



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie xxx (2009) xxx-xxx

Revue critique

Ber e 1, allergène majeur de la noix du Brésil : intérêt de l'allergène recombinant pour le diagnostic in vitro

Ber e 1, major allergen of Brazil nut: Interest of recombinant allergen for in vitro diagnosis

S. Jacquenet*, J.-M. Renaudin, B. Bihain

Genclis SAS, 15, rue du Bois-de-la-Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

Reçu le 15 avril 2009 ; accepté le 27 avril 2009

Résumé

Ber e 1, allergène majeur de la noix du Brésil (NB), est une albumine 2S thermostable, d'homologie variable avec les albumines 2S de fruits à coque : Ara h 2 (40 %), Ara h 6 (48 %), Ana o 3 (61 %), Car i 1 (66 %) et Jug r 1 (68 %). La sensibilisation à la NB, explorée par prick-tests est fréquente : 18 % chez les allergiques à un fruit à coque. L'allergie à la NB est rare : 0,48 % de 1047 observations de la banque de données du CICBAA. L'anaphylaxie sévère représente 0,8 % des 719 cas déclarés au réseau Allergovigilance. La sensibilité des prick-tests et de la détermination d'IgE spécifiques à la NB assurent le diagnostic lorsque l'histoire clinique est présente. Inversement, en l'absence de réaction clinique, les tests positifs ne traduisent pas une allergie. Le nouveau ImmunoCAP® à l'allergène recombinant (Phadia®) évite les positivités liées à des IgE anticarbohydres et devrait être plus spécifique. Néanmoins, le risque éventuel d'une réaction croisée avec d'autres albumines 2S ne peut actuellement être évalué.

© 2009 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Noix du Brésil ; Allergène recombinant ; Tests cutanés ; IgE spécifiques

Abstract

Ber e 1 is a thermostable albumin 2S protein, a major allergen of Brazil nut (BN). Homology with 2S albumins from other tree and ground nuts is known: Ara h 2 (40%), Ara h 6 (48%), Ana o 3 (61%), Car i 1 (66%) and Jug r 1 (68%). The sensitization to BN, explored by prick tests, is frequent in patients allergic to other nuts: 19%. Allergy to NB is rare: 0.48% of 1047 cases of food allergy recorded in the CICBAA data bank. Severe anaphylaxis to BN represents 0.8% of cases declared to the Allergy Vigilance Network. The good sensitivity of prick tests and of the determination of specific IgE to BN makes sure the diagnosis of BN allergy when there is a conclusive clinical history, but the lack of specificity does not allow a predictive value for the diagnosis of allergy when the history is lacking. The new ImmunoCAP® using a recombinant allergen will gain more specificity, discarding the risk of positivity linked to anticarbohydrate IgE. However, the possible cross reactivity between 2S albumins is a non-solved issue that deserves further studies.

© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords : Brazil nut; Recombinant allergen; Skin prick test; Specific IgE

1. Introduction

Le diagnostic biologique de l'allergie alimentaire s'adresse de plus en plus à des allergènes recombinants correspondant aux allergènes majeurs antérieurement connus [1]. Nous nous proposons, à propos de la noix du Brésil (NB) dont l'allergène majeur, Ber e 1, est déjà disponible, de rappeler les

caractéristiques biochimiques, l'identification de Ber e 1 comme allergène majeur, les réactivités croisées connues avant de faire état des connaissances actuelles reposant sur la clinique, les tests cutanés et l'ImmunoCAP® à la NB.

2. Caractéristiques biochimiques de Ber e 1

La NB fraîche est constituée d'environ 15 % de protéines, dont les principales sont les globulines 7S et 11S, et les albumines 2S, de 64 % de lipides et de 9 % de glucides.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : s.jacquenet@genclis.com (S. Jacquenet).



Fig. 1. La noix du Brésil.

Ber e 1 a été le premier allergène identifié dans la NB : il représente 20 % des protéines totales solubles extraites de cette source allergénique (Fig. 1).

À ce jour, deux allergènes sont officiellement reconnus par l'International Union of Immunological Society (IUIS) : l'albumine 2S, Ber e 1, et la globuline 11S, Ber e 2.

Ber e 1 est initialement produite sous forme d'un précurseur de 17 kDa qui subit plusieurs modifications. Au fur et à mesure de sa synthèse, la protéine est transportée vers le réticulum endoplasmique où se forment quatre ponts disulfures impliquant les huit résidus cystéine de la protéine. Une fois repliée, cette dernière transite par l'appareil de Golgi puis rejoint la vacuole grâce à un court signal d'adressage localisé à son extrémité C terminale (Fig. 2). Pendant son transport à la vacuole, trois clivages successifs du précurseur avec perte de certains fragments peptidiques conduisent à la protéine mature.

Ber e 1 est une protéine extrêmement stable à la chaleur et à la dégradation chimique et protéolytique, ce qui a suggéré l'hypothèse que Ber e 1 pourrait entrer en contact avec les cellules immunitaires intestinales sans être dénaturée.

Ber e 1 est une protéine hydrosoluble de 12 kDa, légèrement acide (pI=6,2), constituée de deux sous-unités de 3,6 et

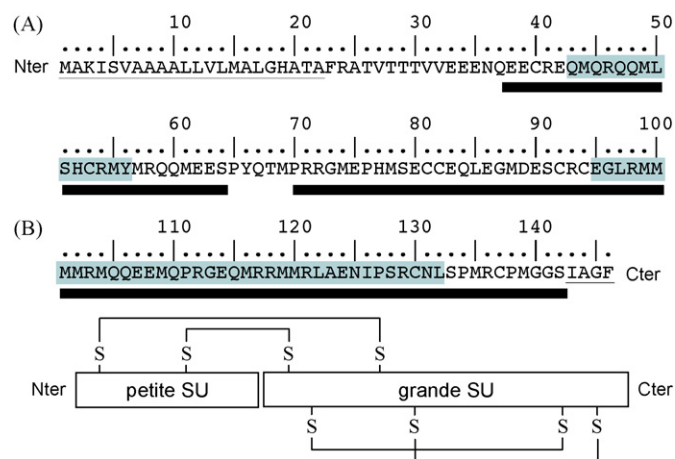


Fig. 2. Séquence de Ber e 1 (numéro d'accèsion SwissProt P04403). A. Séquence du précurseur Ber e 1. La séquence soulignée située à l'extrémité N terminale correspond au peptide signal et les quatre acides aminés C terminaux soulignés à la séquence d'adressage vacuolaire. Les séquences soulignées d'un trait noir épais représentent les deux sous-unités de la protéine mature. Les zones surlignées en bleu correspondent aux régions épitopiques décrites par Alcocer et al. [2]. B. Représentation schématique de Ber e 1 mature. Les ponts disulfures inter- et intrachâînes sont symbolisés par les liaisons entre deux atomes de soufre de la chaîne latérale des résidus cystéines.

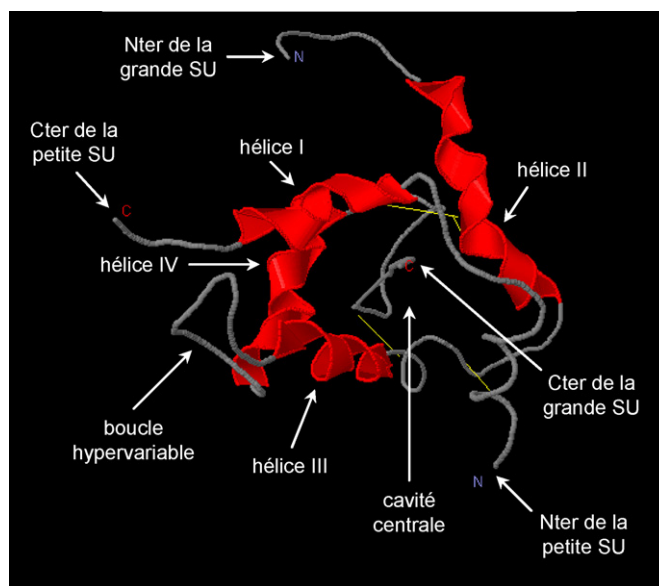


Fig. 3. Modèle de structure tridimensionnelle de Ber e 1 mature établi par homologie avec la structure de l'albumine 2S de ricin, Ric c 3 (code PDB : 1PSY).

8,5 kDa (respectivement appelées petite et grande sous-unités) reliées entre elles par deux ponts disulfures (Fig. 2).

Comme toutes les albumines 2S, Ber e 1 est une protéine globulaire hautement structurée : elle est formée de quatre hélices alpha qui s'organisent entre elles pour former une cavité centrale (Fig. 3). L'originalité des albumines 2S est d'être constituée de très peu d'acides aminés différents : l'arginine, la glutamine, l'acide glutamique et la méthionine constituent à eux seuls près de 60 % de la séquence de Ber e 1.

Des informations complémentaires et régulièrement mises à jour sont disponibles sur le site www.allergome.org.

3. Ber e 1, allergène majeur

Riches en acides aminés soufrés (8 % de cystéine et 19 % de méthionine pour Ber e 1), les albumines 2S sont d'un intérêt agronomique majeur, en vue d'améliorer la qualité nutritionnelle de certaines plantes pauvres en soufre, notamment par la création d'OGM. C'est à l'occasion de son transfert dans un plant de soja transgénique qu'a été confirmé le caractère intrinsèque de l'allergénicité de Ber e 1 [3] : les immunoblots et les prick-tests au soja transgénique produisant Ber e 1 se sont révélés positifs chez tous les patients allergiques à la NB testés.

En 1998, Pastorello et al. [4] ont comparé le profil de sensibilisation de 11 patients victimes d'anaphylaxie suite à l'ingestion de NB avec celui de dix sujets asymptomatiques sensibilisés à la NB : les auteurs ont ainsi mis en évidence l'existence d'IgE spécifiques dirigées contre Ber e 1 chez tous les patients allergiques mais chez aucun sujet asymptomatique. Cette étude a valu à Ber e 1 la dénomination d'allergène cliniquement relevant et majeur puisque plus de 50 % des patients ont constitué des IgE spécifiques contre lui.

Bien que la sensibilisation à Ber e 1 semble spécifique des manifestations cliniques, le cas d'un garçon de 15 ans ayant fait

une urticaire généralisée 30 minutes après ingestion de NB a été rapporté sans IgE spécifiques contre Ber e 1, indiquant l'existence d'allergènes mineurs cliniquement pertinents autres que Ber e 1 et Ber e 2 [5].

4. Réactivités croisées de Ber e 1

Les albumines 2S sont des protéines de stockage ubiquitaires dans les graines (fruits à coque, légumineuses...). Elles ont été décrites dans plusieurs fruits à coque : la noix (Jug r 1), la noix de cajou (Ana o 3), la noix de pécan (Car i 1), l'amande (Pru du 2S albumin) et l'arachide (Ara h 2 et Ara h 6).

Des similitudes de structure expliquent la plupart des réactivités croisées entre protéines. La comparaison des séquences des albumines 2S de fruits à coque indique que la protéine Ber e 1 présente 40 % d'homologie avec Ara h 2, 48 % avec Ara h 6, 61 % avec Ana o 3, 66 % avec Car i 1 et 68 % avec Jug r 1. Cette homologie globale paraît assez limitée mais elle peut parfois être suffisante si les épitopes responsables de la reconnaissance par les IgE sont situés dans des régions de forte homologie.

L'équipe d'Archer [2] s'est attachée à localiser les épitopes B présents sur Ber e 1 en utilisant des protéines chimériques et des peptides synthétiques. Elle a ainsi pu identifier un épitope linéaire dans la région 43-56 (petite sous-unité) et un épitope conformationnel entre les acides aminés 95 et 132 (grande sous-unité) (Fig. 2 et 3).

Pris isolément, l'épitope linéaire de Ber e 1 présente 29 % d'homologie avec la région équivalente d'Ara h 2 et Ara h 6, 36 % avec celle d'Ana o 3 et 64 % avec celle de Jug r 1. Même si deux cas d'anaphylaxie à la noix avec sensibilisation pour l'un et allergie à la NB pour l'autre ont été rapportés, l'implication des albumines 2S n'a pas été établie.

L'épitope conformationnel de Ber e 1 est localisé dans la boucle séparant les hélices III et IV de la grande sous-unité (Fig. 3). Si cette structure en boucle est très conservée entre les albumines 2S, sa séquence, elle, est hypervariable, ce qui rend les réactivités croisées imputables à cet épitope peu probables.

À l'heure actuelle, peu d'épitopes ont été caractérisés mais la structure tridimensionnelle commune à toutes les albumines 2S laisse envisager des réactivités croisées liées à l'existence d'épitopes conformationnels. Toutefois, certaines études semblent montrer que ces réactivités seraient limitées. L'exemple de Ber e 1 et de l'albumine 2S de tournesol, SFA8, illustre cette hypothèse : alors que les structures spatiales des deux protéines sont très voisines, les cas rapportés d'allergie à la graine de tournesol sont rares, mêmes dans des pays à forte consommation comme l'Espagne, l'Allemagne ou la Grèce.

5. Allergie alimentaire à la noix du Brésil

La sensibilisation à la NB détectée par prick-in-prick est assez fréquente quand elle est recherchée chez des patients porteurs d'une allergie alimentaire (arachide en particulier, où la NB est testée dans une batterie « fruits à coque »). La base de données du CICBAA a colligé 523 tests cutanés dont 94 positifs

(17,9 %). La sensibilisation caractérise la population pédiatrique puisque 67 % des tests positifs sont obtenus sur de jeunes enfants de un à six ans et 28,7 % des enfants de six à 15 ans.

L'allergie à la NB est rare. En effet, la base de données du CICBAA a enregistré cinq cas d'allergie à la NB sur 1037 observations (0,48 % des allergies alimentaires). Elle concernait quatre enfants et un jeune adulte. Le tableau clinique a été une urticaire, associée à un angio-œdème du visage (quatre cas) et un angio-œdème pharyngolaryngé (un cas). Dans trois cas, les patients associaient une allergie à l'arachide (un cas) ou au sésame (un cas) ou à la morue (un cas). Le prick-in-prick était franchement positif (4, 7, 9, 13 et 15 mm). Les IgE spécifiques étaient basses dans deux cas : 0,35 et 0,36 kU/L et élevées à 5,6 et 16,6 kU/L dans deux cas. Le test de provocation labial réalisé quatre fois était positif.

La fréquence de l'anaphylaxie à la NB est de 0,8 % (six cas sur 719 observations d'anaphylaxies alimentaires déclarées au réseau Allergovigilance entre 2002 et 2008). Ces cas concernent trois enfants de sept à dix ans, un adolescent de 15 ans, deux femmes de 17 et 39 ans. Il s'agissait de choc anaphylactique (deux cas), d'angio-œdème laryngé (trois cas), de réaction systémique sévère (un cas). Chez une femme, la quantité ingérée était certainement minime lors de l'accident qui datait de l'enfance, et cependant le prick-in-prick à 39 ans entraîna une urticaire généralisée. Cinq cas ont eu des prick-in-prick aux autres fruits à coque avec une absence de sensibilisation croisée dans deux cas, une sensibilisation croisée variable dans les trois autres cas. Seul le cas 719 déclaré en novembre 2008 bénéficie d'IgE spécifiques évaluées conjointement à la NB : 5,1 KU/L et à l'allergène majeur Ber e 1 : 8,43 kU/L.

En cas d'allergie à la NB, un régime d'éviction des fruits à coque doit être mis en place : http://www.cicbaa.com/pages_fr/regimes/fruitsacoques.html.

Le prick-test dispose d'un extrait de NB commercialisé par la société Alk-Abello®. À notre connaissance, aucune étude comparative de cet extrait avec la NB entière n'a été publiée et aucune information n'est disponible quant au contenu de cet extrait en protéine naturelle Ber e 1.

La sensibilisation à la NB peut également être testée par la technique du prick-in-prick. Il est à noter qu'en 2005, Senna et al. [6] ont rapporté une réaction syndromique sévère chez un patient allergique à la noix européenne à l'occasion de ce type de test. Les symptômes anaphylactiques (dyspnée, angio-œdème facial et hypotension à 90 mmHg) ont nécessité l'administration parentérale d'adrénaline, antihistaminique, et corticoïde, associé à un aérosol de bronchodilatateurs sous oxygénothérapie.

Si les prick-tests aux fruits à coque (en général) ont une excellente sensibilité, si donc on peut se fier à un prick-test positif à la NB lorsqu'elle était suspectée à l'interrogatoire, inversement si l'histoire clinique manque et s'il existe plusieurs prick-tests positifs à des fruits à coque, il n'est pas possible pour le clinicien de savoir si ce prick-test est cliniquement pertinent ou s'il traduit une réactivité croisée à diverses protéines homologues présentes dans les fruits à coque. Autrement dit, un prick-test positif à la NB dans le contexte d'une allergie à un

autre fruit à coque n'est nullement prédictif d'un risque allergique.

La recherche d'IgE spécifiques à la NB peut être effectuée par ImmunoCAP® Phadia®, préparés à partir de noix crue. Dans cette préparation, la présence de Ber e 1 naturel a été vérifiée en utilisant des sérums contenant des IgE dirigées contre cet allergène (Phadia®, communication personnelle). Cela dit, en raison des réactivités croisées entre les fruits à coque, un test positif n'est pas non plus prédictif d'une allergie clinique.

Les IgE spécifiques de Ber e 1 sont mesurables par le même système. Dans ce cas, la protéine Ber e 1 immobilisée sur l'ImmunoCAP® est issue de la technologie de l'ADN recombinant et est produite chez *Escherichia coli* (Phadia®, communication personnelle). Il n'y a donc pas de risque de test faussement positif dû à l'existence éventuelle d'IgE anticarbohydrates dans les sera-testés.

Les performances de ces tests biologiques ont été assez peu étudiées et plusieurs questions restent en suspens. Par exemple, le dosage d'IgE spécifiques à Ber e 1 apporte-t-il un avantage par rapport à celui vis-à-vis de la NB ? Est-il plus sensible ? Est-il spécifique de Ber e 1 ou pourrait-il être positif en cas d'allergie à un autre fruit à coque renfermant des albumines 2S ? Il n'existe pas actuellement d'ImmunoCAP® à d'autres

albumines 2S. Signalons toutefois que dans le nouveau test ISAC figure l'albumine 2S du sésame (protéine purifiée et non recombinante : nSes i 1).

Des informations complémentaires pourraient être apportées par la pratique conjointe des deux ImmunoCAP® (NB et Ber e 1) chez des patients qui bénéficieraient de surcroît de prick-tests à tous les fruits à coque.

Références

- [1] Bohle B, Vieths S. Improving diagnostic tests for food allergy with recombinant allergens. *Methods* 2004;32:292–9.
- [2] Alcocer MJ, Murtagh GJ, Wilson PB, Progijs P, Lin J, Archer DB. The major human structural IgE epitope of the Brazil nut allergen Ber e 1: a chimeric and protein microarray approach. *J Mol Biol* 2004;343:759–69.
- [3] Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *N Engl J Med* 1996; 334:688–92.
- [4] Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ispano M, Conti A, Ansaloni R, et al. Sensitization to the major allergen of Brazil nut is correlated with the clinical expression of allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:1021–7.
- [5] Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S. Allergy to minor allergens of Brazil nut. *Allergy* 2002;57:1080–1.
- [6] Senna G, Bonadonna P, Crivellaro M, Schiappoli M, Passalacqua G. Anaphylaxis due to Brazil nut skin testing in a walnut-allergic subject. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2005;15:225–7.