

Contribution de la biologie dans l'aide au diagnostic en allergologie. Mise au point 2010

Contribution of biology in allergology diagnosis. 2010 Update

R. Gaussorgues^{a,*}, H. Kerdranvat^b

^aAllergologue libéral, 16, rue Durand, 34000 Montpellier, France

^bCentre de biologie, 12, avenue Pierre-et-Marie-Curie, 11100 Narbonne, France

Résumé

Avec les progrès scientifiques ou techniques des dernières décennies, le diagnostic des allergies s'aide de tests biologiques. Depuis la découverte des IgE en 1966, les progrès de la biologie dans le domaine de l'allergologie sont constants. Cet article a pour but de lister les moyens biologiques et d'indiquer leur intérêt en pratique. Le panel mis à disposition du clinicien est assez étoffé, proposant des tests « généralistes » assez anciens et des « nouveaux » plus ciblés et plus spécifiques. L'utilisation des allergènes moléculaires ces dernières années est un nouveau progrès pour le diagnostic de maladie allergique. Bien entendu leur utilisation nécessite une connaissance précise de la clinique pour une bonne utilisation en fonction de l'orientation du diagnostic. Bien adaptée, la biologie peut alors aider le médecin à améliorer le diagnostic et la prise en charge du patient.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Diagnostic ; Tests in vitro ; IgE ; Allergènes recombinants ; Allergologie moléculaire

Abstract

Scientific or technical progress over the last decades means that allergy diagnoses can be done using laboratory tests. Since the discovery of IgE in 1966, biology's progress in the field of allergology has been constant. The aim of this article is to list the biological means and to indicate their practical relevance. Samples available to clinicians abound, offering fairly old "general" tests and more targeted and specific 'new' tests. The use of molecular allergens over the last few years is a new progress for diagnosing allergies. Good use obviously requires accurate clinical knowledge depending on the orientation of the diagnosis. Well-adapted biology can then help doctors to improve diagnosis and patient management.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Diagnostic; In vitro tests; Recombinant allergens; Molecular allergology

1. Introduction

Au fur et à mesure du temps, les examens biologiques sont devenus, par leur diversité, mais aussi leurs performances et leurs spécificités croissantes, une aide fondamentale au diagnostic médical. L'allergie n'a pas échappé à cette tendance. Partant de paramètres non spécifiques et très généraux (éosinophilie sanguine, IgE sériques totales, etc.) ils sont devenus de plus en plus précis et spécifiques grâce aux progrès de la biologie moléculaire (allergènes recombinants) La biologie médicale de ce début du XXI^e siècle propose donc une gamme importante d'examen afin d'aider le clinicien, et en particulier l'allergologue, à affiner et préciser son diagnostic.

2. Rappels physiologiques et techniques

2.1. Rappels physiologiques

2.1.1. Réactions d'hypersensibilité

Il existe différents types de réactions d'hypersensibilité selon la classification en vigueur de Gell et Coombs [1].

2.1.1.1. Hypersensibilité de type I (HS I)

C'est le type d'HS le plus souvent mis en cause en allergologie. Elle met en jeu les immunoglobulines E (IgE) qui induiront la dégranulation des mastocytes tissulaires (ou des basophiles sanguins) et la libération de différentes molécules effectrices comme l'histamine, des protéases, des cytokines ou les leucotriènes (LT).

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : r.gaussorgues@gmail.com

Il est à noter que ce mécanisme n'est que très peu mis en jeu dans les allergies médicamenteuses (certains antibiotiques, anesthésiques, ...).

2.1.1.2. Hypersensibilité de type II (HS II)

Elle fait entrer en ligne de compte un phénomène de cytotoxicité avec souvent destruction cellulaire. L'HS II fait intervenir des IgG (ou des IgM) et c'est ce processus qui est mis en cause lors des accidents transfusionnels.

2.1.1.3. Hypersensibilité de type III (HS III)

Elle est médiée par les complexes immuns solubles, mettant en jeu les IgG et les éléments du complément, le tout entraînant des destructions tissulaires pouvant être localisées (maladie du poumon du fermier) ou généralisées (pathologies auto immunes comme la polyarthrite rhumatoïde, allergie à certains antibiotiques, maladies infectieuses).

2.1.1.4. Hypersensibilité de type IV (HS IV)

Ce type d'hypersensibilité est dite « retardée » (DHT), faisant intervenir, en particulier, les lymphocytes TH1 et entraînant une réaction de cytotoxicité 48 à 72 heures après. Elle est mise en évidence par le dosage d'interféron (IFN) produit par les lymphocytes (exemple : réponse immunitaire à la tuberculose par certains tests [2]).

2.1.2. Immunoglobulines E (IgE)

Les immunoglobulines (Ig) sont des anticorps synthétisés par les lymphocytes B (plasmocytes) après un premier contact avec un antigène déterminé. Ce sont des glycoprotéines de poids moléculaire assez important, de l'ordre de plusieurs centaines de milliers de daltons.

Les IgE qui ne furent découvertes qu'à la fin des années 1960 [3] sont sécrétées après un premier contact avec un allergène. Lors d'un second contact, elles captent celui-ci puis se fixent avec des récepteurs cellulaires sur les mastocytes ou les polynucléaires basophiles (FceR1 ou FceR2), activant ainsi une cascade d'événements aboutissant, entre autres conséquences, à la libération de molécules comme l'histamine, des protéases (tryptase) ou des substances diverses comme les leucotriènes (LTC4).

2.1.3. Allergènes

Toute substance est potentiellement un allergène. Ce sont assez souvent des structures protéiques immunogènes induisant, après contact avec un organisme donné, la production d'IgE et présentant un ou plusieurs sites structuraux, moléculaires constituant des déterminants allergéniques.

Il existe une classification internationale très précise des allergènes, régulièrement actualisée [4].

2.2. Rappels techniques

2.2.1. Technique ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

C'est une technique utilisée dans la plupart des réactions antigène (Ag) -anticorps (Ig) dans les dosages biologiques.

Elle fut mise au point en routine dans les années 1970 [5]. L'étape de lecture n'utilise pas de marqueur radioactif comme dans les méthodes RIA, mais une enzyme qui utilisera un substrat chromogénique.

Cette technique comporte « classiquement » trois temps :

- 1. mise en contact du support avec antigène fixé + sérum avec Ig recherchée et création de liaisons spécifiques (Ag-Ig) ;
- 2. mise en contact du complexe formé (Ag-Ig) avec un réactif comportant une anti Ig marquée avec une enzyme (Anti Ig*) ;
- 3. révélation du complexe (Ag-Ig-Anti Ig*) avec mise en évidence de l'activité enzymatique par ajout du substrat chromogénique + lecture-dosage par rapport à une courbe-étalonnage.

De nombreuses variantes ont été développées à partir de cette technique de base (Fig. 1).

2.2.2. Technique Phadia : ImmunoCAP® system

C'est une variante de la technique ELISA classique développée dans les années 1970 et utilisée par le laboratoire Phadia et également un dérivé de la technique RAST (*Radio Allergy Sorbent Test*) [6].

Le fournisseur dénomme toujours sa technique RAST bien que celle-ci n'ait plus de rapport avec une technique radio-immunologique... Ici l'allergène (ou un mélange d'allergènes) est fixé sur support tridimensionnel (mousse de cellulose) qui respecte théoriquement beaucoup plus l'ergonomie et la morphologie de celui-ci, pouvant créer des liaisons avec les IgE de façon plus naturelle. L'étape de révélation s'effectue après transformation du substrat en produits fluorescents (Fig. 2).

3. Tests biologiques appliqués à l'allergie

3.1. Numération-formule sanguine (NFS) et éosinophilie

La NFS est un des examens le plus banalisés. Les résultats rendus donnent les paramètres de la lignée rouge (taux de globules rouges, hémoglobine, ...), le taux de globules blancs (GB) et la formule leucocytaire en pourcentage (%) et valeur absolue. Ainsi apparaissent les polynucléaires éosinophiles (PNE) et ceux-ci doivent être inférieurs à 4 % et à 500 éléments/mm³.

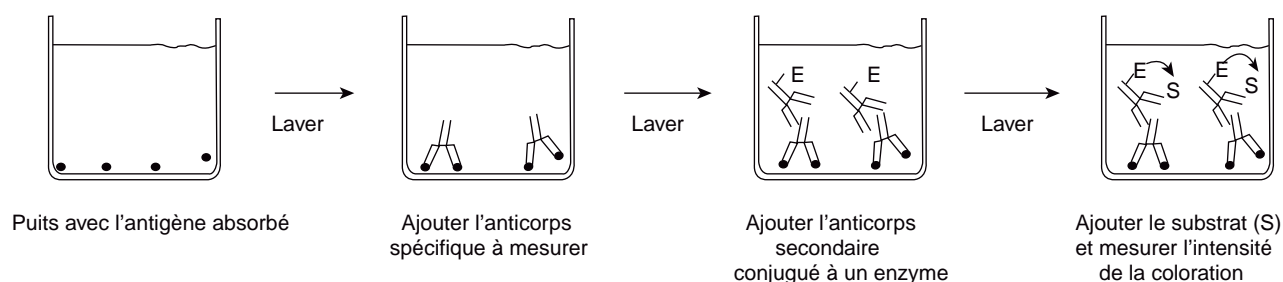
Ce paramètre a une spécificité très faible [7], d'autres pathologies pouvant l'influencer : parasitoses, pathologies dysimmunitaires (vascularites), hémopathies lymphoïdes.

3.2. Dosages des IgE sériques totales (IgEtot)

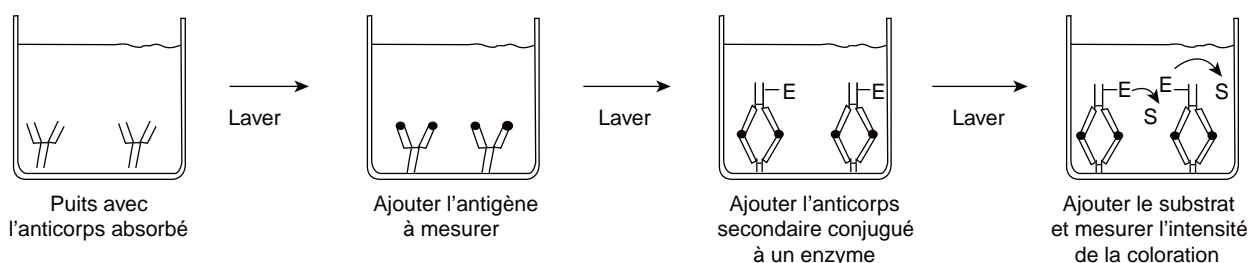
Les techniques de dosage des IgEtot sont souvent automatisables et utilisent pratiquement toutes une technique immuno-enzymatique de type ELIS.

Quasiment toutes les firmes de diagnostic proposent ce dosage et leurs résultats sont exprimés selon un standard de l'OMS (2nd IRP, WHO 75/502) en UI (1 UI = 2,4 ng).

(a) ELISA indirect



(b) ELISA sandwich



(c) ELISA compétitif

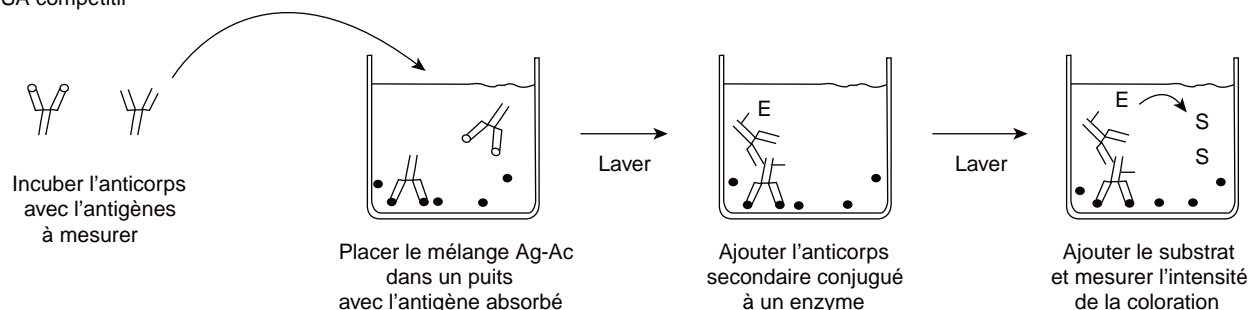


Fig. 1. Technique ELISA d'après « Immunologie », Dunod, 2001, Paris (modifié).

Leur concentration plasmatique est normalement faible, mais très variable d'un individu à un autre. Les valeurs normales sont inférieures à 200–250 UI/ml.

Leur temps de demi-vie est d'environ 2,5 jours.

Leur spécificité et sensibilité sont également assez faibles dans le domaine de l'allergie, d'autres pathologies pouvant influencer ce paramètre [8] (parasitoses, viroses, déficits immunitaires) ainsi que le tabagisme actif.

3.3. Dosages des IgE sériques spécifiques (IgEs)

Il est considéré qu'elles possèdent une forte spécificité par rapport à un allergène donné. Leur dosage est très sensible et dépend de la qualité de l'allergène ainsi que de la technique utilisée. La plupart des tests commercialisés utilisent une technique de type ELISA avec un mode de révélation plus ou moins différent (colorimétrie, fluorimétrie).

Contrairement aux IgEtot, il n'existe pas de standard international pour le dosage des IgEs. Théoriquement, les résul-

tats devraient être rendus en UA/l (UA : unités arbitraires), celles-ci s'inspirant du standard international de l'OMS utilisé pour les IgEtot.

Les limites inférieures et supérieures des dosages sont fixées à 0,1 et 100 kU_A/l. Les résultats des dosages des IgEs étaient auparavant exprimés en classes de 0 à 6, mais cette classification n'est plus d'actualité depuis 2006. La présence d'IgEs prouve une sensibilisation à un allergène donné. Mais il est également indispensable de connaître les allergies croisées existantes. Le dosage des IgEs ne nécessite pas l'arrêt d'un traitement anti-histaminique.

3.3.1. Tests multi-allergéniques, non discriminants pour IgE

Ce sont des tests sérologiques d'orientation diagnostic avec des résultats exprimés de façon semi quantitative, le plus souvent positif (+) ou négatif (-) et ne donnant donc pas l'identification précise d'un allergène pouvant être mis en cause. Ces tests, pour les meilleurs, ont une bonne sensibilité.

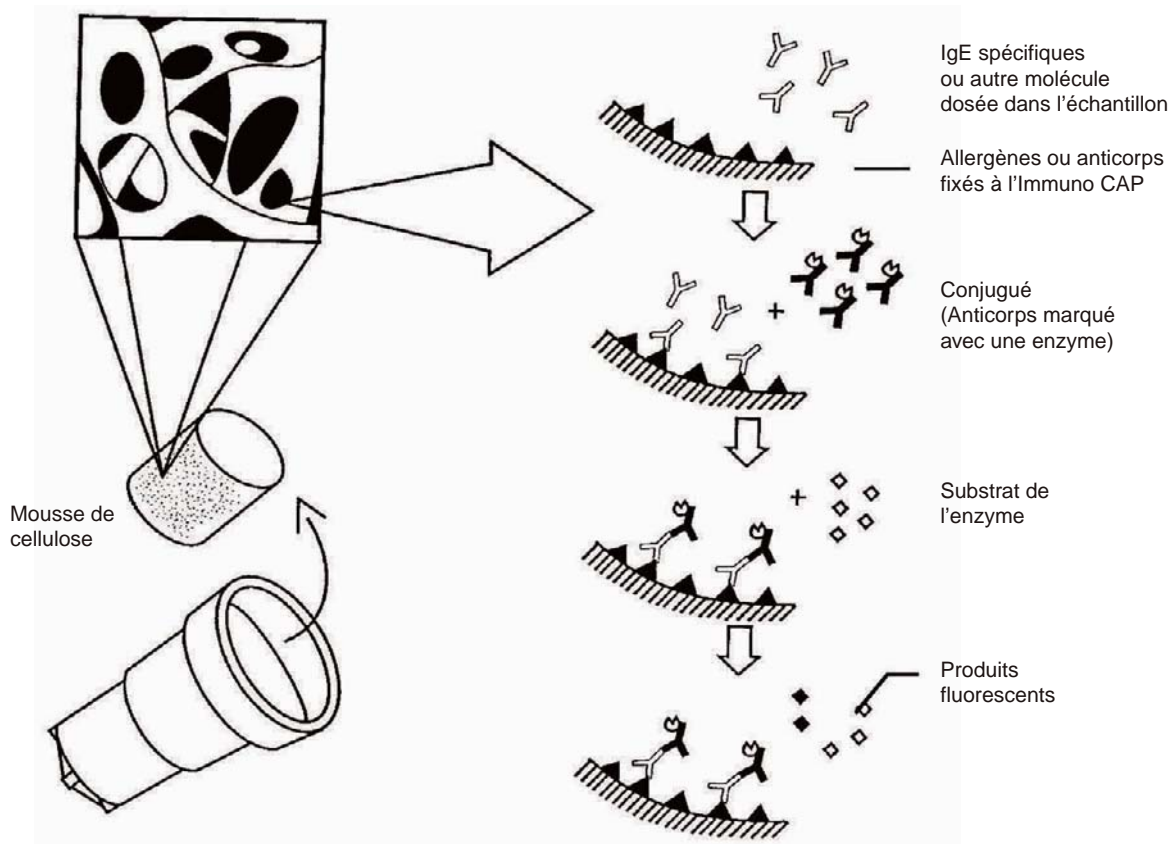


Fig. 2. Technique de l'ImmunoCAP®, Documentation Phadia 2010.

3.3.1.1. Tests multi-allergéniques avec allergènes alimentaires (trophallergènes)

Tests existants :

- Trophatop® (Phadia)
- Stallertroph® (Biomérieux)
- Bioadvance® bandelettes

3.3.1.2. Tests multi-allergéniques avec allergènes respiratoires (pneumallergènes)

Tests existants :

- Phadiatop® (Phadia)
- Allatop Allergy-screen® (DPC-Siemens)
- Stallertest® (Biomérieux)
- Bioadvance® bandelettes

3.3.1.3. Tests multi-allergéniques pouvant être mixtes

BMD® (Biomédiacal diagnostic) : Mast-CLA 30 et résultats rendu en classe (de 0 à 6) présument du potentiel allergisant croissant du composé.

3.3.2. Tests unitaires pour IgEs

Ces tests sérologiques servent donc à détecter la présence chez un individu donné d'IgE spécifiquement dirigé contre d'un allergène donné. Le panel des allergènes recherchés est très important (exemple : Phadia® environ 500). Différentes firmes ont développé ces tests :

- All Diag : All onze®
- Bioadvance : Euroline divers®
- Biomérieux : Vidas Stallergy®
- DPC-Siemens : Immulite®
- Phadia : ImmunoCAP®

Seules les trois dernières firmes citées rendent des résultats quantitatifs en UA.

3.3.2.1. Tests sérologiques unitaires utilisant des allergènes recombinants

À la fin des années 1980 fut réalisée par clonage la production des premiers « allergènes recombinants » (ou allergènes de recombinaison, terme plus en accord avec la langue française) (1988 : Der p1) [9].

L'utilisation des allergènes recombinants constitue l'avenir des tests biologiques en allergologie car ils font intervenir la structure moléculaire de l'allergène interagissant de façon très spécifique avec les épitopes des immunoglobulines, ouvrant de nouvelles perspectives et éclairant, par le jeu des familles moléculaires, les phénomènes d'allergies croisées.

Auparavant, les tests biologiques utilisaient des allergènes dits « naturels » ou « natifs », plus ou moins purifiés après extraction, pouvant se présenter sous forme d'un mélange de substances allergisantes ou non. Leur obtention suivait un processus classique de type :

Production → extraction → purification + stérilisation
→ conservation, lyophilisation.

À la suite des progrès des biotechnologies fin du XX^e siècle, il fut possible d'étudier la structure moléculaire et même tridimensionnelle des allergènes (cristallographie, RMN...) avec ensuite identification et séquençage des gènes leur donnant naissance. Ainsi furent identifiés les « allergènes moléculaires ».

Secondairement, on modifia le schéma de production des allergènes grâce au clonage après intégration du matériel génétique (ARN messenger) dans des microorganismes, des cellules hôtes (de type bactéries *E. coli* ou levures comme *Saccharomyces cerevisiae*, voire des cellules de plantes ou d'insectes) codant pour les structures protéiques. C'est ce qu'on appelle des « allergènes recombinants ».

Régulièrement, le catalogue des allergènes recombinants disponibles s'agrandit et permet aux cliniciens de mieux définir le profil allergique d'un patient.

3.4. Autres tests biologiques

Ces tests existent mais plusieurs paramètres viennent « relativiser » leur intérêt : spécificité, praticabilité, coût.

3.4.1. Dosages des médiateurs chimiques

3.4.1.1. Histamine

Molécule jouant le rôle de médiateur chimique, présente au niveau des granulations des mastocytes et des polynucléaires basophiles. Après libération, cet haptène se fixe sur les récepteurs cellulaires H1 ou H2 présents à la surface de différentes cellules (système cardio-vasculaire, digestif, respiratoire) [10].

C'est une molécule de libération rapide et de demi-vie brève (1 à 3 minutes). Son dosage est effectué par méthode radio-immunologique (technologie lourde) et selon des consignes de prélèvement très strictes. Sa valeur normale est < 6 nmol/l. Le dosage urinaire du métabolite de l'histamine, la méthylhistamine, a été retiré du marché et n'est plus commercialisé actuellement.

3.4.1.2. Tryptase

Protéine enzymatique tétramérique (2 sous unités alpha + 2 sous unités bêta) stockée dans les granules des mastocytes tissulaires et libérée en même temps que l'histamine par exocytose [11].

C'est une molécule de demi-vie longue (environ 2 h). Son dosage par techniques de routine immuno-enzymatiques est désormais possible (ex : Phadia). Il doit être réalisé sur 2 prélèvements : le premier à +15-30 minutes et le second à +1-2 h après le début des symptômes. Sa valeur normale est < 12,5 µg/l.

Le seuil de positivité pour cette molécule est difficile à déterminer et est souvent évalué à un doublement de la valeur de base. Sa spécificité et sa sensibilité sont meilleures que pour l'histamine

3.4.1.3. ECP (Eosinophil Cationic Protéin)

Protéine cellulaire libérée lors de l'activation des PNE [12] et qui possède une toxicité cellulaire assez importante, en particulier pour l'épithélium bronchique.

Cette molécule permet le suivi d'un état inflammatoire (par exemple chez les sujets asthmatiques) et son dosage est souvent utilisé en complément des explorations fonctionnelles respiratoires. Son dosage est également disponible en routine. Ces valeurs normales sont > 15 µg/l.

Cette molécule ne peut pas être dosée après la prise médicamenteuse de corticoïdes inhalés.

D'autres molécules contenues dans les PNE peuvent également être recherchées. C'est le cas de la protéine Basique Majeure (MBP), de la Peroxydase de l'éosinophile (EPO) ou de la Neurotoxine dérivée de l'éosinophile (EDN).

3.4.2. Tests cellulaires

Ce sont des tests réalisés *in vitro* et non inscrits à la nomenclature. Ils entrent le plus souvent dans des protocoles de recherche et n'ont en général que peu d'intérêt en pratique courante.

Par contre, ils peuvent permettre de réaliser des tests biologiques en particulier dans l'allergie à certains médicaments (anesthésiques, anti-inflammatoires, antibiotiques), à distance du choc anaphylactique et d'au moins 15 jours d'arrêt de traitement médicamenteux à base de corticoïdes ou d'antihistaminiques.

3.4.2.1. Test de dégranulation des basophiles humains (TDBH) ou test de Shelley et test d'activation des basophiles (TAB)

Le TDBH ne se fait quasiment plus, remplacé par le TAB qui s'effectue par cytométrie de flux (aussi appelé FAST Test) et qui recherche l'augmentation d'expression sur les membranes cellulaires des polynucléaires basophiles des CD63 et CD 203c [13].

3.4.2.2. Test de transformation lymphoblastique (TTL)

Ce test peut être utilisé dans les réactions d'hypersensibilité de type IV et est surtout utilisé dans les allergies médicamenteuses.

Il consiste à mesurer *in vitro* la multiplication cellulaire des lymphocytes T après une stimulation antigénique ; les résultats sont exprimés par un index d'activation [14].

C'est le principe du test Mélisa® proposé par les laboratoires R-Biopharm afin de détecter les hypersensibilités à différents métaux ou médicaments [15].

3.4.2.3. Test de libération des leucotriènes C4 (LTC4) ou CAST-Test

Le LTC4 se nommait auparavant le SRS-A (*Slow Reacting Substance of Anaphylaxis*).

Les leucotriènes de la série 4 sont des molécules lipidiques dérivées de l'acide arachidonique. Elles ont le pouvoir de se lier à des récepteurs sur les membranes des cellules de nombreux tissus et d'entraîner leurs effets physiologiques

(augmentation de la perméabilité cellulules endothéliales, vasoconstriction, broncho-constriction...).

Ce test est utilisé dans certaines allergies médicamenteuses (ex : aspirine) mais reste apparemment peu spécifique. Leurs réponses apparaîtraient assez bonnes dans les allergies d'origine alimentaire [16].

3.4.3. Nouveautés ou avenir des examens biologiques en allergologie

3.4.3.1. Dosages des autres Ig (G ou A)

Elles n'ont un intérêt que comme outils diagnostique dans les immunothérapies allergéniques ou dans certaines pathologies (exemples : réaction de type III pour les IgG du poumon du fermier ou pour les IgA anti-gliadines de la maladie cœliaque) [17].

Il existe également des tests de type Imupro® (laboratoire R-Biopharm) cherchant à déterminer une affection chronique et une allergie alimentaire de type III (ou en tout cas un « profil immunitaire alimentaire » en utilisant l'immunonutrition) à partir d'un mélange d'allergène et se basant sur le principe du dosage des IgG. Ce type de recherche explorerait donc des allergies de type III et classerait les allergènes en fonction de leur « degré » d'agression de 1 à 4 [18].

3.4.3.2. ImmunoCAP® ISAC

(Immuno Solid-phase Allergen Chip)

Ce sont les laboratoires Phadia et VBC Genomics qui ont développé ce nouveau test.

Il entre dans une nouvelle démarche diagnostique, le CRD (*Component Resolves Diagnosis* ou « diagnostic moléculaire ») et est basé sur les nanotechnologies avec des biopuces. Il recherche une centaine de composés allergéniques à partir de très peu de sérum (20 µl). La lecture se fait par détection d'une fluorescence qui s'effectue à l'aide d'un scanner [19].

4. Règlementation des prescriptions en allergologie

La NFS et le dosage des IgE totales sont des analyses biologiques générales ne dépendant pour leur prescription d'aucune réglementation particulière.

Pour le dépistage puis l'identification et le dosage des IgE spécifiques, c'est l'arrêté du Journal Officiel (JO) publié le 28 novembre 2003 qui réglemente leur prescription dans le cadre d'un bilan d'allergologie. Il fait suite à l'arrêté du JO du 27 novembre 1994.

Seuls des tests de dépistage peuvent être prescrits en première intention, avec :

- trois tests de mélange de trophallergènes—un test de mélange de pneumallergènes ;

En deuxième temps, la prescription d'IgEs pour identification est possible avec 5 tests de quantification autorisés par ordonnance.

Pour la cotation des actes de biologie, nous avons actuellement :

- 1 NFS : B34 ;
- 1 dosage IgE totales : B50 ;
- 1 test de dépistage : ex Trophatop® B55-CLA® B80 ;
- 1 dosage IgE spécifique : B55 ;
- 1 dosage de Tryptase : B100 ;
- 1 dosage d'ECP : B100.

Les analyses étant hors nomenclature et donc, théoriquement ne donnant pas droit à un remboursement, ne dépendent pas de cet arrêté. Leur coût dépendra du laboratoire qui les effectue.

5. Apports de la biologie dans les maladies allergiques

La biologie confirme le mécanisme IgE dépendant d'une clinique et authentifie l'allergie immédiate. Elle permet l'identification du ou des allergènes en cause. Elle peut permettre d'orienter le traitement en fonction des allergènes en cause. Avec l'apport moléculaire, la biologie permet l'identification des protéines allergéniques et peut préciser le niveau de risque clinique en particulier s'il y a un risque sévère. Elle peut permettre, également, de suivre l'évolution de maladies allergiques.

5.1. Tests biologiques utilisés

5.1.1. La NFS avec les éosinophiles

Ce dosage n'est pas utile pour le diagnostic de maladie allergique car non spécifique. On parle d'hyperéosinophilie au-delà de 500 éléments/mm³. Les causes de cette élévation sont multiples (maladies cutanées, intoxication chimique, parasitoses).

5.1.2. Les IgE totales

Ce dosage n'est pas utile pour le diagnostic de maladie allergique. Leur taux est variable, non spécifique d'une maladie allergique car elles augmentent dans d'autres maladies, parasitoses, viroses, maladie du système immunitaire. Ce dosage reste utile dans le cas où l'on réalise un traitement par les anti-IgE.

5.1.3. Les multi-tests

Ce sont avant tout des tests de dépistage avec un résultat semi-quantitatif, le plus souvent positif ou négatif pour une liste d'allergènes connus comme le Phadiatop® pour les allergies respiratoires et les trophatops pour les allergies alimentaires qui sont parmi les plus sensibles.

Certains multi-tests donnent un résultat détaillé exprimé en classe comme avec le CLADHS®.

Ces tests notamment ces derniers peuvent détecter des allergènes multiples qui sont en fait des allergies croisées ou de simples sensibilisations. Il y a aussi de faux négatifs avec des résultats très peu sensibles, en particulier pour les trophallergènes.

5.1.4. Les IgE spécifiques de l'allergène global

Elles permettent de confirmer une allergie dépistée par les tests cutanés pratiqués par l'allergologue et d'évaluer son intensité.

Elles peuvent permettre d'orienter une immunothérapie spécifique en confrontant les résultats avec la symptomatologie clinique.

Avec les IgE spécifiques la notion de valeur de seuil prédictif peut être utilisée dans certaines allergies alimentaires pour éviter un TPO, notamment pour le blanc d'œuf et l'arachide (valeur prédictive positive de 95 %).

En allergie alimentaire à l'œuf le dosage des IgE anti ovomucoïde devrait permettre de définir le risque allergique.

Elles peuvent permettre de suivre une immunothérapie dans certains cas notamment pour les immunothérapies aux venins d'hyménoptères.

Enfin elles sont importantes dans des circonstances cliniques évocatrices d'une maladie allergique avec des tests cutanés négatifs, non réalisables ou non interprétables du fait d'une absence de réactivité aux témoins positifs, d'un dermographisme ou de l'impossibilité d'arrêt des antihistaminiques.

5.1.5. Les IgE spécifiques des protéines allergéniques

Elles permettent de confirmer une allergie dépistée par les tests cutanés pratiqués par l'allergologue en précisant les molécules en cause ce qui permet de préciser le risque allergique du patient [20].

En effet un patient est en général sensibilisé à une ou plusieurs molécules de l'allergène global. Ces molécules qui sont principalement des protéines peuvent être réparties en allergènes majeurs selon que 50 % des patients y sont sensibilisés et en allergènes mineurs qui en général ne touchent que 20 % des patients.

Apparaît alors la notion de panallergènes qui sont des molécules répandues dans le règne végétal mais parfois aussi animal qui sont à l'origine de réactions croisées (cyprès-pêche, bouleau-pomme, acariens-crustacées, chat-porc....)

Elles permettent d'orienter une immunothérapie spécifique quand elle est difficile avec les IgE spécifiques globales par exemple si un sujet a des tests cutanés positifs à plusieurs pollens d'arbres avec des symptômes correspondants, par exemple un patient sensibilisé au pollen de bouleau, de frêne et de graminées. Les IgE spécifiques peuvent être toutes positives mais seul l'allergène majeur du bouleau peut être positif les autres positivités étant dues à des panallergènes [21].

Les IgE spécifiques d'un allergène ou les IgE spécifiques d'une molécule peuvent aussi être dosées si la clinique est évocatrice d'une maladie allergique avec des tests cutanés négatifs ou non réalisables ou non interprétables du fait d'une absence de réactivité aux témoins positifs, d'un dermographisme ou de l'impossibilité d'arrêt des antihistaminiques.

5.1.6. Nouvelle technologie non encore prises en charge par les caisses d'assurance maladie

L'ImmunoCap® ISAC permet de tester 103 composants allergéniques issus de 47 sources allergéniques. Il utilise les

allergènes moléculaires fixés sur une chips incubés avec le sérum du patient. La lecture se fait par un système laser qui va évaluer les anticorps IgE du patient vis-à-vis de chaque allergène testé en classe négative, basse, faible à haute et très haute.

L'intérêt est multiple. Si les symptômes sont mal définis avec une histoire clinique compatible avec une origine allergique, mais le bilan par tests cutanés et par les IgE moléculaire sont négatifs.

En cas de suspicion de sensibilisations multiples, pour obtenir un instantané des sensibilisations.

Dans les sensibilisations multiples de diagnostic certain, pour prédire le risque de réaction croisée, en étudiant les composants allergéniques positifs.

Pour réaliser une exploration plus approfondie avec les allergènes naturels ou recombinants non disponibles en IgE moléculaire [22].

5.2. La biologie dans un diagnostic de maladie allergique

À ce stade on peut essayer d'établir une démarche diagnostique qui intègre la biologie.

Les consensus, et notamment le consensus ARIA Wonca [23] pour la rhinite allergique, précisent bien les rôles des médecins, généralistes et spécialistes et la place de la biologie.

Dans le cadre du parcours de soins le patient est vu par le médecin généraliste qui suspecte une allergie sur des symptômes évocateurs.

Avec l'exemple de la rhinite allergique ce sont l'écoulement, le prurit nasal, les éternuements à répétition et l'obstruction pouvant être associés à de la conjonctivite.

À ce stade le médecin peut utiliser les tests de dépistage multi allergéniques qui s'ils sont positifs lui permettent d'orienter vers le spécialiste pour un bilan allergologique complet.

Le médecin spécialiste pratique alors les tests cutanés type prick tests.

Des tests positifs permettent de poser le diagnostic de rhinite allergique.

Les IgE spécifiques sont parfois utiles si les tests cutanés sont négatifs en cas de forte suspicion clinique.

Les IgE spécifiques étant négatives on peut arrêter la recherche d'allergie.

Les IgE spécifiques sont recherchées pour confirmer les tests cutanés en vue de mettre en place une immunothérapie.

Cette démarche diagnostic est la plus fréquente en matière d'allergie surtout respiratoire (Fig. 3).

5.2.1. Apport des allergènes moléculaires

Ils peuvent permettre d'aller plus loin dans le diagnostic dans un certain nombre de circonstances en particulier en matière d'allergies multiples ou croisées pour différencier des allergies multiples de simple sensibilisation et aussi en matière d'allergie alimentaire pour évaluer les risques mais aussi pour éviter des restrictions inutiles [24].

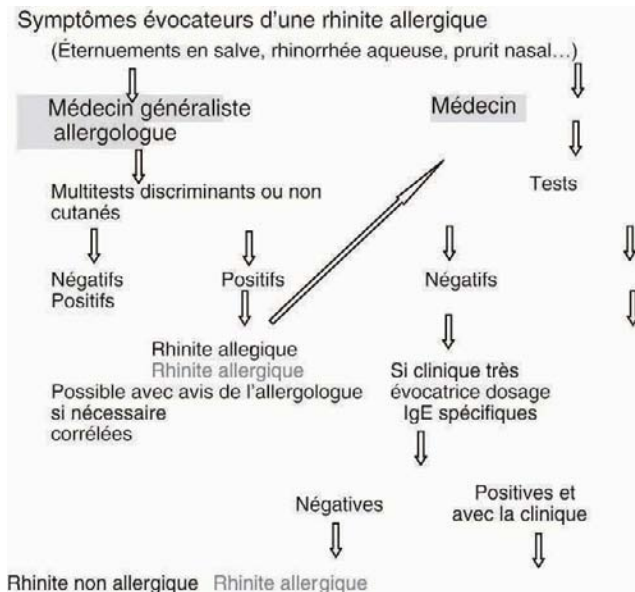


Fig. 3. Consensus Aria Wonca 2007.

Tableau 1

Allergènes recombinants de l'arachide.

Ara h 2	Allergène majeur 95 % de patient sensibilisés
Ara h 1	Allergène majeur
Ara h 3	Allergène majeur
Ara h 8	Profiline

5.2.2. Quelques exemples pour la pratique

Dans le cas d'un patient sensibilisé aux pollens de graminées pour vérifier qu'il est sensible aux allergènes majeurs qui sont ceux qui dominent dans les produits d'immunothérapie. Phl p1 et Phl p5 positifs et Phl p12 et Phl p7 négatifs, cela donne une bonne chance de succès à l'immunothérapie.

Dans une allergie mixte respiratoire et alimentaire comme celle des acariens-crevettes l'allergène commun Dpter10 ou Pen a1 étant positif il est alors conseillé d'éviter l'immunothérapie qui pourrait majorer l'allergie alimentaire [25].

Dans le diagnostic d'une allergie alimentaire le TPO représente le moyen le plus pertinent de confirmer l'allergie. Néanmoins il peut être impossible ou risqué de le réaliser [26]. Ainsi dans l'allergie à l'arachide, si un test cutané, où les IgE spécifiques sont positives, on peut doser Ara h1, Ara h2, Ara h3. Si Ara h2 est positif il confirme l'allergie à 98 %. Si les trois sont positifs c'est un critère de gravité. Si les trois sont négatifs le dosage d'Ara h8 positif confirme l'allergie dans une forme mineure par le biais des profilines et l'absence de risque de réaction sévère (Tableau 1).

Dans l'allergie à la noisette c'est Cor a8 qui indique un risque d'allergie sévère, Cor a1 qui indique un risque mineur type syndrome de Lessof. Cor a9 positif indique une réaction croisée d'allergie à l'arachide qui peut être sévère.

Dans le cas du latex les allergènes moléculaires permettent aussi d'évaluer le risque en fonction du patient.

5.3. Les autres tests et leur utilité dans le diagnostic allergologique

5.3.1. Dosages de la tryptase et de l'histamine

La tryptase est un marqueur spécifique des mastocytes, l'histamine se trouve dans les mastocytes et les basophiles. Ce dosage permet de confirmer a posteriori une réaction de type anaphylactique. Le prélèvement doit être précoce avant deux heures après le début des symptômes [27].

5.3.2. L'ECP (protéine cationique des éosinophiles)

C'est un marqueur de l'activation des éosinophiles. On le retrouve augmenté dans des maladies allergiques.

L'augmentation dans des maladies allergiques diverses peut orienter le diagnostic, par exemple dans un asthme vers une maladie de Fernand Widal ou un syndrome de Churg et Strauss.

L'augmentation peut aussi indiquer l'actualité d'une parasitose ou une réaction tissulaire dans un syndrome digestif [28].

L'EPO et l'EDN pourraient être plus spécifiques d'après les recherches en cours.

5.3.3. Le TTL (test de transformation lymphoblastique)

Ce test permet d'orienter vers un mécanisme allergique dans des diagnostics difficiles en particulier en allergie médicamenteuse ou alimentaire.

5.3.4. Le TDBH (test de dégranulation des basophiles humains)

Il a évolué avec les techniques récentes de dosage. Il doit être fait sur le sang frais d'où la difficulté de mise en œuvre. Il faut un laboratoire spécialisé avec les mesures en cytométrie de flux avec le marqueur CD63. Il était encore notamment utilisé pour les venins d'hyménoptères pour évaluer les réactions croisées et préciser les indications d'immunothérapie. L'inconvénient de ce test est la non-standardisation. La mise au point des allergènes recombinés va le rendre moins utile notamment pour les hyménoptères.

5.3.5. Les dosages d'IgG spécifiques

Ils sont surtout utilisés comme preuve de l'efficacité de l'immunothérapie spécifique, mais peu utilisés en pratique courante.

6. Conclusion

La biologie représente un apport indispensable au diagnostic allergologique. La clinique reste la base de l'orientation diagnostic mais le clinicien doit suivre l'évolution des techniques biologiques avec en particulier ces dernières années l'apport des allergènes moléculaires pour améliorer ses diagnostics et la prise en charge des patients.

Conflits d'intérêt

Aucun.

Références

- [1] Demoly P, Messaad D, Benahmed S, Hillaire-Buys D, Blayac JP, Godard P, et al. Les réactions immuno-allergiques d'origine médicamenteuse : données épidémiologiques et cliniques. *Thérapie* 2000;55:13-21.
- [2] Herrmann JL, Simmone N, Lagrange PH. Avantages et limites des tests sanguins in vitro lymphocytes T/interféron gamma comparativement au test intradermique à la tuberculine pour le diagnostic de tuberculose. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2006;46:543-7.
- [3] Bennich HH, Ishizaka K, Johansson SG, Rowe DS, Stanworth DR, Terry WD. Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology* 1968;15:323-4.
- [4] Chapman MD, Pomés A, Breiteneder H, Ferreira F. Nomenclature and structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:414-20.
- [5] Ambroise-Thomas P, Desgeorges PT. Diagnostic immuno-enzymologique (ELISA) des maladies parasitaires par une microméthode modifiée. 1. Modalités techniques. *Bulletin de l'OMS* 1978;56:609-13.
- [6] Leimgruber A, Peitrequin R, Mosimann B, Claeys M, Seppey M, Jaccard Y, et al. The Pharmacia Cap System: a new assay for specific IgE. *J. Allergy Clin. Immunol*;1989;83:176.
- [7] Mora MD. Valeur diagnostique et pronostique de l'éosinophilie dans les maladies allergiques. *Allergy* 1951;4:253-61.
- [8] Kojima S, Yokogawa M, Tada T. Raised levels of serum IgE in human helminthiasis. *Am J Trop Med Hyg* 1972;21:913-7.
- [9] Thomas WR, Stewart GA, Simpson RJ, Chua KY, Plozza TM, Dilworth RJ, et al. Cloning and expression of DNA coding for the major house dust mite allergen Der p1 in *Escherichia coli*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;85:127-9.
- [10] Cotinneau C, Drouet M, Costerousse F, Dussaurroy C, Sabbah A. Intérêts des médiateurs plasmatiques (histamine et tryptase) et urinaires (méthylhistamine) lors de réactions anaphylactiques et/ou anaphylactoïdes peranesthésiques. *Allerg Immunol* 1996;28:270-6.
- [11] Schwartz LB. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin N Am* 2006;26:451-63.
- [12] Filley WV, Holley KE, Kephart GM, Gleich GJ. Identification by immunofluorescence of eosinophil granule major basic protein in lung tissues of patients with bronchial asthma. *Lancet* 1982;2:11-6.
- [13] Sanz ML, Samboa PM, Antepara I, Uasuf C, Vila L, Garcia-Avilés C, et al. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clin Exp Allergy* 2002;32:277-86.
- [14] Sabbah A, Menard E, Pineau J. Test de transformation lymphoblastique appliqué au diagnostic de l'hypersensibilité médicamenteuse et bactérienne. Interprétation isotopique et morphologique. *Rev Fr Allergol* 1972;12:251-67.
- [15] Cederbrant K, Lindvall A, Forsbeck M. MELISA*: an in vitro tool for the study of metal allergy. *Toxicol in vitro* 1994;8:991-1000.
- [16] Moneret-Vautrin DA, Sainte-Laudy J, Kanny G, Fremont S. Human basophil activation measured by CD63 expression and LTC4 release in IgE-mediated food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:33-40.
- [17] Mohr LC. Hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med* 2004;10:401-11.
- [18] Documentation R-Biopharm. www.r-biopharm.com. [Accès 8 octobre 2010].
- [19] Deinhofer K, Sevcik H, Balic N, Harwanegg C, Hiller R, Rumpold H, et al. Microarrayed allergens for IgE profiling. *Methods* 2004;32:249-54.
- [20] Chapman M, Smith A, Vailes L, Arruda K, Dhanaraj V, Pomes A. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:409-18.
- [21] Pauli G. Les allergènes recombinants : leur apport à l'allergologie en 2006. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2007;47:72-9.
- [22] Grand JL, Gadisseur R, Ebo D. L'outil de diagnostic des allergies IgE dépendantes au XXI^e siècle. Présentation congrès Abeforcal Bruxelles 2009 N.P.
- [23] Bousquet J, Reid J, van Weel C, Baena Cagnani C, Canonica GW, Demoly P, et al. Consensus ARIA WONCA 2007. *Allergy* 2008;63:990-6.
- [24] Chabert-Broué A, Fontaine JF, Juchet A. ALK module allergènes recombinants. 2010 ALK. CD Rom édité par le laboratoire ALK Abello 2009.
- [25] Van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, Garridoni MS, Aalberse RC, Bonifazi F. Possible induction of food allergy during mite immunotherapy. *Allergy* 1996;51:108-13.
- [26] Rancé F. La biologie en 2004 est-elle encore utile pour le diagnostic d'une maladie allergique ? *JPA* 2004, Paris, 07-09 janvier 2004.
- [27] Petit N, Rothmann C, Fremont S, Bollaert PE, Kanny G, Moneret-Vautrin DA. Un dosage de tryptase sérique dans des situations d'urgence est-il utile ? *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2003;43:344-8.
- [28] Moneret-Vautrin DA. Le dosage de la protéine cationique des éosinophiles est il un marqueur utile pour l'interniste. *Rev Med Int* 2006;27:679-83.