

CAHIER DE

Formation

Biologie médicale

N° 07

décembre 96

IMMUNO-ALLERGIE



CAHIER DE

Formation

Biologie médicale



Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE MEDICALE en FRANCE.

]

TOUT LE CONTENU DE CE FICHER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

]

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schémas et photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront poursuivies devant les tribunaux compétents.

]

Seule une impression pour une copie personnelle (étudiant, interne, biologiste de labm) est permise.





Cher Confrère,

Pour la première fois, grâce à la collaboration entre la Direction des Laboratoires et des Contrôles de l'Agence du Médicament et Bioforma, a pu être réalisé un Contrôle de Qualité National en Allergie.

Comme à l'accoutumée cette opération donne lieu à un cahier de formation que nous sommes heureux de vous adresser.

En effet le contrôle de qualité doit être compris comme un outil de recherche d'excellence. Tout naturellement il induit, par les conclusions qu'il pose, des besoins de formation complémentaire que nous essayons de satisfaire en demandant à des experts unanimement reconnus de rédiger le contenu des cahiers de formation.

L'allergologie est une discipline relativement nouvelle. Les espaces diagnostique et thérapeutique évoluent rapidement. De temps à autre il est nécessaire de faire un point d'étape : c'est l'ambition de ce document.

Nous souhaitons qu'il vous soit utile chaque jour de votre pratique et qu'il vous apporte des éléments pour parfaire la qualité des actes que vous exécutez.

La formation continue conventionnelle voulue et dirigée conjointement par les représentants des Syndicats de Biologistes et les représentants des Caisses du Régime obligatoire poursuit ainsi sa mission au service de la profession toute entière.

Nous vous prions d'agréer, Cher Confrère, nos cordiales salutations.

Adrien BEDOSSA
Président

Professeur Christian JANOT
Directeur de la Division des
Laboratoires et des Contrôles
Agence du Médicament

CAHIER DE FORMATION

EN IMMUNO-ALLERGIE

Ouvrage réalisé sous la direction de :

Professeur Bernard DAVID, Institut Pasteur, Paris
Professeur Moncef GUENOUNOU, CHU de Reims

En collaboration avec :

Dominique AUBERT, CHU de Reims
Évelyne CORNEL, Hôpital Esquirol, St-Maurice
Philippe DEVILLER, Faculté de Médecine, RTH Laennec, Lyon
Christine HAMBERGER, Institut Pasteur, Paris
François LAVAUD, CHU de Reims

I M M U N O – A L L E R G I E



PRÉFACE	5
I – ÉTATS D'HYPERSENSIBILITÉ	8
II – L'ALLERGIE IMMÉDIATE	
Mécanismes fondamentaux et aspects cliniques	11
II.A. La réaction allergique	11
II.B. Mastocytes et basophiles	18
II.C. Eosinophiles	27
II.D. Autres cellules	27
II.E. Allergènes	28
III – L'ALLERGIE IMMÉDIATE – Biologie pratique	43
III.A. La qualité des tests biologiques dans le diagnostic de l'allergie	43
III.B. Le biologiste face à la prescription en allergologie.....	43
IV – ALVÉOLITES ALLERGIQUES EXTRINSÈQUES	
Intérêt de l'immunologie dans le diagnostic et le suivi des maladies de Poumon des Eleveurs d'Oiseaux et de Poumon du Fermier	55

PRÉFACE

L'allergologie est une discipline en pleine évolution et les maladies allergiques, situées au quatrième rang mondial par l'OMS, ont un retentissement sur la Santé Publique. Si le diagnostic d'une affection d'origine allergique repose en premier lieu sur l'exploration clinique, on ne doit pas négliger pour autant l'importance de la biologie, et ce, grâce aux recherches fondamentales les plus récentes qui ont permis de disséquer les mécanismes immunologiques et de les relier aux différentes manifestations cliniques de l'allergie.

Un panorama des aspects théoriques et cliniques illustrera la première partie de cet ouvrage. Seront proposés sur la seconde partie les tests biologiques utilisés dans le diagnostic de l'allergie. Seules ont été retenues les explorations biologiques qui ont été validées scientifiquement et cliniquement.

Les Sociétés distributrices des réactifs utilisés pour la réalisation des tests ont d'ailleurs reçu l'aval de l'Agence du Médicament (AMM) mais la qualité respective de leurs produits n'engagent que leur responsabilité.

Afin de donner à cet ouvrage un aspect didactique et utilitaire, un bref rappel mentionnera la qualité des tests biologiques et la cotation des actes de biologie médicale dans le domaine allergie en préconisant la meilleure démarche à effectuer dans la prescription des examens biologiques en allergologie.

I - ÉTATS D'HYPERSENSIBILITÉ

CAHIER DE
Formation
version numérique

Les états d'hypersensibilité reflètent chez tous les individus l'efficacité d'une bonne réponse immunitaire (hypersensibilité retardée), mais peuvent être nocifs et engendrer des pathologies parfois sévères (anaphylaxie, complexes immuns).

Un autre terme est également associé aux états d'hypersensibilité : c'est l'**allergie**.

L'allergie est un terme qui a été défini par Von Pirquet (1906) comme la capacité pour un organisme sensibilisé à une substance exogène de réagir spécifiquement, et ce d'une façon « altérée » lors de la réintroduction de cette substance. Ce terme impliquait indifféremment un état d'immunité ou d'hypersensibilité avec comme conséquence une réaction inflammatoire nocive pour l'organisme. Ultérieurement, les notions d'allergie et d'hypersensibilité ont été confondues et assimilées aux différents mécanismes rencontrés en immunopathologie. Plusieurs mécanismes sont responsables de l'état d'hypersensibilité ou d'allergie.

I.1 - Hypersensibilité immédiate ou anaphylactique (IgE)

(de type I selon la classification de Gell et Coombs)

Ce type d'hypersensibilité regroupe tous les phénomènes de l'anaphylaxie expérimentale décrite par Richet et Portier (1902), ainsi que les manifestations cliniques observées chez l'homme lors d'un choc anaphylactique et au cours d'affections respiratoires, oculaires, cutanées et digestives. Il existe cependant une distinction entre le choc anaphylactique, expression systémique de l'hypersensibilité immédiate qui survient après pénétration de substances étrangères (sérum xénogénique, venin d'hyménoptères, aliments, médicaments) et les affections survenant après exposition naturelle à l'antigène (par inhalation, par ingestion ou parfois par effraction cutanée) comme par exemple : l'asthme, les rhinites saisonnières (rhume des foins) ou perannuelles, certains eczémas (dermatite atopique) et certaines urticaires ainsi que d'autres symptomatologies oculaires, ORL et/ou digestives. Ces syndromes cliniques, encore appelés maladies atopiques (l'atopie est un terme initialement proposé par Coca en 1923), présentent le plus souvent un caractère familial qui permet d'évoquer un mécanisme génétique. Le point commun de toutes ces formes « d'allergie » est la production d'immunoglobulines E spécifiques (IgE) par un « antigène (Ag) » ou « allergène » (figure 1).

I.2 - Hypersensibilité liée aux complexes immuns (de type III)

Ce type d'hypersensibilité correspond précisément à certains effets provoqués par l'accumulation de complexes immuns induits quelques heures après introduction de l'Ag (réaction d'Arthus), ou après dépôt de complexes antigènes-anticorps déjà présents dans la circulation. Le dépôt de ces complexes immuns dans les tissus ou dans les organes entraîne alors un processus inflammatoire avec intervention du complément. Les exemples cliniques les mieux étudiés de ce type d'hypersensibilité sont les alvéolites allergiques extrinsèques, les pneumonies interstitielles des maladies du poumon des fermiers ou des éleveurs d'oiseaux observées après inhalation d'antigènes de certains actinomycètes ou d'antigènes aviaires. Les anticorps (Ac) responsables de ce type d'hypersensibilité sont les IgG et les IgM (figure 2).

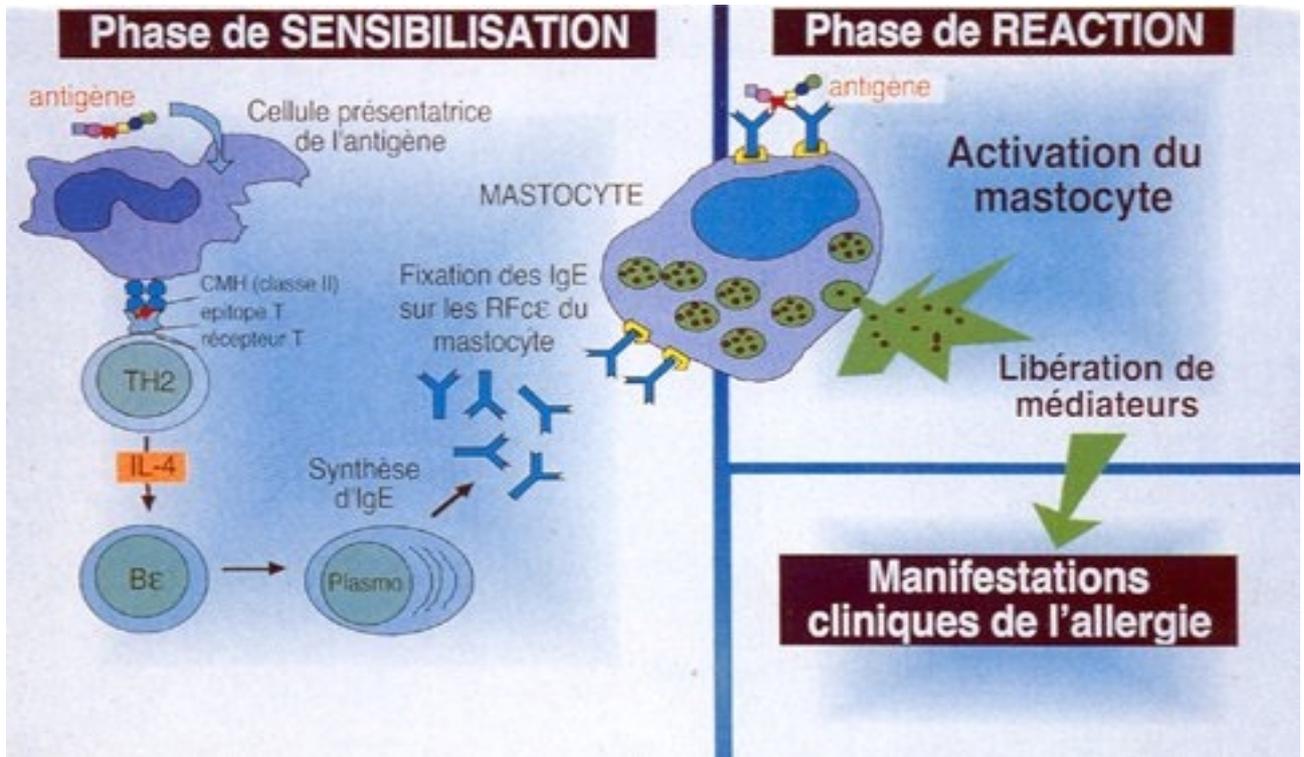


Figure I-1 Hypersensibilité de type I

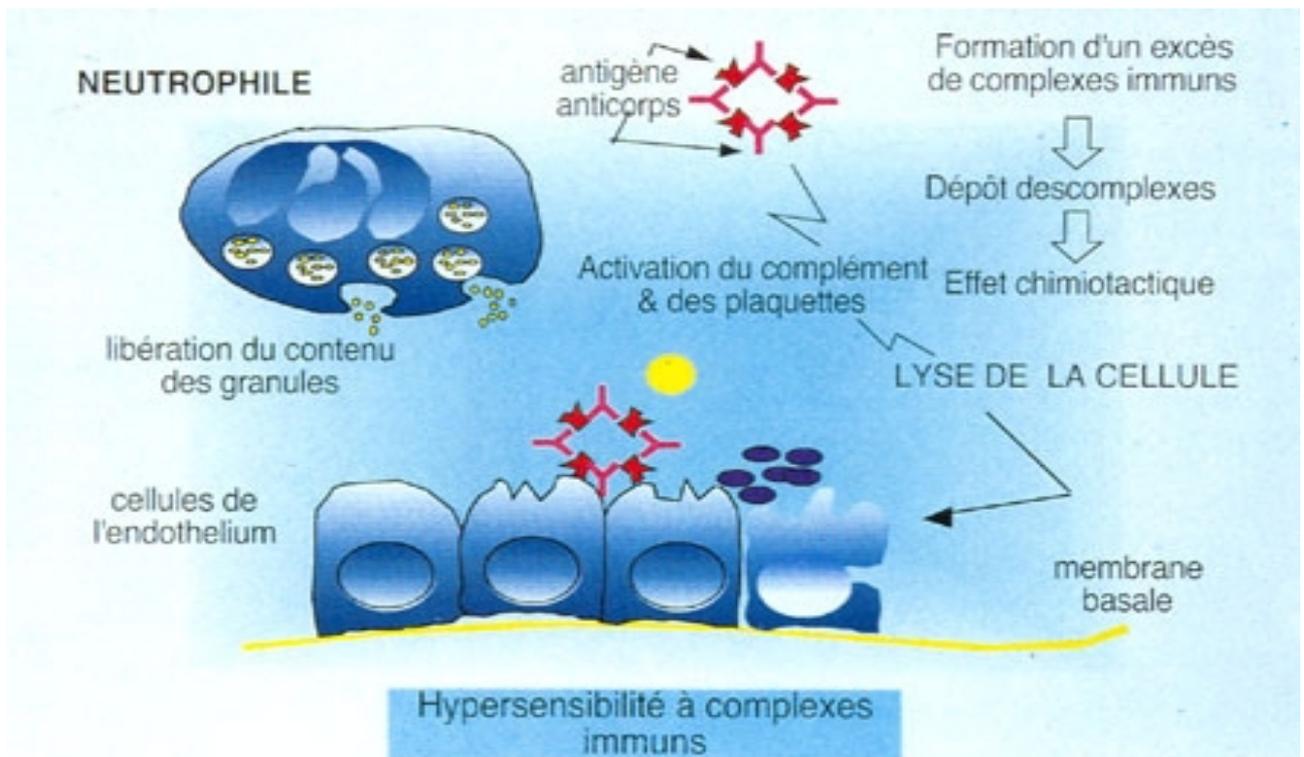


Figure I-2 Hypersensibilité de type III

I.3- Hypersensibilité retardée à médiation cellulaire (de type IV)

Sur le plan pathologique, elle est représentée en priorité par l'hypersensibilité de contact ; elle ne fait pas intervenir de synthèse d'anticorps mais des mécanismes d'activation cellulaire responsables de l'inflammation. L'allergène est habituellement une substance de faible poids moléculaire dite haptène. Celui-ci, lors de la pénétration cutanée, doit se coupler à une protéine locale pour devenir antigénique ; il est absorbé par les cellules de Langerhans présentes au niveau de l'épiderme qui migrent alors dans le système lymphatique jusqu'aux ganglions et présente alors l'antigène aux cellules lymphocytaires Th 1. Ces dernières induisent l'hypersensibilité retardée par activation lymphocytaire, activation macrophagique et production de cytokines (figure 3).

Les allergènes responsables sont très variés : substances d'origine cosmétique, industrielle, à usage domestique... la maladie correspondante est la dermatite de contact.

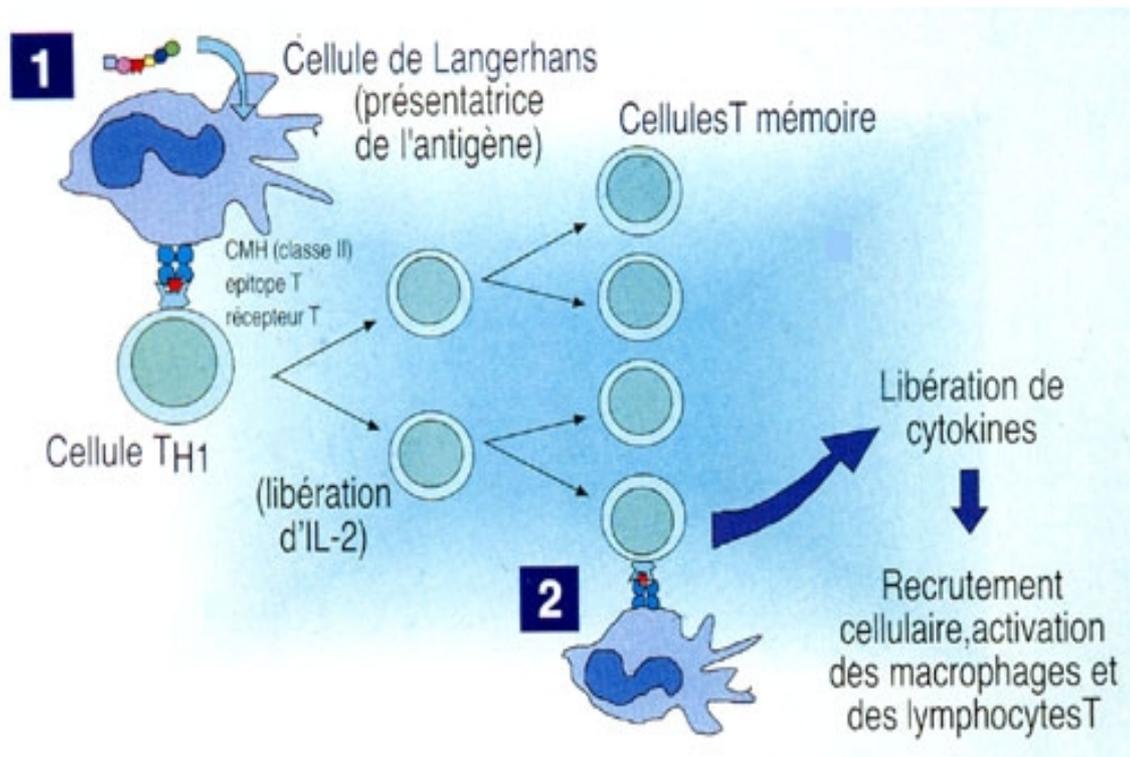


Figure I-3 Hypersensibilité de type IV

II - L'ALLERGIE IMMEDIATE

Mécanismes fondamentaux et aspects cliniques

■ A. LA RÉACTION ALLERGIQUE

Le mécanisme essentiel de l'hypersensibilité immédiate a comme support immunologique l'induction et la synthèse d'une classe particulière d'anticorps, l'immunoglobuline E (IgE) par des allergènes. Une fois produites dans l'organisme, les IgE sensibilisent de nombreuses populations cellulaires. Cette première phase dite de sensibilisation se déroule de manière silencieuse. Après réintroduction de l'allergène spécifique, celui-ci se lie aux IgE préalablement fixées sur des récepteurs cellulaires de haute affinité (FceRI) présents sur les mastocytes tissulaires et les basophiles du sang. Ces cellules sont alors activées et libèrent des médiateurs de l'inflammation (2^{ème} phase réactogène et explosive). L'apparition de cette réaction inflammatoire relève, dans ce cas, de l'hypersensibilité, encore appelée « allergie immédiate », anaphylactique ou à IgE.

Le site d'inoculation, le temps d'exposition, et la concentration de l'antigène sont autant de facteurs qui influencent le comportement immunitaire de l'individu, et a fortiori au cours des processus de sensibilisation.

On sait expérimentalement que l'introduction de très faibles doses d'antigènes favorise l'établissement d'un état d'hypersensibilité immédiate. De même, certains adjuvants potentialisent la réponse à IgE (hydroxyde d'alumine, la bactérie *Bordetella Pertusis*, certains extraits parasitaires). D'autre part, on connaît, en clinique, l'incidence des parasitoses sur l'hyperproduction d'IgE.

A.1- Concept d'atopie et manifestations cliniques de la synthèse d'IgE

L'association de manifestations cliniques d'hypersensibilité et de la production excessive d'IgE représente sans doute la définition la plus sûre du concept d'atopie, encore que l'IgE soit une immunoglobuline normale du sérum et que des IgE spécifiques soient produites chez la plupart des sujets normaux après une stimulation antigénique adéquate, notamment dans certaines parasitoses.

Reste que la définition de l'atopie devient de plus en plus difficile à cerner du fait que l'induction et la synthèse d'IgE dépendent de multiples événements : la nature de la stimulation, la programmation génétique, le rôle de certaines cytokines, et la dépendance de l'environnement. Le terme « atopie » était surtout appliqué autrefois aux manifestations allergiques de type immédiat vis-à-vis des substances de notre environnement (pollens, poussières), associées à une notion de « terrain ».

On peut appliquer actuellement ce terme proposé par Coca à l'hypersensibilité immédiate due aux substances naturelles inhalées ou ingérées et où l'on observe une régulation de la réponse à IgE transmise héréditairement (familles « d'atopiques ») avec les données suivantes :

- Production d'IgE totales supérieures à la moyenne (en général dans 80 % des cas) ;
- Production d'IgE spécifiques vis-à-vis des allergènes de l'environnement ;
- Tests cutanés positifs à ces mêmes allergènes (hypersensibilité immédiate) ;
- Des antécédents familiaux.

Les aspects cliniques des manifestations allergiques varient avec l'âge.

Chez le nouveau-né, l'allergie la plus commune se développe contre les antigènes apportés par l'alimentation, comme le lait ; l'atopie est fréquente, sous la forme d'un eczéma. Cet eczéma disparaît souvent vers 4 à 5 ans, mais les enfants ayant eu un eczéma atopique développent souvent au cours de la vie adulte des allergies respiratoires.

Chez le sujet adulte, l'allergie est en général définitive et a plutôt tendance à s'accroître progressivement, soit en sévérité, soit par le nombre des allergènes en cause.

Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont le rhume des foins, habituellement saisonnier, les rhinites perannuelles, l'asthme bronchique, la dermatite atopique, l'urticaire et l'allergie alimentaire, surtout dans ses formes aiguës.

D'autres manifestations cliniques, telles que poussées aiguës d'urticaire (aliments, végétaux, médicaments), œdème de Quincke et choc anaphylactique, ne relèvent pas systématiquement de l'atopie (tableaux I-a/I-b).

Tableau I-a. *Présentation clinique des maladies allergiques - Manifestations les plus allergiques*

PRESENTATION CLINIQUE DES MALADIES ALLERGIQUES	
A.-Manifestations les plus allergiques	
1.-	Le choc anaphylactique (type I ; IgE) anesthésiques généraux venins d'hyménoptères antalgiques produits de contraste iodés antibiotiques
2.-	La pollinose (type I ; IgE)
3.-	Les dermites de contact (type IV ; retardée)

Tableau I-b. *Présentation clinique des maladies allergiques - Manifestations les plus fréquentes*

B.Manifestations les plus fréquentes (nature allergique inconstante plus difficile à affirmer dans un cadre multifactoriel)	
1.-	Les atteintes respiratoires asthme (type I ; IgE) alvéolites extrinsèques (type II ; complexes immuns) maladie du poumon du fermier (type II ; complexes immuns)
2.-	Les atteintes cutanées eczéma atopique (type I ; IgE) urticaire (et parfois œdème de Quincke) (type I ; IgE)
3.-	Les atteintes oculaires (type I, III, IV)
4.-	Les atteintes viscérales (type I, III, IV)

A.2 - Génétique

La transmission héréditaire conférée par les familles d'atopiques s'applique à la capacité génétique du système immunitaire à induire des IgE spécifiques contre des allergènes de notre environnement immédiat. Cette capacité est retrouvée également chez les individus qui ont tendance à produire de fortes quantités d'IgE totales sériques.

Il est évident que plusieurs systèmes sont impliqués dans le contrôle génétique de la synthèse d'IgE.

a) Contrôle de la production d'IgE totales

Un premier contrôle génétique est exercé sur la synthèse d'IgE totales, mais les études suggérant le contrôle d'un ou plusieurs gènes sur l'élévation du taux d'IgE ne sont pas toutes concordantes, sans doute par le fait que certains patients atopiques ont un taux normal d'IgE totales. Les analyses sur le mode de transmission du caractère atopique sont variables. On retrouve soit une transmission monogénique autosomique récessive (sujet bon répondeur avec taux élevé d'IgE totales) avec des influences polygéniques, soit un mode héréditaire dominant maternel dépendant du marqueur D 11 S 97 lié au chromosome 11 q 13 avec une conclusion un peu hâtive sur le « gène de l'atopie », soit une influence polygénique dont un gène majeur serait transmis selon un mode respectivement autosomique co-dominant et autosomique récessif. De toutes ces observations, il semble qu'il existe bien une association entre l'allèle D 11 S 97 situé sur le chromosome 11 q 13 dans les familles atopiques et le taux d'IgE totales sériques. A côté des études génétiques de l'atopie, d'autres travaux d'ordre épidémiologiques, en particulier sur l'asthme, ont montré que le facteur de risque pour devenir asthmatique était beaucoup plus corrélé à un taux d'IgE totales qu'à une réponse cutanée positive aux allergènes de l'environnement (IgE spécifiques) alors que dans le concept de l'atopie, ce dernier aspect est essentiel.

b) Contrôle de la production d'IgE spécifiques par le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)

Chez l'homme, le contrôle est extrêmement dépendant de deux paramètres majeurs : l'extrême variabilité individuelle et le répertoire peu étendu d'allergènes purifiés. Cependant, grâce à l'effort de la génétique moléculaire par l'étude des mécanismes allergiques, on a pu montrer qu'il y avait une association étroite entre le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II (HLA-D) et certains peptides allergéniques.

A partir des allergènes majeurs de pollen d'ivraie (Lol p I, II et III) et d'ambrosia (Amb a V, Amb t V) certains modèles expérimentaux ont confirmé l'existence d'une association significative entre les HLA-DR3 et HLA-DR5 et les allergènes majeurs d'ivraie et entre le HLA-DR2/Dw2 et les allergènes d'Ambrosia Amb a V.

D'autres observations sont moins claires et les études effectuées à partir des allergènes provenant du chat (Fel d I), de l'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p I, Der p II), du pollen de phléole (Phl p V), du chien (Can f I) et d'*Alternaria* (Alt I) ont montré d'une part, de faibles associations entre la fréquence des allèles HLA-DR et la réponse IgE spécifique vis-à-vis de ces allergènes et d'autre part des résultats discordants. Il a été remarqué une possible relation entre HLA-DR1 et la réponse IgE ou Fel d I et entre HLA-DR4 et Alt a I.

En réalité, c'est le même antigène qui se comporte comme un immunogène classique chez le sujet sain (production d'IgM, IgG, IgA et IgD) et comme un allergène chez le patient allergique (production d'IgM, d'IgG, d'IgA, d'IgD et d'IgE).

c) Contrôle de la réponse inflammatoire IgE-dépendante

Il a été établi un lien entre l'IgE totale et la région du chromosome 5 q 31-1 où le gène de l'Interleukine 4 (IL-4) régule la production d'IgE. Ce lien entre le chromosome 5 q 31-1 et l'IgE totale est suggéré par les récents résultats montrant que le gène candidat transmis selon un mode récessif autosomique serait situé près des gènes de l'IL-4/IRF-1, l'IL-9 et les marqueurs D5 S 393 et D5 S 399.

La liaison entre la réponse IgE, et le marqueur D 11 S 97 du chromosome 11 q 13 a été confirmée en tant qu'élément important dans la notion d'atopie. Il a, d'autre part, été montré que la localisation de la chaîne du récepteur de haute affinité pour l'IgE (FcεRI) était proche du marqueur D 11 S 97 du chromosome 11 q 12 - 13. Le gène du FcεRI est un excellent candidat dans la genèse de l'atopie, en tant que récepteur essentiel au déclenchement des réactions inflammatoires initiées par le mastocyte, cellule qui libère en plus de ses médiateurs pharmacologiquement actifs, des cytokines (IL-4) susceptibles d'amplifier la réponse IgE à l'allergène.

En conclusion, l'allergie atopique dans son ensemble et l'asthme en particulier dépendent de l'équilibre entre les différents facteurs génétiques :

1) ceux qui régissent la réponse immunitaire, non spécifique et spécifique de l'antigène (un allergène),

- 2) ceux qui gouvernent l'expression des récepteurs pour l'IgE (FcεRI) et des cytokines (IL-4), éléments impliqués dans l'inflammation,
- 3) ceux qui éventuellement prédisposeraient à l'hyperréactivité bronchique,
- 4) ceux qui amplifieraient la réponse inflammatoire (Tumor Necrosis Factor ou TNF-α.).

Cet équilibre sera considérablement modifié par les conditions environnementales qui jouent un rôle essentiel dans les processus de sensibilisation (présence des allergènes spécifiques et cofacteurs non spécifiques).

Un certain nombre d'arguments permettent de relier les phénomènes allergiques (atopiques) à des facteurs génétiques variés. Le chromosome 11 q 13 (famille atopique, récepteur FcεRIβ) et le chromosome 5 q 31-1 (IL-4/IRF-1, IL-9, D5 S 393, D5 S 399) jouent un rôle majeur dans l'établissement de l'atopie. D'autres gènes seront vraisemblablement identifiés comme candidats pour participer aux mécanismes de régulation conduisant à l'allergie atopique.



A.3 - Synthèse d'IgE

Les mêmes lois régissent initialement les processus immunitaires qui conduisent à la production d'immunoglobulines quel que soit leur isotype (IgM, IgG, IgA, IgE, IgD). Elles reposent sur une coopération cellulaire obligatoire entre les cellules présentant l'antigène, les lymphocytes T CD4+ qui le reconnaissent et, les lymphocytes B qui sécrètent les anticorps spécifiques. Cette coopération n'est possible que grâce à un contact étroit entre des molécules de surfaces des différentes cellules qui permettent leur adhérence, et à une activation des signaux membranaires par les cytokines, médiateurs multifonctionnels du système immunitaire. Outre les macrophages, de nombreux types cellulaires sont capables de présenter l'antigène lymphocytes B, (cellules dendritiques, cellules de Langerhans de la peau...). Pour permettre aux cellules présentatrices de coopérer avec les lymphocytes T auxiliaires CD4+, 3 conditions doivent être remplies : « internaliser » et dégrader l'antigène en peptides, présenter ces peptides en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II et délivrer un signal aux cellules T. Le lymphocyte T possède un récepteur (récepteur T) spécifique pour le peptide présenté par la cellule présentatrice de l'antigène et un récepteur CD4 qui se lie au CMH II. La première phase qui associe tous les éléments permettant la synthèse d'anticorps (présentation de l'antigène, CMH II, récepteur T) est identique quelle que soit la classe d'anticorps produite (IgM, G, A, E, D).

En 1986, Mosmann et al. ont rapporté chez la souris l'existence de sous-populations de lymphocytes T (Th1 et Th2), décrites en fonction de leur profil de production de cytokines. Cette classification a pu être étendue aux lymphocytes T humains. Les cellules Th1 produisent de l'IL-2, de l'interféron-γ (INFγ), de la lymphotoxine (ou TNFβ), tandis que les lymphocytes Th2 sécrètent IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et IL-13 ; les deux sous-populations produisent de l'IL-3 et du GM-CSF. Les Th1 contrôlent la réponse cellulaire, telle que la réponse d'hypersensibilité retardée et certaines réponses humorales. Les Th2, de par leur capacité à produire de l'IL-4 favorisent donc la production d'IgE. L'orientation vers une réponse de type Th1 ou de type Th2 se fait elle-même sous l'influence de cytokines. L'IL-4 favorise la différenciation des lymphocytes Th vers le profil Th2. L'interféron-γ (INFγ) et plus encore, l'interleukine-12 favorisent au contraire la maturation des populations de type Th1. De plus, l'IL-12 inhibe la synthèse d'IgE, en induisant notamment la production d'INFγ (fig. 4).

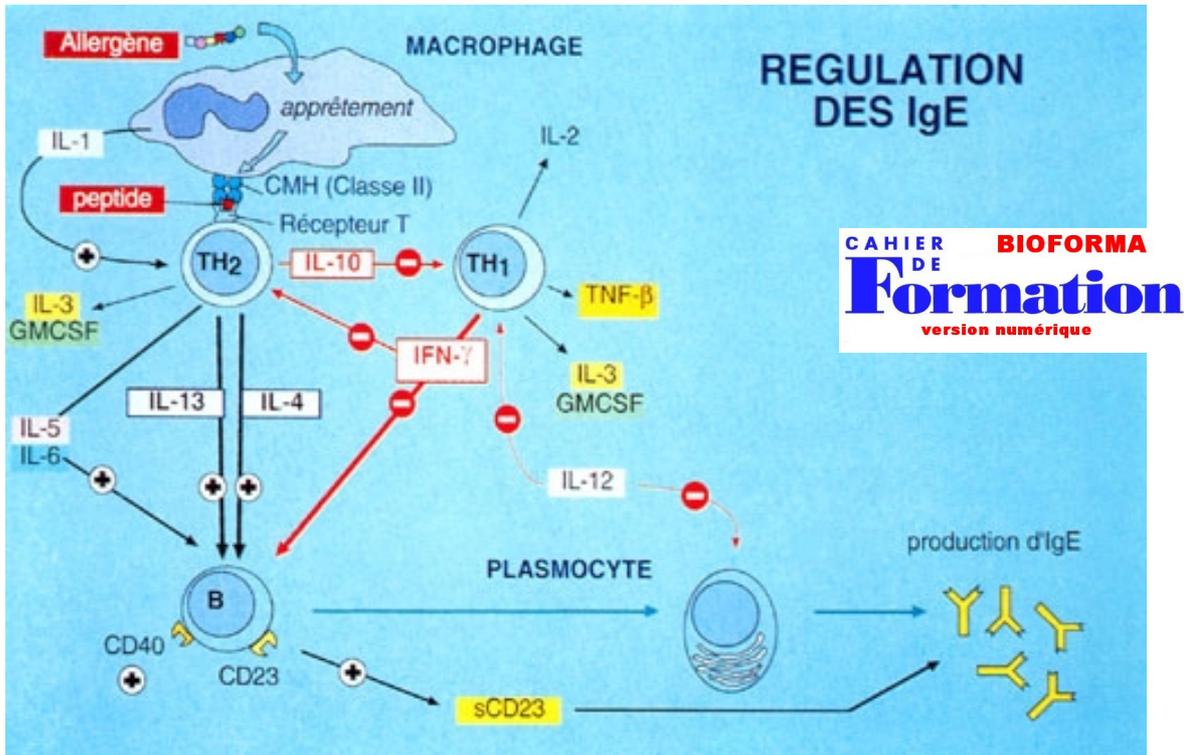


Figure II-4 Régulation de la production des IgE

La recherche de cellules T produisant de l'IL-4 (Th2) et de cellules T produisant de l'IFN- γ (Th1) a mis en évidence un déséquilibre en faveur des populations Th2 chez les sujets allergiques. La fréquence notable de cellules T produisant de l'IL-4, donc favorisant la synthèse d'IgE, a été montrée parmi des clones T spécifiques de l'allergène dérivant de sujets allergiques. Ces clones produisent essentiellement les cytokines correspondant au profil Th2.

Après contact cellulaire entre cellule présentatrice et cellule T, un signal est déclenché par l'interleukine 1 (IL-1) pour activer les cellules Th2. C'est alors que l'orientation vers la sélection de l'isotype IgE va s'effectuer. La synthèse d'IgE peut être schématisée de la façon suivante (fig. 4) : la coopération macrophage-lymphocyte Th2 comportant tous les éléments précédemment cités (peptide-CMH-porteur) mène à une activation du Th2 qui libère les cytokines induisant la synthèse d'IgE. L'IL-4 et l'IL-13 sont les cytokines essentielles partageant la capacité d'induire la production d'IgE et l'expression du CD23, récepteur de faible affinité pour la portion Fc des IgE (Fc ϵ R1 ou CD23) à la surface des lymphocytes B et des monocytes. Au contraire, l'interféron inhibe la production d'IgE et l'expression du CD23. D'autres cytokines peuvent aussi amplifier ou diminuer la synthèse d'IgE parallèlement aux cytokines majeures IL-4, IL-13 et interféron.

Lorsque le lymphocyte B se comporte comme cellule présentant l'antigène, en présence d'IL-4, il y a activation de la transcription du gène codant pour la synthèse d'IgE. La production de la protéine IgE nécessite l'engagement d'une protéine de membrane CD40 du LB avec son ligand CD40L sur la cellule T. L'engrènement du couple CD40-CD40L est un élément clef dans le contrôle de la commutation de classe. Enfin, la potentialisation de la synthèse d'IgE est liée à l'interaction d'autres molécules membranaires engageant le CD21 du lymphocyte B avec le CD23 du lymphocyte T et vice versa. Le CD23 peut être clivé et une fraction soluble (sCD23) est libérée dans les fluides biologiques. Le sCD23 se lie aux IgE et agit comme cofacteur de la production d'IgE en potentialisant l'activité de l'IL-4. Inversement, l'IgE circulante est capable d'exercer un rétrocontrôle par le biais du CD23, en s'y fixant sous forme de complexes immuns ; on observe alors un effet inhibiteur sur la synthèse d'IgE (figure 5)

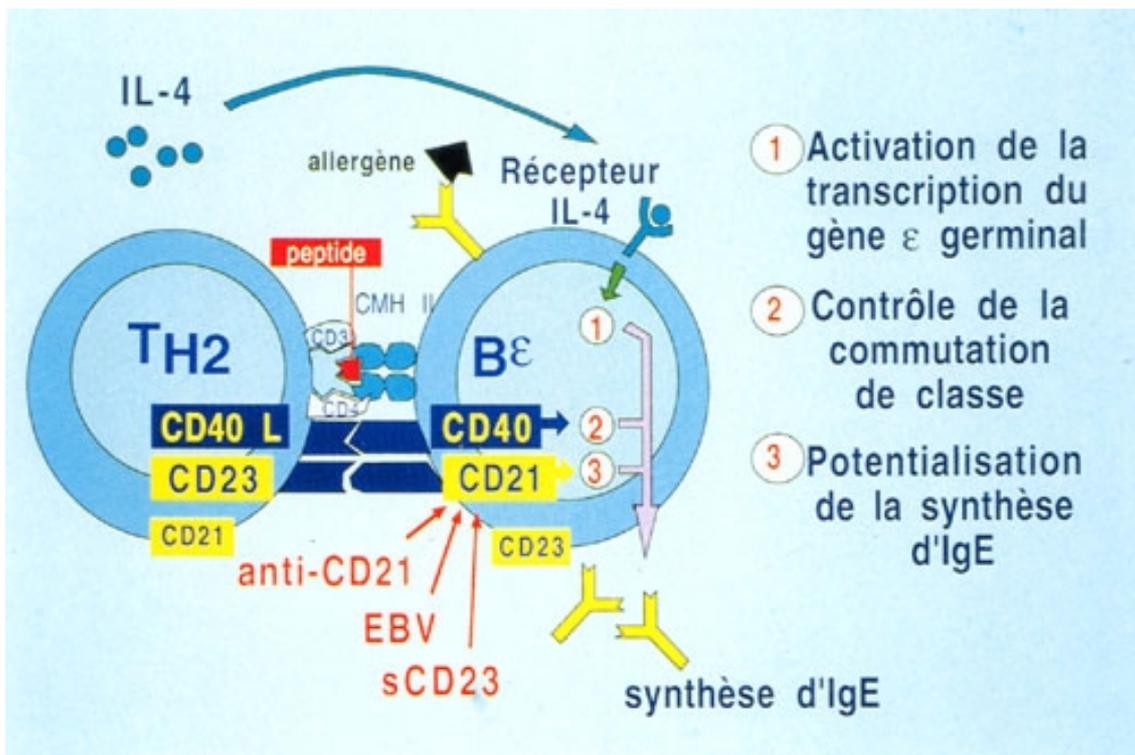


Figure II-5 Interactions lymphocytaires au cours de la réponse IgE

A.4 - Médiateurs de la réaction inflammatoire d'origine allergique

La réaction allergique responsable des symptômes cliniques n'est déclenchée que lorsque les IgE fixées sur des récepteurs cellulaires se complexent avec les allergènes spécifiques. Il existe deux familles de récepteurs pour l'IgE : des récepteurs de type I ou FcεRI de haute affinité présents à la surface des mastocytes et des basophiles (également sur les cellules de Langerhans), cellules déclenchantes de la réaction allergique ; et des récepteurs FcεRII, de plus faible affinité, exprimés par les éosinophiles, les monocytes-macrophages, les plaquettes, les lymphocytes... L'interaction de l'allergène et de l'IgE fixée sur les FcεRI et FcεRII engendre la libération de médiateurs (fig. 6)

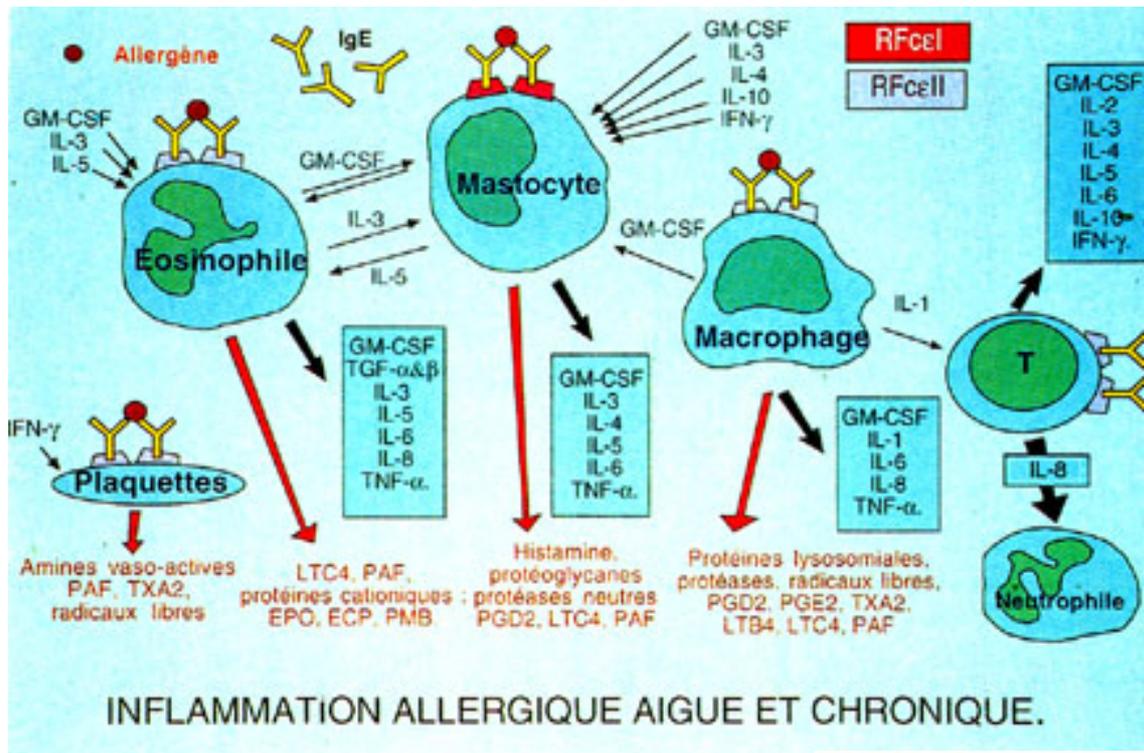


Figure II-6 Inflammation allergique aiguë et chronique

■ B. MASTOCYTES ET BASOPHILES

L'activation immunologique des mastocytes se produit par le pontage des IgE liées aux récepteurs Fc de type I (FcεRI, récepteur de haute affinité) avec un antigène multivalent tel qu'un allergène. On dénombre environ 10^5 FcεRI par mastocyte et l'agrégation de 1 % de ces récepteurs suffit à déclencher le processus de dégranulation par lequel les mastocytes libèrent les médiateurs qu'ils contiennent (fig. 7).

Le FcεRI porté par les mastocytes et les basophiles se compose de quatre sous-unités, α , β , γ_2 . La chaîne est composée à 30 % de carbohydrates. Elle est accessible à la surface de la cellule et contient le domaine de liaison avec l'IgE. La chaîne et les deux chaînes ne sont pas accessibles à la surface des cellules. La chaîne débute et se termine dans le cytoplasme traversant la membrane par quatre fois. Les chaînes dimériques traversent une fois la membrane plasmique et présentent un long domaine intracytoplasmique probablement impliqué dans la transduction de signal. Ces mêmes chaînes se retrouvent dans les Fc γ R de type III.

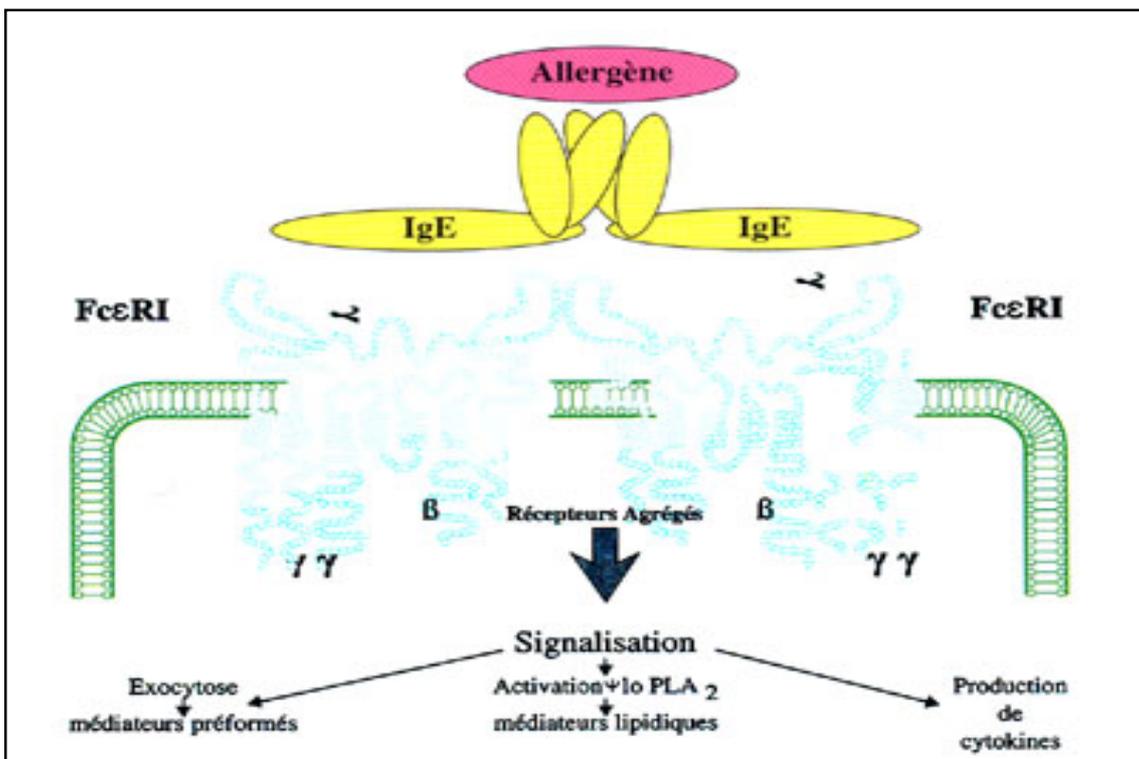


Figure II – 7 Activation de mastocyte

L'application d'agonistes non immunologiques à la surface des mastocytes peut également résulter en une sécrétion active de médiateurs mastocytaires. Des lectines, telles que la Concanavoline A bivalente, peuvent ponter des glycoprotéines de la membrane plasmique, par exemple, des IgE liées à FcεRI. Les ionophores sont des composés lipophiles qui s'insèrent dans la membrane et servent de transporteurs d'ions. Des molécules chimiques de synthèse telles que le polymère de paraméthoxyphénéthylméthylamine et de formaldéhyde ou composé 48/80, polyanionique, la morphine, la mellitine, la MBP dérivée des éosinophiles et des neuropeptides comme la substance P, agissent en induisant des perturbations membranaires, mais ne sont pas nécessairement actifs sur tous les sous-types mastocytaires : ainsi, la plupart de ces composés sont inactifs sur des mastocytes de poumon humain. Une autre classe de peptides naturels est constituée par les intercrines, regroupées sous le nom de facteurs libérant l'histamine ou HRF (Histamine Releasing Factor). La libération d'histamine est un phénomène actif dépendant de la fourniture d'énergie métabolique, comme le démontre l'utilisation d'inhibiteurs métaboliques tels que le 2-désoxyglucose (inhibiteur de la glycolyse) et l'antinomycline A (inhibiteur de la phosphorylation oxydative).

Après le pontage des IgE et l'agrégation par l'antigène, les FcεRI sont regroupés et immobilisés par interaction avec le cytosquelette. L'internalisation des récepteurs agrégés complexés aux IgE est extrêmement rapide et se réalise en 3 à 5 minutes, quelle que soit la cinétique de libération de médiateurs qui s'ensuit. L'internalisation se produit par l'intermédiaire de vésicules recouvertes. A cette étape, surviennent des changements de morphologie, de potentiel membranaire et une augmentation du pH intracellulaire.

La transmission du signal d'activation en position intracellulaire est assurée par un réseau de protéines G hétérotrimériques, un ensemble de phosphorylations/déphosphorylations protéiques assurées par des tyrosines et des sérine/thréonine kinases et des phosphatases. A leur tour, ces enzymes vont réguler d'autres activités enzymatiques : adénylate cyclase, PLA₂, PLC impliquées dans l'hydrolyse des phosphoinositides membranaires. L'ensemble aboutit à la libération du calcium Ca²⁺ à partir de réserves intracellulaires.

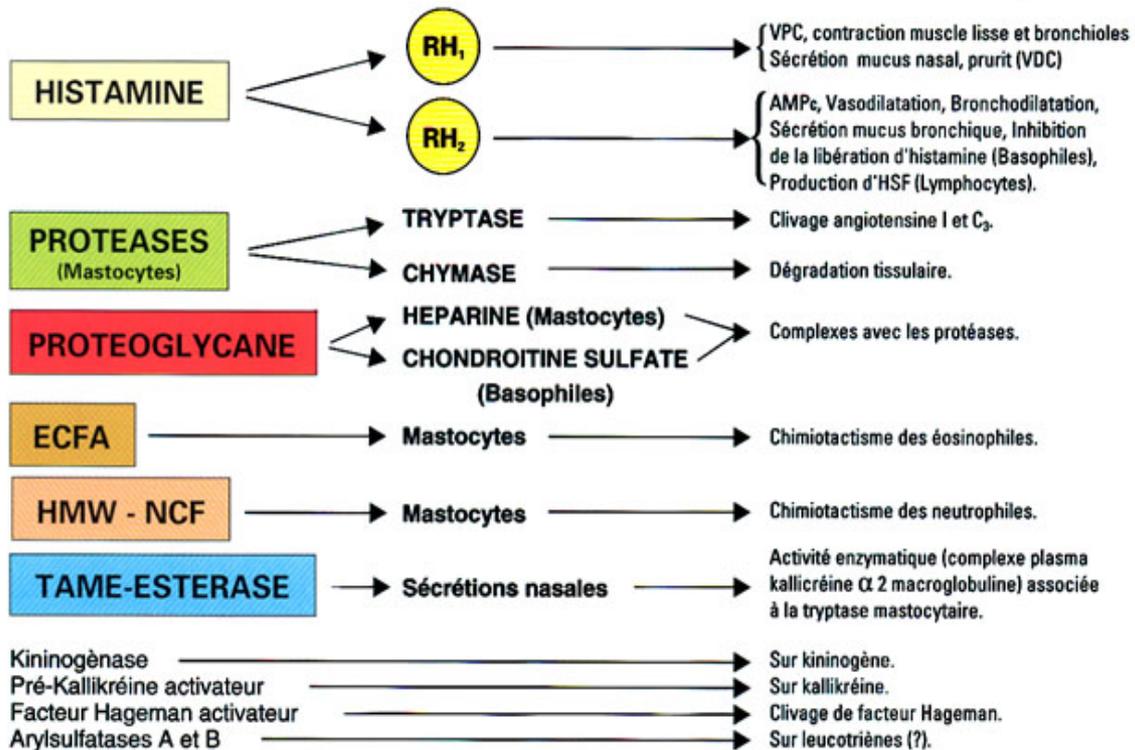
L'activation du système allergène-IgE-mastocyte aboutit à une décharge de médiateurs préformés stockés dans les granules cyto-plasmiques (dégranulation), à une sécrétion de médiateurs lipidiques néosynthétisés ou néoformés et à une libération de cytokines (tableau II).

Tableau II

MÉDIATEURS IMPLIQUÉS
DANS L'HYPERSENSIBILITÉ A IgE

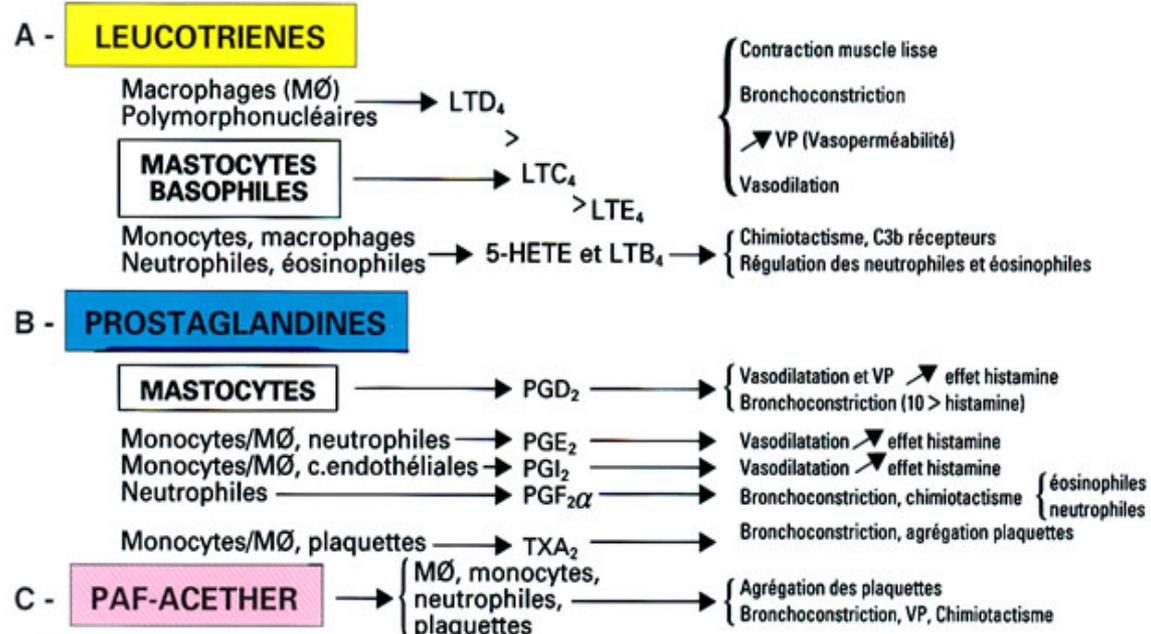
MÉDIATEURS PRÉSYNTHÉTISÉS
PAR LES MASTOCYTES ET BASOPHILES

EFFETS BIOLOGIQUES



MÉDIATEURS NÉOSYNTHÉTISÉS
PAR LES MASTOCYTES, BASOPHILES
ET AUTRES CELLULES

EFFETS BIOLOGIQUES



B.1 - Médiateurs préformés associés aux granules

Les granules métachromatiques, denses aux électrons, représentent jusqu'à 40 % environ du volume-cellule. Ils contiennent : (fig. 8)

B.1.1 - L'histamine

Elle est synthétisée au niveau de l'appareil de Golgi du mastocyte, par décarboxylation de l'acide aminé précurseur, l'histidine. Lors du processus de dégranulation, l'histamine est libérée du réseau de protéoglycanes en position extracellulaire par échange cationique. Sa durée de vie est alors de l'ordre de quelques minutes, ce qui suggère un mode d'action plutôt localisé, paracrine. Deux voies catalytiques permettent un rapide métabolisme de cet autacoïde : la méthylation et l'oxydation, qui concernent respectivement 70 et 30 % de l'histamine métabolisée. En dehors de tout contexte pathologique, l'histamine est normalement décelable aux niveaux plasmatiques (0,05 à 0,2 ng/ml) et urinaire (5 à 15 µg-/24 h). Ces niveaux sont augmentés lors de réactions anaphylactiques ou chez des patients atteints d'hyperplasie mastocytaire ou mastocytose, ce qui n'est pas le cas dans d'autres pathologies telles que le choc septique.

Ses effets pro-inflammatoires sont nombreux et font intervenir des récepteurs cellulaires spécifiques. Deux sous-classes ont été bien étudiées, sur les trois existantes : H₁ et H₂. Le récepteur de type H₁ est responsable de la plupart des réactions allergiques dues à l'histamine, telles que l'augmentation de la perméabilité vasculaire, l'initiation des réflexes axoniques et la contraction musculaire lisse. Les effets liés aux récepteurs H₂ ne semblent pas déterminants dans les réponses inflammatoires pulmonaires. Un troisième type de récepteur pour l'histamine, le récepteur H₃, a été décrit en 1987, et d'abord localisé au niveau du système nerveux central. Ce récepteur serait potentiellement impliqué dans l'activation des éosinophiles humains dépendante des mastocytes.

L'histamine régule la production des cytokines, telles que l'IL-6, l'IL-1, l'IL-2 et le facteur nécrosant des tumeurs (TNF-α). En retour, le réseau des cytokines influence la production d'histamine : l'IL-3 l'IL-5 et l'IL-8 en augmentent sa biosynthèse.

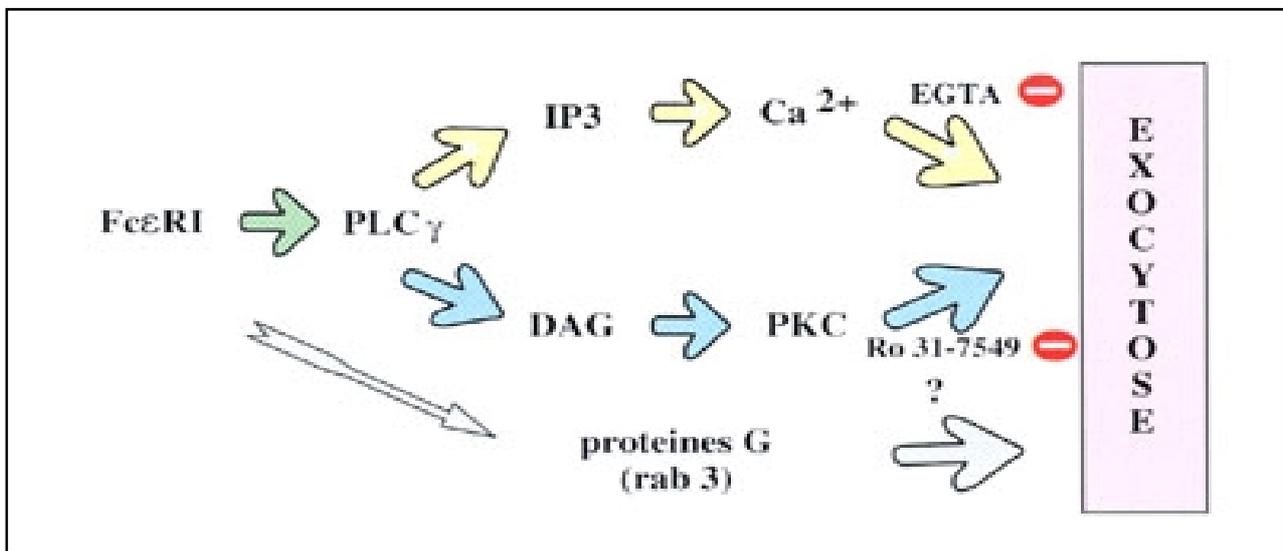


Figure II - 8 Etapes de signalisation impliquées dans l'exocytose

B.1. 2- Les protéoglycanes

Ils présentent un noyau peptidique, composé d'une succession de résidus sérine et glycine, sur lequel viennent se greffer de longues chaînes carbohydrates radiales composées de sucres aminés et sulfatés. Les protéoglycanes composent la trame des granules mastocytaires, à laquelle se lient d'autres médiateurs préformés. L'héparine est un des éléments essentiels des protéoglycanes acides auxquels est associée l'histamine par liaison ionique. L'héparine est présente dans le mastocyte humain, alors que dans le cas du basophile, il s'agit d'un chondroïtine sulfate.

B.1.3 - Enzymes

Parmi les enzymes associées aux granules, les protéases neutres catalysent le clivage des liaisons peptidiques et constituent la composante protéique prédominante des granules sécrétoires. Elles s'avèrent être un marqueur spécifique des mastocytes, voire des sous-types mastocytaires. Chez l'homme, prédominent plutôt les enzymes à activité tryptique : **tryptase et carboxypeptidase**.

Tryptase

Représentant 20 à 50 % des protéines mastocytaires, la tryptase se trouve en des quantités de l'ordre de 10 à 12 pg/mastocyte pulmonaire humain. Sa localisation cellulaire est le granule où elle est stockée en association avec l'héparine. Cette sérine endoprotéase à spécificité de substrat voisine de la trypsine n'est cependant pas inhibée par les inhibiteurs de sérines estérases naturellement présents dans les poumons, le plasma ou les urines, tels que la β_2 -microglobuline ou l'aprotinine. Sa complexation protectrice avec l'héparine peut être à l'origine de sa stabilité. Tétramère de 134 kDa, chacune de ses sous-unités présente un site actif enzymatique et des sites antigéniques en commun. La structure tétramérique est celle biologiquement active et maintenue par l'association ionique avec l'héparine. Le chondroïtine sulfate E est moins bon stabilisateur que l'héparine, probablement parce que moins chargé négativement.

La demi-vie de la tryptase est de 1,5 à 2,5 h dans la circulation. Elle est donc significativement plus élevée que celle de l'histamine. Associé au fait que sa masse moléculaire est de 134 kDa (vs 111 Da pour l'histamine), cela en fait un marqueur de l'activation mastocytaire plus sûrement détectable dans les liquides biologiques que l'histamine plus labile.

Carboxypeptidases

Les carboxypeptidases sont des métalloexopeptidases intragranulaires qui clivent les fonctions carboxyl. Chez l'homme, cette enzyme se retrouve exclusivement au niveau des mastocytes muqueux.

Chymase

La chymase est une sérine protéase apparentée à la chymotrypsine. Chez l'homme, seule une sous-population mastocytaire en contient et elle n'est représentée qu'à 10 % dans les poumons. La chymase humaine est un monomère de 30 kDa, stockée probablement en association avec la trame protéoglycane granulaire.

Les hydrolases acides

Il s'agit de la (3-hexosaminidase, la β -glucuronidase, la β -D-galactosidase et l'arylsulfatase. La β -hexosaminidase est une exoglycosidase, libérée parallèlement à l'histamine. Une partie reste associée aux lysosomes secondaires des mastocytes. Elle est impliquée dans la dégradation des glycoprotéines et des protéoglycanes, comme la R-glucuronidase, enzyme lysosomale également dans les neutrophiles et les macrophages.

Superoxide dismutase

La superoxide dismutase, enzyme oxydative cytoplasmique, permet la génération de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à partir d'anions superoxide. La peroxidase associée à l'héparine transforme les acides gras polyinsaturés tels que l'acide arachidonique, en médiateurs lipidiques.

B.1.4 - Peptides chimiotactiques

Enfin, les granules contiennent des peptides chimiotactiques parmi lesquels le tetrapeptide chimiotactique pour l'éosinophile (ECP-A), des peptides de poids moléculaire intermédiaire chimiotactiques pour l'éosinophile, un peptide chimiotactique de faible poids moléculaire et le facteur chimiotactique de haut poids moléculaire pour le neutrophile (HMW-NCF-A).

B.2- Médiateurs néo-synthétisés

Lors de l'activation des mastocytes, l'acide arachidonique est libéré des sites intracellulaires de stockage et des phospholipides membranaires, sous l'effet de processus enzymatiques impliquant les phospholipases A et C et le diacylglycérol (DAG) lipase et/ou des lipases ayant pour substrats des lipides neutres.

L'acide arachidonique peut être métabolisé selon deux voies, celle de la cyclo-oxygénase qui donne naissance aux prostaglandines (PG) et thromboxanes (Tx) et celle de la lipo-oxygénase qui aboutit à la formation des dérivés éicosatétraénoïques (ETE) et aux leucotriènes (LT) (fig. 9 et 10).

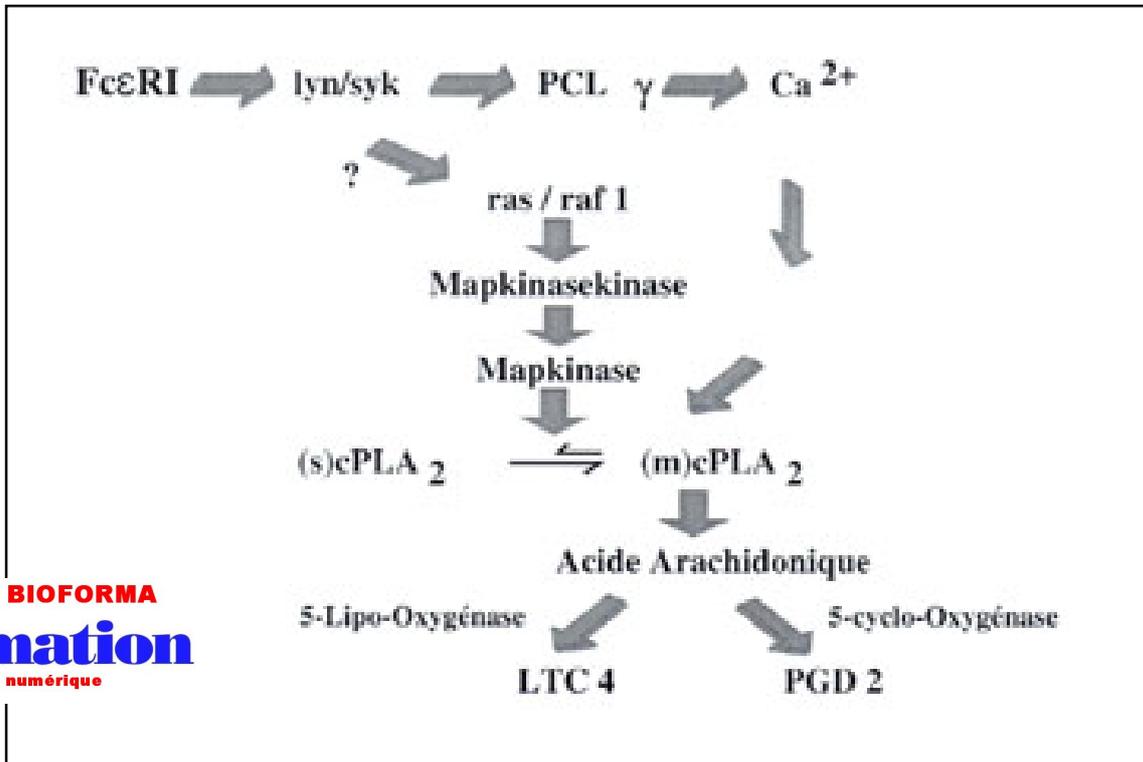


Figure II-9 Etapes de signalisation impliquées dans l'activation de la PLA₂

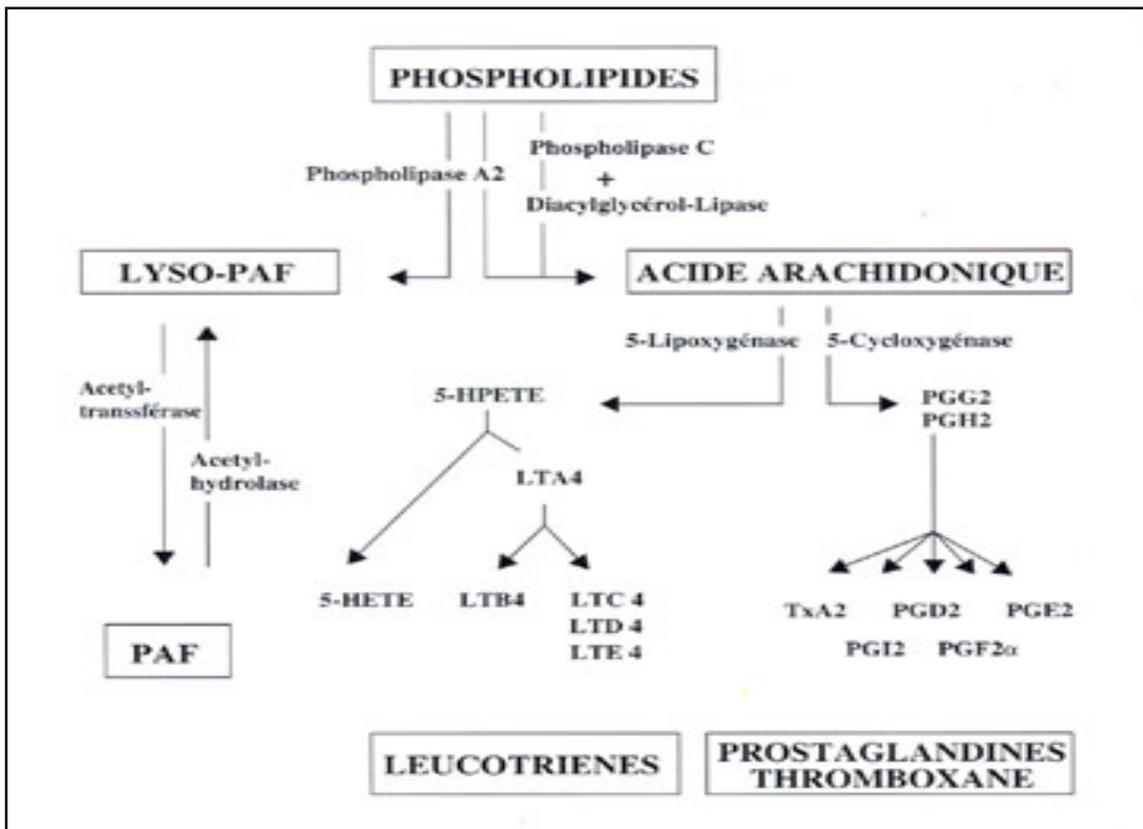


Figure II-10 Médiateurs lipidiques des phospholipides membranaires

Les dérivés de la cyclo-oxygénase

Sous l'effet de la cyclo-oxygénase l'acide arachidonique est converti en prostaglandines instables. A la PGG2 succède la PGH2 par l'action d'une PGH2 synthétase. L'isomérisation de la PGH2 donne des produits biologiquement actifs tels que la PGI2 ou prostacycline, la PGE2, la PGF2, la PGD2 et le thromboxane A2 (TxA2). La PGI2 et le TxA2 ont une demi-vie très courte. Ils subissent une dégradation non enzymatique vers des produits stables mais inactifs, la 6-céto-PGFI et le TxB2.

La prostaglandine D2 est un médiateur majeur des mastocytes humains tandis que le thromboxane A2 est produit en faibles quantités. Par contre, le basophile ne synthétise pas de prostaglandine.

Les dérivés de la lipo-oxygénase

Sous l'effet de la lipo-oxygénase, l'acide arachidonique qui est un acide éicosatétraénoïque (ETE) va être converti en 5-hydroxyperoxy-ETE (5-HPETE).

Une partie du 5-HPETE peut se transformer en 5-HETE et aboutit au leucotriène A4 (LTA4).

Le LTA ne peut subir l'action de la LTC synthétase en présence de glutathion, ce qui conduit à la production des peptidylleucotriènes C4, D4, E4. Les basophiles humains surtout et les mastocytes des parenchymes pulmonaires à un degré moindre produisent essentiellement du LTC4 alors que les mastocytes cutanés n'en produisent pas.

Le PAF acéther

Un autre médiateur lipidique, doté de puissantes activités pro-inflammatoires et spasmogéniques, est le facteur d'activation plaquettaire (PAF ou PAF-acéther).

Contrairement aux éicosanoïdes, produits du métabolisme d'acides gras dérivés des stocks de phospholipides, le PAF est lui-même un phospholipide éther.

Il est synthétisé, mais non libéré par le mastocyte humain. Sa production par le basophile humain est inexistante. A durée de vie courte, son inhalation induit une augmentation de la bronchoconstriction et de l'hyperréactivité des voies aériennes.

B.3- Médiateurs préformés et/ou néosynthétisés : les cytokines

Alors que les médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, les LT et le PAF jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire aiguë ou subaiguë et dans l'exacerbation de l'asthme, les cytokines peuvent jouer un rôle dominant dans l'inflammation chronique. La découverte que les mastocytes constituent une source potentielle de cytokines multifonctionnelles a suggéré de nouvelles voies de recherches destinées à définir dans quelle mesure ces cellules sont directement impliquées dans l'apparition, la régulation et la persistance d'un large spectre de réponses inflammatoires, au-delà de leur participation évidente aux réactions d'hypersensibilité à médiation IgE (fig. 6, fig. 11).

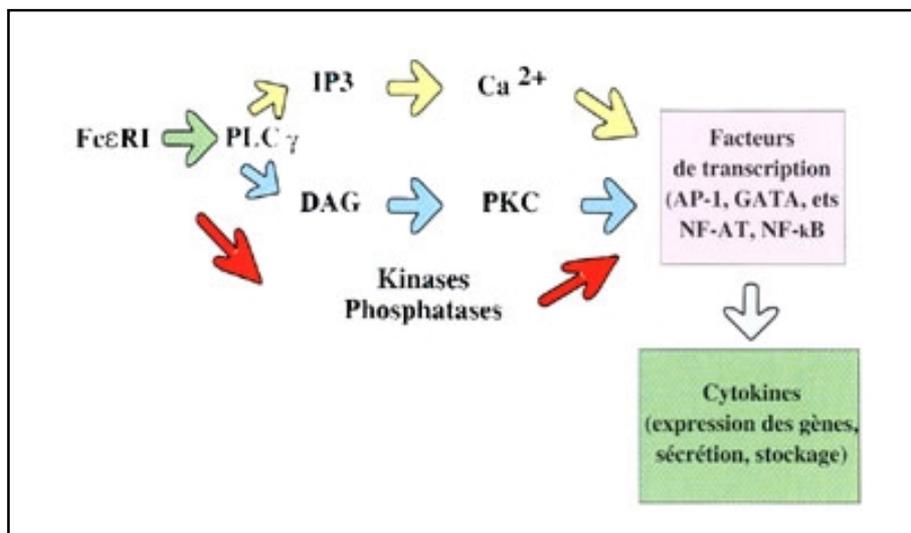
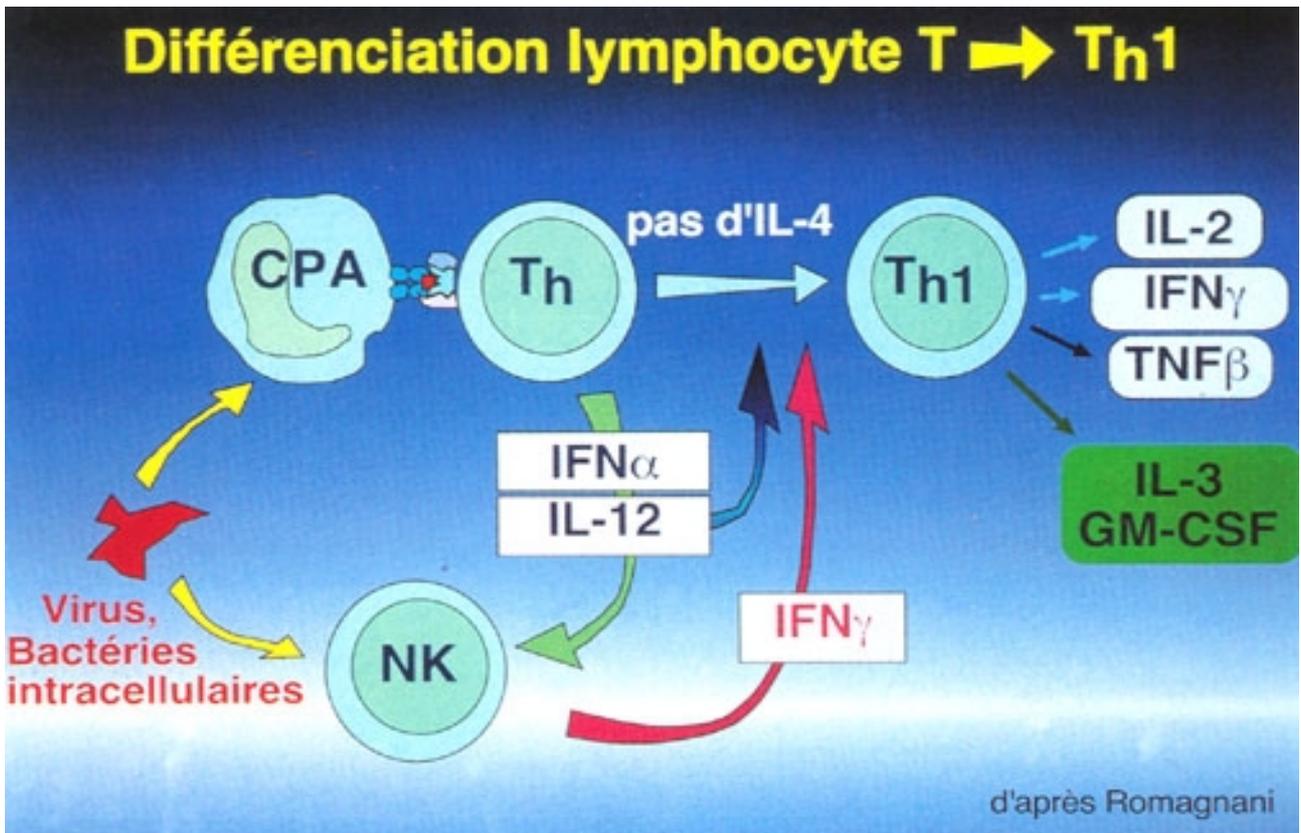


Figure II-11 Signalisation menant à la production de cytokines

La capacité des mastocytes et des basophiles à produire de l'IL-4 a été confirmée chez l'homme, en particulier lors d'une activation de ces cellules via les IgE de surface. Au cours d'une telle stimulation, d'autres cytokines peuvent être produites, entre autres l'IL-5, l'IL-6. Pour ce qui est de l'IL-8 et du TNF α , non seulement il peut être libéré par les mastocytes activés via l'IgE, mais il existe également constitutivement de façon préformée au sein de la cellule. Chez l'homme, la présence de TNF α biologiquement actif et de son mRNA a également été rapportée au sein de mastocytes cutanés. Plus récemment, il a été montré que l'IL-4 existait également de façon préformée dans les mastocytes. Alors que sa synthèse par les lymphocytes est relativement lente, cette IL-4 est disponible pour une action immédiate et en favorisant le développement des populations Th2 et constituerait alors une bande d'amplification de la réaction allergique (mastocyte = IgE = IL-4).

Dans la phase tardive de la réaction avec les allergènes, les mastocytes produisent également de l'IL-4 qui serait présynthétisée et stockée dans des granules mastocytaires. Cette production d'IL-4 entretient, localement, le développement des cellules Th2, l'activation des lymphocytes B et donc la production des IgE (fig. 12).



CAHIER DE **BIOFORMA**
Formation
 version numérique

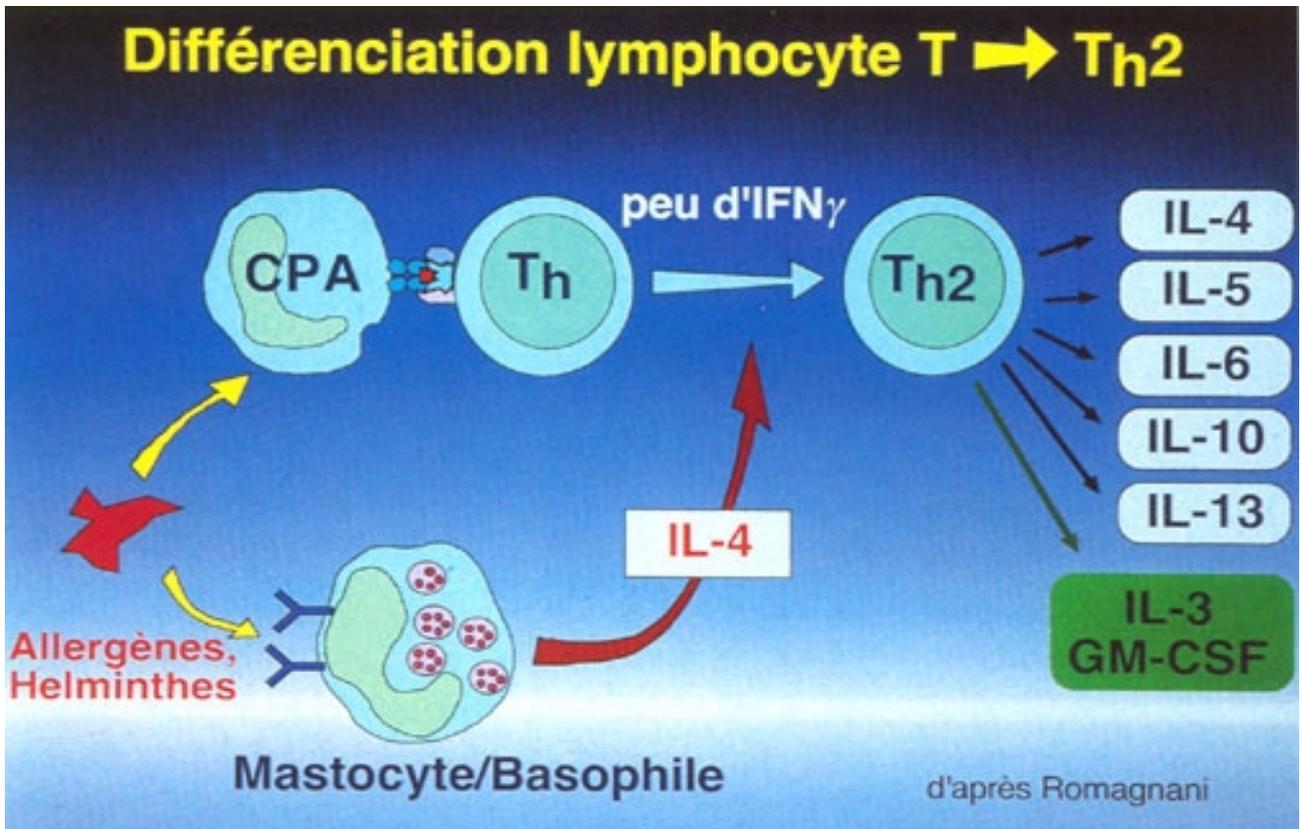


Figure II-12 Activation différentielle des lymphocytes Th1 et Th2

■ C. ÉOSINOPHILES

Ces cellules sont probablement les principales cellules effectrices secondaires de l'allergie immédiate chez l'homme (tableau III). En effet, les éosinophiles produisent de nombreux médiateurs susceptibles d'entretenir et d'aggraver les réactions allergiques du type immédiat, parmi lesquels :

- la MBP (*Protéine Majeure Basique*), qui inhibe le mouvement ciliaire et exerce des effets cytotoxiques, notamment sur l'épithélium bronchique ;
- l'ECP (*Protéine Cationique de l'éosinophile*), qui active les systèmes de la coagulation et des kinines ;
- l'EPO (*Peroxydase spécifique*), qui catalyse le peroxydate de nombreuses substances en présence d'H₂O₂ (principe d'éosinophile) ;
- l'EDN (neuroxyde analogues à la protéine X : EDX) ;
- leucotriènes (LTC) ;
- la CLC (cristaux de Christ Leyden), lysophospholipase contenue dans la membrane plasmique ;
- leucotriènes (LTC₄), PAF, Prostaglandines (PGD₁, PGD₂) et thromboxane B₂.

Cellule essentiellement tissulaire, l'éosinophile est produit par la moelle osseuse hématopoïétique sur l'influence de diverses cytokines (IL-3, IL-4, IL-5 et GM-CSF). L'IL-5 apparaît spécifique de la lignée éosinophile dont elle stimule la production et la différenciation.

En plus de libérer des médiateurs de l'inflammation suite à l'activation d'un complexe allergie IgE fixées sur des récepteurs de faible affinité FcεRII les éosinophiles sont également source de cytokines (TGF, l'IL-1 IL-3, IL-5, GM-CSF, IL-6, TNF, IL-10 ...).

Tableau III. Protéines des éosinophiles

Protéine Basique Majeure (MBP)	cristalloïde	- cytotoxique (épithélium, parasites) - histaminolibératrice
Peroxydase spécifique (EPO)	matrice	- cytotoxique en présence d'H ₂ O ₂ et d'halogène - histaminolibératrice - inactive les leucotriènes (LTB ₄ , LTC ₄)
Protéine Cationique (ECP)	matrice : Activité ribonucléase	- cytotoxique (parasites, système nerveux) - histaminolibératrice
Neurotoxines analogues à la protéine X (EDN/EDX)	matrice : activité ribonucléase	- cytotoxique (parasites, système nerveux)
Membranaires : CLC	cristaux de Charcot-Leyden	- lysophospholipase
Autres enzymes : Collagénase, Catalase, Arylsulfatase, Histaminase, Phospholipase D		

■ D. AUTRES CELLULES

Comme il est indiqué sur la figure 5, d'autres cellules sont impliquées dans la réaction allergique, plaquettes, macrophages, monocytes, lymphocytes, portent des récepteurs FcεRII, ainsi que les polynucléaires neutrophiles (producteurs de médiateurs lipidiques).

En conclusion, on distingue 2 phases : l'une rapide, spasmogène due principalement aux effets de l'histamine dont le mode d'action se situe au niveau des récepteurs H 1 des vaisseaux et des bronches ; et l'autre, plus tardive

qui dépend des médiateurs lipidiques des facteurs chimiotactiques et des cytokines. Cette réaction tardive s'intensifie par suite de l'afflux des éosinophiles, macrophages et lymphocytes activés par ces médiateurs. Ces cellules expriment à leur surface des FcεRII pour les IgE complexées aux allergènes. Ces différentes populations cellulaires stimulées libèrent à leur tour de nombreuses substances qui prolongent la réaction inflammatoire. Les effets de quelques médiateurs sur les organes cibles peuvent être résumés ainsi : vasodilatation et vasoperméation (histamine et PAF), sécrétion de mucus (histamine), bronchoconstriction (PGD₂, LTC₄), prurit (histamine), chimiotactisme (LTB₄, PAF), cytotoxicité (radicaux libres et molécules libérés par les éosinophiles : protéine basique majeure (MBP), peroxydase (EPO), protéine cationique (ECP)). Dans le concert des médiateurs de l'inflammation, les cytokines libérées par les différentes populations cellulaires activées vont soit agir directement, soit être à l'origine d'une production d'autres médiateurs (fig. 6).

■ E. ALLERGÈNES

E.1- Généralités

Autrefois, les «allergènes» étaient répertoriés selon les voies par lesquelles ils sensibilisent l'organisme : mais cette classification essentiellement clinique doit être révisée en fonction des connaissances nouvelles sur les mécanismes de l'allergie et des maladies allergiques. Actuellement, on distingue : les allergènes inhalés ou **pneumallergènes** qui sensibilisent par voie respiratoire et sont responsables de l'asthme et des rhinites allergiques et les allergènes ingérés (aliments ou **trophallergènes**) qui engendrent des réactions générales ou cutanées (urticaire). Les substances injectées (venins d'hyménoptères, médicaments) à l'origine du choc anaphylactique doivent être classées à part (tableau IV).

Comme tous les antigènes protéiques complexes, les allergènes possèdent des déterminants antigéniques ou épitopes qui se lient spécifiquement aux sites anticorps des IgE, mais aussi des IgG, des IgM, des IgA. Récemment les techniques de biologie moléculaire consistant à cloner des gènes et à exprimer la protéine sous sa forme recombinante ont été appliquées à la caractérisation des allergènes. Depuis 1988, date à laquelle a été publiée la première séquence nucléotidique d'un allergène (Der p 1), un grand nombre de protéines allergéniques provenant de sources diverses ont été clonées et produites sous forme recombinante : acariens (Der p 1, Der p 2, Der p 3, etc., pour *D. pteronyssinus* ; Der f 1, Der f 2, Der f 3, etc., pour *D. farinae*), pollens de graminées (Lol p 1, Lol p 2, Lol p 3, etc., pour l'ivraie ; Phl p 1, Phl p 2, Phl p 3, etc., pour la phléole ; Dac g 2, Dac g 3, pour le Dactyle), pollens d'arbres (Bet v 1, etc., pour le bouleau ; A1 v 1 pour l'aulne ; Car b 1, pour le charme), pollen d'Ambrosia (Amb 1, 2, 3, 4, 5, etc.), moisissures (Asp f 1 pour *Aspergillus* ; Alt 1 pour *alternaria*), chat (Fel d 1), venins (Api m 1, phospholipase A2 pour l'Abeille, Dol m V pour la guêpe *Dolichovespula maculata*) (tableau V).

On compte actuellement plus de 60 molécules clonées dont on connaît les séquences nucléotidiques. On les utilise comme marqueurs moléculaires spécifiques des réactions allergiques en recherche expérimentale et clinique. Contrairement aux infections bactériennes ou virales, et aux produits toxiques, les molécules allergéniques sont des substances naturelles, inoffensives, présentes dans notre environnement, et se comportent comme des antigènes banals chez les individus non allergiques. La signification du terme allergène a d'ailleurs évolué parallèlement à la notion d'allergie. **L'allergène doit donc être défini comme un antigène capable dans certaines conditions et chez certains individus d'induire la synthèse d'IgE chez l'homme et de se lier spécifiquement à ces IgE.**

Peu de choses sont connues sur les fonctions biologiques des allergènes. La connaissance des séquences nucléotidiques, puis de la structure primaire des allergènes ont permis d'avoir accès à leur fonction potentielle. Mais les exemples de la fonction biologique trouvée pour des allergènes, notamment par des homologies de séquences, restent rares.

Les allergènes le plus souvent en cause sont les pneumallergènes : les acariens et les poils d'animaux (surtout le chat) et à un degré moindre les blattes et les poils de chien pour ce qui est de la poussière domestique, les pollens (en particulier de graminées) mais aussi les pollens d'arbres et moins fréquemment les animaux de laboratoire (cobaye, rat, souris, hamster, lapin) et les squames de cheval.

D'autres catégories d'allergènes (trophallergènes) peuvent également être responsables d'asthme allergique. Il faut aussi noter la fréquence des sensibilisations croisées entre certains pollens et aliments (pollen de bouleau et pomme, pollen d'armoise et céleri). Certains asthmes allergiques sont liés à la profession du malade, mais la reconnaissance du caractère professionnel de l'asthme et le rattachement de cet asthme à un allergène ou à un produit chimique d'origine industrielle n'est pas toujours facile. Les allergènes de l'environnement professionnel sont extrêmement divers et de plus en plus nombreux : les substances responsables d'asthme professionnel peuvent être classées en substances organiques d'origine animale (animaux de laboratoire), végétale (farines, graines) et en produits chimiques provenant de l'industrie pharmaceutique (pénicilline, macrolides, méthyl dopa, etc.) et de l'industrie des matières plastiques (isocyanates, phtalates, aldéhyde formique, etc.).

La présence des allergènes dans l'environnement est une condition nécessaire à l'acquisition d'une sensibilisation. Il a été remarqué que, parmi une population de sujets présentant une pollinose aux graminées, il y avait une prédominance des naissances au cours des cinq premiers mois de l'année avec des pics variables selon l'origine géographique. Dans l'environnement domestique, il existe une association étroite entre la présence des acariens et du chat et la sévérité des symptômes observés dans la rhinite perannuelle, l'asthme et la dermatite atopique.

Tableau IV.

ALLERGÈNES (I)

Substances responsables des manifestations allergiques de type immédiat ou anaphylactiques (production d'IgE spécifiques)

1. SYNDROMES RESPIRATOIRES (Rhinite, asthme bronchique)

PNEUMALLERGÈNES

POLLENS.

ACARIENS - Blattes.

PROTÉINES ANIMALES

Animaux domestiques (CHAT) Chien.

CHEVAL

Animaux de laboratoire : cobaye, rat, souris, lapin,

Moisissures

Produits professionnels : farines, poussières de céréales,

CAHIER DE **BIOFORMA**
Formation
version numérique

ALLERGÈNES (II)

1. SYNDROMES CUTANÉS (Urticaire, dermatite ou eczéma atopique)

ALIMENTS

TROPHALLERGÈNES

Pneumallergènes

2. SYNDROMES SYSTÉMIQUES

a)- Choc anaphylactique

- VENINS D'HYMÉNOPTÈRES (guêpes, abeilles, frelons)

- Aliments

- Médicaments (voie orale ou injections)

b)- Œdème de Quincke (pas toujours

- Aliments, médicaments, divers (bactéries, virus,

ALLERGÈNES (III)

4. SYNDROMES DIGESTIFS

Trophallergènes

Médicaments

5. SYNDROMES OCULAIRES

Pollens : conjonctivite saisonnière (pollinose)

Acarie, phanères d'animaux : conjonctivite

6. SYNDROMES ORAL ALLERGIQUE (LESSOF)

Aliments

Pollens

Réaction croisée pollen / aliment

ALLERGÈNES (IV)

Substances à l'origine des manifestations allergiques de type retardée (hypersensibilité cellulaire)

1. ECZÉMAS OU DERMITE DE CONTACT

Produits d'origine

- VÉGÉTALE (lchens)
- CHIMIQUE (lessives, teintures, cosmétiques)
- PROFESSIONNELLE (huiles minérales, résines)
- MÉDICAMENTEUSE (applications locales)

2. SYNDROMES DIVERS (respiratoires, digestifs)

Allergènes ubiquitaires

Tableau V-I. Principaux allergènes

POLLENS			
Graminées	Nomenclature	MM	pl
Ivraie (<i>Lolium perenne</i>)	Lol p I	27000	5,9
	Lol p II	11000	5,1
	Lol p III	11000	9,0
	Lol p IV	56800	9,9
Phléole (<i>Phleum pratense</i>)	Phl p V	15000	4,5
	Phl p VI	15000	4,5
	Phl p VII	34000	9,4
	Phl p VIII	8000	3,9
Dactyle (<i>Dactylis glomerata</i>)	Dac g I	33000	5,9
Paturin (<i>Poa pratensis</i>) Cytochrome c	Poa p X	12000	9,9

Tableau V-II.

Parasites	Nomenclature	MM	pl
Vers intestinal (<i>Ascaris suum</i>)	Asc s I	18200	4,9
Moisissures			
<i>Alternaria alternata</i>	Alt a I	25000-60000	4,0-4,2
<i>Cladosporium herbarum</i>	Cla h I	13000	3,4-4,4
	Cla h II	25000	5,0
Aliments			
Morue (<i>Gadus callarias</i>) Parvalbumine	Gad c I	12300	4,75
Blanc d'Oeuf (<i>Gallus domesticus</i>) Ovomucoïde Ovalbumine Conalbumine	Gal d I	28000	3,9
	Gal d II	44000	4,6
	Gal d III	78000	6,1

Tableau V-III.

POLLENS (suite)			
Arbres 1. Bétulacées	Nomenclature	MM	pl
Aulme (<i>Alnus incana</i>)	Aln i I	22500	4,8
Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v I	17000	5,25
Noisetier (<i>Corylus avelana</i>)	Cor a I	13500	5,4
Cèdre du japon (<i>Cryptomeria japonica</i>)	Cry j I	40000	9,2
Arbres 2. Platanacées			
Platane (<i>Platanus acerifolia</i>)	Plat a	22000	3,8-4,2

Tableau V-IV.

ACARIENS			
Dermatophagoïdes (house dust mite)	Nomenclature	MM	pl
Dermatophagoïdes pteronyssinus	Der p I	25400	4,0-7,0
	Der p II	14100	5,0-8,,0
Dermatophagoïdes farinae	Der f I	24000	4,9-6,9
	Der f II	14500	5,0-8,0
	Der f III	29000	4,1-4,7
Dermatophagoïdes microceras	Der m I	24000	4,9-6,5
Chironomus			
Chironomus thumi thummi hémoglobine	Chi t I	39000	6,7

Tableau V-V.

ANIMAUX	Nomenclature	MM	pl
Chat (<i>Felis domesticus</i>)	Fel d I	18000	3,85
Cheval (<i>Equus caballus</i>)	Equ c I	19000	4,1
	Equ c II	51000	3,8
	Equ c III	31000	3,9
Vache (<i>Bos domesticus</i>)	Bos d I	24000	3,6
	Bos d II	20000	4,2
	Bos d III	22000	4,6
Souris (<i>Mus musculus</i>) -urine-	Mus m I	18700	
Rat (<i>Rattus norvegicus</i>) -urine- préalbumine -globuline	Rat n IA	18700	4,5-4,6
	Rat n IB	18700	5,4-5,8

Tableau V-VI.

POLLENS (suite)	Nomenclature	MM	pl
Arbres 1. Bétulacées			
Aulme (<i>Alnus incana</i>)	Aln i I	22500	4,8
Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v I	17000	5,25
Noisetier (<i>Corylus avelana</i>)	Cor a I	13500	5,4
Cèdre du japon (<i>Cryptomeria japonica</i>)	Cry j I	40000	9,2
Arbres 2. Platanacées			
Platane (<i>Platanus acerifolia</i>)	Plat a	22000	3,8-4,2

Tableau V-VII.

Venins d'hyménoptères	Nomenclature	MM	pl
Abeille (<i>Apis mellifera</i>) phospholipase A2 hyaluronidase mellitine phosphatase acide	Api m I	15800	10,5
	Api m II	50000	9,0
	Api m III	2840	10,0
	Api m IV	49000	5,0
	Api m IV	102000	6,0
Guêpe (<i>Vespula germanica</i>) phospholipase A1 / B hyaluronidase	Ves g I m	37000	basique
	Ves g II m	43000	basique
	Ves g V m	23000	basique
Guêpe (<i>Dolichovespula maculata</i>)	Dol m V	23000	basique
Guêpe (<i>Polistes annularis</i>) phospholipase A1 / B hyaluronidase	Pol a I n	37000	basique
	Pol a II n	44000	basique
	Pol a V n	22000	basique

E.2- Réactions croisées et allergènes : bases structurales et applications

E.2.1- Définition et intérêt des réactions croisées

Les réactions croisées en allergie sont la conséquence de la présence dans des agents allergisants différents d'un ou de plusieurs **allergènes croissants**. Ce sont des allergènes (le plus souvent de nature polypeptidique) identiques ou qui présentent des analogies de structure (épitopes communs). On peut alors trouver dans le sérum des sujets sensibilisés à de tels agents, des anticorps IgE qui réagissent avec plusieurs agents allergisants : ce sérum présente une réactivité croisée. On peut, au moins théoriquement, distinguer l'**agent allergénique déclencheur ou direct** qui a provoqué initialement la synthèse d'anticorps IgE spécifiques et le ou les **agents allergisants révélateurs ou indirects** qui sont reconnus par ces IgE sans avoir directement induit leur synthèse.

La compréhension des bases structurales des réactions croisées qui impliquent la caractérisation et l'identification des allergènes croissants, a beaucoup progressé ces dernières années. En effet, de plus en plus d'allergènes ont été caractérisés et pour certains même, identifiés. Ces progrès rapides proviennent de l'application des techniques de génie génétique au domaine de l'allergologie avec la production d'un nombre croissant d'allergènes sous forme de protéines recombinantes.

Les réactions croisées mises en évidence au niveau sérologique n'ont pas toujours de traduction au niveau des tests cellulaires, des tests cutanés et a fortiori au niveau des manifestations cliniques. Elles doivent être cependant connues du clinicien et du biologiste pour la prescription et l'interprétation des résultats des recherches d'IgE spécifiques et pour établir la corrélation avec les tests cutanés.

E.2.2- Classification générale des réactions croisées

a) Agents allergisants croissants « proches »

Dans ce cas, les agents en cause sont proches au point de vue taxonomique ou correspondent au même agent qui se présente de façon différente.

- *Position taxonomique « proche »*

Exemples : - acariens d'espèces différentes : *D. pteronyssinus* et *D. farinae*.

- **genres différents dans la famille des graminées** (pollens de *Dactylis* et de *Phleum*) ou dans la famille des herbacées (pollens d'*Artemisia* et d'*Ambrosia*).

- **trophallergènes appartenant à des espèces différentes** : fruits de la famille des rosacées (pomme, cerise, etc.).

- *Présentation différente*

Le même agent allergisant est présent sous des formes différentes :

Exemples : - levures présentes dans la bière, le pain.

- pollen de noisetier ou de noisette.

- *Penicillium notatum* retrouvé dans les fromages de roquefort, la farine de seigle contaminée, les fruits contaminés.

- arachide et huile d'arachide.

- crevette (ingestion) et eau de cuisson des crevettes (inhalation).

b) *Agents allergisants croissants « éloignés »*

Les agents sont éloignés au point de vue taxonomique.

Exemple : - pollens de graminées et d'arbres

Ils peuvent être éloignés à la fois taxonomiquement et aussi par leur présentation.

Exemple : - réactivité croisée entre le pollen de bouleau (aéroallergène pollinique de la famille des bétulacées) et le céleri rave (trophallergène de la famille des ombellifères).

E.2.3- Réactions croisées concernant les agents allergisants « proches »

a) *Pollens de graminées*

La plupart des allergènes des graminées sont retrouvés dans un grand nombre d'espèces de cette famille. Ceci est particulièrement évident pour les espèces les plus proches comme celles du groupe des festuciformes qui comprend les 2 tribus des festuceae (phléole, dactyle paturin, ivraie, avoine, etc.) et des hordeae (blé, seigle, brome). Il y a également des parentés entre ce groupe et celui des phragmites et avec la sous-famille des panicoideae (cynodon, sorgho). Plusieurs allergènes croissants ont été identifiés : allergènes majeurs du groupe I, du groupe V, etc. En pratique, il est donc le plus souvent inutile de rechercher les IgE vis-à-vis de différents membres de la tribu des festuceae, par exemple. Une recherche vis-à-vis du dactyle ou de la fléole suffit à démontrer la sensibilisation à l'ensemble des graminées de cette tribu.

b) *Pollens d'herbacées*

Des réactivités croisées ont été décrites dans la famille des composés entre les genres *Ambrosia*, *Helianthus* (tournesol), de la tribu des *Hélianthetheae* et *Artemisia* (armoise) de la tribu des *anthemideae*. Bien que les allergies aux pollens d'ambrosie et d'armoise soient souvent associées, les allergènes majeurs d'*Ambrosia artemisiifoliae* (Amb al et Amb a2) sont différents des allergènes majeurs du pollen d'*Artemisia vulgaris* (Art v 1 et Art v2).

c) *Pollens d'arbres*

- **Ordres des fagales** : Les familles des Bétulacées (bouleau, charme, aulne), des Corylacées (noisetier) et des Fagacées (hêtre, châtaignier) possèdent un allergène majeur croissant qui correspond à une famille de protéine de résistance aux maladies (Bet vl, Aln gl, Car bl, Cor al).

- **Famille des Oléacées** : Il existe des allergènes communs (dont Ole e 1) entre l'olivier (*Olea europea*), le frêne (*Fraxinus excelsior*), le troène (*Ligustrum vulgare*), le lilas (*Syringa vulgaris*) et le forsythia (*Forsythia suspensa*).

- **Conifères** : Des allergènes communs probables quoique non encore identifiés, existent parmi les membres de la famille des Cupressaceae, les cyprès (*Cupressus sempervirens*, *Callitris glaucophylla*), les espèces *Thuja* et *Juniperus*, la famille proche des Podocarpaceae (*Podocarpus gracilior*), la famille des taxodiaceae avec le cèdre du japon (*Cryptomeria japonica*).

d) Acariens

Les taux des IgE spécifiques dirigés contre les deux espèces d'acariens les plus souvent en cause dans l'allergie à la poussière de maison *D. pteronyssinus* et *D. farinae*, sont fortement corrélées avec le plus souvent IgE anti-d1 > IgE anti-d2. En effet, à côté d'allergènes mineurs spécifiques, ces deux espèces partagent deux allergènes majeurs, Der p1/Der f1, qui sont des protéases à cystéine et Der p2/Der f2.

Les acariens de stockage présentent également une réactivité croisée avec *Dermatophagoides. Acarus siro* et *Tyrophagus putrescentiae* possèdent des structures apparentées à Der p1.

e) Moisissures

Il existe une importante réactivité croisée entre de multiples espèces de moisissures. Plusieurs allergènes croisants sont connus ou suspectés comme l'énolase, l'alcool deshydrogénase et la protéine ribosomique P2 (allergène Cla h3 de *Cladosporium herbarum*).

Des polysaccharides, en particulier des mannanes seraient également des structures allergéniques croisantes entre les différents genres de moisissures.

Des substances de la famille des « C-substances », molécules qui précipitent avec la C-reactive protein (CRP), seraient aussi des allergènes croisants des moisissures.

f) Insectes

L'hémoglobine est un allergène croisant (Chi t 1) dans la famille des chironomidae (insectes diptères moucheron).

Il existe une allergie croisée vis-à-vis des différents hyménoptères de la famille des vespidés comme le frelon et les guêpes (*Polistes* et *Vespula*) : les allergènes croisants sont la hyaluronidase, la phospholipase A 1 et l'antigène 5 (Dol m5, Pol a5 et Pol e5, Ves m5 et Ves v5). L'antigène 5 présente des relations structurales avec une famille de protéines de résistance aux maladies qui est également présente chez la tomate et le tabac (protéine PR-1b), ainsi qu'avec des protéines testiculaires de mammifères. La phospholipase A2 qui est l'allergène majeur du venin d'abeille (*Api m1*) ne semble pas apparentée aux allergènes des vespidés.

Il existe un allergène croisant (Bla g1/per a1), entre 2 blattes appartenant à deux espèces différentes : *Blattella germanica* (Blattellidae) et *Periplana americana* (Blattidae). Bla g2 qui appartient à la famille des protéases à acide aspartique est un allergène spécifique de *B. germanica*. Il faut signaler que Bla g4 est une protéine de la famille des calycines (voir g).

g) Animaux

L'association d'allergies aux squames de chat, de chien et d'autres animaux est relativement fréquente. Bien que les 2 allergènes majeurs du chien aient des poids moléculaires voisins de celui de l'allergène majeur du chat (Fel d1, qui est une protéine fixant les androgènes), il ne présente pas de réactivité croisée avec celui-ci. Il semble cependant que plusieurs de ces allergènes (*Equ c1* du cheval, Fel d1 du chat, un allergène de la souris et du rat, la bêta-lactoglobuline des bovidés) soient des protéines capables de lier des substances hydrophobes comme des acides gras et le rétinol (groupe des alpha-2-microglobuline). Ces substances feraient partie de la superfamille des calycines. La réaction croisée entre ces animaux pourrait également reposer sur une sensibilisation à l'albumine qui est un allergène pour un tiers des sujets sensibilisés au chien. Il existe une réactivité croisée des IgE des sujets sensibilisés avec les albumines de chat, de souris, de poulet et de rat, etc.

h) Aliments

- **Viandes bœuf, porc, etc.** : l'Albumine est un allergène croisant.
- **Poissons** : Un des allergènes qui est trouvé dans de nombreuses espèces de poisson est une protéine sarcoplasmique, la parvalbumine qui est un allergène majeur de la morue (*Gad c1*). C'est une protéine liant le calcium du groupe des calmodulines. Il existe une réactivité croisée pour le poisson et le surimi.
- **Crustacés** : Il existe une réaction croisée entre différents crustacés comme la crevette et le crabe, dans laquelle est impliquée la tropomyosine qui est un allergène majeur de la crevette.
- **Lait, fromages** : La sensibilisation au lait de vache met en jeu chez l'adulte des IgE anti-caséine. Il existe une réaction croisée des différentes caséines des laits de vache, de brebis, de chèvre et de jument. Les différents laits et les fromages correspondants présentent donc une réaction croisée.

Un autre allergène du lait, l'alpha-lactalbumine a une grande parenté avec le lysozyme qui est un allergène du blanc d'œuf, ce qui peut expliquer des réactivités croisées vis-à-vis du lait et du blanc d'œuf. Enfin, la sérumbalbumine bovine, qui est allergène du lait de vache peut expliquer des réactions croisées entre le lait et le poulet.

- **Farines de céréales** : Il existe une réaction croisée entre les farines provenant des graminées céréaliers de la sous-famille des triticeae (blé, seigle et orge) et à moindre degré avec l'avoine de la sous-famille des avenae, le riz et le maïs, et également avec la farine de soja. Un des allergènes croissants des triticeae est l'inhibiteur de l'alpha-amylase (Tri v (Bd)).

- **Légumes et fruits** : Il existe des réactions croisées à l'intérieur de plusieurs familles de légumes et de fruits.

- famille des légumineuses : arachide, soja, pois, haricots, lentilles, fèves : l'allergie à l'arachide, dont la fréquence est en augmentation peut être associée à des allergies à d'autres légumineuses comme les pois, le lupin, la réglisse, les lentilles, les fèves et le soja.

- famille des solanées : tomate, pomme de terre, piment de cayenne, aubergine, paprika.

- famille des ombellifères : céleri, fenouil, carotte, persil, carvi, coriandre, aneth, cerfeuil, anis, cumin.

- famille des crucifères : moutarde, raifort, choux, navet, radis, colza.

- famille des liliacées : ail, oignon, ciboulette, asperge : existence d'asthmes professionnels à la poussière d'ail croisés avec des allergies alimentaires à l'oignon.

- famille des rosacées : pomme, cerise, poire, pêche, prune, abricot, amande.

- famille des rutacées : orange, citron, mandarine, pamplemousse.

VI.2.4- Réactions croisées concernant des agents allergisants « éloignés »

Ces agents peuvent correspondre à des aéroallergènes, polliniques ou non, ou à des trophallergènes.

a) *Réactions croisées entre les pollens des familles de graminées, d'herbacées et d'arbres*

- **Arbres/graminées/herbacées** : A côté des allergènes spécifiques de chaque famille de pollens, il existe des allergènes croissants. Un de deux-ci est représenté par la famille des profilines.

- **Arbres/graminées** : Une réactivité croisée a été trouvée pour les pollens de graminées (ivraie *L. perenne*, chiendent, *C. dactylon*) et la famille des oléacées.

- **Arbres/herbacées** : Il existe une réaction croisée entre l'allergène majeur de *Cryptomeria japonica* (Cry j1), les allergènes majeurs d'*Ambrosia elatior* (Amb al et Amb a2) et deux protéines de la tomate LAT 56 et LAT 59. Ces protéines ont une activité pectaselyase (polygalacturonase).

- **Graminées/herbacées** : Les allergènes des groupes IV et V des graminées présentent une réaction croisée avec le pollen de plantain (*Poa pratensis*).

b) *Réactions croisées entre des aéroallergènes polliniques et des aliments*

L'importance de la réactivité croisée, dans ce cas, est attestée par une étude récente. Sur 274 sérums de patients allergiques à au moins un pollen d'herbacées, de graminées ou d'arbres, 47 % ont des IgE spécifiques pour au moins un des 6 aliments testés : pomme, pomme de terre, carotte, céleri, pêche, melon.

- **Pollens d'arbres de l'ordre des fagales / pollens d'herbacées / fruits rosacées et bétulacées / légumes ombellifères et solanées**

On connaît actuellement trois familles d'allergènes croissants pour expliquer les réactivités croisées à ces différents agents qui ont souvent une traduction clinique.

- La famille des allergènes apparentés à l'allergène majeur du bouleau B et v1, qui sont des protéines de résistance aux maladies : bouleau (Bet v1), charme (Car b2), aulne (Aln g1), noisetier (Cor al), céleri (Api g1), pomme (Mal d1), noisette.

- La famille des allergènes mineurs apparentés à l'allergène mineur du bouleau : la profiline (Bet v2), sont des protéines de cytosquelette, capables de se lier à l'actine. Ces allergènes sont présents dans la plupart des agents allergisants d'origine végétale (pollens d'arbres, de graminées, d'herbacées, légumes, fruits). Cette large répartition a valu à la famille des profilines la dénomination de panallergène.

- La famille d'allergènes apparentés à un allergène du pollen d'armoise (Art v1), présents dans les pollens d'armoise, de bouleau et dans le céleri.

Dans l'allergie croisée pomme/bouleau, les allergènes croisants principaux sont Bet v1 et son homologue Mal d1 dans la pomme. L'allergie croisée à la pomme touche environ 70 % des sujets allergiques au bouleau. Cette fréquence reflète le fait que 95 % des sujets allergiques au bouleau ont des IgE anti-Bet v1. Le fait que tous les sujets sensibilisés à Bet v1 ne sont pas allergiques à la pomme peut recevoir plusieurs explications :

- Les anticorps IgE ont une affinité beaucoup plus élevée pour Bet v1 que pour Mal d1. Ceci peut expliquer que lorsque le taux des IgE n'est pas très élevé, la sensibilisation croisée biologique n'a pas de traduction clinique.

- Il est également admis que si le pollen de bouleau contient l'ensemble des allergènes de la pomme, l'inverse n'est pas vrai. Une étude fine des épitopes B de Bet v1 à l'aide d'anticorps monoclonaux a montré que certains épitopes de Bet v1 ne sont pas présents au niveau de Mal d1. Les patients ayant des IgE uniquement contre les épitopes spécifiques de Bet v1 ne développeraient pas d'allergie à la pomme.

Toutefois, toutes les manifestations d'allergie aux fruits ne sont pas dues uniquement à des allergènes croisants entre pollens et fruits. L'allergie aux fruits de la sous-famille des prunoïdées (pêche, prune, abricot, cerise) est souvent liée à une sensibilisation à un allergène de 13 kDa, présent uniquement dans ces fruits, mais pas dans les pollens d'herbacées ou de graminées.

- Pollens de graminées / Légumes légumineuses, ombellifères, solanées / fruits rosacées

- Les réactions croisées entre les pollens de graminées et les légumes comme la tomate, la pomme de terre ou les épices de la famille des solanées, peuvent mettre en cause la famille des profilines.

- Le degré de réactivité croisée vis-à-vis des graminées céréalières et fourragères fait l'objet de controverses. Il semble que les sujets allergiques aux pollens de graminées reconnaissent des allergènes des céréales, alors que les sujets allergiques à la farine de blé seule ne réagissent pas avec les allergènes des pollens de graminées.

- Pollens d'herbacées / fruits / venins d'hyménoptères

Des réactions croisées entre les pollens d'ambroisie, de plantain et des fruits comme le melon, la pastèque et la banane et les venins d'hyménoptères ont été décrites sans que les structures croisantes aient été identifiées.

c) Réactions croisées entre des aéroallergènes non polliniques et des aliments

- Ficus / latex / fruits : banane, melon, kiwi, avocat, châtaigne, figue, fruit de la passion, ananas, arachide / ambroisie / Paturin

Il existe une réactivité croisée entre deux agents allergisants producteurs de latex, mais appartenant à des familles différentes : l'Euphorbiacée *Hevea brasiliensis* et *Ficus benjamina* de la famille des Moracées. L'allergie à la poussière de sève de *Ficus* peut également entraîner une sensibilisation indirecte à la figue, fruit qui appartient également au genre *Ficus* (*F. carica*). Dans ces deux situations, les allergènes croisants ne sont pas encore identifiés.

L'allergie au latex d'Hévéa est aussi souvent associée à des allergies à certains fruits comme la banane et l'avocat (dans environ 50 % des cas), le kiwi, la châtaigne, le melon. Un allergène croisant commun à tous ces fruits et au latex a un poids moléculaire de 30 kDa et pourrait correspondre à l'Hévamine. Il est à noter qu'il existe des séquences similaires dans l'allergène majeur du latex Hev b1 (REF : Facteur d'élongation du caoutchouc) et dans la papaïne retrouvée dans de nombreux fruits. La papaïne de la papaye comme la broméline de l'ananas et l'actinidine du kiwi sont des protéases à thiol.

- Moisissures / levures

La réactivité croisée vis-à-vis de certaines levures et certaines moisissures est expliquée par la présence de plusieurs enzymes. L'enzyme enolase est un allergène croisant identifié dans les levures des genres *Candida* et *Saccharomyces*. C'est un allergène majeur de *Candida albicans*. Plus récemment cette allergène a également été identifié dans les moisissures des genres *Alternaria* et *Cladosporium*.

Un autre enzyme, l'alcool déshydrogénase, a également été identifié dans les genres *Alternaria* et *Cladosporium*. Cet enzyme est également un allergène majeur de *C. albicans*.

Des polysaccharides, en particulier des mannanes, seraient également des allergènes croisants entre moisissures et levures.

- Acariens / insectes / crustacés / mollusques (allergies croisées des invertébrés)

Une sensibilisation aux insectes (blattes, papillons, moucheron) est souvent accompagnée d'une sensibilisation aux acariens. Il a été également rapporté des cas de sensibilisations aux acariens et aux crustacés (crabes, langouste) et aux mollusques (palourde, moule, escargot). La tropomyosine qui est l'allergène majeur de la crevette

(Pen al ou Met e1 de la crevette *Metapenaeus ensis*), présente une réaction croisée avec la tropomyosine des insectes (mouche des fruits, drosophile). La tropomyosine est une protéine fortement conservée au cours de l'évolution qui dans le muscle interagit avec l'actine pour réguler l'interaction de la myosine avec l'actine. Elle existe chez les invertébrés (en particulier les arthropodes : insectes, acariens, crustacés), et les vertébrés. Il est possible que la tropomyosine soit aussi un des allergènes croisant entre les crustacés, les acariens et les gastéropodes. L'hémocyanine pourrait être un autre allergène croisant entre mollusque marin et acariens. A ce propos, il faut savoir que les escargots sont le plus souvent infestés par les acariens, ce qui pourrait être responsable de la réactivité croisée entre *Dermatophagoides* et escargots.

- Protéines aviaires / oiseaux (Syndrome œuf / oiseaux)

Il existe des sensibilisations croisées aux allergènes aviaires (plumes, sérum, fientes) et aux allergènes de jaune d'œuf. Un allergène croisant présent dans le sérum, les plumes et le jaune d'œuf est l'albumine sérique de poulet ou alpha-livétine. La sensibilisation à l'albumine sérique de poulet peut expliquer les sensibilisations croisées entre œufs de poule, de caille et les viandes de poulet, de dinde et de caille.

- Chat / viandes

L'albumine est également responsable de certaines sensibilisations croisées entre les squames de chat et la viande de porc.

E.2.5- Conclusion

Au fur et à mesure de l'identification de nouveaux allergènes, il apparaît que des allergènes croissants existent dans la plupart, sinon dans tous les agents allergisants. La réactivité croisée, expression sérologique de la présence d'allergènes croissants, est donc la règle à des degrés plus ou moins importants.

Les conséquences sont importantes d'un point de vue clinique, thérapeutique et biologique. Pour se limiter à ce dernier aspect, il est certain que le diagnostic biologique de l'étiologie des manifestations allergiques, impose la connaissance de ces réactivités croisées. Par exemple, un sujet sensibilisé à la profiline par l'intermédiaire d'un pollen de graminées agissant comme allergène direct, développera des IgE anti-profiline susceptible de reconnaître les profilines présentes dans de nombreux agents allergisants. Ceci entraînera une positivité, souvent à minima, de très nombreux dosages d'IgE spécifiques. La spécificité des dosages actuels qui emploient comme antigènes des extraits totaux d'agents allergisants est donc battue en brèche par la réactivité croisée. Cette spécificité ne sera approchée qu'en employant des tests mettant en jeu la recherche d'anticorps IgE vis-à-vis d'allergènes uniques, dont la valeur étiopathogénique aura été évaluée sur des populations de sujets allergiques. A l'heure actuelle, seuls quelques tests utilisant des allergènes recombinants sont disponibles commercialement et peuvent concourir à cette approche.

E.3- Antigénicité et allergie croisée à propos des allergènes du latex

E.3.1- Notions fondamentales

La notion d'antigénicité croisée fait référence à la capacité que présente un antigène à se lier avec un anti-corps dirigé contre une molécule antigénique différente. Ceci peut se faire dans deux circonstances. Soit les antigènes, de nature multivalente, possèdent en commun un même épitope ; dans ce cas l'anticorps dirigé initialement contre le premier antigène, que l'on appelle l'immunogène, se trompe et reconnaît le second antigène ; ces deux antigènes ont par définition une identité partielle.

Soit le second antigène porte un épitope structurellement très proche de l'immunogène ; l'anticorps correspondant pourra également le reconnaître mais avec une force de cohésion bien inférieure ; il n'y a aucune identité entre les 2 antigènes.

Ces notions générales sont vraies en allergologie pour les allergènes impliqués dans les réactions d'hypersensibilité. Cependant il faut faire une distinction entre allergénicité croisée, pouvant créer chez le sujet une sensibilisation croisée, et une allergie croisée.

Bien entendu pour qu'il y ait allergie croisée, il faut qu'il y ait allergénicité croisée. Mais ce n'est pas parce que l'on aura objectivé une allergénicité croisée qu'il y aura forcément allergie croisée. Autrement dit, ce n'est pas parce que l'on aura objectivé par des examens de laboratoire l'existence d'IgE spécifiques pour des allergènes de nature différente que le patient présentera des manifestations cliniques au contact de chacun de ces allergènes.

En effet, le terme *allergie croisée* sous-entend *manifestations cliniques* pour deux allergènes distincts présentant des parentés immunologiques, ou des épitopes communs ou voisins. La preuve doit en être apportée par l'évolution

des symptômes ou tests de provocation. Par contre, **l'allergénicité croisée** n'est que la mise en évidence par examens complémentaires, tests cutanés ou tests in vitro de la parenté des épitopes. Les allergènes peuvent du reste être très différents, pomme et pollen de bouleau, escargot et acariens...

Un allergène est en fait une association complexe d'épitopes et chaque individu répondra à une série plus ou moins grande de ces derniers. Si la réponse est majeure à de nombreux épitopes ceci augmente les chances de réactions cliniques et d'allergie croisée. Un facteur quantitatif intervient par conséquent.

Il convient donc de rester extrêmement prudent dans l'interprétation des tests allergologiques et garder à l'esprit cette notion d'allergénicité croisée potentielle. Il ne faut pas faire un rapprochement trop rapide avec un diagnostic clinique qui pourrait avoir des conséquences fâcheuses et induire des erreurs thérapeutiques. Par exemple, les pollens de graminées fourragères croisent tous entre eux et croisent également, sur un plan immunologique, avec les pollens de céréales et leur farine. Ceci n'est du reste pas très surprenant puisqu'il s'agit de la même famille botanique, les poacées. Les protéines antigéniques présentent des épitopes communs. Si on effectue un dosage d'IgE spécifiques pour la farine de blé chez un patient souffrant de rhume des foins et sensibilisé aux pollens de graminées fourragères, on aura toutes les chances d'obtenir un résultat positif. Faut-il en conclure que ce patient est allergique à la farine et lui interdire pain, pâtes et pâtisseries ? Ceci est parfaitement faux et il n'y a aucune raison que ce patient présente des symptômes à la consommation de farine, d'une part parce que l'allergène est dénaturé par la cuisson et d'autre part parce que la voie de présentation de l'allergène aux cellules immunocompétentes est différente. Le système immunitaire du tube digestif est en effet plus tolérogène que les voies respiratoires. Ces notions générales s'appliquent à un problème d'actualité, la sensibilisation aux protéines du latex, où on connaît des réactions croisées avec d'autres allergènes, fruits en particulier.

E.3.2- L'allergie aux protéines du latex

La prévalence de l'allergie au latex demeure difficile à apprécier. Ainsi on estime qu'aux U.S.A. 250.000 à 500.000 travailleurs de santé sont sensibilisés au latex. Cette sensibilisation serait de 3,5 % pour la population générale, 9,5 % pour une population atopique non exposée et jusqu'à 36 % pour les atopiques exposés (manifestations allergiques chez 6,5 à 7,5 % des chirurgiens et de 2,2 à 5,6 % des panseuses).

Si les facteurs de risque de l'allergie au latex sont bien définis (sexe, âge, profession, contacts répétés, interventions multiples comme dans les spina bifida, allergie alimentaire aux fruits), la nature des antigènes l'est beaucoup moins. En fait le latex doit être considéré comme un mélange polyallergénique variable d'un produit fini à l'autre, d'un extrait à l'autre, d'un clone d'hévéa à l'autre. La nature des allergènes et leur quantité relative varient ainsi d'un lot de gants à l'autre et selon diverses marques de préservatifs ou de ballonnets provenant de kits pour lavements barytés. On admet par ailleurs que la distribution des protéines reconnues par les sérums de sujets allergiques n'est pas strictement la même dans le latex brut, le latex ammoniacé et les extraits de gants, les allergènes apparaissant plus nombreux et de plus grand poids moléculaire dans les deux premiers. Un autre facteur entrant en jeu est d'ordre technique : les protéines de haut poids moléculaire pourraient être hydrolysées ou fragmentées lors du traitement du latex naturel ou en présence d'ammoniac. De même les processus de vulcanisation peuvent altérer la structure de ces protéines. Les techniques d'extraction pour tests allergologiques et les conditions mêmes des tests in vitro peuvent également expliquer une apparente discordance entre les différentes études. Par exemple les analyses en immunoblots effectuées en condition réductrice favorisent l'apparition d'isomères ou de sous-unités protéiques de plus faible poids moléculaire. Enfin la susceptibilité individuelle et l'extrême complexité de la réponse immunitaire entrent en jeu. Certaines populations reconnaissent plus particulièrement certains antigènes et ne seront donc pas forcément comparables à d'autres. Ainsi le profil de réponse des enfants atteints de spina bifida se ferait plus volontiers vis-à-vis du facteur d'élongation du latex, antigène majeur pour ceux-ci mais pas pour d'autres sujets. Il a été montré que l'association d'une allergie croisée aux fruits de la série banane-avocat est dépendante de la reconnaissance d'allergènes spécifiques communs avec le latex qui font de ces patients un groupe particulier à individualiser.

E.3.3- Allergènes du latex et réactions croisées

Quoiqu'il en soit les allergènes du latex sont d'origine végétale, thermostables et hydrosolubles. La voie de sensibilisation peut être cutanée, parfois respiratoire. L'allergénicité croisée avec les fruits pourrait en faire également des trophallergènes. Ils sont contenus dans la fraction protéique qui représente 1,5 à 2,8 % du latex naturel et des produits manufacturés et dont la composition est très variable d'un clone d'hévéa à l'autre. Ils sont associés aux particules de caoutchouc et présents dans les phases aqueuses de sédimentation du latex naturel. Leur poids

moléculaire varie de 10 à 100 Kd avec des fractions plus fréquemment rencontrées sur les études en immunoblots.

La **prohévéine** (PM 20 Kd) et **l'hévéine** (PM 10 Kd) sont des allergènes majeurs. Ils sont impliqués dans les mécanismes de coagulation du latex et présents dans le latex naturel et les extraits de gants.

La **facteur d'élongation du latex** (PM 58 Kd) déjà évoqué, se présente sous forme hydrolysée de 4 unités de 14,6 Kd sous l'action de détergents. Il pourrait s'agir de l'allergène majeur, dénommé Hev b1 . Cependant ceci est controversé et sa reconnaissance par l'ensemble des patients n'est pas universelle. Il joue un rôle dans la biosynthèse des chaînes de polyisoprène constituant le caoutchouc.

Les **endo 1-3 β Uglucosidases** (PM 36 Kd) pourraient également jouer un rôle secondaire. Cependant leur présence reste à confirmer dans le latex mais elles sont rencontrées dans de nombreux végétaux apparentés et pourraient donc être un allergène croisé.

De même le latex contient de la **profiline** (PM 15 Kd), panallergène par excellence, mais son rôle semble négligeable dans les réactions croisées et elle n'est rencontrée qu'en très faible quantité dans les extraits de gants.

On isole également des **protéines de 46 et 110 Kd** dont la nature reste à déterminer mais qui présentent des analogies de structure avec la patatine, protéine de stockage des solanacées.

Enfin, le latex contient du **lysozyme** sous forme des **hévamines A et B**, et est impliqué comme allergène croisé avec l'avocat et la banane. Le lysozyme du latex est une protéine de stress à propriété antibactérienne et sa présence dans les canaux laticifères est accrue lorsque l'arbre reçoit des hormones végétales, est blessé ou trop régulièrement saigné. Une production industrielle accrue de latex par des clones végétaux génétiquement sélectionnés et traités aux phytohormones, très régulièrement scarifiés, expliquerait une plus grande production de protéines de stress dont les hévamines et l'hévéine. Enfin, des lysozymes identiques et à grande homologie structurale ont été isolés dans l'avocat, la figue, la papaye, les musacées (banane). Ils sont très proches des chitinases des cucurbitacées (melon).

Une antigénicité croisée est également décrite avec l'arachide et le ficus.

Ainsi, les allergènes du latex sont nombreux mais de mieux en mieux répertoriés. Il existe une grande variabilité selon les clones végétaux, le type de culture, les extraits allergéniques et une extrême personnalisation de la réponse immunitaire pour chaque individu. Ceci explique les résultats parfois discordants entre clinique et examens de laboratoire si on ne dispose pas du bon allergène.

Par ailleurs, il existe une allergénicité croisée entre certaines protéines du latex d'Hévéa et d'autres protéines végétales. Ceci peut expliquer des erreurs diagnostiques par excès, que l'on doit éviter en gardant à l'esprit que la présence d' IgE spécifiques n'est pas synonyme d'allergie.

■ A. LA QUALITÉ DES TESTS BIOLOGIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE L'ALLERGIE

« L'acte de biologie médicale s'inscrit dans une démarche globale coordonnée par le praticien et étayée par les autres professionnels médicaux et paramédicaux. Les résultats de l'analyse de biologie médicale vont être une donnée décisive pour le diagnostic et la prescription des soins. C'est pourquoi, la recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle et constante de tout biologiste. La bonne exécution des analyses de biologie médicale est une des conditions déterminantes de cette qualité. » (G.B.E.A. arrêté du 02.11.94)

Le laboratoire a pour objectif de rendre le « bon » résultat : à savoir un résultat exact et validé par le clinicien. Cet objectif dépend, d'une part, de facteurs introduits dans le laboratoire : les instruments et les réactifs, et d'autre part, de leur utilisation lors de l'exécution des analyses.

Les instruments doivent avoir des spécifications adaptées à la qualité des réactifs. Ils doivent être utilisés, maintenus et contrôlés par un personnel du laboratoire formé par la société industrielle.

Les réactifs sont soumis à des contraintes de production et de contrôle très strictes. Le respect des conditions de transport, de conservation et d'utilisation est indispensable pour assurer la qualité des résultats.

L'exécution des analyses est soumise à des règles décrites dans le guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale (G.B.E.A., arrêté du 02.11.94).

Il est prévu dans ce guide que tout laboratoire d'analyses médicales doit disposer d'un système d'Assurance Qualité basé sur des procédures écrites et sur l'organisation générale du laboratoire. Les analyses doivent être soumises à un contrôle Externe de la Qualité (E.E.Q.) et un contrôle interne.

Dans le domaine de l'allergie, les laboratoires n'ont disposé pendant longtemps que des contrôles internes.

En 1995, l'Agence du Médicament a mis en place un contrôle de qualité pour toutes les techniques de dosage des IgE spécifiques et des IgE totales. Les résultats de ce contrôle vont permettre d'améliorer la qualité des tests biologiques dans le diagnostic de l'allergie.

■ B. LE BIOLOGISTE FACE A LA PRESCRIPTION EN ALLERGOLOGIE

B.1- Nomenclature actuelle des actes de biologie

La cotation des actes de biologie médicale dans le domaine de l'allergie (IgE totales et spécifiques) fait référence à l'arrêté du 19 Octobre 1994.

La démarche de la prescription d'examen biologiques en allergologie doit s'effectuer en deux étapes successives

- **une étape préliminaire de dépistage** qui doit permettre d'orienter vers un diagnostic d'allergie. Cette démarche est conduite par un généraliste, pédiatre, ORL, dermatologue, pneumologue...

- **une étape d'identification de l'allergie**, qui est du domaine du médecin spécialiste compétent en immunoallergologie.

L'étape de dépistage peut faire appel à deux prescriptions possibles

- un test unitaire avec un mélange de **pneumallergènes**, sans identification de l'allergène
- des tests unitaires avec des mélanges de **trophallergènes**, sans identification de l'allergène (3 tests pouvant être pris en charge par les organismes d'Assurance Maladie)
- les cotations de ces tests sont cumulables avec celle du dosage des IgE totales.

L'étape d'identification fait appel à des dosages d'IgE spécifiques mais un maximum de cinq dosages peut être coté aussi bien pour les pneumallergènes que pour les trophallergènes avec possibilité d'associations.

Cette demande d'identification d'allergènes doit succéder aux tests cutanés, ou à une biologie de dépistage préalable, dont les résultats doivent être mentionnés lors de la demande (actuellement sur la prescription, sur le bulletin d'information prochainement).

Sur les résultats d'analyses, le biologiste doit indiquer :

- la technique et la marque du système utilisé ainsi que celles des réactifs,
- les valeurs limites des techniques,
- éventuellement un commentaire circonstancié.

Ces renseignements permettent de comparer les résultats biologiques obtenus à la clinique.

B.2- Le biologiste confronté au choix de la technique

B.2.1- Dosage d'IgE totales

La sécrétion des IgE est un phénomène normal présent chez tous les individus. Reste que leur concentration sérique est extrêmement variable, pouvant aller de 100 à 5 000 UI/ml (UI = 2 ng). La concentration moyenne d'IgE totales sériques est de 100 UI/ml environ, dans une population normale et est généralement augmentée chez l'allergique. Cependant, il faut se garder d'en faire une règle absolue. En effet, il est intéressant de noter que 20 % des sujets normaux ont une concentration supérieure à 150 UI/ml (bons répondeurs non allergiques) et que 20 % de la population allergique sensible à un allergène possède une concentration faible d'IgE (individus « monosensibilisés »). On constate, au contraire, que les sujets polysensibilisés à de nombreux allergènes ont dans plus de 80 % des cas une concentration élevée d'IgE totales. En conséquence, le dosage d'IgE totales n'a qu'une valeur de présomption (et non d'exclusion) pour le dépistage d'une éventuelle allergie, excepté pour l'eczéma atopique de l'enfant. (Cette affection fait intervenir les 2 types d'hypersensibilité : immédiate et retardée.)

Le dosage des IgE totales est réalisé soit par une méthode radioimmunologique, soit par une méthode immunoenzymatique (tableau I).

Les résultats sont exprimés en unités internationales déterminées à partir d'un échantillon standard de l'OMS.

Généralement le taux du sang du cordon est voisin de zéro. Cependant, des études réalisées chez des nouveaux-nés de parents atopiques ont montré la présence d'IgE totales dont le taux se situe aux environs de 5 UI. Le biologiste prendra soin de sélectionner les techniques dont la sensibilité est adaptée à ce dosage.

Enfin, diverses maladies, en dehors des sujets polysensibles, sont à l'origine d'une forte concentration d'IgE infections parasitaires et quelques affections rares (syndrome de Wiskott Aldrich et de Job-Buckley).

Tableau I. Principales techniques de dosage des IgE totales

Distributeur	Nom déposé Technique	Conjugué	Support	Temps d'incubation Lecture	Gamme Étalonnage	Sensibilité
ABBOTT	IgE EIA spectrophotométrique <i>manuel</i>	Ac (chèvre) + IP	Bille revêtue	60 + 30 + 30 mn 492 nm	30 à 120 UI/ml 5 points	0,048 UI/ml
	IgE totales IMX MEIA IMX <i>automatique</i>	Ac m (souris) + PA	Microparticules recouvertes d'anticorps IgE	30 mn	0 - 200 UI/ml 6 points	0,048 UI/ml
ALLERBIO	* Allerbiostick IgE totales	Ac m (souris) + IP	Bandelettes de nitrocellulose dotées	120 mn + 15 mn	5 points	5 UI/ml
	* Bandelettes N normales Bandelettes SC : sang de cordon * EIA				0-400 UI/ml 0,5-20 UI/ml	
BIOCHEM Immunosystèmes	IgE totales Serozyme EIA	Ac m (souris) + PAL	Tubes revêtus	60 mn + 30 mn 550/492 nm	6 standards 0-800 UI/ml	0,7 UI/ml
BIOMERIEUX	IgE totales EIA	Ac m (souris) + IP	Tubes revêtus	60 mn + 30 mn 492 nm	0-1000 UI/ml	5 UI/ml
	Vidas total IgE ELFA	Ac m (souris) + PA	Cônes sensibilisés	30 mn 450 nm	0-1000 UI/ml calibration faite par le fabricant	0,5 UI/ml
BIOSERVICE	Quantizyme Ige EIA	Ac (cheval) + PA	Tubes revêtus	60 + 60 + 60 mn 405 nm	6 points : 0-200 UI/ml	2,5 UI/ml
BOEHRINGER MANNHEIM Immunodiagnosics	Enzymun-test Ige dosages manuels et automatiques pour ES600/ES300/ES300/ES33/ES22/ES11 EIA	Ac m (souris) d'origine non spécifiée + PA	Tubes tapissés	60 + 60 + 60 (manuel) variable selon automate	GE : 6 points 0-500 UI/ml	1,5 UI/ml
CIBA CORNING Groupe Chiron	IgE totales – Pédiatrie MAGIC LITE Techniques	Ac m (souris) couplé à l'ester d'acridinium	Particules paramagnétiques	30 mn	0-500 UI/ml	0,1 UI/ml
	IgE totales MAGIC LITE	Ac polyclonal (chèvre) couplé à l'ester d'acridinium	Particules paramagnétiques	30 mn	2-3000 UI/ml	2 UI/ml
	IgE totales ACS 180	Ac polyclonal (chèvre) couplé à l'ester d'acridinium	Particules paramagnétiques	7,5 mn	0-3000 UI/ml	1,5 UI/ml
CIS BIO	IgE FAST EIA	Ac PA	Cupules	2 X 30 mn 5 points 0-300 UI/ml		

Distributeur	Nom déposé Technique	Conjugué	Support	Temps d'incubation Lecture	Gamme Étalonnage	Sensibilité
DADE BAXTER	IgE dosage immunoenzymo-fluorimétrique stratus ELFA	Ac m (souris) + PA	Taquette revêtue de papier libre	8 mn	GE : 0-1000 UI/ml 6 points	A préciser
EUROGENETICS	AIA pack AIA 600-AIA 1200 EIA	Ac (d'origine non précisée) + PA	Billes revêtues	2 X 15 min + 30 mn lecture en cinétique à 650 nm	GE : 0 à 1000 UI/ml 0 et 500 UI/ml 2 contrôles 0-1000 UI/ml	0.12 UI/ml 0.13 protocole pédiatrique à 0,03 UI/ml
MERCK Diagnostic	Ige Biotrol <i>manuel</i>	Ac m + PA	Bille revêtues 405 ou 492 nm	60 mn + 30 mn	2 étalons : 1 négatif et 1 taux moyen 2 "contrôles" dans le coffret	2 UI/ml domaine de mesure 2-500 UI/ml
	Ige MAGIA 7000 ou 8000 <i>automate</i>	Ac m + PA	microparticules magnétiques recouvertes lecture à 405 nm	15 + 15	2 étalons : 1 négatif et 1 taux moyen 3 niveaux de contrôles possible	2 UI/ml domaine de mesure 2-1000 UI/ml
PHARMACIA	CAP System Ige	Compteur gamma – I125 Ac m (souris)	Imunocap cellulose	30 + 150 mn	6 points 2 à 2000 ku/l	< 2 ku/l
	CAP System Ige FEIA	β galactosidase Ac m (souris)	Imunocap cellulose	30 + 150 mn + 10 mn	6 points 2 à 2000 ku/l	< 2 ku/l
	Uni CAP Ige totales FEIA	β galactosidase	Imunocap cellulose	30 + 150 mn	6 étalons 2 contrôles de courbe 2 à 5000 ku/l	< 2 ku/l
ROCHE	Cobas core Ige totales EIA	Ac m (souris) + IP	Billes revêtues	18 mn + 15 mn 650 nm bichromatique	5 points (0-500 UI/ml) recalage en 1 point	< 0,4 UI/ml
SANOFI PASTEUR	Cobas core ACCESS ICEMA	Ac (cheval) + PA	Particules revêtues	30 mn+ 30 mn + 5 mn	7 standards 0-3000 UI/ml	0,5 UI/ml
	Kallestad TM total Ige microplace	Ac (cheval) + PA	Microplaque sensibilisée	1 h + 30 mn + 30 mn 405 nm	7 standards 0-1000 UI/ml	1 UI/ml
	Ige totales RIA ria		Phase solide magnétique	30 mn + 5 mn	7 calibrants 0-1000 UI/ml	0,5 UI/ml

B.2.2-Tests de dépistage

Plus évocateurs que le dosage d'IGE totales, les tests de dépistage mettent en évidence les IgE globales spécifiques, dirigés contre les allergies de même nature (pneumoallergènes pour les allergies respiratoires et les trophallergènes pour les allergies d'origine alimentaire (tableau II)).

Tableau II.. Principales techniques utilisables dans le dépistage de l'allergie
(dosage d'IgE spécifiques non discriminant)

Distributeur	Nom déposé	Présentation	Allergènes proposés
BIODAVANCE	Immunodot.top Screen	Bandelettes	Panels : domestiques, pollen, alimentaire B et C, moisissures
BIOMERIEUX	Stallerscreen EIA	Disques	Plumes, phanère, acariens, pollens, graminées, moisissures, arbres
	VIDAS Stallertest	Cône	10 pneumoallergènes, bouleau, olivier, dactyle pariétraire, armoise, chat, chien, <i>Dermatophagoïdes pteronyssinus</i> , <i>Alternaria cladosporium</i> , blatte
CIBA CORNING Groupe Chiron	Magic Lite SQ	Microparticules paramagnétiques	1- Allergy Screen (20 pneumoallergènes : <i>Dermatophagoïdes pteronyssinus</i> , <i>Dermatophagoïdes farinae</i> , chat, cheval, chien, chiendent digité, ivraie vivace, phléole des prés, blatte, <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , bouleau, chêne, olivier, cèdre du Japon, ambroisie, armoise commune, plantain, pariétraire officinale. 2- Mélanges d'allergènes par famille (4, 5 ou 6 allergènes/mélange), 24 mélanges disponibles : poussières (1), animaux (5), aliments (8), graminées (2) moisissures (5), arbres (2), herbacées (1)
CIS BIO INTERNATIONAL	Fastscreen Prim FAST	Polymétacrylate	Pneumoallergènes, environnement, moisissures, graminées (2), alimentaire, arbres (3), herbacées.
HOESCHT BEHRING	Alatop Microplaque	Microplaque	12 Pneumoallergènes, <i>Dermatophagoïdes pteronyssinus</i> <i>Penicillium notatum</i> , <i>Alternaria Tenuis</i> , ambroisie, plantain, pariétraire, chiendent digité, phléole, chat, chien, bouleau, cèdre du Japon
PHARMACIA	Alatop Microplaque	Microplaque	12 Pneumoallergènes : <i>Dermatophagoïdes pteronyssinus</i> , <i>Penicillium notatum</i> , <i>Alternaria tenuis</i> , ambroisie, plantain pariétraire, chiendent digité, phléole, chat, chien, bouleau, cèdre du Japon
	Phadiatop Uni CAP Phadiatop Trophatop indifféremment RIA ou FEIA	Immuno CAP Cellulose	Trophatop 1 (f x 5) : blanc d'œuf, lait de vache, poisson, blé, arachide, soja Trophatop 2 (f x 24) : noisette, crevette, kiwi, banane Trophatop 3 (f x 23) : porc, bœuf, poulet, dinde Trophatop 4 (f x 25) : sésame, levure de bière, ail, céleri

B.2.3.- Dosage des IgE Spécifiques (tableau III)

Le dosage des IgE spécifiques est un test très particulier dans le domaine de l'immunodiagnostic. La qualité des résultats dépend de nombreux facteurs dont :

- la qualité de l'antigène liée à celle des matières premières, aux procédés d'extraction, au tirage de l'extrait allergénique ;
- la qualité de la technique elle-même liée au support (phase solide, papier...) au couplage de l'allergène, à l'anti-IgE, au mode de révélation ;
- la qualité de l'antigène utilisé est fondamentale. Du fait de la nature très diverse des allergènes, on peut considérer qu'à chaque allergène correspond une analyse. Les autres constituants du dosage sont plus proches des réactifs habituels des troupes d'immunodiagnostic ;
- le choix de la technique par le biologiste doit tenir compte de tous ces facteurs. Il peut être guidé par l'écoute des prescripteurs directement confrontés à la validité clinique des allergènes.

Tableau III. Principales techniques de dosage des IgE spécifiques permettant la discrimination des allergènes sur même support ou des allergènes séparés.

Distributeur	Nom déposé	Présentation	Allergènes proposés
ABBOT	Matrix aero Matrix aero plus	Cartouche	16 allergènes : <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cynodon dactyle</i> , bouleau, chat, <i>D. pteronyssinus</i> , chien, armoise, olivier, pariétaire, <i>Penicillium</i> , plantain, ambroisie tribolée, ambroisie élevée, phléole et anti-IgE de chèvre
ALLERBIO	Aller Biostick IgE domestiques Allerbiostick Pollens	Bandelettes	<i>D. pteronyssinus</i> , phanères de chat, phanères de chien, alternaria mix Graminées mix, sigle, bouleau, armoise, plantain
BIOMERIEUX	Stallerdisc EIA	Disque	Environ 50 allergènes enregistrés
CIBA CORNING	IgE Spécifiques Magic Lite	Microparticules paramagnétiques	Environ 120 allergènes enregistrés
CIS BIO INTERNATIONAL	Cis allergen Screen 1 respiratoire Screen 2 alimentaire Screen 3 respiratoire FAST IgE sp.-IgG4 ALLER-CIS ENEA System II	Bandelettes de 10 allergènes micropuits sécables Chambre réactionnelle Automate complet	- <i>D. pteronyssinus</i> , <i>D. farinae</i> , chien, chat, bouleau, <i>alternaria</i> , armoise, phléole, dactyle, plantain -Blé, noisette, arachide, tomate, soja, lait, œuf, maïs, crabe, poisson (morue) - Chiendent, phléole, olivier, pariétaire, <i>alternaria</i> , chat, chien, <i>D. Pteronyssinus</i> , armoise, bouleau IgE spécifiques = environ 150 allergènes IgG4 = 46 allergènes 200 allergènes
DOME Hollister	MAST Cla ou Cla DHS	Pipettes	Trophallergènes : 36 allergènes Pneumallergènes : 36 allergènes (pollens d'arbres, pollens de graminées fourragères, pollen de graminées céréalières, pollens d'herbacées et divers, phanères, acariens, moisissures) Mixte (Tropa + pneuma) : 36 allergènes environ 100 allergènes séparés enregistrés
HOECHST BEHRING DPC	Alastat	Phases liquide	Environ 130 allergènes enregistrés
PHARMACIA	Phadezym RAST CAP System RAST FEIA CAP System RAST FEIA Uni CAP IgE spécifiques FEIA	Disques Immunocap cellulose Immunocap cellulose Immunocap cellulose	Environ 400 allergènes testés (contrôle Allergy Club)
SANOFI PASTEUR IgE SPECIFIQUES	Kallestad Tm Allercoat East	Disques papier	266 allergènes disponibles

ABREVIATIONS DES TABLEAUX

Acm	Anticorps monoclonal	ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
IP	Immunoperoxydase	ELFA	Enzyme Linked Fluorescent Assay
RIA	RadioImmunoassay	MEIA	Microparticle Enzyme Immunoassay
RAST	Radioallergosorbent Test	PA	Phosphatase Alcaline
FAT	Fluorescence Allergosorbent Test	ICEMA	Immuno Chemilumin Enzymetric Assay
EIA	Enzyme Immunoassay		

La préparation des allergènes : étape préliminaire et commune à tous les tests de diagnostic de l'hypersensibilité immédiate.

Les moyens utilisés *in vivo* comme *in vitro* pour mettre en évidence la présence d'IgE ont un point commun : ils nécessitent l'obtention d'allergènes à partir d'extraits allergéniques issus de matières premières.

Ces allergènes sont disponibles sous forme différente pour réaliser les tests cutanés : prick tests, intradermoréactions, tests de provocation...

Ils sont fixés sur différents supports pour réaliser les tests biologiques : tests de dépistage, IgE totales et spécifiques, IgG...

On comprend ainsi que la préparation des allergènes tient une place prépondérante dans la cohérence des différentes investigations menées et la qualité du diagnostic. Elle est réalisée par « les fabricants » mais ne doit pour autant être occultée.

Origine de la matière première

Ce sont essentiellement des éléments naturellement présents dans l'environnement qui sont à l'origine des manifestations allergiques.

Le choix de la matière première est fondamental dans la préparation de l'allergène. Elle est à l'origine même de la spécificité de l'extrait qui en sera issu.

Pour garantir cette spécificité, il faut être totalement maître de l'origine de cette matière première, des conditions de récolte et de stockage.

Ainsi pour les pollens, chaque producteur possède ses propres cultures.

La récolte est faite selon un calendrier précis à partir de variétés identifiées et cultivées. Les lots récoltés subissent un contrôle puis sont stockés, congelés ou lyophilisés. À titre d'exemple, les contrôles ci-dessous sont réalisés sur les pollens récoltés :

- détermination de l'espèce, contrôle et identification,
- pureté,
- détermination de la présence de fragments de la plante,
- recherche de pollens étrangers,
- contenu total en azote,
- contenu en eau,
- identification de spores éventuels,
- test des cendres,
- extraction par l'éthanol...



Préparation de l'extrait allergénique

Elle dépend beaucoup du protocole d'extraction qui est standardisé afin de garantir un rendement élevé, sans dénaturation. La qualité de l'extrait produit dépend de nombreux facteurs tels le pH, la température, la qualité du milieu extracteur...

Purification

Elle est délicate car elle ne doit pas bouleverser la structure de l'allergène. Les principales méthodes de fractionnement utilisées sont basées sur une différence de solubilité ou de masse moléculaire.

Contrôle des extraits

Activité, spécificité, absence de toxicité et, pour les extraits purifiés, contrôle de la standardisation.

C'est la qualité de cet extrait allergénique qui conditionnera les résultats des test *in vivo* et *in vitro* de mise en évidence des IgE spécifiques de cet allergène.

Recherche des IgE spécifiques circulantes : considérations générales

Quels que soient les tests biologiques utilisés pour mettre en évidence les IgE sériques, le principe est le même

- fixation sur un support solide de l'allergène préparé ou d'un mélange d'allergènes,
- incubation avec le sérum du patient contenant éventuellement des IgE spécifiques de cet allergène,
- révélation par des anticorps anti-IgE marqués.

Elles dérivent toutes de la méthode RAST (Radio allergo sorbent test). Elles diffèrent par l'allergène utilisé et la méthode de marquage de l'anticorps anti-IgE

- radioisotopique,
- immunoenzymatique,
- luminescence.



Le couplage sur la phase solide

La nature de la phase solide joue un rôle déterminant dans la qualité analytique du test. L'une des caractéristiques essentielles de cette phase solide, est de permettre une forte capacité de couplage des protéines afin d'assurer la présence d'un excès d'antigène par rapport aux anticorps à mesurer. La qualité physicochimique et l'homogénéité doivent être contrôlées afin d'assurer un couplage optimal. L'extrait allergénique est mis à incuber avec la phase solide selon un protocole adapté à chaque allergène. Après couplage, il faut inactiver les sites actifs qui subsistent, et éliminer les sites de liaison non spécifiques.

Contrôle de la phase solide, support de l'allergène

Différents contrôles sont réalisés sur le produit obtenu

- détermination de la liaison non spécifique avec des sérums de patients non allergiques,
- contrôle quantitatif du couplage par rapport à un étalon,
- contrôle qualitatif du couplage par rapport à des contrôles de concentrations différentes, et par rapport à des patients,
- contrôle de stabilité de la liaison de l'allergène sur la phase solide pour évaluer la stabilité de la phase solide dans le temps.

Le développement de nombreuses techniques de dosage des IgE n'a pas montré l'unanimité dans le choix du support de l'allergène : disque de papier, cupule de polystyrène, cap, disque de cellulose ni dans le choix du mode de couplage : liaison covalente, adsorption..

Ces supports vont certainement évoluer dans les buts d'améliorer la qualité et la capacité de la liaison, le stockage de ces supports, et l'automatisation de ces techniques.

L'incubation

La température et la durée d'incubation du sérum du patient avec l'allergène fixé varient selon les techniques température ambiante, ou 37 °C, durée variable de 30 minutes à 24 heures.

La révélation de la réaction immunologique est réalisée par un anticorps anti-IgE. Les anticorps utilisés doivent répondre aux critères suivants :

- pureté,
- spécificité envers le fragment Fc de l'IgE humaine,
- absence de réaction croisée envers les autres classes d'immunoglobuline : Ig G, A, M, D et la sérumalbumine. Les marqueurs de cet anticorps sont très divers : enzyme (bêtagalactosidase, peroxydase (IP), phosphatase alcaline (PA), radiotraceur (125) ou ester d'acridinium.

La gamme de référence

Il n'existe pas de standard international pour les IgE spécifiques. De ce fait, on constate que l'allergène utilisé comme référence pour la gamme standard varie d'une société à l'autre: le bouleau, l'aulne, l'ivraie vivace, la phléole des prés.

Un effort de standardisation a été réalisé par certaines sociétés en préconisant une calibration directement par rapport au standard IgE totales de l'OMS (2nd IRP 75/502).

L'expression des résultats

Les résultats peuvent être qualitatifs ou quantitatifs. Dans ce dernier cas, il faut noter qu'en l'absence de standard international, il n'existe pas d'unité internationale pour exprimer un taux d'IgE.

D'une part, chaque technique possède son unité d'expression des IgE - unité le plus souvent arbitraire sauf pour la standardisation par rapport aux IgE totales.

D'autre part, il est fondamental de conserver l'intégrité d'un résultat à savoir « le taux mesuré accompagné de son unité ». Il n'y a aucune correspondance entre les concentrations des IgE spécifiques d'un système à l'autre.

En revanche, l'expression des résultats en classes est relativement homogène d'une technique à l'autre. En effet, ces classes ont été définies cliniquement par rapport à la première société existante et chaque nouveau venu s'est calibré par rapport à cette technique (Rast Pharmacia).

CLASSE	VOLT	KU/I	SU/ml
0	< 0,06	< 0,35	< 1,4
1	0,18-0,67	0,35-0,7	1,4-4
2	0,67-1,90	0,7-3,5	4-20
3	1,90-3,50	3,5- 17,5	20-100
4	≥ 3,50	17,5-50	100-300
5		50-100	> 300
6		> 100	

B.2.4- Dosage des médiateurs des mastocytes et des basophiles

1/ Histamine

L'histamine est synthétisée par les mastocytes et les basophiles, et stockée dans leurs granules. Il y a 2 à 10 fois plus d'histamine dans le mastocyte que dans le basophile.

Lorsqu'elle est libérée, une fraction reste circulante, et une fraction diffuse vers les cellules cibles. Dans le sang, l'histamine est rapidement et principalement métabolisée par le foie en N-méthylhistamine, puis en acide méthylimidazole acétique. Cette voie est prédominante chez le sujet normal. La deuxième voie est celle de la diamine oxydase (DAO) présente dans le placenta, l'intestin et le rein, comme la méthylhistamine et l'acide imidazole acétique, et retrouvée dans les urines.

Chez le volontaire sain, la demi-vie de l'histamine est courte, inférieure à 2 minutes.

Prélèvement

Le métabolisme de l'histamine est saturable. De ce fait, sa demi-vie augmente: elle est de 10 à 30 minutes dans les réactions peu sévères et de 1 à 2 heures dans les réactions sévères. Ceci permet de réaliser les gestes d'urgence avant de prélever lors d'un choc anaphylactique.

Les prélèvements sont faits sur héparine ou EDTA afin de chélater le calcium plasmatique et bloquer l'activation du basophile. Des recommandations draconiennes avaient été retenues pour le recueil de l'échantillon pour le dosage fluorométrique :

- pas d'utilisation de tube de verre (absorption de l'histamine) ;
- cathétérisation de la veine ;
- absence de garrot ;
- refus de tube sous vide afin d'éviter les turbulences ;
- recueil en tube préalablement refroidi ;
- centrifugation immédiate à 4 °C ;

- aspiration douce du plasma à distance du culot globulaire.

Ces recommandations ont été revues pour l'utilisation de la méthode radio-immunologique, et seules deux de ces recommandations sont retenues

- l'aspiration à distance du culot globulaire est absolument impérative ;

- l'hémolyse du prélèvement est à éviter. Cependant, la relation étant linéaire entre le taux d'histamine et le taux d'hémoglobine, une correction peut être réalisée dans le cas où les basophiles ne sont pas dégradés.

Dosage

De nombreuses méthodes ont été développées, répondant à des impératifs ou des préoccupations différentes selon le domaine d'application (allergologie, toxicologie,...) et le but recherché qui influe sur le degré de spécificité choisi (dosage de routine, expertise, recherche,...).

On retient deux grands groupes de techniques : les techniques non immunologiques et les plus récentes, immunologiques.

La méthode fluorimétrique est la plus ancienne. Modifiée et automatisée, elle demeure la technique la moins coûteuse avec des caractéristiques analytiques adaptées au domaine de l'allergie.

Peu de laboratoires étant équipés de la chaîne d'automatisation, les techniques radio-immunologiques utilisant l'iode 125 ont pris le relais.

Elles offrent la même reproductibilité que la précédente, une sensibilité et spécificité meilleures qui peuvent être requises dans d'autres domaines que l'allergie. Leur coût est bien sûr plus élevé.

Les valeurs usuelles plasmatiques sont à l'ordre de la nmol/l. On considère comme pathologiques des valeurs plasmatiques supérieures à 10 nmol/l.

Il faut citer deux situations cliniques particulières où le métabolisme de l'histamine est anormal et où le dosage de l'histamine donne des résultats faussement négatifs :

- au cours de la grossesse, le placenta synthétise 1 000 fois la concentration de DAO ;

- les patients traités par l'héparine (circulation extracorporelle) chez qui la concentration en DAO est proportionnelle à la concentration en héparine.

Dans les deux cas, l'histamine est rapidement détruite *in vivo*.



Intérêt diagnostic

C'est un élément objectif qui prouve une histamino-libération. Associé aux signes cliniques, il oriente vers un diagnostic précis du mécanisme et peut conduire éventuellement à une exclusion définitive de l'allergène étudié.

La dosage de l'histamine peut être réalisé sur un surnageant cellulaire après provocation *in vitro* de l'histaminolibération (T.L.H. : Test de Libération de l'Histamine) par les basophiles, en présence de plusieurs concentrations d'une substance allergénique. L'interprétation d'un T.L.H. est délicate et nécessite la mise en place de nombreux témoins. Ce test permet d'évaluer la sensibilité cellulaire à un allergène. Il est particulièrement requis dans les cas de discordance entre la clinique, les tests cutanés et les résultats biologiques, ou quand l'allergène étudié n'existe pas couplé à un support solide.

2/ La méthylhistamine urinaire

La méthylhistamine est un des métabolites de l'histamine retrouvé dans les urines dans l'heure qui suit la stimulation.

Intérêt clinique

Le dosage de la méthylhistamine présente certains avantages par rapport au dosage de l'histamine : le recueil est facile et se fait de manière retardée par rapport à l'accident.

Le recueil représente le cumul de l'ensemble de l'histamine libérée, progressivement stockée dans la vessie au fur et à mesure du catabolisme et de la filtration.

Ce dosage représente un intérêt dans le diagnostic des réactions anaphylactiques, notamment médicamenteuses. Il peut apporter également un élément objectif lors de tests de provocation, à condition que le sujet soit à jeun. C'est aussi un excellent élément du suivi des mastocytoses systémiques.

B.2.5- Dosage des médiateurs spécifiques du mastocyte et de l'éosinophile

1/ Mastocytes : dosage de la tryptase

Les mastocytes sont principalement trouvés dans la peau, les tractus pulmonaire et digestif, le tissu conjonctif et à la périphérie des vaisseaux sanguins.

On définit deux populations mastocytaires dont l'une contient uniquement de la tryptase (type muqueuse) et l'autre de la tryptase et de la chymase (type conjonctif).

La tryptase est stockée et sécrétée, liée à l'héparine. Lorsqu'elle se dissocie rapidement de l'histamine, elle perd son activité enzymatique. Des taux sériques et tissulaires élevés ont été trouvés suite à une stimulation des mastocytes et dans la mastocytose. Associé au fait que sa masse moléculaire est de 134 Kda (voire 111 Da pour l'histamine), cela en fait un marqueur de l'activation mastocytaire plus sûrement détectable dans les liquides biologiques que l'histamine plus labile.

Intérêt du dosage de la tryptase sérique

La détermination de la tryptase sérique apparaît intéressante dans deux circonstances

1. Pour le diagnostic précoce des réactions anaphylactoides peranesthésiques

En France, le risque est évalué à un accident anaphylactique pour 6000 anesthésies (3 millions d'anesthésies générales par an en France). 80 % des accidents sont imputables aux myorelaxants. Le diagnostic de l'accident doit à la fois être immédiat, éventuellement dans un but médico-légal, et différé par la mise en évidence 6 semaines après l'accident, des tests cutanés, d'histamino-libération in vitro et d'IgE spécifiques vis-à-vis des médicaments suspectés.

Trois marqueurs biologiques permettent d'apporter un diagnostic immédiat de la dégranulation des mastocytes ou des basophiles : l'histamine plasmatique, la méthylhistamine urinaire et la tryptase plasmatique.

Pour certains auteurs l'histamine plasmatique du fait de sa demi-vie très courte doit être mesurée dans les dix minutes qui suivent la réaction, or il est souvent difficile d'obtenir des prélèvements très précoces dans un contexte d'urgence.

D'où l'intérêt de la méthylhistamine urinaire qui est éliminée de façon différée, mais qui reste, cependant, moins sensible. La tryptase, quant à elle, diffuse depuis les mastocytes, vers le sang où la demi-vie est d'environ 90 minutes.

La sensibilité diagnostique de la tryptase est inférieure à celle de l'histamine et elle peut rester indétectable lors d'accidents de moindre gravité.

Mais, il existe une corrélation significative entre la concentration de la tryptase extrapolée au temps zéro de l'accident en tenant compte de la demi-vie et le score de gravité.

En pratique, il est conseillé de réaliser deux prélèvements, le premier dès que possible (en général dans les 20 minutes qui suivent l'accident) et le deuxième entre la trentième et la cent vingtième minute.

Enfin, le dosage de la tryptase peut être réalisé sur des prélèvements en post mortem dans les 24 heures qui suivent le décès.

2. La tryptase peut également être dosée au cours de challenges allergéniques naturels ou provoqués dans différents milieux comme liquide de lavage nasal, liquide d'exsudation cutanée.

Ce dosage comparé à celui de l'histamine permet de mieux cerner les phénomènes qui se déroulent au cours de ces challenges (rôle respectif des basophiles et des macrophages, sensibilité de la réaction à la corticothérapie,...)

2/ Éosinophiles : dosage de l'ECP

Parmi les protéines toxiques pour l'épithélium bronchique responsables de lésions tissulaires et de la destruction progressive de la muqueuse, l'ECP est la protéine la plus représentative de l'activité des éosinophiles et diffuse bien dans l'organisme.

Son taux sérique est un excellent reflet de l'état inflammatoire des bronches du patient asthmatique. De la même façon que les explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) permettent de suivre l'état de constriction des muscles bronchiques, l'ECP est le premier paramètre biologique permettant de suivre l'état d'inflammation des bronches et d'estimer le degré d'atteinte de la muqueuse bronchique fréquemment sous évaluée. Ainsi, l'ECP s'utilise en complément des E.F.R.

Les perspectives ouvertes par le dosage de l'ECP sont nombreuses

- diagnostic des asthmes parmi les bronchopathies chroniques obstructives
- choix thérapeutiques : orientation vers un traitement anti-inflammatoire de fond, évaluation de la réponse à la corticothérapie ;
- contrôle de l'asthme : appréciation de la réponse au traitement, observance thérapeutique, ajustement du traitement.

Tableau IV: médiateurs spécifiques des mastocytes, basophiles, éosinophiles

I/ Mastocytes, basophiles

Histamine

Distributeur	Détecteur Final	Marquer	Support Réaction	Durée d'incubation immunologique	Gamme étalon ACIA
Immunotech	Compteur Gamma	¹²⁵ I	Tube revêtu Compétition	30 mn + 18 h	0 à 150 nmol/ml ACMC
Immunotech	Spectrophotomètre	Acétyl-cholinestérase	Puis MP revêtu Compétition	30 mn + 18 h	0 à 50 nmol/ml ACMC

Méthyl-Histamine

Pharmacia	Compteur Gamma	¹²⁵ I	Billes de séphartose	16 h (-2 à -8°C) + 30 mn (température ambiante)	0,2 à 10 µg/l (5 étalons) limite de détection < 0,1 µg/l
-----------	----------------	------------------	----------------------	---	--

II/ Mastocytes : Tryptase

Pharmacia	Compteur Gamma	¹²⁵ I	Tube revêtus IRMA	16 à 18 h une seule incubation	2 à 50 UI/l ACMC sensibilité : 0,5 U/l
-----------	----------------	------------------	----------------------	-----------------------------------	--

II/ Eosinophile : ECP

Pharmacia RIA	Compteur Gamma	¹²⁵ I	Billes se sépharose Compétition	3 h + 30 mn	2 à 200 µg/l
Pharmacia Cap System	Spectro-fluorométrie	β-galactosidase	Immunocap cellulose	30 mn + 150 mn + 10 mn	2 à 200 µg/l

IRMA : Immuno-radiometric assay

ACMA : Anticorps monoclonal

IV - ALVEOLITES ALLERGIQUES EXTRINSEQUES :

Intérêt de l'immunologie dans le diagnostic et le suivi des maladies de Poumon des Eleveurs d'Oiseaux et de Poumon de Fermier



Les maladies du Poumon d'Éleveurs d'Oiseaux (PEO) et du Poumon du Fermier (PF) sont actuellement les plus fréquentes des Alvéolites Allergiques Extrinsèques (AAE). La physiopathologie de ces affections met en jeu des phénomènes d'hypersensibilité à médiation cellulaire et humorale secondaires à l'inhalation de particules organiques végétales ou animales, douées de propriétés antigéniques, et induisant une réaction immunoallergique pulmonaire à expression clinique et radiologique. Trois types d'hypersensibilité (I, III et IV) sont impliqués dans cette pathologie. Le rôle du terrain dans le développement de ces AAE est probable si on considère que seulement 10 % des sujets français exposés ont des symptômes. Le diagnostic, évoqué sur des arguments cliniques associés à des arguments anamnestiques (profession, habitat, environnement), conduit à pratiquer des examens radiologiques, spirométriques et biologiques et, parmi ces derniers, les examens immunologiques occupent une place privilégiée.

IV.1- Épidémiologie

La maladie du Poumon d'Éleveurs d'Oiseaux survient en général en milieu urbain, chez des sujets possédant des oiseaux pour leur agrément, mais aussi chez les aviculteurs professionnels. Il n'y a pas de relation entre la sévérité de l'affection et le nombre d'oiseaux. Les oiseaux responsables sont en général des pigeons, des tourterelles ou des perruches, exceptionnellement des animaux de basse-cour qui volent peu. Dans tous les cas, un contact antigénique prolongé ou répété est indispensable pour l'apparition des troubles.

La maladie du Poumon du Fermier est décrite chez les agriculteurs, en particulier en automne et en hiver, notamment dans les régions humides, à l'occasion de la stabulation du bétail et lors de la manipulation de foin moisi. C'est l'inhalation répétée de fines particules, déposées dans les alvéoles pulmonaires, qui génère cette affection. Ces particules sont composées d'actinomyètes thermophiles présents dans le foin moisi, en particulier *Micropolyspora faeni* et *Thermoactinomyces vulgaris*.

IV.2- Manifestations cliniques

Il n'y a pas d'AAE asymptomatiques. Les manifestations cliniques sont souvent discrètes, ce qui explique la difficulté du diagnostic. Classiquement, la forme aiguë s'exprime par un syndrome pseudo-grippal accompagné de troubles respiratoires (dyspnée, toux sèche). Cette symptomatologie apparaît brutalement 6 à 10 heures après l'inhalation de l'allergène. L'auscultation retrouve quelques râles crépitants qui disparaissent en quelques heures. Les complications chroniques, en particulier les bronchopneumopathies chroniques obstructives et les fibroses pulmonaires sont fréquentes. Leur délai d'apparition ainsi que leur évolution sont variables.

IV.3- Examens biologiques

Les examens biologiques pratiqués en cas de suspicion de PEO ou de PF regroupent des examens non spécifiques et des examens immunologiques.

- Examens non spécifiques :

Les résultats de la numération formule sanguine et de l'électrophorèse des protéines ne sont pas spécifiques. Un syndrome inflammatoire avec hypergammaglobulinémie est souvent associé à une hyperleucocytose à polynucléaires avec parfois hyperéosinophilie.

Il est indispensable de pratiquer, dès les premiers signes cliniques, une exploration fonctionnelle respiratoire (spirométrie) et une gazométrie artérielle permettant d'évaluer la gravité de l'atteinte fonctionnelle.

En phase aiguë, la radiographie pulmonaire montre un aspect micronodulaire interstitiel bilatérale. Néanmoins, à distance des troubles fonctionnels, il n'existe généralement plus aucune image pathologique. Par compte, pour les stades évolués, on peut constater l'apparition d'images en nid d'abeille évocatrices d'une fibrose pulmonaire.

Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) est fréquemment réalisé afin d'étudier les aspects cytologiques et biochimiques de la maladie: hyperlymphocytose (60 à 70 %), troubles du métabolisme des phospholipides (augmentation de la fraction phosphatidyl-inositol associée à une baisse importante de la phosphatidyl-choline). Des anti-corps spécifiques peuvent être détectés dans le LBA. Leur analyse sera exposée dans le chapitre traitant de l'immunologie.

- Étude immunologique

L'immunologie occupe une place privilégiée dans le diagnostic des AAE. L'exploration de l'immunité spécifique *in vitro* comporte des tests réalisés soit *in vivo*, soit *in vitro*. Parmi les tests *in vivo*, les tests cutanés consistent à injecter par voie intradermique un extrait antigénique purifié. Les tests de provocation par inhalation restent, bien qu'ils soient très significatifs, rarement utilisés en raison de leur réalisation délicate et du risque respiratoire encouru par le patient. Les tests *in vitro* sont principalement orientés vers la recherche des anticorps circulants.

De nombreuses techniques sont proposées, en particulier les réactions de précipitation, mais aussi l'immunofluorescence indirecte, l'hémagglutination, les tests immunoenzymatiques (ELISA) et radio-immunologiques. Les différentes techniques faisant appel aux réactions de précipitation sont l'immunodiffusion double, l'immunoélectrophorèse et, plus récemment la co-immunoélectrodifusion (Co-IED). La Co-IED sur membrane d'acétate de cellulose est une technique analytique sensible, spécifique, simple et rapide. Les immuns complexes précipitants qui se sont formés lors de la migration électrophorétique apparaissent sous forme d'arcs. Réalisé en moins de trois heures, ce test permet de comparer la spécificité des anticorps du sérum étudié avec ceux d'un sérum témoin d'après la continuité des systèmes précipitants. Analytique, il est aussi semi-quantitatif, la position des arcs de précipitation étant liée à leur concentration en anticorps. En cas de positivité de la Co-IED, l'étude des précipitines peut être complétée par la détermination de leur classe respective IgG, M ou A. Cette caractérisation des isotopes des différents arcs de précipitation est réalisée par la méthode Enzyme-Linked-Immuno-Filtration-Assay (ELIFA).

IV.4- Diagnostic immunologique de la maladie des Poumons d'Éleveurs d'Oiseaux

Le diagnostic immunologique du PEO comporte habituellement la recherche des anticorps précipitants vis-à-vis d'un extrait de déjections de pigeons. Ces anticorps sont présents chez les patients atteints d'ARE, mais peuvent être également détectés chez 40 à 60 % des sujets contacts asymptomatiques. La détection de marqueurs bien spécifiques s'avère donc nécessaire. Pour cela, il a été proposé de faire appel à une fraction riche en IgA de pigeon (IgAp). Cette fraction peut être obtenue à partir du lait de jabot de pigeonneau. Nous disposons également d'un autre système remarquable, le système « P2 » révélé à partir de l'utilisation d'extrait soluble de déjections de pigeons. La Co-IED appliquée à la recherche d'anticorps anti IgAp et anti P2 présente une sensibilité de 98 % et une spécificité de 89 %.

L'hémagglutination passive est un test quantitatif qui complète utilement ces techniques analytiques. Elle présente un intérêt au moment du diagnostic, mais également dans la surveillance de la maladie. Nous utilisons, pour ce test, des hématies sensibilisées à l'aide d'une préparation antigénique riche en IgAp.

En pratique, pour le diagnostic immunologique de PEO, il est recommandé de rechercher par Co-IED les arcs IgAp et P2 et de compléter par une technique quantitative, telle que l'hémagglutination. Si l'exposition concerne des oiseaux autres que les pigeons, il est indispensable de rechercher des précipitines vis-à-vis des antigènes correspondant aux espèces aviaires incriminées. Lorsque le diagnostic de PEO est posé, la surveillance immunologique est poursuivie pour apprécier, chez le patient, la cinétique de diminution des anticorps.

IV.5- Diagnostic immunologique de la maladie de Poumon de Fermier

Le diagnostic immunologique de la maladie de PF repose également sur la détection de précipitines. Celles-ci sont généralement spécifiques d'actinomyètes thermophiles, en particulier de *Micropolyspora faeni* et *Thermoactinomyces vulgaris* ou encore d'un extrait de foin moisie. La Co-IED permet de détecter les différentes précipitines spécifiques, mais la mise en évidence d'anticorps précipitants vis-à-vis de ces différents antigènes n'est pas un critère suffisant pour poser le diagnostic de PF. En effet, celle-ci peut seulement témoigner d'un contact antigénique sans réaction pathologique. En outre, il n'existe pas toujours de corrélation étroite entre la gravité de l'affection et le nombre d'arcs de précipitation. Dans la maladie du Poumon de Fermier à *Micropolyspora faeni*, des systèmes précipitants remarquables ont été décrits et la détection par Co-IED d'arc à activité chymotrypsique ou comportant une fraction polysaccharidique constitue un argument diagnostique important en faveur d'une maladie

de Poumon de Fermier. Une étude effectuée sur 3 279 sérums a permis d'évaluer la sensibilité et la spécificité de la Co-IED (respectivement 86 et 100 %). L'ELIFA complète ce diagnostic. En effet, l'association des différents isotypes G, M et A est caractéristique des sujets malades alors que les sujets contacts asymptomatiques n'ont généralement que des IgG spécifiques.

IV.6- Étude du lavage broncho-alvéolaire

L'exploration du lavage broncho-alvéolaire (LBA) dans les AAE est particulièrement intéressante. Outre les explorations cytologiques et biochimiques, l'étude immunologique du LBA peut permettre de mettre en évidence des précipitines. La Co-IED permet de comparer la spécificité des anticorps décelés dans le LBA et dans le sérum. En cas de présence de précipitines dans le LBA, on complétera la Co-IED par une filtration immunoenzymatique par ELIFA. L'étude immunologique du LBA peut s'avérer particulièrement intéressante dans le cas des AAE sans précipitines décelables dans le sérum.

IV.7- Autres alvéolites allergiques extrinsèques

Les maladies du PEO et du PF sont les plus fréquentes des AAE. Mais divers environnements professionnels peuvent également être responsables de pneumopathies d'hypersensibilité. En milieu rural, la maladie des champignonistes et celle des fromagers sont décrites alors que la maladie des climatiseurs et celle des humidificateurs sont plutôt considérées comme des alvéolites de milieu urbain. Le diagnostic immunologique de ces alvéolites repose également sur la détection d'arcs de précipitation par Co-IED. En l'absence de marqueurs remarquables, ce diagnostic immunologique est discuté sur le nombre et l'intensité des arcs observés et il n'est pas toujours possible de discriminer les malades des sujets contact.

IV.8- Diagnostic différentiel

Les principaux diagnostics différentiels devant un syndrome intersticiel accompagné d'une lymphocytose alvéolaire sont les pneumopathies d'origine virale, la sarcoïdose, la tuberculose miliaire et les lymphangites carcinomateuses. L'« Organic Dust Toxic Syndrome » ou maladie des minotiers et grainetiers, proche des AAE épidémiologiquement et cliniquement, survient essentiellement en milieu céréalier ou d'élevage confiné. Son mécanisme physiopathologique ferait intervenir des endotoxines. La radiologie ne montre qu'exceptionnellement un syndrome intersticiel radiologique. Quant au LBA, il permet de mettre en évidence une alvéolite à polynucléaires neutrophiles. Si l'évolution vers la fibrose est rare, elle se complique en revanche fréquemment d'une bronchopneumopathie chronique obstructive.

Conclusion

Le profil épidémiologique, clinique et paraclinique actuellement bien établi permet au clinicien d'évoquer une alvéolite allergique extrinsèque. Outre les données cliniques, le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, spirométriques, radiologiques et immunologiques.

Cependant, dans les alvéolites allergiques extrinsèques, la détection de précipitines ne constitue pas un argument diagnostique de certitude. Aussi, il paraît indispensable de rechercher par Co-IED les marqueurs spécifiques proposés pour le PF et le PEO. Ces examens peuvent être utilement complétés par la caractérisation des isotypes spécifiques par ELIFA. Ces techniques contribuent efficacement à résoudre le principal problème posé au biologiste, discriminer les malades des sujets contacts.

Cahiers de formation déjà parus

- | | |
|--|--|
| N° 1 : <i>HÉMATOLOGIE</i> | N° 15 : <i>DÉPISTAGE</i> |
| N° 2 : <i>IMMUNOANALYSE</i> | <i>DE LA TRISOMIE 21</i> |
| N° 3 : <i>PARASITOLOGIE</i> | N° 16 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (2)</i> |
| N° 4 : <i>BACTÉRIOLOGIE</i> | N° 17 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i> |
| N° 5 : <i>HORMONOLOGIE</i>
<i>GAZOMÉTRIE</i> | <i>A (VHA) et E (VHE)</i> |
| N° 6 : <i>G.B.E.A.</i> | N° 18 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i> |
| N° 7 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (1)</i> | <i>TOME II</i> |
| N° 8 : <i>HÉMOGLOBINES GLYQUÉES</i>
<i>LIPIDES</i> | N° 19 : <i>VAGINITES ET VAGINOSES</i> |
| N° 9 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i>
<i>TOME I</i> | N° 20 : <i>HÉMOSTASE ET THROMBOSE</i> |
| N° 10 : <i>HÉMATOLOGIE</i>
<i>CAS ILLUSTRÉS</i> | N° 21 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>
<i>B (VHB), DELTA (VDH),</i>
<i>C (VHC), AUTRES</i> |
| N° 11 : <i>AMIBES ET FLAGELLÉS</i>
<i>INTESTINAUX</i> | N° 22 : <i>SYNDROME</i>
<i>DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES</i> |
| N° 12 : <i>LES MALADIES A PRIONS</i> | N° 23 : <i>PARASITES SANGUINS</i> |
| N° 13 : <i>AUTOIMMUNITÉ</i>
<i>ET AUTOANTICORPS</i> | N° 24 : <i>BIOCHIMIE PEDIATRIQUE</i> |
| N° 14 : <i>L'EXPLORATION</i>
<i>DE LA THYROÏDE</i> | N° 25 : <i>LES MOISSISSURES</i>
<i>D'INTÉRÊT MÉDICAL</i> |

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet www.bioforma.net à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.