



# BIOLOGIE DE L'ALLERGIE

L. GARNIER/ R. PESCARMONA  
Laboratoire d'Immunologie  
Groupement Hospitalier Sud -Lyon

*DES/DESC*  
*Séminaire Hypersensibilité*  
*7 janvier 2021*

# Objectifs

1

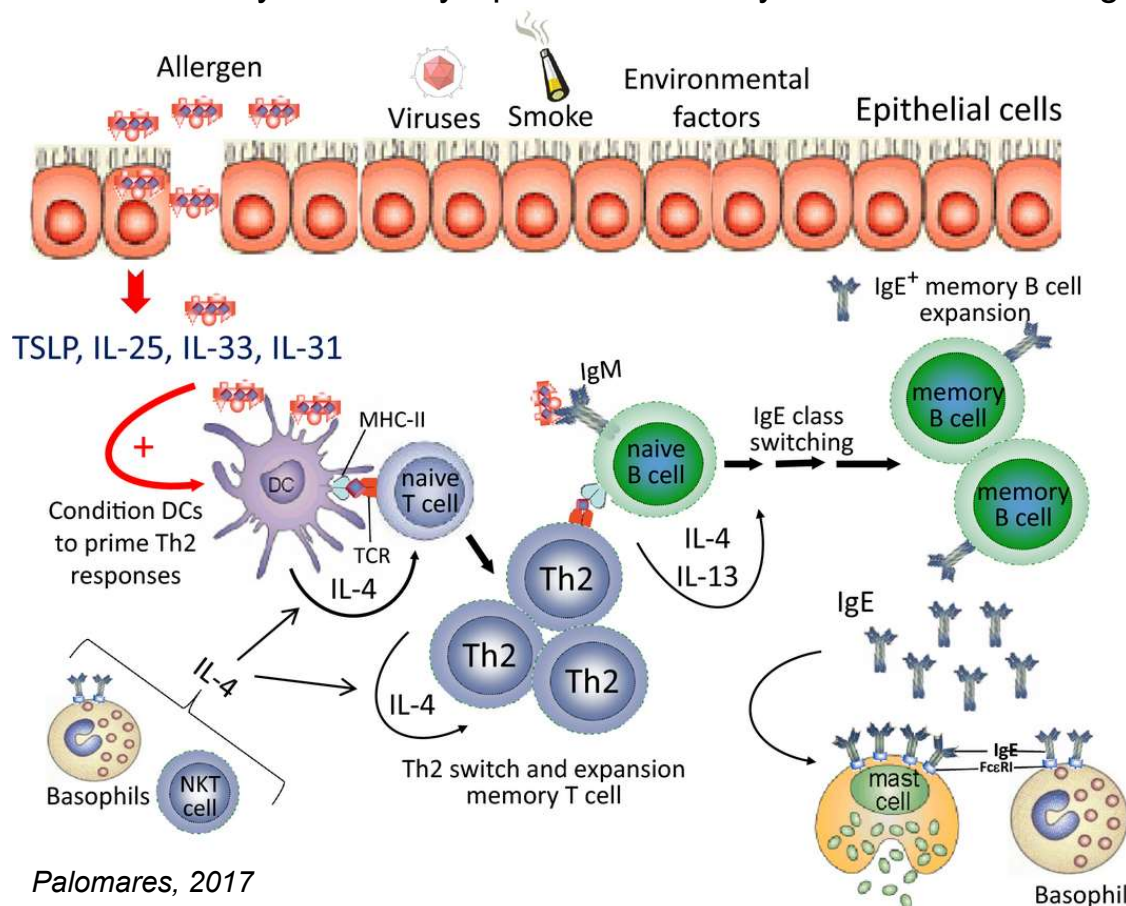
- Quels tests existe-t-il?
- Principes de ces tests
- Performances de ces tests
- Règles de prescription / Nomenclature
- Utilisation de ces tests en pratique

# I. Physiopathologie de l'HSI de type I

## La réaction immédiate

2

- 1<sup>ère</sup> rencontre avec l'allergène
  - ▣ Mise en route des réponses immunologiques de mémorisation
  - ▣ Collaboration des LyT et des LyB pour induire la synthèse de l'immunoglobuline "E"



Palomares, 2017

Récepteurs  
FcεRI  
(forte affinité)

Récepteurs  
FcεRII  
(faible affinité)

Mastocytes tissulaires  
Basophiles sanguins

Plaquettes  
Eosinophiles  
Cellules de Langerhans  
Macrophages  
Lymphocytes T

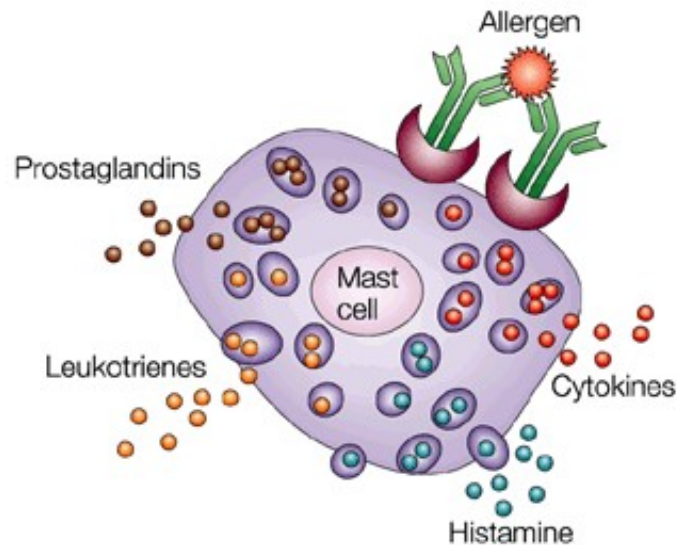
# I. Physiopathologie de l'HSI de type I

## La réaction immédiate

3

- Seconde rencontre
  - ▣ Allergène immédiatement reconnu
  - ▣ Réaction explosive
  - ▣ Libération de nombreux médiateurs de la réponse allergique

**Pénétration de l'antigène**  
(2<sup>ème</sup> ou n<sup>ième</sup>)



**Activation du mastocyte**  
(+ autres cellules)

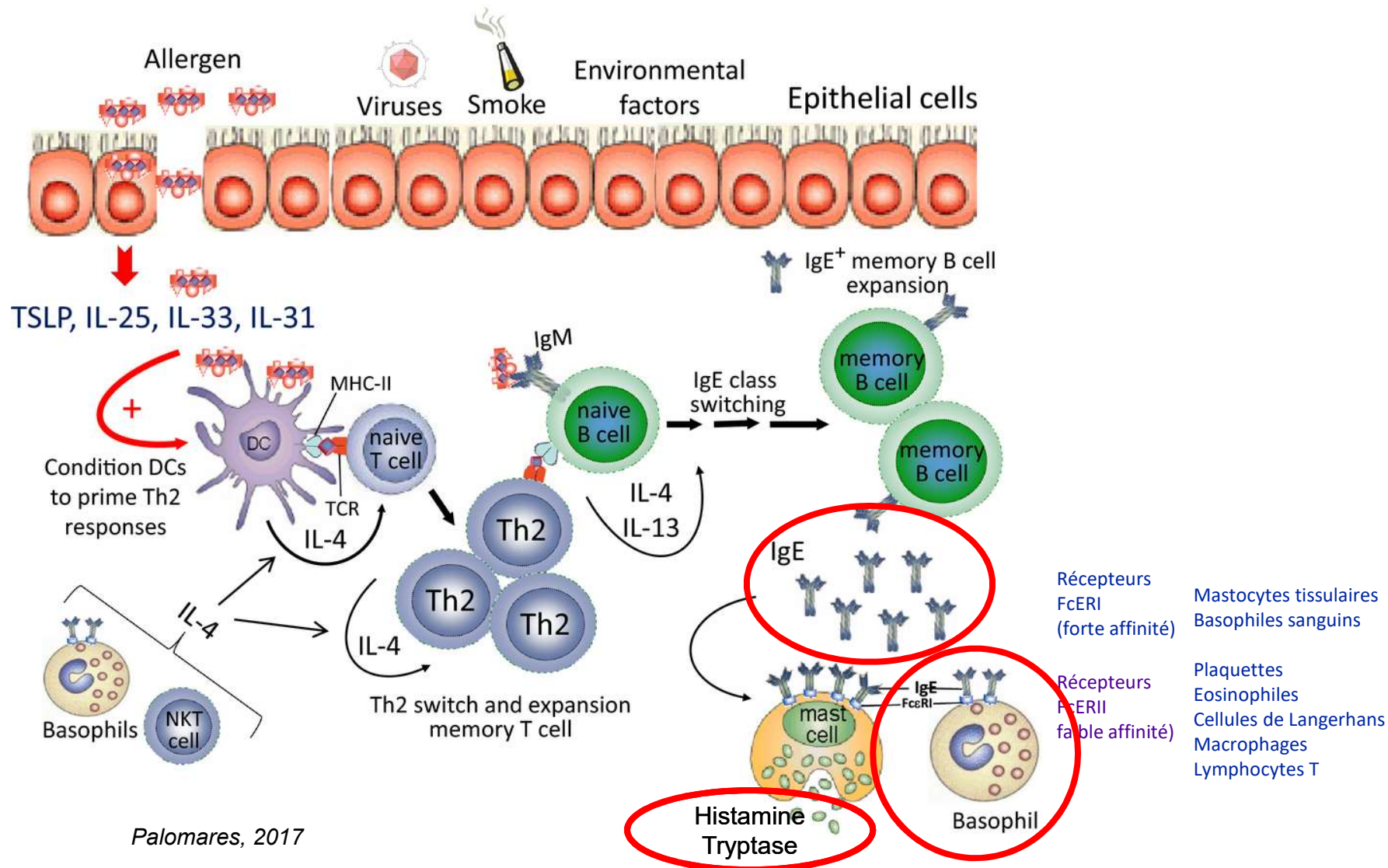
**Libération des médiateurs :**

- Histamine
- Leucotriènes
- Prostaglandines
- ...

# I. Exploration biologique de l'HS de type I

## Quels tests existe-il?

4



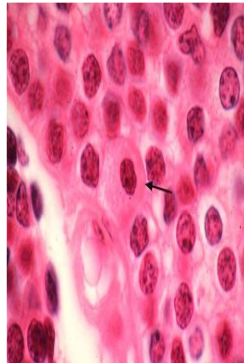
# Exploration de l'HSI : Tests biologiques utilisés

5



## Tests sériques :

- Apport des allergènes moléculaires



## Tests cellulaires :

- Test d'activation des basophiles

## ➤ Marqueurs **sériques** pour l'exploration de l'HSI

6

### Tests non spécifiques

- IgE totales (hyperéosinophilie)

### Marqueurs solubles dégranulés

- Tryptase/Histamine (=>origine allergique d'une réaction ?)

### Tests spécifiques

- Multiallergéniques (dépistage)
- Unitaire (identification)

## ➤ IgE totales

7

- Ig la plus faiblement représentée dans le sérum (50-100 ng/L)
  - ▣ Exprimée en **UI** (1UI = 2,4 ng)
  
- Marqueur pas toujours spécifique/sensible :
  - ▣ 20% des sujets sains : concentration élevée
  - ▣ 20% des sujets allergiques : concentration normale

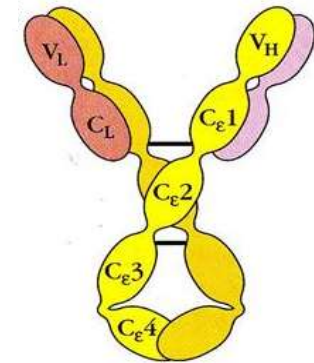




Table 1. Pathological states associated with increased levels of immunoglobulin E (IgE)

Pathological state associated with elevated IgE level	Examples of diseases	Type of inheritance	Gene defects
Worm infections	Helminthes, schistosomes, etc.	Polygenic	
Intracellular pathogens	Different species of <i>Leishmania</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> , etc.	Polygenic	
Allergic diseases	Atopic asthma, atopic dermatitis, rhinitis, etc.	Polygenic (see Table 2)	
Autoimmune diseases	Bullous pemphigoid disease, some cases of hyperthyroid Graves' disease	?	?
Immunodeficiencies	Hyper-IgE syndrome (HIES) HIES type 1	Autosomal dominant	<i>STAT3</i> mutations (Holland <i>et al.</i> , 2007; Minegishi <i>et al.</i> , 2007)
	HIES type 2	Autosomal recessive	<i>TYK2</i> (Minegishi <i>et al.</i> , 2006), <i>DOCK8</i> mutations (Engelhardt <i>et al.</i> , 2009)
	Wiskott-Aldrich syndrome Omenn syndrome	X-linked recessive Autosomal recessive	<i>WASP</i> mutations (Derry, Ochs & Francke, 1994) <i>RAG1</i> or <i>RAG2</i> (Villa <i>et al.</i> , 1998), <i>DCLRE1C</i> (Ege <i>et al.</i> , 2005), <i>IL-7R</i> (Giliani <i>et al.</i> , 2006), <i>RMRP</i> (Roifman <i>et al.</i> , 2006), <i>ζAP70</i> (Turul <i>et al.</i> , 2009), <i>ADA</i> (Roifman <i>et al.</i> , 2008), <i>DNA ligase IV</i> mutations (Grunebaum <i>et al.</i> , 2008), <i>IL2RG</i> (Gruber <i>et al.</i> , 2009)
	Comel-Netherton syndrome Immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (IPEX)	Autosomal recessive X-linked dominant	<i>SPINK5</i> mutations (Chavanas <i>et al.</i> , 2000) <i>FOXP3</i> mutations (Wildin <i>et al.</i> , 2001)
	Atypical complete DiGeorge syndrome	Autosomal dominant	22q11 hemizyosity (Driscoll, Budarf & Emanuel, 1992)
Tumours	Multiple myeloma, glioblastoma	?	?
Transplant rejection	Graft-versus-host disease	?	?

*ADA*, adenosine deaminase; *DCLRE1C* (*ARTEMIS*), DNA cross-link repair 1C; *DOCK8*, dedicator of cytokinesis 8; *FOXP3*, forkhead box P3; *IL-7R*, interleukin 7 receptor; *IL2RG*, interleukin 2 receptor, gamma; *RAG*, recombination activating gene; *RMRP*, RNA component of mitochondrial RNA processing endoribonuclease; *SPINK5*, serine peptidase inhibitor; *STAT3*, signal transducer and activator of transcription 3; *TYK2*, tyrosine kinase 2; *WASP*, Wiskott-Aldrich syndrome protein; *ζAP70*, zeta-chain (TCR) associated protein kinase.

## ➤ IgE totales

9

### 1 - IgE totales

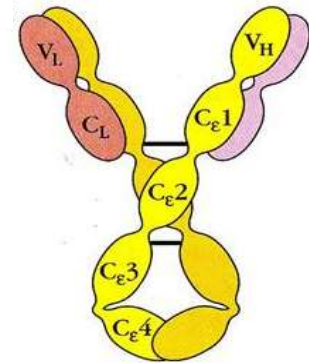
Dosage des IgE totales sériques exclusivement, à l'exception des techniques utilisant des supports bandelettes (dipsticks) ou pipettes

Il ne s'agit pas d'un test de dépistage de l'allergie.

Les indications médicales du dosage des IgE totales sont limitées à la confirmation diagnostic ou d'un suivi thérapeutique de :

- Polysensibilisations ;
- Parasitoses : filarioses, schistosomiases, toxocarose, ascaridiose, hydatidose ;
- Urticaire chronique ;
- Dermatite atopique ;
- Aspergillose broncho-pulmonaire ;
- Certains déficits immunitaires :
  - de l'enfant : syndrome de Wiskott-Aldrich ;
  - ou de l'adulte : syndrome de Job-Buckley.

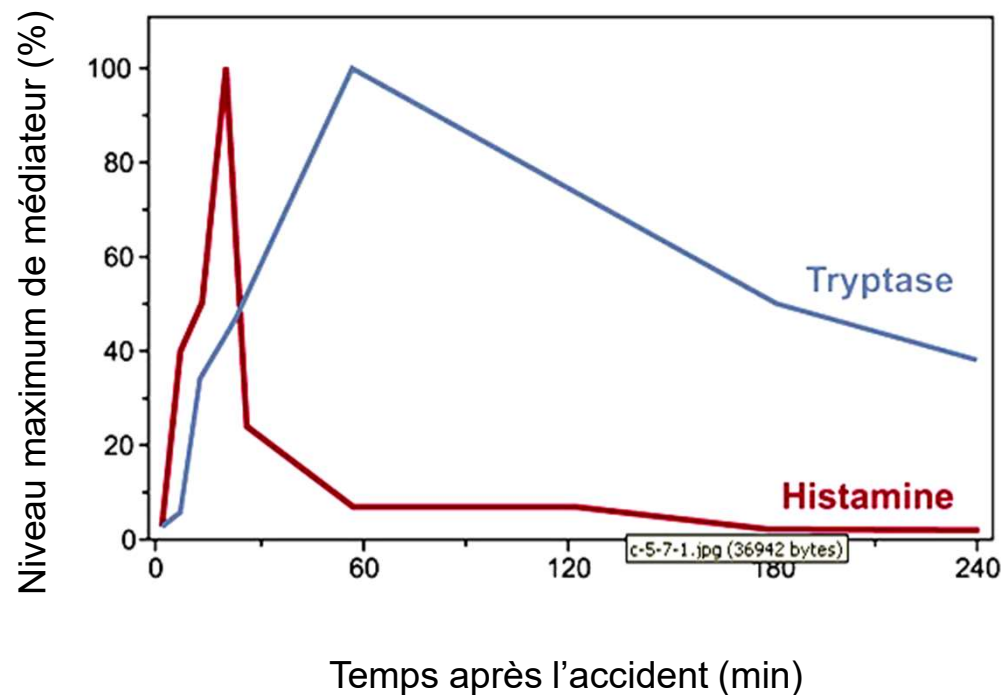
B 40



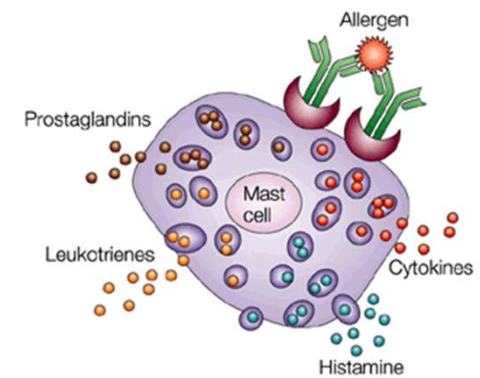
## ➤ Médiateurs dégranulés : Tryptase et Histamine plasmatiques

10

- Pour objectiver la dégranulation des mastocytes et des basophiles



- Mastocytes
- Marqueur stable
- Technique automatisée



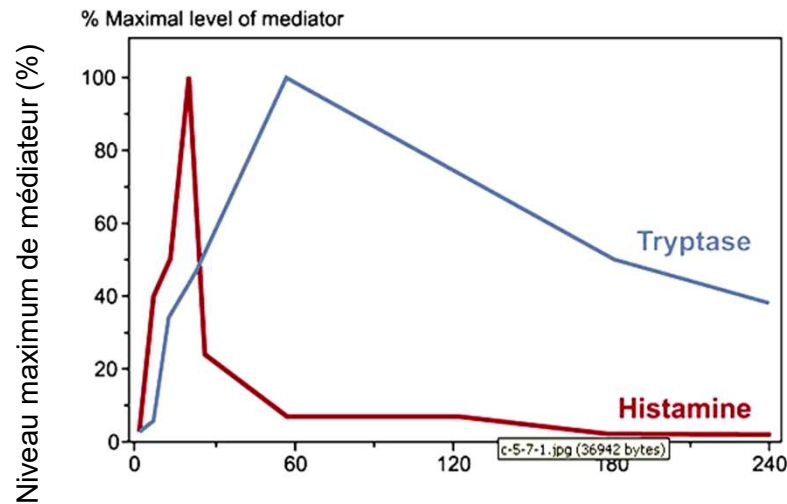
Nature Reviews | Immunology

- Mastocytes + basophiles
- Phase pré analytique délicate
- Dosage plus difficile

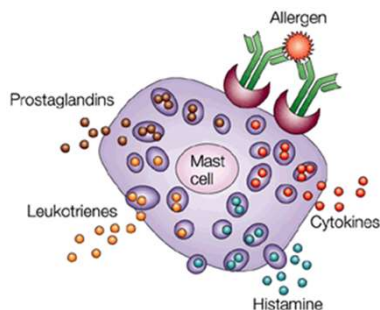
# ➤ Médiateurs dégranulés : Tryptase et Histamine plasmatiques

11

- Pour objectiver la dégranulation des mastocytes et des basophiles



Temps après l'accident (min)



Nature Reviews | Immunology

Recommandations :  
Au minimum

Délai après le choc	15 – 30 minutes	1 à 2 heures	Tryptasémie de base > 6 heures
Tryptase		✓	✓

Aux HCL

Délai après le choc	15 – 30 minutes	1 à 2 heures	Tryptasémie de base > 6 heures
Tryptase	✓	✓	✓
Histamine	✓	✓	

## ➤ Médiateurs dégranulés : Tryptase et Histamine plasmatiques

12

Exemple de cinétique

	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Délai après choc	10 minutes	1 à 2 heures	> 6 heures
Histamine (Val. réf. : < 10)	>100 nmol/L	20 nmol/L	
Tryptase (Val. réf. : < 11)	37.0 µg/L	24.3 µg/L	10.9 µg/L

## ➤ Médiateurs dégranulés : Tryptase et Histamine plasmatiques

13

Exemple de cinétique

Délai après le choc	15 – 30 minutes	1 à 2 heures	Tryptasémie de base > 6 heures
Tryptase		<b>10,9</b>	

Que conclure ?

Variation significative de la tryptase quand :

$\text{Tryptasémie} > 1,2 \times [\text{Tryptasémie basale}] + 2 \mu\text{g/L}$

ou

$\text{Tryptasémie} > 135\% [\text{Tryptasémie basale}]$

Délai après le choc	15 – 30 minutes	1 à 2 heures	Tryptasémie de base > 6 heures
Tryptase		<b>10,9</b>	<b>4</b>

-> dégranulation mastocytaire

- Tryptase et pathologie mastocytaire

14

- L'alpha-tryptase, secrétée continuellement par les mastocytes est responsable du **taux basal** de tryptase sérique de chaque individu.
- Son dosage sérique permet une estimation de la masse mastocytaire totale.

-> **Augmentation** de la tryptase dans la **mastocytose systémique**

Dosage de tryptase à réaliser :

- chez tout patient allergique aux **venins d'hyménoptères** ayant fait une réaction systémique
- en cas de réactions d'**hypersensibilité immédiate à répétition sans étiologie retrouvée**.

**Tableau I.** Critères majeurs et critères mineurs du diagnostic de MS\*.

<b>Critère majeur</b>	Infiltrat dense multifocal de mastocytes dans la moelle osseuse ou dans un autre organe extracutané, avec plus de 15 mastocytes par agrégat
<b>Critères mineurs</b>	1. Morphologie anormale des mastocytes médullaires ou d'un autre organe extracutané
	2. Mutation de c-KIT au codon 816
	3. Immunophénotypage des mastocytes médullaires exprimant le CD2 et/ou le CD25
	4. Taux de tryptase sérique > 20 ng/ml

\*Le diagnostic positif nécessite la présence d'un critère majeur et d'un critère mineur ou de 3 critères mineurs.

Le critère majeur est constitué par la présence d'agrégats de plus de 15 mastocytes anormaux au sein de la biopsie ostéo-médullaire ou de tout autre organe atteint en dehors de la peau.

Le taux de tryptase sérique doit être > 20 ng/ml en dehors d'une association à une autre hémopathie myéloïde. Un taux de tryptase sérique < 20 ng/ml est présent dans 20 à 30 % des cas de MS.

## ➤ Tests spécifiques

15

### □ IgE spécifiques (~ 600 tests)

Tests  
multiallergéniques

Tests unitaires

### □ Différentes types d'allergènes



Allergènes inhalés  
Pneumallergènes

- Pollens
- Animaux
- Acariens
- Arthropodes
- Moisissures



Allergènes ingérés  
Trophallergènes



Allergènes injectés

- Médicaments
- Venins d'hyménoptères



Allergènes  
professionnels



## L'Allergie : un langage codé...

16

- 1 code pour chaque allergène :
  - ▣ 1 lettre pour la catégorie
  - ▣ 1 chiffre

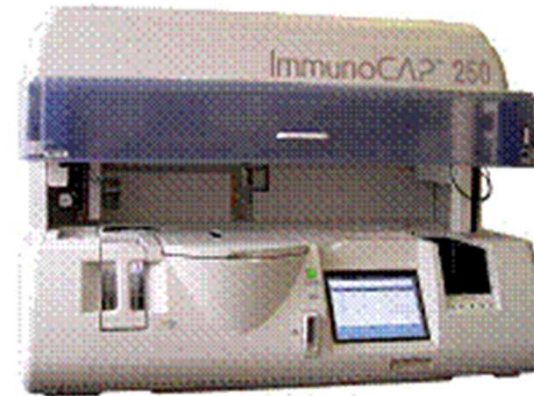
Lettre	Catégorie	Exemple
c	Médicament	c1: pénicilline
d	Acarions	d1 : <i>D. pteronyssinus</i>
e	Animaux	e1 : le chat
f	Aliments	f13 : l'arachide
g	Graminées	g3 : dactyle
i	Insecte	i1 : abeille
k	Professionnel	k82 : latex
m	Moisissures	m3 : <i>Aspergillus</i>
o	Divers	o1 : coton
p	Parasite	p1 : ascaris
t	Arbres	t3 : boulot
w	Herbacées	w1 : ambroisie

## ➤ Les techniques utilisées

17



**Techniques manuelles :**  
- Histamine



**Techniques automatisées :**  
- IgE totales  
- Phadiatop  
- Trophatop  
- IgE spécifiques  
- Tryptase  
- IgG4 spécifiques



**Tests de dépistage multi paramétrique :**  
Mixte  
Trophallergènes  
Pneumallergènes

**Biopuces multiallergéniques**

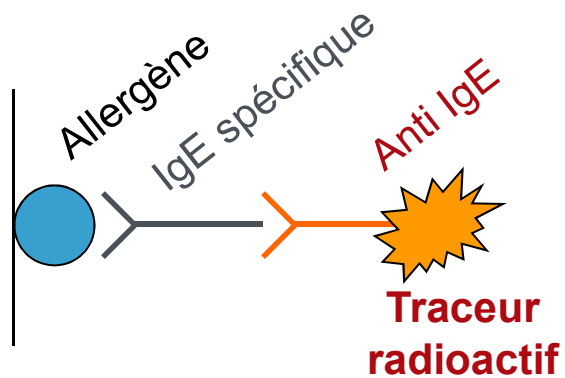


# Techniques

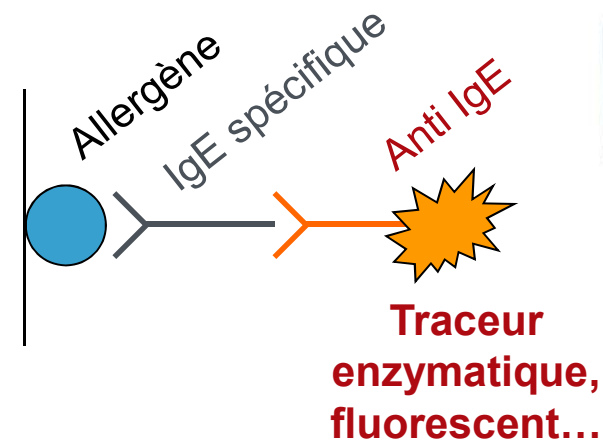
18

- Dérivent toutes du *RAST* (1974)

## « RAST »

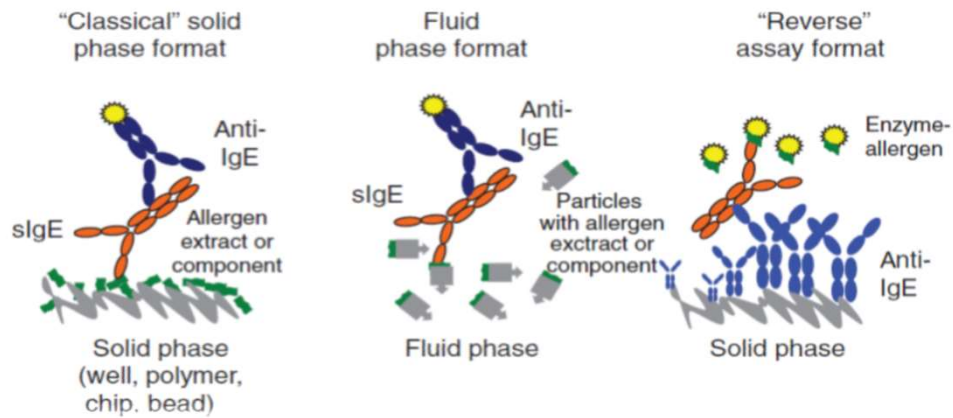


## Tests FEIA, « ImmunoCAP »

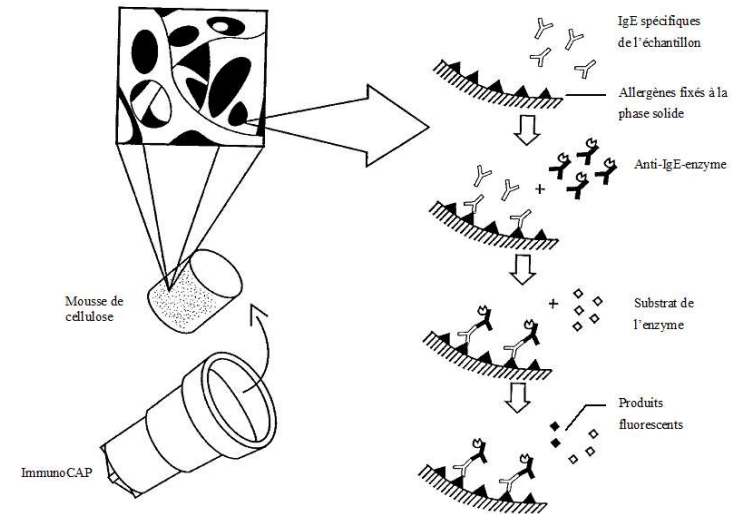


Pour les tests multiallergéniques et unitaires

# Techniques



*Kleine-Tebbe et al, 2016*



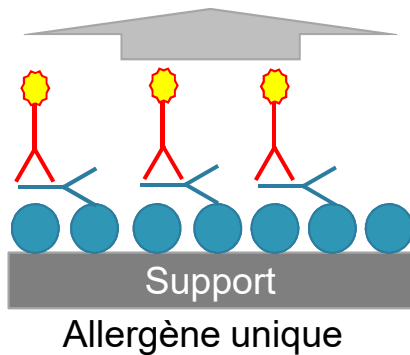


# Techniques

20

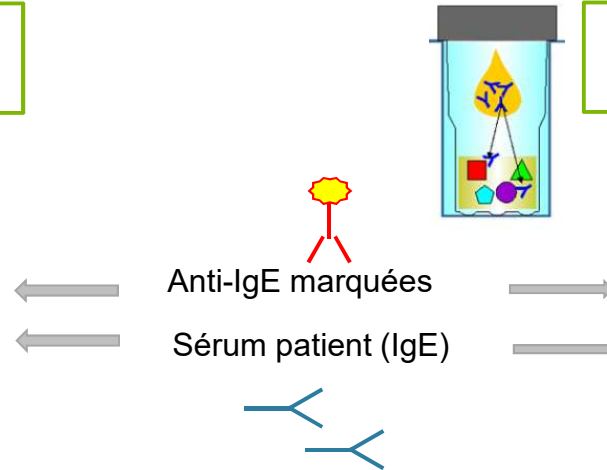
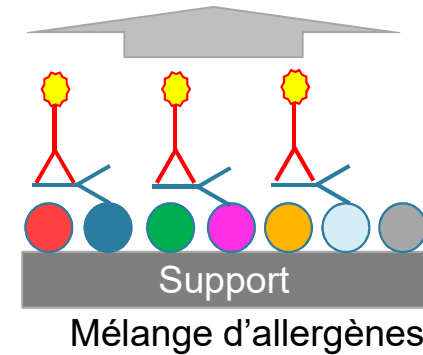
## Test unitaire (identification)

4) Détection marquage



## Test multiallergénique (dépistage)

Détection marquage



- Quantitatif (kU/L)
- Gamme de mesure : <math><0,10</math> à <math>>100</math> kU/L
- Attention : pas de standard international, les résultats peuvent varier d'une technique à l'autre pour un même allergène

- Pneumallergènes : **Phadiatop**
- Mélanges alimentaires : fx (~40 mélanges)

### Trophatop enfant

- Blanc d'œuf, lait de vache, arachide, moutarde
- Poisson, noisette, soja, blé
- Crevette, kiwi, bœuf, sésame

### Trophatop adulte

- Blanc d'œuf, lait de vache, arachide, poisson, soja, blé
- Noisette, crevette, kiwi, banane
- Sésame, levure de bière, ail, céleri



## Suivi d'un test de dépistage positif : IgE spécifiques de pneumallergènes

Phadiatop®



Phadiatop® positif

IgE spécifiques des  
allergènes courants

ET/OU

selon l'histoire clinique\*

- d1 acariens
- e1 chat
- g6 graminées
- t3 bouleau
- m6 alternaria

Périodicité des symptômes

Contexte personnel

+

Février

Mars-Avril

Mai-Juin-  
Juillet

Août-Sept-  
Octobre

Toute l'année ou  
si nb allergènes

Milieu  
citadin

Animal environnement  
proche

Milieu  
professionnel

t2 aulne  
t4 noisetier

t3 bouleau  
t7 chêne

g6 graminées

w9 plantain  
m6 moisissure

d1+d2 acariens  
e1 chat

i6 blatte

Exemples :  
e5 chien  
e3 cheval  
e82 + e211 lapin

Exemples :  
f4 farine de blé  
k82 latex

\* Vous pouvez prescrire jusqu'à 5 allergènes respiratoires + 5 allergènes alimentaires sur une même ordonnance (remboursés par la sécurité sociale)

Trophatop® positif



IgE spécifiques des aliments en lien avec l'histoire clinique

ET/OU

aliments du ou des mélanges Trophatop® positifs\*



Trophatop® enfant



Trophatop® adulte

Avant 2 ans

Après 2 ans

fx26	œuf	lait
	arachide	moutarde
fx27	poisson	noisette
	soja	blé
fx28	crevette	kiwi
	bœuf	sésame

fx26	œuf	lait
	arachide	moutarde
fx27	poisson	noisette
	soja	blé
fx28	crevette	kiwi
	bœuf	sésame

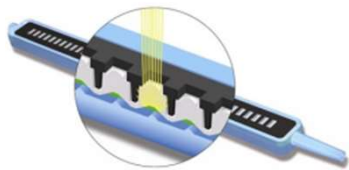
fx5	œuf	lait	poisson
	arachide	soja	blé
fx24	noisette	crevette	
	kiwi	banane	
fx28	sésame	levure de bière	
	ail	céleri	

\* Si plusieurs mélanges positifs, tester en priorité les allergènes sur fond rouge

Vous pouvez prescrire jusqu'à 5 allergènes respiratoires + 5 allergènes alimentaires sur une même ordonnance (remboursés par la sécurité sociale)

## Techniques : tests multiparamétriques sur un même support

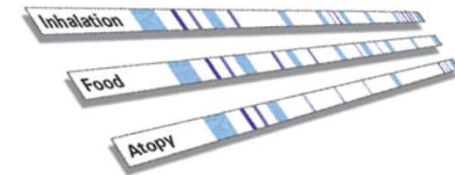
CLA  
Eurobio/Ingen



TAP  
Eurobio/Ingen



Euroline  
Euroimmun



- 30 allergènes
  - ▣ Résultats semi-quantitatif
  - ▣ Principalement des extraits
  - ▣ Recherche des IgE anti-CCD (TAP et Euroline)
- Techniques manuelles pouvant être automatisée
- Performances analytiques < à celles des tests unitaires



Nom: CONTROLE  
Prénom: TAPT  
Date de Naiss.: 29/11/2019

Epreuve: TAP Tropha  
Commande # : / Origine: 0191228123 / 36438  
Date: 29/11/2019  
Date de l'impression: 08/01/2020 (V. 5.01.32)

Allergènes	Classe	IgE [kU/l]	0	1	2	3	4	5	6
			0.15	0.35	0.70	3.5	17.5	50	100
f25 TOMATE	0	0.28							
f96 AVOCAT	1	0.57							
f92 BANANE	0	0.18							
f29 AGRUMES	1	0.51							
f84 KIWI	2	0.78							
f13 ARACHIDE	2	0.82							
f17 NOISETTE	6	>100							
f12 POIS	1	0.47							
f14 SOJA	1	0.68							
f85 CELERI	0	0.15							
f27 BŒUF	0	<0.15							
f83 POULET	2	1.5							
f26 PORC	0	<0.15							
f207 PALOURDE	0	<0.15							
f24 CREVETTE	0	<0.15							
f23 CRABE	0	<0.15							
f40 THON	0	<0.15							
f03 MORUE	0	<0.15							
f47 AIL	0	<0.15							
f48 OIGNON	0	0.20							
f45 LEVURES	0	<0.15							
f10 SESAME	2	0.72							
f09 RIZ	1	0.58							
f08 MAIS	3	6.3							
f04 BLE	6	>100							
f76 ALPHA-LACTALBUMINE	3	5.3							
f77 BETA-LACTOGLOBULINE	6	>100							
f78 CASEINE	6	>100							
f01 BLANC D'ŒUF	4	18							
CCD		<0.15							

f29 f208 / f306 / f33 / f302 - Lemon, Lime, Orange, Mandarin

Contrôle réactionnel: valide

Classe	Conc. IgE [kU/l]	Explication	Classe	Conc. IgE [kU/l]	Explication
0	<0.35	Pas d'anticorps spécifiques détectés.	4	17.5 - <50	Haute concentration d'anticorps
1	0.35 - <0.7	Quantité d'anticorps très faible	5	50 - <100	Très haute concentration d'anticorps
2	0.7 - <3.5	Quantité d'anticorps faible	6	>= 100	Concentration d'anticorps extrêmement
3	3.5 - <17.5	Quantité d'anticorps importante			

# Nomenclature : Arrêté du 28 novembre 2003

25

## Tests de dépistage

(pas d'identification de l'allergène)

- Recherche d'IgE spécifiques vis-à-vis de **mélanges** d'allergènes
- Ordonnances indiquant au maximum :
  - 1 mélange de pneumallergène : **B51**
  - 3 mélanges alimentaires : **3 x B51**

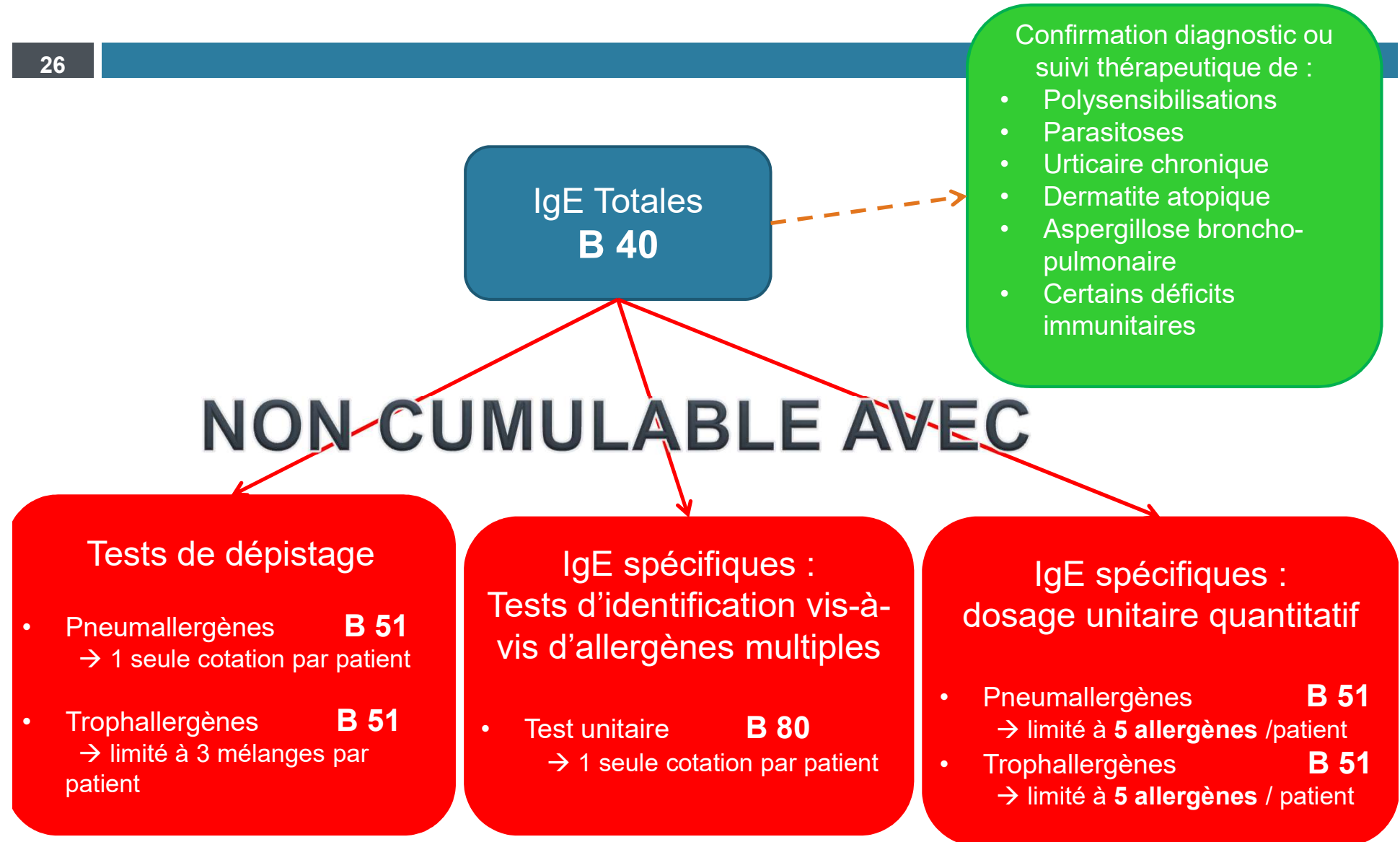
## Tests d'identification

- Tests unitaires vis-à-vis d'allergènes multiples : **B80**
- Tests de quantification des IgE spécifiques vis-à-vis d'allergènes unitaires
- Ordonnances indiquant au maximum :
  - 5 aliments : **5 x B51**
  - 5 pneumallergènes : **5 x B51**
  - 5 venins : **5 x B51**
  - 5 médicaments : **5 x B51**
  - 1 test pour le latex : **B51**

- Mentionner la technique, ses limites, et interprétation des résultats

# Nomenclature : Arrêté du 28 novembre 2003

26



## Nomenclature : Arrêté du 28 novembre 2003

27

IgE Totales  
**B 40**

N'est pas un test de dépistage de l'allergie

**CUMULABLE AVEC**

Confirmation diagnostic ou suivi thérapeutique de :

- Polysensibilisations
- Parasitoses
- Urticaire chronique
- Dermatite atopique
- Aspergillose broncho-pulmonaire
- Certains déficits immunitaires

Certaines IgE spécifiques

- Latex : 1 cotation/patient **B 51**
- Venins d'hyménoptères **B 51**  
→ limité à 5 tests par patient
- Médicaments **B 51**  
→ limité à 5 tests par patient

Autres actes utilisés en allergie

- Tryptase **B 80**
- ECP **B 100**  
(Eosino Cationique Protéine)

# Interprétation biologique d'un résultat positif d'IgE spécifiques

28

- Mise en évidence d'une sensibilisation biologique  
Sensibilisation ≠ allergie



- Quantification des résultats
  - ▣ Pour affiner l'interprétation (suivi de la décroissance)
- Réactions croisées à prendre en compte
  - ▣ Pour les extraits allergéniques « classiques »

# Les limites des extraits allergéniques naturels

29

- Composition **non standardisée** (mélange de protéines allergéniques et non allergéniques)
  
- Variable
  - En fonction des **sources** : **sources allergéniques complexes**:
    - grains de pollens
    - squames et phanères d'animaux
    - cultures d'acariens ou de blattes.....
  - Des **procédés de préparation** :
    - extraction aqueuse
    - dégradation des allergènes fragiles lors de la préparation (chauffage)....
  - De **purification** et de **stockage** utilisés :
    - contaminations

# Evolution de la biologie de l'allergie

30

- IgE totales
- Tests de screening :
  - ▣ Mélanges d'allergènes
  - ▣ CLA
- IgE spécifiques avec **extraits allergéniques naturels**



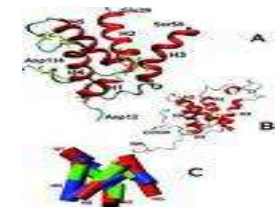
**Manque de  
spécificité et de sensibilité**

**UNE EVOLUTION DANS LE  
DIAGNOSTIC IN VITRO:**

**DES EXTRAITS ALLERGENIQUES**

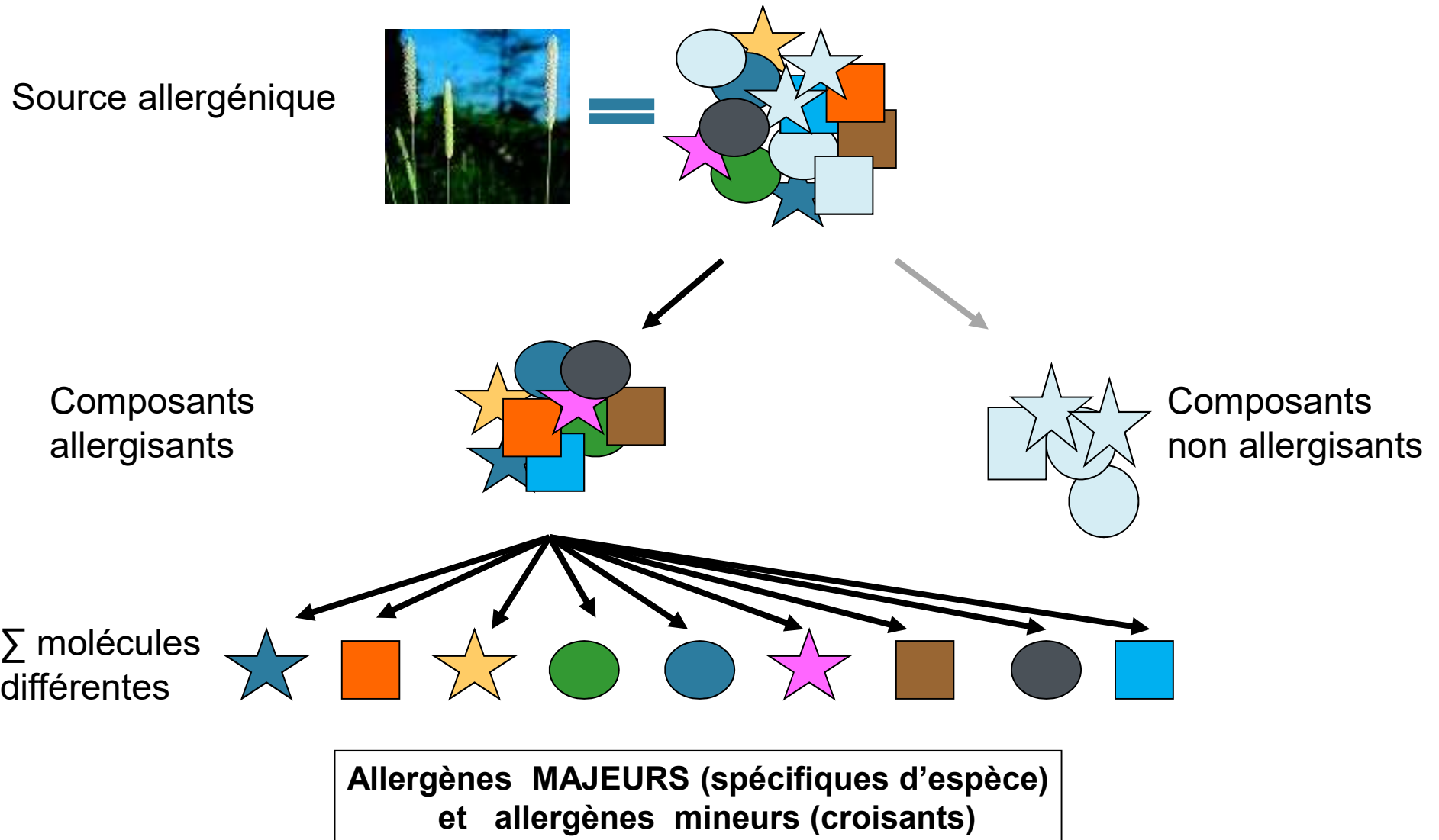
**AUX ...**

**ALLERGENES MOLECULAIRES**



# La source allergénique

31

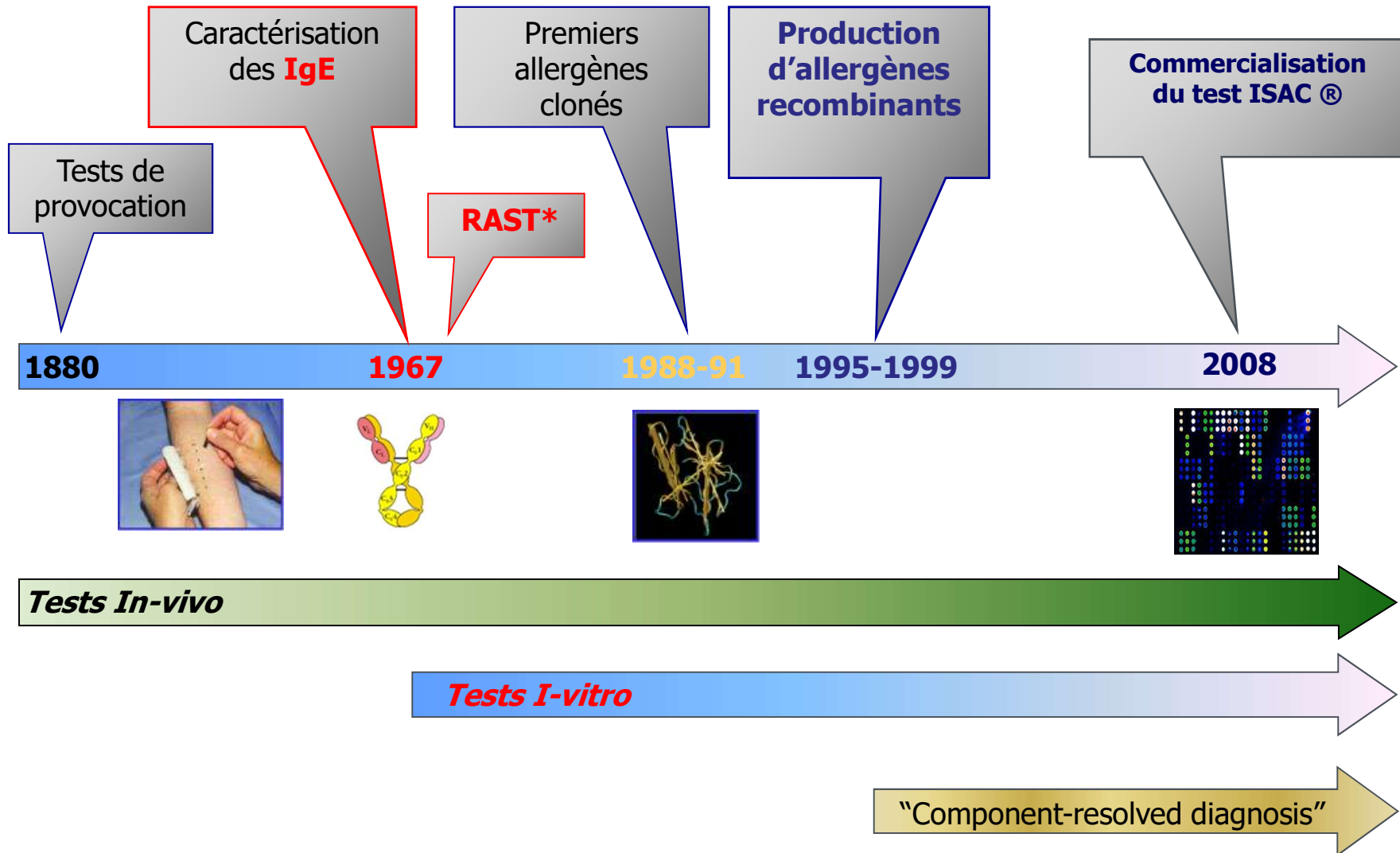




# IV. Les allergènes moléculaires

## Un peu d'histoire sur la biologie de l'allergie

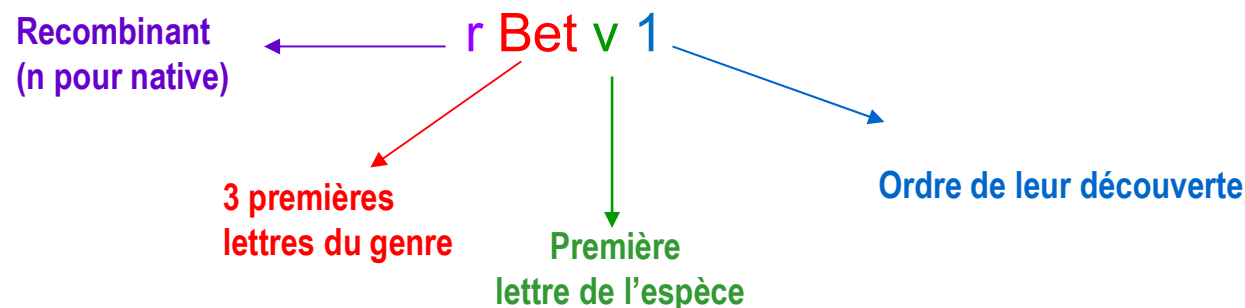
32



# Rappels sur les allergènes moléculaires

33

- Les allergènes moléculaires
  - ▣ **Natifs** : purifiés à partir de sources allergéniques naturelles
  - ▣ **Recombinants** : synthétisés par génie génétique à partir de cellules procaryotes (E. coli ++)
- A ce jour, **+ de 1000 allergènes** (regroupés en 175 familles) ont été identifiés
- **Nomenclature** : exemple du bouleau *Betula verucosa*

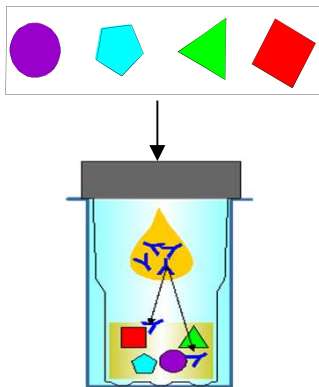


# Avantages des allergènes recombinants

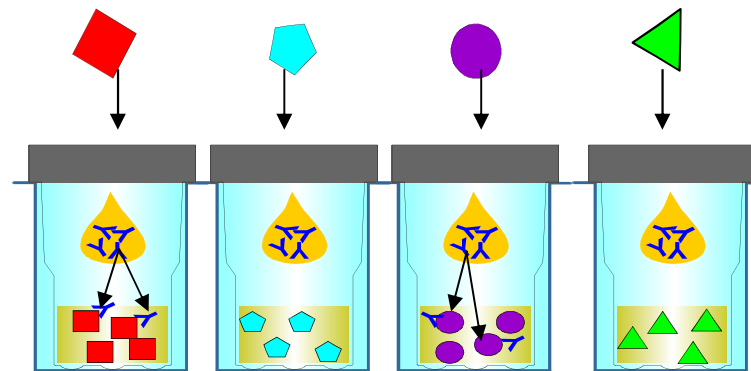
34

- Standardisation des réactifs
- Production à grande échelle
- Excellente reproductibilité des lots
- Pureté supérieure aux allergènes purifiés

Source allergénique



Composants allergéniques natifs ou recombinants



**Dosage plus spécifique**

## II. Stratégies de prise en charge d'une hypersensibilité immédiate

35

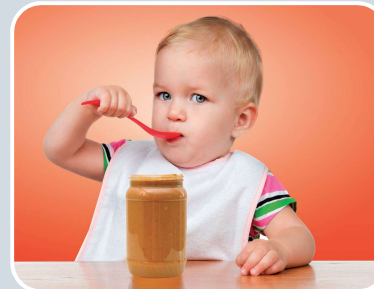


Interrogatoire  
+++

- Recherche des allergènes responsables des signes cliniques



Tests cutanés



Tests de provocation



Disparition des signes à l'éviction de l'allergène

+/- Biologie

## +/- Biologie

36

- - :
  - ▣ Quand symptomatologie simple, facilement reliée à un allergène lors de l'interrogatoire
- + :
  - ▣ Quand patient vu par un **non spécialiste**
  - ▣ Quand **tests cutanés irréalisables** (eczéma, peau aréactive) ou interprétation difficile (dermographisme)
  - ▣ **Aide des nouveaux outils disponibles** au diagnostic et à la prise en charge (TPO, éviction, désensibilisation)

- 1) Outil de dépistage des réactions croisées sur des bases moléculaires et aide à l'interprétation des polysensibilisations cutanées
- 2) Outil pour améliorer les tests biologiques classiques
- 3) Outil pour contribuer à un diagnostic plus spécifique
- 4) Outil pour améliorer/personnaliser la prise en charge du patient (immunothérapie, établir un risque de réactions sévères, indication d'un TPO, éviction)

## 1) Outil de dépistage des réactions croisées et aide à l'interprétation

Dépistage des **réactions croisées** sur des bases moléculaires

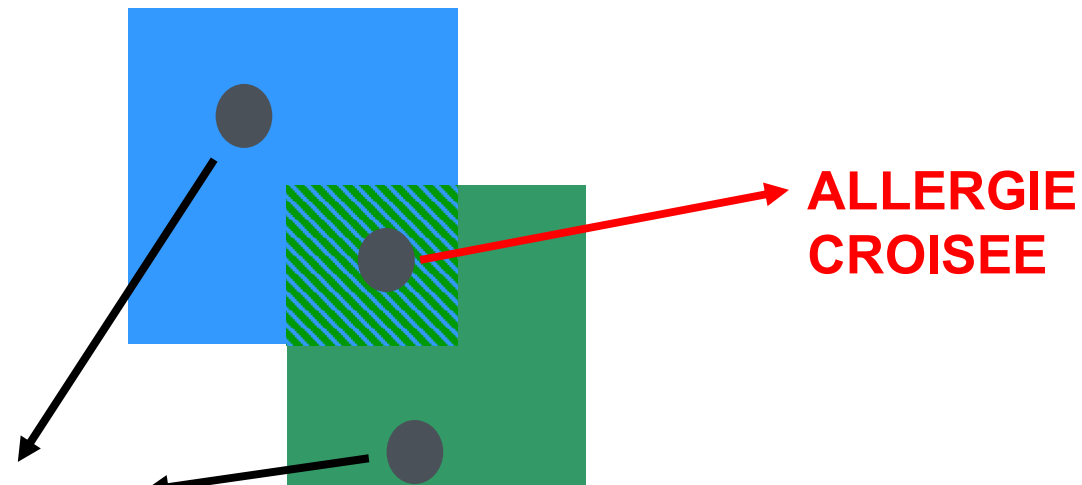
Aide à l'**interprétation des polysensibilisations** cutanées

# Outils pour dépister les réactions croisées

39

● = épitope reconnu par l'IgE

Allergène 1



□ Une évolution fondamentale :  
La définition des familles biochimiques  
d'allergènes



# Différents types de réactions croisées

40

## Entre espèces taxonomiquement proches :

- Acariens (d1, d2)
- Graminées (dactyle, phléole)
- Frêne / olivier : famille des Oléacées

## Entre espèces taxonomiquement éloignées :

- La relation botanique ne permet plus d'expliquer les réactions croisées
- Notion de **famille moléculaire** (protéines provenant de divers allergènes et ayant la même fonction physiologique)

# Réactions croisées entre allergènes inhalés et aliments

41

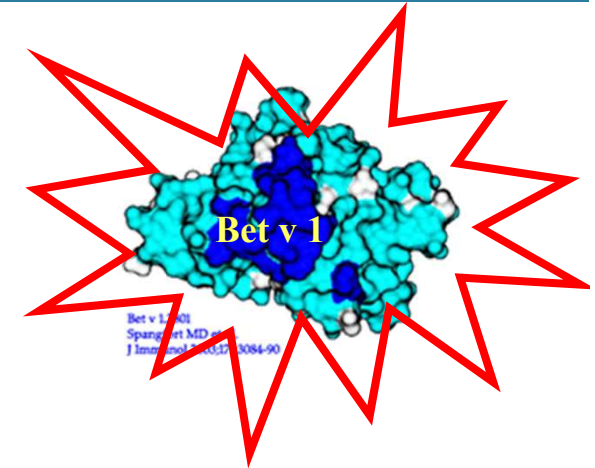
<b><i>Allergènes inhalés</i></b>	<b><i>Aliments</i></b>
<i>Pollens de Bouleau,Aulne,Noisetier</i>	<i>Noix/noisette, amande, pomme, poire, cerise, abricot, pêche, kiwi</i>
<i>Pollen d'Armoise</i>	<i>Céleri , carotte, fenouil, anis, aneth, paprika, Coriandre, camomille, cumin ,tournesol</i>
<i>Pollen d'ambrosie</i>	<i>Melon, banane</i>
<i>Acariens de la poussière domestique</i>	<i>Crevette, homard, langouste,crabe escargot</i>
<i>Latex</i>	<i>Avocat, banane ,marron, kiwi, figue, papaye, épinard, pomme de terre, tomate</i>
<i>Plumes d'oiseaux</i>	<i>Œuf de poule</i>
<i>Pollens (tous)</i>	<i>Miel</i>

*d'après Helbling A, 1997*

# Famille des PR-10

42

- Allergies croisées pollens-aliments
- Syndrome « Pomme-Bouleau »
- Base moléculaire des RC bien décrite : les PR-10
- Allergènes sensibles :
  - À la **pepsine** : syndromes locaux (oraux ++)
  - À la **chaleur/cuisson** : aliment cuit, en général toléré
- Réactions allergiques aux fruits et légumes du **nord** de l'Europe



**Gly m 4**



**Ara h 8**



**Dau c 1**



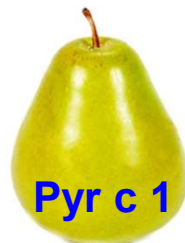
**Pru ar 1**



**Cor a 1**



**Pru p 1**



**Pyr c 1**



**Mal d 1**



**Pru av 1**

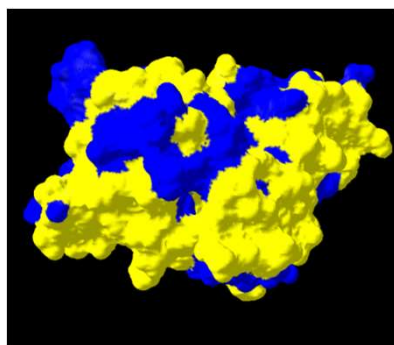


**Api g 1**

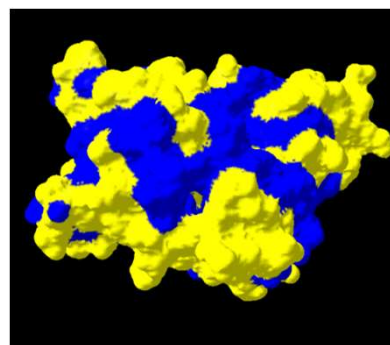
# Expliquer des réactions croisées sur des bases moléculaires

43

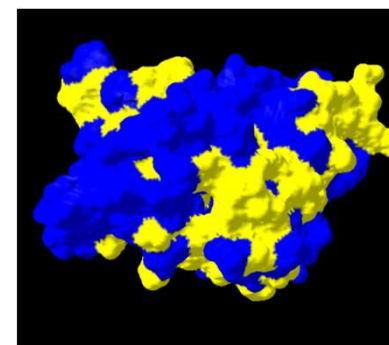
Identité / allergène	Bet v 1	Mal d 1	Gly m 4	Api g 1
% séquences	100	56	47	39
% surface	100	71	60	47



Bet v 1 vs. Mal d 1



Bet v 1 vs. Gly m 4



Bet v 1 vs. Api g 1

 Surface commune

Degré de similitude des épitopes conformationnels

D'après Radauer, Allergy School Bichenberg 2007

# Quelques familles moléculaires

44

Allergènes d'origine végétale	
<b>Protéines de stockage</b>	<b>Albumines 2S</b> (Ara h 2, Ara h 6, Cor a 14, Ses i 1, Jug r 1, Ber e 1, Ana o 3) – <b>Globulines 7S</b> (Ara h 1, Gly m 5, Jug r 2) - <b>Globulines 11S</b> (Ara h 3, Cor a 9, Gly m 6, Ana o 2)
<b>PR-10</b> ou <b>Bet v 1-like</b> (Pathogenesis related)	<b>Bouleau (Bet v 1)</b> , <b>Noisette</b> (Cor a 1), <b>Arachide</b> (Ara h 8), <b>Soja</b> (Gly m 4), <b>Céleri</b> (Api g 1), <b>Pêche</b> (Pru p 1), <b>Kiwi</b> (Act d8), Pomme (Mal d 1), cerise (Pru av 1)...
<b>LTP (Lipid Transfer Proteins)</b> (PR-14)	<b>Pêche (Pru p 3)</b> , <b>Noisette</b> (Cor a 8), <b>Arachide</b> (Ara h9), <b>Armoise</b> (Art v 3), pomme (Mal d 3) cerise (Pru av 3), <b>Pariétaire</b> (Par j 2)
<b>Profilines</b>	<b>Bouleau</b> (Bet v 2), <b>Phléole</b> (Phl p 12), <b>Latex</b> (Hev b 8), <b>Pêche</b> (Pru p4)
<b>Polcalcines</b>	<b>Bouleau</b> (Bet v 4), <b>Phléole</b> (Phl p 7)

# Quelques familles moléculaires

45

Allergènes d'origine animale	
<b>Tropomyosines</b>	Crevettes (Pen a 1, etc.), homard, crabe, huître, Acariens (Der p 10), blatte, anisakis
<b>Parvalbumines</b>	Carpe (Cyp c 1), Morue (Gad c 1),
<b>Albumines</b>	Chat, Chien, Vache, Porc

# Classification des familles d'allergènes végétaux

46

- (Hauser M. et al. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology* 2010;6:1)

Classification	Famille d'allergènes	Distribution						
		Pollens			Aliments			
		Arbres	Graminées	Herbacées	Fruits	Légumes	Fruits Coques	Latex
<b>Pan-allergènes</b> (vrais pan-allergènes ubiquitaires)	Profilins	X	X	X	X	X	X	X
	Polcalcins	X	X	X				
<b>Eur-allergènes</b> (distribution large)	ns LTP	X		X	X	X	X	X
	PR-10	X			X	X	X	
	Hevein-like domain proteins	X			X	X	X	X
	$\beta$ -1,3 glucanases	X			X	X		X
	Pectate lyases	X		X				
<b>Sten-allergènes</b> (distribution étroite)	Cyclophilines	X	X					
	Thaumatococcus-like proteins	X			X	X		
	PR-1		X	X		X		X
	Patatines						X	X
	Cupines						X	
	Fe/Mn superoxide dismutases						X	X
<b>Mon-allergènes</b> (distribution limitée à 1 seule source)	Albumines 2S						X	
	Expansines		X					
	Oléosines						X	
	Facteurs d'élongation du caoutchouc							X
	$\alpha$ -amylases						X	

47

## 2) Outil pour améliorer les tests biologiques classiques



# Information de Sécurité Importante ImmunoCAP

## Allergène f14 (soja)

48

Analyse	Unité	Borne	23/06/15
IgE	kU/L	<150	532
Bouleau rBet v1	kU/L		73,70
Bouleau rBet v2	kU/L		<0.10
Soja (aliment)	kU/L		<0.10
rGly m4	kU/L		
Pomme	kU/L		12,70
Pomme rMal d 1 PR-10	kU/L		
Noisette	kU/L		24,10
rCor a 1	kU/L		
rCor a 8	kU/L		
noisette rCor a 14	kU/L		
noisette rCor a 9	kU/L		

# Information de Sécurité Importante ImmunoCAP

## Allergène f14 (soja)

49

Species	Allergen	Biochemical name	MW (SDS-PAGE)	Food Allergen	Entry Date
<i>Glycine max</i> (Soybean)					
	Gly m 1	Hydrophobic protein from soybean, LTP	7	No	2003-06-24
	Gly m 2	Défensine	8	No	2003-06-25
	Gly m 3	Profiline	14	Yes	2003-06-25
	<b>Gly m 4</b>	Pathogenesis-related protein, <b>PR-10</b> , Bet v 1 family member	17	Yes	2006-11-03
	<b>Gly m 5</b>	Beta-conglycinine (viciline, globuline 7S)	see subunits	Yes	2008-08-19
	<b>Gly m 6</b>	Glycinin (légumine, globuline 11S)	see subunits	Yes	2008-08-19
	Gly m 7	Seed-specific biotinylated protein (SSBP)	76.2 kDa	Yes	2012-09-24
	Gly m 8	2S albumin		Yes	2014-01-07

<http://www.allergen.org/>

# Information de Sécurité Importante ImmunoCAP

## Allergène f14 (soja)

50

Analyse	Unité	Borne	23/06/15
IgE	kU/L	<150	532
Bouleau rBet v1	kU/L		73,70
Bouleau rBet v2	kU/L		<0.10
Soja (aliment)	kU/L		<0.10
rGly m4	kU/L		11,1
Pomme	kU/L		12,70
Pomme rMal d 1 PR-10	kU/L		33,6
Noisette	kU/L		24,10
rCor a 1	kU/L		49,3
rCor a 8	kU/L		<0.10
noisette rCor a 14	kU/L		<0.10
noisette rCor a 9	kU/L		<0.10

# Information de Sécurité Importante ImmunoCAP Allergène f14 (soja)

51

- Présence en faible quantité du composant **Gly m4** dans l'extrait naturel utilisé pour le test f14 (IgE spécifiques graine de soja)
- Conseils sur les mesures à prendre par l'utilisateur



Il est recommandé de compléter le bilan biologique avec le test **rGly m4**

- Pour les patients sensibilisés au pollen de bouleau, chez lesquels est suspectée une allergie au soja
- Et/ou les patients avec une histoire convaincante d'allergie au soja, mais avec un **résultat négatif pour le test f14**

*Un résultat négatif pour f14 (graine de soja) et positif pour **rGly m 4** (PR-10) est souvent associé à des **réactions locales**.*

*Cependant des **réactions systémiques** peuvent survenir, en particulier chez les patients allergiques au pollen d'arbres apparentés au bouleau lors de la consommation de **grandes quantités de soja peu transformé** (ex: lait de soja).*

# Amélioration des tests biologiques, exemple de la noisette

52

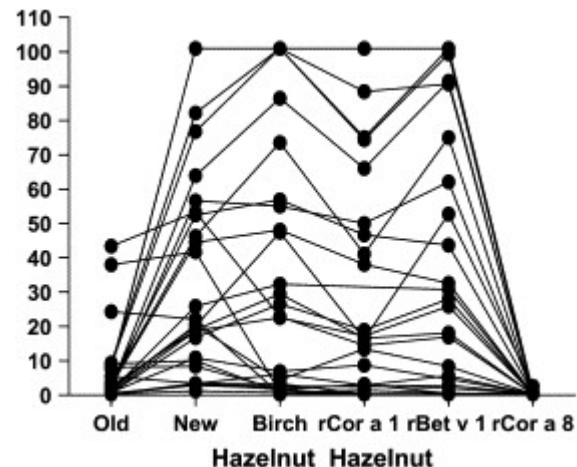


## Noisette (f17)

- Cor a1 (PR-10, homologue de bet v1) détruite par le chauffage lors de la préparation de f17
- Enrichissement du test f17 en rCor a1

- ▣ **Caution:** The Phadia hazelnut ImmunoCAP (f17) has been supplemented with recombinant Cor a1 and now detects Bet v 1–specific IgE, which leads to elevated values for persons with birch pollen allergy

(Sicherer S. et al ,JACI, August 2008 413-415)

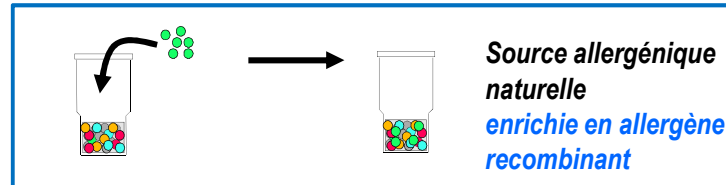


Moyenne IgE spécifiques  $\times 14$   
chez patients sensibilisés à Bet v 1

Depuis décembre 2013 : enrichissement en Cor a 8

# Amélioration des tests biologiques

53



## Latex (k82)

- Hev b5 : allergène majeur, en faible quantité dans les extraits de latex
- Enrichissement du test k82 en **rHev b5**
- Meilleure détection des patients monosensibilisé à Hev b5



## Noix (f256)

- Amélioration du procédé d'extraction pour mieux extraire **Jug r1** (albumine 2s) jusqu'à la peu présent dans l'extrait classique
- Intérêt pour les patients monosensibilisé à Jug r1



## Venin de guêpes

- Enrichissement des extraits de guêpe poliste et vespula en antigène 5 (**Pol d5 et Ves v5**)

54

4) Outil pour contribuer à un diagnostic plus spécifique

# Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

## Exemple du latex

55

### □ Allergènes du latex

Allergènes	Familles moléculaires	Majeur (M) - mineur (m)
Hev b 1	Facteur d'élongation	m
Hev b 2	1,3 $\beta$ -glucanase	M
Hev b 3	REF-like protéine	m
Hev b 4	Lécithinase	m
Hev b 5	Acidic protein	M
Hev b 6.01	Précurseur de lectine	M
Hev b 6.02	Lectine	M
Hev b 7	Patatin-like protéine	m
Hev b 8	Profiline	m
Hev b 9	Enolase	m
Hev b 10	Superoxyde-dismutase	m
Hev b 11	Chitinase	m
Hev b 12	LTP	m
Hev b 13	Nodulin-like protéine	M



# Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

## Exemple du latex

56

- Intérêt de rHev b5 dans le diagnostic d'allergie au latex
- Homme de 22 ans
- Etudiant en médecine
- Absence de terrain atopique
  - ▣ Pas de pollinose
  - ▣ Pas d'allergie alimentaire
- Rhinoconjonctivite à l'arrivée dans le service clinique
- Prick-tests latex
  - ▣ Allerbio : Négatif
  - ▣ Stallergènes : Négatif
- IgE spécifiques Latex (k82) : 4,39 KU/L

rHev b 1 <0,10 kU/L	rHev b 6.02 <0,10 kU/L
rHev b 2 <0,10 kU/L	rHev b 8 <0,10 kU/L
rHev b 3 <0,10 kU/L	rHev b 9 <0,10 kU/L
<b>rHev b 5 = 1,84 kU/L</b>	rHev b 11 <0,10 kU/L
rHev b 6.01 <0,10 kU/L	broméline <0,10 kU/L

→ **Allergie au latex** confirmée par la présence d'IgE dirigées contre **rHev b5**

# Réaction croisée biologique : latex

57

- Biologie :
  - Latex : 36,1 kU/L
  - Hev b1 : < 0,10 kU/L
  - Hev b2 : < 0,10 kU/L
  - Hev b3 : < 0,10 kU/L
  - Hev b4 : < 0,10 kU/L
  - Hev b5 : < 0,10 kU/L
  - Hev b6.01: < 0,10 kU/L
  - Hev b6.02: < 0,10 kU/L
  - Hev b8 : > 100 kU/L
  - Hev b9 : < 0,10 kU/L
  - Hev b11 : < 0,10 kU/L
- TC négatifs
- Pas d'arguments en faveur d'une allergie au latex
- Mais très pollinique
- Hev b8 : **profiline**
- Réactions croisées avec de nombreux pollens et aliments d'origine végétale

# Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

## Exemple de l'arachide

58

- IgE spécifiques arachide (extrait total)

	sensibilité	spécificité
f13	100 %	<b>42,5 %</b>

→ Régime d'éviction non pertinent

# Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

## Exemple de l'arachide

### Les allergènes de l'arachide

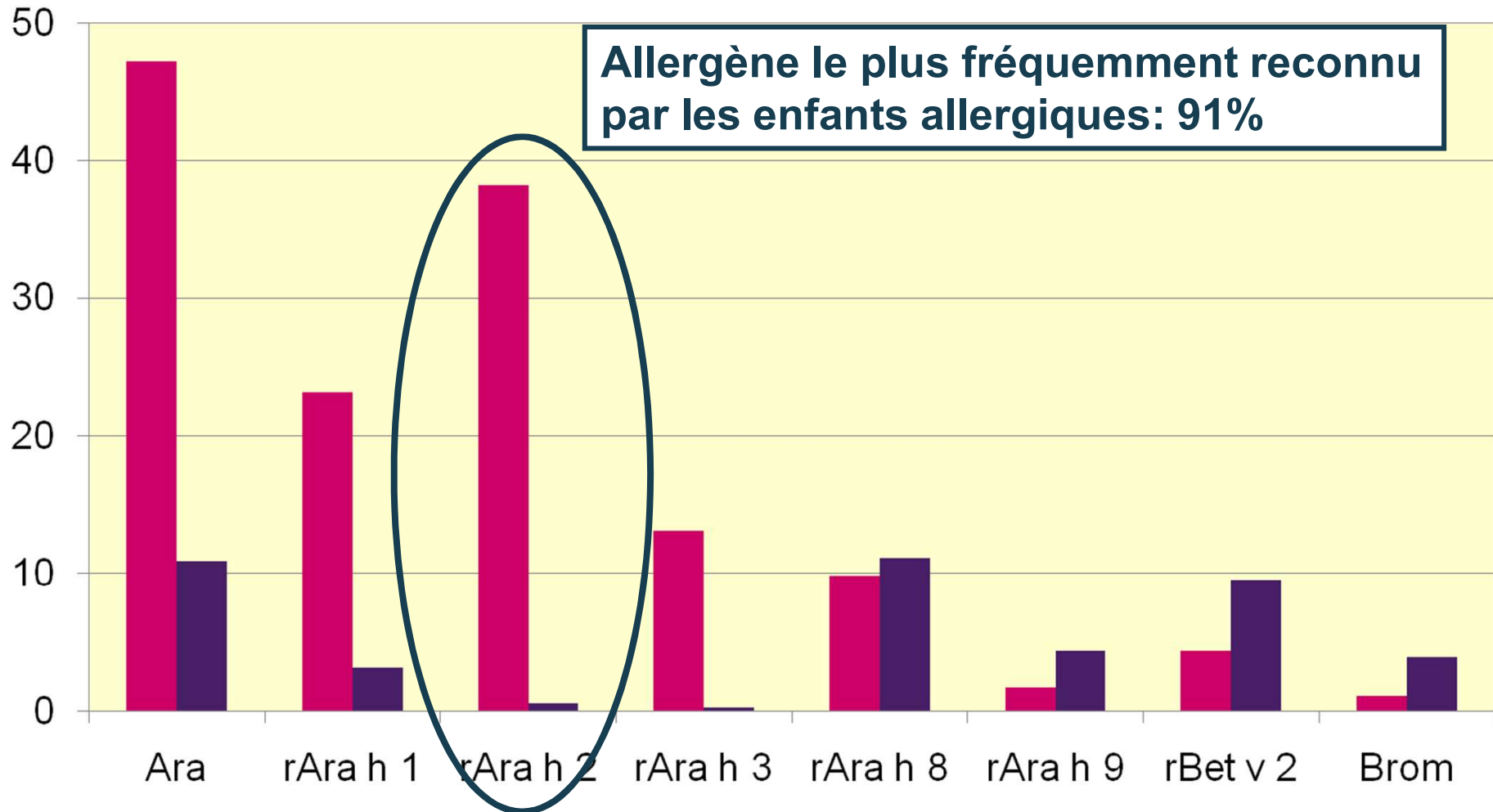
59

<u>Ara h 1</u>	<u>Ara h 2-6-7</u>	<u>Ara h 3-4</u>	<i>Ara h 5</i>	<u>Ara h 8</u>	<u>Ara h 9</u>
Viciline Globuline 7S	Conglutine Albumine 2S	Légumine Globuline 11S	<b>Profiline</b>	<b>PR 10</b>	<b>LTP</b>
<b>Protéines de stockage</b> <i>Stables chaleur et digestion</i>				<i>Thermosensible</i>	<i>Stable chaleur et digestion</i>
<i>Cor a 11</i> <i>Ses i 3</i> <i>Gly m 5</i> <i>Pis s 1</i>	<i>Cor a 14</i> <i>Ses i 1, 2</i>	<i>Cor a 9</i> <i>Ses i 6,7</i> <i>Gly m 6</i>	<u>Bet v 2</u> <i>Cor a 2</i>  <i>Gly m 3</i>	<u>Bet v 1</u> <i>Cor a 1</i>  <u>Glym 4</u>	<u>Cor a 8</u>
<b>Allergènes majeurs</b> <b>Réactions sévères</b>			Allergène mineur	<b>Syndrome oral</b>	<b>Réactions parfois sévère</b>

# Résultats d'une étude lyonnaise sur 100 enfants

(thèse de G. Proton)

60



■ Moyenne enfants allergiques (kU/L)

■ Moyenne enfants tolérants (kU/L)

# Vers un diagnostic biologique plus spécifique

61

## □ Résultats de Nancy

	sensibilité	spécificité
f13	100 %	42,5 %
Ara h 2	98,9 %	97,5 %
Ara h 1	78,7 %	95 %
Ara h 3	66 %	92,5 %

Codreanu F, Collignon O, Roitel O, Thouvenot B, Sauvage C, Vilain AC, et al.  
A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis.  
Int Arch Allergy Immunol 2011; 154:216-26.

# Cas clinique : aide au diagnostic

62

- Garçon de 7 ans
    - Atopie: AA
    - Pas d'allergie pollinique connue
    - Allergie au poisson et kiwi
  - Syndrome d'allergie orale et vomissements avec l'arachide
  - Test cutané
    - Arachide: positif (7 mm)
  - Bilan biologique
    - f13: 1,82 kU/L
    - rAra h1 : < 0,10 kU/L
    - **rAra h2 : 1,46 kU/L**
    - rAra h3 : < 0,10 kU/L
    - rAra h8 : < 0,10 kU/L
    - rAra h9 : < 0,10 kU/L
    - Broméline : < 0,10 kU/L
    - rBet v2 : < 0,10 kU/L
  - TPO : **Echec**
- Garçon de 10 ans
    - Atopie : AA, RA
    - Allergie pollinique : Graminées
    - Pas d'autre allergie alimentaire
  - Syndrome d'allergie orale avec l'arachide
  - Test cutané
    - Arachide: positif (5 mm)
  - Bilan biologique
    - f13 : 1,98 kU/L
    - rAra h1 : < 0,10 kU/L
    - **rAra h2 : 0,36 kU/L**
    - rAra h3 : < 0,10 kU/L
    - rAra h8 : < 0,10 kU/L
    - rAra h9 : < 0,10 kU/L
    - **Broméline : < 0,57 kU/L**
    - **rBet v2 : < 0,10 kU/L**
  - TPO : **Succès**

# Cas clinique

63

- Garçon de 8 ans
  - ▣ Atopie : DA
  - ▣ Pas d'allergie pollinique connue
  - ▣ Allergies alimentaires : lentilles, petits pois, pois chiches (angioedème du visage et gêne respiratoire)
- Pas de réaction clinique connue à l'arachide
- Tests cutanés (témoin positif 5 mm)
  - ▣ Arachide (4 mm)
  - ▣ Lentilles (6 mm)
  - ▣ Petits pois (13mm)
- Bilan biologique :
  - ▣ f13 > 100 kU/L

**Cet enfant est-il allergique à l'arachide?**



# « Courbe de risque » établie avec les extraits allergéniques

64

Allergen	Reactive if $\geq$ (no challenge necessary)
Egg	7 kU/L
Milk	15 kU/L
Peanut	14 kU/L
Fish	20 kU/L
Soybean	30 kU/L
Wheat	80 kU/L



**OUI ?**

- Mais :
  - ▣ Valeurs très variables selon les études et populations étudiées
  - ▣ Possibilités d'interférences dans le dosage (notamment chez les polliniques)

# Cas clinique

65

- Garçon de 8 ans
  - ▣ Atopie : DA
  - ▣ Pas d'allergie pollinique connue
  - ▣ Allergies alimentaires : lentilles, petits pois, pois chiches (angioedème du visage et gêne respiratoire)
- Pas de réaction clinique connue à l'arachide
- Tests cutanés (témoin positif 5 mm)
  - ▣ Arachide (4 mm)
  - ▣ Lentilles (6 mm)
  - ▣ Petits pois (13mm)
- Bilan biologique :
  - ▣ f13 > 100 kU/L
  - ▣ rAra h1 : > 100 kU/L
  - ▣ rAra h2 : 0,26 kU/L
  - ▣ rAra h3 : 0,75 kU/L
  - ▣ rAra h8 : 26,3 kU/L
  - ▣ rAra h9 : 29,1 kU/L
  - ▣ Broméline : 2,15 kU/L
  - ▣ rBet v2 : < 0,79 kU/L
- TPO : **Succès**

Allergie aux lentilles/petits pois/pois chiches due à la sensibilisation aux vicilines (rAra h1) responsable de la forte positivité du f13

## 4) Outil pour améliorer/personnaliser la prise en charge du patient

Immunothérapie

Risque de réactions sévères

Indication d'un TPO

Eviction

- Identification de **marqueurs de sévérité de l'allergie**
- Identification de **marqueurs de persistance de l'allergie**

# Identification des marqueurs de sévérité

67

- Suivant la famille moléculaire impliquée :
  - ▣ Syndrome oral
  - ▣ Réaction systémique grave

## PR-10

- **Sensible** à la pepsine, chaleur/cuisson
- Symptômes si aliments consommés crus
- Syndrome oral

## LTP

- **Résistant** à la pepsine, chaleur/cuisson
- Structure préservée dans le tractus digestif
- Risque de **réactions systémiques**



# Famille des LTP

68

- Protéines **stables à la chaleur** : réaction avec les aliments crus et cuits
- Protéines **stables à la digestion** : réactions souvent systémiques
- Allergies alimentaires aux fruits en l'absence d'allergie pollinique
- Réactions allergiques aux fruits et légumes du **sud** de l'Europe



**Cor a 8**



**Pru p 3**



**Zea m 14**



**Pru av 3**



**Pru ar 3**



**Ara h 9**



**Mal d 3**



**Jug r 3**

**LTP**

rPar j 2  
nArt v 3  
Ole e 7  
Pla a3  
nPru p 3  
rCor a 8  
Ara h 9  
Mal d 3  
Jug r 3  
Tri a 14



# Les protéines de stockage

Raisonnement par **source** allergénique ou par **familles** moléculaires

70



**Prolamines**

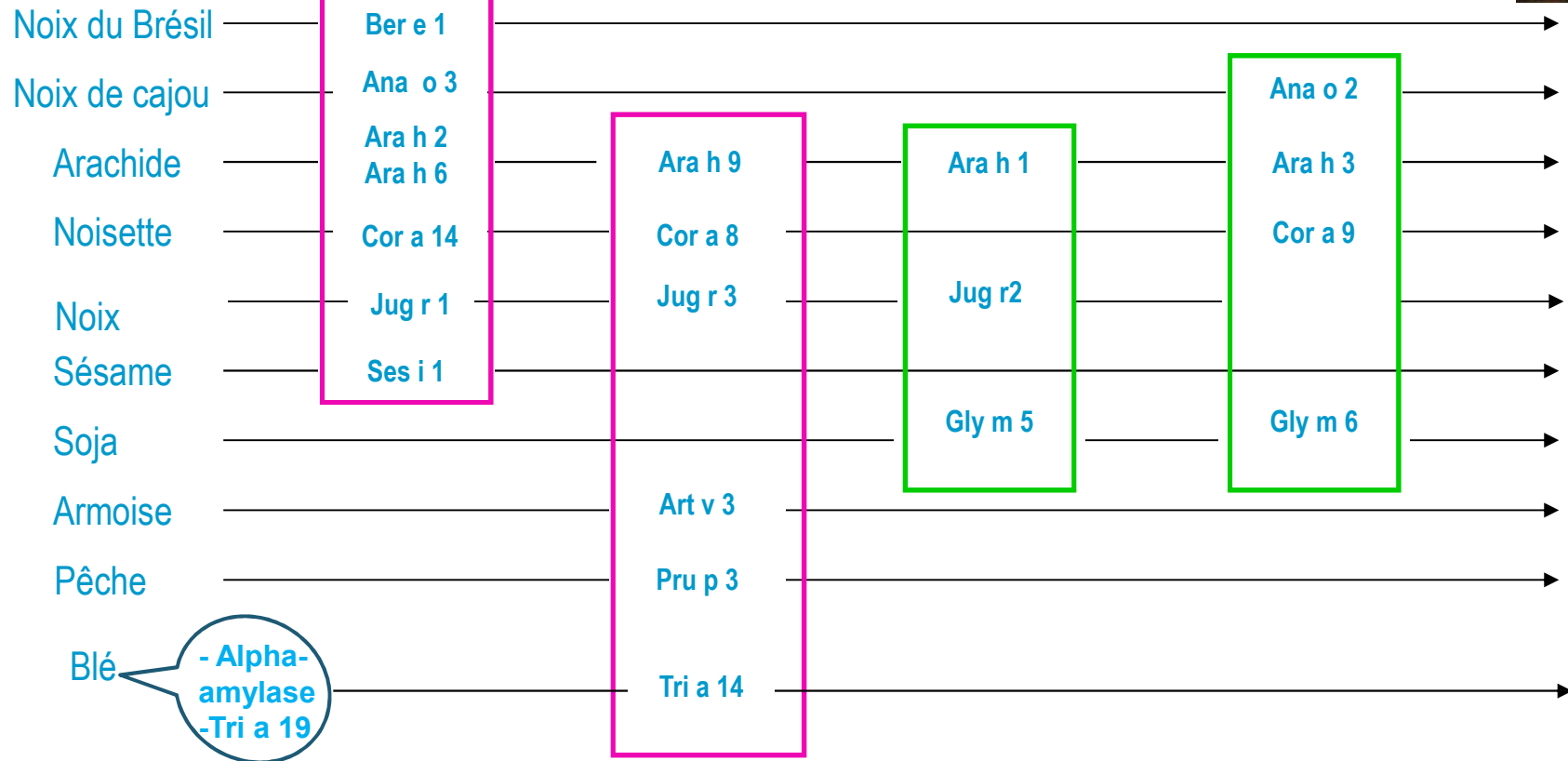
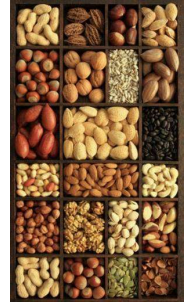
**Cupines**

**Albumines 2S**

**LTP**

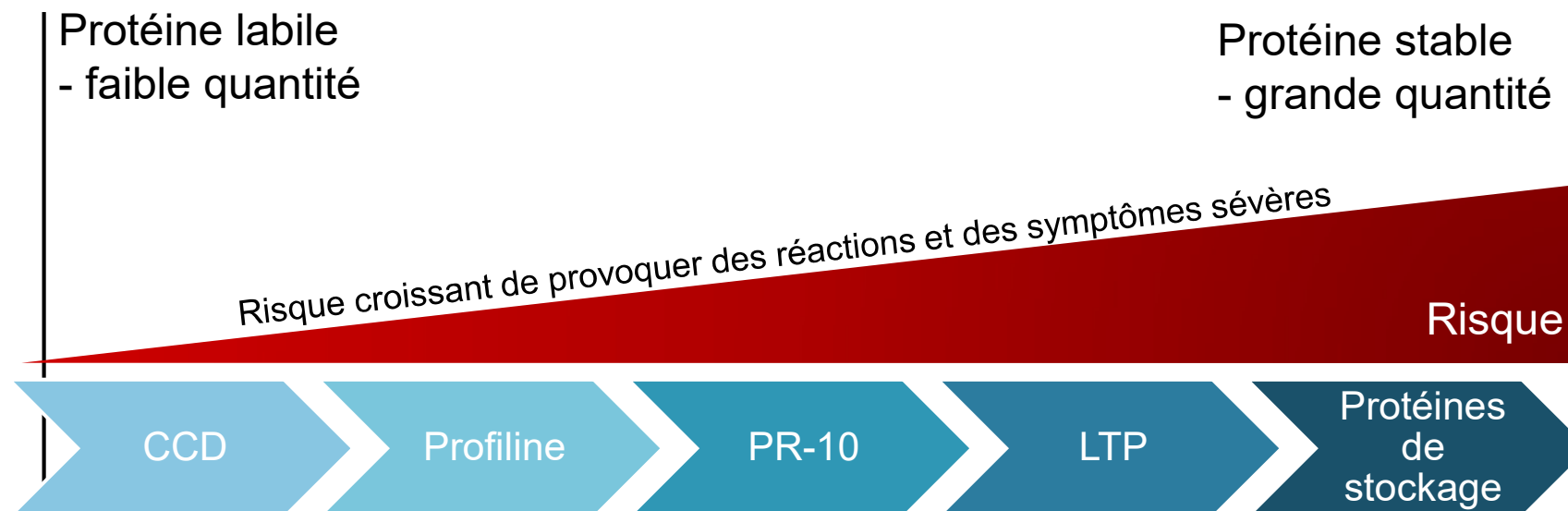
**Vicilines  
Globulines 7S**

**Légumine  
Globulines 11S**



# Evaluation (simplifiée) du risque en fonction de la famille moléculaire

71

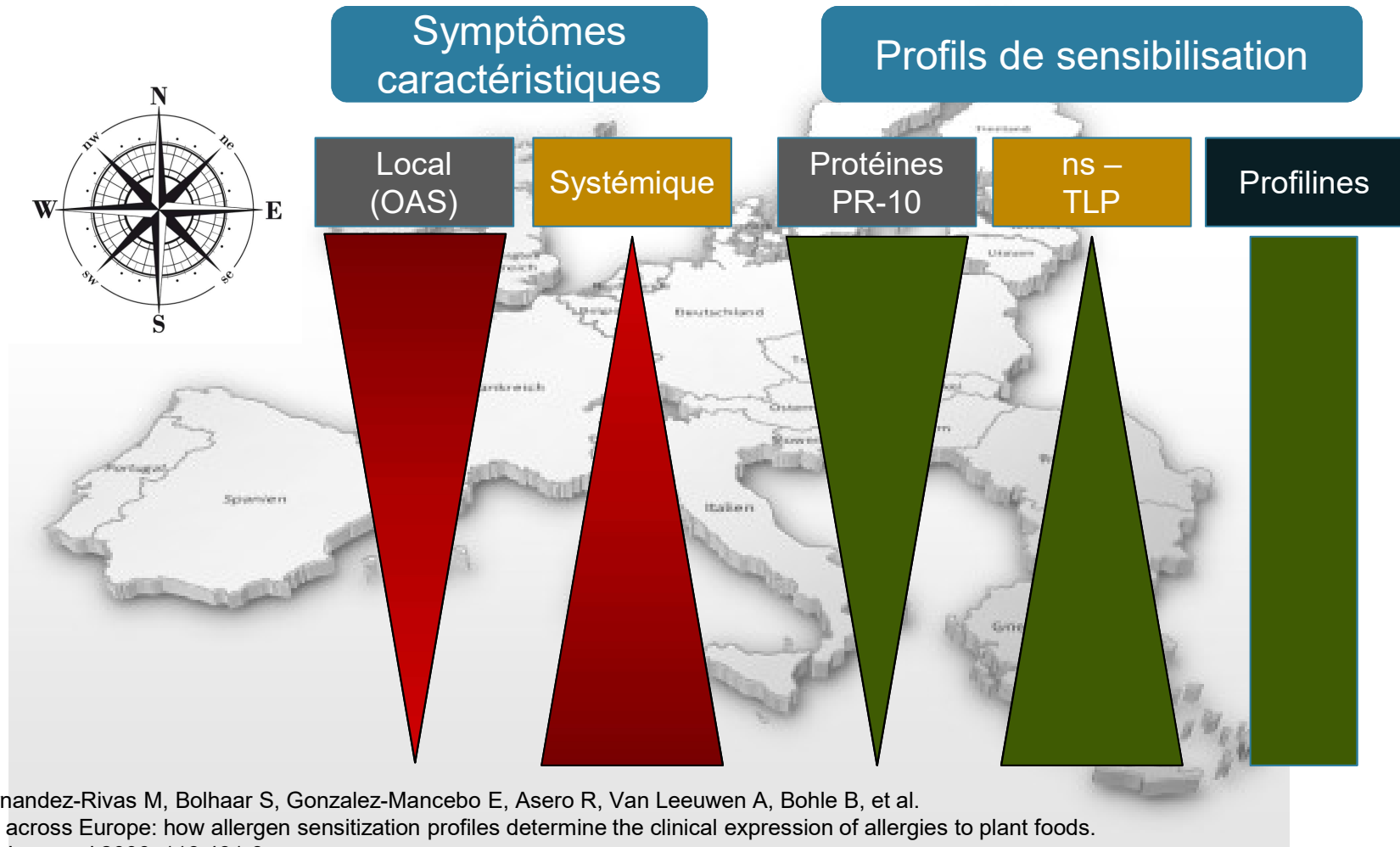


- ❑ Identification de **marqueurs de sévérité** de l'allergie
- ❑ Identification de **marqueurs de persistance** de l'allergie
- Basé sur les **propriétés physicochimiques** des protéines allergéniques



# Répartition Nord-Sud des profils de sensibilisation

72



D'après : Fernandez-Rivas M, Bolhaar S, Gonzalez-Mancebo E, Asero R, Van Leeuwen A, Bohle B, et al.  
Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods.  
J Allergy Clin Immunol 2006; 118:481-8

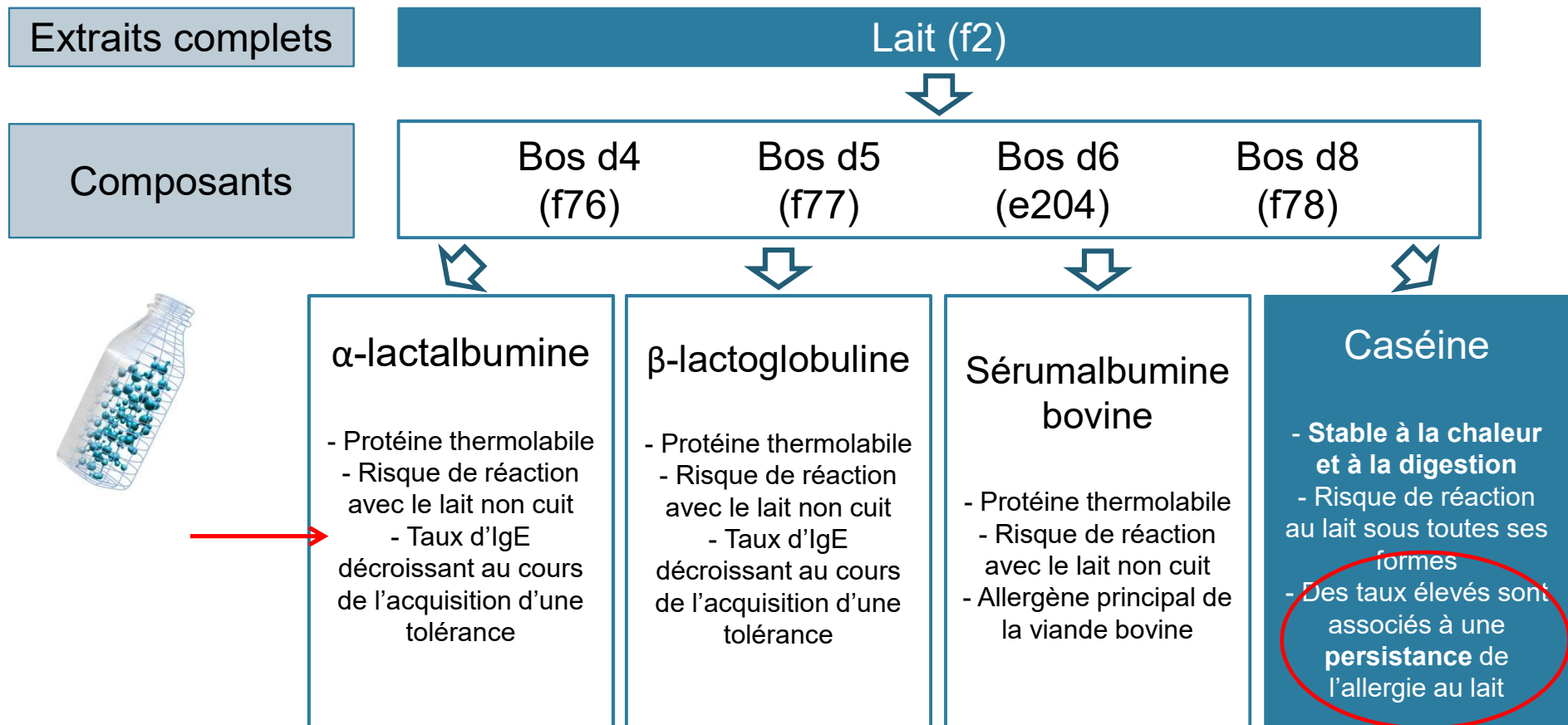
# Identification de marqueurs de persistance d'allergie

Exemple : prise en charge de l'allergie au lait

73

## 1. Confirmation de l'allergie IgE médiée

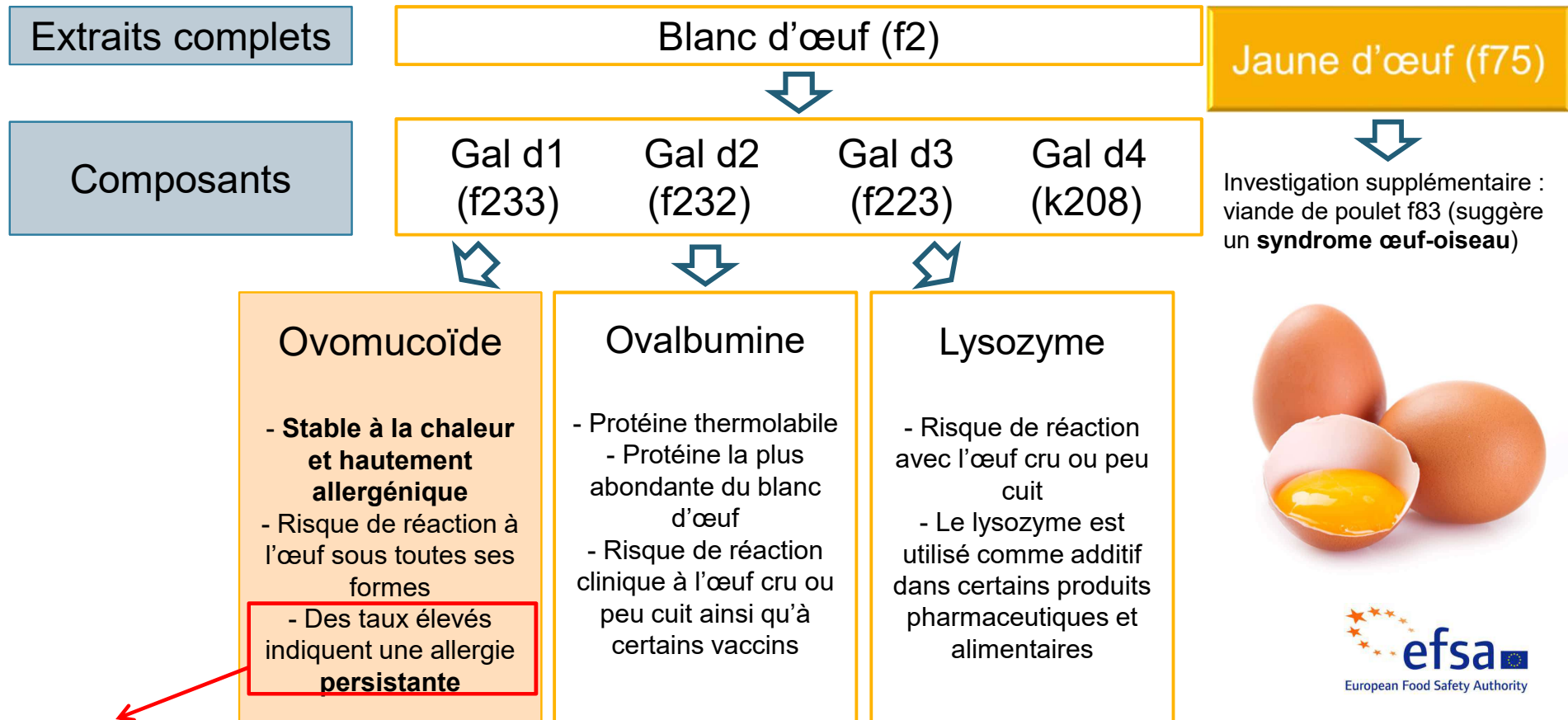
## 2. Aide à la prise en charge



# Identification de marqueurs de persistance d'allergie

Exemple : prise en charge de l'allergie à l'oeuf

74



tolérance si < 1kU/L  
réaction clinique / persistance si > 11 kU/L

State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy  
Benhamou A. H., Caubet J.-C., Eigenmann P. A., Nowak-We, grzyn A, Marcos C. P., Reche M, Urisu A. Allergy 2010,65, 283–289

# Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

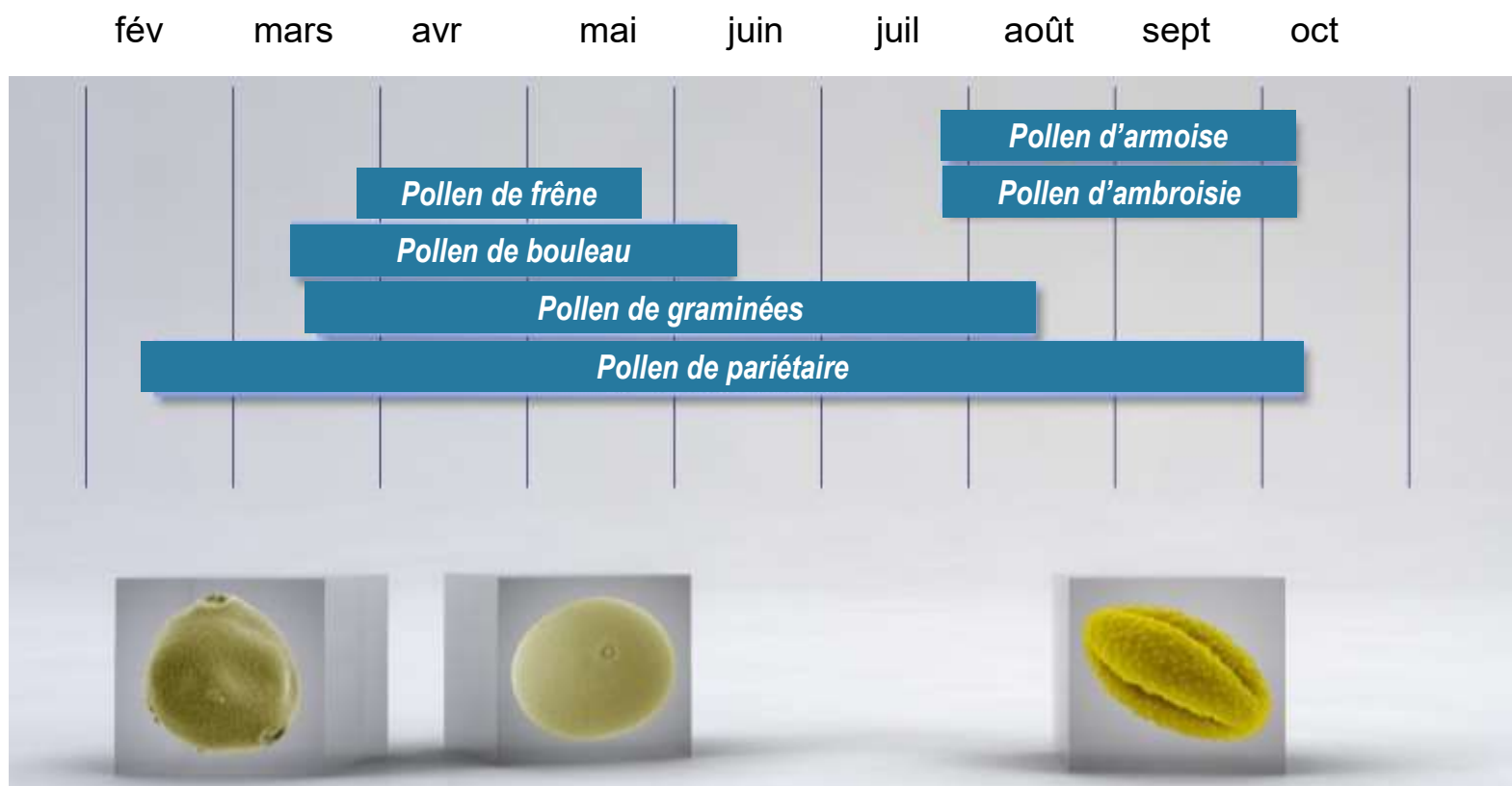
75

- Polysensibilisation à des pollens...



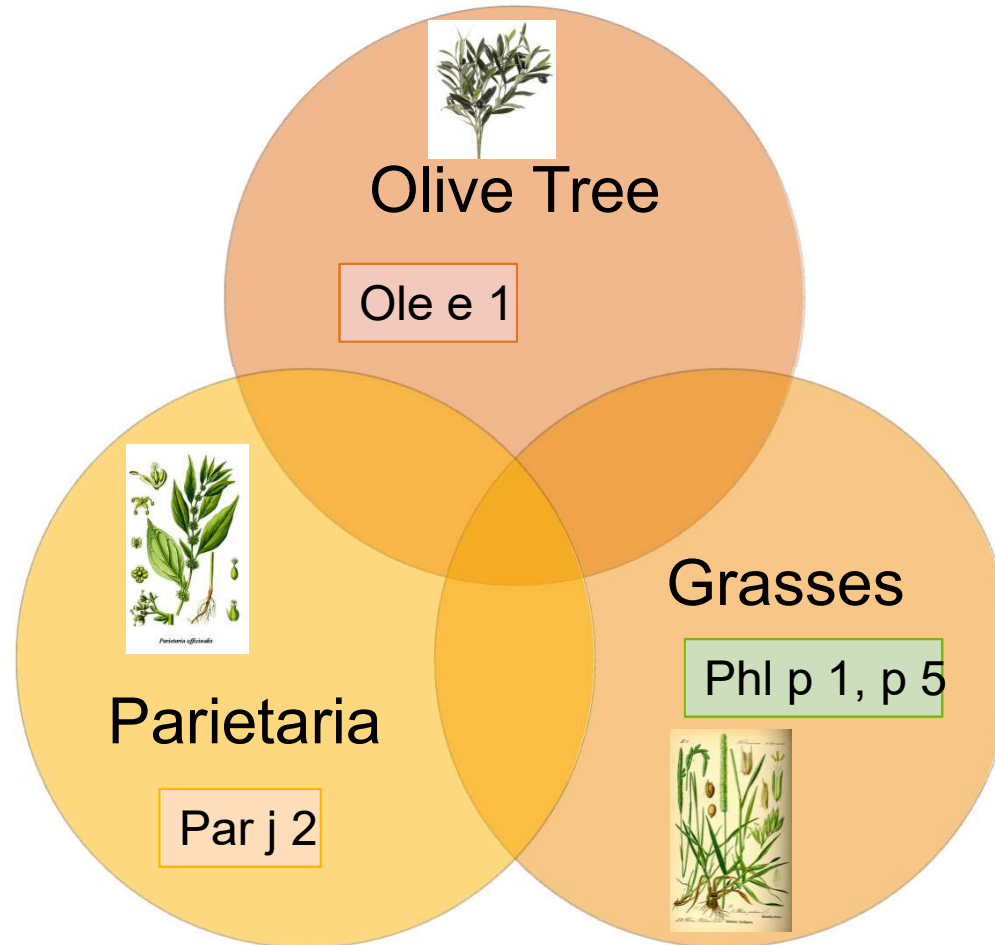
# Les saisons polliniques se chevauchent

76



# Common reasons to use molecular diagnostics

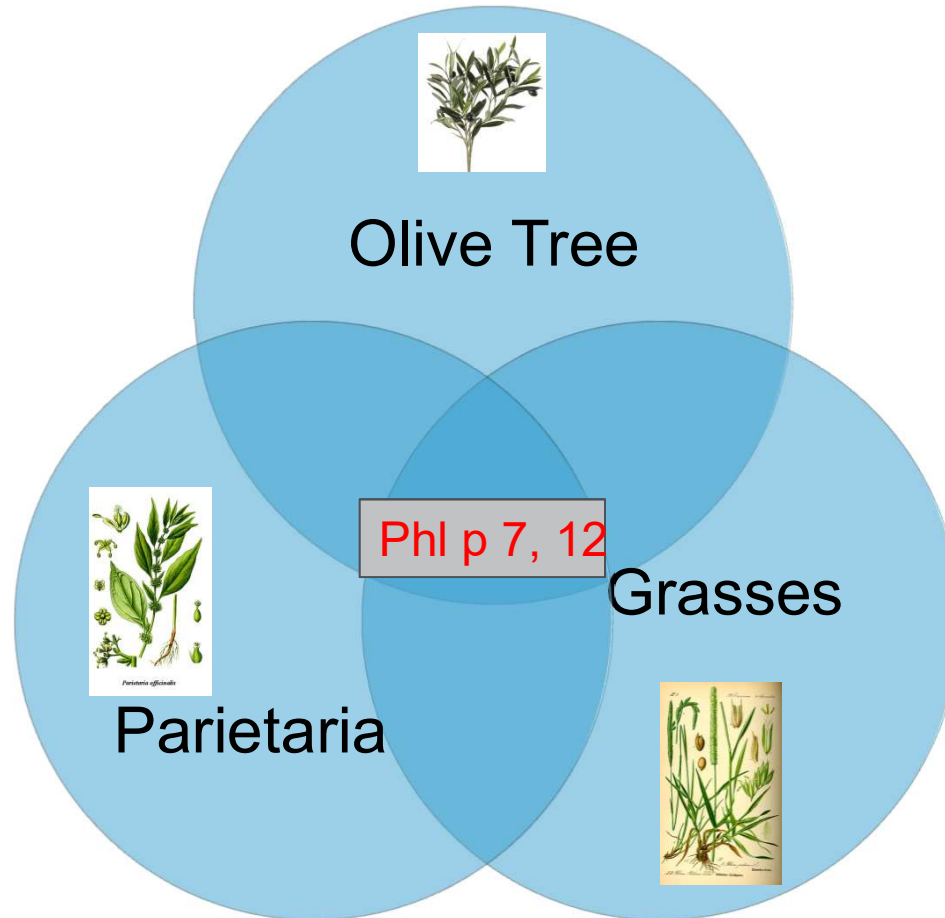
## Markers of genuine (species-specific) sensitization



Genuine sensitization to all tree pollen sources  
(Cup a 1, Bet v 1.0101, Ole e 1, Pla a 1.0101)

Tree pollen AIT for culprit allergen mixed together can be considered

Common reasons to use molecular diagnostics  
Markers of genuine (species-specific) sensitization

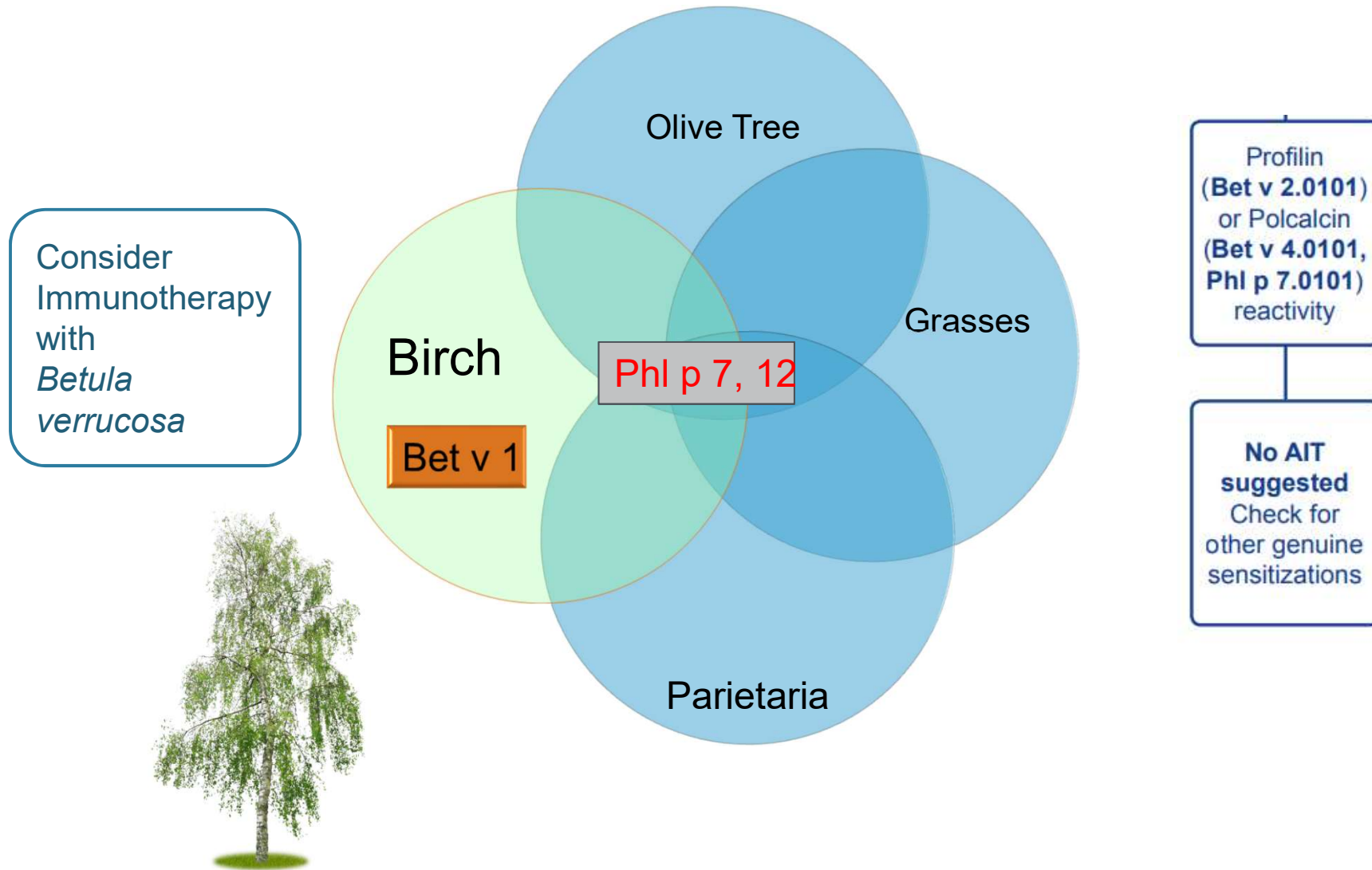


Profilin  
(Bet v 2.0101)  
or Polcalcin  
(Bet v 4.0101,  
Phl p 7.0101)  
reactivity

**No AIT  
suggested**  
Check for  
other genuine  
sensitizations

# Common reasons to use molecular diagnostics

## Markers of genuine (species-specific) sensitization





# Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

80

- Est-ce de vraies sensibilisations dues à des composants spécifiques ?



# Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

81

- ... ou une réactivité croisée due à des composants « croisants » ?



# Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

82

## Composants allergéniques marqueurs d'une vraie sensibilisation

## Composants allergéniques marqueurs de réactivité croisée\*

Arbres

Bouleau rBet v 1

Profiline rBet v 2

Polcalcine

Cyprès nCup a 1

**Une immunothérapie a plus de chances de réussir chez les patients sensibilisés à des composants spécifiques du pollen**

rOle e 9

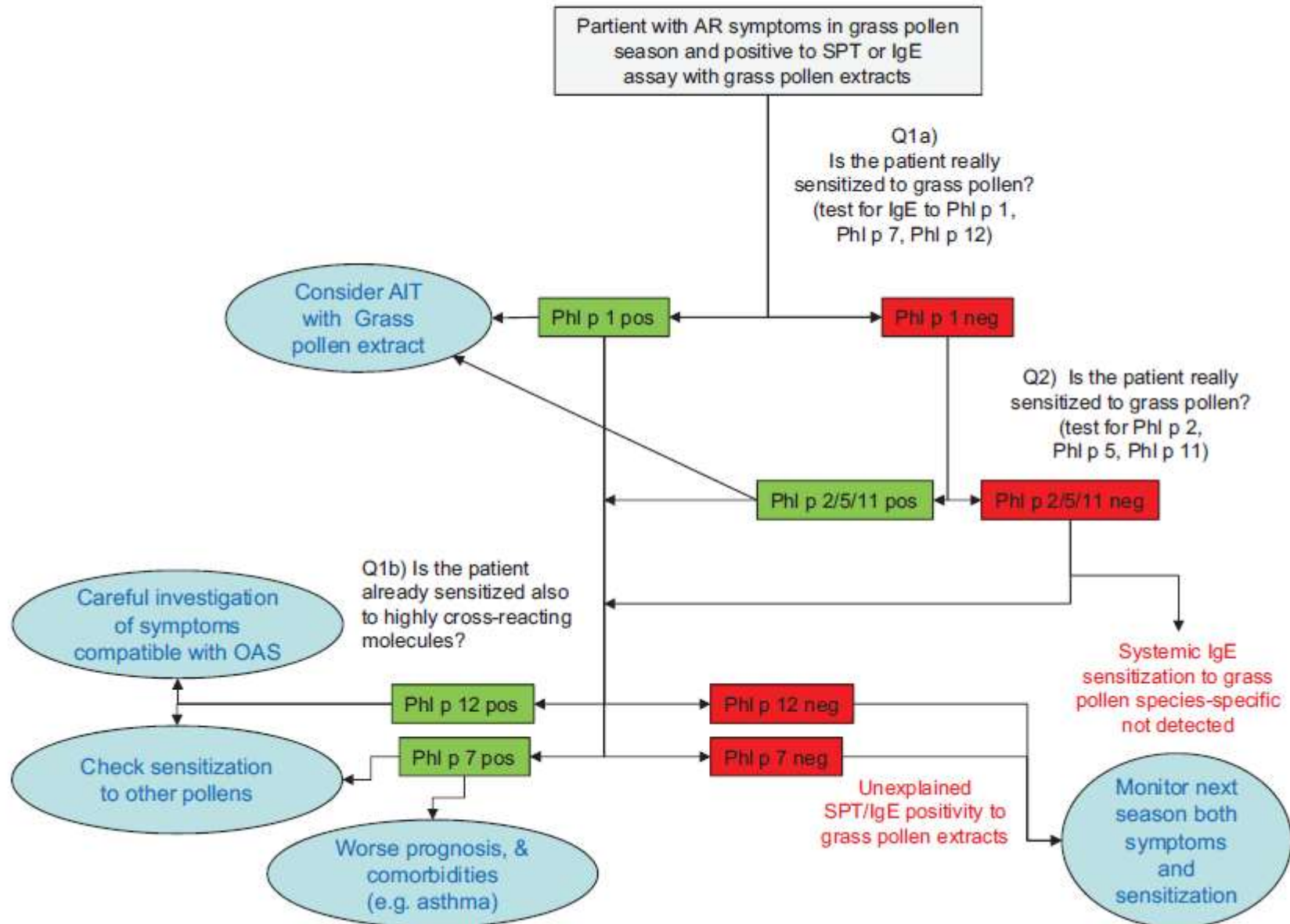
Graminées

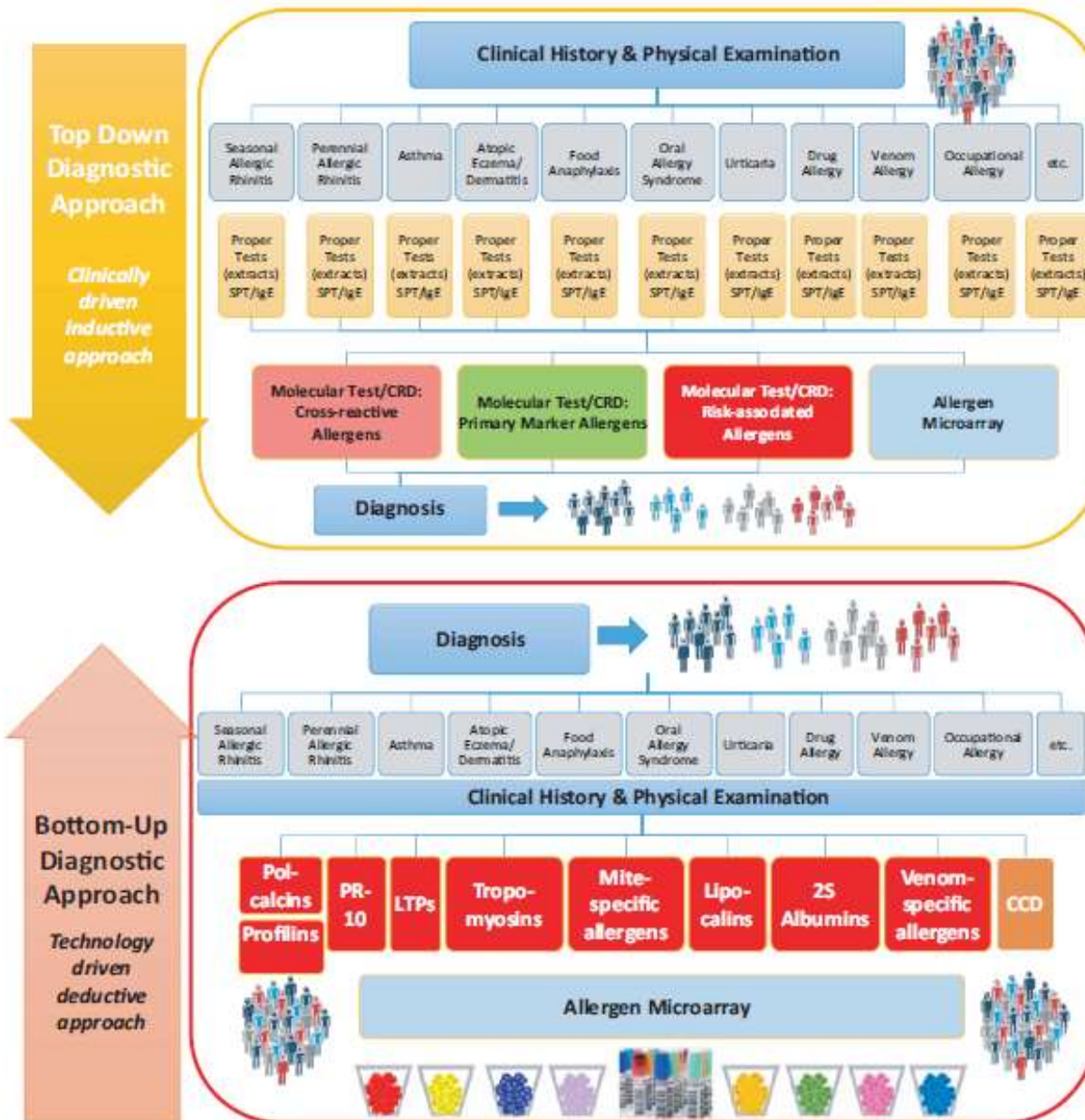
Phléole rPhl p 1  
rPhl p 5b  
rPhl p 1+ 5b

Profiline rPhl p 7  
Polcalcine rPhl p 12  
rPhl p 7 + 12

Herbacées

Armoise nArt v 1  
nArt v 3  
Ambroisie nAmb a 1





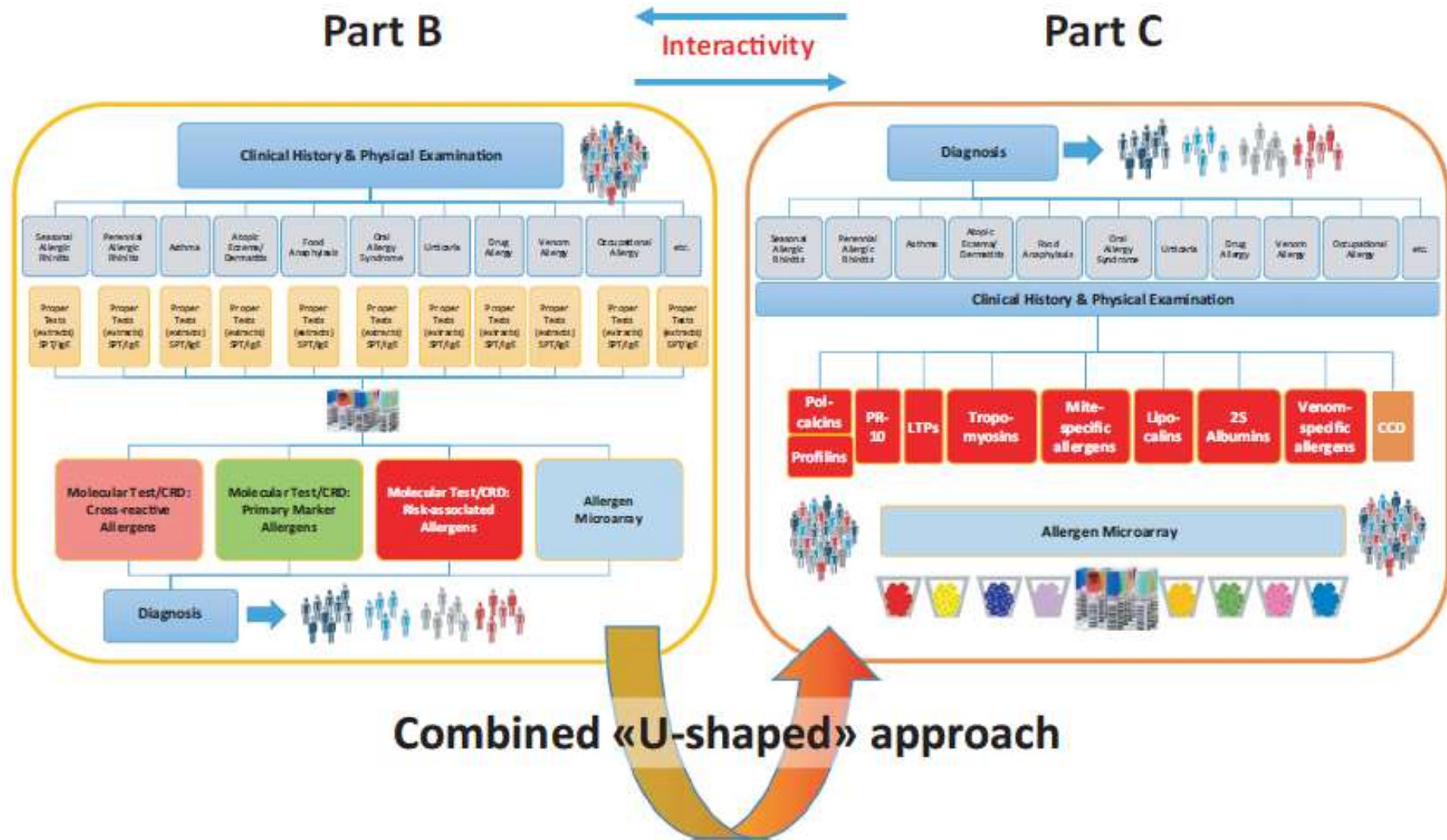


Fig. 1(b) The combined 'U-shaped' diagnostic approach to allergic diseases. See text for explanation.

## Biopuces multiallergéniques

Faible quantité de sérum ( < 100µL)

Fixation de différentes biomolécules sur un format microscopique

Détermination d'un profil de sensibilisation

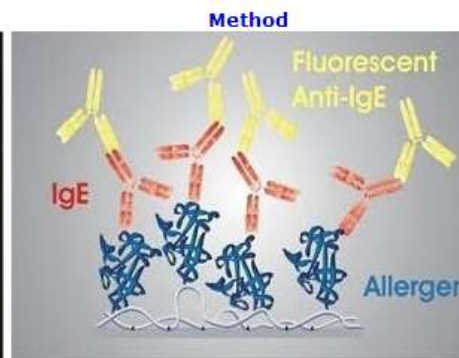
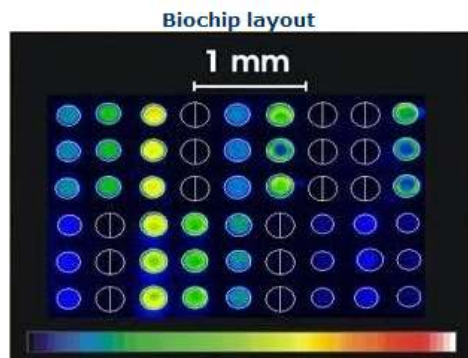
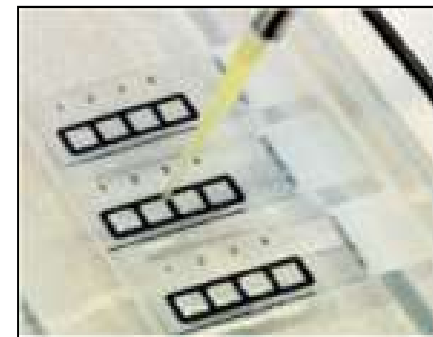
Obtention d'un grand nombre de résultats simultanément : « Vision élargie »

Possibilité d'explorations parallèles (ex : IgE/IgG)



## Biopuces multiallergéniques : Test ISAC – Thermofisher Scientific

- ❑ 1<sup>ère</sup> biopuce commercialisée en France
- ❑ **112 allergènes moléculaires (r ou n)** (provenant de **51** sources allergéniques)
- ❑ 30 µL de sérum
- ❑ Dosage semi-quantitatif
- ❑ Signal fluorescent
- ❑ Calibration à l'aide d'un échantillon standardisé



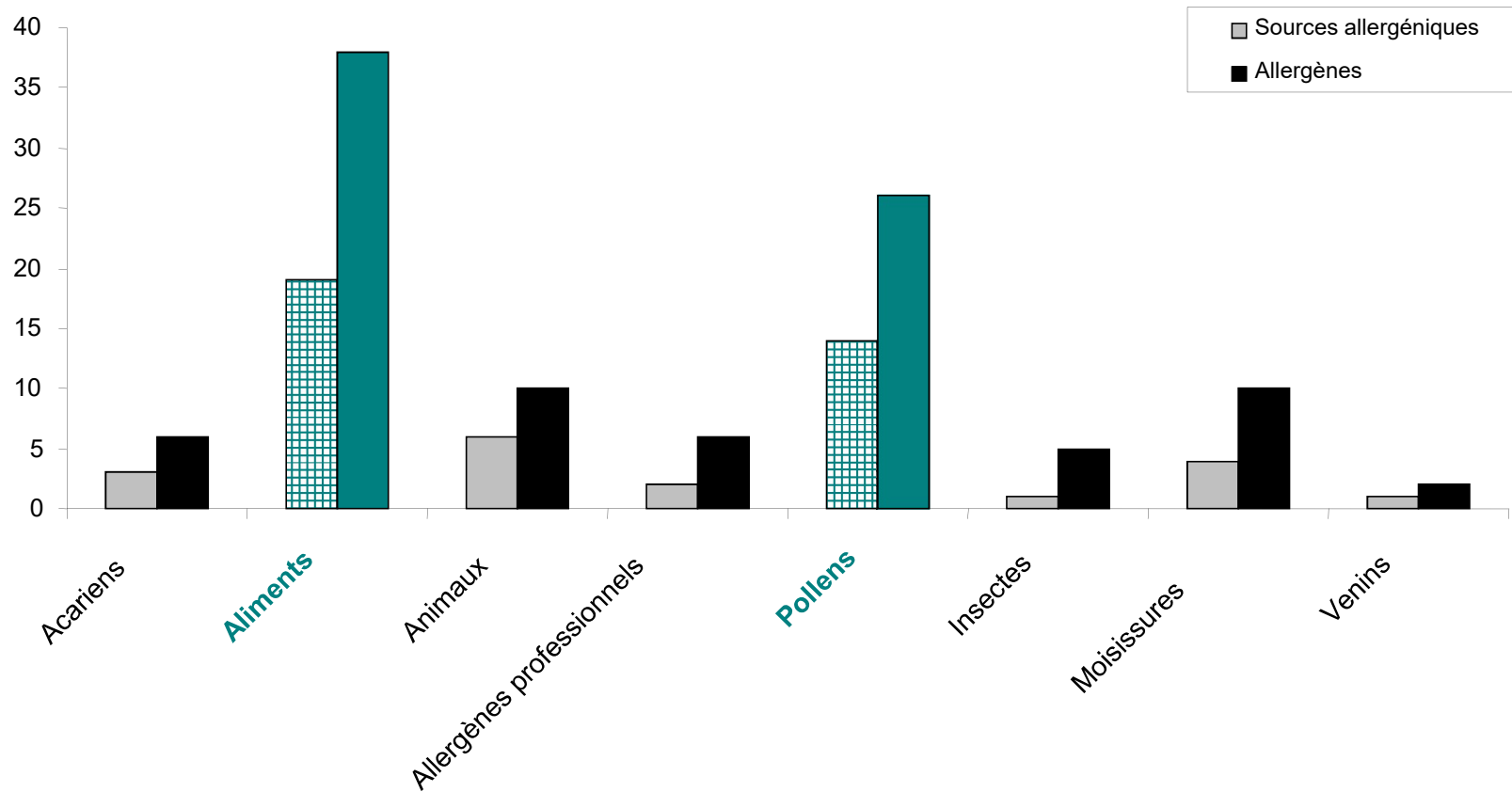
**Result**

Grass pollen			
Bermuda Grass	nCyn d 1	1 ISU	
Timothy Grass	rPhl p 1	1,8 ISU	
	rPhl p 5	1,1 ISU	
	rPhl p 6	0,9 ISU	
Tree pollen			
Birch	rBet v 1	27 ISU	
Animals			
Cat	rFel d 1	5,5 ISU	
	rFel d 4	1,5 ISU	
Dog	rCan f 1	2 ISU	




# 112 allergènes représentant 51 sources allergéniques


88



(/100 ImmunoCap)

# Exemple de résultat de Biopuce ISAC 112





INFORMATION ECHANTILLON		INFORMATION PATIENT	
ID Echantillon :	1I21624_3	ID Patient :	1100564561
Date échantillon :	16.12.2011	Nom :	
Statut validation :	Measured	Date de naissance :	Age : 31
Date impression :	12.03.2012	ID/MR# :	Sexe :
Courbe de calibration :	KS14 23/11/2011 14:48:51		

INFORMATION MEDECIN PRESCRIPTEUR	
Médecin prescripteur :	HJ ALLERGO
Adresse :	36408 CHLS

### 1. Résumé des résultats des dosages d'IgE spécifiques positifs

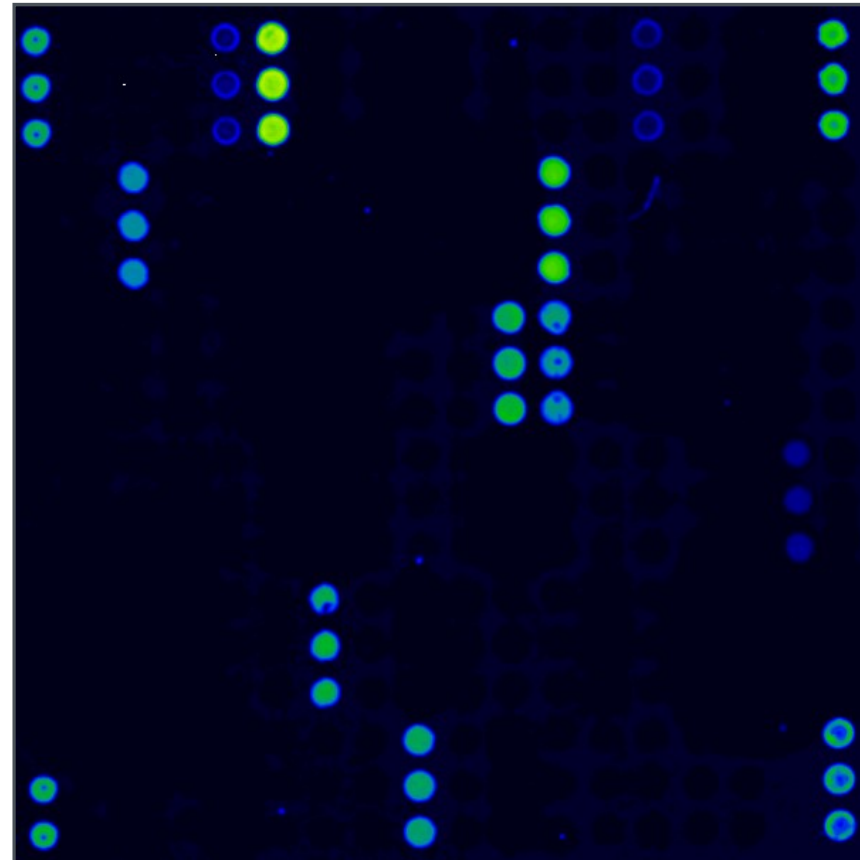
Composants d'aéroallergènes principalement spécifiques d'espèces

Composants	rBet v 1	PR-10 protein	ISU-E	Barre
Pollens d'arbres			31 ISU-E	
Bouleau				

Composants marqueurs de réactivité croisée

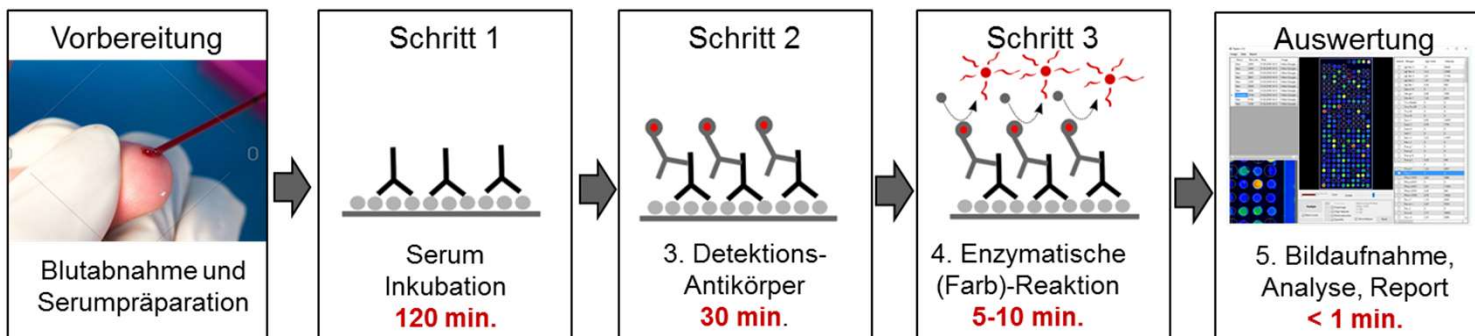
Protéines PR-10	rBet v 1	PR-10 protein	ISU-E	Barre
Aulne	rAln g 1	PR-10 protein	46 ISU-E	
Pollen de noisetier	rCor a 1.0101	PR-10 protein	22 ISU-E	
Noisette	rCor a 1.0401	PR-10 protein	15 ISU-E	
Pomme	rMal d 1	PR-10 protein	20 ISU-E	
Pêche	rPru p 1	PR-10 protein	20 ISU-E	
Soja	rGly m 4	PR-10 protein	1.9 ISU-E	
Arachide	rAra h 8	PR-10 protein	16 ISU-E	
Kiwi	rAct d 8	PR-10 protein	1.8 ISU-E	
Céleri	rApi g 1	PR-10 protein	1.6 ISU-E	

ISAC Standardized Units (ISU-E)	Niveau	Barre
< 0.3	Indétectable	
0.3 - 0.9	Faible	
1 - 14.9	Modéré / Elevé	
≥ 15	Très élevé	

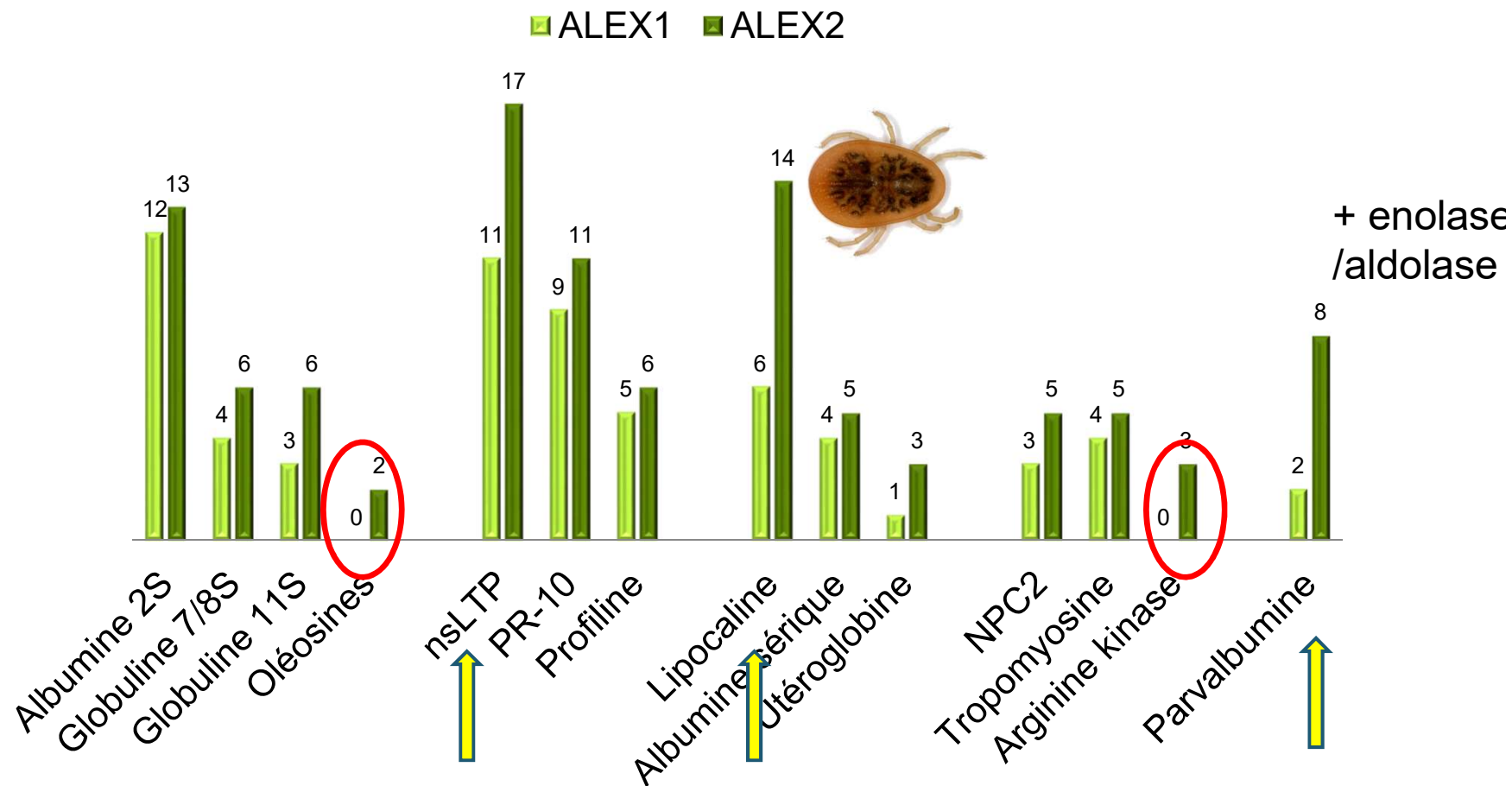


# Biopuces multiallergéniques : Test ALEX – Macroarray Diagnostics

- **302 allergènes**
  - 118 extraits
  - 184 allergènes moléculaires (dont 5 RUO)
- Dosage semi-quantitatif
- Estimation du taux d'IgE totales



# Allergènes moléculaires : Evolution ALEX1 / ALEX2 de 56 à 72 familles allergéniques



Pas de TLP supplémentaire

## Biopuces multi-allergéniques: quelles indications?

92

- Pour quels patients ?
- Quelle aide supplémentaire ?

**En élargissant, on affine....?**

## Biopuces multi-allergéniques: quelles indications?

93

### Définition du profil de sensibilisation d'un polysensibilisé

- Asthme sévère
- Allergies alimentaires multiples et sévères
- Poser l'indication d'une immunothérapie spécifique chez un polysensibilisé

### Histoire clinique mal ou non expliquée par les tests traditionnels

- Anaphylaxie avec enquête allergologique négative
  - Nouvel éclairage ?
  - Découverte de sensibilisations inattendues qui font avancer dans le diagnostic

### Pathologies nécessitant un bilan allergologique étendu au diagnostic

### Diagnostic d'élimination de l'allergie

### Etudes épidémiologiques

Limites de ces tests :

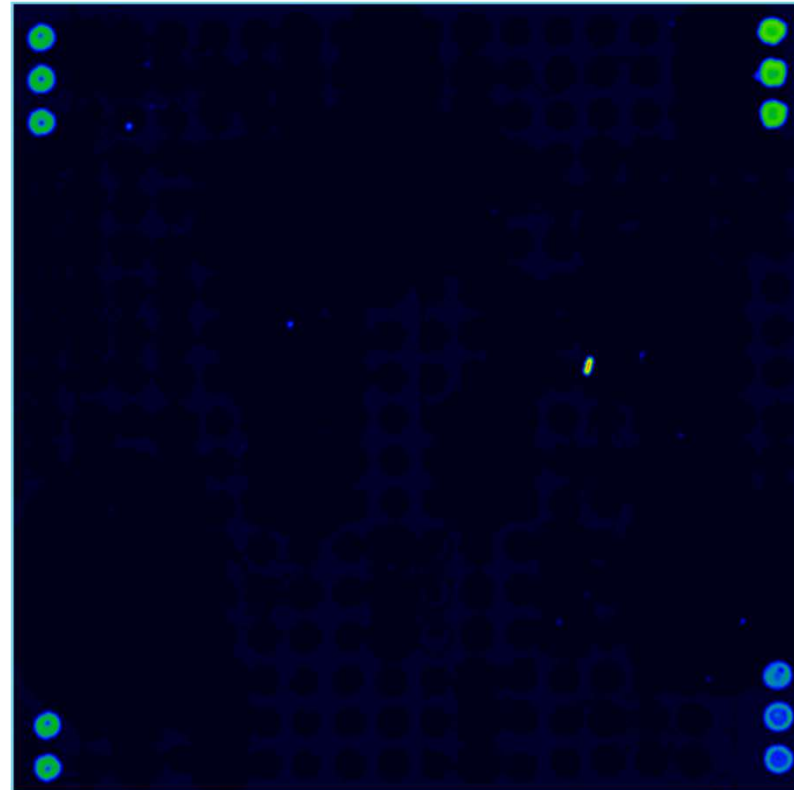
- Souvent moins sensible que les tests unitaires
- Il manquera toujours des allergènes

## ISAC négatif : élimination de l'allergie ?

94

- A. Daniel né en 1943
- Histoires cliniques « bizarres » souvent après consommation d'abats (6 à 7 h après)

**IgE alpha-gal = 7,98 kU/L**



# IgE anti-CCD : Des IgE contre des sucres? (Carbohydrates Cross Reactive Determinant)

95

- Les carbohydrates -> chaine glucidique appelé glycanes : fixation sur les protéines par glycosylation.
- Essentiellement fucose-1-3 et/ou du xylose dans le monde végétal
- IgE anti-CCD (chez 20% des sujets polliniques / jusqu'à 75% chez les sujets multi-polliniques)
- Les CCD « classiques » du règne végétal, ne semblent pas être à l'origine de manifestations cliniques (contrairement aux structures Alpha-Gal du règne animal).
- Tests cutanés négatifs
- Mise en évidence d'IgE anti-CCD : à l'aide de la broméline qui présente une structure glucidique de type MUXF3

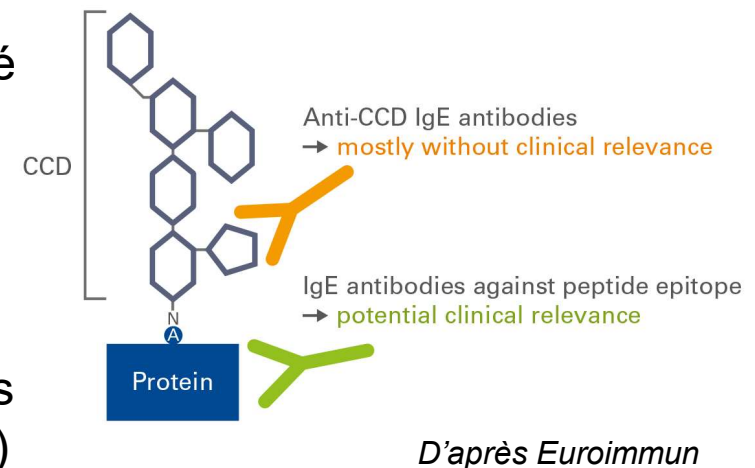
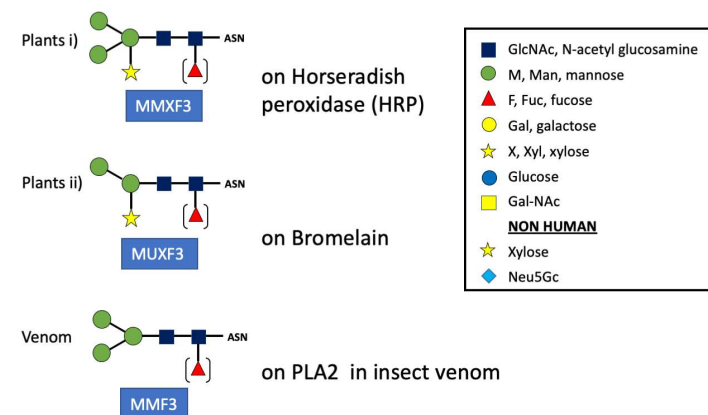


Fig 3 - Classical Cross-Reactive Carbohydrate Determinants (CCD)

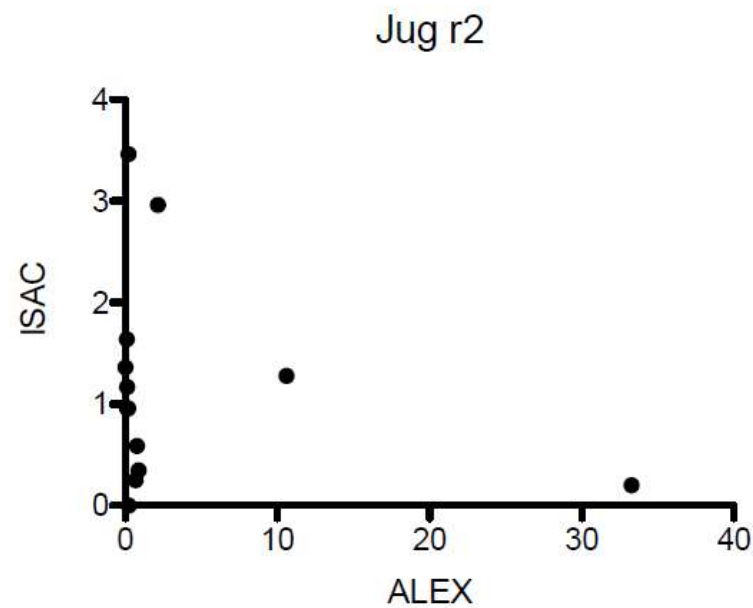
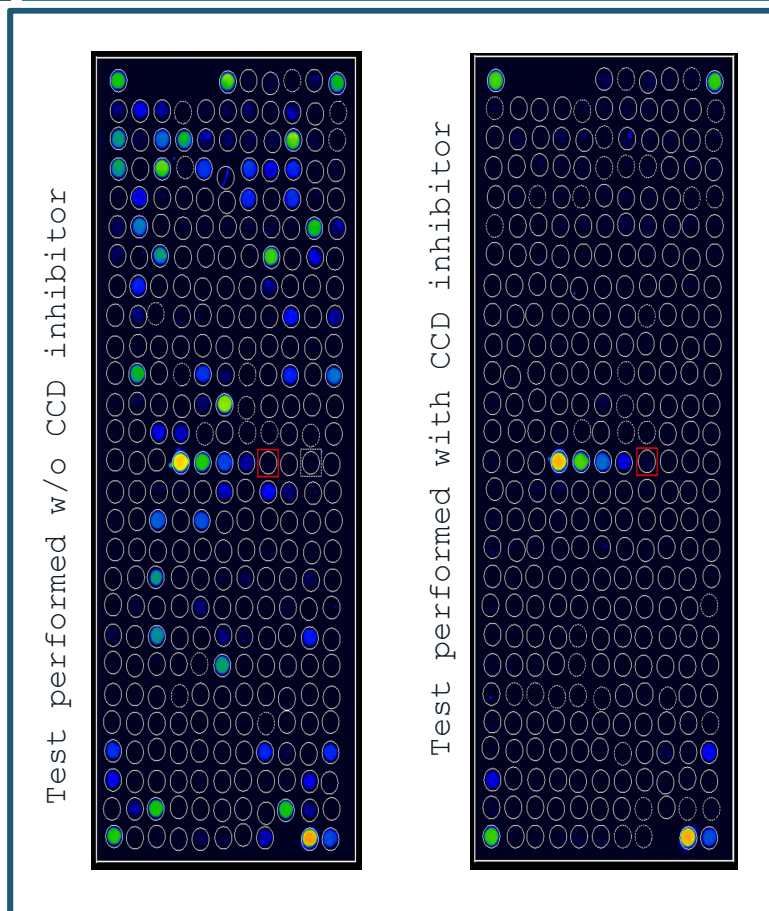




# Test ALEX : BLOCAGE des CCD

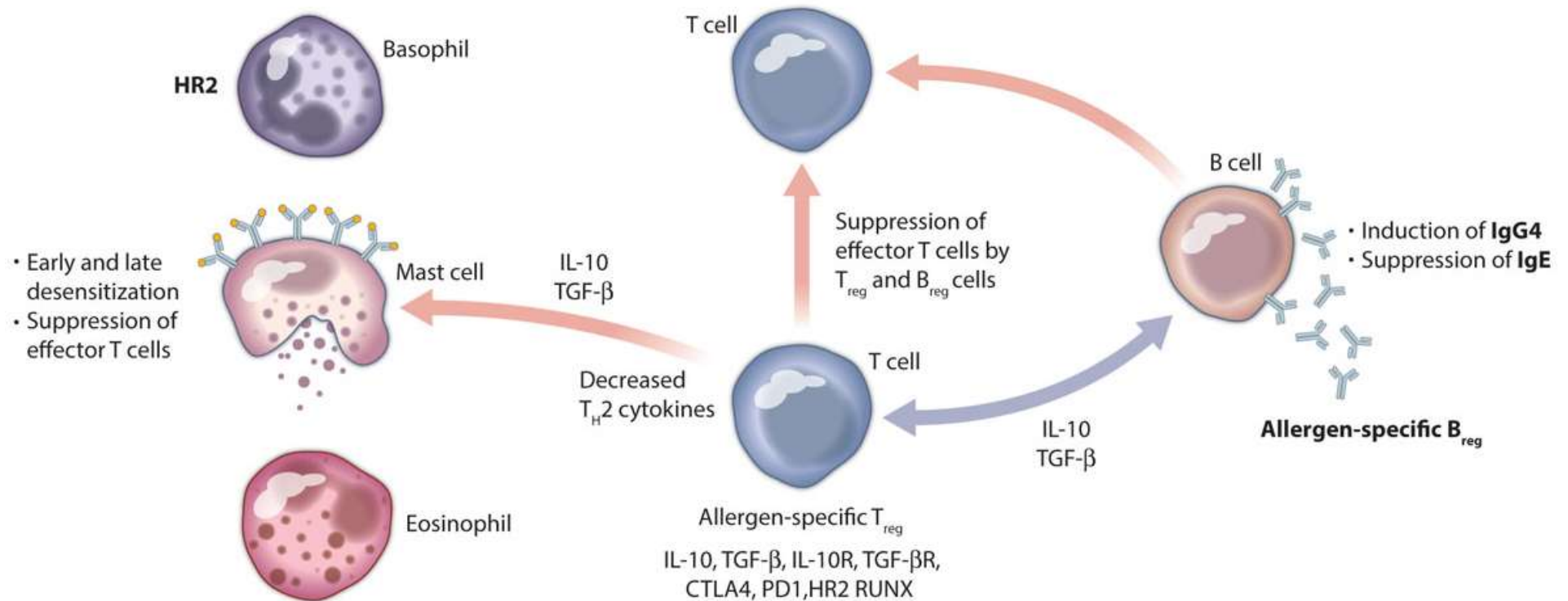
(résidus glucidiques de la broméline fixés à l'albumine)

96



Tests réalisés sur le même sérum : sans ou avec inhibition des CCD

# Hypersensibilité immédiate IgE médiée : Les mécanismes de tolérance



# Induction de tolérance orale et IgG4 spécifiques

98

Enfant de 13 ans

1<sup>er</sup> accident avec l'arachide à l'âge de 2 ans. Depuis, 4 à 5 réactions de grade 2.

Début de l'Induction

Date de plvt	Prick	IgE arachide (kU/L)	IgG4 arachide (mg/L)	Ratio IgG4/IgE	r ara h1	r ara h2	r ara h3	r ara h8	r ara h9	Dose ingérée durant le TPO (mg d'arachide)
19/01/2016	10	60,3	0,6	4,11	0,21	19,7	0,19	88,6	0,24	66 (douleurs abdo)

## En résumé

99

- L'allergie moléculaire ne doit pas être un pur raisonnement/jeu intellectuel mais un outil efficace pour une meilleure prise en charge
  
- L'allergologue doit avoir un langage « moléculaire »
  - ▣ Maitrise de la somme d'informations fournies (ISAC)
  - ▣ Dialogue interactif clinico-biologique
  
- Les extraits sont encore bien utiles (puces à extraits)
  
- La suite de la révolution moléculaire
  - ▣ Immunothérapie à la carte en fonction du profil de sensibilisation ?

**Le dernier mot doit rester à la clinique.**

**« *Bien comprendre, c'est bien soigner* »**

# Exploration de l'immunité humorale

Principe : dosage de marqueurs solubles dans le sang pour l'exploration de l'immunité innée (complément) et adaptative (immunoglobulines : Ig).

Examens biologiques	Intérêt clinique
Electrophorèse des protéines	Appréciation globale des Ig (hyper/hypogammaglobulinémie)
Dosage pondéral des Ig Dosage des sous-classe d'IgG	Evaluation quantitative de chaque Ig pouvant notamment orienter vers un déficit immunitaire
Sérologie des antigènes vaccinaux	Exploration des déficits immunitaires
Recherche d'auto-anticorps	Maladies auto-immunes
Recherche d'IgE spécifiques, Dosage de la tryptase et de l'histamine	Exploration des réactions d'hypersensibilité immédiate
Dosage du complément	Déficits immunitaires, Exploration de l'hypersensibilité de type III

# Exploration de l'immunité cellulaire

Principe : évaluation quantitative et qualitative des principales populations leucocytaires.

Examens biologiques	Intérêt clinique
NFS	Appréciation globale quantitative des leucocytes
Immunophénotypage T, B, NK	Appréciation quantitative des lymphocytes. Déficits immunitaires
Réponse aux mitogènes et/ou à des antigènes spécifiques	Exploration des déficits immunitaires
Test IGRA (Quantiferon, Elispot)	Exploration des hypersensibilités retardées (type IV)