rBet v 1 and birch profilin, rBet v 2 : Diagnostic value for birch pollen and associated allergies. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1100-9.
4. **[*] Mari A.** Skin test with a timothy grass (*Phleum pratense*) pollen extract vs. IgE to a timothy extract vs. IgE to rPhl p 1, rPhl p 2, nPhl p 4, rPhl p 5, rPhl p 6, rPhl p 7, rPhl p 11, and rPhl p 12 : Epidemiological and diagnostic data. *Clin Exp Allergy* 2003;33:43-51. [Medline]

5. **Villalta D, Asero R.** *Is the detection of IgE to multiple Bet v 1-homologous food allergens by means of allergen microarray clinically useful ? J Allergy Clin Immunol 2010;125:1158-61.*
6. **Lidholm J, Ballmer-Weber BK, Mari A, Vieths S.** *Component-resolved diagnostics in food allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2006;6:234-40.*
7. **Deinhofer K, Sevcik H, Balic N, et al.** *Microarrayed allergens for IgE profiling. Methods 2004;32:249-54. [Medline]*
8. **Ott H, Baron JM, Heise R, et al.** *Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. Allergy 2008;63:1521-8. [Medline]*
9. **Ballmer-Weber BK.** *Lipid transfer protein as a potential panallergen ? Allergy 2002;57:873-5. [Medline]*
10. **[**] Ballmer-Weber BK, Scheurer S, Fritsche P, et al.** *Component-resolved diagnosis with recombinant allergens in patients with cherry allergy. J Allergy Clin Immunol 2002;110:167-73.*
11. **Kazemi-Shirazi L, Niederberger V, Linhart B, et al.** *Recombinant marker allergens : Diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy. Int Arch Allergy Immunol 2002;127:259-68.*
12. **Asero R, Ballmer-Weber BK, Beyer K, et al.** *IgE-mediated food allergy diagnosis : Current status and new perspectives. Mol Nutr Food Res 2007;51:135-47. [Medline]*
13. **[*] Ebo DG, Hagendorens MM, De Knop KJ, et al.** *Component-resolved diagnosis from latex allergy by microarray. Clin Exp Allergy 2010;40:348-58. [Medline]*
14. **Flinterman AE, Knol EF, Lencer DA, et al.** *Peanut epitopes for IgE and IgG4 in peanut-sensitized children in relation to severity of peanut allergy. J Allergy Clin Immunol 2008;121:737-43 e10.*
15. **Schmid-Grendelmeier P.** *Recombinant allergens. For routine use or still only science ? Hautarzt 2010;61: 946-53.*

[*] à lire [**] à lire absolument

Abstract

Diagnosis in allergology is facing novel challenges because of the availability of purified or recombinant allergens, but also of multitests such as micro-arrays. These new diagnostic opportunities contribute to a better understanding of crossreactivities between respiratory and food allergens. In comparison to current diagnosis based on whole allergen extracts, this new generation of specific IgE tests is expected to provide better information on the reaction to allergens as well as on its severity. However these new technologies are expensive, and will have to be carefully analyzed in terms of medical and public health costs.

Contact auteur(s)

François Spertini, Service d'immunologie et d'allergie
CHUV, 1011 Lausanne

Francois.Spertini@chuv.ch

Annette Leimgruber, Service d'immunologie et d'allergie
CHUV, 1011 Lausanne

Annette.Leimgruber@chuv.ch

Pierre-Alexandre Bart, Service d'immunologie et d'allergie
CHUV, 1011 Lausanne

Pierre-Alexandre.Bart@chuv.ch