

## COMMUNICATION

### **Allergènes recombinants dans le diagnostic de l'allergie et l'immunothérapie allergénique — Intérêt chez l'enfant**

MOTS-CLÉS : HYPERSENSIBILITÉ. PÉDIATRIE. ALLERGÈNES. TESTS IMMUNOLOGIQUES. IMMUNOTHÉRAPIE. DÉSENSIBILISATION IMMUNOLOGIQUE

#### *Recombinant allergens for diagnosis and specific immunotherapy — Value in pediatric patients*

KEY-WORDS (Index medicus): HYPERSENSITIVITY. PEDIATRICS. ALLERGENS. IMMUNOLOGIC TESTS. IMMUNOTHERAPY. DESENSITIZATION, IMMUNOLOGIC

Rémy COUDERC \*, Jocelyne JUST \*\*

**Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.**

## RÉSUMÉ

*L'identification de l'allergène en cause a toujours présenté un grand intérêt pour appliquer des mesures préventives et mettre en œuvre un traitement par l'immunothérapie allergénique (ITA). Depuis la fin des années 1980, l'application des techniques de clonage moléculaire à la caractérisation des allergènes a permis d'importantes avancées dans la connaissance des épitopes impliqués dans l'allergie IgE-médiée et la production in vitro d'allergènes recombinants d'intérêt pour le diagnostic de sensibilisation allergénique. Cela a aussi facilité la compréhension des réactivités croisées, parfois responsables de manifestations cliniques graves, en particulier chez les enfants qui présentent des allergies alimentaires et un asthme allergique. Enfin la connaissance des mécanismes cellulaires et moléculaires de la sensibilisation allergique grâce aux allergènes recombinants naturels ou modifiés a permis d'élaborer des stratégies d'ITA*

\* Laboratoire de Biochimie, Hôpital Armand Trousseau, 26 avenue du Dr Arnold Netter — 75012 Paris ; e-mail : remy.couderc@trs.aphp.fr

\*\* Centre de l'Asthme et des Allergies, Hôpital Armand Trousseau, 26 avenue du Dr Arnold Netter — 75012 Paris

*Tirés à part : Professeur Rémy COUDERC, même adresse  
Article reçu le 16 octobre 2012, accepté le 25 mars 2013*

*efficaces qui permettent d'envisager dans les années futures des rémissions prolongées des patients, permettant d'éviter le recours aux traitements symptomatologiques chroniques, et cela très précocement dans l'enfance.*

## SUMMARY

*Identification of culprit allergens is important for prophylactic measures and specific allergen immunotherapy (SIT). Since the late 1980s, the use of molecular cloning technology has led to a major improvement in our knowledge of epitopes involved in IgE-mediated allergy, and has also allowed in vitro production of recombinant allergens of interest for the diagnosis of allergenic sensitization. It has also improved our understanding of allergen cross-reactivity, which can be responsible for severe clinical manifestations, particularly in children with food allergy and allergic asthma. Better knowledge of molecular and cellular mechanisms of allergenic sensitization, based on the use of natural or modified recombinant allergens, has led to the development of effective SIT strategies which, in the foreseeable future, could provide genuine cure, therefore avoiding use of symptomatic therapeutics, starting very early in childhood.*

## INTRODUCTION

La sensibilisation allergénique se fait par contact avec une source allergénique, aliment, pollen, animal, moisissure, acariens... contenant de nombreux allergènes. Les allergènes majeurs représentent plus de 50 % des sensibilisations à la source allergénique. Les autres allergènes sont qualifiés de mineurs. En pratique courante seules les IgE réactivités vis-à-vis des allergènes majeurs sont recherchées. L'identification de l'allergène en cause permet d'appliquer des mesures préventives (évitement de l'allergène) et de mettre en œuvre un traitement spécifique *l'immunothérapie allergénique (ITA)*. L'allergène peut être identifié par des tests cutanés allergologiques (TCA) et par les dosages des IgE spécifiques dans le sérum voire *in vivo* par des tests de provocation (par voie orale ou inhalée) qui utilisent la source allergénique. Cependant les premières tentatives d'identification de l'allergène causal ont été limitées du fait de l'utilisation d'extraits allergéniques bruts, ne permettant pas d'atteindre le niveau moléculaire. L'introduction des méthodes de purification des protéines et les techniques immunochimiques ont permis de purifier certains allergènes, mais avec un rendement et un taux de pureté souvent insuffisants pour obtenir des informations sur la séquence primaire et la structure tridimensionnelle des molécules [1]. Des progrès décisifs ont été réalisés lorsque les techniques d'expression par clonage ont été appliquées à la caractérisation des allergènes dans les années 1980. Très schématiquement ces techniques consistent à isoler les ARNm d'une source allergénique, à les transformer en ADN complémentaire (ADNc) par la transcriptase inverse et à incorporer ces ADNc dans des vecteurs dits d'expression

qui permettent de faire exprimer les gènes dans des cellules hôtes (bactéries, levure, cellules eucariotes). Les protéines allergéniques ainsi produites peuvent être identifiées par les IgE des sérums de patients allergiques et les ADN séquencés permettent d'accéder à la séquence primaire protéique des allergènes. La structure des protéines allergéniques d'intérêt peut être enfin étudiée. C'est lorsqu'en 1988 Thomas *et al* [2] ont rapporté le clonage et l'expression dans *E. coli* du gène de l'allergène majeur Der p. 1 de l'acarien *Dermatophagoïdes pteronissynus* que la biologie moléculaire a fait irruption dans le domaine de l'allergologie [3]. Depuis un grand nombre d'allergènes a été cloné et les séquences des gènes et des protéines de la plupart des allergènes fréquents sont aujourd'hui connues et la structure tridimensionnelle de beaucoup d'allergènes importants a été déterminée [4].

L'identification des allergènes majeurs d'une grande variété de sources est aujourd'hui largement utilisée pour la détection et le dosage des IgE spécifiques et des techniques de biopuces (*microarrays*) autorisent à doser les IgE spécifiques de plus de 100 allergènes en un seul test en routine et contribuent au diagnostic et à la connaissance de l'épidémiologie de l'allergie [5, 6]. La technologie de l'ADN recombinant a aussi permis de mieux comprendre les mécanismes allergiques pour proposer des méthodes de traitement de la maladie allergique [7] (Figure 1).

## INTÉRÊT DE LA CONNAISSANCE DES ÉPITOPES IMPLIQUÉS DANS LA RÉACTION ALLERGIQUE

Le terme d'épitope, introduit par Niels Jerne en 1960, renvoie à un déterminant antigénique ou une partie de la molécule reconnue par un anticorps. Dans l'allergie, les anticorps IgE sont produits contre des épitopes spécifiques de protéines ou glycoprotéines étrangères au cours de la sensibilisation. Lors d'un contact ultérieur avec l'allergène, la reconnaissance spécifique de ces épitopes de l'allergène par les IgE liées à la surface des cellules effectrices telles que les polynucléaires basophiles ou les mastocytes est essentielle pour le développement de la réponse allergique.

Alors que les anticorps monoclonaux (Acm) ne reconnaissent qu'un seul épitope, de nombreux épitopes sont impliqués dans la réponse allergique IgE polyclonale.

Les anticorps peuvent reconnaître des épitopes continus sur les antigènes (ou épitopes T), qui consistent en une séquence de quelques acides aminés, ou des épitopes conformationnels (ou épitopes B), qui sont constitués d'acides aminés situés dans des régions non contiguës de la structure primaire de la protéine, mais voisins dans la structure tridimensionnelle [8].

À partir des années 80, plusieurs études ont permis de co-localiser les épitopes reconnus par des Acm et les IgE par des techniques d'inhibition, mais sans identifier les résidus spécifiques impliqués dans la réaction allergène-IgE. Ce n'est qu'à partir du moment où l'on mis en œuvre les techniques de clonage moléculaire et d'études conformationnelles que les épitopes ont pu être précisément identifiés.

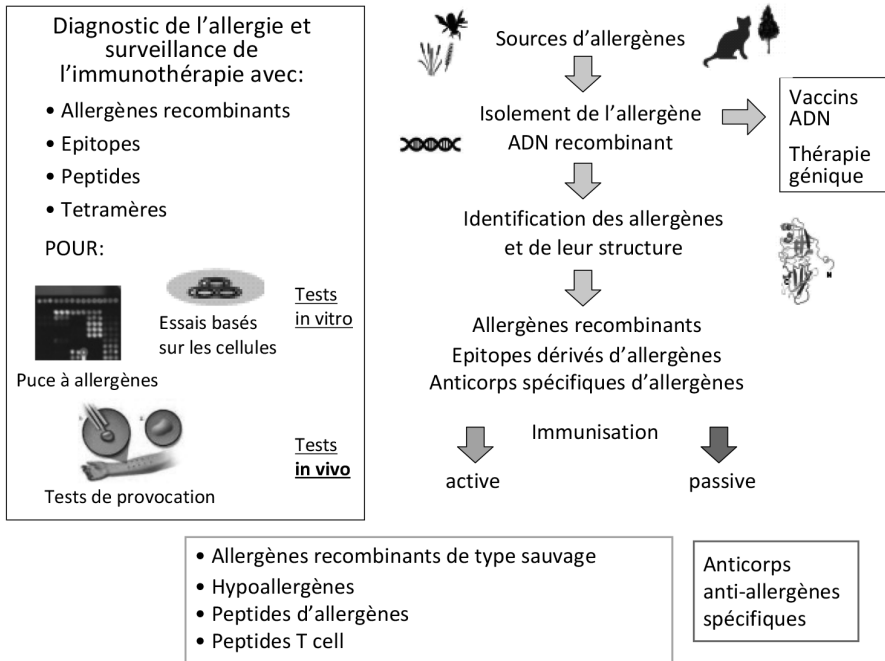


FIG. 1. — production et utilisation des allergènes recombinants (d'après la référence 45)

Les répertoires des déterminants antigéniques des allergènes ont été établis par les techniques des peptides synthétiques chevauchants, des fragments d'allergène recombinant ou des allergènes dénaturés (*unfolded*). Ces techniques ont permis d'identifier la plupart des épitopes linéaires (épitopes T) qui sont impliqués par exemple dans la sensibilisation aux allergènes alimentaires qui sont insensibles à la digestion ou à la cuisson. L'étude des épitopes continus de plusieurs allergènes importants a montré qu'ils lient les IgE qui leur sont spécifiques relativement faiblement mais qu'ils jouent un rôle important pour les allergènes alimentaires. Plusieurs études ont montré que les IgE se liant majoritairement aux épitopes conformationnels sont associées à des allergies transitoires au lait et à l'œuf, tandis que des IgE reconnaissant les épitopes séquentiels de ces protéines sont des marqueurs d'allergie persistante. Environ 80 % des enfants allergiques au lait ou à l'œuf sont tolérants à ces aliments cuits, ce qui indique que les épitopes conformationnels sont majoritairement reconnus par les IgE de ces patients [9]. En revanche, la plupart des allergènes respiratoires ont principalement des épitopes conformationnels, probablement parce qu'ils diffusent facilement des particules allergéniques (pollens par exemple) pour sensibiliser sous forme de protéine native à travers le mucus respiratoire. Ces allergènes perdent une grande partie de leur capacité de liaison des IgE lorsqu'ils sont dénaturés. Pour les allergènes inhalés (aero-allergènes)

les épitopes conformationnels, ou épitopes B, semblent être les cibles principales de la réponse IgE.

La connaissance de la structure moléculaire des allergènes isolés ou liés aux anticorps qui interfèrent avec la liaison des IgE est importante pour comprendre la reconnaissance immune des déterminants B des allergènes et la conception d'allergènes recombinants pour l'immunothérapie allergénique.

Grâce aux techniques de clonage moléculaire et d'expression des allergènes permettant d'obtenir des molécules en quantité et de pureté suffisantes pour les analyser par les techniques de cristallographie aux rayons X et de résonance magnétique nucléaire, il a été possible de visualiser les épitopes conformationnels sur les allergènes [10].

Bien que les contacts répétés avec l'allergène amplifient considérablement la réponse immune allergique, tout indique que le profil épitopique reconnu par le patient allergique est constant au cours de l'évolution de la maladie allergique.

## **ALLERGÈNES RECOMBINANTS POUR LE DIAGNOSTIC DE SENSIBILISATION ALLERGÉNIQUE**

Les différents allergènes recombinants sont de plus en plus utilisés et principalement en allergologie alimentaire. En cas d'allergie multiple on peut faire appel à des biopuces (microarrays) qui permettent de rechercher et doser les IgE spécifiques vis à vis de plus de 100 allergènes en un seul test en routine [5].

Les sources allergéniques contiennent plusieurs molécules allergéniques qui sont reconnues par des proportions variables de sujets allergiques et peuvent parfois montrer une large plage de réactivité allergénique. Certains allergènes sont très spécifiques d'une source allergénique et permettent donc un diagnostic sans ambiguïté de sensibilisation vis-à-vis de cette source allergénique. D'autres allergènes présentent une réactivité croisée avec de nombreux autres allergènes présents dans des sources allergéniques sans rapport entre elles, ce qui explique la réactivité clinique de ces patients à ces sources différentes par une réactivité immunologique croisée. Les principaux exemples d'allergènes responsables de réactivité croisée sont présentés dans le paragraphe suivant : les profilines végétales, protéines du cytosquelette, présentes dans plus de 100 sources allergéniques, dont 50 pollens, les tropomyosines, protéine musculaire présente chez les crustacés, les acariens et les mollusques, les protéines végétales de défense PR-10 (PR : *pathogenesis-related*) présentes sous de nombreuses isoformes dans le bouleau (Bet v1), l'arachide, la noisette, le soja, le Kiwi, le céleri, etc. et parmi les protéines liant le calcium, les polcalcines qui sont des panallergènes polliniques [10].

La mise au point de tests diagnostiques basés sur la technologie des micropuces d'allergènes permet d'explorer la réponse anticorps (IgE, IgG...) avec peu de sérum ou d'autre liquide biologique très précocement dans l'enfance pour

identifier finement les sensibilisations et adapter la prescription de l'immunothérapie spécifique.

## INTÉRÊT DE L'IDENTIFICATION PRÉCISE DES SENSIBILITÉS ALLERGÉNIQUES CHEZ LES ENFANTS

*La marche atopique* se définit comme la succession au cours de l'enfance de sensibilisations allergéniques aux trophallergènes puis aux pneumallergènes. Ces sensibilisations sont associées à des maladies atopiques comme la dermatite atopique et l'allergie alimentaire puis l'asthme et la rhinite allergique. La polysensibilisation allergénique est un facteur de risque de maladies allergiques plus sévères [11].

L'allergie alimentaire qui est souvent la première manifestation de l'allergie de l'enfance est trois fois plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte et prédispose au développement ultérieur des allergies respiratoires. En France, les aliments responsables des trois quarts des *allergies alimentaires* chez l'enfant sont l'œuf (36 %), l'arachide (24 %), le lait de vache (8,5 %), la moutarde (6 %) et le poisson (4,5 %). La crevette, la noisette, le kiwi, le blé, le bœuf, les pois, les lentilles, le soja et le lupin sont responsables ensemble d'environ 11 % des allergies alimentaires de l'enfant [12]. Ces sensibilisations évoluent en fonction de l'âge.

Le suivi longitudinal de cohortes d'enfants nés de parents atopiques a montré que 50 % des nourrissons de moins de 1 an, souffrant d'allergie alimentaire multiple, sont déjà sensibilisés à un pneumallergène et que dans plus de la moitié des cas l'allergie alimentaire de l'enfant s'exprimera ensuite par des manifestations respiratoires.

L'évolution du répertoire des IgE spécifiques de composant allergénique entre la naissance et l'adolescence traduit bien les caractéristiques cliniques de la « marche allergique ». La sensibilisation précoce par les allergènes du lait et des œufs s'exprime par un nombre réduit de spécificités IgE suivie après la première année de vie par une sensibilisation à des allergènes inhalés tels que les acariens, caractérisée par un nombre élevé de spécificités IgE. Les réactivités croisées et les sensibilisations vis-à-vis des pan-allergènes apparaissent rarement avant l'âge de 6 ans. La sensibilisation vis-à-vis de certains allergènes alimentaires tels que les tropomyosines (Pen a 1, Der p. 10), ou vis à vis de pneumallergènes comme les graminées (Phl p. 1) ou le bouleau (Bet v 1) tendent aussi à se développer à partir de 6 ans [13]. Ces résultats précisent ceux obtenus par une autre large étude italienne ayant aussi utilisé la technique de puce à allergènes [14] qui s'est avérée en bonne concordance avec la technique « classique » de dosage des IgE spécifiques, bien que certaines sensibilisations comme l'Ambrosie, l'Aspergillus et le Chien soient moins bien détectées [15]. Cette bonne concordance des techniques a aussi été retrouvée avec les allergènes du lait de vache et de l'œuf de poule chez des enfants [16, 17]. Enfin il a été montré que la prévalence des réactivités vis-à-vis des pan-allergènes de type profilines, PR-10 (*pathogenesis related*) et tropomyosines varient avec l'âge dans une

population de sujets âgés de 1 à 98 ans sensibilisés à au moins l'un des pan-allergènes de type profiline, PR-10 ou tropomyosine. Les patients de moins de 5 ans reconnaissent majoritairement les tropomyosines, tandis que la sensibilisation vis-à-vis des profilines est plutôt retrouvée chez les patients entre 6 et 45 ans et celle vis-à-vis des PR-10 chez ceux de plus de 45 ans [18].

Trois grandes familles d'allergènes sont retrouvées dans toutes les plantes (pan-allergènes) et sont responsables de *sensibilisations croisées* dont l'expression clinique dépend généralement de la famille allergénique en cause. Il s'agit de la famille des PR-10, dont Bet v 1, allergène majeur du bouleau est l'un des représentant le plus souvent impliqué dans ces sensibilisations croisées, de la famille des profilines et de la famille des LTP (*Lipid Transfer Protein*).

Les allergies alimentaires dues à une sensibilisation au pollen de bouleau (Noisette, Arachide, Soja, Céleri, Pêche, Kiwi, pomme, cerise...) par réaction croisée de la PR-10 de ces aliments (respectivement Cor a 1, Ara h 8, Gly m 4, Api g 1, Pru p. 1, Act d 8, Mal d 1, Pru av 1) avec la PR-10 du bouleau Bet v 1 sont fréquentes mais le plus souvent d'expression clinique modérée (syndrome oral), probablement en partie du fait de l'instabilité des PR-10 à la cuisson et à la digestion. Une étude belge a montré, en utilisant la technologie des puces à allergènes, que dans les régions riches en bouleaux, le profil de sensibilisation des patients allergiques à la noisette dépendait de l'âge. En effet, les patients adultes, qui présentent le plus souvent un simple syndrome oral à l'ingestion de noisette, sont sensibilisés à Cor a 1.04, l'homologue de l'allergène majeur du bouleau Bet v 1, et à Bet v 1 lui-même. En revanche, les enfants d'âge pré-scolaire, qui présentent des réactions plus sévères à l'ingestion de noisette, sont majoritairement sensibilisés à Cor a 9 (protéine de stockage) et dans une moindre proportion à Cor a 8, famille des *lipid transfer proteins* (LTP), et ne sont pas sensibilisés à Bet v 1 [19]. Enfin il a aussi été décrit des réactions sévères chez des enfants sensibilisés à Bet v 1 après ingestion de lait de soja par réaction croisée avec la PR-10 du soja (Gly m 4) en période de pollinisation [20].

Les LTP, se sont révélées être les seuls allergènes reconnus par les IgE chez des patients uniquement allergiques à la pêche (Pru p3), à la pomme (Mal d 3), à l'abricot et aux pruneaux, mais pas allergiques au pollen de bouleau. Les LTP isolées à partir des différents fruits de la sous-famille des prunoïdées présentent entre elles une analogie élevée de la séquence d'acides aminés, ce qui explique la fréquence des réactions croisées entre ces différents fruits chez un même patient. Il s'agit d'allergènes particulièrement résistants à la pepsine lors de la digestion et thermostables. L'importance clinique des LTP se manifeste surtout dans les pays du Sud de l'Europe, avec potentiellement une symptomatologie plus sévère pouvant toucher plusieurs organes [21]. L'allergie à la pêche, et plus généralement aux fruits des rosacées, est souvent associée à des allergies au pollen de bouleau ou d'armoise (IgE réactivité PR-10), tandis que dans le bassin méditerranéen elle est souvent indépendante de toute allergie aux pollens, avec une IgE réactivité anti LTP. Trois épitopes reconnus par les IgE de ces patients allergiques ont été identifiés sur la LTP de la pêche, Pru p. 3. L'épitope 2 à une séquence très conservée dans toutes

les LTP des rosacées, présente une conformation quasi identique chez toutes ces LTP responsables de nombreuses réactions croisées pouvant, chez l'enfant, entraîner des chocs anaphylactiques [22].

Les profilines sont des protéines ubiquitaires présentes dans toutes les cellules eucaryotes qui ont été identifiées comme allergènes dans les pollens, les aliments végétaux et le latex. Leur structure très conservée explique la réactivité croisée des IgE vis-à-vis de l'ensemble des profilines et justifie le qualificatif de pan-allergène. Pour citer quelques exemples, les profilines sont responsables de réactions croisées entre les pollens de bouleau et d'armoise et le céleri et les carottes, entre les pollens de graminés et le céleri et les carottes et entre les pollens d'arbre et la noisette. [21]. Cependant pour la plupart des pollens et des aliments les profilines sont des allergènes mineurs, sauf dans le soja, le melon et l'orange. La sensibilisation vis-à-vis des profilines des aliments n'est retrouvée que chez des sujets aussi sensibilisés aux profilines des pollens qui semblent donc induire la sensibilisation. En Europe la sensibilisation aux profilines serait due à Bet v 2 (bouleau) dans le nord, à Bet v 2 et Phl p. 12 (Phléole) dans le centre, et à Phl p. 12 dans le sud, ceci pouvant entraîner des variations dans les réactions croisées vis-à-vis des aliments. Une sensibilisation à une profline, sans IgE réactivité vis-à-vis de l'allergène majeur du pollen (comme : Phl p. 1, Phl p. 5, Bet v 1, Ole e 1, Parj1/2 ou Art v 1) peut être considérée en règle générale comme non cliniquement pertinente [23]. En tant qu'allergènes alimentaires, les profilines, qui sont stables à la chaleur et sensibles à la pepsine, entraînent habituellement des réactions modérées, comme un syndrome oral. Cependant elles sont responsables de réactions plus sévères dans les allergies à certains fruits comme le melon, la pastèque, la banane, la tomate, le citron et le kaki. De plus, lorsque la quantité d'aliment ingéré dépasse les capacités des enzymes digestives, ou s'il existent des facteurs de risque de réaction sévère, il ne faut pas exclure les profilines comme allergènes responsables de réactions sévères.

Il est donc important d'établir son profil de sensibilisation pour la prise en charge du patient par exemple dans le cas des polysensibilisations aux pan-allergènes de type profilines qui peuvent être à l'origine de réactivités croisées pollen-fruits et parfois d'un syndrome oral ou encore dans l'indication d'une l'ITA aux graminés, la sensibilisation à Phl p. 1 et Phl p. 5 déterminant l'IT aux graminées alors que Phl p. 7 et 12 s'ils prédominent contre-indiquent cette IT [6].

Une équipe française de Nancy a montré à l'aide des trois allergènes majeurs recombinants de l'arachide, Ara h 1, 2 et 3 que tous les patients allergiques à l'arachide avaient un TCA positif avec Ara h 2, 40 % réagissaient à Ara h 1 et 27 % à Ara h 3, et qu'aucun des sujets contrôles ne réagissait avec un allergène recombinant. La monosensibilisation à Ara h 2 était observée chez 53 % des patients. Ni la taille du TCA ni le niveau des IgE spécifiques n'étaient corrélés avec la gravité de l'allergie. En revanche les patients présentant une monosensibilisation à Ara h 2 avaient des scores de gravité clinique et des taux d'IgE spécifiques contre les extraits d'arachide et contre Ara h 2 plus faibles que les patients présentant une polysensibilisation [24]. Du fait du coût élevé des TCA avec des allergènes recombinants, cette



même équipe a aussi évalué la performance diagnostique du dosage des IgE spécifiques d'Ara h 1, 2, 3, 6, 7 et 8 et d'extrait d'arachide, dans une grande cohorte de patients (n = 227) recrutés sur deux centres. Les patients étaient répartis en trois groupes : sujets allergiques à l'arachide, sujets sensibilisés au pollen mais pas allergiques à l'arachide et sujets contrôles sans maladie allergique. Soixante-dix-neuf pour cent des patients sensibilisés aux pollens avaient des IgE spécifiques de l'arachide. En combinant les résultats des IgE spécifiques de l'arachide et d'Ara h 2 et d'Ara h 6 les auteurs ont obtenu un diagnostic d'allergie à l'arachide avec 98 % de sensibilité et 85 % de spécificité au seuil de 0,10 KUI/l, et 93 % de sensibilité et 96 % de spécificité au seuil de 0,23 KUI/l. Ces résultats montrent que dans la plupart des cas l'allergie à l'arachide peut être diagnostiquée à l'aide d'un simple dosage d'IgE spécifiques de l'arachide et d'Ara h 2 ou 6. Le test de provocation pouvant être réservé aux rares cas où une histoire clinique pertinente et un test positif à l'arachide s'accompagnent d'IgE spécifiques des recombinants de l'arachide indétectables [25].

*Les pollens* induisent plus souvent une rhinite qu'un asthme mais l'asthme exclusivement pollinique représente tout de même 15 % des asthmes atopiques [26]. Les asthmes allergiques ont une recrudescence saisonnière surtout lorsqu'ils sont liés une sensibilisation pollinique. La symptomatologie est facilement modifiée lorsque le patient présente des symptômes en relation avec des sensibilisations vis-à-vis de multiples allergènes. L'évaluation des sensibilisations multiples chez 162 enfants présentant une rhinite ou un asthme allergique et âgés de 4 à 16 ans a montré que la sensibilisation croisée aux allergènes de la Phléole était présente chez 46 % des enfants et que chez 36 % d'entre eux (58 enfants) la polysensibilisation concernait des allergènes de pollens végétaux (Phléole) et des allergènes non végétaux (acariens, poils de chat) [27]. L'évaluation des profils de sensibilisation de 200 enfants âgés de 4 à 18 ans, atteints de rhinite et /ou d'asthme pollinique a montré une grande hétérogénéité des profils de sensibilisation allergénique à 9 composants allergéniques de la Phléole indiquant qu'il serait nécessaire d'établir ce profil chez chaque patient pour préparer un mélange d'allergène adapté à l'ITA ou plus simplement être sûr que l'extrait allergénique utilisé contient ces différents allergènes en quantité suffisante [28].

*L'asthme aux acariens* se développe essentiellement chez l'enfant et chez l'adulte jeune, sur un terrain allergique. Souvent le patient a des antécédents de dermatite atopique, et la symptomatologie respiratoire basse est associée à une rhinite qui en général a précédé la symptomatologie respiratoire de quelques années. Cet asthme est en général peu sévère. Cependant il a été montré chez 253 enfants originaires de Singapour suivis pour rhinite, dermatite atopique ou asthme, que les sensibilisations multiples aux acariens (Der p. 1, Derp 2, Blo t 5, Blo t 7 et Blo t 21) étaient un facteur prédictif d'une expression multi-systémique de l'allergie (OR : 4,3) [29]. La tropomyosine, protéine musculaire, est un allergène majeur chez beaucoup d'invertébrés incluant la crevette (Pen a 1), la blatte (Per a1), les acariens (Der p. 10 et Der f 10) et les escargots (Tur c 1). Du fait d'une large homologie de séquence, de fortes réactivités croisées ont été rapportées entre les tropomyosines de différentes espèces

d'invertébrés. Ainsi jusqu'à 30 % des patients allergiques aux acariens ou à la blatte présentent une IgE-réactivité avec la crevette ou aux escargots sans avoir été en contact avec ces aliments. Ces allergies croisées entre acariens et crustacés ou escargots peuvent être responsables de réactions anaphylactiques graves voire mortelles lorsque ces aliments sont ingérés en grande quantité. Dans le cas des acariens, la coexistence d'une sensibilisation à Der p. 1 et Der p. 2 avec absence de sensibilisation à Der p. 10 augurerait d'une bonne efficacité de l'ITA, alors que le profil inverse ne serait pas favorable [8]. Cependant la sensibilisation à Der p. 10 peut être due aussi à une allergie aux crustacés, sans contribution des acariens [6].

*En résumé*, l'identification large et précise et la quantification des sensibilisations chez les enfants allergiques à partir de 6 ans environ peut être utile dans certains cas pour prévenir les réactions sévères à l'introduction d'allergènes alimentaires, et pour éviter de prendre le risque de telles réactions lors de test de provocation orale. L'identification des familles moléculaires d'allergènes permet aussi d'apprécier le risque de réactions croisées et de choisir les allergènes pouvant être utilisés pour une désensibilisation. L'utilisation de la technique des puces à allergènes semble bien adaptée à cette approche et a été comparée avec succès à la technique classique de dosage unitaire des IgE spécifiques, en particulier du fait, chez l'enfant, du faible volume de sérum nécessaire pour sa réalisation [30, 31].

## **ALLERGÈNES RECOMBINANTS ET IMMUNOTHÉRAPIE ALLERGÉNIQUE (ITA)**

L'un de mécanismes les plus importants de l'efficacité de l'ITA est probablement la génération et l'activation de cellules T régulatrices (Treg FOXP3<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> ; Tr1 inductibles) productrices d'IL-10 et de TGF- $\beta$ , qui suppriment l'activité des cellules Th2 spécifiques de l'allergène ainsi que le recrutement d'autres cellules inflammatoires effectrices, polynucléaires basophiles et éosinophiles et mastocytes, ainsi que les cellules dendritiques inflammatoires. De plus, la production d'IL-10 et de TGF- $\beta$  par les Treg stimule les cellules B à commuter de la synthèse d'IgE à celle d'IgG<sub>4</sub> et d'IgA<sub>2</sub> protectrices. Les cellules dendritiques jouent aussi un rôle dans l'induction de la tolérance en stimulant la production de sous-populations de Treg et en étant capables aussi de sécréter de l'IL-10 et du TGF- $\beta$  lorsqu'elles sont stimulées par l'allergène. Une augmentation de l'IL-12, puissante cytokine Th1, a aussi été observée au cours de l'ITA, et s'oppose également au profil inflammatoire Th2. Il en résulte une tolérance des cellules T périphériques à l'allergène, qui est associée à une amélioration clinique de la réaction inflammatoire allergique [32, 33].

La connaissance moléculaire des allergènes est essentielle pour le développement des différentes stratégies d'immunothérapie spécifique. Sur la base de la séquence de l'ADN ou de la protéine allergénique, différents vaccins peuvent être conçus pour cibler différentes voies d'activation du système immunitaire, soit sous forme de peptides ou protéines, soit sous forme de vaccination génétique. Plusieurs stratégies

vaccinales basées sur la connaissance moléculaire des allergènes ont été proposées pour l'immunothérapie spécifique, à savoir : les vaccins basés sur les épitopes T, sur les hypoallergènes, sur les allergènes recombinants non modifiés, sur les peptides liés à une protéine porteuse, la vaccination génétique et enfin des essais de thérapie génique ont aussi été réalisés [10].

L'hypothèse que des peptides synthétiques contenant des épitopes T pouvaient induire une tolérance a été démontrée *in vitro* et *in vivo* chez la souris, mais les essais cliniques, principalement réalisés avec des peptides dérivés de l'allergène majeur du chat Fel d1, ont rarement montré d'améliorations cliniques. De plus, si aucun effet indésirable immédiat de type IgE n'a été rapporté, la majorité des patients a présenté des réactions retardées, ce qui démontre qu'il est impossible d'éviter l'action des CPA (cellule présentatrice d'antigène) et la costimulation CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) et que ces mécanismes jouent un rôle dans l'inflammation allergique.

Les dérivés recombinants hypoallergéniques des allergènes présentent une forte réduction ou une absence de réactivité IgE et conservent leurs épitopes T. Ce sont des molécules d'allergènes modifiées au niveau du site de reconnaissance des IgE par mutagenèse dirigée ou aléatoire, des fragments de molécule, ou des molécules incomplètes dont le repliement est modifié et donc les épitopes conformationnels absents. Ces dérivés hypoallergéniques peuvent être aussi obtenus par dénaturation ou modification de la protéine recombinante. Ils présentent peu ou pas d'effets indésirables et peuvent être administrés à des doses plus fortes, ce qui réduit le nombre d'injections lors des protocoles d'ITA. Par exemple un variant conformationnel de l'allergène principal du bouleau Bet V1 a été produit par traitement alcalin et a été évalué avec succès en phase III d'essais cliniques [34, 35]. Un autre exemple récent concerne la modification de Mus m 1 par une mutagenèse dirigée ponctuelle qui induit un réarrangement spatial de la chaîne aromatique latérale et une diminution de l'allergénicité avec une réactivité T conservée [36]. De même la mutation dirigée sur les 8 cystéines de l'allergène majeur de l'Artémisia, Art v 1, a permis d'identifier le mutant C49S à faible allergénicité et forte immunogénicité comme candidat à l'ITA [37].

La diminution de l'allergénicité des allergènes permet d'administrer des doses plus importantes et d'obtenir une tolérance plus rapidement avec un risque plus faible d'effets secondaires. Cette approche peut aussi être combinée à une modification de la voie d'administration de l'ITA. La voie sublinguale présente un meilleur confort pour le patient mais ne permet pas de raccourcir notablement les protocoles d'ITA. En revanche la voie intralymphatique semble permettre d'induire une tolérance après seulement trois injections, comme cela vient d'être montré chez des patients atteints d'allergie aux poils de chat, à l'aide d'un allergène recombinant modifié (rFel d 1) pour faciliter sa capture cellulaire (par fusion avec le peptide de translocation TAT dérivé du HIV) et sa présentation par la voie du CMH classe II [38].

Les études cliniques d'ITA utilisant des allergènes recombinants, modifiés ou non, ont été répertoriées dans une revue récente de Rudolph Valenta [39]. Les rares études de phase 2 ou 3 en double aveugle contre placebo (DACP) ayant fait l'objet d'une publication concernent l'allergie au bouleau, l'allergie aux graminées et plus récemment une étude sur l'allergie au chat. Une première étude DACP multicentrique a évalué les effets d'un traitement par voie sous-cutanée avant la saison pollinique par des fragments peptidiques de Bet v 1 ou par des trimères de Betv 1 sur des critères cliniques et biologiques chez des patients allergiques au bouleau, par rapport à un groupe placebo. Les deux recombinants, fragments ou trimères, avaient une activité allergisante 100 fois plus faible que Bet v 1. L'expression clinique de l'allergie étaient réduite chez les deux groupes de patients sous traitement et celle-ci s'accompagnait d'une augmentation des IgG<sub>1</sub> et des IgG<sub>4</sub> spécifiques de Bet v 1, reconnaissant aussi les autres PR-10 de la pomme, du céleri, de la carotte, de la noisette et de l'aulne, et d'une diminution des IgE spécifiques de Bet v 1 dans plasma [40], cependant la différence n'était pas significative pour le score combiné de clinique-médication [41]. Une deuxième étude a comparé l'ITA par rBet v 1, par nBet v 1 (Betv 1 naturel purifié), et par un extrait de bouleau, à un traitement placebo, chez 134 patients allergiques au bouleau pendant deux ans, recrutés dans cinq centres européens [42]. Il y a eu une amélioration des signes cliniques de rhinoconjonctivite comparable dans les trois groupes traités, par rapport au groupe placebo, tout au long des deux années, sans effets indésirables notables, accompagnée d'une réduction de la réactivité cutanée à Bet v 1 et d'une augmentation des IgG<sub>1</sub>, 2 et 4 anti Bet v 1. Une étude a évalué l'ITA par un mélange équimoléculaire de cinq allergènes majeurs de la phléole Phl p. 1, 2 5a+b et 6, chez 29 patients contre 28 dans le groupe placebo, pendant deux saisons polliniques. Le score clinique était nettement amélioré chez les patients activement traités par rapport à ceux du groupe placebo. Tous les sujets traités ont aussi développé une forte réponse IgG<sub>1</sub> et IgG<sub>4</sub>, et certains patients qui n'étaient pas initialement sensibilisés à Phl p. 5 ont développés une forte réponse IgG contre cet allergène [43]. Enfin, une étude canadienne a montré que l'ITA à l'aide d'un mélange sélectionné de 7 peptides T de Fel d 1 (*Cat-peptide antigen desensitization* [Cat-PAD]) diminuait les signes cliniques chez les sujets traités et exposés à l'allergène en chambre d'exposition, par rapport à un groupe placebo et que cet effet bénéfique était persistant sur les symptômes de rhinoconjonctivite environ 9 mois après la dernière injection [44].

## CONCLUSION

Le clonage moléculaire des allergènes a permis d'établir une nomenclature des allergènes basées sur la séquence des molécules, de faciliter la découverte de nouveaux allergènes, de comprendre et de reconnaître les réactivités croisées, de déterminer la structure tridimensionnelle des molécules d'allergènes, d'identifier les peptides d'intérêt pour l'ITA, de produire des molécules recombinantes pour le diagnostic biologique des allergies avec des réactifs reproductibles. Ces progrès,

associés à ceux déjà obtenus et à ceux à venir sur les modalités et les voies d'administration de l'ITA nous font avancer vers une prise en charge personnalisée de l'allergie qui pourra déboucher dans les années futures sur une véritable guérison des patients, permettant d'éviter le recours aux traitements symptomatiques chroniques, et cela très précocement dans l'enfance [45].

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] CHAPMAN M.D., PLATTS-MILLS T.A. — Purification and characterization of the major allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus*-antigen P1. *J. Immunol.*, 1980, 125, 587-592.
- [2] THOMAS W.R., STEWART G.A., SIMPSON R.J., CHUA K.Y., PLOZZA T.M., DILWORTH R.J., *et al.* — Cloning and expression of DNA coding for the major house dust mite allergen Der p. 1 in *Escherichia coli*. *Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.*, 1988, 85, 127-129.
- [3] CHUA K.Y., STEWART G.A., THOMAS W.R., SIMPSON R.J., DILWORTH R.J., PLOZZA T.M., *et al.* — Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der p. 1. Homology with cysteine proteases. *J. Exp. Med.*, 1988, 167, 175-182.
- [4] WAYNE R. — The advent of recombinant allergens and allergen cloning. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, 127, 855-859.
- [5] SHREFFLER W.G. — Microarrayed recombinant allergens for diagnostic testing. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, 127, 843-849.
- [6] MONERET-VAUTRIN D.A., VITTE J., JACQUENET S., MORISSET M., DENERY-PAPINI S., RENAUDIN J.M., *et al.* — Diagnostic de l'IgE-réactivité par analyse des composants moléculaires (test ISAC). *R. Franç. Allergol.*, 2011, 51, 73-83.
- [7] CHAPMAN M.D., SMITH A.M., VAILES L.D., ARRUDA L.K., DHANARAJ V., POMÉS A. — Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 106, 409-418.
- [8] POMÉS A. — Relevant B cell epitopes in allergic disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2010, 152, 1-11.
- [9] WANG J. and SAMPSON H. — Food allergy. *J. Clin. Invest.*, 2011, 121, 827-835.
- [10] VALENTA R., FERREIRA F., FOCKE-TEJKL M., LINHART B., NIEDERBERGER V., SWOBODA I., *et al.* — From allergen genes to allergy vaccines. *Annu. Rev. Immunol.*, 2010, 28, 211-241.
- [11] GRIMSHAW K.E., ALLEN K., EDWARDS C.A., BEYER K., BOULAY A., VAN DER A.A. L.B., *et al.* — Infant feeding and allergy prevention : a review of current knowledge and recommendations. A EuroPrevall state of the art paper. *Allergy*, 2009, 64, 1407-1416.
- [12] MONERET-VAUTRIN D.A. — Atopie et allergie alimentaire. *Rev. Fr. Allergol.*, 2000, 4, 466-472.
- [13] MELIOLI G., MARCOMINI L., AGAZZI A., BAZURRO G., TOSCA M., ROSSI G.A., *et al.* — The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: A cross-sectional study. *Pediatr. Allerg. Immunol.*, 2012, 23, 433-440.
- [14] SCALA E., ALESSANDRI C., BERNARDI M.L., FERRARA R., PALAZZO P., POMPONI D., *et al.* — Cross-sectional survey on immunoglobulin E reactivity in 23 077 subjects using an allergenic molecule-based microarray detection system. *Clin. Experiment. Allergy*, 2010, 40, 911-921.
- [15] MELIOLI G., BONIFAZI F., BONINI S., MAGGI E., MUSSAP M., PASSALACQUA G., *et al.* — The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin. Biochem.*, 2011, 44, 1005-1011.

- [16] DE KNOP K.J., BRIDTS C.H., VERWEIJ M.M., HAGENDORENS M.M., DE CLERCK L.S., STEVENS W.J., *et al.* — Component-resolved allergy diagnosis by microarray: potential, pitfalls, and prospects. *Adv. Clin. Chem.*, 2010, 50, 87-101.
- [17] OTT H., BARON J.M., HEISE R., OCKLENBURG C., STANZEL S., MERK H.F., *et al.* — Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy*, 2008, 63, 1521-1528.
- [18] SCALA E., ALESSANDRI C., PALAZZO P., POMPONI D., LISO M., BERNARDI M.L., *et al.* — IgE Recognition Patterns of Profilin, PR-10, and Tropomyosin Panallergens Tested in 3,113 Allergic Patients by Allergen Microarray-Based Technology. *PLoS ONE*, 2011, 6, e24912.
- [19] DE KNOP K.J., VERWEIJ M.M., GRIMMELIKHUIJSEN M., PHILIPSE E., HAGENDORENS M.M., BRIDTS C.H., *et al.* — Age-related sensitization profiles for hazelnut (*Corylus avellana*) in a birch-endemic region. *Pediatr. Allerg. Immunol.*, 2011, 22, e139-e149.
- [20] KOSMA P., SJOLANDER S., LANDGREN E., BORRES M.P., HEDLIN G. — Severe reactions after intake of soy drink in birch pollen allergic children sensitized to Gly m 4. *Acta. Paediatr.*, 2011, 1002, 305-306.
- [21] FERREIRA F., HAWRANEK T., GRUBER P., WOPFNER N., MARI A. — Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy*, 2004, 59, 243-267.
- [22] GARCIA-CASADO G., PACIOS L.F., DIAZ-PERALES A., SANCHEZ-MONGE R., LOMBARDELO M., GARCIA-SELLES F.J., *et al.* — Identification of IgE-binding epitopes of the major peach allergen Pru p. 3. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 112, 599-605.
- [23] MARI A. — Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001, 125, 57-65.
- [24] ASTIER C., MORISSET M., ROITEL O., CODREANU F., JACQUENET S., FRANCK P., *et al.* — Predictive value of skin prick tests using recombinant allergens for diagnosis of peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, 118, 250-256.
- [25] CODREANU F., COLLIGNON O., ROITEL O., THOUVENOT B., SAUVAGE C., VILAIN A.C., *et al.* — A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2011, 154, 216-226.
- [26] SCHOEFER Y., SCHÄFER T., MEISINGER C., WICHMANN H.E., HEINRICH J ; KORA study group. — Predictivity of allergic sensitization (RAST) for the onset of allergic diseases in adults. *Allergy*, 2008, 63, 81-6.
- [27] CASQUETE-ROMÁN E., ROSADO-GIL T., POSTIGO I., PÉREZ-VICENTE R., FERNÁNDEZ M., TORRES H.E., *et al.* — Contribution of Molecular Diagnosis of Allergy to the Management of Pediatric Patients With Allergy to Pollen. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2009, 19, 439-445.
- [28] TRIPODI S., FREDIANI T., LUCARELLI S., MACRÌ F., PINGITORE G., DI RIENZO BUSINCO A., *et al.* — Molecular profiles of IgE to *Phleum pratense* in children with grass pollen allergy: Implications for specific immunotherapy. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, 2012, 129, 834-839.
- [29] KIDON M.I., CHIN C.W., KANG L.W., CHING O.T., SENG T.Y., NING W.K., *et al.* — Mite component-specific IgE repertoire and phenotypes of allergic disease in childhood: The tropical perspective. *Pediatr. Allerg. Immunol.*, 2011, 222, 202-210.
- [30] DE KNOP K.J., BRIDTS C.H., VERWEIJ M.M., HAGENDORENS M.M., DE CLERCK L.S., STEVENS W.J., *et al.* — Component-resolved allergy diagnosis by microarray: potential, pitfalls, and prospects. *Adv. Clin. Chem.*, 2010, 50, 87-101.
- [31] OTT H., BARON J.M., HEISE R., OCKLENBURG C., STANZEL S., MERK H.F., *et al.* — Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy*, 2008, 63, 1521-1528.
- [32] SOYER O.U., AKDIS M., RING J., BEHRENDT H., CRAMERI R., LAUENER R., AKDIS C.A. — Mechanisms of peripheral tolerance to allergens. *Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013, 68, 161-170.

- [33] FRANCIS J.N., JAMES L.K., PARASKEVOPOULOS G., WONG C., CALDERON M.A., DURHAM S.R., *et al.* — Grass pollen immunotherapy: IL-10 induction and suppression of late responses precedes IgG4 inhibitory antibody activity. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, 2008, 121, 1120-1125.
- [34] KAHLERT H., SUCK R., WEBER B., NANDY A., WALD M., KELLER W., *et al.* — Characterization of a hypoallergenic recombinant Bet v 1 variant as a candidate for allergen-specific immunotherapy. *Int. Arch. Allerg. Immunol.*, 2008, 145, 193-206.
- [35] PAULI G., LARSEN T.H., RAK S., HORAK F., PASTORELLO E., VALENTA R., *et al.* — Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, 2008, 122, 951-960.
- [36] FERRARI E., BREDA D., LONGHI R., VANGELISTA L., NAKAIE C.R., ELVIRI L., *et al.* — In search of a vaccine for mouse allergy: significant reduction of Mus m 1 allergenicity by structure guided single-point mutations. *Int. Arch. Allerg. Immunol.*, 2012, 157, 226-237.
- [37] GADERMAIER G., JAHN-SCHMID B., VOGEL L., EGGER M., HIMLY M., BRIZA P., *et al.* — Targeting the cysteine stabilized fold of Art v 1 for immunotherapy of Artemisia pollen allergy. *Mol. Immunol.*, 2010, 47, 1292-1298.
- [38] SENTI G., CRAMERI R., KUSTER D., JOHANSEN P., MARTINEZ-GOMEZ J.M., *et al.* — Intralymphatic immunotherapy for cat allergy induces tolerance after only 3 injections. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, 2012, 129, 1290-1296.
- [39] VALENTA R., NIESPODZIANA K., FOCKE-TEJKI M., MARTH K., HUBER H., NEUBAUER A., *et al.* — Recombinant allergens: what does the future hold? *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, 127, 860-864.
- [40] NIEDERBERGER V., HORAK F., VRTALA S., SPITZAUER S., KRAUTH M.T., VALENT P., *et al.* — Vaccination with genetically engineered allergens prevents progression of allergic disease. *PNAS*, 2004, 101, 14677-14682.
- [41] PUROHIT A., NIEDERBERGER V., KRONQVIST M., HORAK F., GRÖNNEBERG R., SUCK R., *et al.* — Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. *Clin. Experiment. Allergy*, 2008, 38, 1514-1525.
- [42] PAULI G., LARSEN T.H., RAK S., HORAK F., PASTORELLO E., VALENTA R., *et al.* — Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, 122, 951-960.
- [43] JUTEL M., JAEGER L., SUCK R., MEYER H., MATH D., FIEBIG H., *et al.* — Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, 116, 608-613.
- [44] PATEL D., COUROUX P., HICKEY P., SALAPATEK A.M., LAIDLER P., LARCHE M., *et al.* — Fel d 1-derived peptide antigen desensitization shows a persistent treatment effect 1 year after the start of dosing: a randomized, placebo-controlled study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013, 131, 103-109.
- [45] LINHART B., VALENTA R. — VACCINES FOR ALLERGY. *Curr. Opin. Immunol.*, 2012, 24, 354-360.

## DISCUSSION

### M. Jean-Pierre NICOLAS

*En ce qui concerne le dosage quantitatif des IgE spécifiques (radio-isotopique ou immunoenzymatique), le remboursement par l'assurance maladie est limité à six tests par prise de sang. Qu'en est-il des allergènes recombinants ?*

Les dosages des IgE spécifiques des allergènes recombinants sont soumis aux mêmes règles de remboursement que les autres dosages d'IgE spécifiques (cinq pneumallergènes et cinq trophallergènes). Dans le cadre d'un hôpital de jour, qui est sous le régime de la T2A, avec forfait biologie, il est possible de prescrire des tests hors nomenclature (BHN) comme la biopuce à allergènes, pour accélérer le diagnostic et améliorer le circuit du patient.

*Que pensez-vous des faux négatifs avec d'authentiques allergies alimentaires et des dosages de recombinants négatifs ?*

La réponse allergénique est très hétérogène parmi les patients et les dosages d'IgE spécifiques ne recherchent, en première intention que les allergènes majeurs, définis comme ceux avec lesquels réagissent au moins 50 % des patients, même si les allergènes recombinants utilisés pour les dosages des IgE spécifiques couvrent souvent plus de 90 % des sensibilisations. Par ailleurs, pour un allergène donné, en particulier alimentaire, il peut y avoir d'autres épitopes à découvrir, en particulier générés par des voies de sensibilisation différentes.

#### **M. François-Bernard MICHEL**

*Quels sont les résultats de votre pratique des allergènes recombinants à l'hôpital Trousseau ? Utilisation du diagnostic ou de l'immunothérapie ?*

Les dosages des IgE spécifiques d'allergènes recombinants sont principalement utilisés dans le cadre du diagnostic pour l'allergie alimentaire notamment pour décider des évictions et dans l'allergie respiratoire pour mieux indiquer les patients devant bénéficier d'une immunothérapie.

#### **M. Bernard PESSAC**

*Qu'en est-il des modifications post-traductionnelles des antigènes recombinants ?*

Un des intérêts des allergènes recombinants (AR) par rapport aux protéines naturelles purifiées, repose sur le fait que la synthèse de protéines par des bactéries transfectées (*E. coli*) permet d'obtenir des AR non glycosylés et de s'affranchir de réactivités croisées *in vitro*, non cliniquement pertinentes liées aux IgE anti-CDD. Cependant, dans certains cas, l'absence de glycosylation des AR pourrait réduire leur immunoréactivité et la sensibilité du test par rapport aux extraits naturels. Il serait avantageux dans ces cas de produire les AR dans des cellules eucaryotes. (MALANDAIN H. — IgE-reactive carbohydrate epitopes — classification, cross-reactivity, and clinical impact. *Allerg. Immunol.*, 2005, 37, 122-8).