# CONTROLE ET STANDARDISATION DES EXTRAITS ALLERGÉNIQUES

## Standardisation des extraits allergéniques et préparations de référence

H. BAER *

### DÉFINITION

Un extrait standardisé contient une quantité définie d'activité allergénique ; sa production est uniforme d'un lot à l'autre.

### OBJET

#### EXTRAITS DIAGNOSTIQUES POUR TESTS CUTANÉS

L'objectif ultime des tests cutanés est d'essayer de déterminer le ou les allergènes responsables de la maladie allergique. Il est bien connu que de nombreux individus présentent une réaction positive aux fortes concentrations d'extraits allergéniques sans présenter aucun signe clinique de maladie allergique [6]. Un extrait correctement standardisé doit permettre le choix, pour la réalisation des tests cutanés, d'une dose qui peut permettre d'identifier les sujets qui présentent une maladie clinique. Ceci a été réalisé, dans une certaine mesure, pour des extraits d'ambrosia [10] et de venins d'insectes [14].

#### L'IMMUNOTHÉRAPIE CONSTITUE LA SECONDE UTILISATION DES EXTRAITS

Très peu de documents sont disponibles mais il existe au moins une étude avec l'extrait d'ambrosia nain [12] qui a montré que la dose thérapeutique pouvait être établie en microgrammes d'antigène E admnistré. De même, pour le venin d'insectes, la dose administrée est exprimée en microgrammes de protéines de venins et la dose d'entretien peut être également définie de la même manière.

### MÉTHODE

#### MATIÈRES PREMIÈRES

Il n'est pas possible de préparer de bons extraits sans disposer d'une source correcte de matières premières. Les critères de sélection et d'évaluation des matières premières n'ont pas été jusqu'ici bien établis.

*Pollens*

Il est essentiel de disposer des informations suivantes :

— lieu et date de collecte,

— méthode, traitement et conservation de la collecte et, si possible, le nom du collecteur.

Il serait souhaitable de disposer de spécimens de la plante sur laquelle le pollen a été récolté.

La première difficulté est de bien s'assurer de leur identité, l'observation microscopique ne permettant pas de différencier d'une manière satisfaisante de nombreux pollens.

*Moisissures*

Le genre, l'espèce, le milieu de culture et la copie du schéma taxonomique sont nécessaires pour identifier la moisissure.

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de données scientifiques pour déterminer si les allergènes se trouvent

BAER H. — Standardisation des allergènes et préparations de référence. **Rev. franç. Allergol.**, 1980, **20** (n° 4-5), 217-219.

---

* Food and drug administration. Bureau of Biologics, BETHESDA, MARYLAND (USA).

dans les spores, le mycélium ou le milieu de culture. Les extraits sont fabriqués en utilisant une ou plusieurs sources et l'étude des extraits d'*alternaria* et de *cladosporium* montre que les extraits disponibles sur le marché présentent des spécificités différentes [13, 1].

### *Insectes*

Pour les extraits d'insectes piqueurs de la famille des hyménoptères, seuls les extraits de venin ou de sacs à venin sont acceptables. Les insectes doivent être identifiés en tant que genre et espèce par un taxonomiste compétent.

Pour les insectes non piqueurs, tels que les cocranes on ne connaît pas encore quelle est la partie de l'insecte qui contient les allergènes ou même si ceux-ci sont davantage trouvés dans les particules de sécrétions desséchées de l'insecte ou encore dans les paquets d'œufs. De ce fait, il est difficile de préparer des produits de référence.

### *Phanères d'animaux*

Il semble que les allergènes de la souris se trouvent largement dans l'urine aussi bien que dans le sérum, et que les allergènes du chat sont dans la salive, le sérum et l'urine.

Certains extraits, fabriqués à partir de peaux entières, comportent indiscutablement la présence de quantités importantes de sérum et de protéines tissulaires qui peuvent avoir peu de rapport avec l'allergie aux phanères. De ce fait, jusqu'à ce que la source actuelle des allergènes soit bien établie pour chaque animal, il est difficile de préparer un produit de référence satisfaisant.

### *Poussière de maison*

L'existence d'un allergène de la poussière de maison ou la possibilité qu'il soit constitué par un mélange d'allergènes définis tels que acarien, chat, chien, etc., est actuellement très controversée dans la littérature. En conséquence, il paraît prématuré de tenter de préparer un produit de référence satisfaisant.

### *Aliments*

Nos connaissances sont actuellement si faibles à propos des allergènes alimentaires qu'aucun produit de référence n'est envisageable actuellement, sauf peut-être pour la morue.

## PRÉPARATIONS DE RÉFÉRENCE

La standardisation nécessite que soient disponibles des préparations de référence pouvant être utilisées pour étudier la qualité d'extraits fraîchement préparés. Puisqu'il n'existe pas d'extrait de référence acceptable de manière générale, le « Bureau of Biologics » a décidé de fabriquer des produits de référence de pollen d'ambrosia nain et géant, de certaines graminées courantes ainsi que celui de venin d'abeille.

### RAST

La technique de l'inhibition du RAST est la méthode la plus généralement utilisée pour la mesure de la puissance relative des extraits allergéniques. Cependant, si on trouve que l'extrait étudié est moins puissant que l'extrait de référence, les données du RAST n'apportent aucune information sur les raisons de cette différence. Le RAST est une mesure quantitative utile de la réactivité allergénique mais d'autres techniques sont nécessaires pour l'évaluation de la qualité d'un extrait. La méthode la plus simple d'évaluation de la qualité d'un extrait est l'iso-électrofocalisation [2, 7].

## AUTRES TECHNIQUES

Bien que le RAST puisse éventuellement être utilisé pour la détermination de la puissance de tous les extraits, d'autres méthodes sont également utiles.

### *Immunodiffusion radiale (RID)* [8]

Lorsqu'un composant unique d'un extrait peut être isolé sous forme pure, il est possible de préparer un anticorps précipitant. En utilisant un anticorps monospécifique, il est très simple de mesurer la concentration d'un composant dans un extrait ; ceci a été réalisé pour l'antigène E dans les extraits d'ambrosia nain [3].

### *Essais enzymatiques*

Il est prouvé que certains allergènes sont des enzymes, par exemple l'hyaluronidase et la phospholipase dans le venin d'insectes. Puisque tous les venins d'hyménoptères contiennent ces deux enzymes, on peut utiliser un essai enzymatique pour déterminer l'activité enzymatique rapportée aux microgrammes de protéines de venins et donc assurer ainsi une uniformité de la production lot par lot.

D'autres techniques sur gel telles que l'immuno-électrophorèse croisée et la radio immuno-électrophorèse croisée peuvent constituer des instruments valables lorsque l'on dispose des réactifs appropriés [7].

## STABILITÉ

Les extraits devraient être délivrés aux allergologues sous forme pleinement active et conservés sous cette forme. Par conséquent, des études de stabilité doivent être conduites pour déterminer les périodes de validité. A ce jour, seuls les extraits de pollens et de venins d'insectes ont été étudiés. Il a été prouvé que la glycérine à 50 p. cent était le meilleur agent de stabilisation des extraits [5]. La sérum-albumine humaine a été utilisée pour stabiliser les solutions diluées [9].

## RÉFÉRENCES

1. Aukrust L., Aas K. — The diagnosis of immediate type allergy to Cladosporium herbarium. Differences between extracts and the efficacy of RAST assays. *Allergy*, 1978, *33*, 24.
2. Brighton W. D. — Profiles of allergen extract components by isoelectric focusing and radioimmunoassay. *Dev. Biol. Stand.*, 1975, *29*, 362.
3. *Federal Register* 44 45642, 1979. Allergenic Products ; antigen E potency test.
4. Gleich G. J., Yunginger J. W. — Standardization of allergens. In : Rose N. R., Friedman H., *Manual of Clinical Immunology*. Washington, Am. Soc. for Microbiol., 1976.
5. Hiatt C. W., Baer H., Hooton M. L. — Kinetics of thermal decay of antigen E from short ragweed pollen. *J. biol. Stand.*, 1977, *5*, 39.
6. Lindblad J. H., Farr R. S. — The incidence of positive intradermal reactions and the demonstration of skin-sensitizing antibody to extracts of ragweed and dust in humans without history of rhinitis and asthma. *J. Allergy*, 1961, *32*, 392.
7. Lowenstein H. — Quantitative immunoelectrophoretic methods as a tool for the analysis and isolation of allergens. *Prog. Allergy*, 1978, *25*, 1.
8. Mancini G., Carbonara A. O., Heremans J. G. — Immunochemical quantitation of antigens by single radialimmunodiffusion. *Immunochemistry*, 1965, *2*, 235.
9. Nelson H. S. — The effect of preservatives and dilution on the deterioration of Russian thistle (Salsola pestifer), a pollen extract. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1979, *57*, 231.
10. Norman P. S., Lichtenstein L. M., Ishizaka K. — Diagnostic tests in hayfever. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1973, *52*, 210.
11. Norman P. S., Marsh D. G., Tignall J. — Stability of allergenic extracts diluted for testing. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1976, *57*, 231.
12. Norman P. S., Winkenwerder W. L., Lichtenstein L. M. — Immunotherapy of hayfever with ragweed antigen E. *J. Allergy*, 1969, *44*, 83.
13. Yunginger J. W., Jones R. T., Gleich G. J. — Studies on Alternaria Antigens II. Measurement of the relative potency of commercial Alternaria extracts by the direct RAST and by RAST inhibition. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1976, *58*, 405.
14. Zeleznick L. D., Hunt K., Sobotka A. K., Valentine M. D., Tippet L. O., Lichtenstein L. M. — Diagnosis of hymenoptera sensitivity by skin testing with hymenoptera venoms. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1977, *59*, 2.