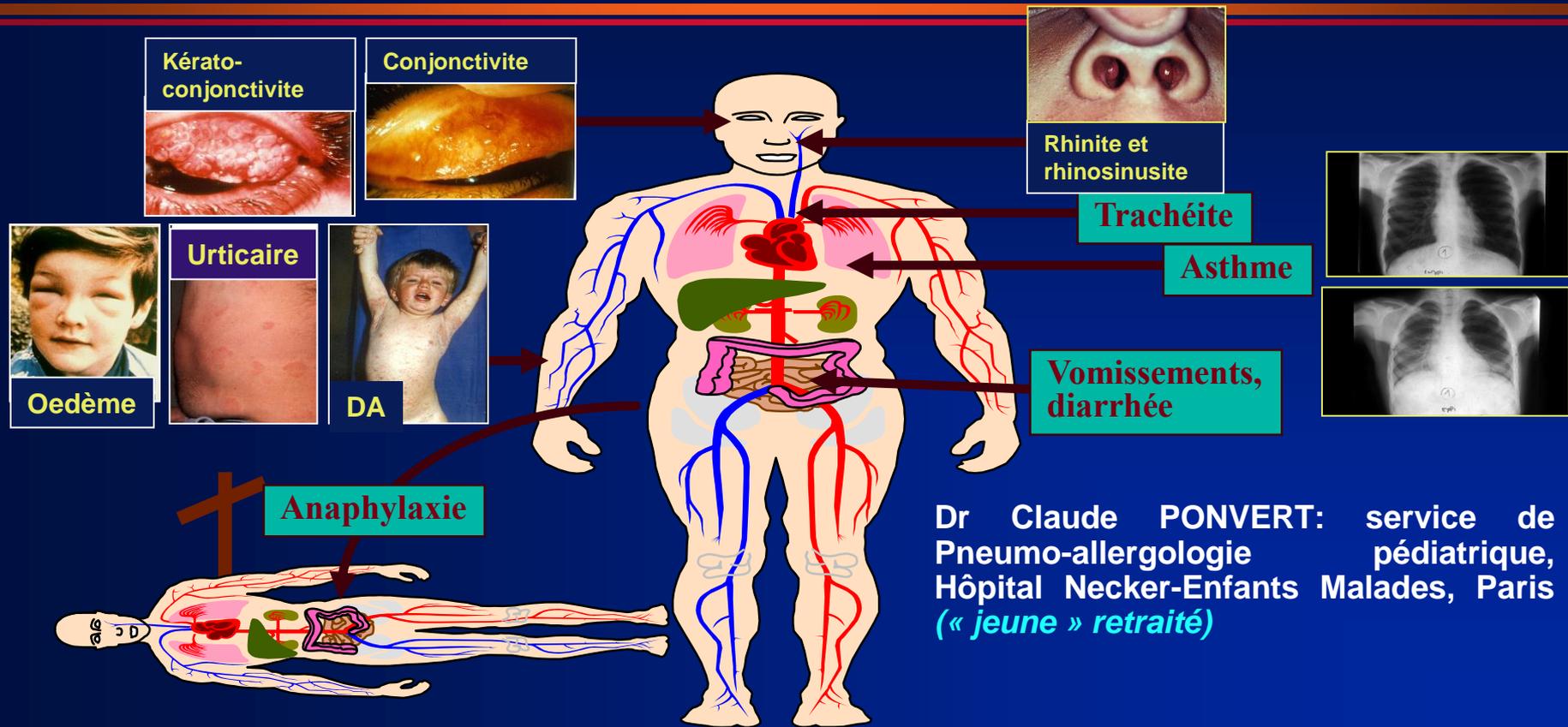


Allergie immédiate : physiopathologie et grands principes diagnostiques & thérapeutiques



Dr Claude PONVERT: service de
Pneumo-allergologie pédiatrique,
Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris
(« jeune » retraité)

Introduction à l'allergie

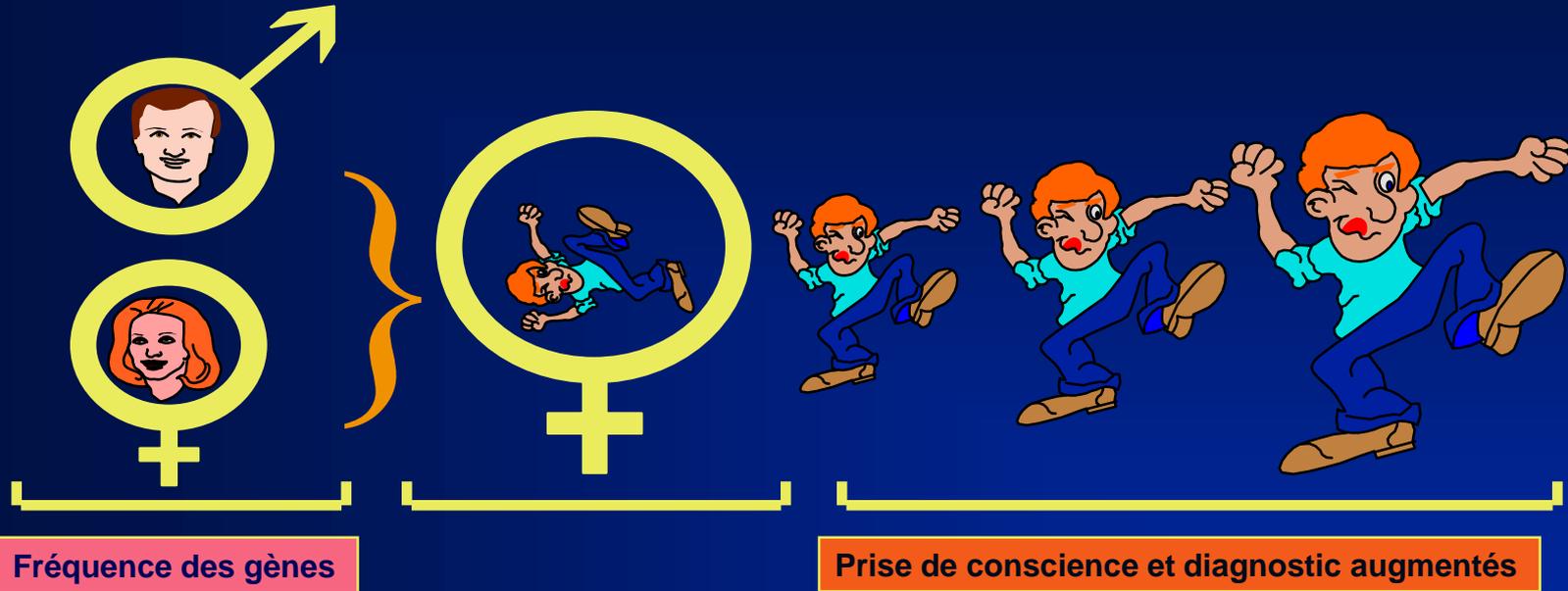
Allergie immédiate & atopie

- | **Allergie immédiate (HSI)** : ensemble de manifestations immuno-allergiques survenant chez des individus génétiquement prédisposés (atopie)
- | **Atopie** : terrain génétique prédisposant à la survenue de manifestations allergiques du type immédiat, et caractérisé par :
 - une production exagérée d'IgE
 - une inflammation subaiguë/chronique des organes/tissus cibles
 - *induites/entretenues/majorées par les stimulations environnementales exercées par les antigènes (... « allergènes ») et les cofacteurs irritants/adjuvants non spécifiques*

Allergie immédiate : épidémiologie

- » **Prévalence = 15 à 30 %** dans les pays développés
- » **4^e rang des maladies chroniques (classification OMS)**
 - après les maladies mentales, le diabète et les maladies cardio-vasculaires
 - bien avant les autres maladies immunologiques (maladies AI, déficits immunitaires primitifs ou acquis, greffes et transplantations)
- » **Prévalence x 2 à 3 en 30 ans**
- » **Fréquence des formes graves et fatales x 4 à 5 en 30 ans (asthme, allergie alimentaire)**

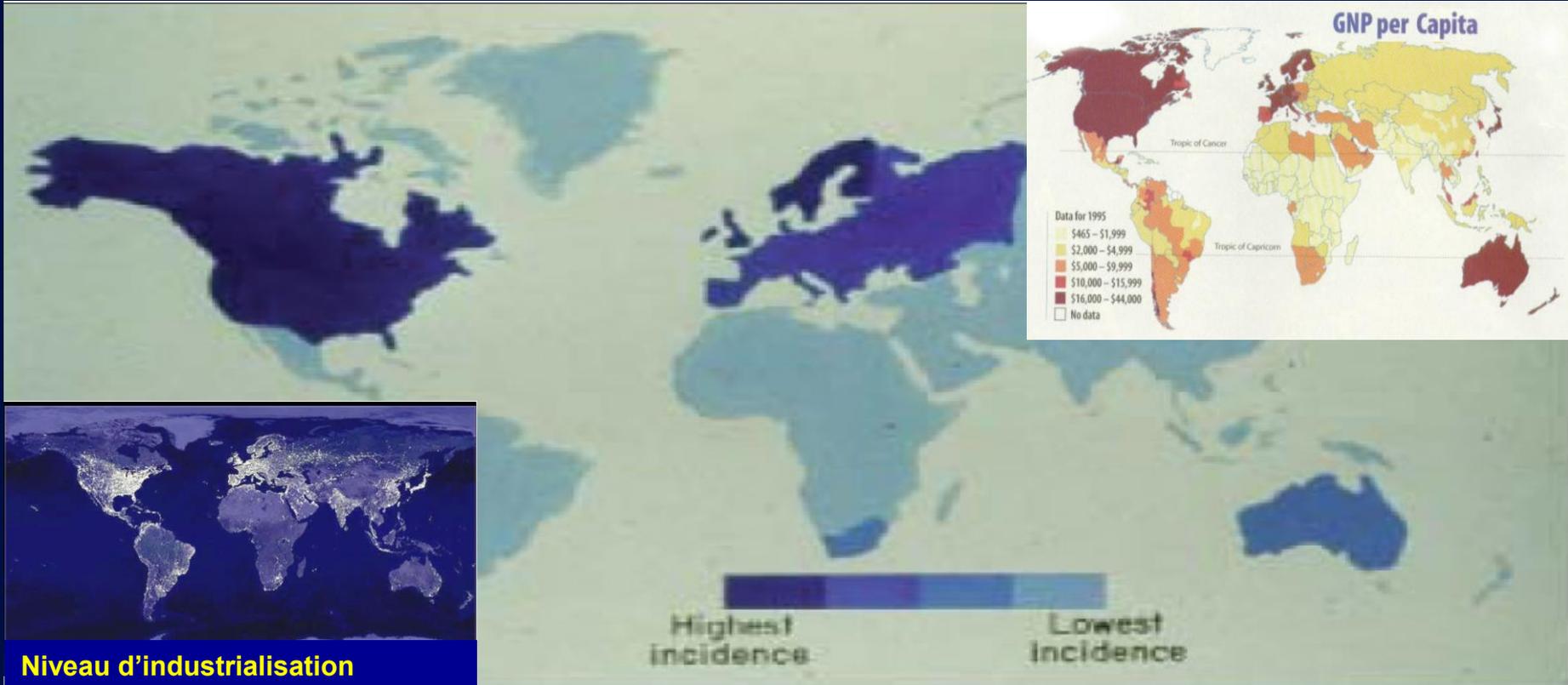
Epidémiologie (1): principaux facteurs responsables de l'augmentation de l'allergie



Modifications liées au mode de vie et de l'environnement (western life style, american way of life) :

- exposition aux allergènes (quantitative et qualitative)
- exposition aux polluants/irritants/adjuvants non spécifiques —» modification des allergènes, perméabilité des revêtements, inflammation non spécifique, modifications épigénétiques, etc.

Influence (des modifications) du mode de vie et de l'environnement sur l'augmentation de prévalence des maladies allergiques (= *maladies de « civilisation »*)



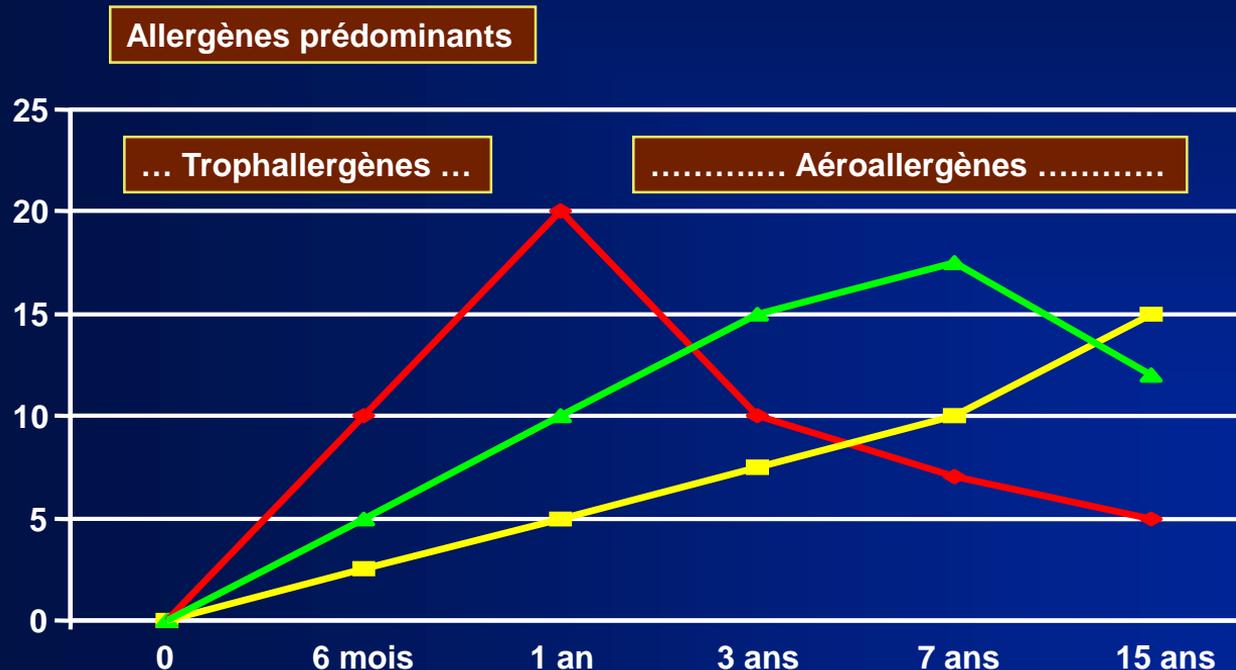
Epidémiologie (2): histoire naturelle de l'allergie

I D' une façon générale :

- L'allergie immédiate ne guérit pas/que peu : une importante proportion des patients allergiques pendant l'enfance reste allergique à l'âge adulte, soit de façon permanente, soit de façon intermittente
- Les manifestations cliniques de l'allergie immédiate évoluent dans le temps (DA allergie respiratoire et/ou oculaire), même si ces manifestations peuvent rester associées, soit simultanément, soit en alternance, chez un certain nombre de patients
- Les sensibilisations responsables de l'allergie immédiate évoluent dans le temps (trophallergènes aéro-allergènes), même si elles peuvent rester associées chez un certain nombre de patients et si certaines sensibilisations alimentaires peuvent se développer secondairement chez des patients initialement allergiques aux aéro-allergènes

Histoire naturelle de l'allergie

1.1. Principales manifestations cliniques et principaux allergènes de l'allergie en fonction de l'âge (%tage de patients/population générale)



—●— Eczéma
—■— Rhinite
—▲— Asthme

De nombreux patients présentent simultanément ou en alternance plusieurs types de symptômes et de sensibilisation

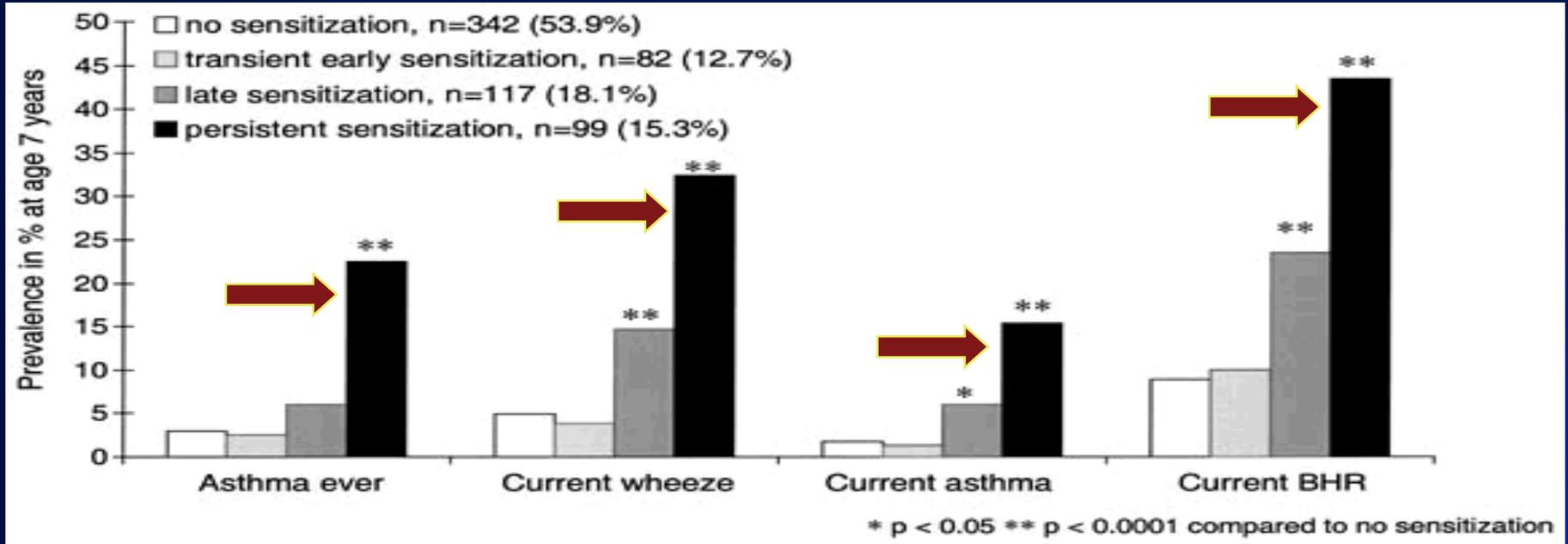
Epidémiologie (2): histoire naturelle de l'allergie

I D' une façon générale :

- L' allergie immédiate ne guérit pas/que peu : une importante proportion des patients allergiques pendant l' enfance reste allergique à l' âge adulte, soit de façon permanente, soit de façon intermittente
- Les manifestations cliniques de l' allergie immédiate évoluent dans le temps (DA allergie respiratoire et/ou oculaire), même si ces manifestations peuvent rester associées, soit simultanément, soit en alternance, chez un certain nombre de patients
- Les sensibilisations responsables de l' allergie immédiate évoluent dans le temps (trophallergènes aéro-allergènes), même si elles peuvent rester associées chez un certain nombre de patients et si certaines sensibilisations alimentaires peuvent se développer secondairement chez des patients initialement allergiques aux aéro-allergènes
- Les principaux facteurs de risque de persistance/récidive de l' allergie immédiate sont :
 - ✓ la précocité et le caractère durable des sensibilisations allergéniques
 - ✓ une association avec un terrain prédisposant familial (asthme notamment)
 - ✓ la gravité initiale de la maladie allergique

Histoire naturelle de l'allergie

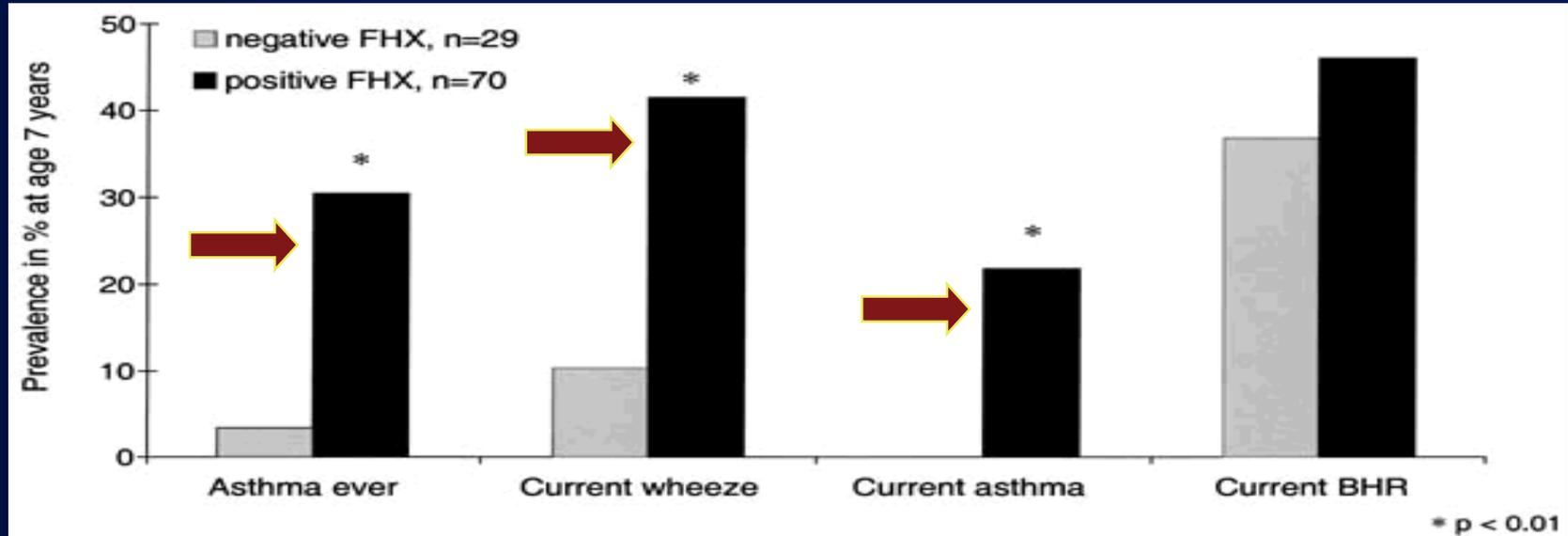
1. Facteurs de risque de persistance/récidive de l'asthme allergique ?



Existence d'une **atopie personnelle**, avec sensibilisations précoces (aux aliments) et persistantes (aux aéro-allergènes) = risque accru (++) d'asthme à 7 ans

1) Histoire naturelle de l'allergie

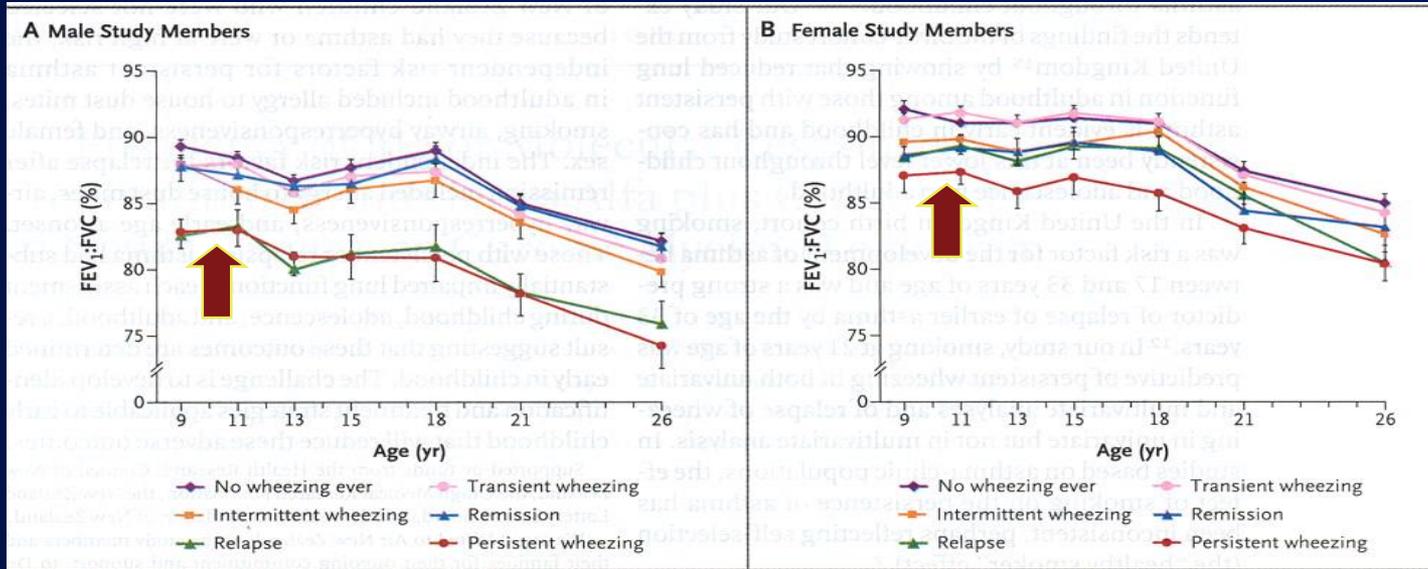
2. Facteurs de risque de persistance/récidive de l'asthme allergique ?



Atopie personnelle (sensibilisation persistante) + terrain familial (asthme maternel) = risque accru (+++) d'asthme à 7 ans

1) Histoire naturelle de l'allergie

3. Facteurs de risque de persistance/récidive de l'asthme allergique ?



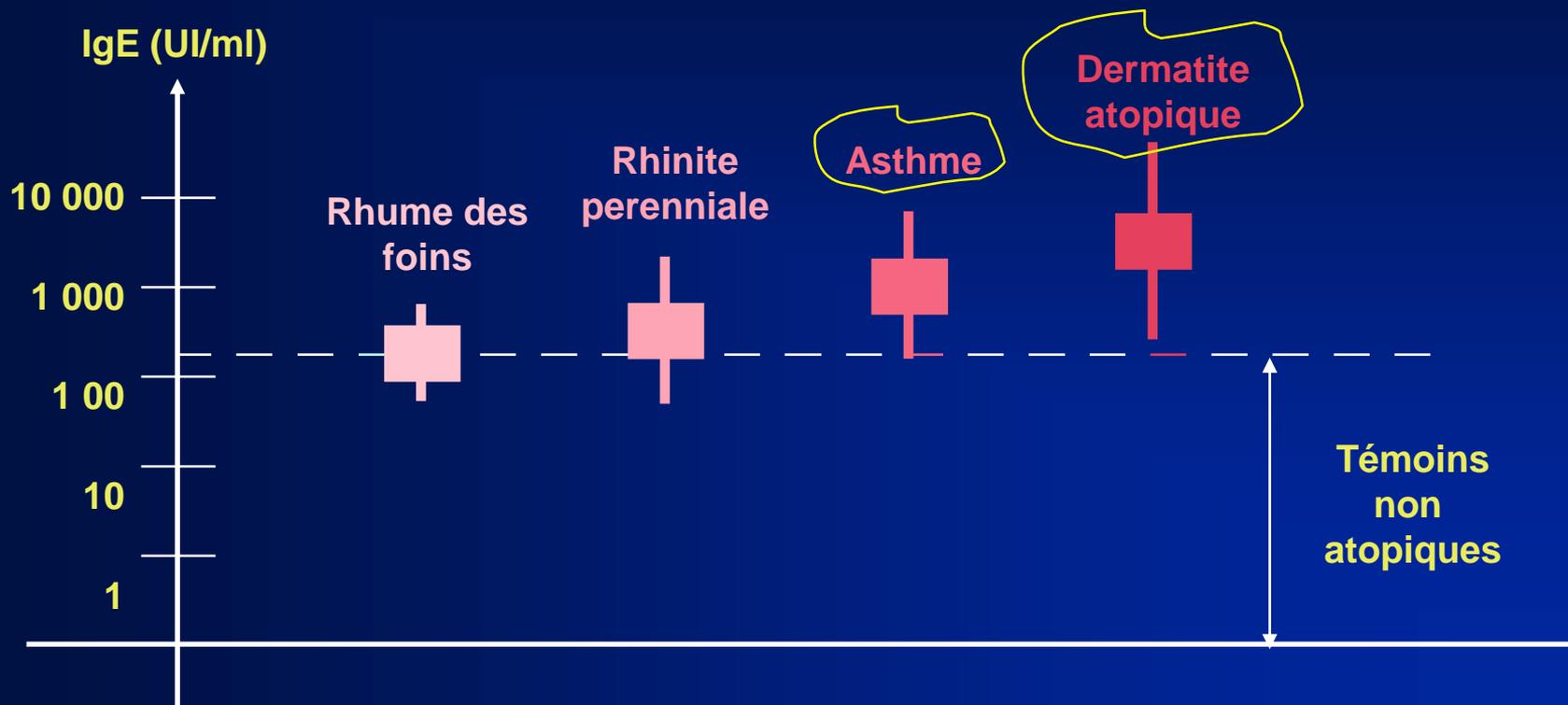
Gravité initiale de la maladie allergique : Mean (\pm SE) FEV₁/FVC Ratios Measured at 9, 11, 13, 15, 18, 21 and 26 years in male (Panel A) and female (Panel B) study members, according to the pattern of wheezing (Sears MR et al. *N Engl J Med* 2003;349:1414-22)

Introduction à l'allergie

Allergie immédiate & atopie

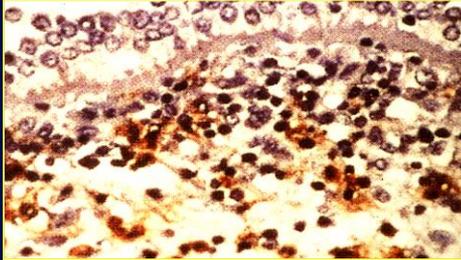
- | **Allergie immédiate (HSI)** : ensemble de manifestations immuno-allergiques survenant chez des individus génétiquement prédisposés (atopie)
- | **Atopie** : terrain génétique prédisposant à la survenue de manifestations allergiques du type immédiat, et caractérisé par :
 - une production exagérée d'IgE
 - une inflammation subaiguë/chronique des organes/tissus cibles
 - *induites/entretenues/majorées par les stimulations environnementales exercées par les antigènes (... « allergènes ») et les cofacteurs irritants/adjuvants non spécifiques*

Concentrations des IgE sériques totales dans les diverses manifestations cliniques liées à une allergie immédiate

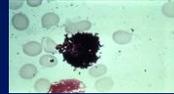
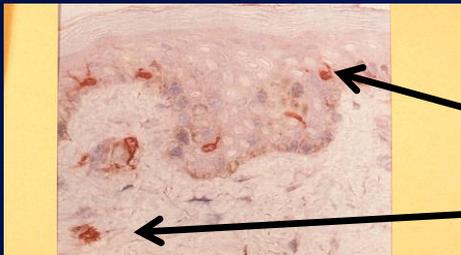


Physiopathologie de la réaction allergique du type immédiat (inflammation subaiguë/chronique des organes et tissus-cibles)

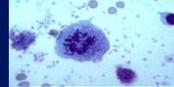
Inflammation éosinophilique bronchique (coupe de bronche de patient atteint d'asthme allergique)



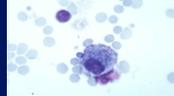
Cellules IgE⁺ dans la peau des patients atteints de DA



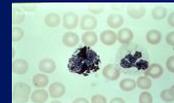
Mastocyte



Lymphocytes (Th2 et B à IgE)



Macrophage



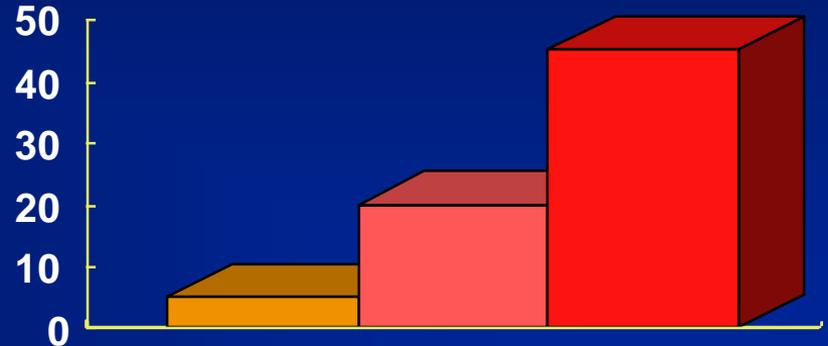
Basophile

Cellules de Langerhans

Mastocytes, éosinophiles

Nombre des éosinophiles dans le liquide de LBA des asthmatiques allergiques aux pollens (Rak et al, 1991)

Eosinophiles (x 10⁴)

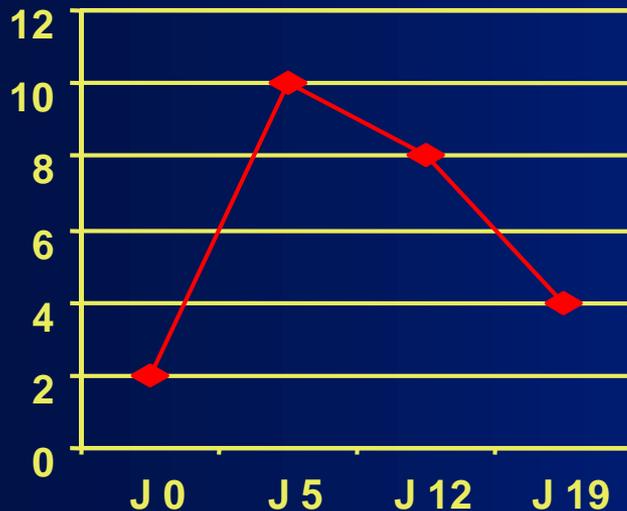


- Témoins
- Allergiques en dehors de la saison pollinique
- Allergiques pendant la saison pollinique

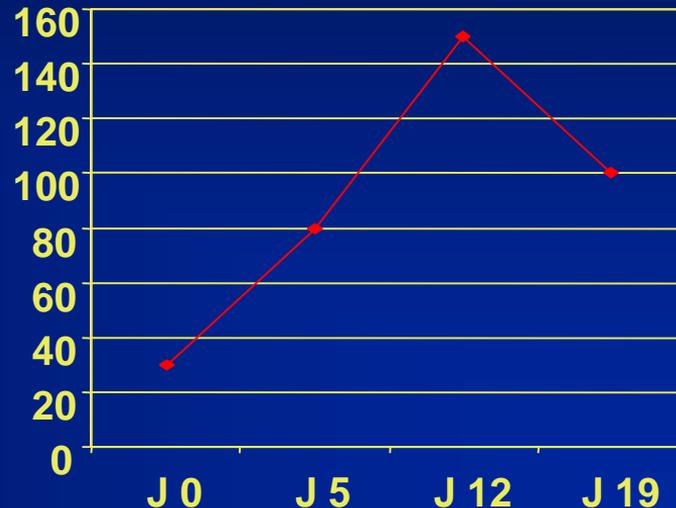
Physiopathologie de la réaction allergique du type immédiat (inflammation subaiguë/chronique des organes et tissus-cibles)

De Kluijver et al. Asymptomatic worsening of airway inflammation during low dose allergen exposure in asthma: protection by inhaled steroids. AJRCCM 2002; 166: 294-300

PNE in sputum (%)



ECP (ng/ml) in sputum

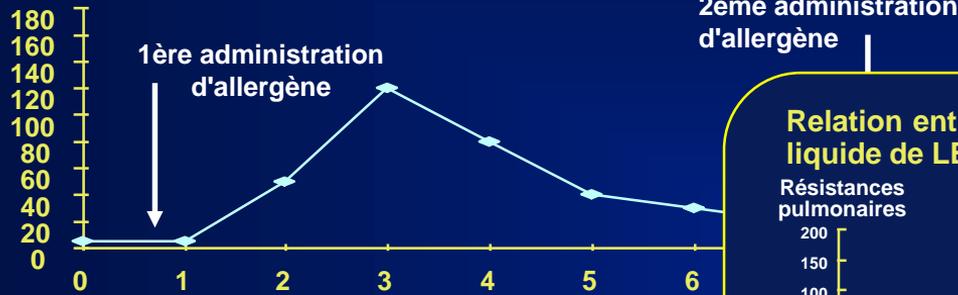


PNE and ECP levels in sputum during and after a 10-days course of VLDA inhalation

Hyperréactivité des organes et tissus cibles dans l'allergie immédiate

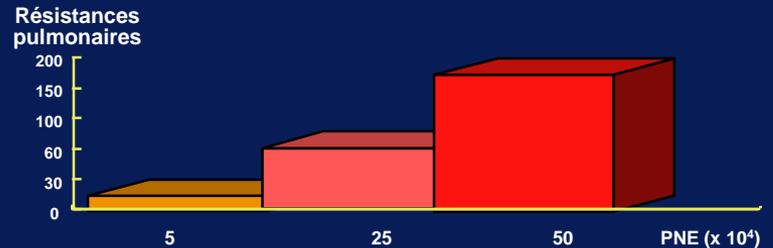
Etude de l'HRB induite par des inhalations d'allergène chez des souris préalablement rendues allergiques

Résistances pulmonaires (% augmentation)



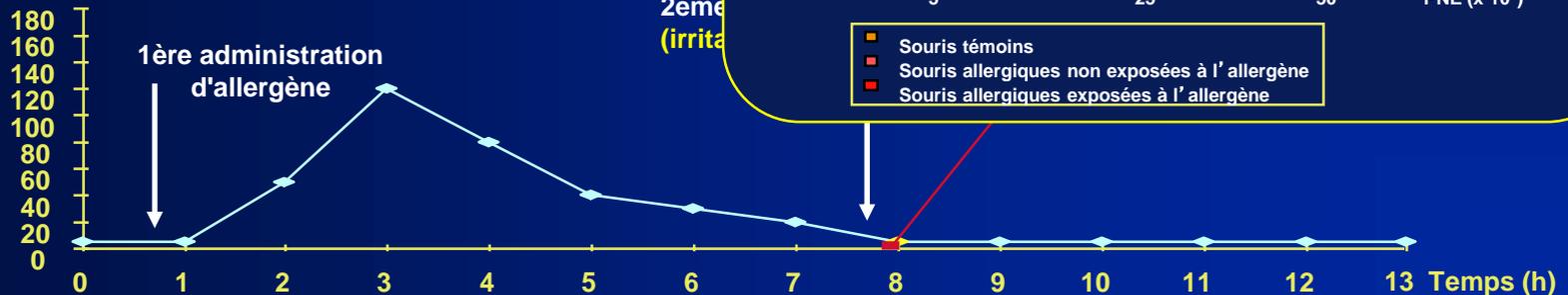
2ème administration d'allergène

Relation entre HRB et nombre des éosinophiles dans le liquide de LBA des souris allergiques asthmatiques



Etude de l'HRB non spécifique induite par des inhalations

Résistances pulmonaires (% augmentation)



- Souris témoins
- Souris allergiques non exposées à l'allergène
- Souris allergiques exposées à l'allergène

Génétique de l'atopie

Méthodes d'étude

□ Etudes de familles :

- études de la transmission de parents à enfants
- études de concordance dans les fratries
- » mise en évidence d'une transmission génétique

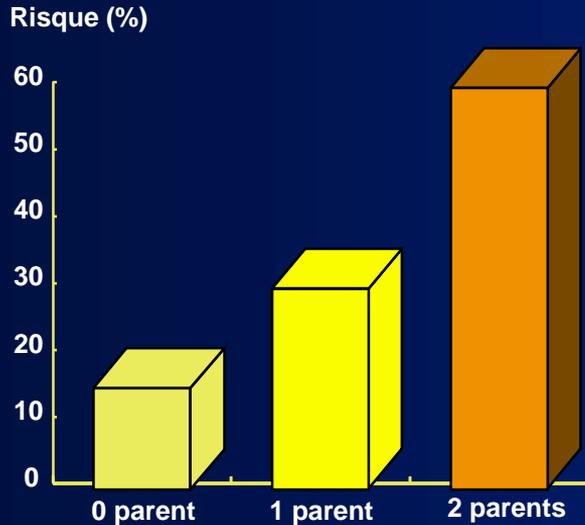
□ Etudes chromosomiques & génomiques de populations sélectionnées ou non :

- » mise en évidence d'associations avec :
 - des marqueurs chromosomiques particuliers (gènes candidats)
 - des gènes particuliers (gènes de classe II)

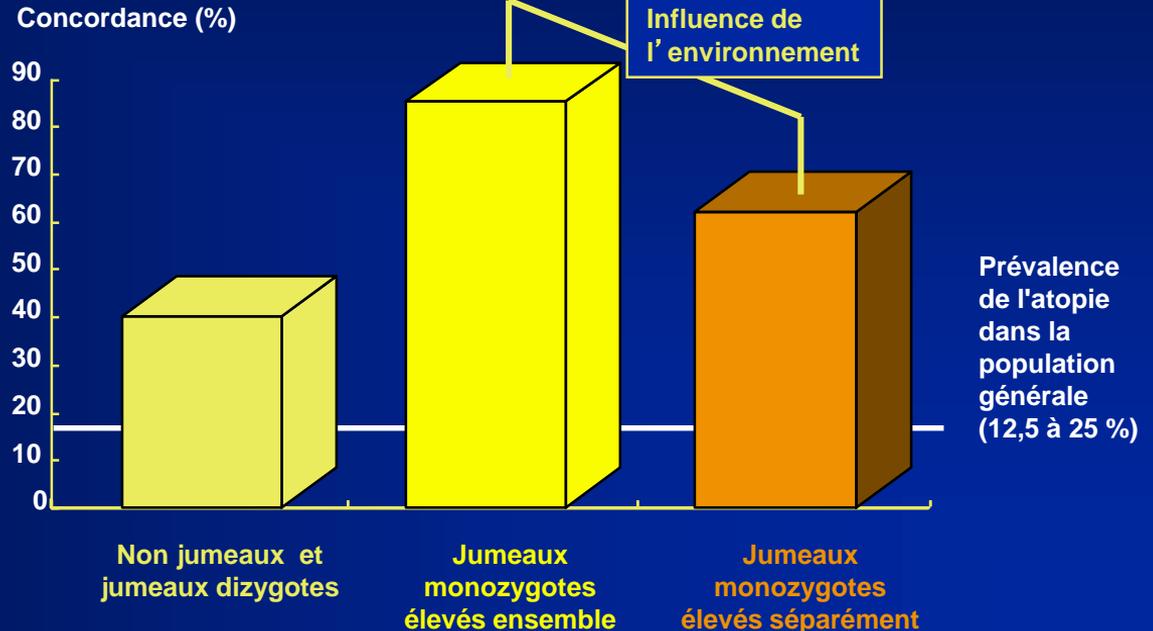
Génétique de l'atopie

Etudes de familles

Etudes de la transmission des parents aux enfants (risque pour un enfant d'être allergique en fonction des antécédents parentaux)



Etudes de concordance entre enfants de mêmes parents



Génétique de l'atopie

Gènes incriminés

Principaux gènes de "classe II » —» capacité de réponse immunitaire spécifique :

• **Gènes HLA de classe II (chromosome 6) :**

- HLA-DR1 (Fel d I) - HLA-DR2 (Amb a V) - HLA-DR3 (Bet v I, Lol p I)
- HLA-DR4 (Alt a I) - HLA-DR5 (Amb a VI) - HLA-DR7 / DQ2 (olivier)

• **Gènes $V_{\alpha/\beta}$ (8.1) du TCR (chromosome 14) :** Der p I, Der p II, Fel d I

Principaux gènes des "classes I, III & IV » —» production des IgE et réactivité des organes cibles

Chr. 5(q)

- gènes du locus IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF et IL-4R
- gènes de l'IL-9 et de l'IL-13

Chr. 16(p12)

- gène de l' IL-4R

Chr. 6

- gènes du $TNF_{\alpha/\beta}$

Chr. 12

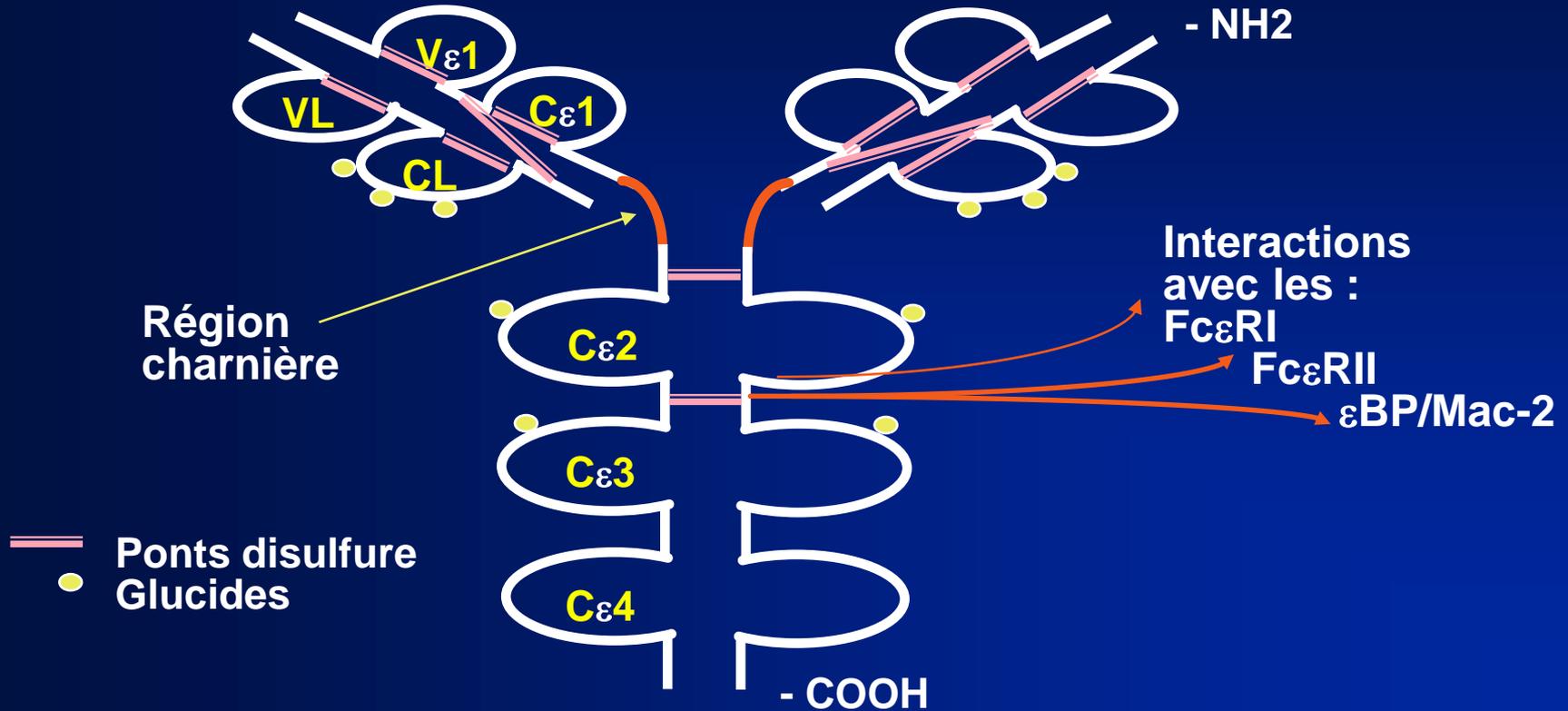
- gènes de l' IFN_{γ}

Chr. 1

- gènes du locus promoteur de l'IL-10 et du TGF- β

Les anticorps de l'allergie immédiate

Les IgE : structure



Les anticorps de l'allergie immédiate

Les IgE : propriétés & fonctions

I Propriétés générales :

- » PM = 190 000
- » CS = 8S
- » Teneur en glucides = 12 %
- » Traversée du placenta = 0 
- » Activation du complément par la voie directe = 0 
- » Taux sérique normal ≤ 200 à 250 UI / ml (après 10 à 12 ans)
- » Demi-vie :
 - IgE sériques = 2,5 jours
 - IgE fixées sur les cellules ≥ 3 à 4 semaines 

I Fonctions physiologiques :

- » Défense antiparasitaire (helminthes)
- » Epuration des complexes immuns circulants (?)

Récepteurs des IgE

Récepteurs	Structure	Cellules porteuses	Propriétés
FcϵRI	4 chaînes 3 chaînes	Mastocytes & basophiles Eosinophiles, neutrophiles, monocytes et macrophages, cellules dendritiques et de Langerhans, cellules NK	Affinité forte Expression variable (modulée par les IgE/CI à IgE / les cytokines)
Fcϵ-RII (CD23)	3 chaînes identiques entrelacées	LyBϵ et LyTϵ Eosinophiles, neutrophiles, monocytes et macrophages, cellules de Langerhans, plaquettes	Affinité faible Expression variable (modulée par les IgE/CI à IgE et les cytokines) Forme soluble (sCD23)
ϵBP / Mac-2 (galectine)	\geq 2 chaînes identiques entrelacées	Mastocytes & basophiles, éosinophiles, neutrophiles, macrophages, etc.	Affinité faible Forme soluble (s ϵ BP)

Physiopathologie de l'allergie immédiate

- ❖ **Dysrégulation de la synthèse des IgE**
- ❖ **Physiopathologie de la réaction allergique et de l'hyperréactivité des organes et tissus cibles**

Dysrégulation de la synthèse des IgE chez les atopiques (notion de dysrégulation immunitaire)

- Effets des surnageants de culture des LyT provenant de malades atopiques et de sujets témoins sur la production in vitro des IgE par les LyB humains

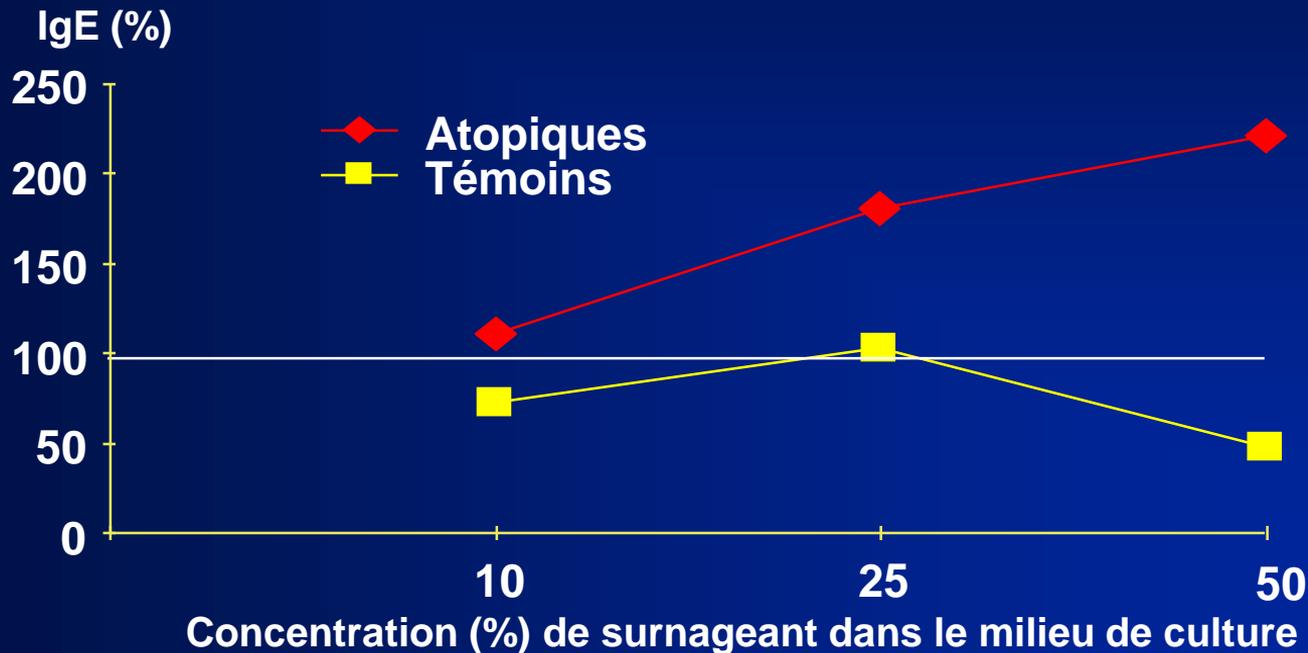
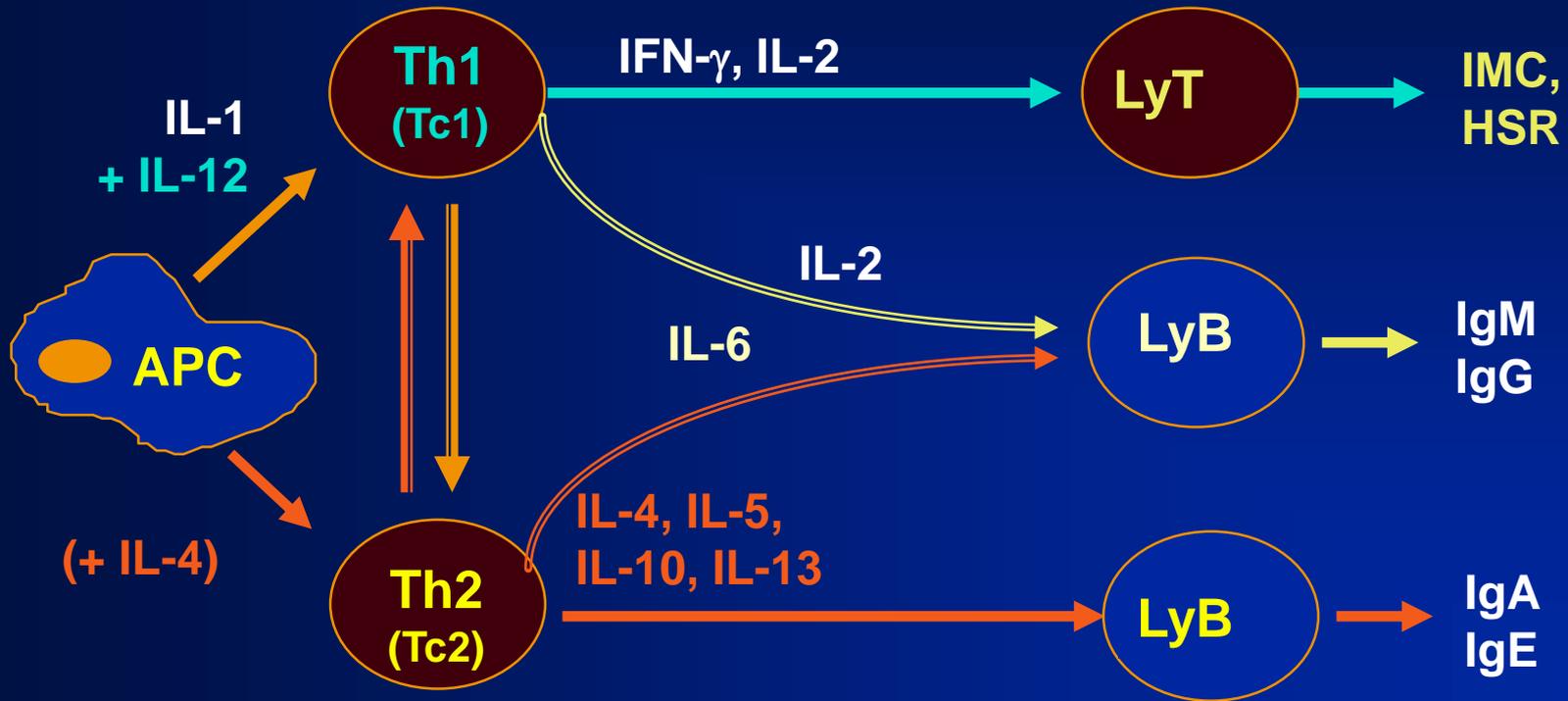


Schéma général des réponses immunitaires



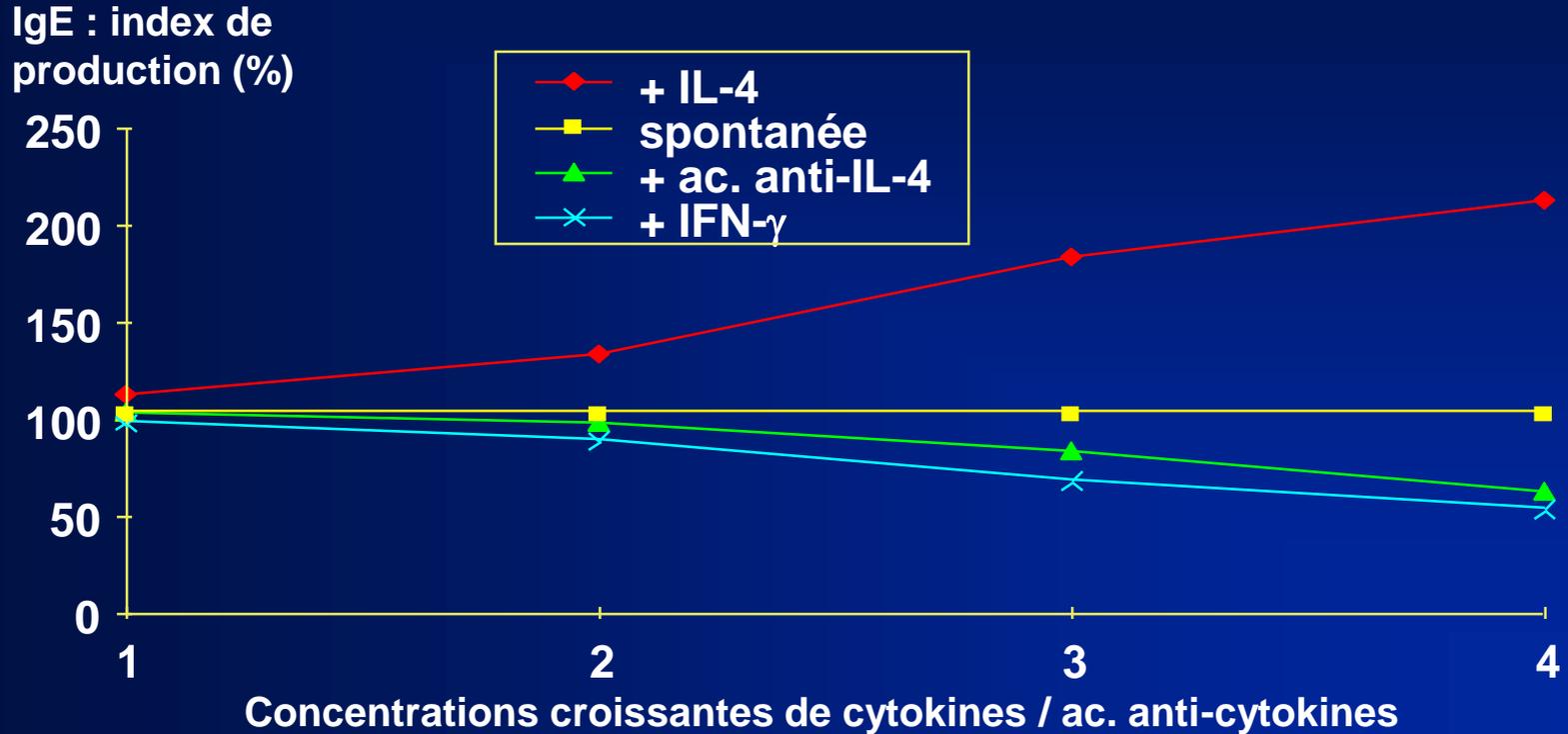
Observations démontrant le rôle des cytokines dans la régulation de la synthèse des IgE

- **Corrélations entre les capacités de production des cytokines, la concentration des IgE sériques, et la gravité de la maladie allergique**
- **Effets in vitro des cytokines, anticorps anti-cytokines et antagonistes des cytokines sur la production des IgE**
- **Corrélations entre l'efficacité de la DS et les modifications de l'expression / la production des cytokines régulant la production des IgE**

Observations démontrant le rôle des cytokines dans la régulation de la synthèse des IgE : corrélations entre la production des cytokines et la concentration des IgE sériques.

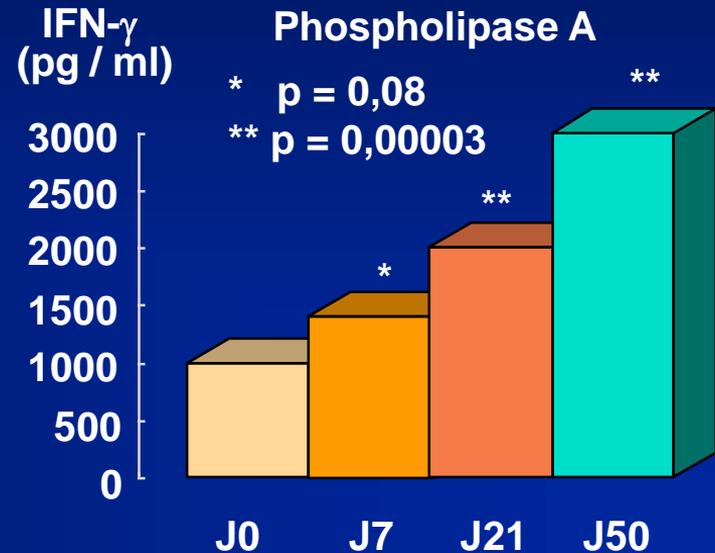
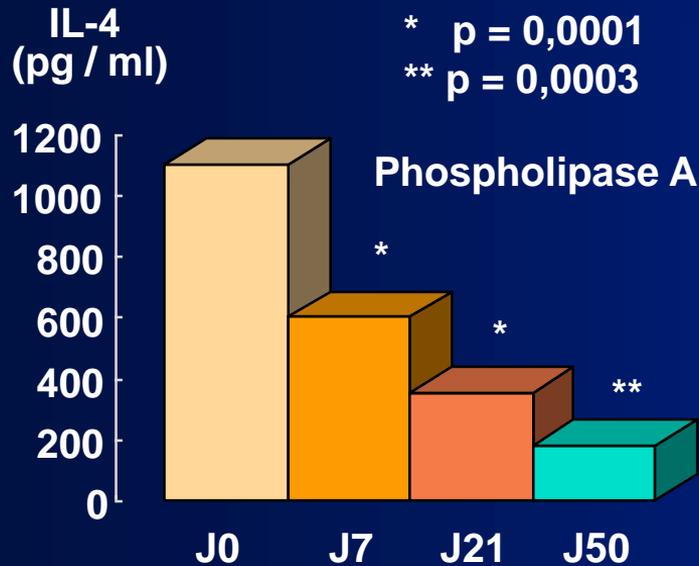
Concentration sérique	Asthme	Témoins	p <
IL-4 (pg/ml)	2.35 ± 0.26	1.08 ± 0.15	0.01
sCD23 (ng/ml)	35 ± 15	2 ± 0.5	0.001
IgE (UI/ml)	830 ± 312	47 ± 17	0.001

Observations démontrant le rôle des cytokines dans la régulation de la synthèse des IgE : effets in vitro des cytokines sur la production des IgE par les lymphocytes B humains atopiques activés par l'allergène



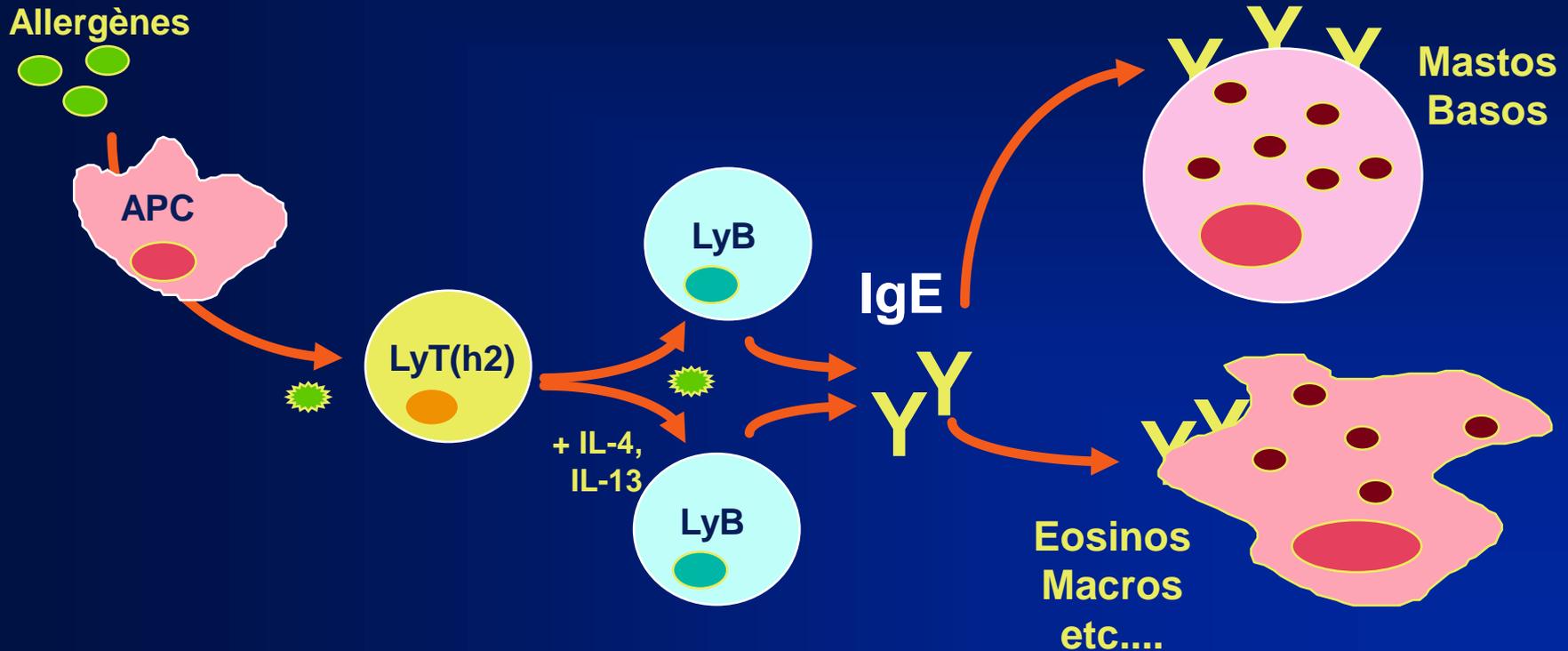
La DS induit une normalisation de la production des cytokines impliquées dans la régulation de la production des IgE

In : Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN- γ secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures (Jutel et al, 1995 : J. Immunol, 154 , 4187 - 4194)



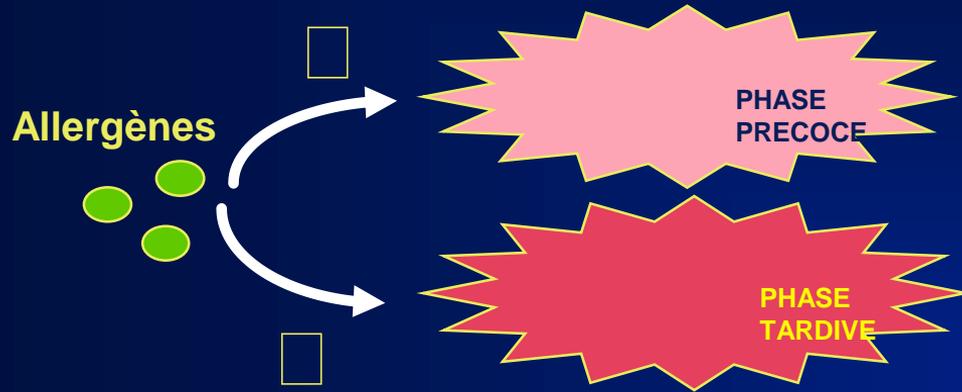
Immunopathogénie de l'allergie immédiate

1) Phase de sensibilisation



Immunopathogénie de l'allergie immédiate

2) Déclenchement



❖ TPN spécifique chez un patient atteint de rhinite allergique

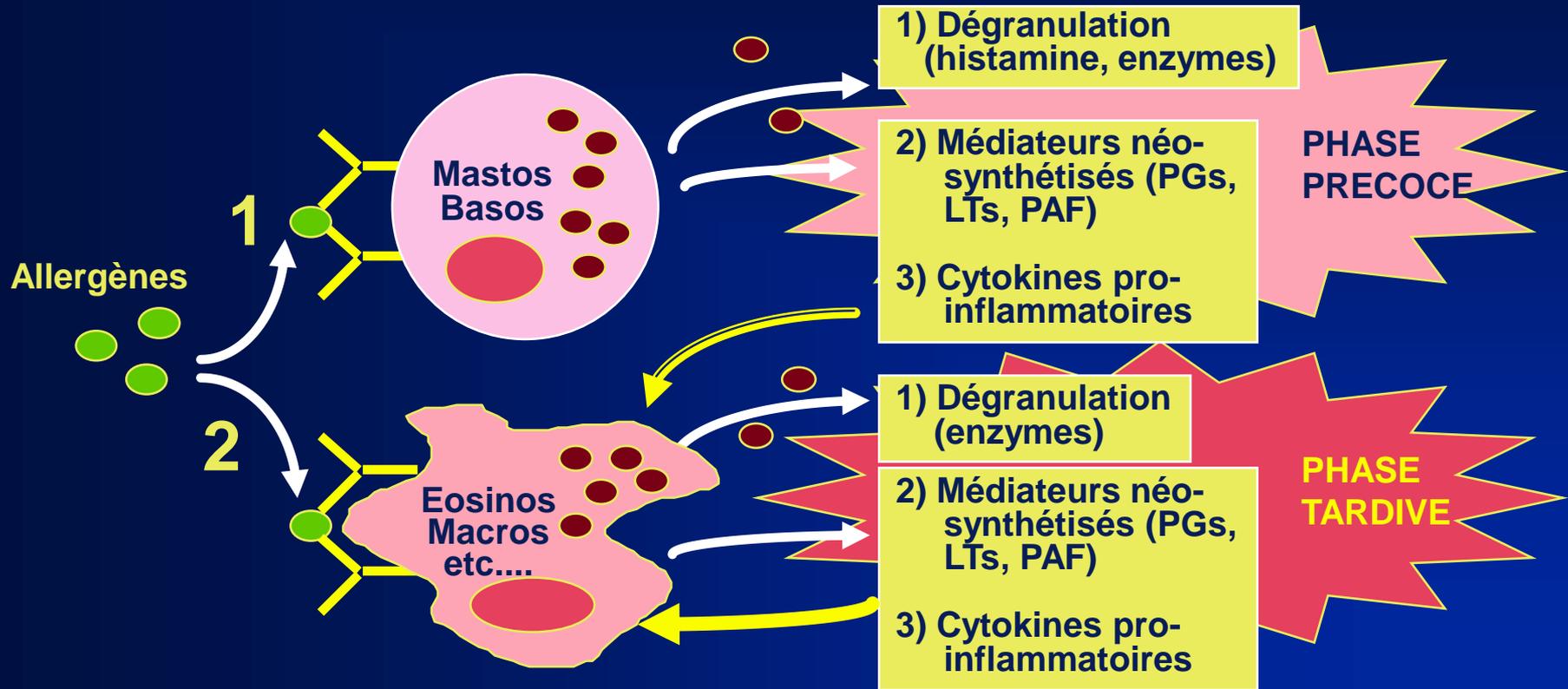
Réaction	précoce			tardive			
	avant	10 ⁻⁴ µg	10 ⁻³ µg	2h	12h	24h	36h
Score clinique							
- éternuements	0	1	10	5	2	0	0
- rhinorrhée	0	0	++	++	+	+	0
- obstruction	±	+	+	++	++	++	+
Résistances (cm H2O//sec)	2,1	3,7	9,3	15	ND	ND	ND

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme allergique à la blatte

❖ TPN à la blatte

Réaction	précoce			tardive			
	avant	10 ⁻⁴ µg	10 ⁻³ µg	2h	12h	24h	36h
Résistances (cm H2O//sec)	2,1	3,7	9,3	15	ND	ND	ND
Score clinique							
- éternuements	0	1	10	5	2	0	0
- rhinorrhée	0	0	++	++	+	+	0
- obstruction	±	+	+	++	++	++	+
Cytologie							
- cellularité	faible	faible	modérée	forte	forte	forte	forte
- neutrophiles	99 %	90 %	65 %	63 %	50 %	40 %	70 %
- éosinophiles	1 %	8 %	30 %	35 %	40 %	50 %	20 %
- autres cellules	0 %	2 %	5 %	2 %	10 %	10 %	10 %

Immunopathogénie de la réaction allergique du type immédiat (Conception actuelle)

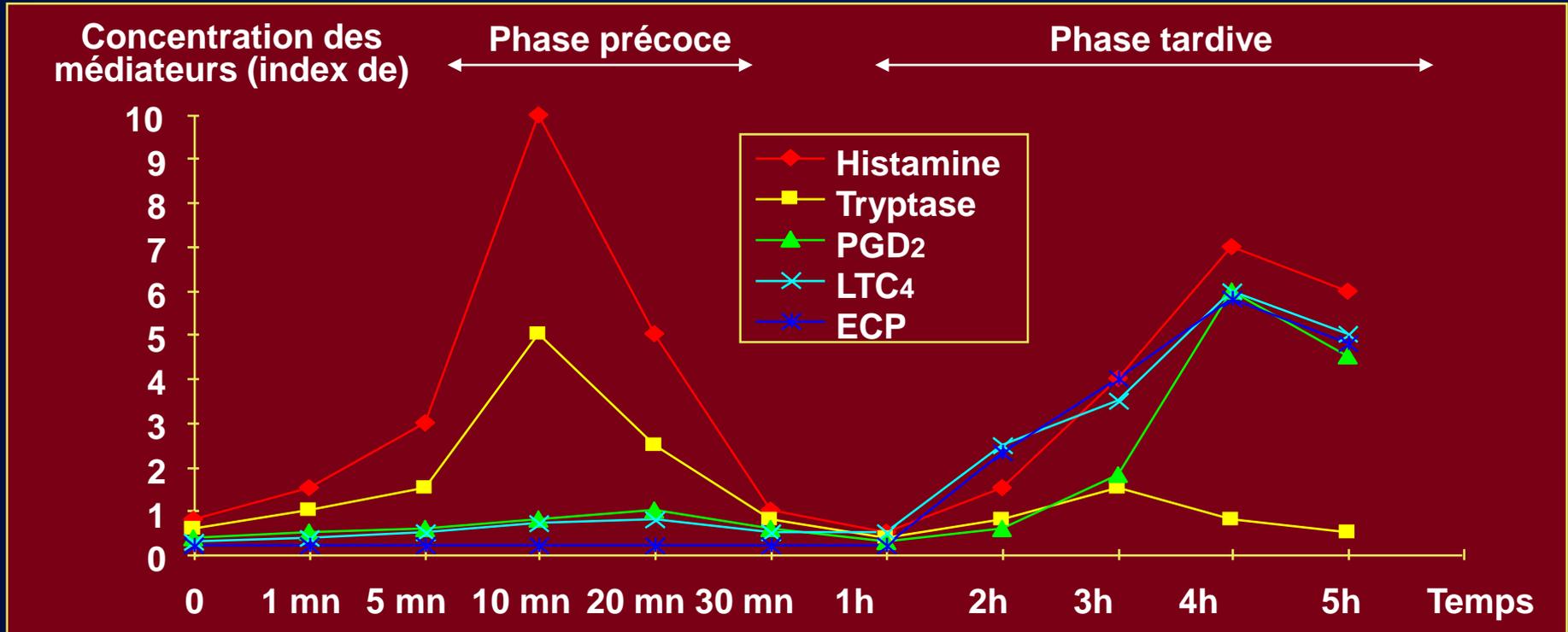


Physiopathologie de l'allergie immédiate

Principaux médiateurs et enzymes (classification)

Médiateurs & enzymes Cellules	intragranulaires (préformés)	Néoformés (synthétisés)
Mastocytes	histamine tryptase chymase	PGD2, PGF2 α , TXs LTB4, LTC4, LTD4, LTE4 PAF
Basophiles	histamine	PGD2, PGF2 α , TXs
Eosinophiles et autres cellules	MBP, ECP, EDN	PGD2, PGF2 α , TXs LTB4, LTC4, LTD4, LTE4 PAF

Cinétique de libération des médiateurs et enzymes lors des TPN spécifiques dans la rhinite allergique

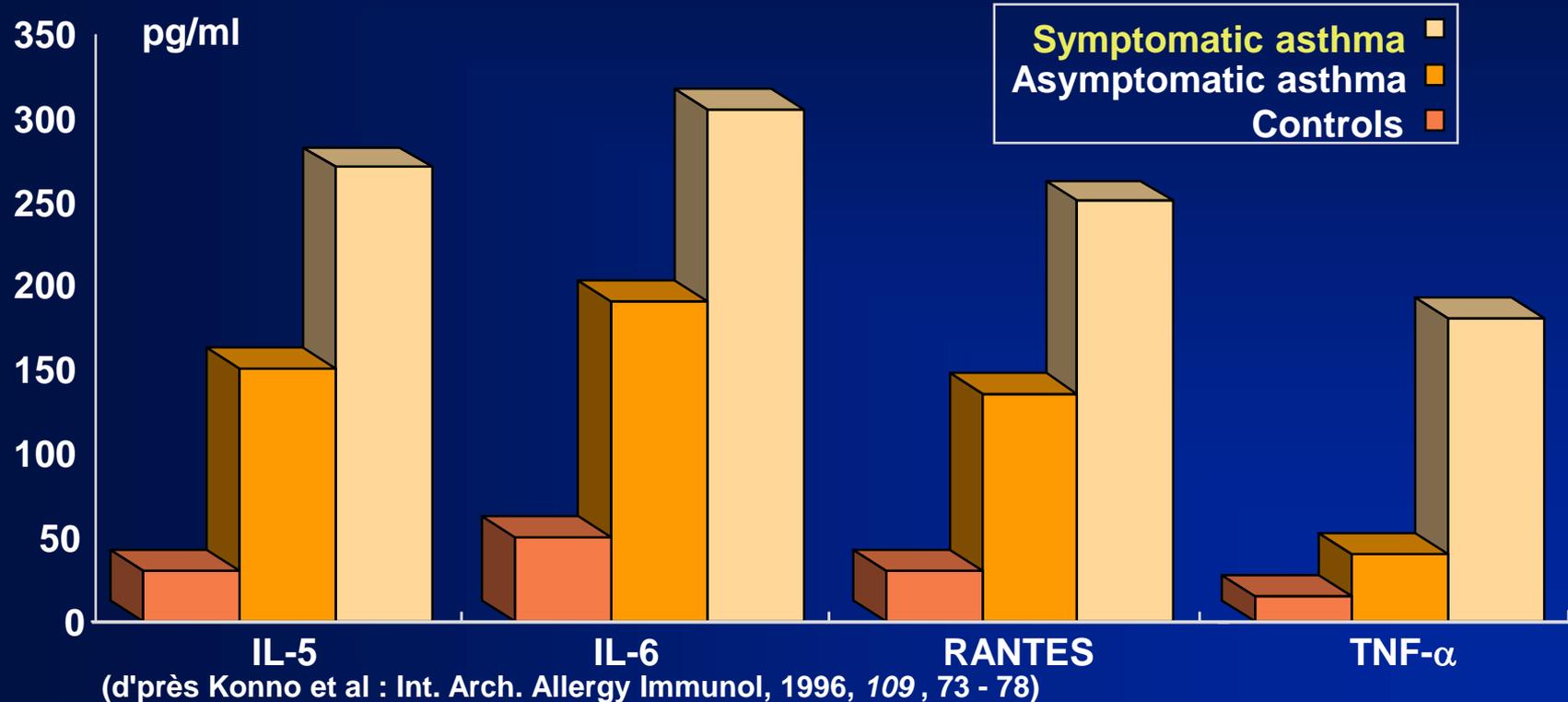


Physiopathologie de l'allergie immédiate

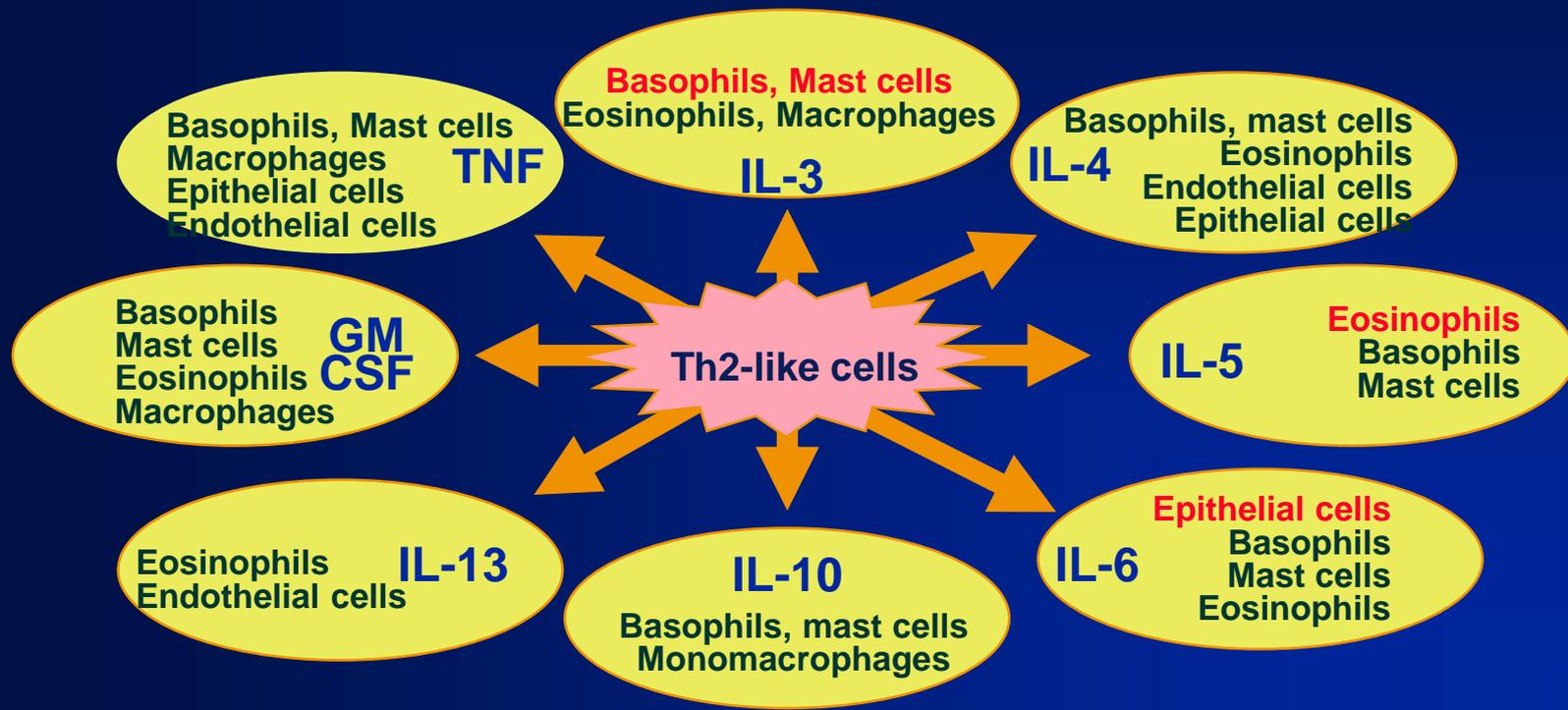
Principaux médiateurs et enzymes (activités biologiques)

Médiateurs	Effets sur				
	Vaisseaux	Muscle lisse	Epithelium	Leucocytes	Cœur
Histamine	VD et PC ↑	Contraction	Mucus ↑	Chimiotactisme et activation	Cond. AV ↓ Rythme ↑
PAF	VD et PC ↑	Contraction		Chimiotactisme et activation	Arythmie
PGF2 α PGD2 TXA2	VD et PC ↑	Contraction Contraction Contraction		Chimiotactisme et activation	
LTB4				Chimiotactisme et activation	
LTC4, D4, E4	VD et PC ↑	Contraction	Mucus ↑	Activation (±)	Contraction ↓

Observations étayant le rôle des cytokines dans l'expression des réactions allergiques du type immédiat : la production/concentration des cytokines dans les liquides biologiques est corrélée avec la sévérité de la maladie allergique



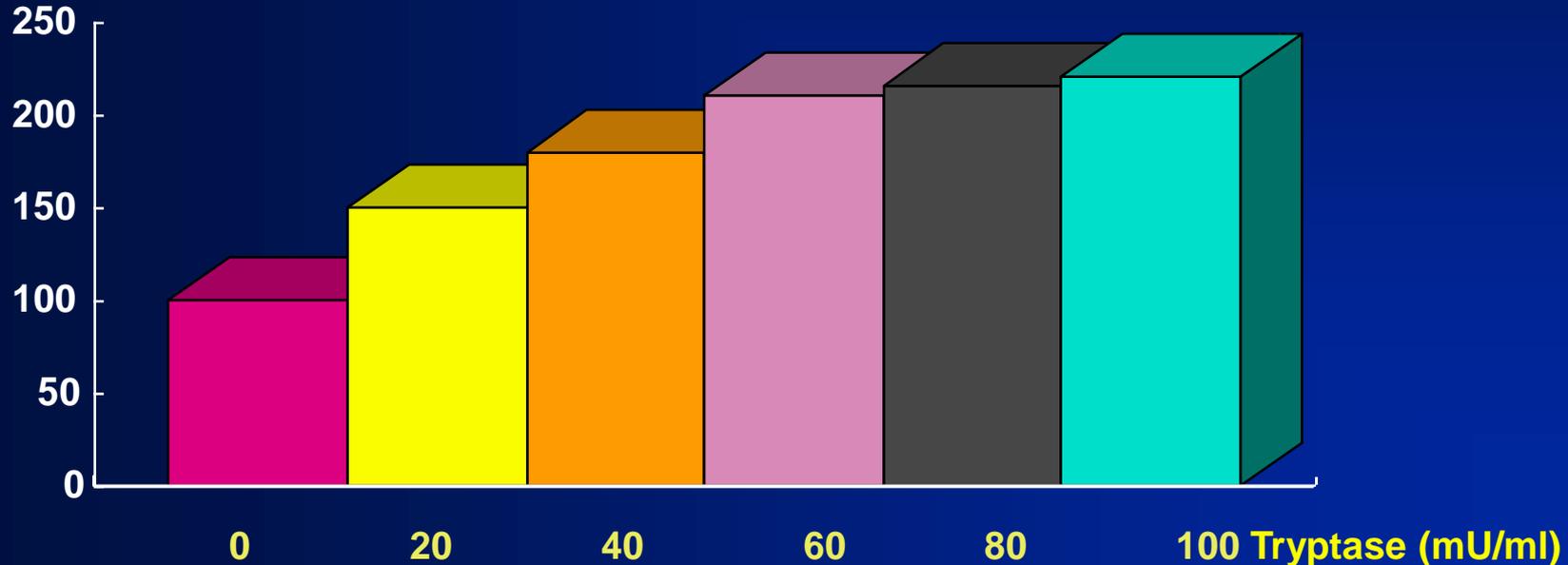
Observations étayant le rôle des cytokines dans l'expression des réactions allergiques du type immédiat : (Th2-type) cytokines are growth, differentiation, chemotactic and (pre)activating factors of effector cells in allergy



Les médiateurs de l'allergie induisent et/ou potentialisent la production des cytokines

La tryptase mastocytaire stimule la production d'IL-8 chimiotactique par les cellules endothéliales (Compton et al, 1998)

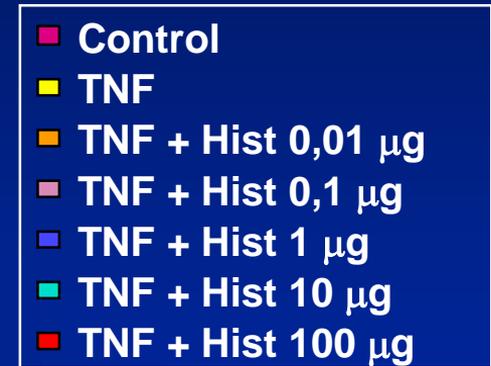
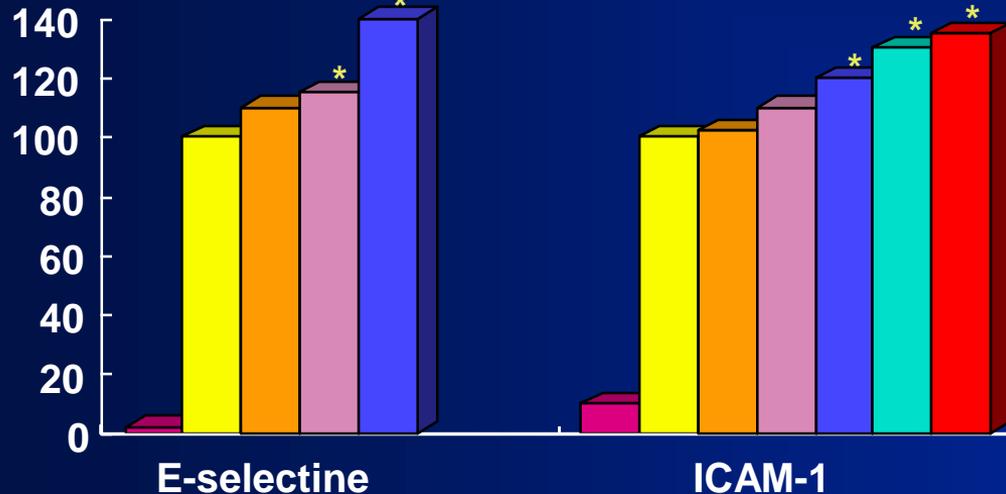
IL-8 release
(% of control)



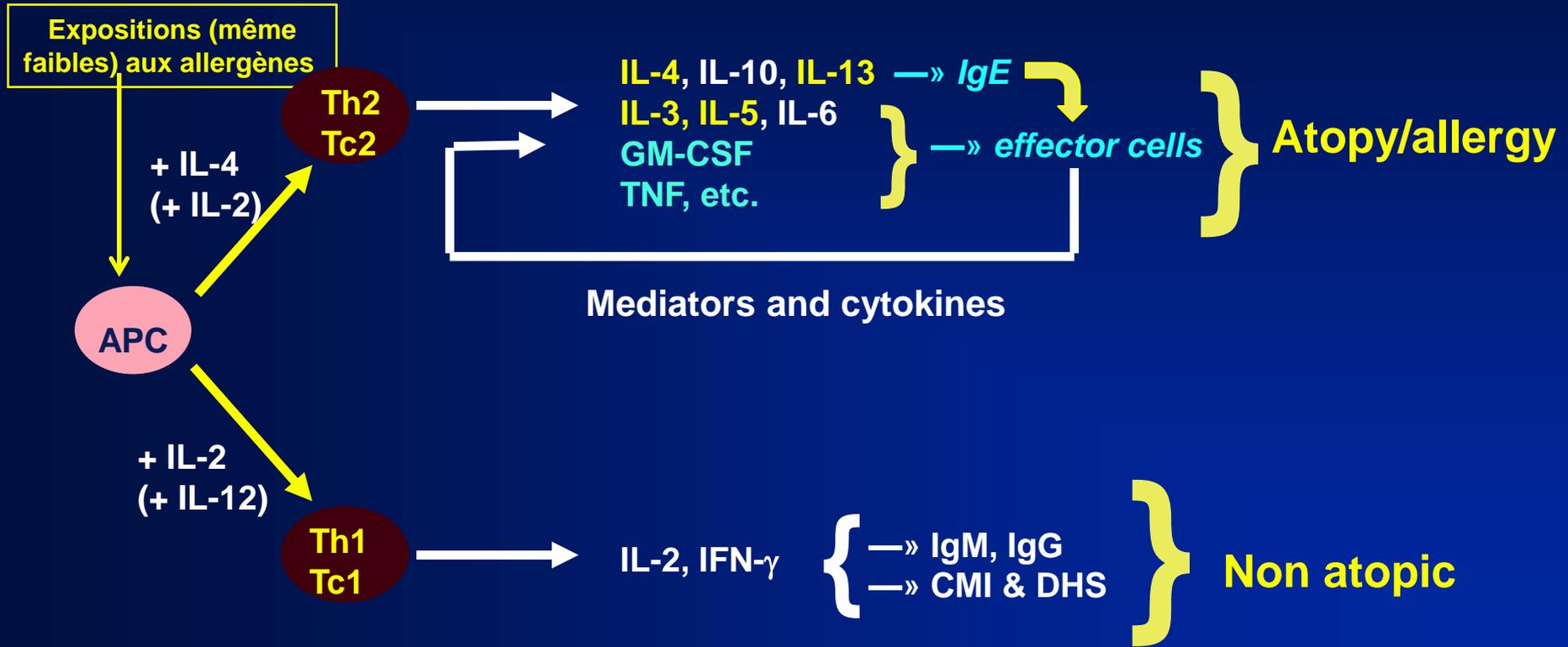
Les médiateurs de l'allergie renforcent les effets pro-allergiques/pro-inflammatoires des cytokines

Par ses effets H1, l'histamine potentialise l'expression des molécules d'adhésion intercellulaire, induite par le TNF- α , sur les cellules endothéliales (Miki et al, 1996)

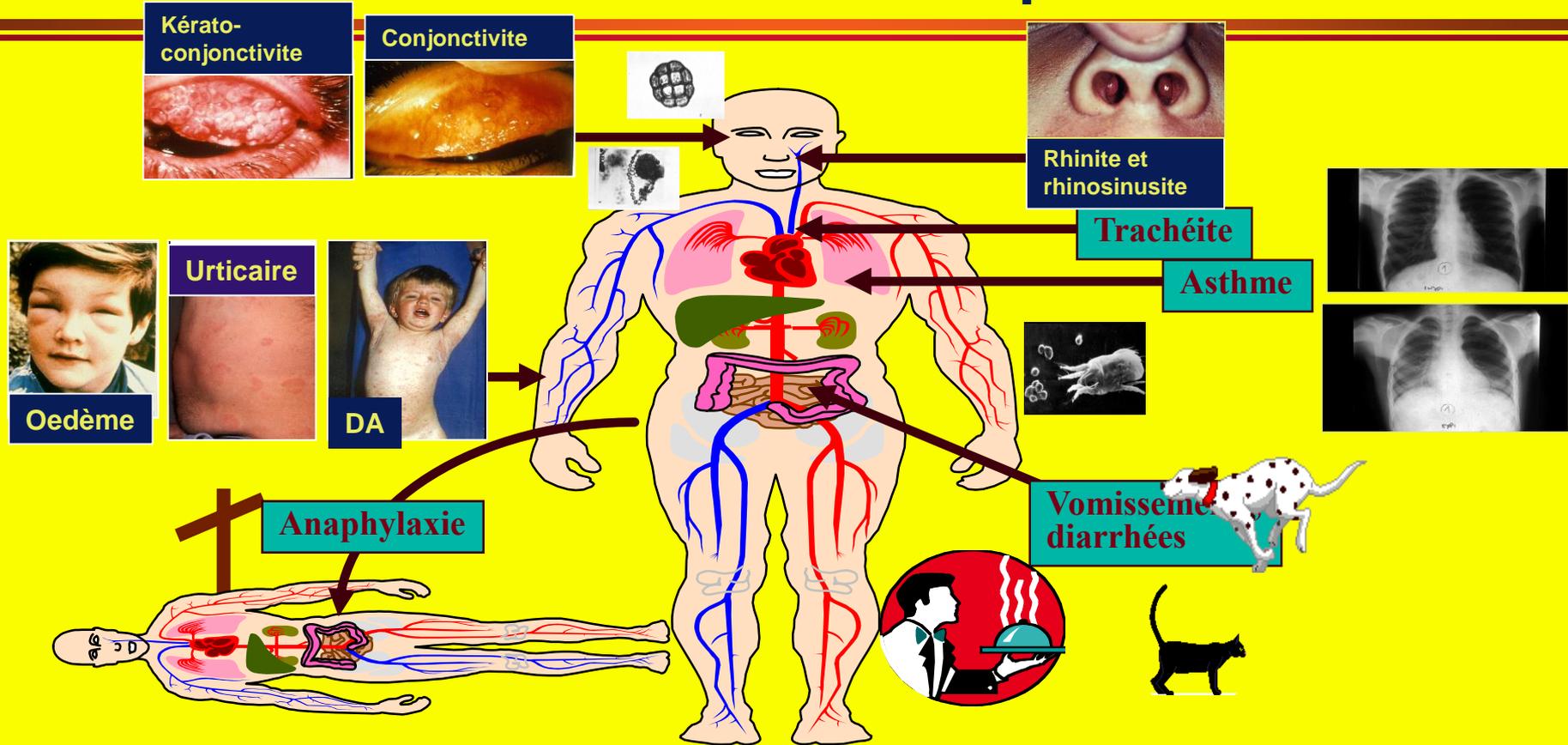
Expression of adhesion molecules (%of control)



Immune dysregulation in atopy, leading to increased IgE production and increased numbers and activability of effector cells



Allergie immédiate : allergènes et manifestations cliniques

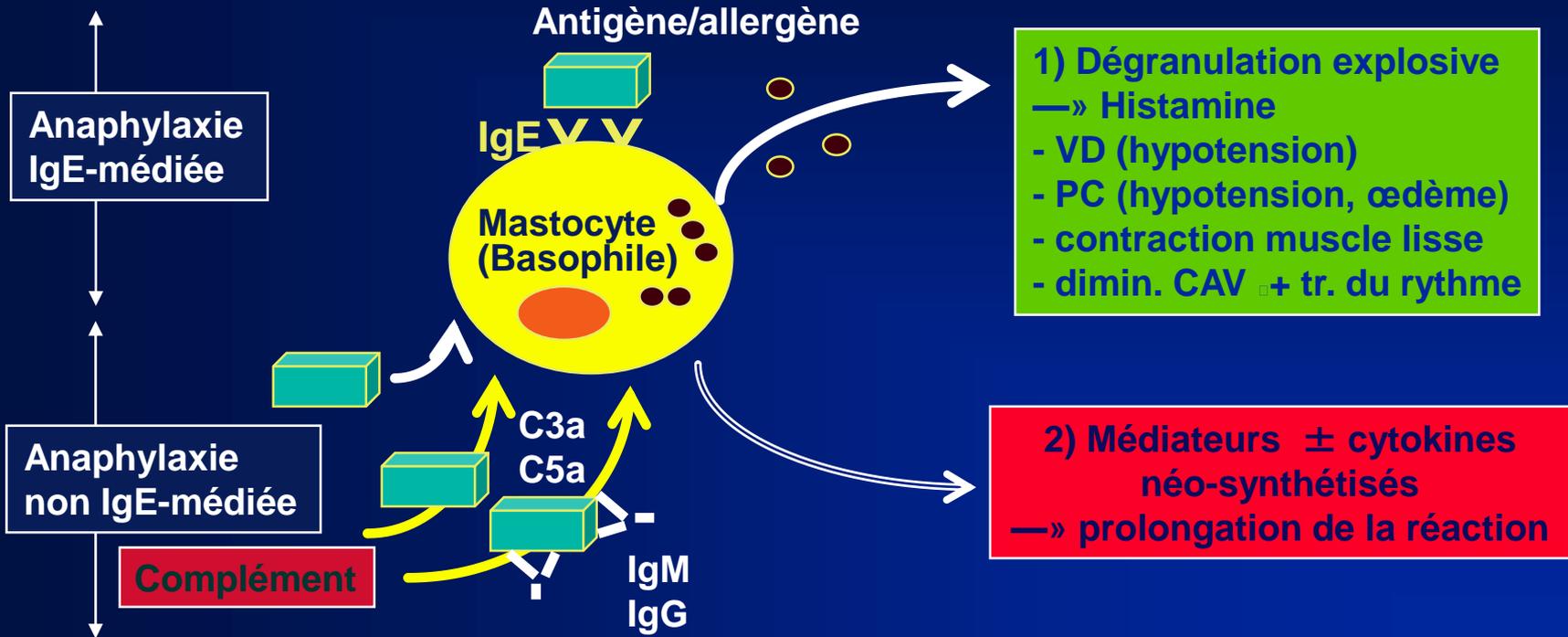


Allergie immédiate et anaphylaxie

Caractéristiques immunologiques

Réaction	Terrain immunologique prédisposant	Sensibilisation antérieure (parfois occulte)	Mécanisme : dégranulation des mastocytes et basophiles	Manifestations cliniques
Allergique	Terrain atopique	Nécessaire	IgE-dépendante	DA, urticaire Rhinite, conjonctivite Asthme
Anaphylactique - allergique/IgE - allergique/IgG	Non/oui Non	Nécessaire Nécessaire	IgE-dépendante IgM/IgG-dépendante	Urticaire ± œdème ± bronchospasme ± hypotension
Anaphylactique non allergique	Non	Non	Directe (indépendante des Ig)	± collapsus CV

Physiopathologie des réactions anaphylactiques: schéma général



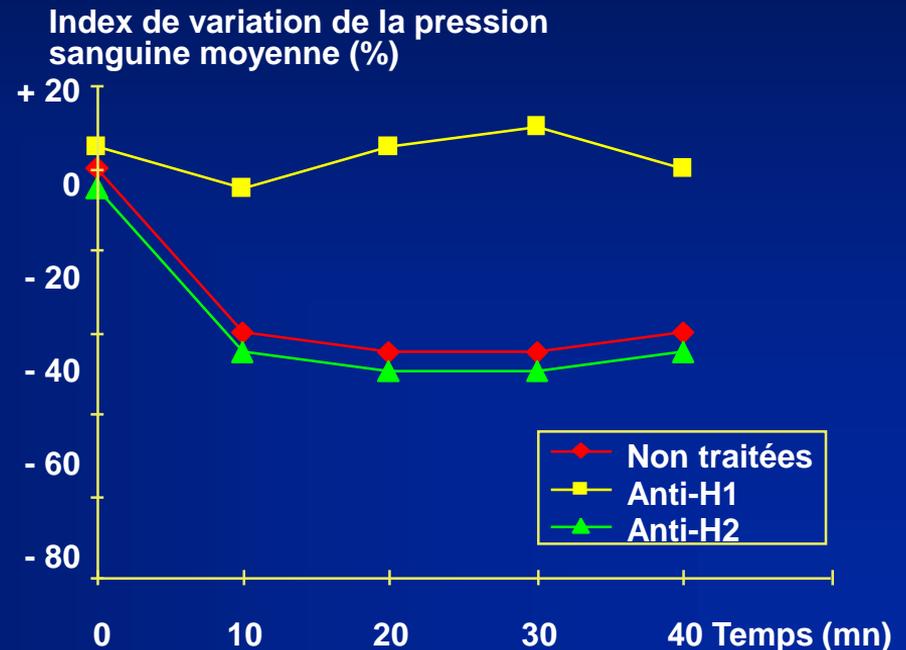
Physiopathologie des réactions anaphylactiques

Rôle central de l'histamine

❖ Choc histaminique expérimental: corrélations entre concentrations plasmatiques d'histamine et gravité (Moss, 1992)

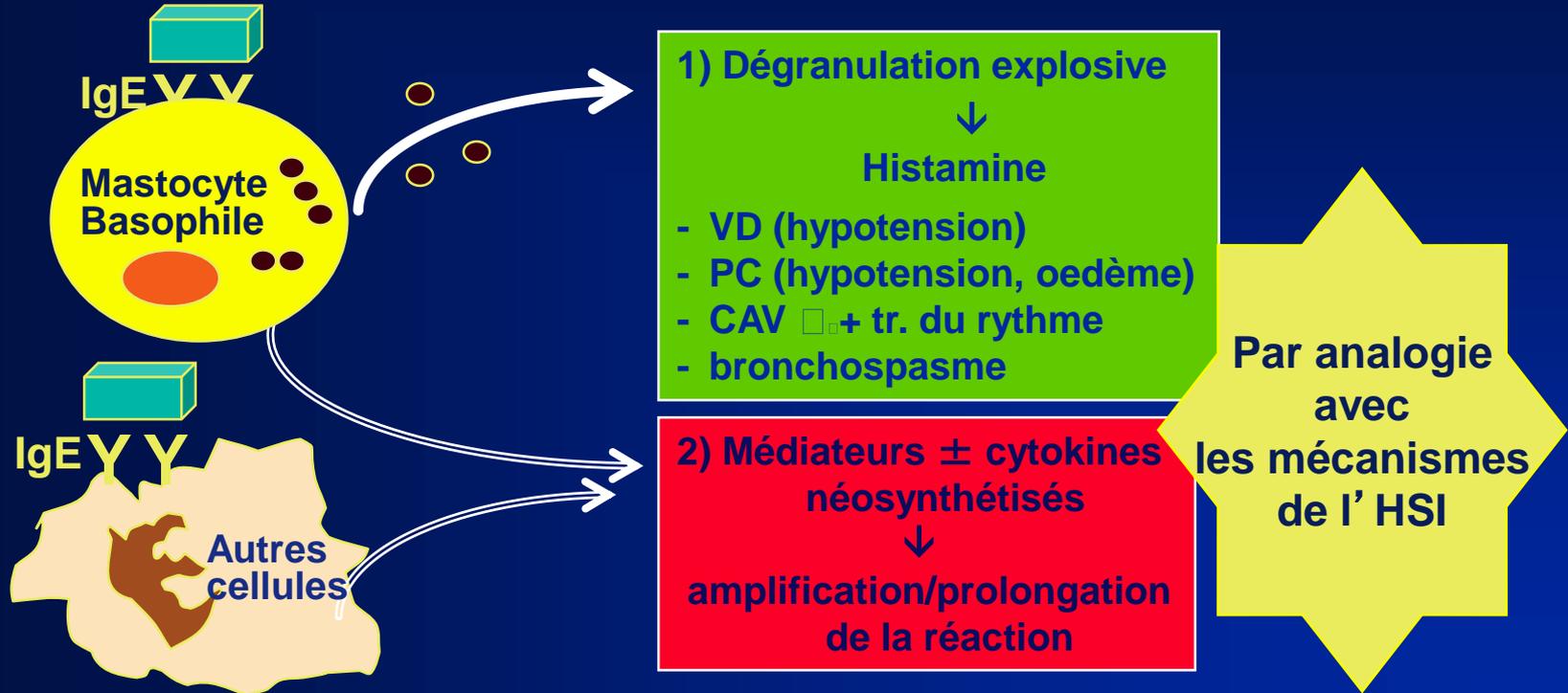
Histamine (ng/ml)	Conséquences biologiques et symptômes
≤ 5	Secrétions gastriques et exocrines, thrombopénie
5-10	VD veinulaire, VC artériolaire Prurit, urticaire ± angiooedème Tachycardie et tachypnée
10-15	Augmentation de la PC Hypotension Angiooedème généralisé (laryngé)
15-50	Dépression myocardique et troubles de conduction AV Bronchospasme, VC pulmonaire
≥ 50	Mort par arrêt cardiaque

❖ Chez la souris allergique, un prétraitement par les anti-H1 inhibe la chute de la pression sanguine induite par l'injection IV d'allergène (Osada, 1994)



Physiopathologie des réactions anaphylactiques

Notions nouvelles : rôle des médiateurs non mastocytaires



Physiopathologie des réactions anaphylactiques

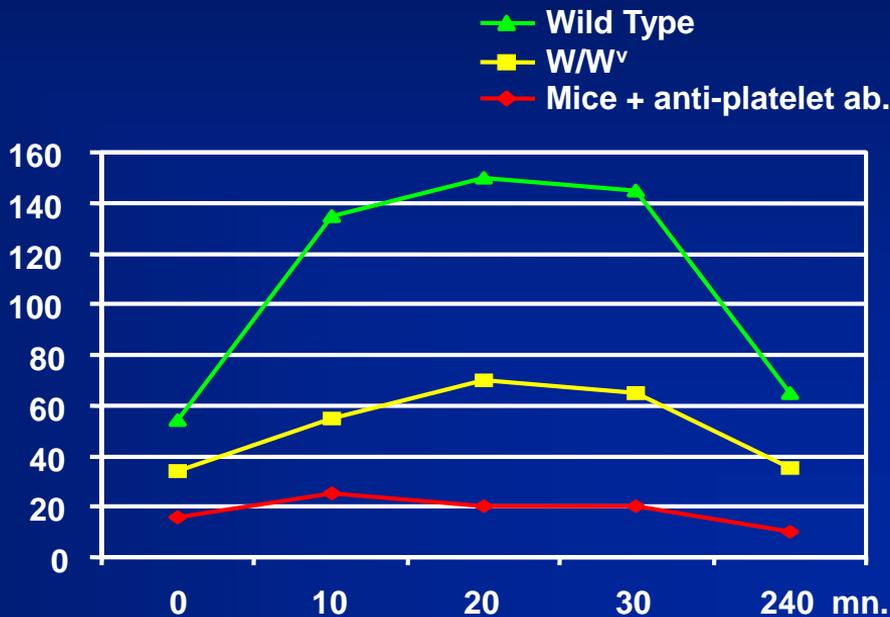
Notions nouvelles (5) : rôle des médiateurs non mastocytaires

PAF antagonist (BN 50739) prevents penicillin-induced Ig-dependent fatal anaphylaxis in +/+ and W/W^v mice (Choi et al, 1998)

Mice	Treatment with BN 50 739	Mortality (%)
+/+	no	6/6 (100 %)
	yes	0/6 (0 %)
W/W ^v	no	6/6 (100 %)
	yes	0/6 (0 %)

- Jönsson F et al. Mouse and human neutrophils, and PAF, induce anaphylaxis. J Clin Invest 2011 ; 121 : 1484-1496.
- Wang M et al. Mouse anaphylactic shock is caused by PAF and histamine. Life Sci 2014; 116: 98-105.

Cara DC et al. Mast cell-independent mechanisms of immediate-type hypersensitivity : a role for platelets (Choi et al, 2004) - Vascular permeability changes in skeletal muscle of allergic mice after challenge (FITC albumin leakage : % ratio Ext/Int)



Physiopathologie des réactions anaphylactiques

Activités biologiques des médiateurs

Médiateurs	Effets sur		
	Vaisseaux	Muscle lisse	Cœur
Histamine	VD et PC ↑	Contraction	Cond. AV ↓ Rythme ↑
PAF	VD et PC ↑	Contraction	Arythmie
PGF2 α	VD et PC ↑	Contraction	
PGD2		Contraction	
TXA2		Contraction	
LTC4, D4, E4	VD et PC ↑	Contraction	Contraction ↓

Physiopathologie des réactions anaphylactiques

Notions nouvelles (6) : rôle des cytokines

Stone et al, 2009. Elevated serum cytokines during human anaphylaxis: identification of potential mediators of acute allergic reactions (dosage des cytokines, à l'arrivée aux urgences, chez les patients présentant des réactions anaphylactiques).

Cytokine (pg/ml)	Témoins	Réaction grave	p
IL-1	0	0	NS
IL-2	0	6.1	< 0.01
IL-3	7.0	7.9	NS
IL-4	0	6.6	< 0.01
IL-5	0	4.3	< 0.01
IL-6	0	49.3	< 0.01
IL-8	48	24.4	NS
IL-9	6.0	9.1	NS
IL-10	0	29.5	< 0.01
IL-13	0	6.0	< 0.01
IFN- γ	0	0	NS
TNF-α	0	4.8	< 0.01
GM-CSF	0	0	NS
Eotaxine	110	57.6	NS

Cytokine (pg/ml)	Réaction modérée	Réaction grave	p
IL-2	4	6.1	NS
IL-4	5.6	6.6	NS
IL-5	5	4.3	NS
IL-6	0	49.3	< 0.01
IL-10	10.6	29.5	< 0.01
IL-13	6.4	6.0	NS
IFN- γ	5.3	0	NS
TNF- α	6.5	4.8	NS

Wait and see !!!

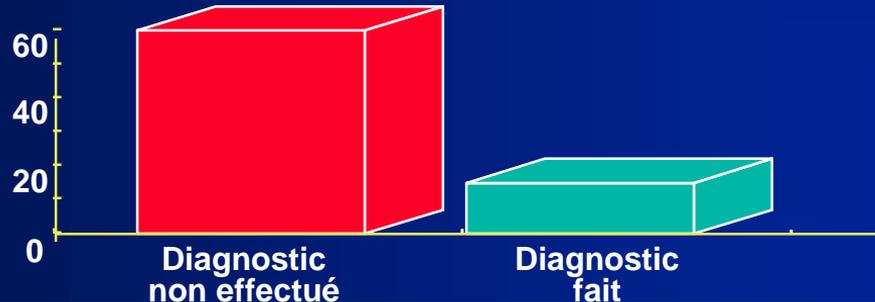
Anaphylaxie : conclusions

(Influence de la rapidité du traitement et du diagnostic étiologique sur le pronostic des réactions anaphylactiques et anaphylactoïdes)

Rapidité du traitement : Sampson et al, 1992 (13 enfants ayant une allergie alimentaire connue, mais ayant présenté une réaction anaphylactique suite à la consommation accidentelle des aliments responsables)

Evolution	%tage	Lieu de survenue			Inj. d'adrénaline (mn après ingestion)
		Ecole	Domicile	Autre	
Fatale	46 %	66 %	16,5 %	16,5 %	95 (extr = 25-180)
Non fatale	54 %		100 %		37 (extr = 10-130)

Incidence du diagnostic étiologique sur la fréquence des récurrences (%)



In memoriam



Démarche diagnostique in vivo et in vitro de l'allergie immédiate (1)

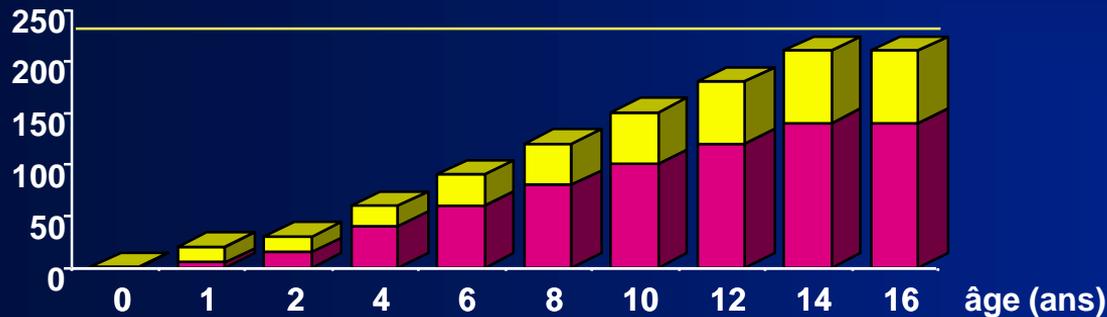
In vivo		In vitro	Objectifs
Antécédents personnels, ex. clinique (DA, rhinite, conjonctivite, asthme, etc.)	IgE (totales) ↓ IgE spécifiques	Dosage des IgE sériques totales (?) Tests multi-allergéniques dépistage	Caractérisation du terrain atopique (tous médecins)
	↓ Cellules ↓ Médiateurs ↓ Réaction		

Diagnostic du terrain atopique (enfant, adolescent et adulte)

Dosage des IgE sériques totales (méthode sandwich)

- ❖ expression des résultats: UI/ml ou KUI/l
- ❖ interprétation des résultats
 - » augmentation physiologique ≤ 10 à 20 UI/ml par année (enfant)
 - » concentration normale de l'adolescent et l'adulte classiquement ≤ 200 à 250 UI/ml *OUI, mais* —»

Concentration des IgE (UI/ml)



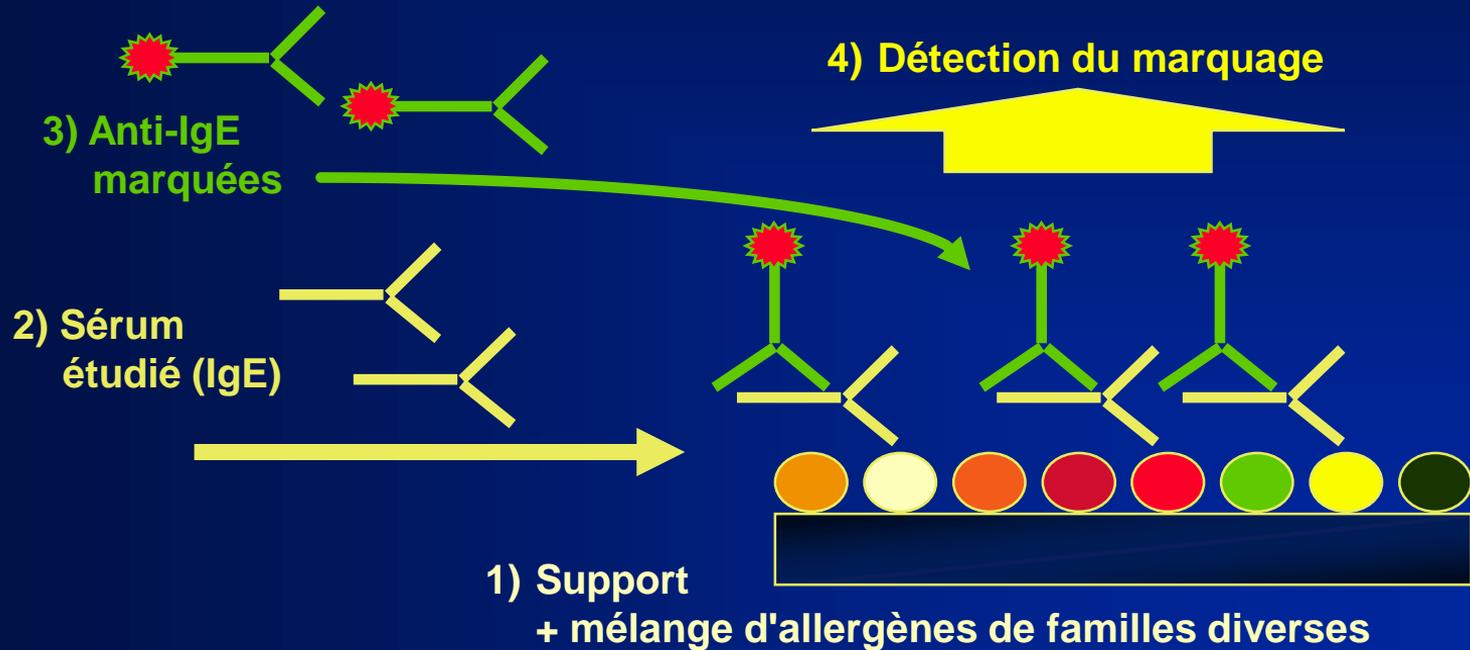
- ❖ valeur diagnostique relative : hyper-IgE-globulinémie
 - » inconstante (mais fréquente dans DA et asthme)
 - » non pathognomonique (parasitoses, viroses, SIDA, etc...)

Martins et al. New childhood and adult reference intervals for total IgE in 1504 healthy subjects. JACI 2014; 133: 589-591

Age	Reference interval (IU/ml)
6-12 Mo	2-34
1-2 yr	2-97
3 yr	2-199
4-6 yr	2-307
7-8 yr	2-403
9-12 yr	2-696
13-15 yr	2-629
16-17 yr	2-537
≥ 18 yr	2-214

Tests in vitro : tests multi-allergéniques de dépistage (type Phadiatop)

Principes



Diagnostic du terrain atopique

Tests multiallergéniques non quantitatifs : corrélations entre Phadiatop, IgE sériques totales et sIgE aéro-allergènes chez l'enfant, selon l'âge (Sigurs et al, 1990)

Enfants	RAST âge	négatifs		positifs	
		< 4 ans	> 4 ans	< 4 ans	> 4 ans
Phadiatop + (%)		0	0	58	91
IgE totales ↗ (%)		34	30	89	88

Dépistage des sensibilisations
alimentaires prédominantes chez le
jeune enfant (RAST Fx5)

Diagnostic du terrain atopique

Tests in vitro : tests multi-allergéniques de dépistage

1) Méfiance: tous les tests ne sont pas identiques selon les laboratoires

Tests et laboratoires	Composition
Phadiatop (Phadia)	Mélange (théoriquement inconnu) d' aéroallergènes
Vidas-Stallertest (Biomérieux)	D.Pter, blatte, chat, chien, dactyle, bouleau, olivier, armoise, pariétaire, alternaria (n = 10)
Alatop (Siemens)	D.Pter, chat, chien, chiendent, phléole, bouleau, cèdre, ambroisie, plantain, pariétaire, penicillium, alternaria (n = 12)

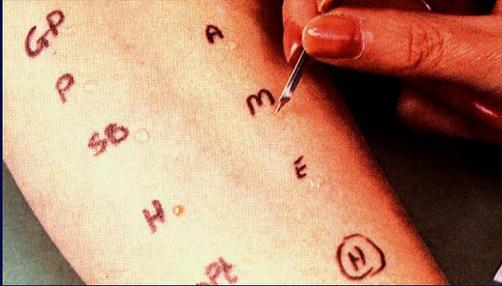
2) Interprétation

- » réponse (en principe) purement qualitative
- » valeur prédictive variable selon les tests et l'âge
- » faux-négatifs :
 - mono-sensibilisation/allergène absent du mélange
 - concentration faible d' IgE spécifiques (« mauvais producteurs »)
- » faux-positifs
 - concentration élevée d' IgE totales

Démarche diagnostique in vivo et in vitro de l'allergie immédiate

<i>In vivo</i>		<i>In vitro</i>	<i>Objectifs</i>
<p>Antécédents personnels, ex. clinique (DA, rhinite, conjonctivite, asthme, etc.)</p>	<p>IgE (totales) ↓ IgE spécifiques</p>	<p>Dosage des IgE sériques totales (?) Tests multi-allergéniques dépistage</p>	<p>Caractérisation du terrain atopique (tous médecins)</p>
<p>Tests cutanés Tests de provocation</p>	<p>↓ Cellules ↓ Médiateurs ↓ Réaction</p>	<p>Tests par famille d'allergènes Tests unitaires Tests multiallergéniques/allergène Test d'activation des basophiles (CD63/CD203c) Tests de libération d'histamine/LTC₄ Dosages dans liquides biologiques (histamine, tryptase, LTs, ECP)</p>	<p>Identification des allergènes (allergologue)</p>

Principe des TC à lecture immédiate: pricks et IDR



Lecture à 15-20 mn : à interpréter en fonction des résultats des témoins négatif (dermographisme ?) et positif (hyporéactivité cutanée ?), et de l'HC.

Valeur diagnostique des prick-tests aux aéro-allergènes courants

Facteurs de variabilité :

- méthodologie des pricks

- allergènes testés (y compris, pour un même extrait, d'un laboratoire ou d'un lot à un autre)
- critères de positivité retenus (influençant la spécificité, la VPP et la VPN)
- site de réalisation des TC (cuir chevelu > dos > avant-bras)

Prick-tests au phosphate de codéine effectués avec divers dispositifs et à plusieurs reprises chez 20 sujets témoins (Masse MS et al. Allergy 2011; 66: 1415-1419)

Méthode	Papule (mm) m (extrêmes)	Variation (%) intra-patient	Variation (%) inter-patients	Sensibilité (%)	Douleur (score)
Aiguille IV	5,4 (4,3-6,3)	16,2	21,3	100	1 (0-2)
Lancette ALK	4,3 (4-4,7)	14,6	13	96	1 (0,8-2,3)
Lancette Stallergènes	4,9 (4,2-5,7)	15	16,4	98	1 (1-3)
Stallerpointe (sans rot.)	1,4 (0,7-2,2)	97,1	79,9	20	2 (1-3)
Stallerpointe (avec rot.)	2,8 (2,6-3,5)	18,1	24,7	57	2,5

Valeur diagnostique des prick-tests aux aéro-allergènes courants

Facteurs de variabilité :

- méthodologie des pricks
- **allergènes testés** (y compris, pour un même extrait, d'un laboratoire ou d'un lot à un autre)
- critères de positivité retenus (influençant la spécificité, la VPP et la VPN)
- site de réalisation des TC (cuir chevelu > dos > avant-bras)

Allergène	Papule	Sensibil.	Spécific.	VPP	VPN	Références
D Pter	≥ 3 mm	90,4 %	95,5 %	98 %	81 %	Pumrihun, As Pac J All Imm 2000
D Far	≥ 3 mm	80 %	82 %			Kanceljak-Macan, Allergy 2002
Chat	≥ 3 mm	69 %	100 %	74 %	95 %	Wood, JACI 1999

Valeur diagnostique des prick-tests aux aéro-allergènes courants

Facteurs de variabilité :

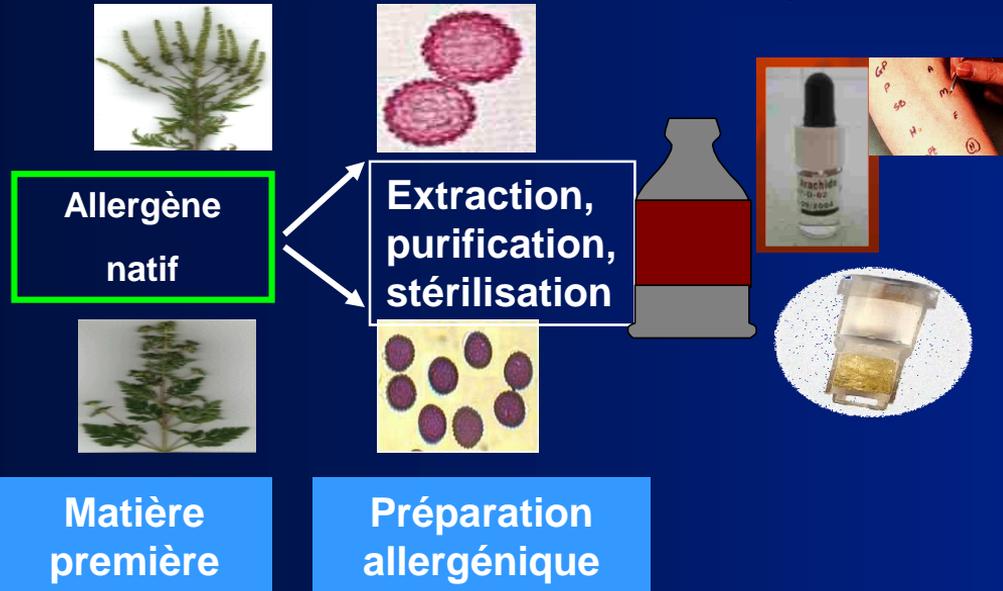
- méthodologie des pricks
- allergènes testés (y compris, pour un même extrait, d'un laboratoire ou d'un lot à un autre)
- critères de positivité retenus (influençant la spécificité, la VPP et la VPN)
- site de réalisation des TC (cuir chevelu > dos > avant-bras)

Allergène	Papule	Sensibil.	Spécific.	VPP	VPN	Références
D Pter	≥ 3 mm	90,4 %	95,5 %	98 %	81 %	Pumrihun, As Pac J All Imm 2000
D Pter	≥ 3 mm	95,2 %	51,7 %	59 %	94 %	Santoso, As Pac J All Imm 2000
Chat	≥ 3 mm	69 %	100 %	74 %	95 %	Wood, JACI 1999
Chat	≥ 3 mm	86 %	90 %	51 %	98 %	Adinoff, JACI 1990

Allergènes et tests diagnostiques de l'allergie immédiate

1) Facteurs de variabilité de la valeur diagnostique des tests d'HSI :

➤ **composition quantitative et qualitative de l'extrait allergénique** : origine du produit et mode de préparation de l'extrait allergénique



Compositions respectives d'extraits de pollen de bouleau provenant de divers laboratoires

Labo n°	Protéines totales (µg/ml)	Bet v 1 (µg/ml)	Bet v 4 (µg/ml)
1	192	20	10
2	314	12	4
3	69	7.5	11
4	23	1.6	7
5	298	19	6

Allergènes et tests diagnostiques de l'allergie immédiate

1) Facteurs de variabilité de la valeur diagnostique des tests d'HSI : composition quantitative et qualitative de l'extrait allergénique (Brunetto et al, Allergy 2010; 65: 184-190)

Analysis of D.pter extract composition				Pricks : mean wheal area (mm ²)/histamine				
Manufacturer	Protein (µg/ml)	Derp 1 (µg/ml)	Group 2 (µg/ml)	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5
1	259 ± 4	36 ± 6	32 ± 8	x 2	x 4	x 3	x 1	x 2,2
2	253 ± 3,4	9,6 ± 2	8,5 ± 1	x 1	x 5	x 4,5	x 0,1	x 2,1
3	64 ± 4	n.a	6 ± 0,01	x 1,2	x 5,2	x 2,5	x 0,5	x 1
4	180 ± 0,5	11 ± 1,5	1,3 ± 0,1	x 0,5	x 2	x 1,5	x 0,05	x 0,25
5	361 ± 6,4	22 ± 1,6	23,4 ± 1	x 0,65	x 3	x 1,8	x 2,1	x 1,8
6	100 ± 9	20 ± 3	0,7 ± 1	x 0,4	x 2	x 0,5	x 1	x 0,8
7	28 ± 6	13 ± 2	2,4 ± 0,7	x 0,7	x 0,7	x 0,0	x 0,7	x 0,45
8	155 ± 6	16 ± 2	2,6 ± 0,3	x 0,8	x 4,8	x 1,2	x 1,4	x 1,5

Valeur diagnostique des prick-tests aux aéro-allergènes courants

Facteurs de variabilité :

- méthodologie des pricks
- allergènes testés (y compris, pour un même extrait, d'un laboratoire ou d'un lot à un autre)
- **critères de positivité retenus** (influençant la spécificité, la sensibilité, la VPP et la VPN) : plus le seuil de positivité des TC est élevé
 - plus la spécificité augmente
 - plus la sensibilité diminue
- site de réalisation des TC (cuir chevelu > dos > avant-bras)

Allergène	Papule	Sensibil.	Spécific.	VPP	VPN	Références
D Far	≥ 3 mm	80 %	82 %			Kanceljak-Macan, Allergy 2002
	≥ 4,5 mm	46,1 %	96,5 %			
	≥ 6,5 mm	22,5 %	99,2 %			

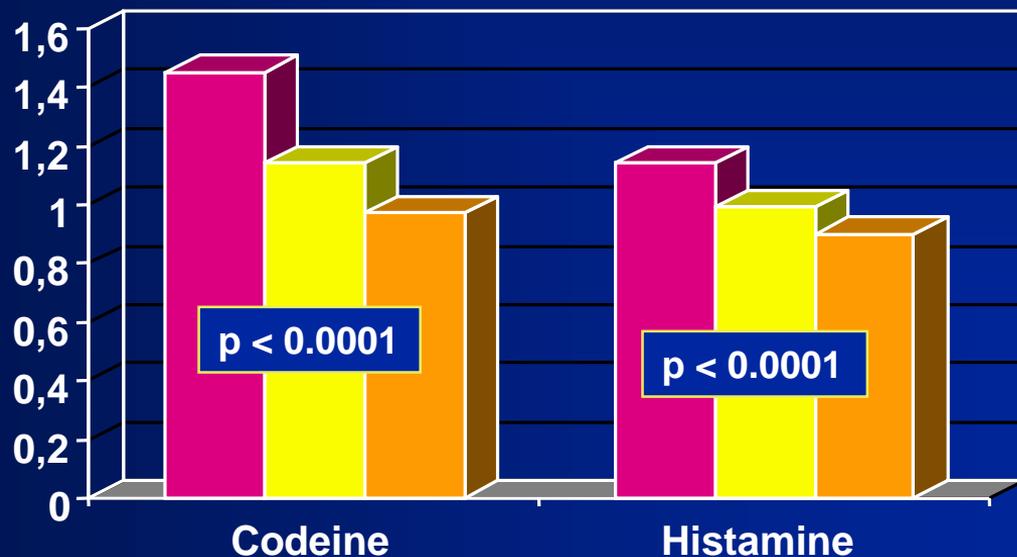
Valeur diagnostique des prick-tests aux aéro-allergènes courants

Facteurs de variabilité :

- méthodologie des pricks
- allergènes testés (y compris, pour un même extrait, d'un laboratoire ou d'un lot à un autre)
- critères de positivité retenus (influençant la spécificité, la VPP et la VPN)
- **site de réalisation des TC** : dos > avant-bras > bras (Scherer et al. Clin Exp Allergy 2007)

Mean wheal
size (cm²)

- Back
- Volar arm
- Upper arm



Valeur prédictive des TC à lecture immédiate

Variabilité selon les allergènes					
Nationalité	Age (ans)	Allergène	Cut-off (mm)	VPP (%)	Références
Australienne	≤ 2	lait	6	100	Hill et al, 2004
		oeuf	5	100	Sporik et al, 2000
		arachide	4	100	

Variabilité selon l'âge					
Nationalité	Age (ans)	Allergène	Cut-off (mm)	VPP (%)	Références
Australienne	≤ 16	lait	8	100	Hill et al, 2004
		oeuf	7	100	Sporik et al, 2000
		arachide	8	100	
Australienne	≤ 2	lait	6	100	Hill et al, 2004
		oeuf	5	100	Sporik et al, 2000
		arachide	4	100	

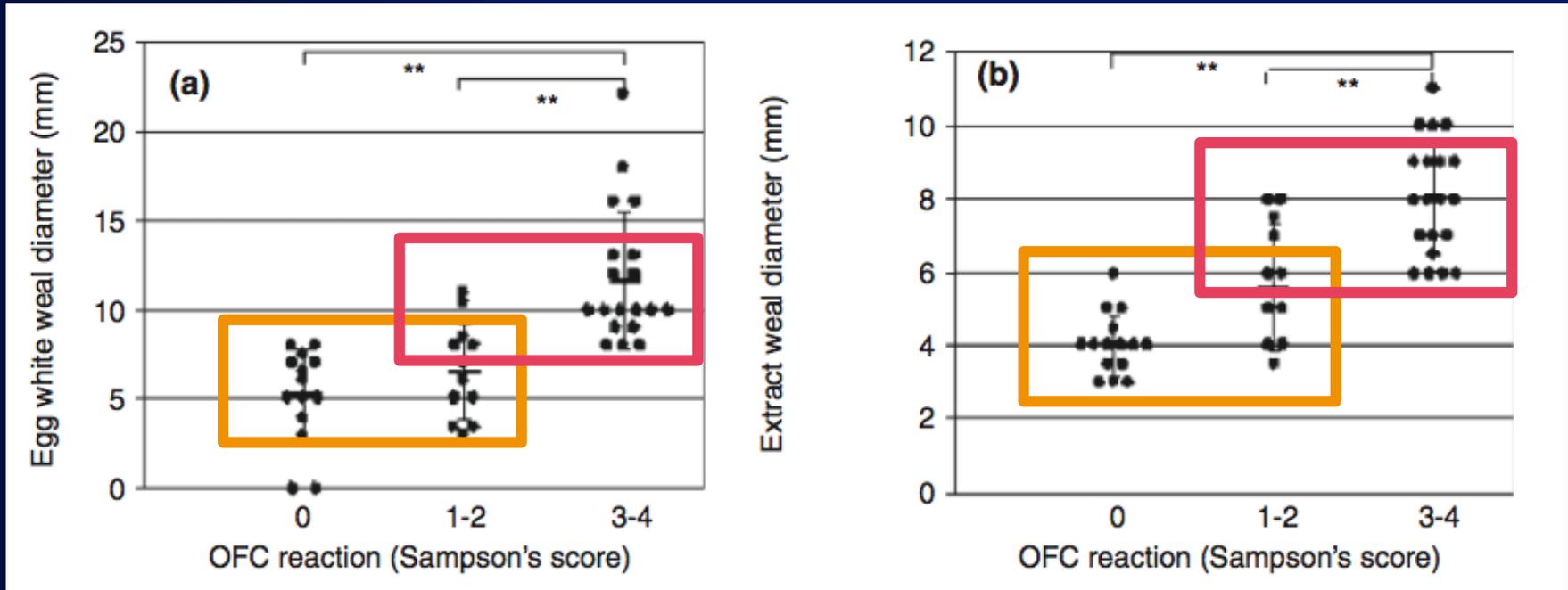
Valeur prédictive des TC à lecture immédiate

Variabilité selon l'origine ethnique					
Nationalité	Age (ans)	Allergène	Cut-off (mm)	VPP (%)	Références
Australienne	≤ 16	oeuf	7	100	Hill et al, 2004
		arachide	8	100	Sporik et al, 2000
Française	≤ 16	arachide	16	100	Rancé et al, 2002

Variabilité selon les pathologies					
Nationalité	Age (ans)	Allergène	Cut-off (mm)	VPP (%)	Références
Australienne (urticaires et anaphylaxies)	≤ 16	lait	8	100	Hill et al, 2004
		oeuf	7	100	Sporik et al, 2000
		arachide	8	100	
Française (DA +++)	≤ 16	arachide	16	100	Rancé et al, 2002
Allemande (DA +++)	≤ 16	lait	17,3	99	Verstege et al, 2006
		oeuf	17,8	99	

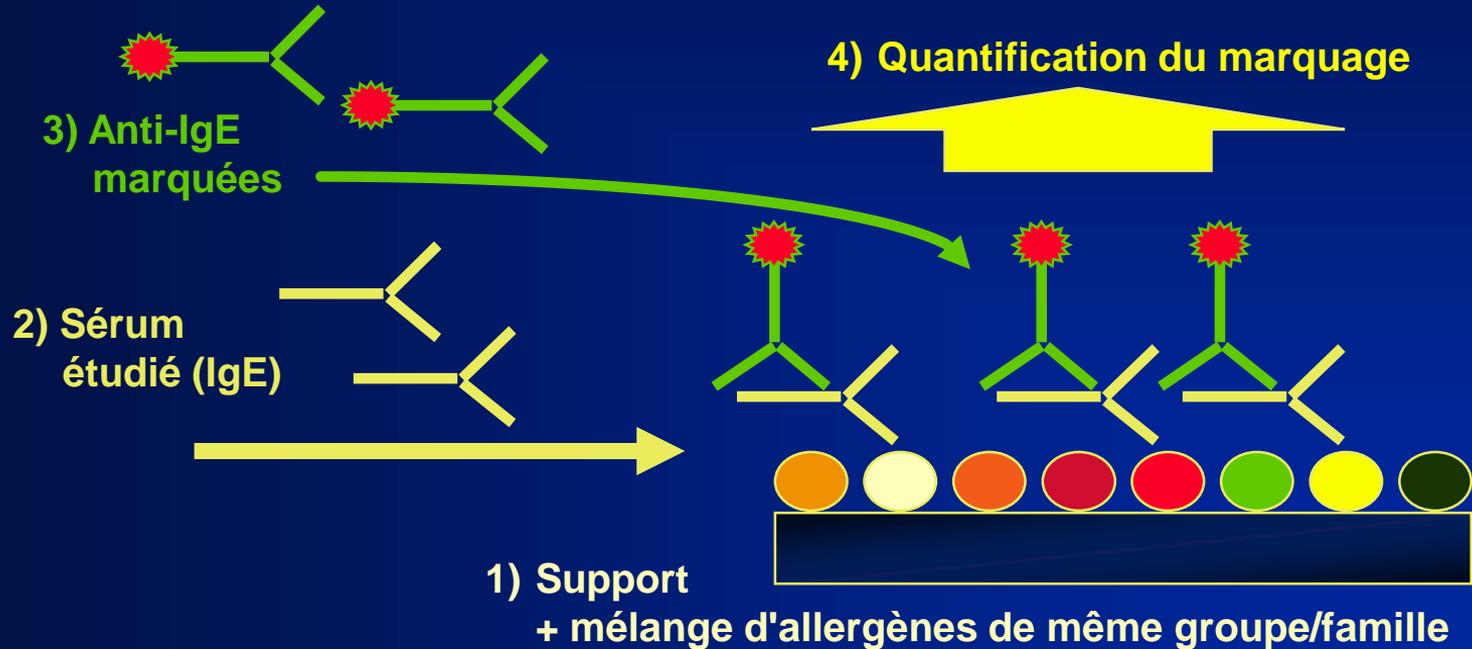
Valeur prédictive des TC à lecture immédiate (gravité des réactions)

Tripodi S et al. Predicting the outcome of oral food challenges with hen's egg through skin test end-point titration. Clin Exp Allergy 2009; 39: 1225-1233.



Tests in vitro : tests d'orientation par groupes d'allergènes

Principes



Diagnostic étiologique

Dosage des IgE sériques : tests d'orientation par groupes d'allergènes

1) Méfiance: les « mêmes » mélanges ne sont pas identiques selon les laboratoires

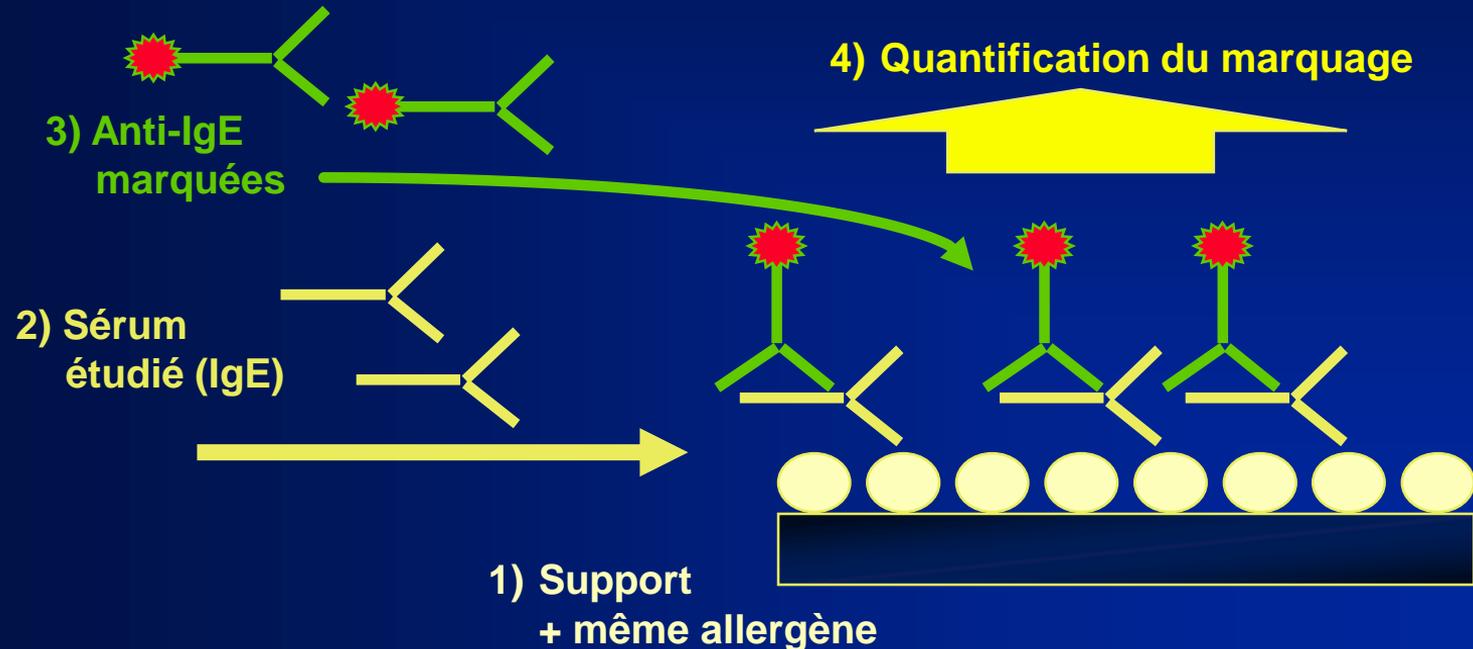
Quelques principaux mélanges de trophallergènes	
Fruits coque (fx1 Phadia, fp1 Siemens)	amande, arachide, noisette, noix Brésil, noix coco
Aliments mer (fx2 Phadia, fp2 Siemens)	crevette, morue, moule, thon, saumon
Graines (fx3 Phadia, fp3 Siemens)	avoine, blé, maïs, sarrasin, sésame
Viandes (fx73 Phadia)	bœuf, porc, poulet
Viandes (fp73 Siemens)	bœuf, mouton, porc, poulet

2) Méfiance: la sensibilité des tests varie suivant les familles/groupes d'allergènes

Tests d'orientation par groupe d'allergènes : sensibilité des tests par groupes d'allergènes/TC concordants avec l'histoire clinique \pm RAST \pm TPO chez les enfants atteints d'allergie alimentaire (auteurs divers)	
Tests par groupes d'allergènes	Sensibilité (%)
Fx5 (aliments de l'enfant)	80 - 90
Fx10 (viandes)	80 - 90
Fx9 (fruits exotiques)	50 - 60
Fx7 (légumes)	40 - 50

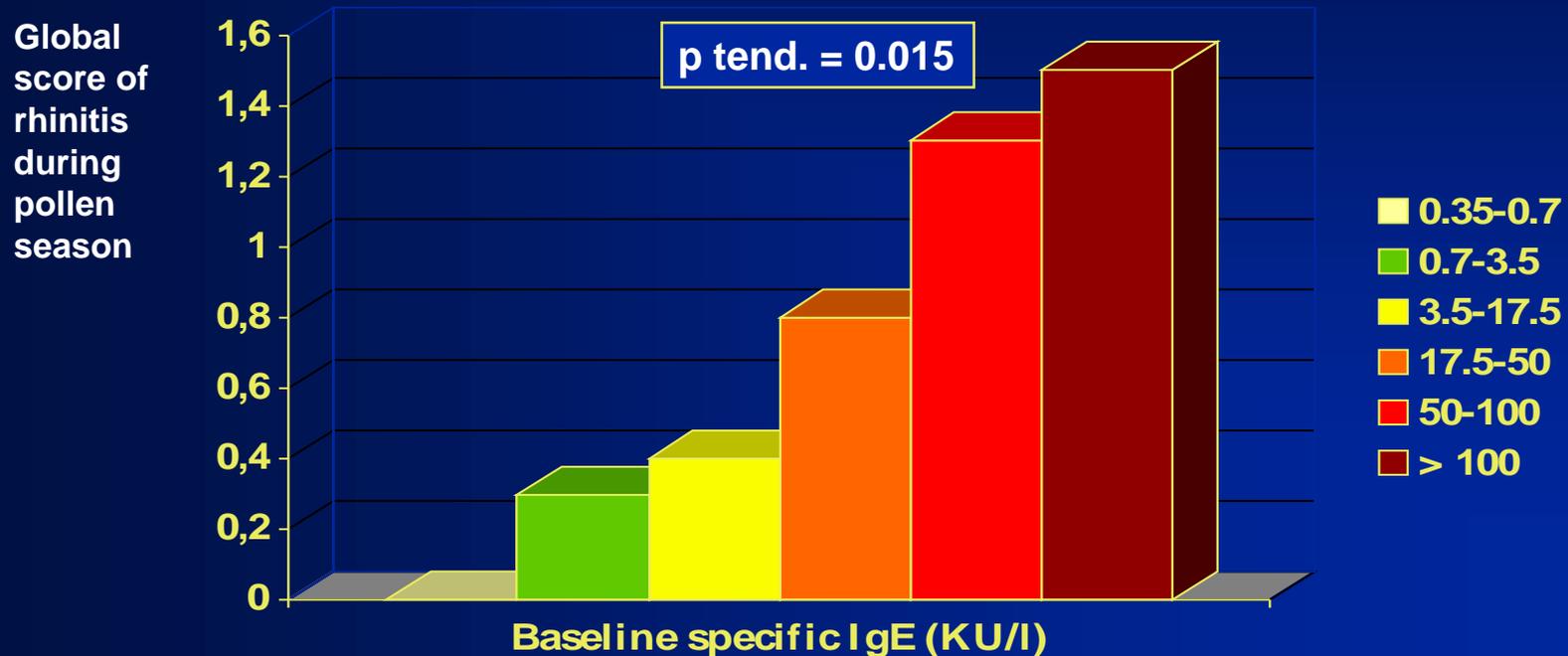
Tests in vitro : tests unitaires

1) Principes



Corrélations gravité de la maladie allergique/concentration des IgE spécifiques

Roilnk-Werninghaus et al. Specific IgE serum concentration is associated with symptom severity in children with seasonal allergic rhinitis. Allergy 2008; 63: 1339-1344



Identification des allergènes : tests divers

(Valeur prédictive des CAP-RAST aux aliments)

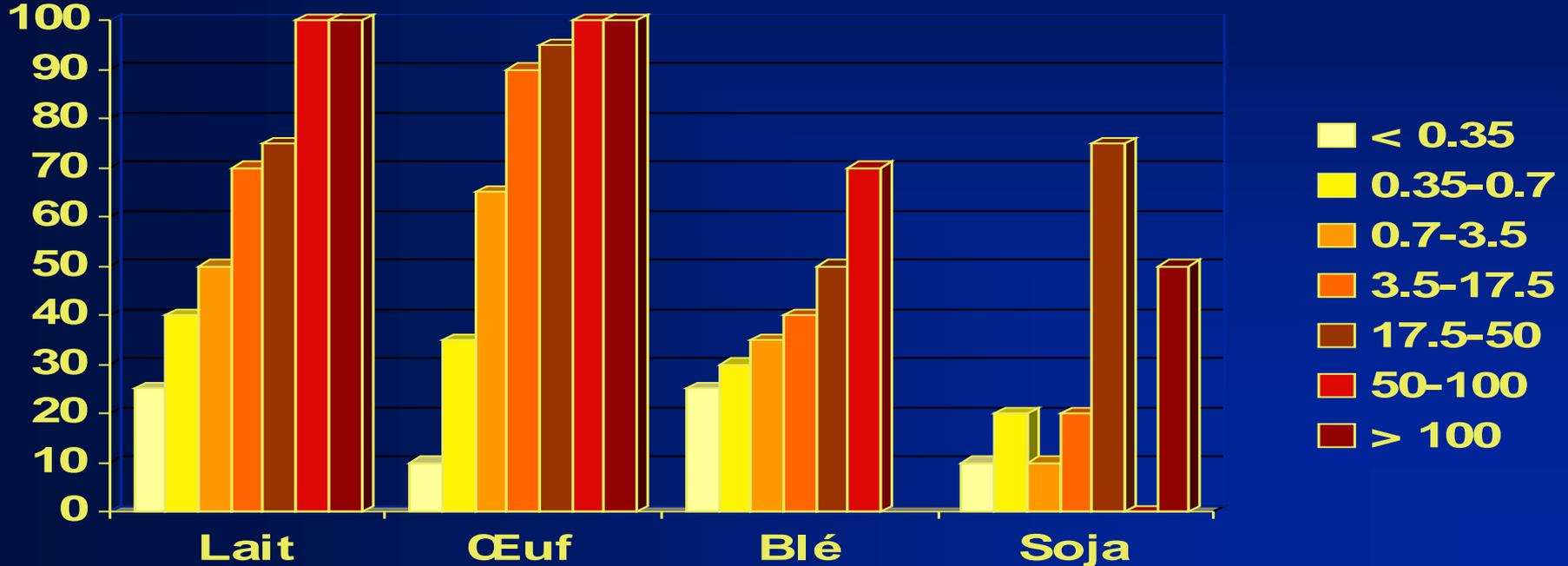
Nationalité	Age (ans)	Allergène	Cut-off (KU/l)	VPP (%)	Références
US	≤ 14	lait	32	95	Sampson et al, 1998
		oeuf	6	95	
		arachide	15	95	
US	≤ 14	lait	15	100	Sampson et al, 2001
		oeuf	7	100	
		arachide	14	100	
Allemande	< 16	oeuf	13—59	95—99	Celik-Bilgili et al, 2005
Allemande	≤ 1	oeuf	11—89	95—99	Celik-Bilgili et al, 2005
Espagnole	≤ 1	lait	5	95	Garcia-Ara et al, 2001
Espagnole	≤ 2	oeuf	0,35	88	Boyano-Martinez et al, 2001
Française	≤ 16	arachide	57	100	Rancé et al, 2002
Coréenne	4—14	Sarrasin	0,35	100	Sohn et al, 2003

Variations selon :

- allergènes
- âges
- origines ethniques
- pathologies

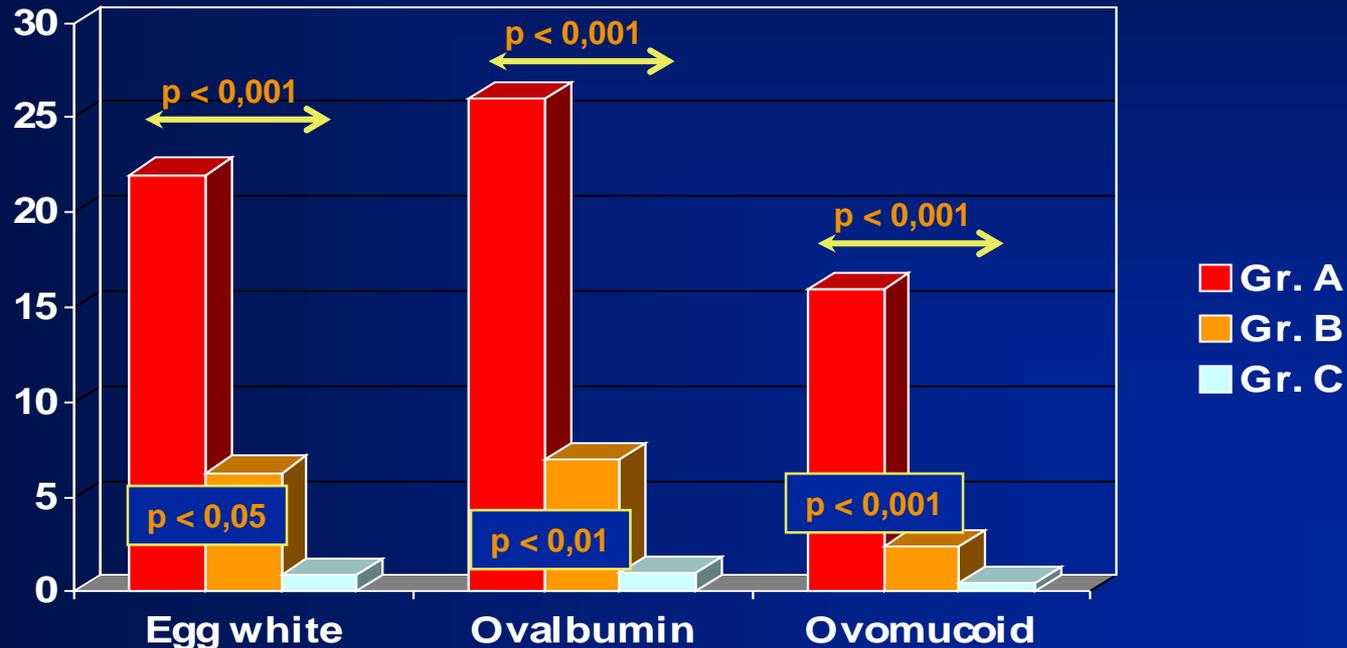
Celik-Bilgili et al. The predictive value of specific immunoglobulin IgE levels in serum for the outcome of oral food challenges. Clin Exp Allergy 2005 ; 35 : 268-273.

Taux de réaction (%) aux TPO alimentaires en fonction des concentrations des IgE sériques spécifiques (KU/l) chez 501 enfants.



Ando H et al. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. J Allergy Clin Immunol 2008 ; 122 : 583-588)

Results of egg-specific IgE determinations (KUA/I) in children allergic to heated and raw egg (gr. A), raw egg only (Gr. B), and in egg-tolerant children (Gr. C).



Hourihane JO' B et al. Does severity of low-dose, double-blind, placebo-controlled food challenges reflect severity of allergic reactions to peanut in the community ? Clin Exp Allergy 2005; 35: 1227-1233.

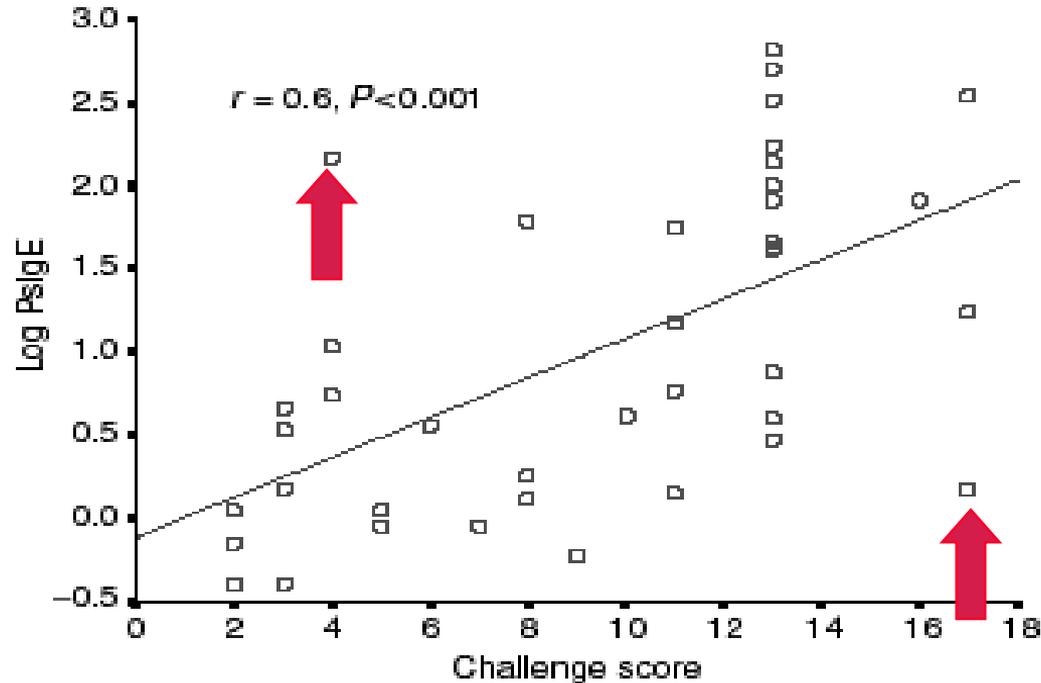
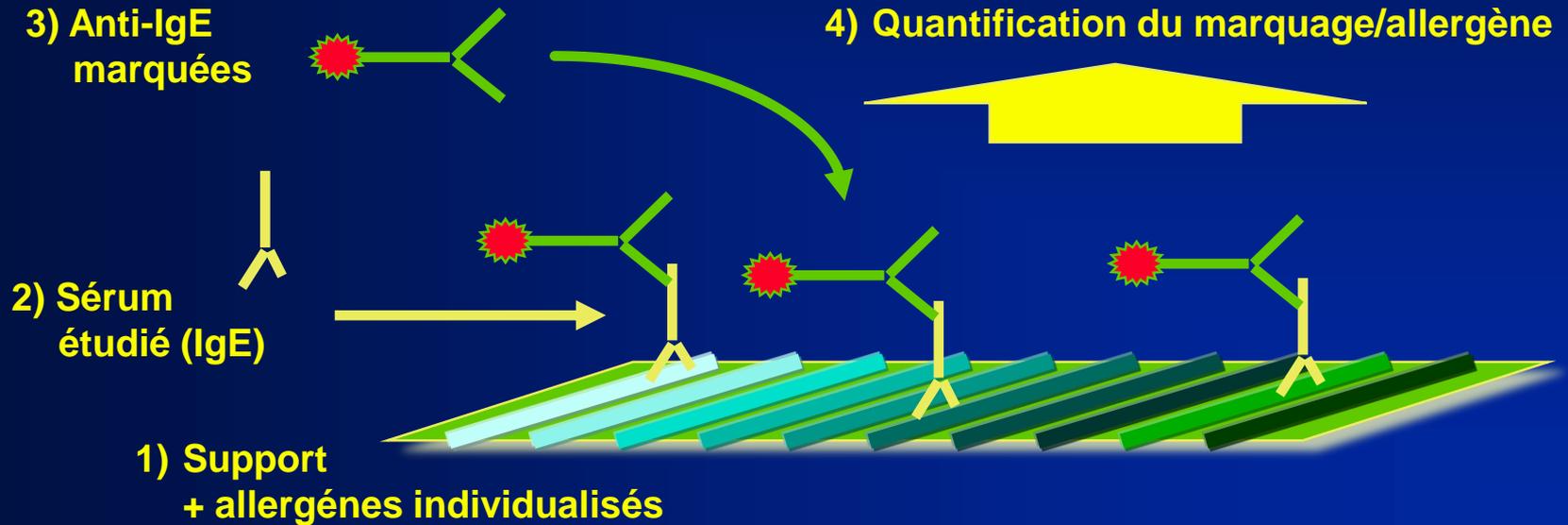


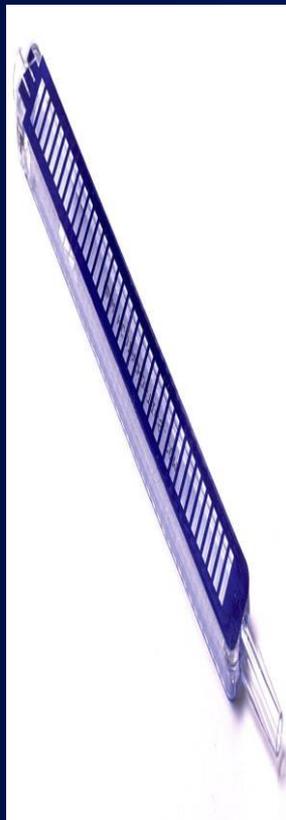
Fig. 2. Correlation of log peanut-specific IgE (PstIgE) and challenge score.

Tests in vitro : tests multiallergéniques à réponse quantitative par allergène

Principe



Tests in vitro : tests multiallergéniques à réponse quantitative par allergène (CLA-Siemens)



CLA-30 Pneumallergènes	CLA-30 Mixtes	CLA-30 Trophallergènes
POLLENS D'ARBRES	ALIMENTS	NOIX - FRUITS EXOTIQUES - SOLANACÉES LÉGUMINEUSES - OMBELIFÈRES
1 Aulne t2	1 Celeri f85	1 Amande f20
2 Hêtre t5	2 Soja f14	2 Noisettes f17
3 Bouleau t3	3 Arachide f13	3 Avocat f96
4 Olivier t9	4 Pois f12	4 Banane f92
5 Chêne t7	5 Avocat f96	5 Agrumes f06, f33, f208
6 Platane t11	6 Porc f26	6 Tomate f25
7 Frêne t15	7 Bilo f8	7 Pomme de terre f35
POLLENS DE GRAMINÉES	8 Crevette f24	8 Pois f12
8 Phléole g6	9 Morue f3	9 Arachide f13
9 Pâturin g8	10 Lait f2	10 Soja f14
10 Dactyle g3	11 Blanc d'oeuf f1	11 Celeri f85
11 Chiendent g2	POLLENS D'ARBRES	VIANDES
12 Blé g15	12 Bouleau t3	12 Bœuf f27
13 Avoine g14	13 Olivier t9	13 Poulet f83
14 Seigle g12	14 Chêne t7	14 Porc f26
POLLENS D'HERBACÉES	15 Platane t11	PRODUITS DE LA MER
15 Plantain w9	POLLENS DE GRAMINÉES	15 Palourde f207
16 Chenopode w10	16 Dactyle g3	16 Crevette f24
17 Parietaire w21	17 Bilo g15	17 Crabe f23
18 Ambrosie w1	18 Phléole g6	18 Morue f3
19 Fausse Ambrosie w4	POLLENS D'HERBACÉES	19 Thon f40
20 Armoise w6	19 Plantain w9	CONDIMENTS
PHANÈRES D'ANIMAUX	20 Ambrosie w1	20 Ail f47
21 Chat e1	21 Parietaire w21	21 Oignon f48
22 Chien e5	22 Armoise w6	FERMENT
23 Cheval e3	PHANÈRES D'ANIMAUX	22 Levure f45
MOISSISSURES	23 Chat e1	FARINES
24 Aspergillus m3	24 Chien e5	23 Sésame f10
25 Alternaria m6	MOISSISSURES	24 Riz f9
26 Candida m6	25 Aspergillus m3	25 Maïs f8
LATEX	26 Alternaria m6	26 Blé f4
27 Latex POURNI f82	LATEX	PRODUITS LAITIERS - ŒUFS
INSECTES	27 Latex POURNI f82	27 Lait f2
28 Blattes f6	INSECTES	28 Caséine f78
ACARIENS	28 Blattes f6	29 Jaune d'oeuf f75
29 D. pteronyssinus d1	ACARIENS	30 Blanc d'oeuf f1
30 D. farinae d2	29 D. pteronyssinus d1	
	30 D. farinae d2	

Identification des allergènes : tests divers

1) Méfiance: sensibilité et spécificité variables selon les allergènes

Tests multiallergéniques à réponse quantitative par allergène : corrélations entre MAST-CLA et TC \pm RAST dans les allergies de l'enfant (Warner et al, 1990)		
Allergènes (TC \pm RAST positifs)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Dermatophagoides pteronyssinus	86	88
Chat	76	76
Pollens d'arbres	64	91
Pollens de graminées	56	95
Moisissures	20-40	86-96
Lait de vache	55	82
Oeuf de poule	53	93

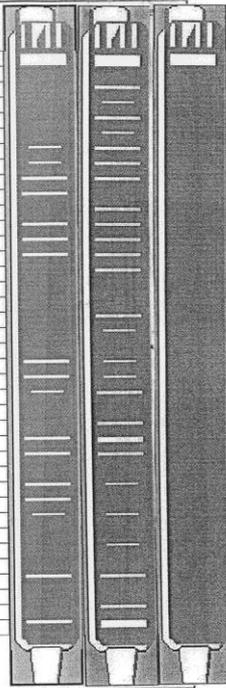
Limites des tests multi-allergéniques à réponse quantitative par allergène (type CLA)

Méfiance (2) : mauvaise reproductibilité

Liste des allergènes		Enregistrement Luminométrique	Unités	Classe
Contrôle positif		300	4	
Contrôle négatif		9	0	
1	Pollens d'arbres	23	0	
2	Aulne (t2)	18	0	
3	Hêtre (t5)	13	0	
4	Bouleau (t3)	17	0	
5	Olivier (t9)	25	=	
6	Chêne (t7)	26	=	
7	Platané (t11)	47	1	
8	Frêne (t15)	34	1	
9	Phléole (g6)	23	0	
10	Paturin (g8)	38	1	
11	Dactyle (g3)	35	1	
12	Chiendent (g2)	34	1	
13	Blé (g15)	20	0	
14	Poll. Avoine (g14)	23	0	
15	Seigle (g12)	23	0	
16	Pollens d'herbacées	23	0	
17	Plantain (w9)	24	0	
18	Chénopode (w10)	22	0	
19	Pariétaire (w21)	31	1	
20	Ambroisie (w1)	33	1	
21	Fausse amброisie (w4)	26	=	
22	Armoise (w6)	24	0	
23	Chat (e1)	42	1	
24	Chien (e5)	36	1	
25	Cheval (e3)			
26	Moisissures	33	1	
27	Aspergillus (m3)	35	1	
28	Alternaria (m6)	25	=	
29	Candida (m5)			
30	Latex	19	0	
	Latex (k82)			
31	Insectes	42	1	
	Blattes (i6)			
32	Acaréens	19	0	
	Pteronyssinus (d1)			
	Farinae (d2)	69	2	

Signature : _____

Concentration IgE spécifiques : Classe 4 Très forte > 242, Classe 3 Forte 143 à 242, Classe 2 Moyenne 66 à 142



(3) : faux-positifs/hyper-IgE-globulinémie

Mt2	1,00
Mt5	2,00
Mt3	2,00
Mt9	4,00
Mt7	4,00
Mt11	3,00
Mt15	4,00
Mg8	4,00
Mg3	4,00
Mg6	4,00
Mg2	4,00
Mw6	2,00
Me5	2,00
Me3	1,00
Md1	2,00
Md2	4,00
Mm6	1,00
Mm3	1,00
Mm5	1,00
Mi6	1,00
Mk82	2,00

725 KU/L

725

725 KU/L

Attention changement des valeurs de référence visant à compter du 23 février 2005

Recherche d'IgE spécifiques vis-à-vis de pneumallergènes (CLA 30)

Les résultats sont exprimés en classe

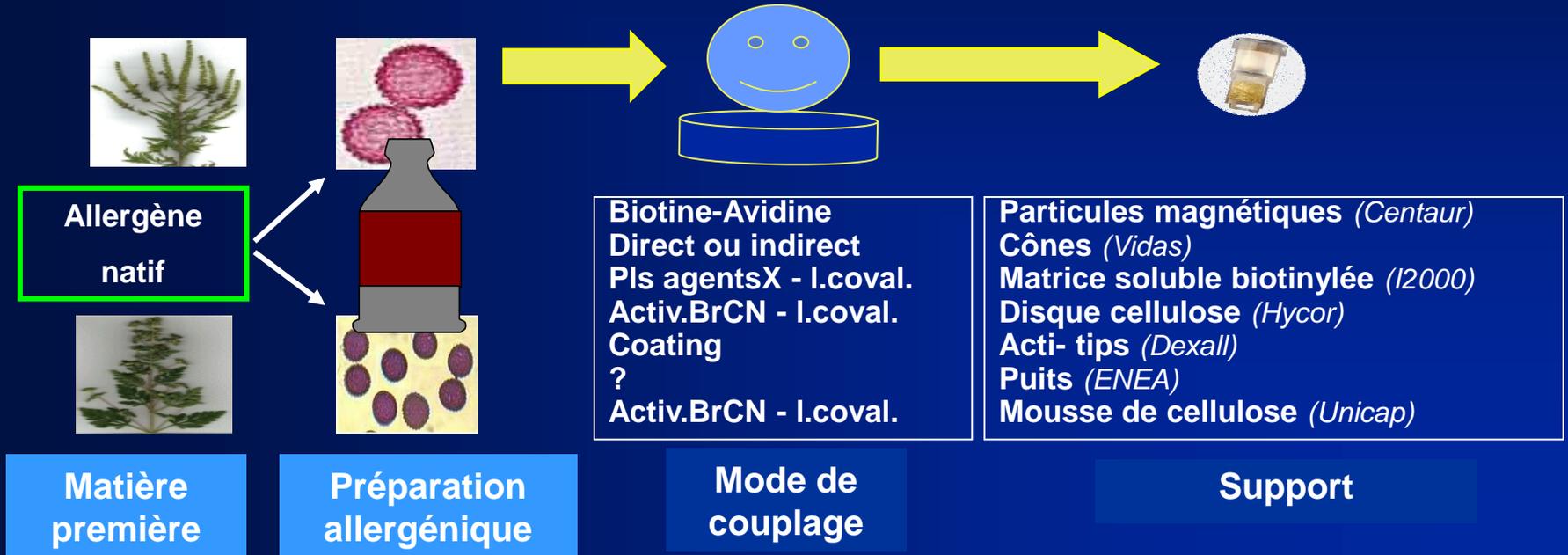
Pollens d'arbres :	1	2	3	4	5
Aulne (t2)	1	2	3	4	5
Bouleau (t3)	1	2	3	4	5
Hêtre (t5)	1	2	3	4	5
Chêne (t7)	1	2	3	4	5
Platané (t11)	1	2	3	4	5
Frêne (t15)	1	2	3	4	5
Pollens de graminées fourragères :	1	2	3	4	5
Paturin (g8)	1	2	3	4	5
Dactyle (g3)	1	2	3	4	5
Chiendent (g2)	1	2	3	4	5
Blé (g15)	1	2	3	4	5
Pollens de graminées céréalières :	1	2	3	4	5
Seigle (g12)	1	2	3	4	5
Pollens d'herbacées et divers :	1	2	3	4	5
Plantain (w9)	1	2	3	4	5
Chénopode (w10)	1	2	3	4	5
Pariétaire (w21)	1	2	3	4	5
Ambroisie (w1)	1	2	3	4	5
Fausse amброisie (w4)	1	2	3	4	5
Armoise (w6)	1	2	3	4	5
Chat (e1)	1	2	3	4	5
Chien (e5)	1	2	3	4	5
Cheval (e3)	1	2	3	4	5
Acaréens :	1	2	3	4	5
Pteronyssinus (d1)	1	2	3	4	5
Farinae (d2)	1	2	3	4	5

Handwritten notes: "Pulvérisation", "I g E totales 7,32 g/l", "???", "N, N", "K184780", "J'ai reçu le CLA 30 de [redacted] relayée et on lui a été très étonné. En effet cette enfant 12 ans est en contact avec ble, chat, chien, acariens et ne présente aucun trouble. La pathologie allergique ne se manifeste qu'en été. Hors ses résultats sont impressionnants. Merci de me confirmer ces données."

Cabinet d'Oto-Rhino-Laryngologie et Chirurgie Cervico-Faciale

Facteurs de variabilité de la valeur diagnostique selon les tests (in vitro)

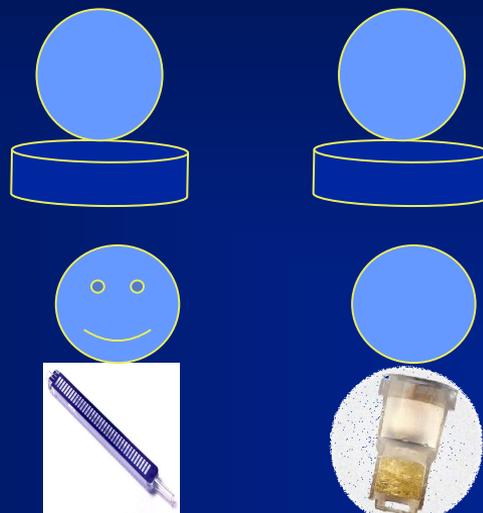
- origine de la source allergénique
- méthode de préparation de l'extrait allergénique
- technique de couplage de l'extrait allergénique et nature du support



Facteurs de variabilité de la valeur diagnostique selon les tests (in vitro)

Résultats attendus des dosages d'IgE sériques spécifiques

Compte-rendu d'analyse BMD CLA 30	
LCL RIA - PC CLA1	
Pipette MixteLa	
N° Dossier : 8253600105 Nom Patient : BLADT CATHERINE Service : Mesuré le : 14/03/2007 à 14:45	
Liste des allergènes	Enregistrement Lumimetric Unités Classe
Contrôle positif	300 4
Contrôle négatif	4 0
1. Aliments	
Céleri (f05)	8 0
Soja (f14)	30 =
Arachide (f13)	18 0
Pois (f12)	3 0
Avocat (f06)	6 0
Porc (f26)	6 0
Bœuf (f4)	10 0
Crevette (f24)	5 0
Chuisson (f3)	13 0
Lait (f2)	11 0
Blanc d'oeuf (f1)	15 0
12. Pollens d'arbres	
Bouleau (f3)	14 0
Chêne (f7)	18 0
Platan (f11)	14 0
15. Pollens de graminées	
Dactyle (g0)	21 0
Béta (g15)	25 =
18. Pollens d'herbacées	
Phlépèle (g6)	27 =
Plantain (g09)	21 0
Ambrosie (w1)	20 0
Parhilaire (v21)	18 0
Armoise (v05)	11 0
23. Phandres d'animaux	
Chat (e11)	8 0
Chien (e5)	34 1
25. Moisissures	
Aspergillus (m3)	21 0
Alternaria (m6)	38 1
27. Latex	11 0
28. Insectes	4 0
Blattes (f6)	4 0
29. Acariens	8 0
D. pteronyssinus (d11)	8 0
D. farinae (d2)	163 3
Signature :	
Concentration	Unités
IgE spécifiques	Lumens
Classe 4 Très forte	> 242
Classe 3 Forte	143 à 242
Classe 2 Modérée	66 à 142
Classe 1 Faible	31 à 65
Classe = Douceuse	25 à 30
Classe 0 Non détectable	< 25



Avec la même technique :
résultats identiques

Avec des techniques
différentes : résultats
(probablement) différents

Technique CAP Phadia
- D1 < 0.10 KU/L (classe 0)
- D2 < 0,10 KU/L (classe 0)

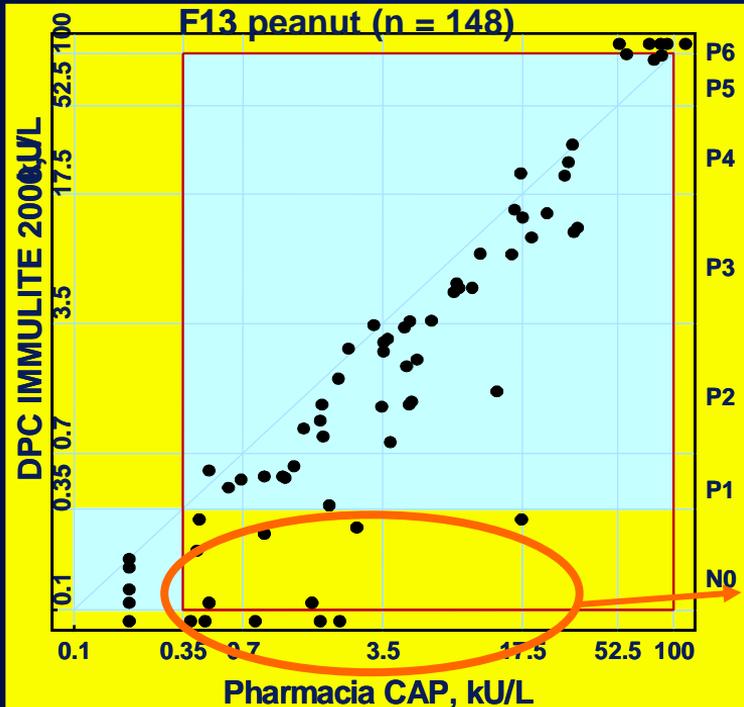
Allergènes et tests diagnostiques de l'allergie immédiate

Problèmes liés aux IgE anti-CCD (cross-reactive carbohydrate determinants) :

- CCDs = sucres couplés aux protéines (glycoprotéines) et/ou libres abondants dans
 - » la majorité des substances d'origine végétale (pollens, aliments, latex)
 - » les venins d'hyménoptères
- IgE anti-CCDs détectées in vitro (RAST-Con.A ou broméline) chez
 - » 50-70 % des sujets sensibilisés aux pollens et 20-30 % des allergiques aux pollens
 - » 16-50 % des patients allergiques aux fruits et légumes
 - » 56-79 % des patients allergiques aux venins d'hyménoptères
- IgE anti-CCDs
 - » rarement détectées in vivo (TC)
 - » non/peu activatrices in vitro des basophiles/mastocytes
 - » sans pertinence clinique dans la majorité des cas
- **IgE anti-CCDs responsables de nombreux résultats faussement positifs in vitro**

Allergènes et tests diagnostiques de l'allergie immédiate

3) Problèmes liés aux CCD (cross-reactive carbohydrates determinants) : variabilité selon la méthode de dosage des IgE (exemple : CAP/DPC-Immunitite) arachide



ID nb	CAP F13	DPC F13	CAP bromelain	Inhibition of F13 by bromelain	Conclusion CAP F13	ST peanut	Clinical history
1	17,3	0,31	6,9	yes	false +	neg	pollinosis
2	2,58	0,29	< 0,35	no	true + ??	ND	AD
3	2,12	< 0,1	< 0,35	yes	false +	neg	FA to pea, OC peanut negative
4	1,69	< 0,1	< 0,35	yes	false +	±	FA to egg & fish, peanut unknown
5	1,54	0,11	0,82	yes	false +	ND	unknown
6	0,89	0,26	< 0,35	no	true +	ND	severe AD, peanut unknown
7	0,8	< 0,1	< 0,35	no	true + ?	?	pollinosis

Conclusion : most CAP +/DPC - discrepancies result from reactions with CCD in the CAP system leading to false positive results

Immunogénétique des allergènes

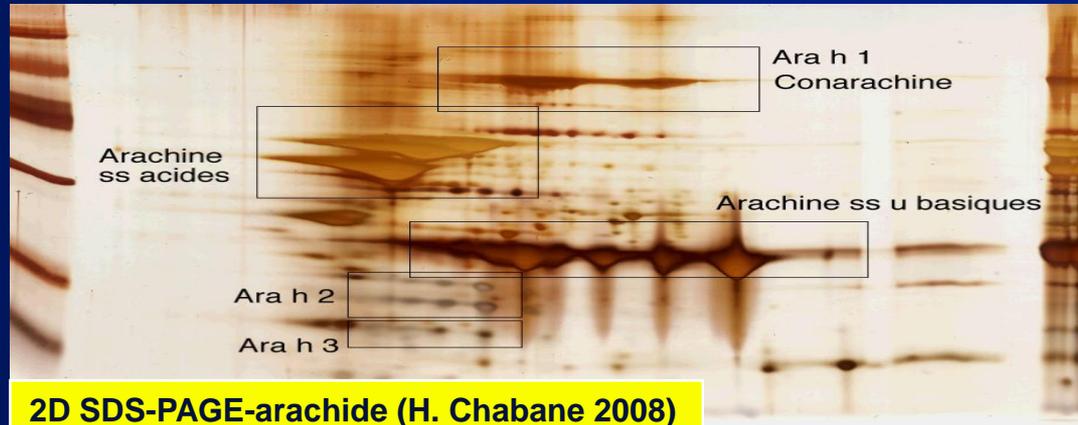
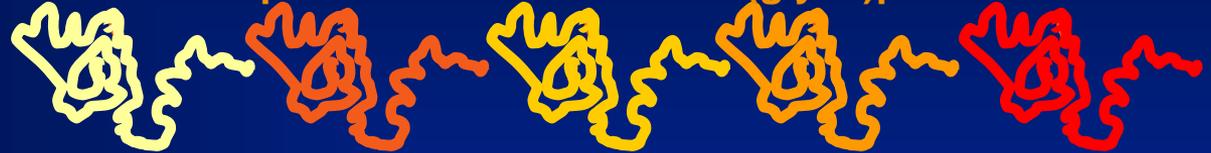
« Allergène »
classique de
l'allergologue



Gènes



« Soupe » de très nombreuses (glyco)protéines



2D SDS-PAGE-arachide (H. Chabane 2008)

Immunogénétique des allergènes

« Allergène »
classique de
l'allergologue

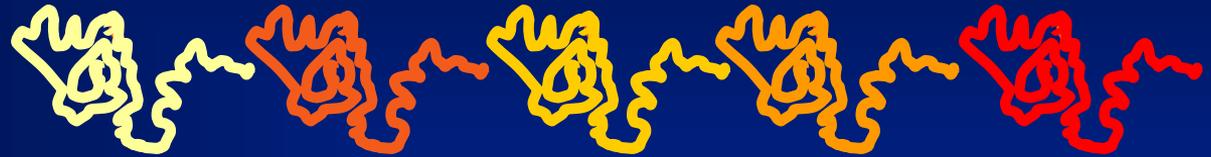


(Glyco)protéines
non allergéniques

Allergènes
mineurs

Allergènes
majeurs

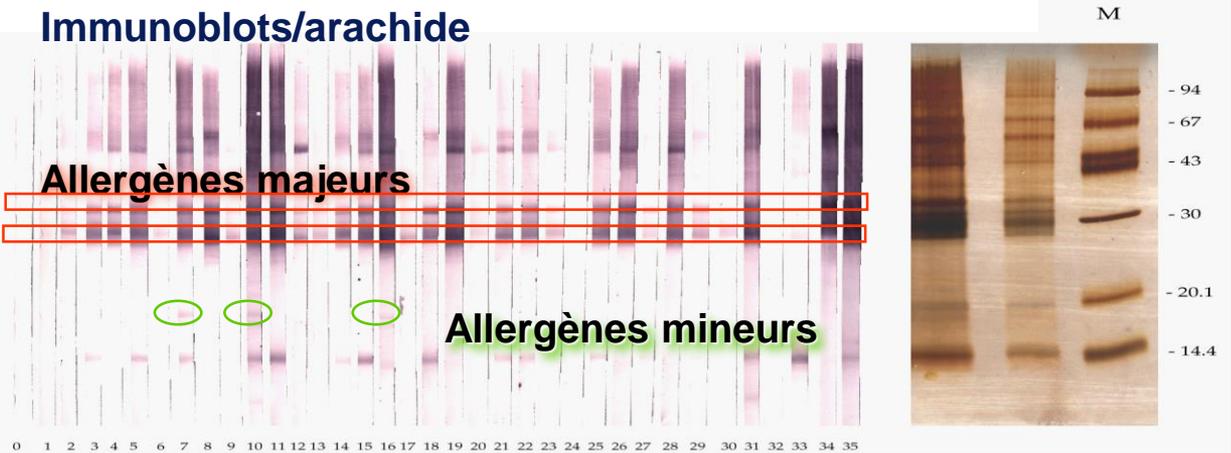
Allergènes
majeurs



Immunoblots/arachide

Allergènes majeurs

Allergènes mineurs

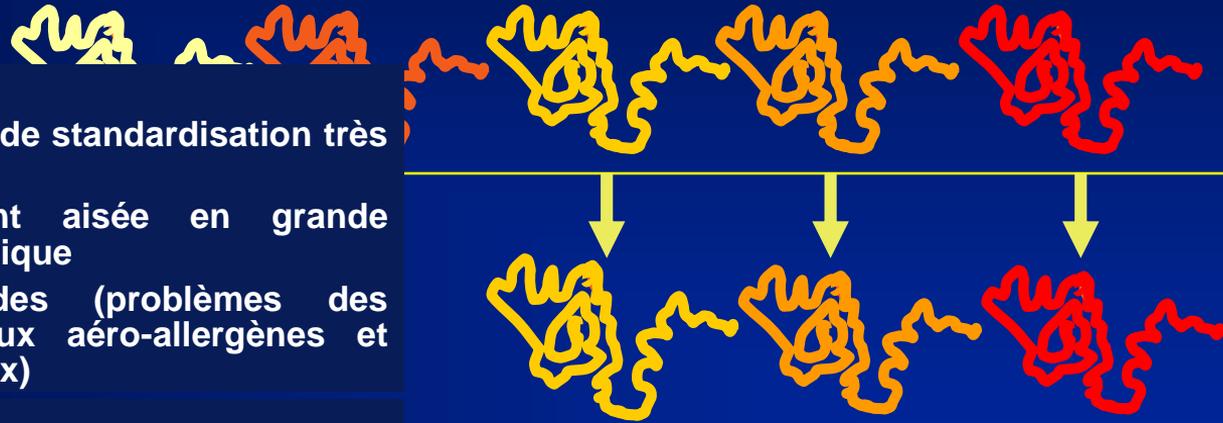


Immunogénétique des allergènes

« Allergène »
classique de
l'allergologue

(Glyco)protéines
non allergéniques

Allergènes
mineurs majeurs



❖ Avantages :

- » degré de purification et de standardisation très élevé
- » fabrication relativement aisée en grande quantité par génie génétique
- » dépourvus de glucides (problèmes des CCD/sensibilisations aux aéro-allergènes et trophallergènes végétaux)

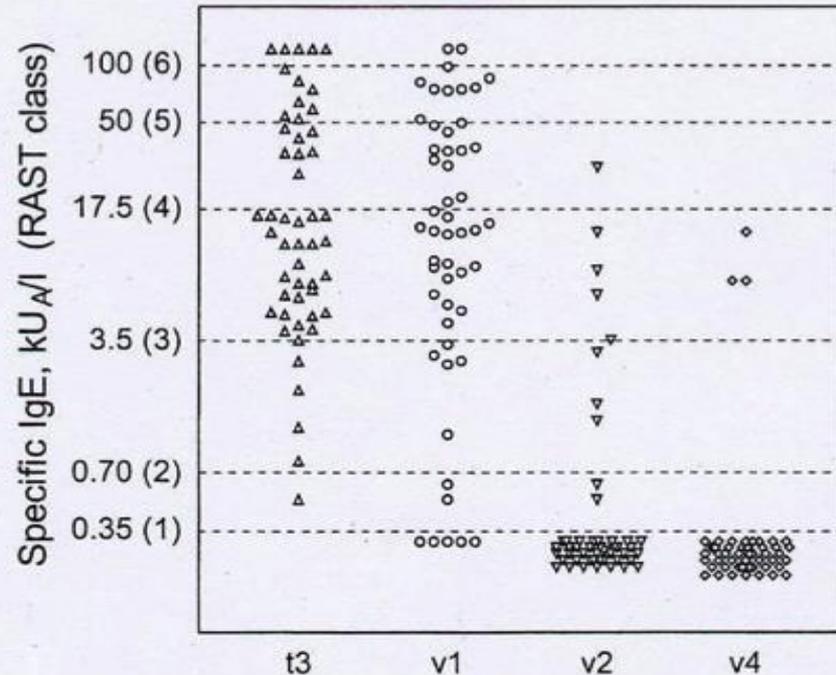
❖ Limites :

- » méthodologiques : préparation, support et fixation sur support, etc.
- » une seule isoforme/un seul variant

Allergènes moléculaires (majeurs)
purifiés ou recombinants

Identification des allergènes majeurs et mineurs (ex : pollen de bouleau)

• Bet v 1*	Protéine PR-10	17 kDa
• Bet v 2*	Profiline	15 kDa
• Bet v 3	Polcalcine	24 kDa
• Bet v 4*	Polcalcine	8 kDa
• Bet v 6*	Isoflavone réductase	35 kDa
• Bet v 7	Cyclophiline	18 kDa
• Bet v 8	Pectine estérase	65 kDa



R. Movérare *et al.* Int Arch Allergy Immunol, 2002;128:325-35

Classification des principaux allergènes moléculaires végétaux par familles biochimiques

Familles	Arbres	Autres pollens	Aliments	Symptômes dominants
PR10 (thermo-sensibles)	Bet v 1, Cor a 1		Pru p 1, Mal d 1, Cor a 1, Ara h 8, Gly m 4, Api g 1	Généralement locaux et/ou peu graves
Profilines	Bet v 2, Cor a 2, Ole e 2	Amb a 8, Gpe 12,	Pru p 4, Mal d 4, Cor a 2, Ara h 5, Api g 4	Généralement peu graves
Polcalcines	Bet v 4, Ole e 3	Amb a 9, Gpe 7		Généralement peu graves
Albumines			Cor a 14, Ara h 2	Généralement graves
Globulines			Ara h1, Ara h 3	Généralement graves
LTP (thermo-résistantes)		Amb a 6, Ole e 7, etc.	Pru p 3, Mal d 3, Ara h 9, Api g 2	Réactions systémiques graves

Homologies (plus ou moins) importantes entre molécules de même famille

—» sensibilisations croisées non pathogènes

—» sensibilisations croisées pathogènes (allergies croisées)

Classification des principaux allergènes moléculaires animaux par familles biochimiques

Familles	Phanères	Acariens	Insectes	Aliments	Symptômes dominants
Tropomyosine		Der p et f 10	Bla g 7	Met a 1, Pen a 1, Hel as 1	Variables
Profilines		Der p et f 18			Variables
Cystine-protéases		Der p et f 1			Variables
Groupe 2		Der p et f 2			Variables
Albumines	Fel d 2, Can f 3			Bos d 6	Variables
Lipocalines	Can f 1 et 2				Variables
Met a 1 et Pen a 1 = crevette Hel as 1 = escargot					

Homologies (plus ou moins) importantes entre molécules de même famille

—» *sensibilisations croisées non pathogènes*

—» *sensibilisations croisées pathogènes (allergies croisées)*

Intérêt des allergènes (majeurs) recombinants

1) Amélioration des extraits utilisés pour le diagnostic

Sicherer SH et al. The Phadia hazelnut ImmunoCAP (f17) supplemented with rCor a 1 : increased sensitivity in hazelnut-allergic patients, JACI 2008 ; 122 : 413-4.

➤ **Patients** : 55 enfants allergiques à la noisette (HC évocatrice ou TP positif)

➤ **Méthodes** : ImmunoCAP noisette / noisette + rCor a 1

➤ **Résultats** : 

ImmunoCAP	Taux moyen IgE sp.	Sensibilité
Noisette	8,6 KU/l	85 %
Noisette + rCor a 1	22,2 KU/l	100 %

➤ **Observations (inconvenients)** : The Phadia hazelnut ImmunoCAP (f17) supplemented with rCor a 1 : increased sensitivity in hazelnut-allergic patients, ... but decreased specificity in birch-allergic patients without clinical evidence of hazelnut allergy, due to cross-reactivity between Cor a 1 and Bet v 1.

Intérêt des allergènes (majeurs) recombinants

2) Diagnostic des sensibilisations pathogènes vs non pathogènes

❖ Kanny G et al, JACI 2008 (abst).

➤ Sujets :

- 94 patients allergiques à l'arachide (TPO positif)
- 40 atopiques allergiques aux pollens de graminées et de bouleau, mais tolérant l'arachide
- 50 témoins non atopiques

➤ Dosages des IgE sériques spécifiques (CAP Phadia): arachide (F13), rAra h 1, r Ara h 2, r Ara h 3, r Ara h 8

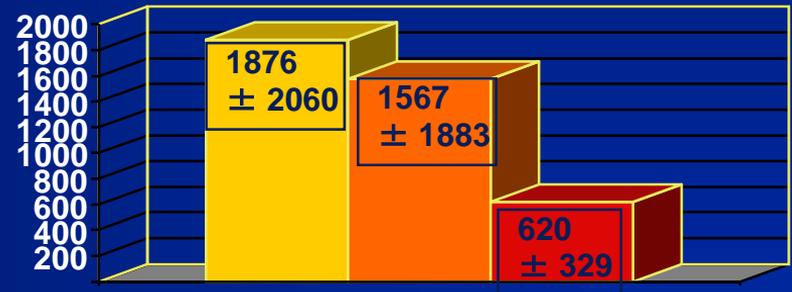
➤ Results 1 : diagnostic value of RASTs (% positive in peanut-allergic patients, pollen-allergic patients, and non atopic control subjects)

IgE > 0,10 KU/l	Controls	Pollen-allergic	Peanut allergic
Peanut (F13)	2 %	57 %	100 %
Ara h 1	0 %	5 %	79 %
Ara h 2	0 %	2.5 %	99 %
Ara h 3	0 %	7.5 %	66 %
Ara h 8	0 %	80 %	47 %

—» high sensitivity and specificity of Ara h 2 > Ara h 1 >> Ara h 3

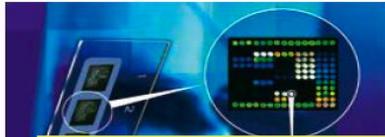
Results 2 : reactogenic dose in oral challenge (mg)

- Monosensitized to Ara h 2
- Cosensitized to Ara h 2 + Ara h 1
- Cosensitized to Ara h 2+ Ara h 1 + Ara h 3



—» high predictive value of lower severity of peanut allergy in patients monosensitized to Ara h 2

Caractéristiques générales du test ISAC



- fondé sur le principe du diagnostic résolu par analyse des composants (molécules) allergéniques d'une source naturelle (Component resolved diagnosis)
- microplaque de 112 aéroallergènes et trophallergènes moléculaires purifiés ou recombinants
- choisis en tant qu'allergènes majeurs ou pan-allergènes dont l'intérêt par leurs corrélations cliniques a fait l'objet de travaux antérieurs.

ISAC: limitations techniques

1. Melioli. Clin Biochem 2011 (étude 321 allergies respiratoires):
 - détection impossible des concentrations d'IgE spécifiques < 1 kU/L.
2. Quantité d'allergène par puits : quelques picogrammes (peu de molécules allergéniques)
 - détection impossible des concentrations élevées d'IgE spécifiques (effet plateau)
 - pas de suivi de l'évolution des concentrations des IgE spécifiques dans le temps
3. Pas de corrélations entre les concentrations ISU (ISAC) et kU/l (ImmunoCap)
4. Etude de 10 allergènes (Cabrera-Freitag et al. J Investig Allergol Clin Immunol 2011; 21:420-21)
 - reproductibilité intra-essai (8 tests): coef^t = 15%
 - reproductibilité inter-essai (12 tests): de 20% à 40%
5. Certains allergènes probablement inutiles (ex: Jug r 2, vicilline-like de la noix, sans relevance clinique) et certains manquants.



3d) Apport des tests de type ISAC ?

Salcedo G, Siaz-Perales A. Component-resolved diagnosis of allergy : more is better ? Clin Exp Allergy 2010 ; 40 : 836-838.

The real question in relation to the benefit of microarrays is whether or not « more is better ? ». In other words, **is it actually necessary to test a high number of purified allergens from very different allergenic sources to reach an accurate diagnosis of most patients ?**

- (1) besides the substantial cost for each sera analysed, **is the information provided from a microarray with around 100 molecular markers useful and easy to interpret by most physicians ?**
- (2) it is clear that large microarrays can be very helpful in epidemiological and basic research studies looking for correlations between specific IgE profiles and clinical manifestation of allergic diseases. In contrast, **clinical practice probably requires a limited set of well-validated sensitization markers that can facilitate the diagnosis and predict potential cross-reactivities and clinical symptoms.**
- (3) thus, a careful selection of the allergens included based on their diagnostic value and not on their availability is needed. **The validation of this new diagnostic tool will need the collaboration of basic researchers, clinical groups and industrial partners.**

Progrès souhaités : biopuces spécifiques de sources

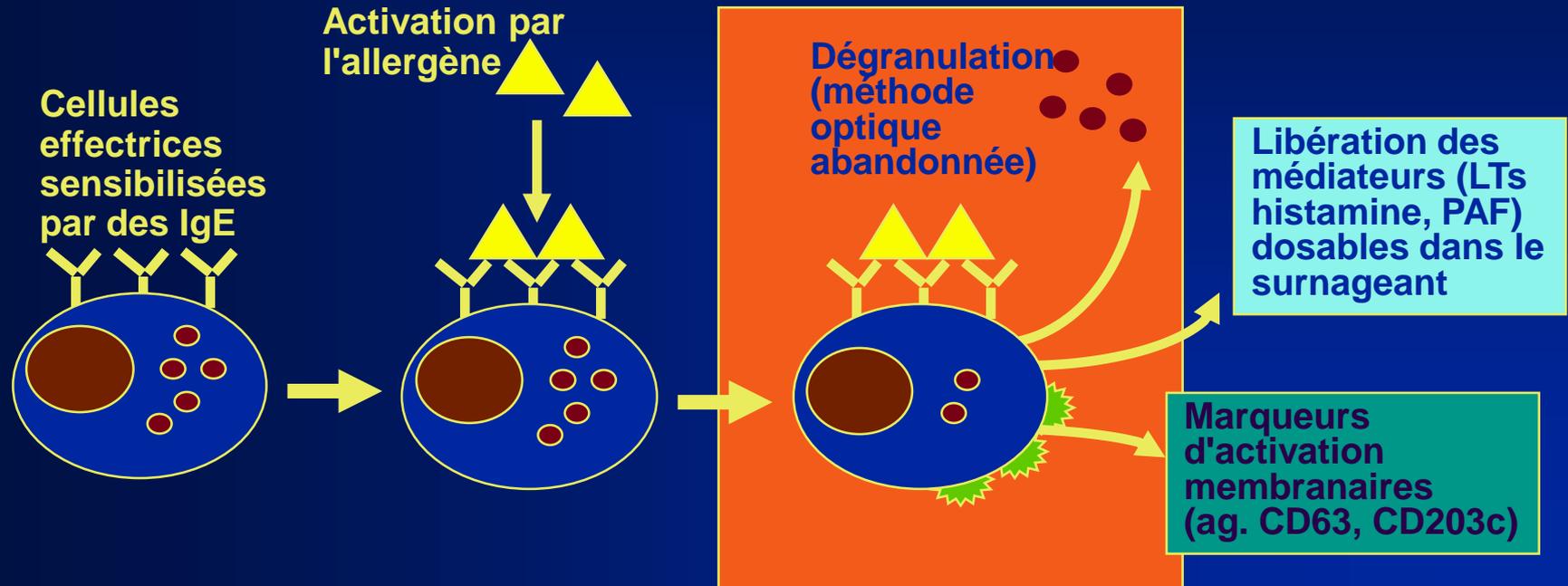
Biopuce pour allergènes de poissons d'eau douce

- parvalbumine
- un collagène de type 1
- fructose biphosphate aldolase
- enolase-3
- une tropomyosine

Tilapia: *Liu et al, Clin Exp Allergy 2013; Kuehn et al, Allergy 2013*

Tests in vitro : tests d'activation cellulaire

Principes



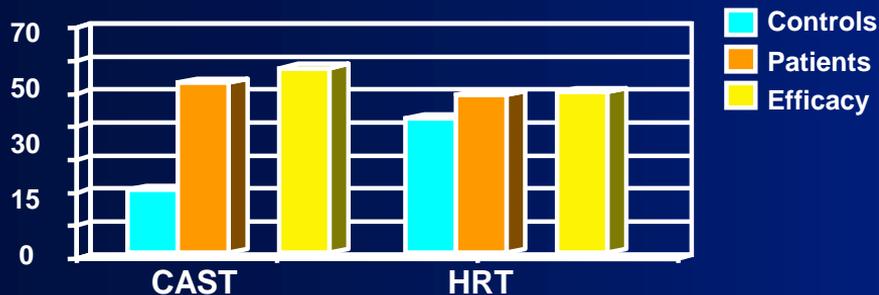
Immediate-type HS to drugs and biological substances

Cellular activation tests

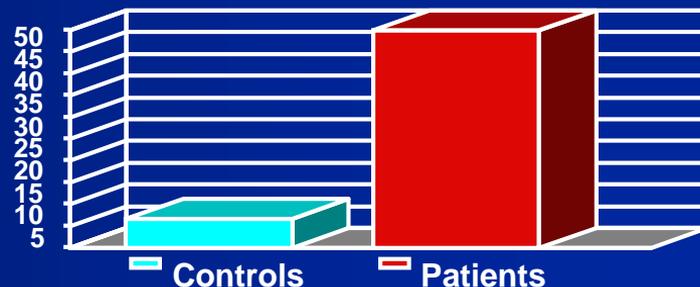
» Cellular activation tests (HRT, CAST and BAT)

- available (theoretically) for all (soluble) allergens but
- methodological problems (equipped and trained laboratories)
- blood consuming (several ml/allergen)
- need to be performed extemporaneously
- expensive and not refunded by medical insurances
- highly variable diagnostic value/substances, tests and laboratories
- negatvation rate > negatvation rate of skin tests

❖ %tage of positive CAST & HRT in betalactam allergy (Lebel et al, 2001)



❖ %tage of positive BAT/CD63 in betalactam allergy (Sanz et al, 2002).



Gamboa PM et al. Basophil activation and sulfidoleukotriene production in patients with immediate allergy to betalactam antibiotics and negative skin tests. J Invest Allergol Clin Immunol 2004; 14: 278-283.

Low diagnostic value —» limited indications

❖ Subjects :

- Patients : 23 penicillin-allergic patients with **negative ST** and **positive OC**.
- Controls : 30 subjects with negative ST and OC.

❖ Methods : specific IgE determination, CAST and flowcytometry BAT.

❖ Results :

Tests	IgE	CAST	BAT	IgE + CAST + BAT
Sensitivity	21,7 %	22,7 %	39,1 %	60,9 %
Specificity	86,7 %	83,3 %	93,3 %	88 %

❖ Comments :

- good specificity (88 %)
- good sensitivity —» sparing 2/3 of potentially harmful OC

Valeur diagnostique des tests in vitro d' HSI

Type de tests	Sensibilité (vrais positifs)	Spécificité (vrais négatifs)
Tests par familles d' allergènes	30-90 %	≥ 90 %
Tests unitaires	≥ 90 %	≥ 90 %
Tests multiallergéniques à réponse quantitative par allergène	30-90 %	50-90 %
Tests d' activation cellulaire	≤ 60 %	50-90 %

(**) JO du 28/11/03: « les tests multiallergéniques à réponse quantitative par allergène permettent d' identifier les IgE spécifiques et ne doivent en aucun cas être utilisés comme tests de dépistage ».

Tests in vivo : tests de provocation

- | **Principe** : introduction de l'allergène suspect dans l'organisme (éventuellement après éviction)
- | **Voies d'introduction & applications principales**
 - » per os (aliments, médicaments, additifs)
 - » oculaire (conjonctivites) 
 - » nasale (rhinites, asthmes sévères)
 - » bronchique (asthmes modérés)
 - » épicutanée (dermites de contact)
- | **Limites**
 - » sévérité de la maladie allergique
 - » caractère anaphylactogène de certains allergènes



Traitement de l'allergie immédiate

I Mesures non spécifiques

- » mesures d'hygiène (tabagisme et asthme, antiseptie/émollients de la peau et DA, etc.)
- » médicaments anti-allergiques/anti-inflammatoires/immunosuppresseurs

I Mesures spécifiques

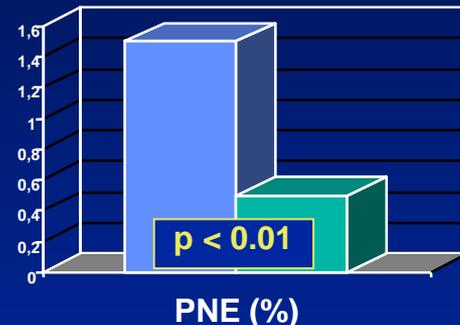
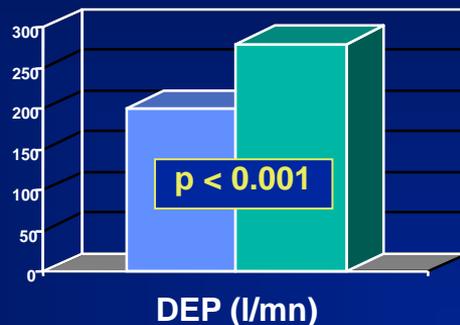
- » éviction des allergènes (si possible)
- » Immunothérapie allergénique (DS)

Maladies allergiques: influence des mesures thérapeutiques non spécifiques

1) Renzetti G et al. Less air pollution leads to rapid reduction of airway inflammation and improved airway function in asthmatic children. *Pediatrics* 2009; 123: 1051-1058

➤ **Patients:** 37 enfants atteints d'asthme allergique persistant vivant en région fortement polluée et emmenés pendant 7 jours dans une région non polluée

➤ **Résultats:** ■ J0 ■ J7



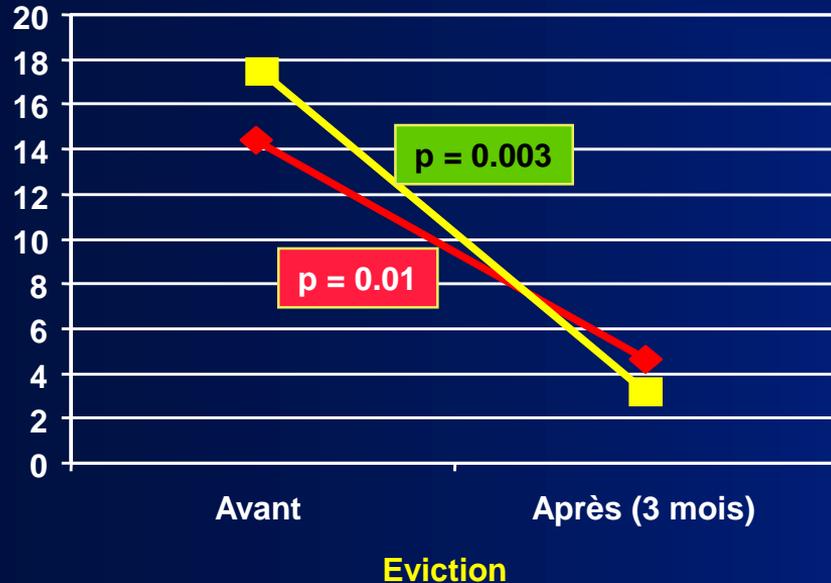
2) Pauwels RA et al. Early intervention with budesonide in mild persistent asthma : a randomized, double-blind trial. *Lancet* 2003; 361: 1071-1076.

Groupe et conséquences	Placebo	Budésonide	p ≤
Traitements d'appoint	45 %	31 %	0,0001
Asthme aigu sévère	5,58 %	3,25 %	0,0001

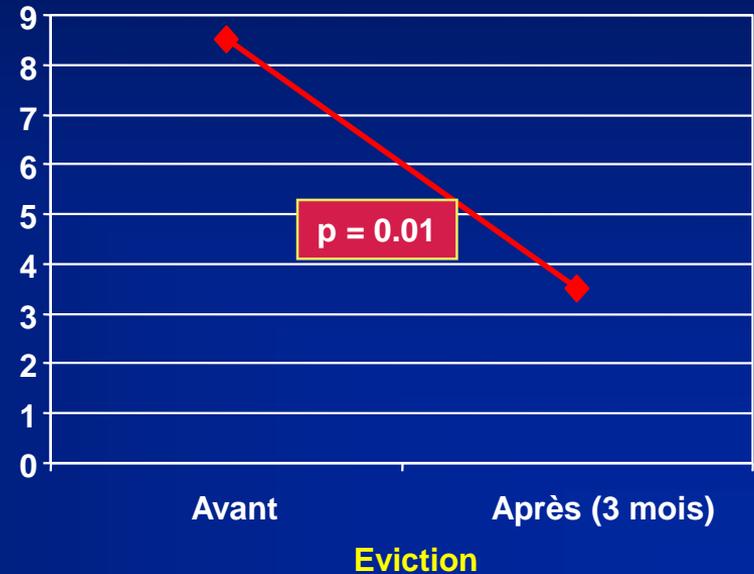
Etude randomisée en DACP sur 7241 patients suivis pendant 3 ans

Maladies allergiques: influence des mesures d'éviction spécifiques (Bodini A et al. Exhaled breath condensate eicosanoids and sputum eosinophils in asthmatic allergic children: influence of natural avoidance of HDM. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15: 26-41.)

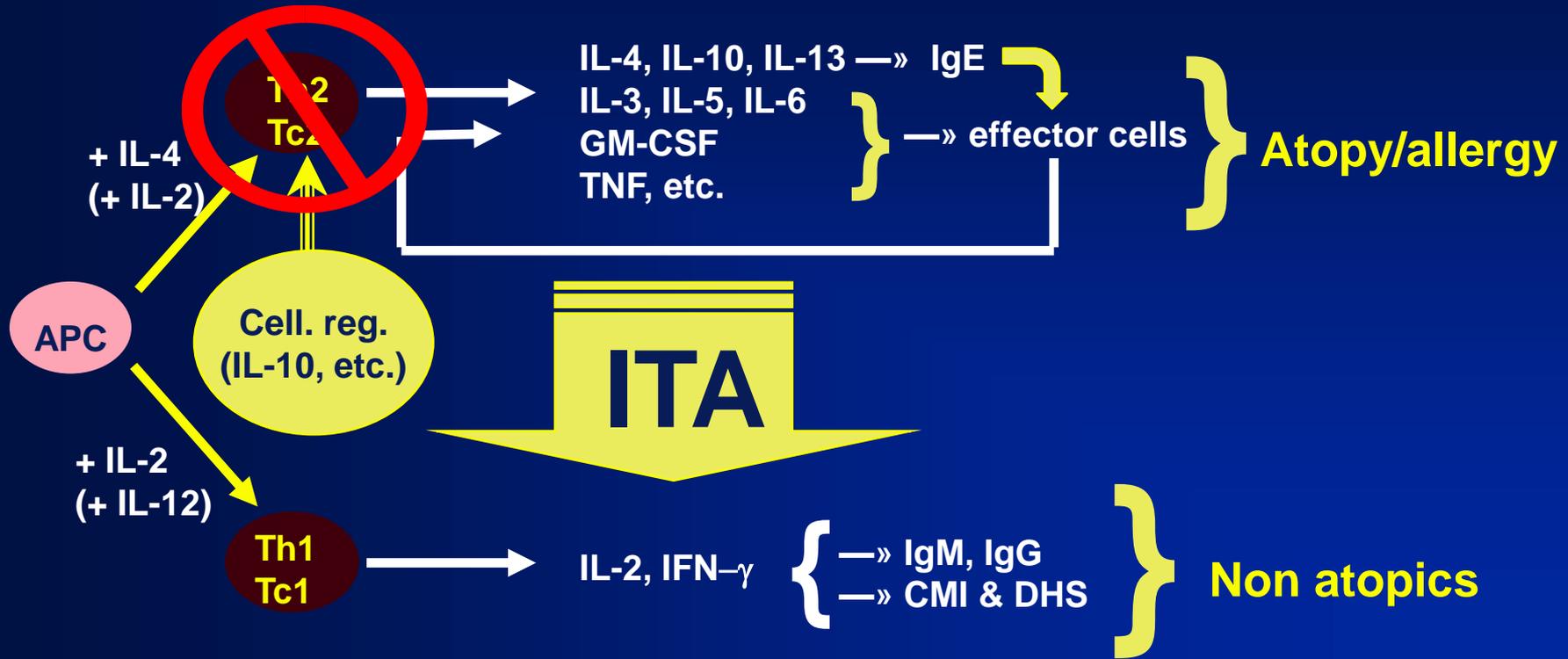
LTs & PGs concentrations (pg/ml) in exhaled breath condensates



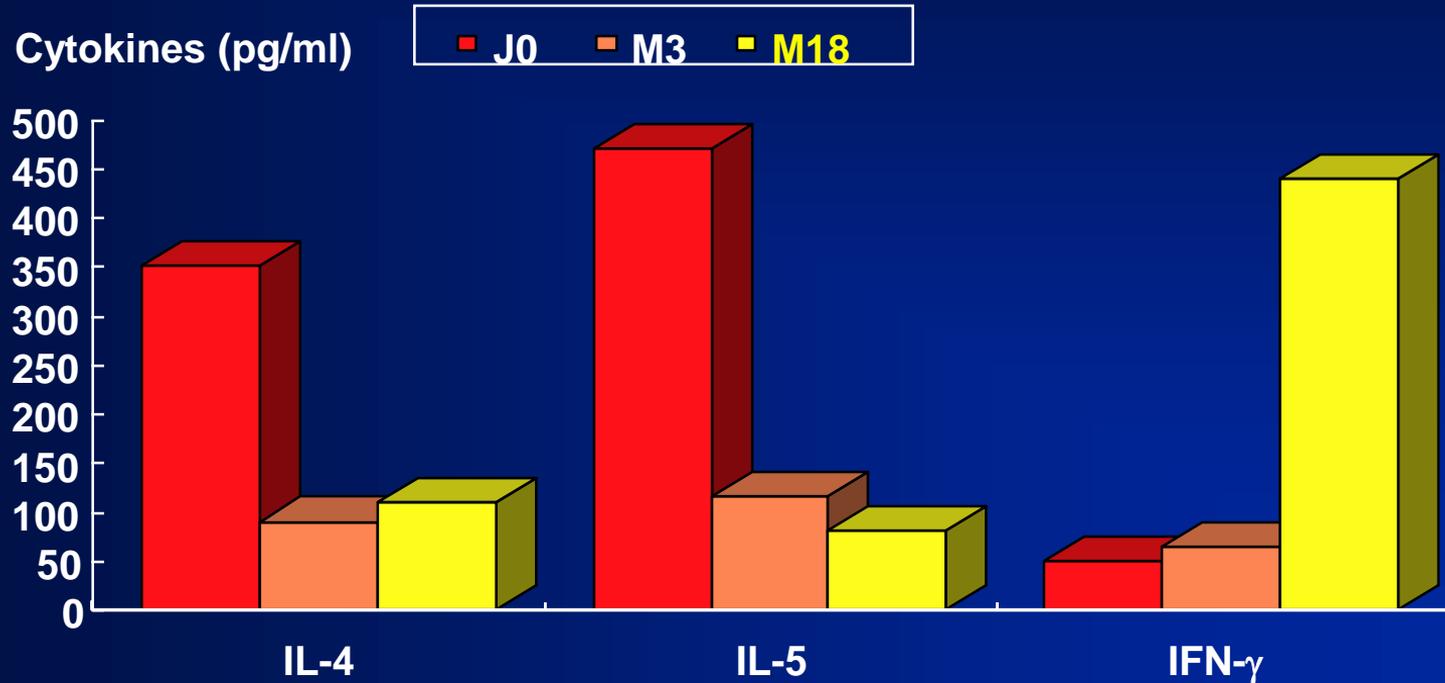
Eosinophil levels (%) in sputum



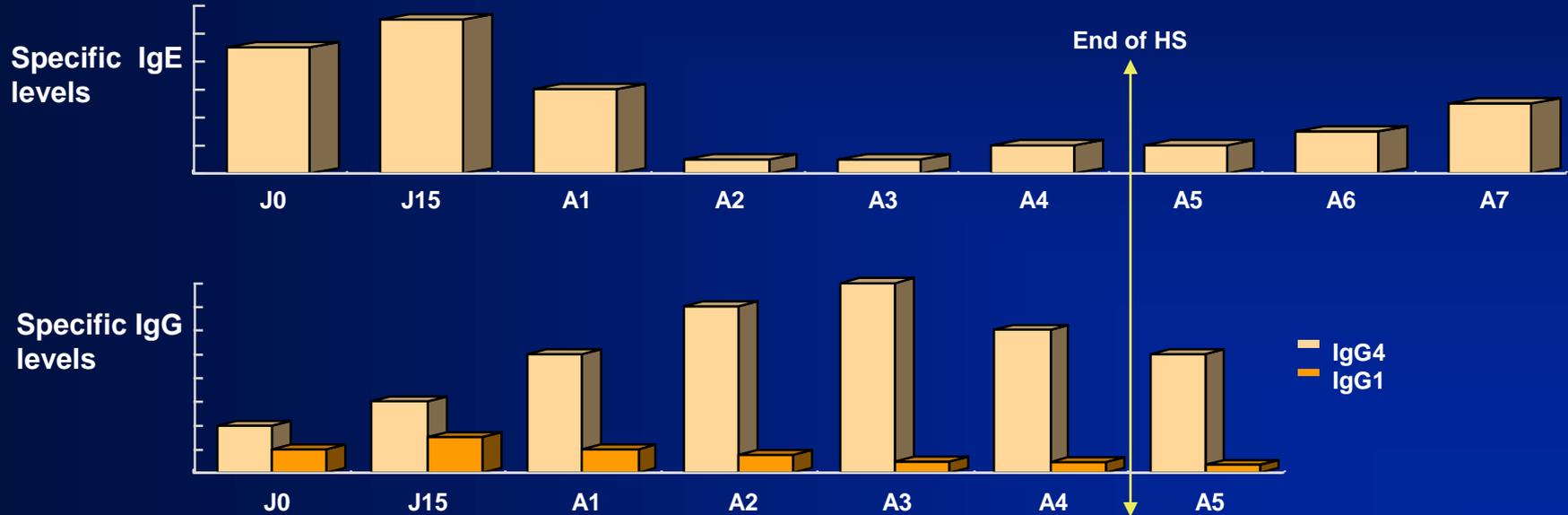
Immunothérapie allergénique (1) : mécanismes



House dust mite SC immunotherapy results in decrease of Th2 cytokine and in increase of Th1 cytokine secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures from allergic asthmatic patients (ODA et al, 1998 : Cell. Immunol, 190, 43-50)

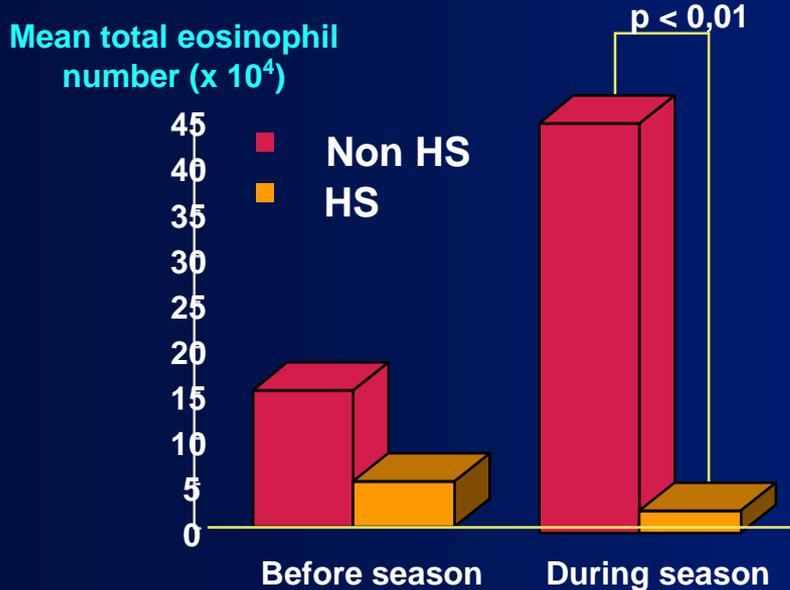


Mechanisms of hyposensitization : alterations of specific IgE and IgG production

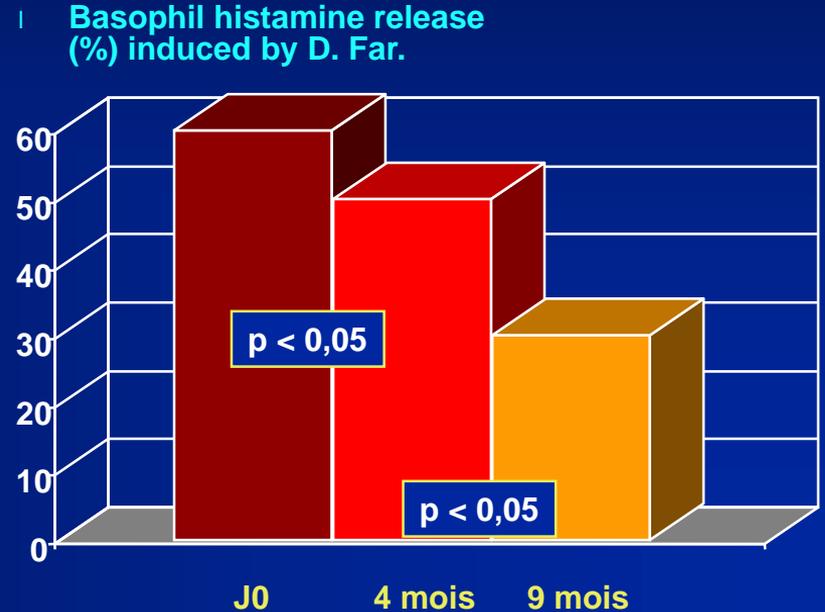


Reduction in numbers and activability of inflammatory cells

The effect of immunotherapy on eosinophil accumulation in BALF of subjects with asthma during natural pollen exposure (Rak et al : JACI 1991; 88: 878 - 888)



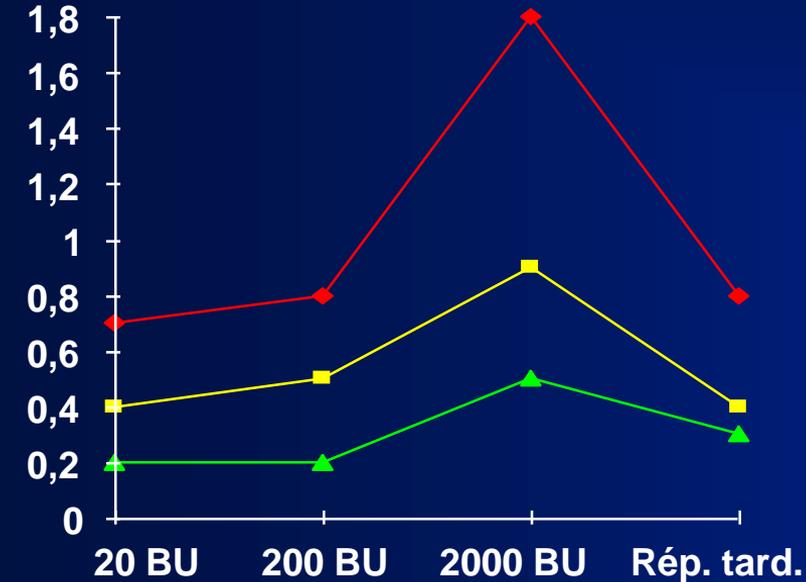
Shim J.Y. et al. Allergen-specific SC conventional immunotherapy decreases IgE-mediated basophil histamine releasability. Clin Exp Allergy 2003; 33: 52-57.



Courbes dose-réponse des médiateurs dans le LLN des malades désensibilisés pour rhinite pollinique, après TPN spécifique (Dokic et al, 1996 : Allergy, 51 , 796 - 803)

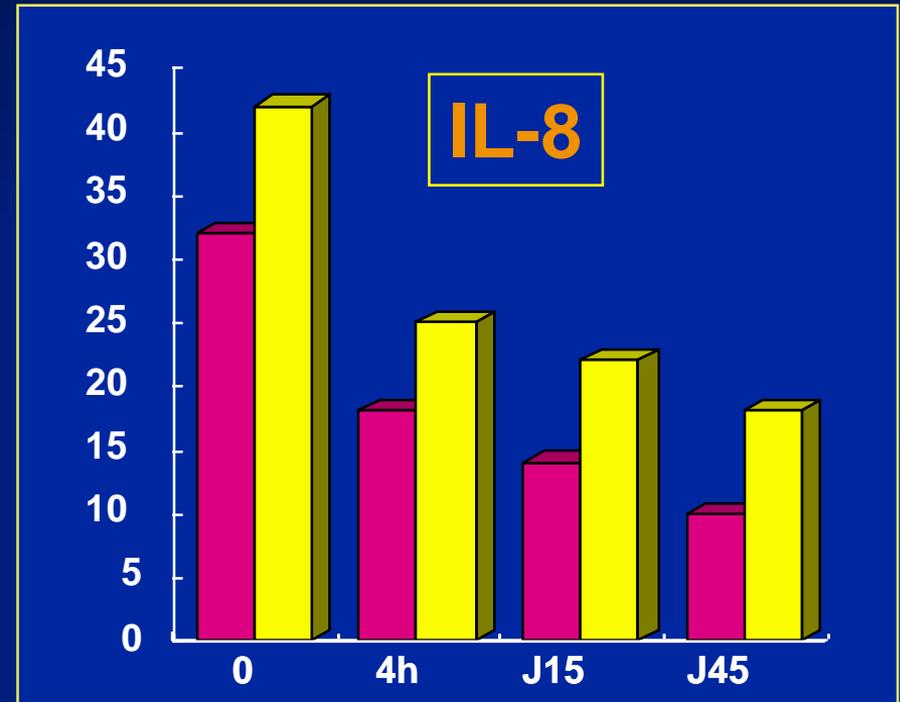
Modifications of chemokine production by blood mononuclear cells during ultra-rush venom immunotherapy (Akoum et al, 1998)

**Histamine
(ng/ml)**



◆ Avant DS
 ■ 1 an
 ▲ 4 ans

■ Spontanée
 ■ + Venin



Immunothérapie allergénique (2) : conséquences

1) Effets curatifs

- » réduction (durable) de la réactivité aux allergènes (TP) et de l'hyper-réactivité non spécifique aux irritants
- » diminution (durable) du score symptomatique et de la consommation médicamenteuse

2) Effets préventifs

- » réduction du risque d'aggravation (évolution des rhinites et rhino-conjonctivites vers un asthme)
- » réduction du risque de développement de néo-sensibilisation chez les patients mono/pauci-sensibilisés

Efficacité curative et préventive à long terme de l'ITA (injectable)

- ❖ Eng PA et al. Twelve-year follow-up after discontinuation of preseasonal grass pollen immunotherapy in childhood. *Allergy* 2006 ; 61: 198-201.
 - Etude prospective en ouvert
 - Patients: 23 enfants (rhinite ± conjonctivite/mono-sensibilisation aux pollens de graminées)
 - Randomisation en 2 groupes
 - » Gr. 1 (n = 13): DS pré-saisonnière SC x 3 ans
 - » Gr. 2 (n = 10): traitement symptomatique seul
 - Suivi à la **12^e année suivant la fin de la DS**
 - » Scores cliniques et médicamenteux
 - » Prick-tests aux aéro-allergènes courants
 - » Prévalence de l'asthme saisonnier

Patients	Score symptomatique	Score médicamenteux	Asthme saisonnier	Néo-sensibilisations
Gr. 1 (DS)	15	36.5	32 %	60 %
Gr. 2 (non DS)	62	73	70 %	100 %
p	< 0.05	< 0.03	≈ 0.05	< 0.05

Désensibilisation : conséquences

Effets curatifs —» nuls/négligeables lorsque DS effectuée avec des mélanges allergéniques complexes

Adkinson et al. A controlled trial of SC immunotherapy for asthma in allergic children. N Engl J Med 1997; 336: 324-331.

- étude en DACP de 121 enfants atteints d'asthme allergique lié à des polysensibilisations
- traitement pendant 18 mois par
 - placebo (n = 60)
 - **mélange de 2 à 7 allergènes** (acariens ± mosissures ± pollens) (n = 61)
- suivi régulier (scores symptomatique et médicamenteux, HRB/métacholine, TC, ac. spécifiques)

Changes in outcome measures from baseline to the last follow-up visit

Outcome measures	SIT group	Placebo group	p (placebo/SIT)
Medication score	- 1.4 ± 1.9 (p < 0.001)	- 1.2 ± 2.0 (p < 0.001)	0.37 (NS)
Symptom score	- 0.08 ± 0.34 (p = 0.02)	- 0.16 ± 0.39 (p = 0.003)	0.50 (NS)
Remission of asthma (complete or partial)	31 %	28 %	0.51 (NS)
Metacholine sensitivity	0.41 ± 1.87 (p = 0.008)	0.39 ± 1,51 (p = 0.003)	> 0.99 (NS)
Emergency visit	- 0.05 ± 0.38 (p > 0.53 : NS)	- 0.02 ± 0.37 (p > 0.99 : NS)	0.73 (NS)
Hospitalization	- 0.11 ± 0.64 (p = 0.50 : NS)	- 0.10 ± 0.77 (p = 0.63 : NS)	0.43 (NS)
DEP	+ 2.5 ± 11.1 (p = 0.24 : NS)	- 1.4 ± 11.1 (p = 0.11 : NS)	0.05

DS par voie sublinguale: mécanismes (1)



1) Captation rapide ($\leq 10-20$ minutes) de 75-85 % de l'allergène par les cellules dendritiques de la muqueuse buccale

2) Migration des cellules dendritiques vers les ganglions lymphatiques loco-régionaux

3) Persistance dans les ganglions pendant environ 48 heures, et présentation de l'allergène aux lymphocytes T

4) Génération de lymphocytes Treg. (producteurs d'IL-10 et de TGF- β) diffusant dans l'organisme par voie sanguine

DS par voie sublinguale : efficacité/DS injectable

(Khinchi MS et al. Allergy 2004; 59: 45-53)

- **Patients et méthodes : étude en DA contre double placebo de 71 adultes atteints de RC ± asthme au pollen de bouleau, suivis pendant 1 à 3 ans**
 - » Gr. 1 (SLIT) SLIT actif + placebo SC (n = 18)
 - » Gr. 2 (SCIT) SCIT actif + placebo po (n = 21)
 - » Gr. 3 (placebo) placebo po + placebo SC (n = 19)

- **Résultats à 1 an**

Groupe	Score symptomatique (modif. vs. basal)	Score médicament (modif. vs. basal)
3 (placebo)	1,45	2,01
1 (SLIT)	0,78 (p < 0,01/placebo)	1,03 (p < 0,05/placebo)
p SLIT vs SCIT	NS	NS
2 (SCIT)	0,48 (p < 0,001/placebo)	0,78 (p < 0,02/placebo)

- **Conclusions des auteurs** : la DS sublinguale est à peu près aussi efficace que la DS par voie SC
????????????????????

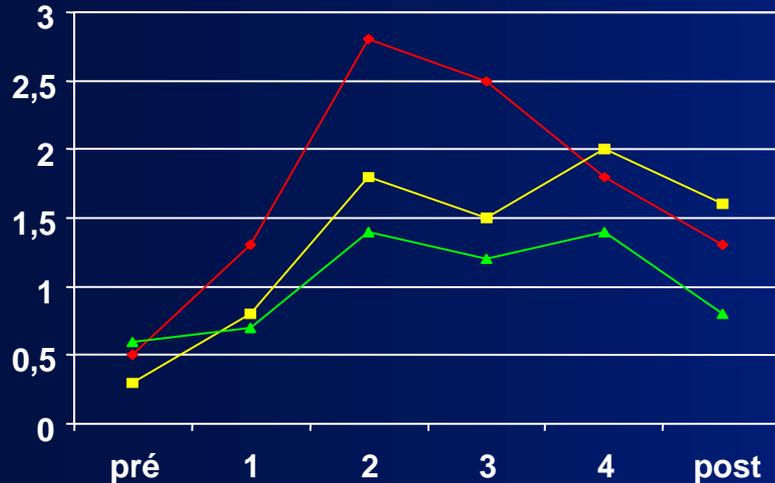
DS par voie sublinguale : efficacité/DS injectable

(Khinchi MS et al. Allergy 2004; 59: 45-53)

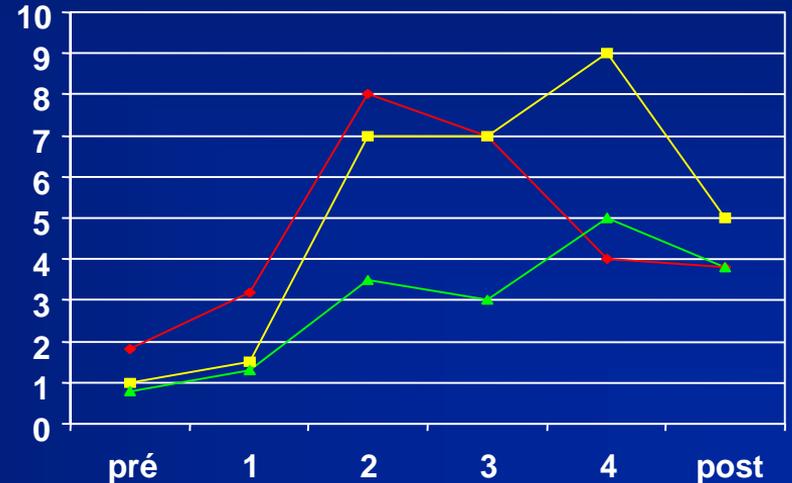
- **Conclusions des auteurs** : la DS sublinguale est à peu près aussi efficace que la DS par voie SC
- **Résultats pre-, per- & post-season (weeks) à 1 an**



Score symptomatique



Score médicamenteux



DS par voie sublinguale : effets préventifs

- **Marogna M et al. Randomized controlled open study of sublingual immunotherapy for respiratory allergy in real life: clinical efficacy and more. Allergy 2004; 59: 1205-1210.**
 - » **Patients:** 511 patients de tous âges, atteints de rhinoconjonctivite ± asthme liés à une monosensibilisation aux acariens ou pollens de graminées
 - » **Méthodes:** étude en ouvert x 3 ans
 - » Groupe A (n = 319) : traitement médicamenteux + SLIT
 - » Groupe B (n = 192) : traitement médicamenteux seul
 - » **Résultats :** néosensibilisations détectées par les TC après 3 ans
 - » Groupe A (DS) n = 16 (5,9 %)
 - » Groupe B n = 64 (38 %)

} p < 0,001

La DS par voie sublinguale: le point en 2017 : conclusion

Tsabouri S et al. Sublingual immunotherapy in allergic asthma in children. *Front Pediatr* 2017; 5: 82.

This review presents up-to-date understanding of immunotherapy in the treatment of children with allergic asthma.

The principal types of allergen immunotherapy (AIT) are subcutaneous immunotherapy (SCIT) and sublingual immunotherapy (SLIT).

Both of them are indicated for patients with allergic rhinitis and/or asthma, who have evidence of clinically relevant allergen-specific IgE, and significant symptoms despite reasonable avoidance measures and/or maximal medical therapy.

Studies have shown a significant decrease in asthma symptom scores and in the use of rescue medication, and a preventive effect on asthma onset.

Although the safety profile of SLIT appears to be better than SCIT, the results of some studies and meta-analyses suggest that the efficacy of SCIT is better and that SCIT has an earlier onset than SLIT in children with allergic asthma. Severe, not controlled asthma, and medical error were the most frequent causes of SCIT-induced adverse events.

Allergie immédiate : conclusions (1)

- | **Allergie immédiate** = affection associant de façon plus ou moins complète des manifestations cutanées (DA, urticaires et angio-œdèmes), oculaires (conjonctivites), respiratoires (rhinites, trachéites, asthme), digestives (diarrhée, vomissements), et parfois cardio-vasculaires (anaphylaxie), survenant chez des individus génétiquement prédisposés (atopie), et liée à :
 - une production exagérée d'IgE (totales et spécifiques) en réponse aux stimulations exercées par les allergènes
 - une inflammation subaiguë/chronique des organes et des tissus-cibles, entretenue/exacerbée par les expositions aux allergènes et aux irritants non spécifiques

Allergie immédiate : conclusions (2)

□ Diagnostic du terrain atopique (tous médecins)

- Anamnèse (antécédents évocateurs) et examen clinique (signes cliniques évocateurs)
- Examens biologiques (tests multi-allergéniques de dépistage) si anamnèse et examen clinique non concluants

□ Diagnostic étiologique (allergologue seul en principe)

- Concordance entre données de l'anamnèse et résultats des TC à lecture immédiate
- Examens biologiques (dosages des IgE sériques spécifiques) ± tests de provocation si TC non praticables ou non concluants

Allergie immédiate : conclusions (3)

❖ **Traitement** : association \pm complète de

- éviction des allergènes et des facteurs favorisants et déclenchants non allergéniques (lorsque possible)
- lutte contre l'inflammation allergique (anti-H₁, corticoïdes, anti-IgE, anti-IL-5, immunosuppresseurs)
- désensibilisation

Cas cliniques interactifs

**DA ? urticaire ?? rhinoconjonctivite ??? toux
spasmodique ????? asthme ??????**

**Acariens ou blatte ? pollens??
phanères animales ??? moisissures ????
arachide ?????? lait ??????? œuf ????????**



Pr. Schmilblik

Jules P. : garçon de 7 ans, consultant en Octobre pour rhino-conjonctivite et asthme saisonniers

❖ Interrogatoire

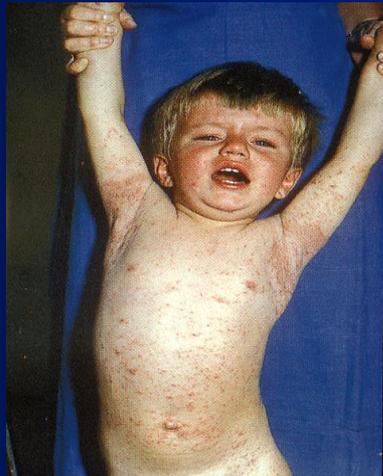
- HDM : épisodes de rhino-conjonctivite + asthme, depuis l'âge de 5 ans
 - périodicité = 3 par mois
 - caractère saisonnier = Mai à mi-Août ; RAS le reste de l'année
 - antihistaminiques et bronchodilatateurs = efficacité modérée
- antécédents personnels :
 - IgE du sang de cordon = 2,5 UI/ml
 - DA du nourrisson, malgré allaitement au sein prolongé et diversification alimentaire retardée et progressive
 - quelques poussées intermittentes persistantes de DA depuis
- antécédents familiaux :
 - mère : DA + asthme pendant l'enfance
 - père : rhino-conjonctivite pollinique sévère
 - 1 frère de 12 ans : RAS
 - 1 soeur de 17 ans : DA persistante, depuis l'âge de 4 mois

- ❖ Examen clinique : RAS, à l'exception d'une discrète lichénification des plis

Jules P. : garçon de 7 ans, consultant en Octobre pour rhinoconjonctivite et asthme saisonnier

❖ Interrogatoire: antécédents personnels :

- IgE du sang de cordon = 2,5 UI/ml
- DA du nourrisson, malgré allaitement au sein prolongé et diversification alimentaire retardée et progressive + quelques poussées intermittentes de DA depuis



❖ Examen clinique : RAS, à l'exception d'une lichénification des plis

Jules P. : garçon de 7 ans, consultant en Octobre pour rhinoconjonctivite et asthme saisonnier

❖ Bilan (1 : recherche d'un terrain atopique ?)

- NFS = ND
 - IgE sériques totales = ND
 - Phadiatop = ND
- NON: atopie évidente**

❖ Bilan (2 : bilan respiratoire) **OUI: car asthme**

- RX des sinus maxillaires = normale
- RX de thorax face (insp. + exp.) = normales
- EFR :
 - fonctions normales à l'état basal
 - TPB n.sp. à la métacholine : seuil de réactivité = 550 µg

Jules P. : garçon de 7 ans, consultant en Octobre pour rhinoconjonctivite et asthme saisonnier

❖ Bilan (3 : bilan allergologique ?) —» TC à lecture immédiate (pricks) ± sIgE

Réactifs	Prick-tests	sIgE (PRU/ml)
Témoin positif	5/15	
Témoin négatif	0	
D Pter + D Far	0	
Blatte	0	
Chat et chien	0	
Arbres de parc	0	
12 graminées	8/25	
Dactyle	6/20	12 (classe 3)
Moisissures 1	0	
Alternaria	0	< 0,35
Cladosporium	0	< 0,35
Plantain	0	0,45 (classe 1)

Utilité des sIgE ?

NON: concordance
HC/TC

Jules P. : garçon de 7 ans, consultant en Octobre pour rhinoconjonctivite et asthme saisonnier

- **Diagnostic ? RC + asthme allergiques aux pollens de graminées**
- **Traitement ?**
 - mise en route d'une DS aux pollens de graminées
 - traitement d'appoint par antihistaminiques, corticoïdes locaux et bronchodilatateurs pour la prochaine saison pollinique
- **Suivi et évolution ?**
 - 1 an plus tard : saison pollinique précédente bonne
 - 2,5 ans plus tard :
 - saison pollinique précédente bonne (besoins réduits en médicaments)
 - diminution de la réactivité cutanée et des RAST pollens de graminées
 - 5 ans plus tard :
 - saisons polliniques précédentes bonnes (aucun besoin de médicaments)
 - diminution de la réactivité cutanée aux pollens de graminées
 - négativation des RAST- pollens de graminées
 - EFR de base normale, TPB n.sp. métacholine normal
 - arrêt de la DS

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

❖ Interrogatoire

➤ HDM :

- rhinite, épisodique puis permanente, apparue 1 an après arrivée en France
- toux spasmodique et asthme depuis 1 an :
 - prédominance nocturne
 - bronchodilatateurs inhalés à courte durée d'action depuis 6 mois
 - 2 passages aux urgences pour crises d'asthme sévères pendant les 3 derniers mois (nébulisations de bronchodilatateurs + corticoïdes po)

➤ antécédents d'atopie personnels et familiaux = 0

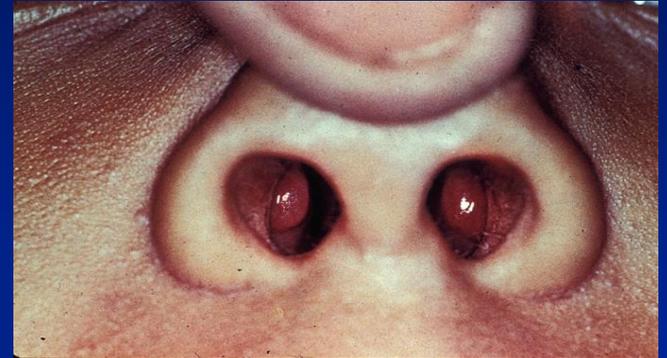
➤ conditions de vie : depuis l'arrivée en France, à l'âge de 6 ans

- logement exigü et insalubre (poussière, humidité et moisissures, blattes)
- animaux domestiques = 0
- tabagisme passif et actif = 0
- reste à la maison pendant les vacances

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

❖ Examen clinique

- muqueuse nasale congestive
- gros cornets inférieurs tapissés de mucus
- obstruction nasale bilatérale
- auscultation CP normale
- peau normale
- bonne prise des sprays de bronchodilatateurs



Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

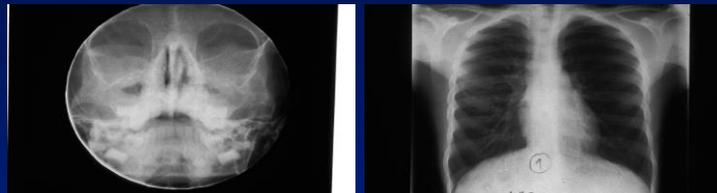
❖ Bilan (1 : recherche d'un terrain atopique) ? —» **OUI, car HC relativement évocatrice d'allergie en l'absence de terrain atopique évident.**

➤ NFS	hématies = 4 610 000/mm ³ leucocytes = 5 000/mm ³ plaquettes = 190 000/mm ³	neutrophiles = 2 000/mm ³ (40 %) éosinophiles = 650/mm ³ (13 %) basophiles = 50/mm ³ (1 %) lymphocytes = 1 700/mm ³ (34 %) monocytes = 560/mm ³ (12 %)
➤ IgE totales	550 UI/ml	
➤ Phadiatop	négatif	

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

❖ Bilan (2 : bilan respiratoire)

- RX des sinus maxillaires = *hyperplasie en cadre*
- RX de thorax
 - Inspiration = *discrète distension*
 - expiration = *trapping des sommets*



❖ Bilan (2 : suite) : EFR (de base)

Paramètres de base	Mesure	Théorique	%tage/théorique
VEMS (litres)	1,2	1,7	66 %
VEMS/CV (%)	62	85	72 %
RVAS (cm H2O/l/sec)	11	6	183 %



❖ Bilan (2 : suite) : EFR (après bronchodilatateur)

Paramètres	Mesure	%tage d' amélioration	%tage/théorique
VEMS (litres)	1,3	9 %	73 %
RVAS (cm H2O/l/sec)	9	17 %	150 %

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

❖ Bilan (4 : bilan allergologique) ?

Réactifs	TC (mm)	slgE (KU/l)
T positif	7/20	
T négatif	0	
D Pter	0	< 0,35 (neg.)
D Far	0	0,65 (cl. 1)
Blatte	3/7 et 12/30	75 (cl. 5)
Moisissures 1	0	
Alternaria	(+)	0,40 (cl. 1)
Chat	0	
Chien	0	
Arbres de parc	0	
12 Graminées	0	
Plantain	0	

**Utilité des
slgE ?**

**NON:
concordance
HC/TC**

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

- **Diagnostic** : allergie sévère à la blatte, avec
 - rhinite obstructive permanente
 - asthme sévère, incomplètement contrôlé par les bronchodilatateurs
- **Traitement** :
 - éviction allergénique : irréalisable (milieu socio-économique défavorisé)
 - traitement de fond curatif et préventif des récives :
 - rhinite : corticoïdes locaux + antihistaminiques po
 - asthme : bronchodilatateurs à action longue + corticoïdes inhalés
 - DS : non indiquée (allergène non standardisé, asthme mal équilibré)
- **Suivi & évolution** : enfant revu une fois, 6 mois plus tard
 - amélioration de l'obstruction nasale et disparition de la rhinorrhée
 - 2 débuts de crises d'asthme, aisément contrôlés par un supplément en bronchodilatateurs à courte durée d'action
 - non revu depuis, malgré plusieurs convocations

Vikram S. : garçon cingalais de 11 ans, consultant pour rhinite et asthme

- Pourquoi le Phadiatop a-t-il été négatif ?
..... ne contient pas l'allergène blatte
- Quel test multi-allergénique de dépistage de l'atopie aurait-il pu être positif ?

Tests et laboratoires	Composition
Phadiatop (Phadia)	Mélange (théoriquement inconnu) d' aéro-allergènes
Vidas-Stallertest (Biomérieux)	D.Pter, blatte , chat, chien, dactyle , bouleau, olivier , armoïse , pariétaire, alternaria (n = 10)
Alatop (Siemens)	D.Pter, chat, chien, chiendent , phléole , bouleau, cèdre , ambroisie , plantain , pariétaire, penicillium , alternaria (n = 12)

- **MEFIANCE :**
 - la négativité d'un test n'exclut pas une allergie (allergène absent du mélange, concentration des sIgE trop faible, etc ...)
 - tous les mélanges n'ont pas la même composition allergénique

Bernard W. : enfant de 1,5 mois, hospitalisé en urgence pour réaction anaphylactique

❖ Interrogatoire

➤ HDM & antécédents personnels :

- naissance à terme après une grossesse normale
- allaitement maternel exclusif interrompu à 1,5 mois (abcès mammaire), et remplacé par le lait de vache (formule 1^{er} âge) :
 - >1^{er} biberon : vomissements et pâleur, rapidement réversibles/arrêt
 - >2^e biberon 1h plus tard: vomissements et pâleur immédiats, urticaire et AO, diarrhée, asthénie, hypotension —» hospitalisation en USI

➤ antécédents familiaux :

- mère : DA depuis l'enfance
- père : rhino-conjonctivite pollinique DS avec succès
- 1 sœur de 3 ans : RAS
- 1 frère de 6 ans : DA et bronchiolites du nourrisson, asthme allergique aux acariens d'apparition récente

Bernard W. : enfant de 1,5 mois, hospitalisé en urgence pour réaction anaphylactique

- Hypothèses étio-pathogéniques ? HSI aux protéines du lait de vache, secondaire à une sensibilisation occulte
 - par passage trans-placentaire pendant la grossesse ?
 - par transmission par l'allaitement maternel ?
- Bilan diagnostique (pricks et sIgE) : effectué quelques semaines après la réaction

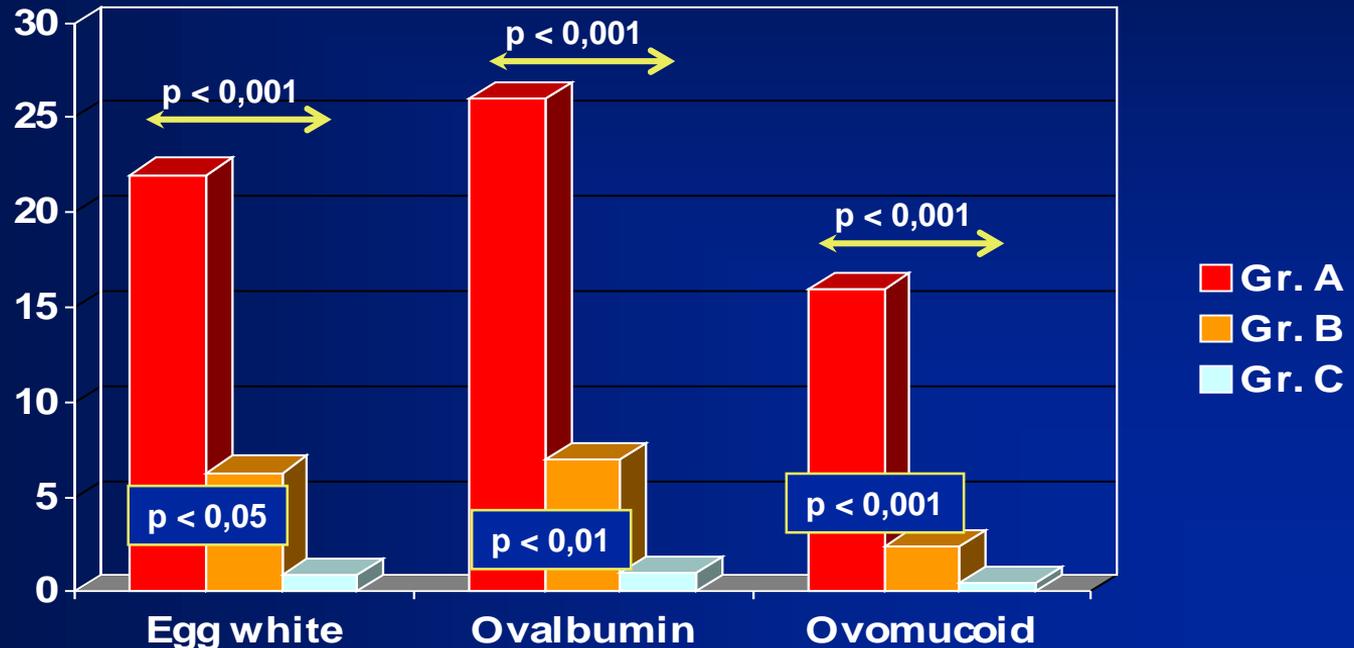
Réactifs	prick-tests	sIgE (PRU/ml)
Témoin positif	5/10	
Témoin négatif	0	
Lait vache entier	5/10	16 (classe 3)
α-lactalbumine	2/4	0,40 (classe 1)
β-lactoglobuline	2/5	0,50 (classe 1)
Caséines	7/15	90 (classe 5)
Lait chèvre	5/8	12 (classe 3)
Lait brebis	4/9	13 (classe 3)
Soja	0	< 0,35
Blé (farine)	0	< 0,35

Utilité des sIgE-
aliments ?

OUI :
- diagnostic et
pronostic
(caséines vs
autres protéines)
- suivi évolutif

Plus les concentrations des sIgE-aliments sont élevées, plus le risque allergique et plus le risque d'allergie grave sont importants

Ando H et al. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. J Allergy Clin Immunol 2008 ; 122 : 583-588). Results of egg-specific IgE determinations (KUA/l) in children allergic to heated and raw egg (gr. A), raw egg only (Gr. B), and in egg-tolerant children (Gr. C).



Bernard W. : enfant de 1,5 mois, hospitalisé en urgence pour réaction anaphylactique

❖ Traitement curatif & préventif ?

- éviction des laits et laitages de vache, chèvre et brebis
- remplacement par des hydrolysats poussés de protéines du lait de vache (si échec : recours à des formules à base exclusive d'acides aminés synthétiques)
- ± cromoglycate po au long cours lors de la diversification alimentaire

❖ Suivi & évolution ?

- suivi régulier des TC et sIgE aux allergènes du lait
 - » si diminution significative/négativisation : essai de réintroduction prudente en HDJ (75 % de guérisons spontanées, sauf lors d'allergie aux caséines)
 - » si persistance de l'allergie : essai de DS po prudente en milieu hospitalier
- bilans allergologiques réguliers : recherche de sensibilisations naissantes aux aéro-allergènes et/ou à d'autres aliments (risque = 75 %)

Héloïse N, 6 ans : « allergie à l'arachide »

» Histoire clinique

- DA, asthme jusqu'au 4 ans
- 2,6 ans: urticaire du visage après ingestion d'une pâtisserie à la noix du Brésil (depuis, éviction des fruits à coque)

» Bilan à 3 ans (allergologue libéral) :

Allergène	TC (mm)	sIgE (KU/l)
Arachide	6/20	10
Noix cajou	5/16	8,2
Noix Brésil	4/20	3,5

Quels tests manquants ?

- *sIgE allergènes moléculaires (mais, inexistantes à l'époque)*
- *TPO noix de cajou/arachide*

- ## » Diagnostic et recommandations : allergie à l'arachide et autres fruits à coque
- » éviction stricte, trousse urgence contenant de l'adrénaline, PAI.

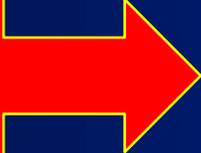
Héloïse N, 6 ans : allergie à ???

» Revue à 6 ans :

- absence des réactions d'AA sous éviction des FAC, des huiles et traces d'arachide + panier repas à l'école + trousse de secours contenant de l'adrénaline auto-injectable
- mais, rhino-conjonctivite saisonnière (fin hiver-début été) depuis l'âge de 3,5 ans

» Bilan allergologique (hospitalier)

Intérêt des dosages des sIgE-allergènes moléculaires: détection des sensibilisations — pathogènes/non pathogènes — par allergènes propres/croisants



Allergène	TC (mm)	sIgE (KU/l)
Arachide	3/10	Arachide = 2,5 Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 = 0 Ara h 8 = 41,5
Noix cajou	3/10	1,8
Noix Brésil	2/8	1,3
Phléole	6/20	18,5
Bouleau	5/15	Bouleau = 23,2 Bet v 1 = 32,3

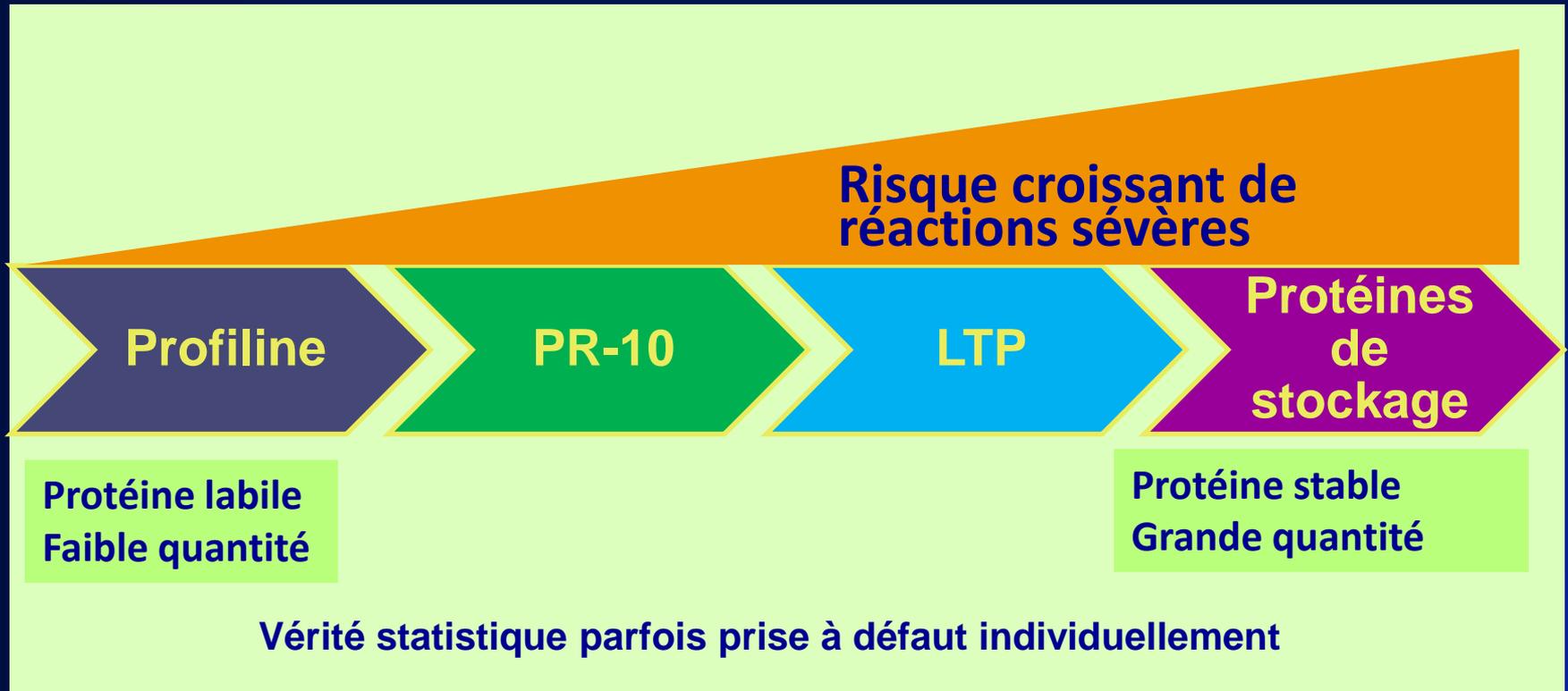
» Que faire de plus ??? —————»

TPO arachide, noix de cajou et noix du Brésil en HDJ : bien tolérés

» Diagnostic et CAT ?

- sensibilisation croisée pollens-aliments par l'intermédiaire des PR10 (Ara h 8/Bet v 1)
- arrêt de l'éviction des fruits à coque
- désensibilisation aux pollens de bétulacées (± graminées)

Evaluation du risque selon les familles de protéines



Claude P. : homme de 45 ans, consultant pour urticaire généralisée d'origine alimentaire

❖ Interrogatoire

- **HDM : urticaire géante suite à un repas tunisien copieux, comportant**
 - un whisky accompagné d'un mélange de cacahuètes et autres nuts
 - une salade de tomate et de thon, en entrée
 - une grosse demi-langouste grillée
 - un fromage fermenté de brebis
 - un gâteau au chocolat, puis des fraises, au dessert
 - le tout largement arrosé d'un vin rosé frais du pays
 - un café et un alcool fort, d'origine locale
 - à noter : prise de 2 comprimés de 500 mg d'aspirine, en début de repas
- **antécédents personnels :**
 - rhinite aux acariens et aux pollens de sévérité modérée
 - pas d'allergie alimentaire connue
 - HSI à la fluorescéine et photo-allergie à l'acide nalidixique
- **antécédents familiaux d'atopie = oui**

Claude P. : homme de 45 ans, consultant pour urticaire généralisée d'origine alimentaire

❖ Bilan allergologique ?

Réactifs	Pricks (mm)	sIgE (KU/L, classe)
Témoin positif	8/20	
Témoin négatif	0/0	
Arachide	0/0	0,45 (classe 1)
Noisette	0/0	< 0,35
Amande	0/0	< 0,35
Tomate	0/0	< 0,35
Thon	0/0	< 0,35
Langouste	0/0	< 0,35
Crabe	0/0	
Crevette	0/0	
Fraise	0/0	< 0,35
Chocolat	0/0	< 0,35

Justifié ?

**P'tet bien
qu'oui,
p'tet bien
qu'non !!!**

**A quoi
penser ??**

Claude P. : homme de 45 ans, consultant pour urticaire généralisée d'origine alimentaire

□ Diagnostic ? fausse allergie alimentaire typique, par

- consommation exagérée d'aliments histamino-libérateurs et/ou riches en amines vaso-actives
- perméabilité intestinale accrue (alcool, aspirine)

□ Evolution : depuis, consommation bien tolérée

- des aliments incriminés, en plus faibles quantités et de façon dissociée
- de l'aspirine



Tout ce qui gratte et gonfle n'est pas lié à une allergie alimentaire !!!

Benoît G. : garçon de 9 ans, consultant pour réaction anaphylactique à une piqûre d'hyménoptère

❖ Interrogatoire

- » HDM : piqûre de guêpe au pied (insecte identifié) l'été précédent
 - urticaire généralisée et oedème de Quincke avec gêne laryngée
 - chronologie (quasi) immédiate
 - régression complète en 24 h sous corticoïdes injectables, à l'hôpital
- » antécédents personnels
 - pas de notion de piqûre antérieure
 - DA du nourrisson, asthme depuis l'âge de 6 ans
 - scoutisme (camps d'été)
- » antécédents familiaux d'atopie = oui

❖ Bilan initial concordant avec l'histoire clinique

- » TC au venin de guêpe vespula = 7/30 à 0,001 \square g/ml
- » sIgE-guêpe vespula = 18 KU/l

❖ Traitement préventif = DS, débutée quelques semaines plus tard

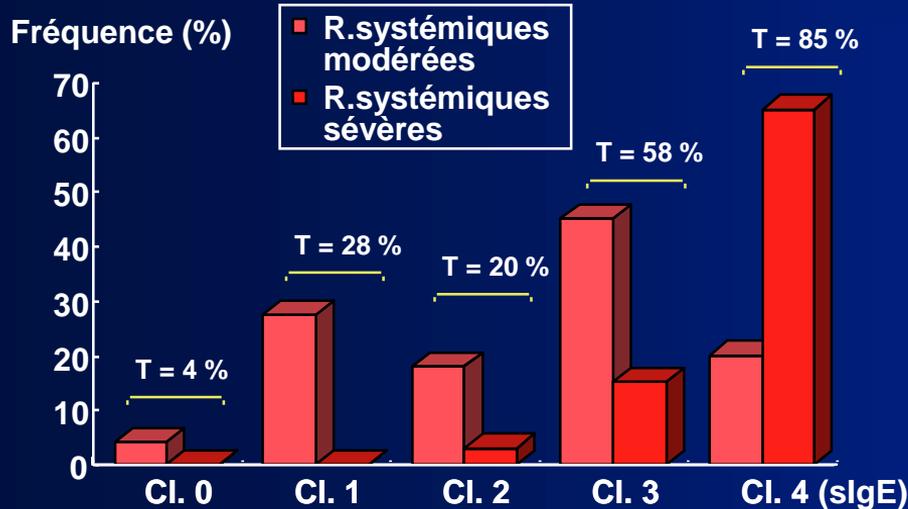
Benoît G. : garçon de 9 ans, consultant pour réaction anaphylactique à une piqûre d'hyménoptère

- ❖ Suivi & évolution ? HC (injections d'extrait allergénique, repiqûres accidentelles), TC, sIgE (\pm sIgG4)

Dates et tests	Nov. 91	Juin 93	Mars 95	Jan. 97
Repiqûres		Non	r. locale \pm	r. locales \pm
T. Positif	4/15	5/20	10/45	7/30
T. Négatif	0	0	0	0
Prick GV 1 μ g/ml	3/15	0	0	0
IDR GV				
- 0,001 μ g/ml	7/30	0	0	0
- 0,01 μ g/ml		9/30	0	0
- 0,1 mcg/ml			5/15	0
- 1 μ g/ml				5/20
sIgE-GV (PRU/ml)	18	4	ND	1,5
IgG4-GV	ND	165 %	120 %	72 %
				Arrêt DS

Dosages des sIgE-venins d'hyménoptères: intérêt diagnostique, prédictif et d'efficacité de la DS

Fréquence des réactions systémiques lors des tests de provocation réalistes au venin d'abeille en fonction des résultats des TC et des sIgE (Day et al : JACI, 1994)



Fréquence des récurrences après l'arrêt de la DS selon les motifs d'arrêt (références diverses)

Motif	Récurrences (%)
Décision du patient	≥ 10 %
Négatation des sIgE seules	3 - 14 %
Négatation des TC seuls	≈ 0 %
Négatation des TC + sIgE	≈ 0 %

Mr Swan : homme de 67 ans (d'après le Dr. Xavier Van der Brempt, Namur)

Histoire clinique : piqûre d'hyménoptère au coude (insecte non identifié) —» urticaire géante + discrète gêne respiratoire immédiate (quelques minutes), régressant en quelques heures sous corticoïdes injectables.

Bilan allergologique :

- prick-test témoin positif = positif
- prick-test témoin négatif = négatif
- prick-test guêpe vespula (1 mg/ml) = négatif
- IDR guêpe vespula = franchement positives à 0.001 et 0.01 µg/ml
- prick-test abeille (1 mg/ml) = négatif
- IDR abeille = légèrement positive à 0.01 µg/ml
- IgE spécifiques guêpe vespula = 22.8 KU/l
- IgE spécifiques abeille = 5.37 KU/l

Que faire de plus / double sensibilisation guêpe-abeille ?

—» dosages des IgE sériques spécifiques des allergènes moléculaires ± IgE anti-CCDs

Mr Swan : homme de 67 ans (d'après le Dr. Xavier Van der Brempt, Namur)

Histoire clinique : : piqûre d'hyménoptère au coude (insecte non identifié) —» urticaire géante + discrète gêne respiratoire immédiate (quelques minutes), régressant en quelques heures sous corticoïdes injectables.

Bilan allergologique :

- prick-test témoin positif = positif
- prick-test témoin négatif = négatif
- prick-test guêpe vespula (1 mg/ml) = négatif
- IDR guêpe vespula = franchement positives à 0.001 et 0.01 µg/ml
- prick-test abeille (1 mg/ml) = négatif
- IDR abeille = légèrement positive à 0.01 µg/ml
- IgE spécifiques guêpe vespula = 22.8 KU/l
- IgE spécifiques abeille = 5.37 KU/l
- IgE spécifiques rVes v 5 = 13.1 KU/L
- IgE spécifiques rApi m 1 = 0.29 KU/l
- IgE spécifiques broméline = 3.3 KU/l

Diagnostic ? allergie immédiate au venin de guêpe vespula.

Que faire et pour quelles raisons ?

- DS-venin de guêpe vespula
- bilan (TC + IgE sp.) franchement positif / venin de guêpe vespula
- réaction (potentiellement) grave
- facteurs de risque associés (âge, atopie probable, exposition, traitement antihypertenseur)

Réactions IgE-médiées aux bêtalactamines chez l'enfant (cas clinique n° 1)

Celine M. : 11.5 ans, non atopique

Drug history : bêtalactamines diverses bien tolérées jusqu' à l' âge de 9.5 ans

- 9.5 ans : pénicilline G —» urticaire accélérée
- 10.5 ans : Oroken —» urticaire et angio-oedème géants immédiats
- 10.7 ans : Bristopen —» urticaire/angio-œdème + œdème laryngé immédiats
- depuis: pas de traitement par des bêtalactamines

TC (pricks & ID) : lecture à	20 mn
- PPL	positif
- MDM	ND
- Pénicilline G	positif
- Bristopen	positif
- Amoxicilline	positif
- Céfazoline	positif
- Claforan	positif

Diagnostic value of betalactam-specific IgE (penicillins G & V, ampicillin, amoxicillin, cephaclor)	
Specific IgE determination	Positive
Patients with positive work-up	≤ 50 %
Control subjects tolerant to the drugs	8 - 10 %
Patients with negative ST and challenge	8,3 - 16 %

Bonne valeur diagnostique des TC à lecture immédiate aux bêta-lactamines et mauvaise valeur diagnostique des tests in vitro.

slgE pénicillines G and V, ampicilline, amoxicilline : négatifs

Diagnostic : HSI à toutes les classes de bêtalactamines

Allergie immédiate : physiopathologie, grands principes diagnostiques & thérapeutiques

*DA ? urticaire ?? Rhinoconjonctivite ??? Toux
spasmodique ????? Asthme ??????*

*Acariens ou blatte ? pollens??
phanères animales ??? moisissures ?????
arachide ?????? lait ??????? œuf ????????*

***Merci de votre
attention !!!***



Pr. Schmilblik