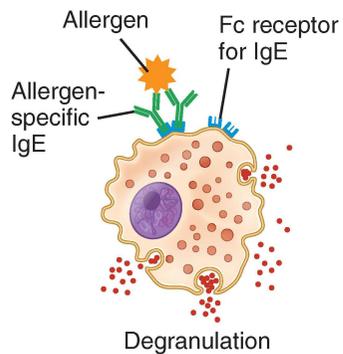


Module 2 : Allergologie Générale

Biologie de l'allergie



Lorna GARNIER
 Service d'Immunologie biologique
 Hôpital Lyon Sud

janvier 2025

Quelles recommandations ?

G Model
REVAL-3053; No. of Pages 22

ARTICLE IN PRESS

Revue française d'allergologie xxx (xxxx) xxx-xxx



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



Recommandations

Recommandations pour la prescription et l'interprétation des examens biologiques utilisables dans le cadre du diagnostic ou du suivi des allergies, disponibles en France. Texte court

Recommendations for the prescription and interpretation of laboratory tests that can be used in the diagnosis or monitoring of allergies, available in France. Short text

H. Chabane^{a,*}, C. Klingebiel^b, G. Dalampira^c, A. Sarrat^d, S. Lefevre^e, C. Dzviga^f, C. Metz-Favre^g, J. Vitte^h, P. Nicaise-Rolandⁱ, E. Seve^j, C. Palussière^k, C. Lambert^l, P-A. Apoil^m, M. Bouvierⁿ, C. Castelain^{o,1}, F. Le Pabic^p, C. Delebarre-Sauvage^q, B. Uring-Lambert^r, L. Garnier^s, C. Mailhol^t, C. Bouz^u, J.C. Farouz^v, J. Bienvenu^s, R. Couderc^w, P. Demoly^x, J. Just^y



Molecular Allergology User's Guide 2.0

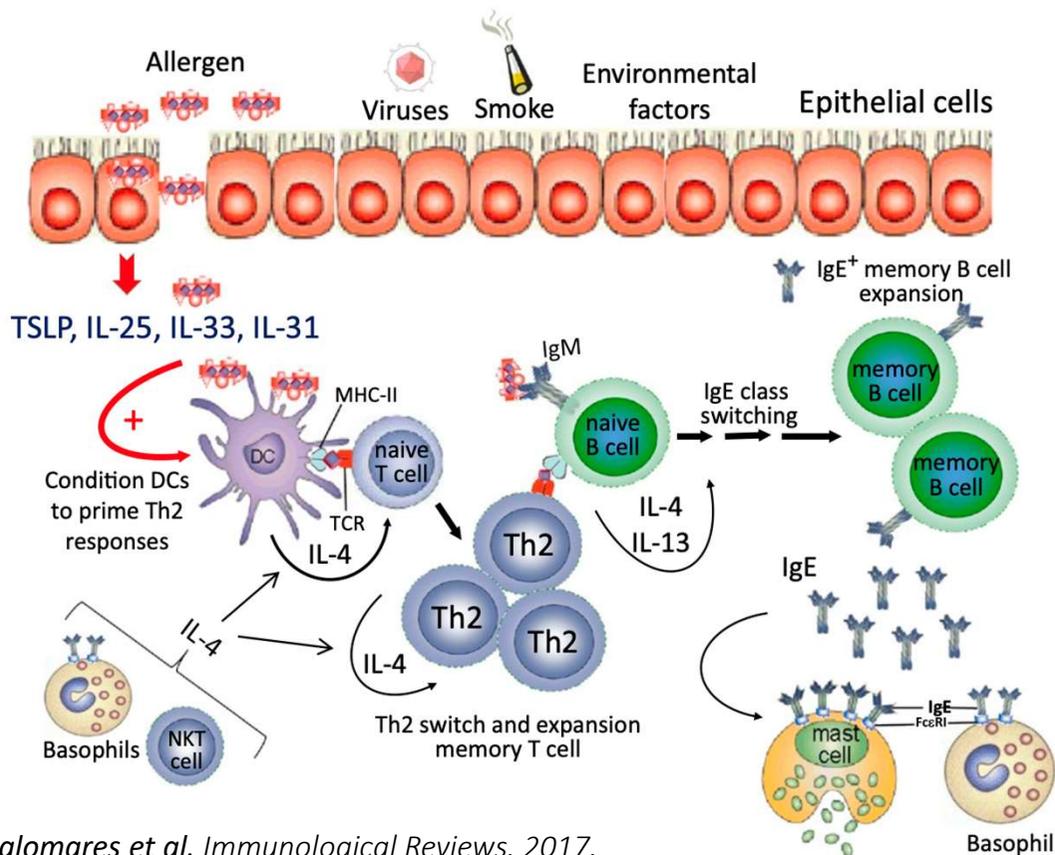
Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology
2022



Physiopathologie de l'hypersensibilité immédiate

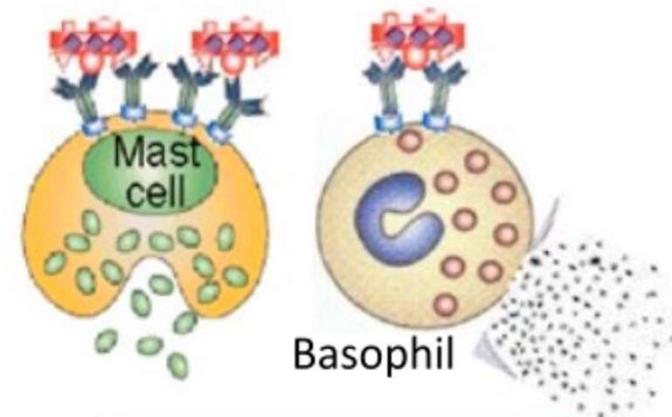
Première rencontre avec l'allergène = sensibilisation

- Production d'Ac de type IgE spécifiques de l'allergène
- Phase asymptomatique



Phase de déclenchement :

- Nouvelle exposition à l'allergène
- Pontage de 2 IgE par l'allergène
- Activation cellulaire et libération des médiateurs
- Phase de manifestation clinique (rhinite jusqu'au choc anaphylactique)



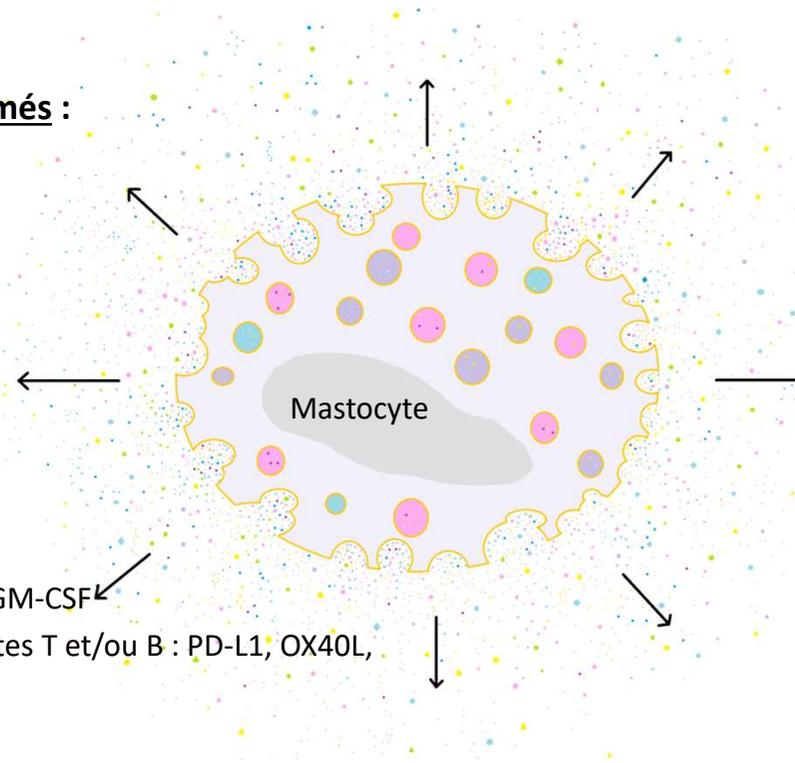
Exploration biologique d'une réactions d'hypersensibilité immédiate

- 1 - Objectiver la dégranulation mastocytaire
- 2 - Identification de l'aliment responsable de la réaction

1 – Réactions immédiates : Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs préformés :

Histamine
Tryptase
Chymase
Carboxypeptidase A
Protéoglycane
Sérotonine
Héparine
Cytokines : IL-4, TNF, GM-CSF
Ligands des lymphocytes T et/ou B : PD-L1, OX40L, CD40L, CCL19, 4-1BB

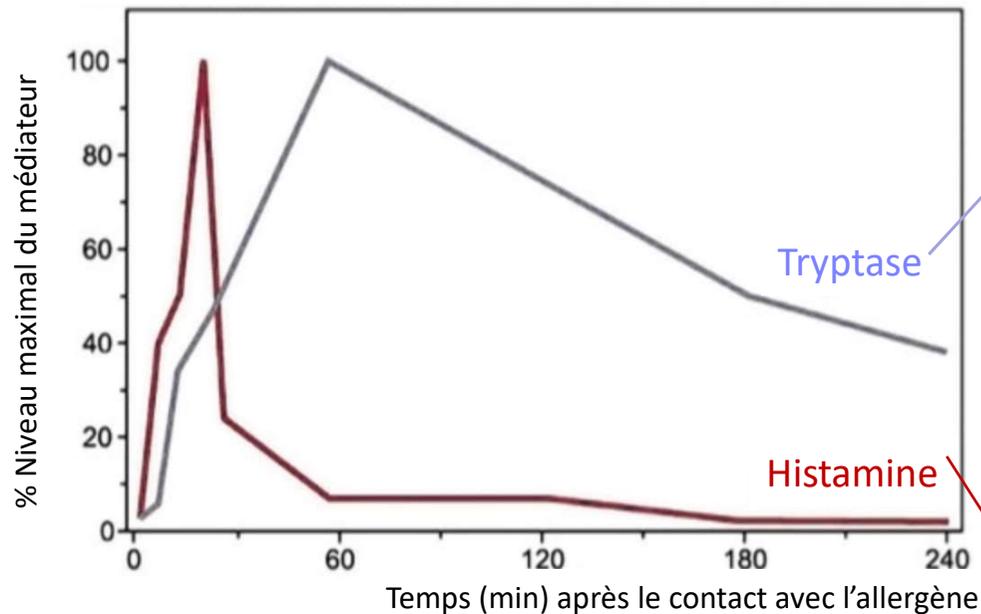


Médiateurs néo-synthétisés :

Prostaglandines PGD₂
Leucotrienes : LTB₄, LTC₄
PAF
Cytokines : IL1, IL2, IL6, IL8, IL9, IL13, IL17
Facteurs de croissance :
VEGF, PDGF, bFGF, IGF1, EGF, NGF
Chemokines : CCL1, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CXCL2
Radicaux libres
Substance P

1 – Réactions immédiates : Médiateurs

Pour objectiver la dégranulation des basophiles et des mastocytes



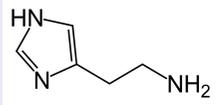
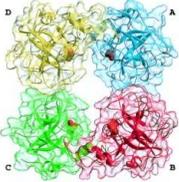
- Sérine protéase neutre
- Effets physiopathologiques :
 - Dégradation remodelage des matrices extracellulaires
 - Production de médiateurs pro-inflammatoire
 - Activation des monocytes et macrophages
 - Prolifération fibroblastique et synthèse de collagène
 - Corré à l'amplitude de la baisse de pression artérielle

Effets:

- Sur le muscle lisse (contraction)
- Sur les cellules endothéliales (augmentation de la perméabilité vasculaire)
- Sur les terminaisons nerveuses
- Sur la production de mucus

1 – Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs : Tryptase et Histamine plasmatiques

| | Histamine | Tryptase |
|------------------------|---|--|
| Demi-vie | 10 – 20 min | 90 – 120 min |
| Relargué par | Mastocytes et Basophiles | Mastocytes |
| Masse moléculaire | 111 g/mol  | 134 kDa  |
| Technique de dosage | ELISA manuel, Spectrométrie de masse | Technique automatisée FEIA (fluroenzymo Immunoassay) |
| Avantages / Limites | Meilleure sensibilité (formes PO) Faux négatifs : - Grossesse après 20SA, - traitement par forte dose d'HNF Faux positifs : conditions pré-analytiques non respectées | Meilleure spécificité Tryptasémie basale élevée : - pathologie mastocytaire, - IR |
| Cotation | Ne figure plus à la NABM | B80 |

1 – Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs : Tryptase et Histamine plasmatiques

Texte de la recommandation

Il est recommandé de doser la tryptase sérique idéalement dans les 2 heures après le début des symptômes d'anaphylaxie, suivi par un second dosage effectué au moins 24 h après la résolution des symptômes, pour déterminer la concentration basale de la tryptase sérique.

Il n'y a pas de délai minimal à respecter après un accident allergique avant de doser les IgE spécifiques. Il est recommandé d'effectuer ce dosage dans les semaines ou quelques mois suivants l'accident allergique.

Tryptasémie : interprétation toujours en fonction de la tryptasémie basale

Elévation significative si :

Tryptasémie > 1,2 X [Tryptasémie basale] + 2 µg/L

ou

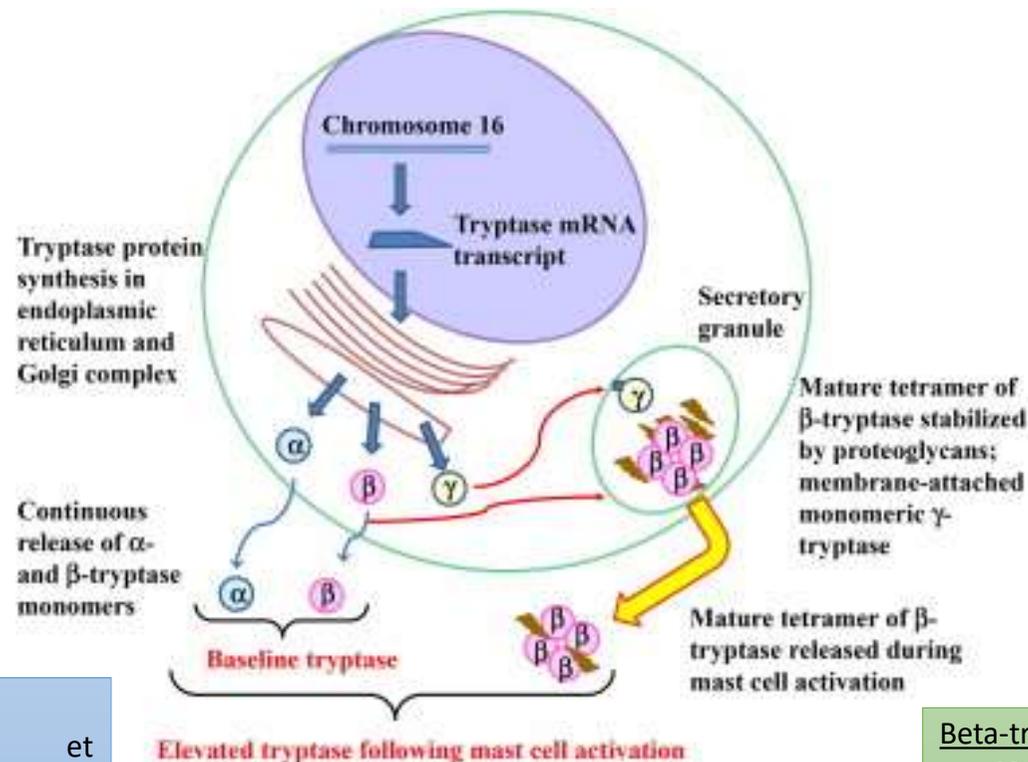
Tryptasémie > 135% [Tryptasémie basale]

-> Résultats témoignant d'une dégranulation mastocytaire

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

Exemple de cinétique
en faveur d'une réaction d'HSI

Médiateurs : Elévations physiopathologiques de la tryptasémie



Vitte J, Mol Immunol 2015

A l'état basal: Libération continue et faible de zymogènes (protryptases alpha ou bêta) Les mastocytes secrètent **au repos** de l'**alpha-tryptase** dont le dosage sérique permet une **estimation de la masse mastocytaire totale** : élévation **continue** en cas de **mastocytose systémique**. Ou d'**hyperalpha-tryptasémie congénitale**

Beta-tryptase :

- concentrée sélectivement dans les granules sécrétoires des mastocytes humains et libérée dans la circulation à la suite d'une **activation des mastocytes**.
- marqueur biologique de la dégranulation mastocytaire. Marqueur des chocs anaphylactiques.

Médiateurs : Elévations physiopathologiques de la tryptasémie

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

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

Dosage de tryptase à réaliser :

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

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

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

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

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

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

2. Stratégies de prise en charge d'une hypersensibilité immédiate

Identification de l'allergène



Interrogatoire
+++

- Recherche des allergènes responsables des signes cliniques



Tests cutanés



Tests de provocation



Disparition des signes à l'éviction de l'allergène

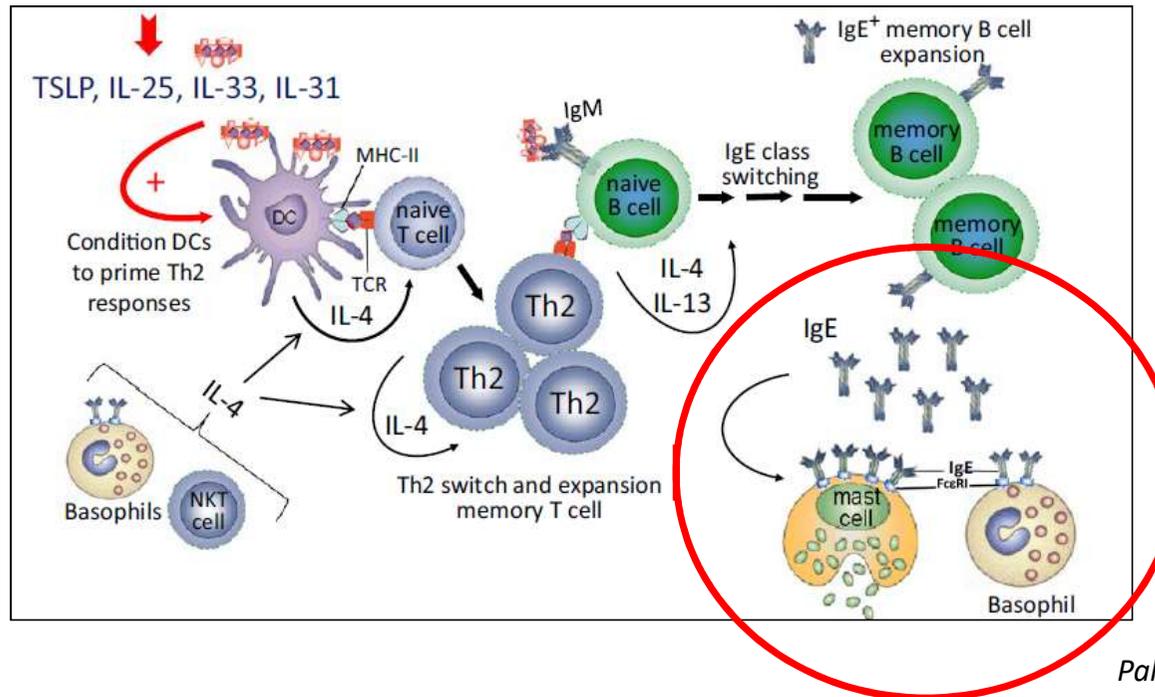
+/- Biologie

+/- Biologie

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

2 - Identification de l'allergène responsable de la réaction

Tests biologiques disponibles

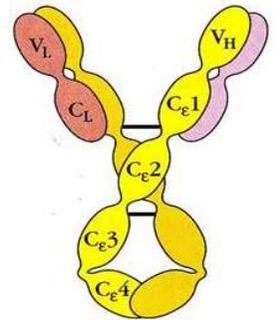


Tests **sériques** : IgE spécifiques (Apport des allergènes moléculaires)

Tests **cellulaires**: Test d'activation des basophiles (TAB)

IgE Totales

- Faible concentration dans le sérum : Ig la plus faiblement représentée dans le sérum (50-100 ng/L)
 - Exprimée en UI (1 UI = 2,4 ng)
- **Non recommandé dans l'exploration de l'HSI :**
 - Peu spécifique (20% des sujets sains : concentration élevée)
 - Peu sensible (20% des sujets allergiques : concentration normale)
- Intérêt dans diagnostic/suivi de :
 - Dermatite atopique, urticaire chronique
 - Polysensibilisations
 - Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique (ABPA)
 - Infections parasitaires
 - Certains déficits immunitaires congénitaux



2 - Identification de l'allergène responsable de la réaction Dosage d'IgE spécifiques

- IgE spécifiques (~ 600 tests)

Tests multiallergéniques
(mélanges/dépistage)

Tests unitaires
(identification)

- Différents types d'allergènes
 - Allergènes inhalés = pneumallergènes
 - Pollens, animaux, arthropodes, acariens, moisissures
 - Allergènes ingérés = trophallergènes
 - Allergènes injectés
 - Médicaments
 - Venins d'hyménoptères
 - Allergènes professionnels

2 - Dosage d'IgE spécifiques : un langage codé..

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

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

2 - Dosage d'IgE spécifiques : techniques utilisées



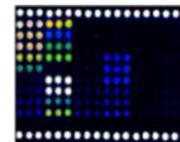
TECHNIQUES AUTOMATISÉES :

- IgE spécifiques
- Phadiatop, Trophatop
- Tryptase
- IgG4 spécifiques

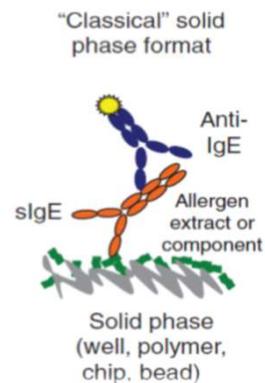
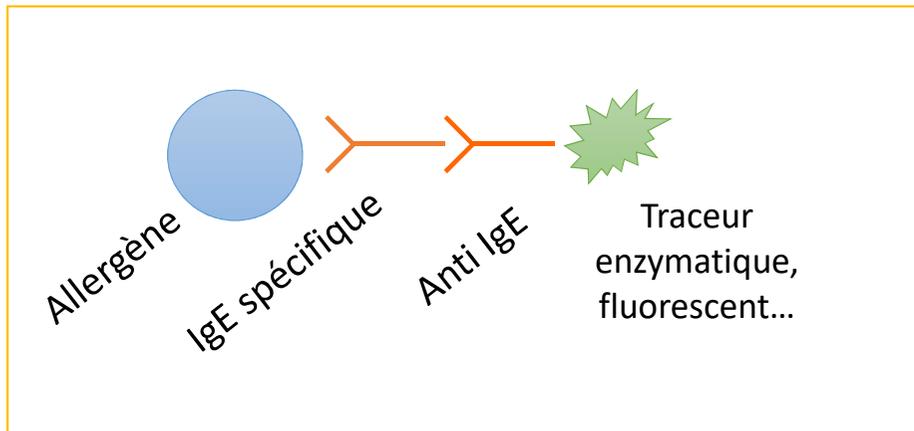


CLA :
Mixte
Trophallergènes
Pneumallergènes

ISAC / ALEX

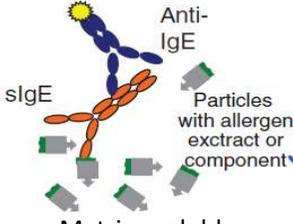
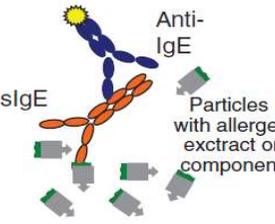
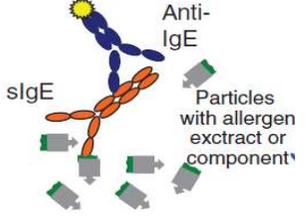
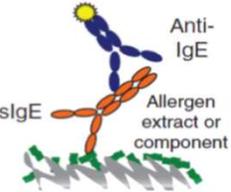


2 - Dosage d'IgE spécifiques : techniques utilisées

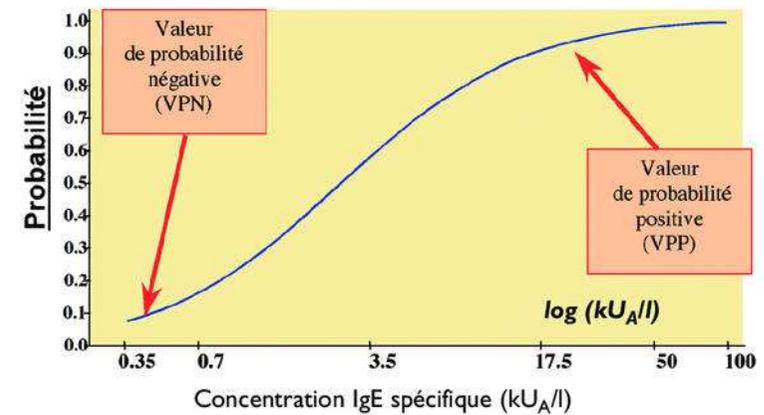
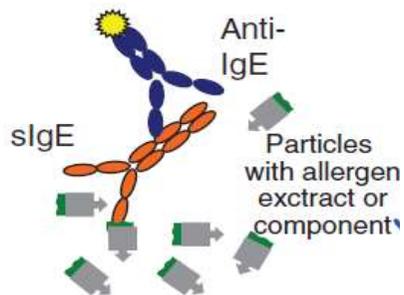
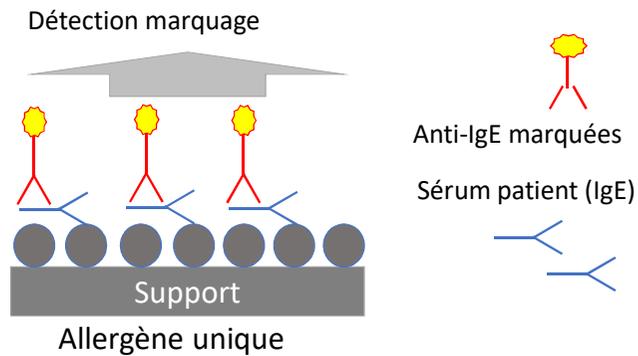


- Dérivent toutes du RAST (Radioallergosorbant Test) (1974)
- Différents tests commercialisés utilisant :
 - des supports/techniques différents
 - des extraits différents
- L'interprétation du résultat, se fait en tenant compte :
 - de la **technique** utilisée
 - de l'**allergène** testé
 - de l'**âge** du patient
 - du **terrain atopique**
 - des **pathologies associées**

Dosage automatisé d'IgE spécifiques

| | SIEMENS | HYCOR | IDS | THERMOFISHER |
|---|--|--|---|---|
| Automates | IMMULITE 2000 XPi Immunoassay System  | NOVEOS  | iSYS  | PHADIA  |
| Support |  <p>Matrice soluble biotinylée (polymères de polylysine)</p> |  <p>Matrice soluble Allergènes biotinylés</p> |  <p>Matrice soluble Allergènes biotinylés</p> |  <p>CAP membrane de cellulose</p> |
| Allergènes moléculaires : Nb de réactifs disponibles | 33 | 58 (dont 14 natifs) | 23 | 110 (dont 25 natifs) |

Dosage d'IgE spécifiques – Tests unitaires quantitatifs (identification)

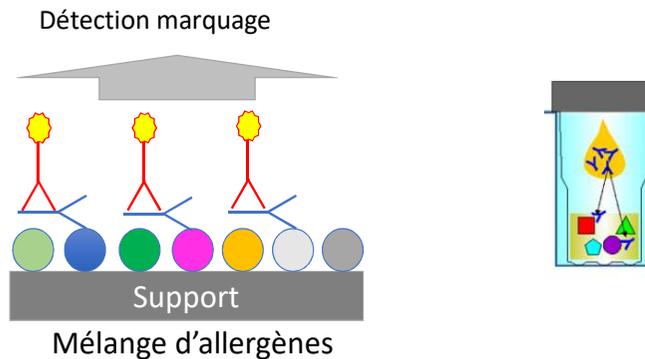


DOI: 10.53738/REVMED.2005.1.15.1004

- Quantitatif (kU/L)
- Gamme de mesure : <0,10 à >100 kU/L

Dosage d'IgE spécifiques – Tests de dépistage À l'aide de mélange d'allergènes

Test multiallergénique (dépistage)



- Mélanges alimentaires : fx (~40 mélanges)

Phadiatop

Mélange des allergènes représentatifs des aéroallergènes courant (acariens, animaux, moisissures, pollens d'herbacées, de graminées et d'arbre)

Trophatop enfant

- fx26 : Blanc d'œuf, lait de vache, arachide, moutarde
- fx27 : Poisson, noisette, soja, blé
- fx28 : Crevette, kiwi, bœuf, sésame

Trophatop adulte

- fx5 : Blanc d'œuf, lait de vache, arachide, poisson, soja, blé
- fx24 : Noisette, crevette, kiwi, banane
- fx25 : Sésame, levure de bière, ail, céleri

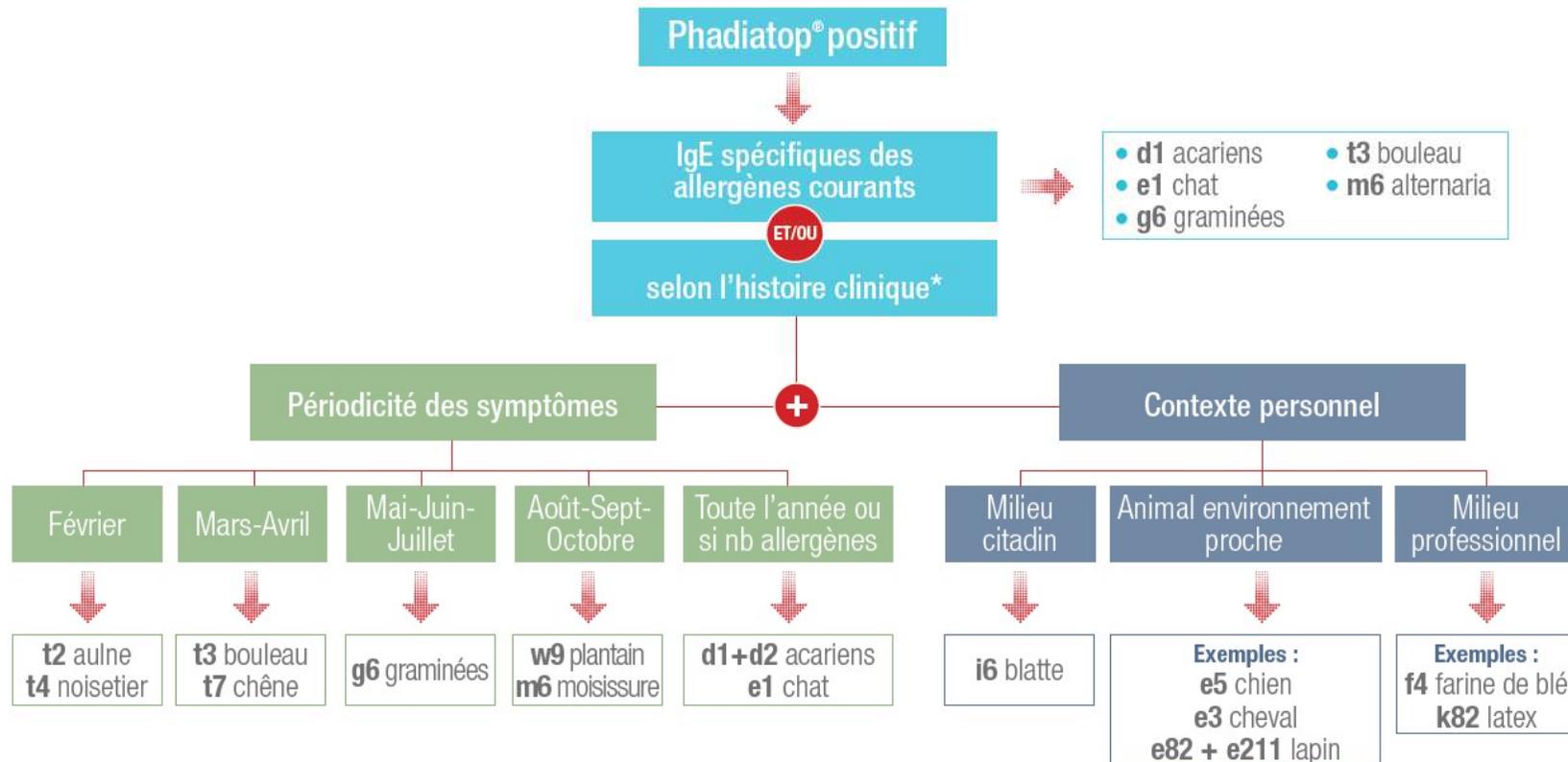
Résultat qualitatif :

- Résultat rendu = positif / négatif
- Seuil de positivité variable



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

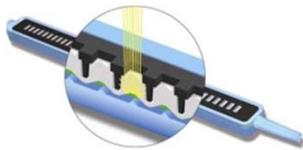
Phadiatop®



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

Dosage d'IgE spécifiques – Tests multiparamétriques sur un même support

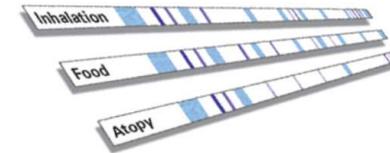
CLA
Eurobio/Ingen



TAP
Eurobio/Ingen



Euroline
Euroimmun



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

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

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

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

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

Contrôle réactionnel: valide

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

Dosage d'IgE spécifiques – Nomenclature

Nomenclature : Arrêté du 28 novembre 2003

Tests de dépistage

(pas d'identification de l'allergène)

- Recherche d'IgE spécifiques vis-à-vis de mélanges d'allergènes

- Ordonnances indiquant au maximum :
 - 1 mélange de pneumallergène
 - 3 mélanges alimentaires

Tests d'identification

- Tests unitaires vis-à-vis d'allergènes multiples
- Tests de quantification des IgE spécifiques vis-à-vis d'allergènes unitaires

- Ordonnances indiquant au maximum :
 - 5 aliments
 - 5 pneumallergènes
 - 5 venins
 - 5 médicaments
 - 1 test pour le latex

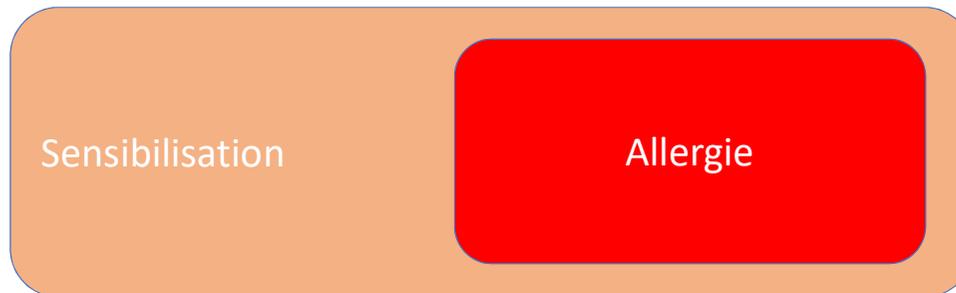
Nomenclature : Arrêté du 28 novembre 2003

Tableau récapitulatif :

| Cumulable avec | IgE totales | Phadiatop | Trophatop | CLA | IgE unitaires respiratoire | IgE unitaires alimentaire | RAST latex | RAST venins | RAST médicaments |
|----------------------------|-------------|-----------|-----------|-----|----------------------------|---------------------------|------------|-------------|------------------|
| IgE totales | | NON | NON | NON | NON | NON | OUI | OUI | OUI |
| Phadiatop | NON | | OUI | NON | NON | NON | OUI | OUI | OUI |
| Trophatop | NON | OUI | | NON | NON | NON | OUI | OUI | OUI |
| CLA | NON | NON | NON | | NON | NON | OUI | OUI | OUI |
| IgE unitaires respiratoire | NON | NON | NON | NON | | OUI | OUI | OUI | OUI |
| IgE unitaires alimentaire | NON | NON | NON | NON | OUI | | OUI | OUI | OUI |
| RAST latex | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | | OUI | OUI |
| RAST venins | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | | OUI |
| RAST médicaments | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | OUI | |

Dosage d'IgE spécifiques – Interprétation d'un résultat positif

- Mise en évidence d'une sensibilisation biologique :
sensibilisation : pas forcément allergie



- **Quantification** des résultats : affiner l'interprétation
- **Réactions croisées** entre allergènes à prendre en compte dans l'interprétation

Dosage d'IgE spécifiques – Limites des extraits allergéniques

- Composition **non standardisée** (mélange de protéines allergéniques et non allergéniques)
- Variable:
 - en fonction des **sources** : obtenus à partir de **sources allergéniques complexes**:
 - grains de pollens
 - squames et phanères d'animaux,
 - cultures d'acariens ou de blattes.....
 - des **procédés de préparation** :
 - Extraction aqueuse
 - Dégradation des allergènes fragiles lors de la préparation (chauffage)....
 - Procédés de **purification** et de **stockage** utilisés (contaminations)

Dosage d'IgE spécifiques – Tests unitaires

Extraits allergéniques / allergènes moléculaires

- IgE spécifiques avec extraits allergéniques naturels



Manque parfois de **spécificité et de sensibilité**

UNE EVOLUTION DANS LE DIAGNOSTIC
IN VITRO:

DES EXTRAITS ALLERGENIQUES

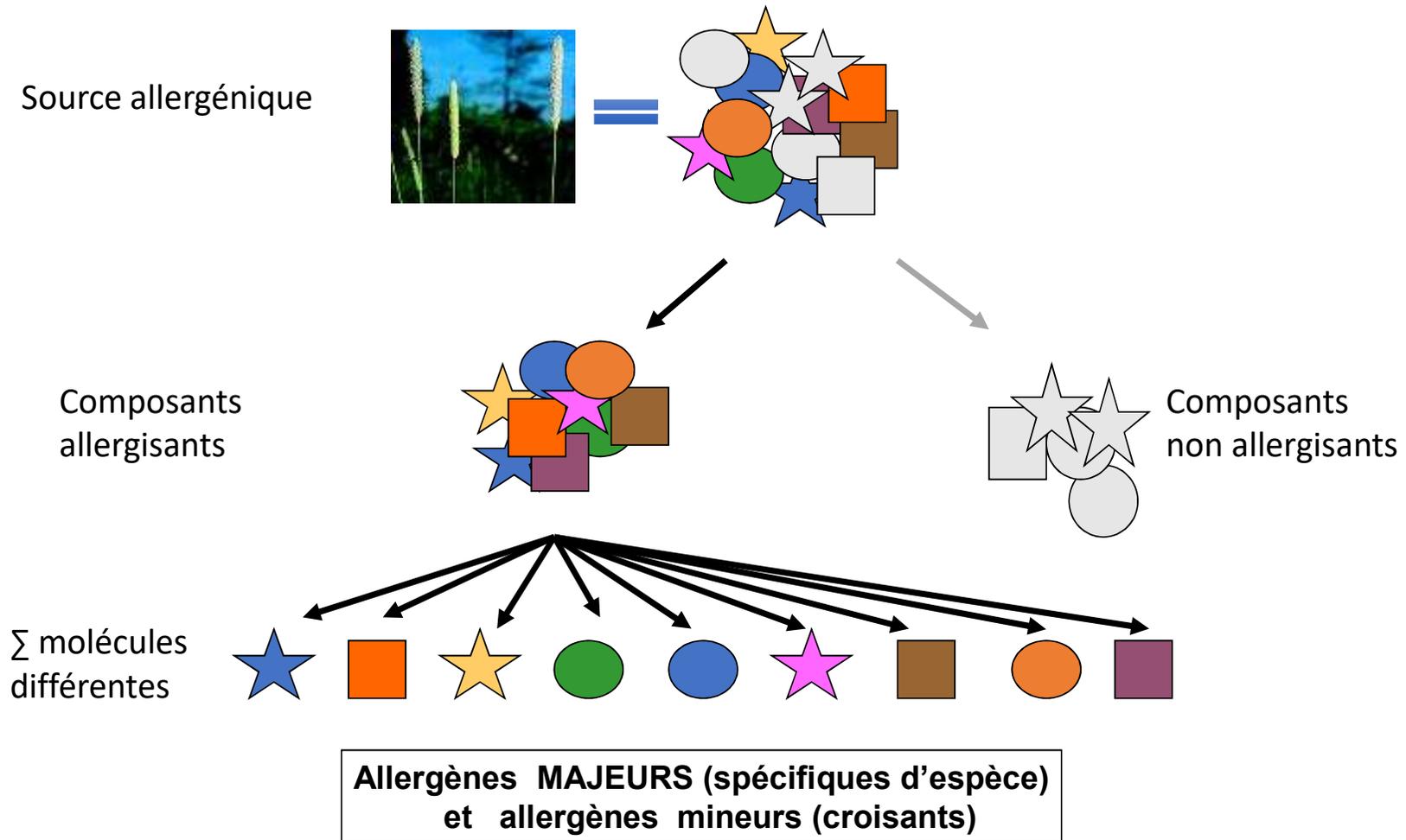
AUX ...

ALLERGENES MOLECULAIRES



Dosage d'IgE spécifiques – Tests unitaires

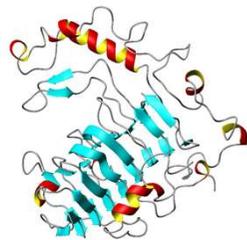
De la source allergénique aux allergènes moléculaires



Production des allergènes moléculaires

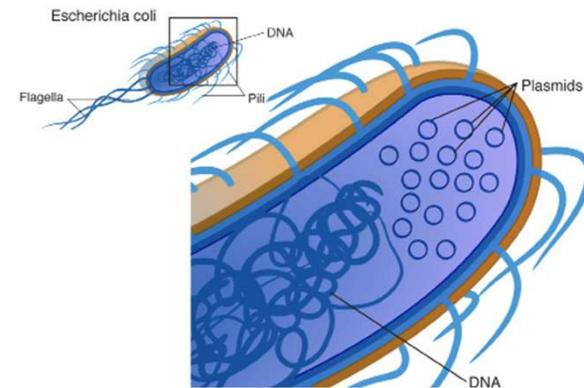
- Allergène natif

- Purifié à partir d'une source biologique dans laquelle l'allergène est normalement exprimé



- Allergène recombinant

- Produit par une cellule eucaryote ou procaryote
- Utilisation d'un système d'expression et d'un gene clone ou d'ADN complémentaire



Production des allergènes recombinants

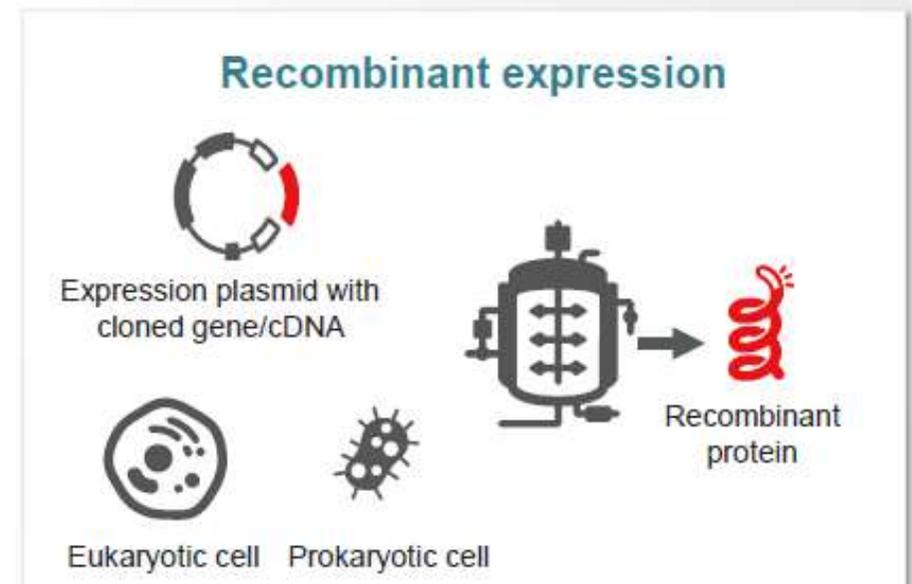
Procaryote (*ex : E. Coli*):

absence de compartiment intra-cellulaire
délimité par une membrane
Pas de modification post-traductionnelles
et donc pas de glycosylation

Eucaryote (*ex : P. pastoris*):

Compartiments intra-cellulaires
notamment RE et appareil de Golgi
permettant modifications post-
traductionnelles

ThermoFisher
SCIENTIFIC



-> validation de la pureté et validation de l'activité immunologique/ l'allergène naturel

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

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

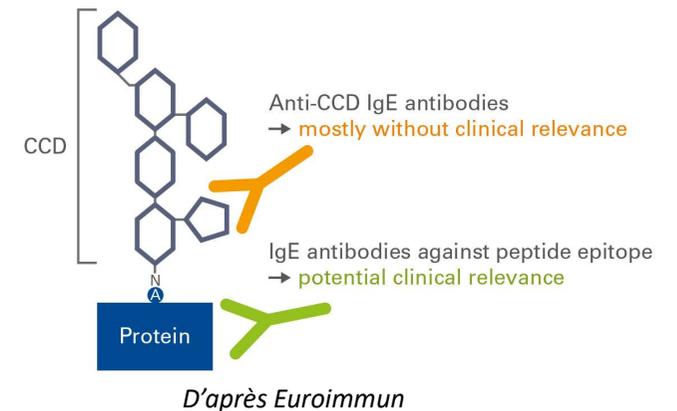
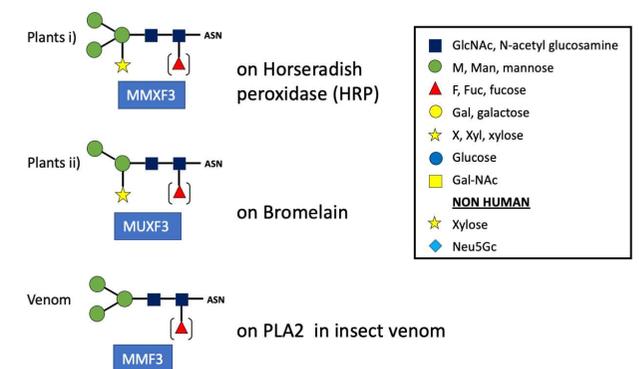


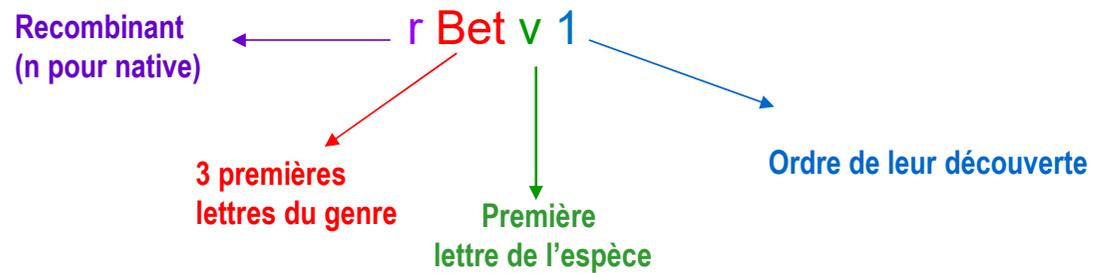
Fig 3 - Classical Cross-Reactive Carbohydrate Determinants (CCD)



Dosage d'IgE spécifiques – Tests unitaires

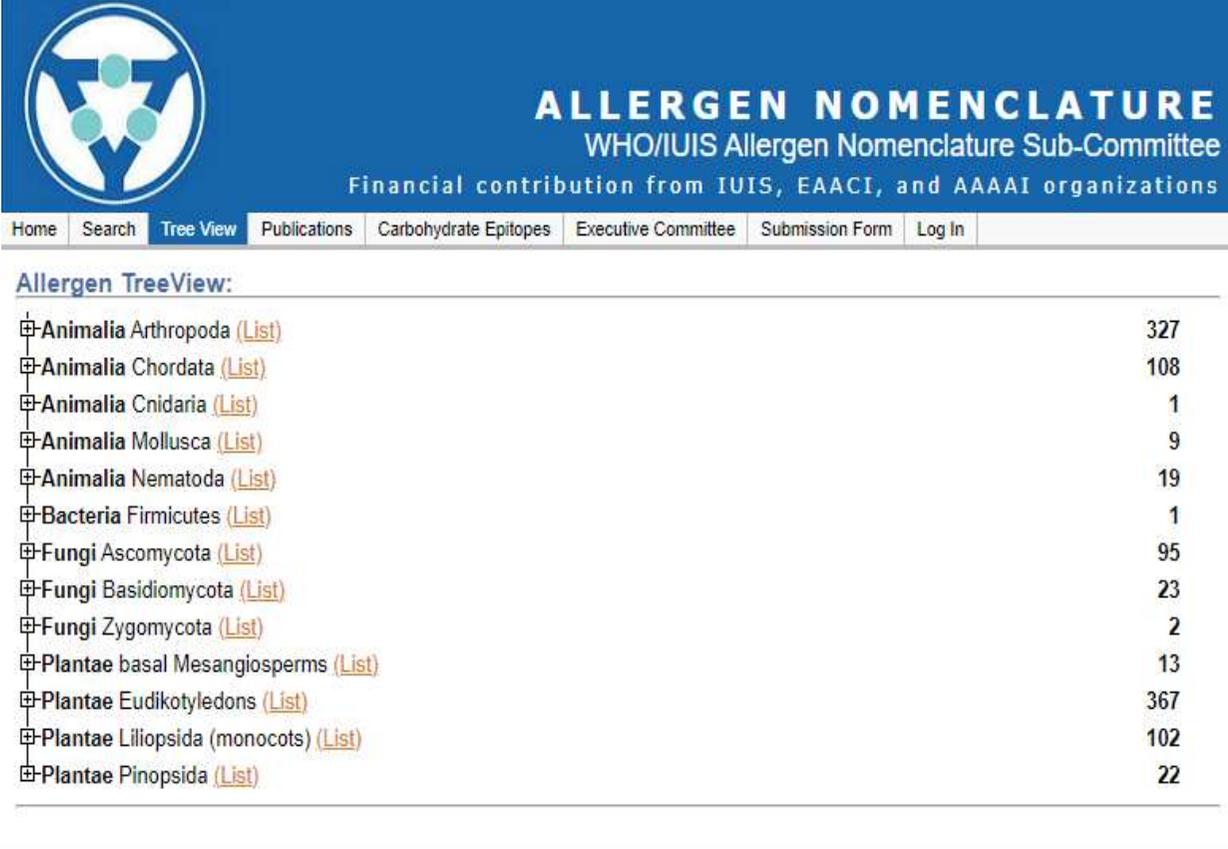
Rappels sur les allergènes moléculaires

- **Nomenclature** : exemple du bouleau *Betula verucosa*



Les Allergènes moléculaires

- Base de donnée WHO/IUIS : **1089 allergènes** moléculaires (mai 2023):
 - séquence protéique ou en AA connue
 - source allergénique connue
 - démonstration d'une réactivité IgE chez au minimum 5 patients
- Autres Bases de données :
 - www.allergome.org
 - www.allerdata.com



The screenshot shows the website header for the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee. The logo is a stylized 'W' and 'I' with three green circles. The title is 'ALLERGEN NOMENCLATURE' and the subtitle is 'WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee'. Below the title, it says 'Financial contribution from IUIS, EAACI, and AAAAI organizations'. The navigation menu includes 'Home', 'Search', 'Tree View', 'Publications', 'Carbohydrate Epitopes', 'Executive Committee', 'Submission Form', and 'Log In'. The main content area is titled 'Allergen TreeView:' and displays a list of allergen groups with their respective counts.

| Allergen Group | Count |
|--|-------|
| Animalia Arthropoda (List) | 327 |
| Animalia Chordata (List) | 108 |
| Animalia Cnidaria (List) | 1 |
| Animalia Mollusca (List) | 9 |
| Animalia Nematoda (List) | 19 |
| Bacteria Firmicutes (List) | 1 |
| Fungi Ascomycota (List) | 95 |
| Fungi Basidiomycota (List) | 23 |
| Fungi Zygomycota (List) | 2 |
| Plantae basal Mesangiosperms (List) | 13 |
| Plantae Eudikotyledons (List) | 367 |
| Plantae Liliopsida (monocots) (List) | 102 |
| Plantae Pinopsida (List) | 22 |

Dosage d'IgE spécifiques – Apport pratique des allergènes moléculaires

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

Dosage d'IgE spécifiques – Apport pratique des allergènes moléculaires

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

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique Outil de dépistage des réactions croisées

Entre espèces **taxonomiquement proches** :

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

Entre espèces **taxonomiquement éloignées** :

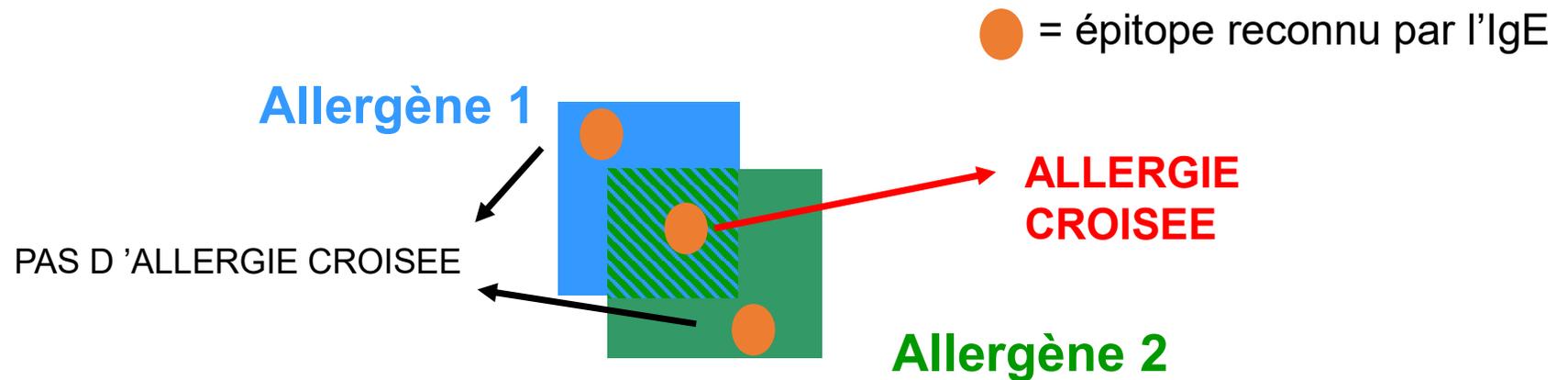
- La relation botanique ne permet plus d'expliquer les réactions croisées
- Notion de famille moléculaire (protéines provenant de divers allergènes et ayant la même fonction physiologique)

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique
Réactions croisées entre allergènes inhalés et aliments

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

d'après Helbling A, 1997

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique Outil de dépistage des réactions croisées



Une même IgE peut reconnaître les deux allergènes si épitope de même communauté de structure

Dépistage des réactions croisées sur des bases moléculaires

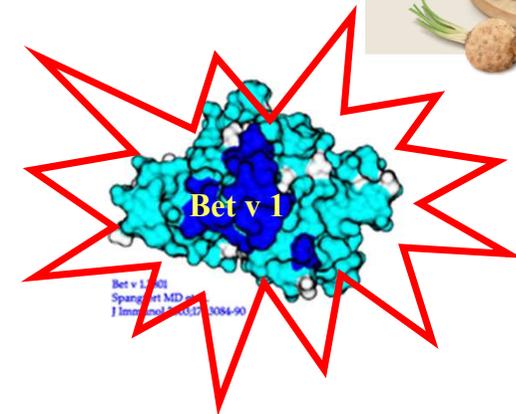
Aide à l'interprétation des polysensibilisations cutanées

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

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique

Réactions croisées : exemple de la famille des PR-10

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



Gly m 4



Ara h 8



Dau c 1



Pru ar 1



Cor a 1



Pru p 1



Pyr c 1



Mal d 1



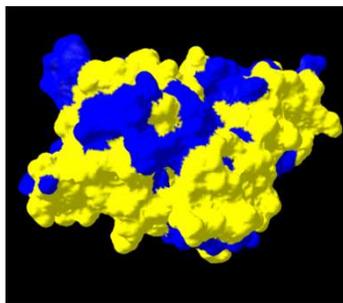
Pru av 1



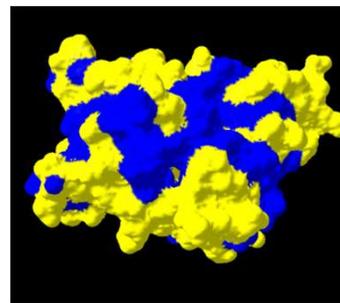
Api g 1

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique
Expliquer des réactions croisées sur des bases moléculaires

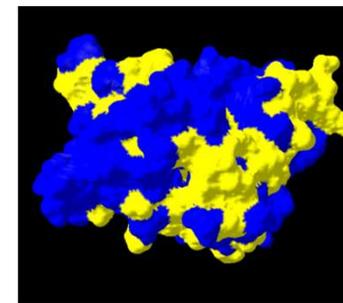
| Identité / allergène | Bet v 1 | Mal d 1 | Gly m 4 | Api g 1 |
|----------------------|---------|---------|---------|---------|
| % séquences | 100 | 56 | 47 | 39 |
| % surface | 100 | 71 | 60 | 47 |



Bet v 1 vs. Mal d 1



Bet v 1 vs. Gly m 4



Bet v 1 vs. Api g 1

 Surface commune

Degré de similitude des épitopes conformationnels

D'après Radauer, Allergy School Bichenberg 2007

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique

Quelques familles moléculaires

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

Classification des familles d'allergènes végétaux

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

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

Apports des dosages d'IgE spécifiques en pratique

Quelques familles moléculaires

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

Dosage d'IgE spécifiques – Apport pratique des allergènes moléculaires

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

Amélioration des tests biologiques, exemple du soja (f14)

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



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

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

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

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

Amélioration des tests biologiques, exemple de la noisette (f17)

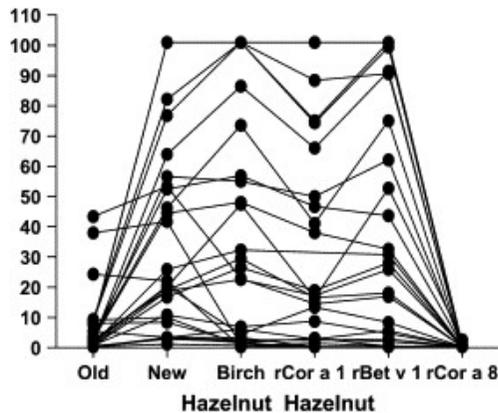


Noisette (f17)

- Cor a1 (PR-10, homologue de Bet v 1) détruite par le chauffage lors de la préparation de f17
- Enrichissement du test f17 en **rCor a 1**

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

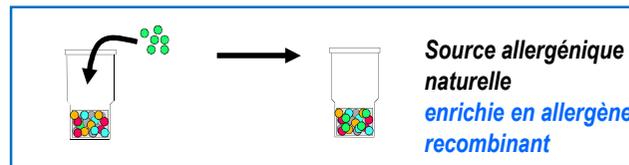
(Sicherer S. et al, JACI, August 2008 413-415)



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

Depuis décembre 2013 : enrichissement en Cor a 8

Amélioration des tests biologiques



Latex (k82)

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



Noix (f256)

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



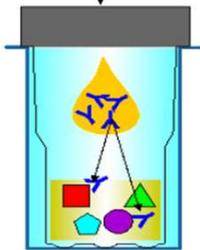
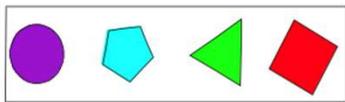
Venin de guêpes

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

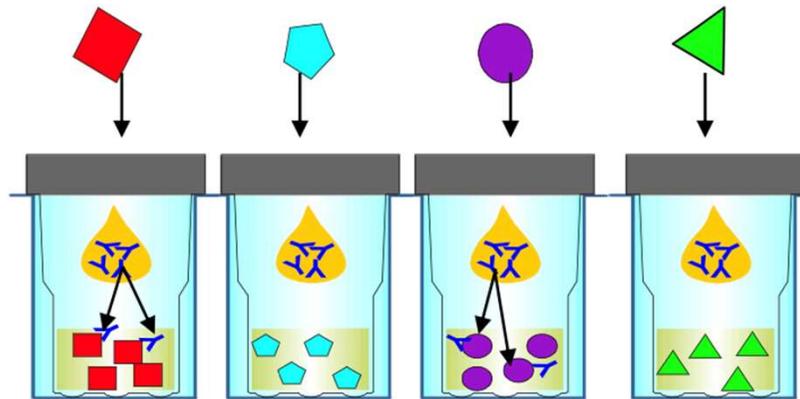
Dosage d'IgE spécifiques – Apport pratique des allergènes moléculaires

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

Source allergénique



Composants allergéniques natifs ou recombinants



Dosage plus spécifique

Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

Exemple du latex

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

Sensibilisation =
argument en faveur
d'une allergie au
latex

Allergène majeur = 50% ou plus des patients allergiques sont sensibilisés à cet allergène

Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

Exemple du latex

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

Réactions croisées
avec pollens et
aliments d'origine
végétale

Allergène majeur = 50% ou plus des patients allergiques sont sensibilisés à cet allergène

Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

Exemple du latex

Intérêt de **rHevb5** dans le diagnostic d'allergie au latex

- Homme de 22 ans
- **Etudiant en médecine**
- Pas de terrain atopique :
 - Pas de pollinose
 - Pas d'allergie alimentaire
- **Rhinoconjonctivite à l'arrivée dans le service clinique**

- Prick-tests latex : **négatif**
- **k82 : 4,39 kU/L**

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

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

Réaction croisée biologique Ex du latex

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

Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

Exemple de l'arachide

- IgE spécifiques arachide (extrait total)

| | sensibilité | spécificité |
|-----|-------------|---------------|
| f13 | 100 % | 42,5 % |

→ Régime d'éviction non pertinent

Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

Exemple de l'arachide

- IgE spécifiques arachide (extrait total)

| | | |
|-----|-------------|-------------|
| | sensibilité | spécificité |
| f13 | 100 % | 42,5 % |

→ Régime d'éviction non pertinent

- Les allergènes de l'arachide :

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

Autres allergènes de la même famille moléculaire

Allergènes moléculaires et diagnostic plus spécifique

Exemple de l'arachide

- IgE spécifiques arachide (extrait total)

| | sensibilité | spécificité |
|-----|-------------|-------------|
| f13 | 100 % | 42,5 % |

→ Régime d'éviction non pertinent

- Les allergènes de l'arachide :

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

→ Vers un diagnostic plus spécifique

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

Dosage d'IgE spécifiques – Apport pratique des allergènes moléculaires

1. Outil pour améliorer les tests biologiques « classiques »
2. Outil pour « dépister » les réactions croisées sur des bases moléculaires et aider à l'interprétation des polysensibilisations cutanées
3. Outil pour évaluer la sévérité de l'allergie
4. **Outil pour améliorer/personnaliser la prise en charge du patient (immunothérapie spécifique, établir un risque de réactions sévères, indication d'un TPO, éviction)**

Identification de Marqueurs de sévérité

Suivant la famille moléculaire impliquée

Expression clinique de l'allergie différente :
Syndrome oral ou réaction systémique grave

- **PR-10** : Allergènes sensibles:

- à la pepsine
- à la chaleur/cuisson

→ Symptômes uniquement si les aliments sont consommés crus =
Syndrome oral

- **LTP** : Allergènes résistants à

- la pepsine et à la cuisson : structure préservée dans le tractus digestif

→ Risque de réactions systémiques

Famille des LTP

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



Cor a 8



Pru p 3



Zea m 14



Pru av 3



Pru ar 3



Ara h 9



Mal d 3



Jug r 3

LTP

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

Les protéines de stockage

Raisonnement par source allergénique ou par familles moléculaires



Prolamines

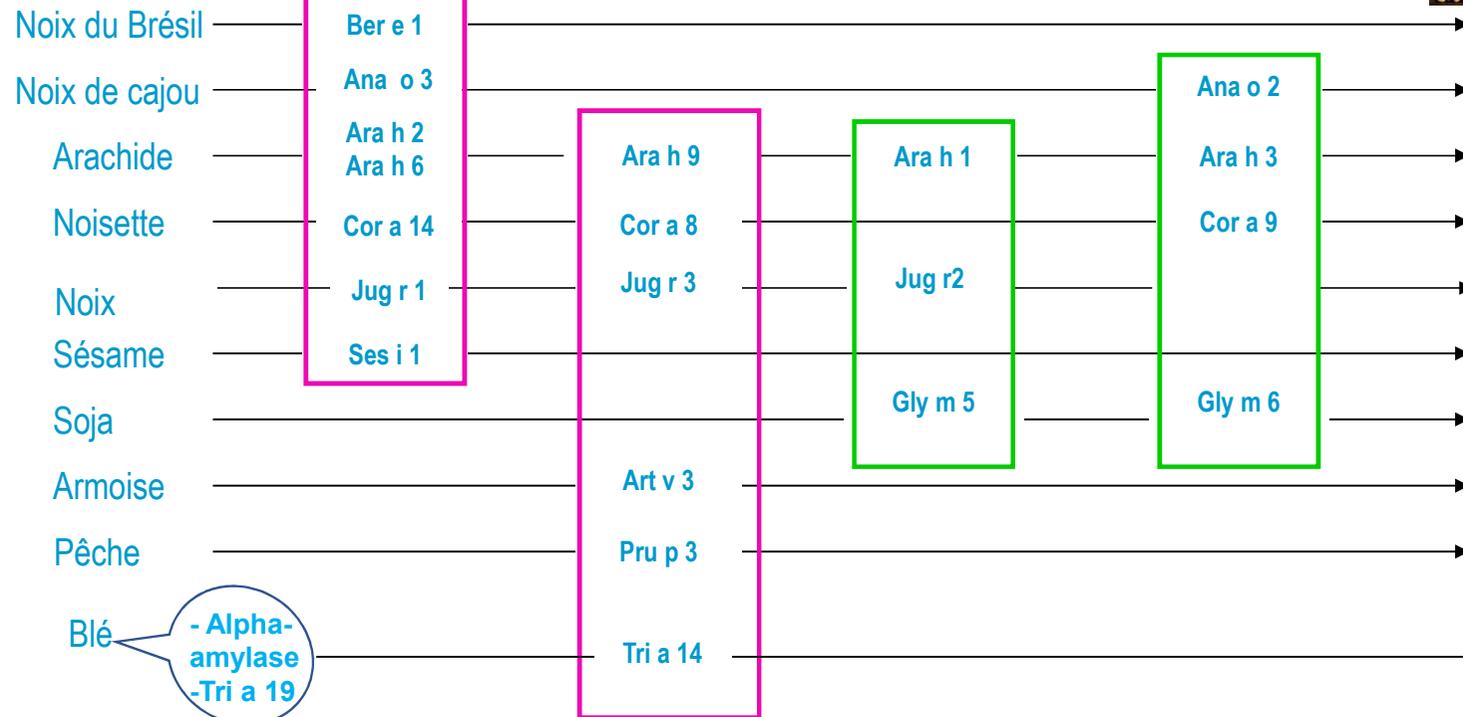
Cupines

Albumines 2S

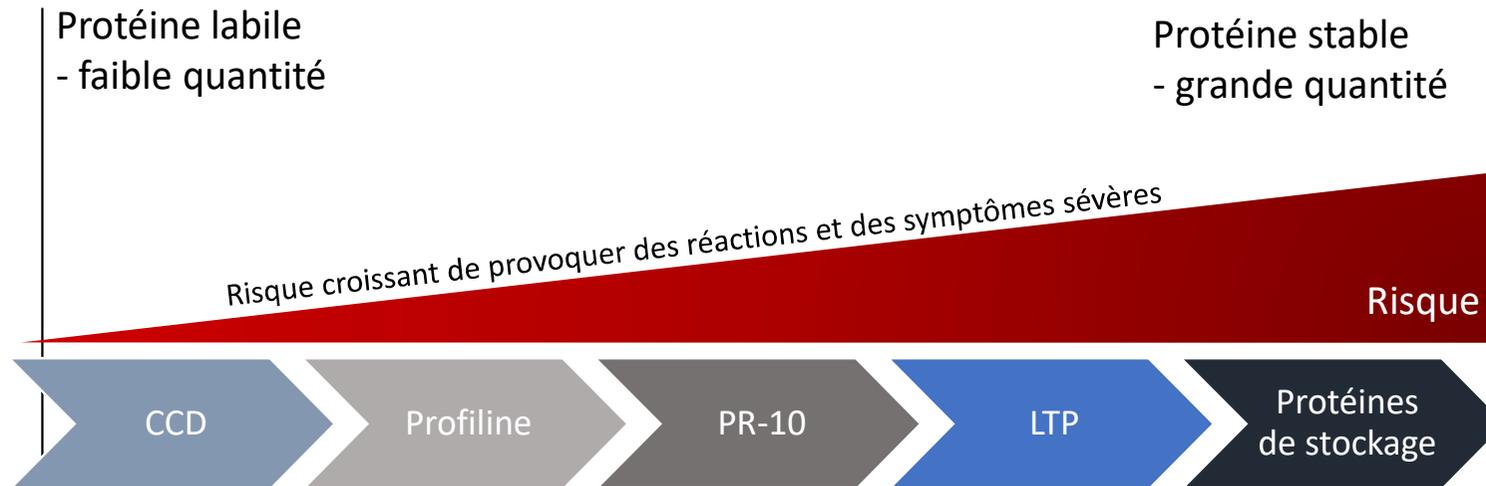
LTP

Vicilines
Globulines 7S

Légumine
Globulines 11S

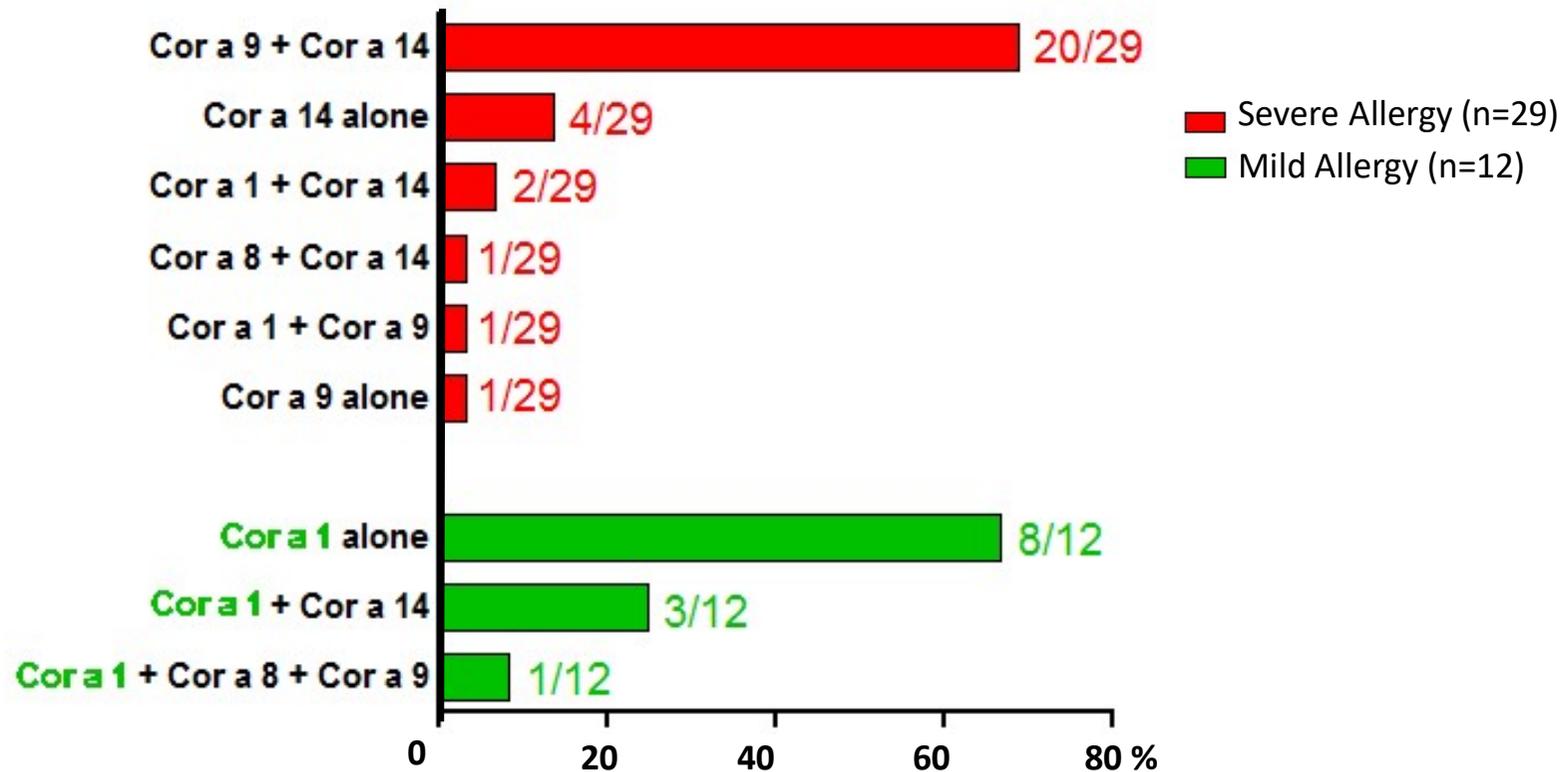


Evaluation (simplifiée) du risque en fonction de la famille moléculaire



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

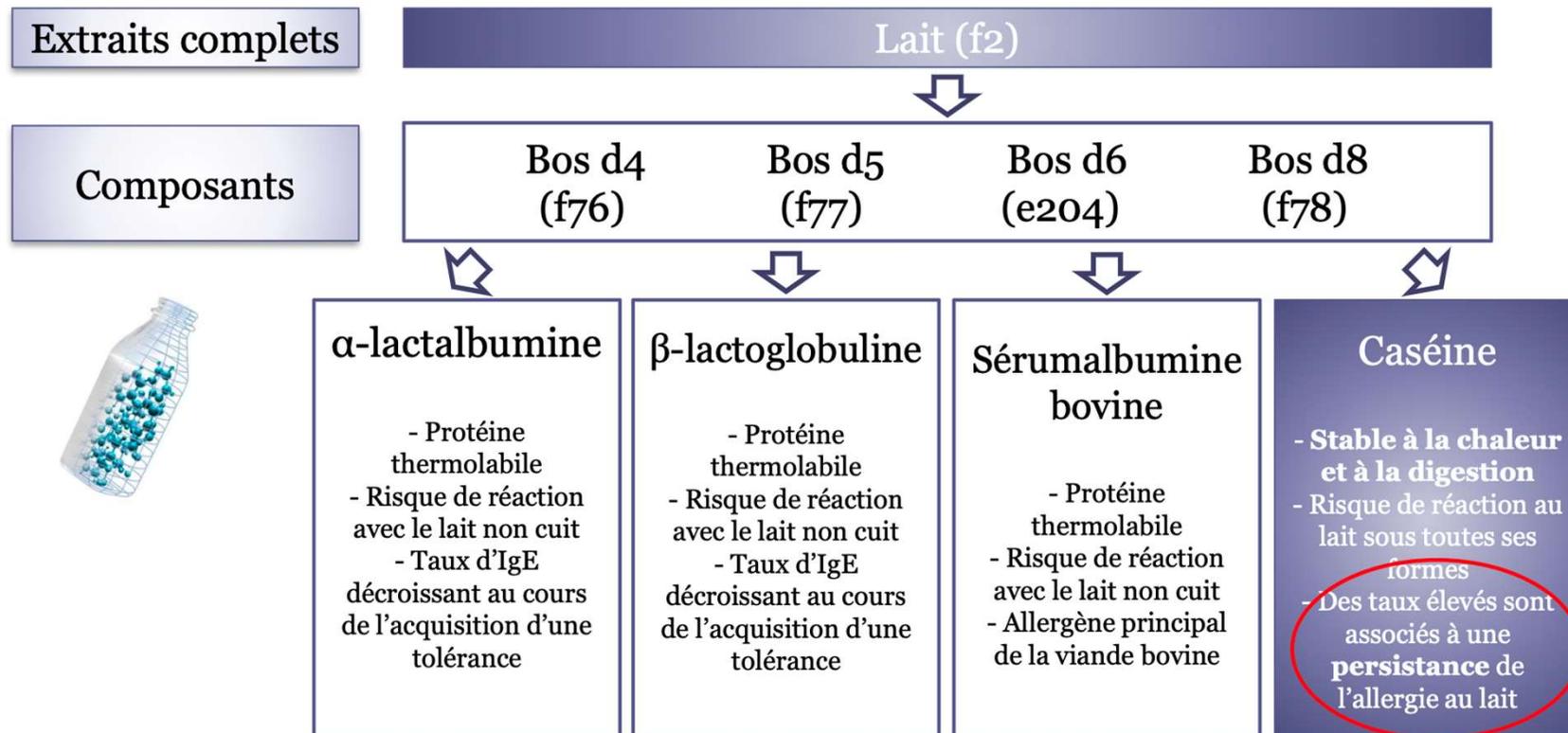
Identification de marqueurs de sévérité : exemple de la noisette



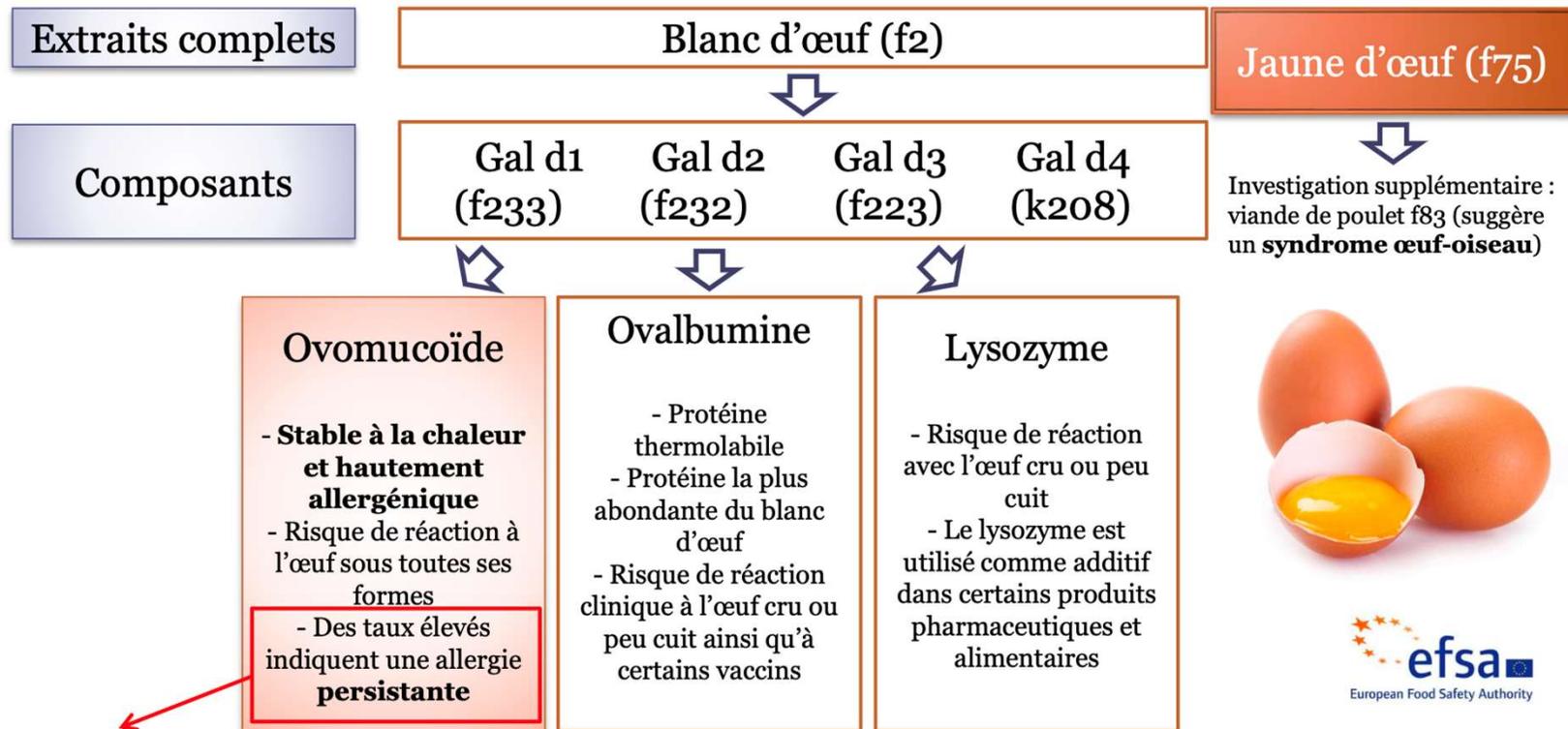
Identification de marqueurs de persistance de l'allergie

1. Confirmation de l'allergie IgE médiée

2. Aide à la prise en charge



Identification de marqueurs de persistance de l'allergie



tolérance si < 1kU/L

réaction clinique / persistance si > 11 kU/L

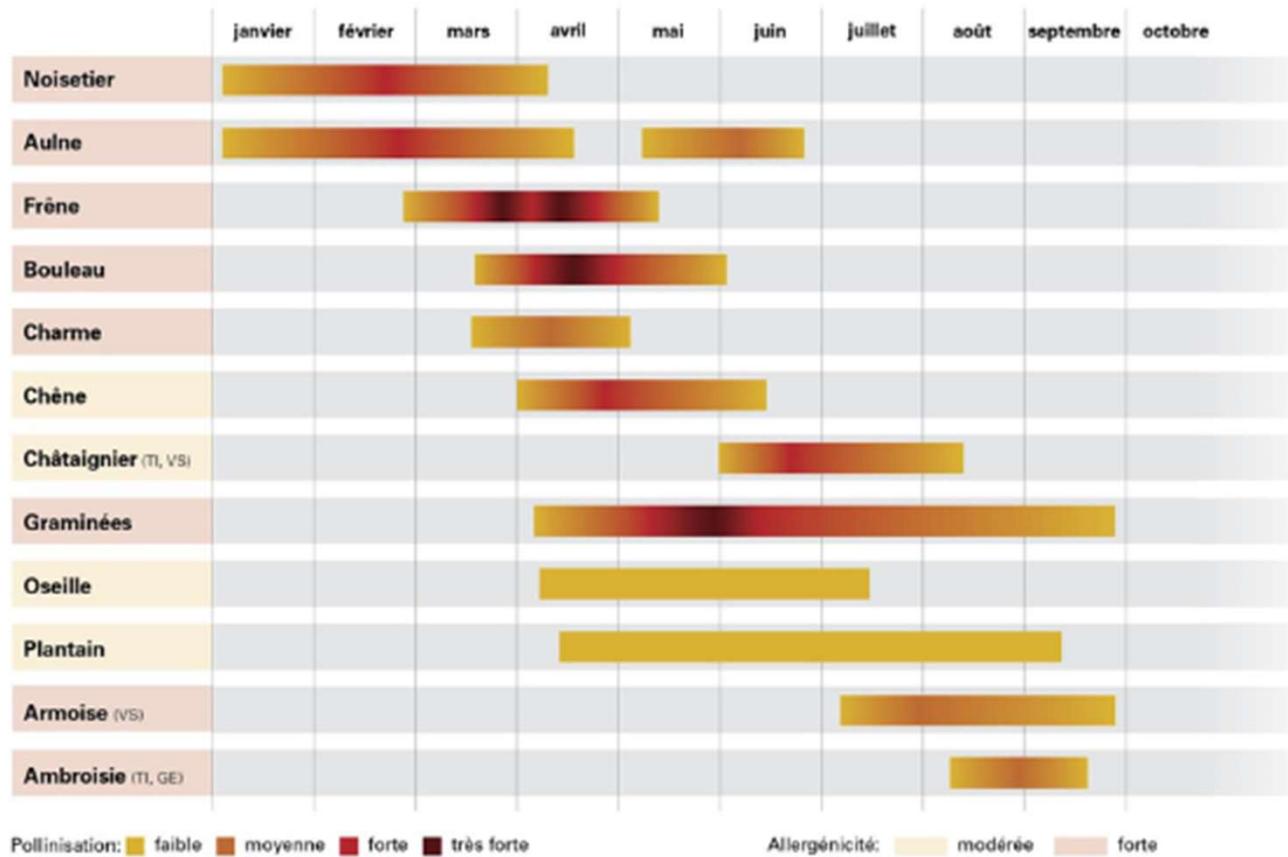
State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy
 Benhamou A. H., Caubet J.-C., Eigenmann P. A., Nowak-We, grzyn A, Marcos C. P., Reche M,
 Urisu A. Allergy 2010,65, 283–289

Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

- Polysensibilisation à des pollens...



Les saisons polliniques se chevauchent



<https://www.pollenundallergie.ch/informations-polliniques/calendrier-pollinique>

Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

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



Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

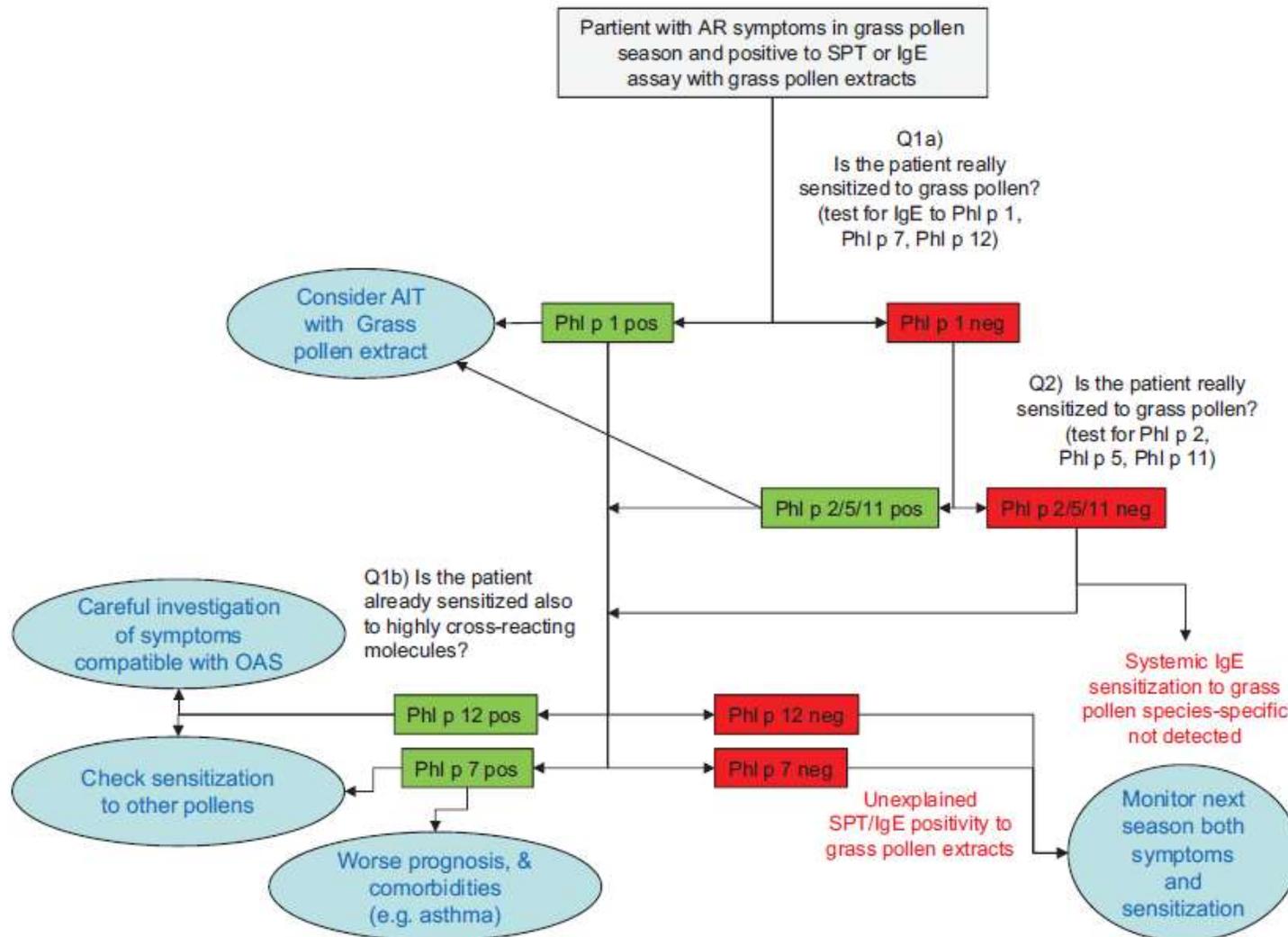
- ... ou une réactivité croisée due à des composants « croisants » ?



Outils pour améliorer les indications de l'immunothérapie spécifique

| | Composants allergéniques marqueurs d'une vraie sensibilisation | Composants allergéniques marqueurs de réactivité croisée* |
|-----------|--|--|
| Arbres | <p>Bouleau rBet v 1</p> <p>Cyprès nCup a 1</p> <p>rOle e 9</p> | <p>Profiline rBet v 2</p> <p>Polcalcine</p> |
| Graminées | <p>Phléole rPhl p 1</p> <p>rPhl p 5b</p> <p>rPhl p 1+ 5b</p> | <p>Profiline rPhl p 7</p> <p>Polcalcine rPhl p 12</p> <p>rPhl p 7 + 12</p> |
| Herbacées | <p>Armoise nArt v 1</p> <p>nArt v 3</p> <p>Ambroisie nAmb a 1</p> | |

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



Dosage d'IgE spécifiques – Biopuces multi-allergéniques

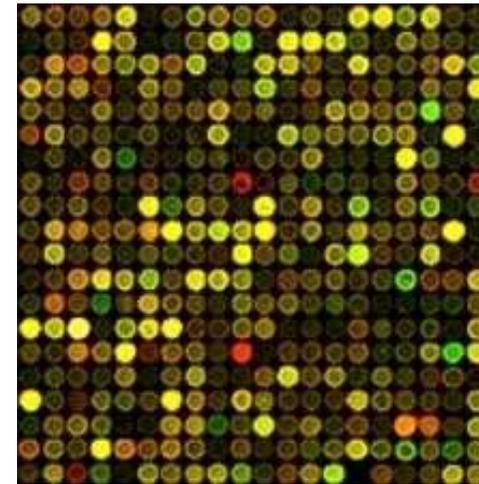
Faible quantité de sérum (< 100µL)

Fixation de différentes biomolécules sur un format
microscopique

Détermination d'un profil de sensibilisation

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

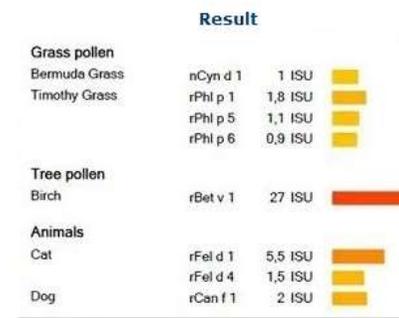
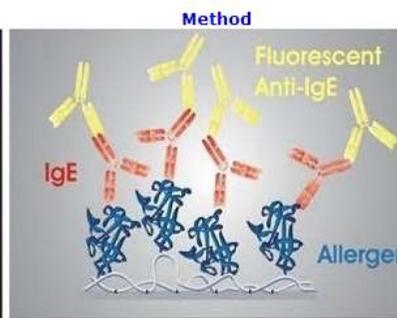
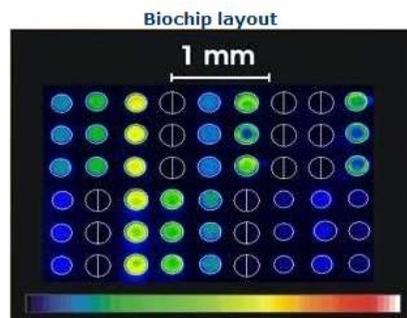
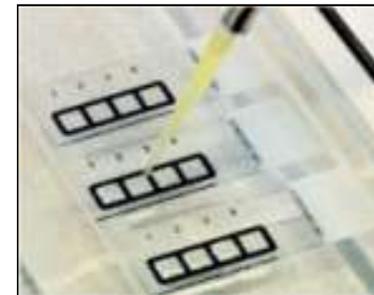
Possibilité d'explorations parallèles (ex : IgE/IgG)



**Plateforme d'immunodosage miniaturisée qui combine
la technologie Biopuce et le concept d'allergologie moléculaire**

Dosage d'IgE spécifiques – Biopuces multi-allergéniques : Test ISAC Thermofisher Scientific

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



Exemple de résultat de Biopuce ISAC 112



Thermo
SCIENTIFIC



ImmunoCAP
ISAC

INFORMATION ECHANTILLON

ID Echantillon : 1121624_3
 Date échantillon : 16.12.2011
 Statut validation : Measured
 Date impression : 12.03.2012
 Courbe de calibration : KS14 23/11/2011 14:48:51

INFORMATION PATIENT

ID Patient : 1100564561
 Nom :
 Date de naissance : Age : 31
 ID/MR# : Sexe :

INFORMATION MEDECIN PRESCRIPTEUR

Médecin prescripteur : HJ ALLERGO
 Adresse : 36408 CHLS

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

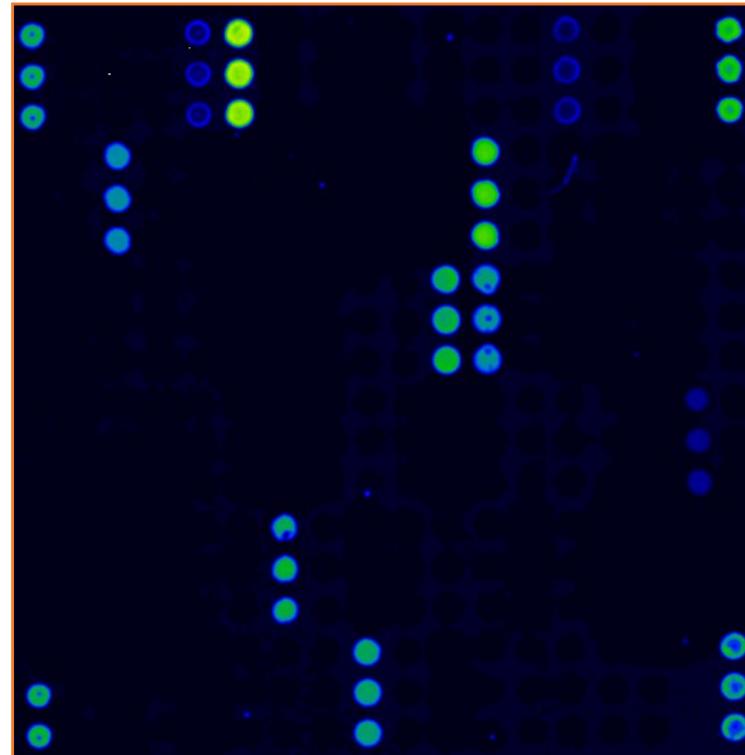
Composants d'aéroallergènes principalement spécifiques d'espèces

| Composant | Protéine | ISU-E | Niveau |
|------------------|---------------|----------|----------------|
| Pollens d'arbres | rBet v 1 | 31 ISU-E | Modéré / Elevé |
| Bouleau | PR-10 protein | 31 ISU-E | Modéré / Elevé |

Composants marqueurs de réactivité croisée

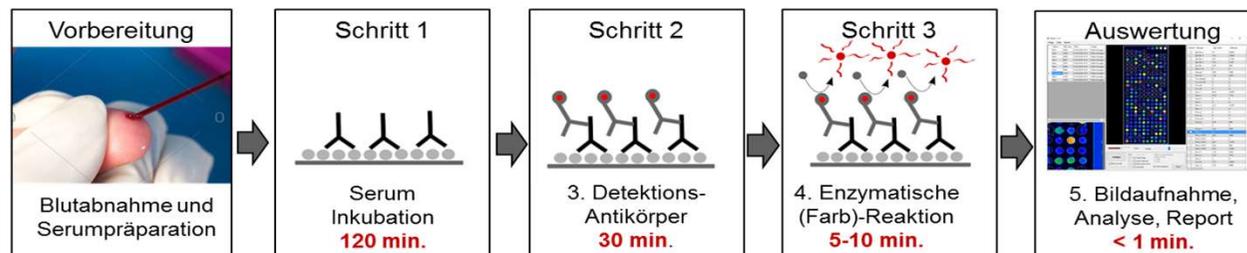
| Protéines PR-10 | Protéine | ISU-E | Niveau |
|---------------------|---------------|-----------|----------------|
| Aulne | rAln g 1 | 46 ISU-E | Très élevé |
| Pollen de noisetier | rCor a 1.0101 | 22 ISU-E | Modéré / Elevé |
| Noisette | rCor a 1.0401 | 15 ISU-E | Modéré / Elevé |
| Pomme | rMal d 1 | 20 ISU-E | Modéré / Elevé |
| Pêche | rPru p 1 | 20 ISU-E | Modéré / Elevé |
| Soja | rGly m 4 | 1,9 ISU-E | Indétectable |
| Arachide | rAra h 8 | 16 ISU-E | Modéré / Elevé |
| Kiwi | rAct d 8 | 1,8 ISU-E | Indétectable |
| Céleri | rApi g 1 | 1,6 ISU-E | Indétectable |

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



Dosage d'IgE spécifiques – Biopuces multi-allergéniques : Test ALEX – Macroarray Diagnostics

- **302 allergènes fixés sur des microbilles**
 - **118 extraits**
 - **184 allergènes moléculaires**
- Dosage semi-quantitatif : calibrateurs intégrés sur chaque biopuce
- Estimation du taux d'IgE totales
- Signal colorimétrique



Dosage d'IgE spécifiques – Biopuces multi-allergéniques : Indications

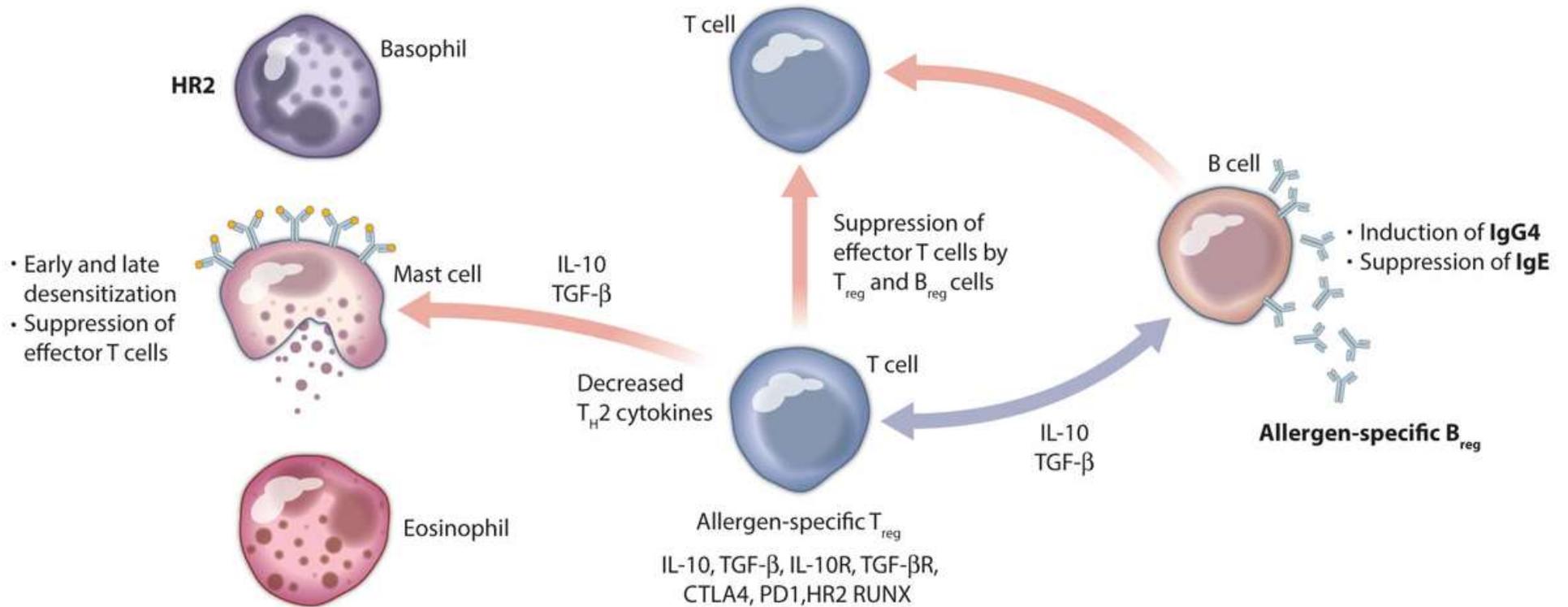
- **Définition du profil de sensibilisation d'un patient polyallergique**
 - Asthme sévère
 - Allergies alimentaires multiples et sévères
 - Poser l'indication d'une immunothérapie spécifique chez un polysensibilisé
- **Histoire clinique mal ou non expliquée par les tests traditionnels**
 - Anaphylaxie avec enquête allergologique négative
- **Pathologies nécessitant un bilan allergologique étendu au diagnostic**
- **Diagnostic d'élimination de l'allergie**
- **Etudes épidémiologiques**
- **Limites :**
 - Souvent moins sensibles que les tests unitaires, non exhaustifs
 - Tests semi-quantitatifs
 - Hors NABM

A WAO - ARIA - GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics

Canonica et al. World Allergy Organization Journal 2013, 6:17

<http://www.waojournal.org/content/6/1/17>

Exploration des HSI : mécanismes de tolérance



Exploration des HSI : induction de tolérance orale et IgG4 spécifiques

Enfant de 13 ans

1^{er} accident avec l'arachide à l'âge de 2 ans. Depuis, 4 à 5 réactions de grade 2.

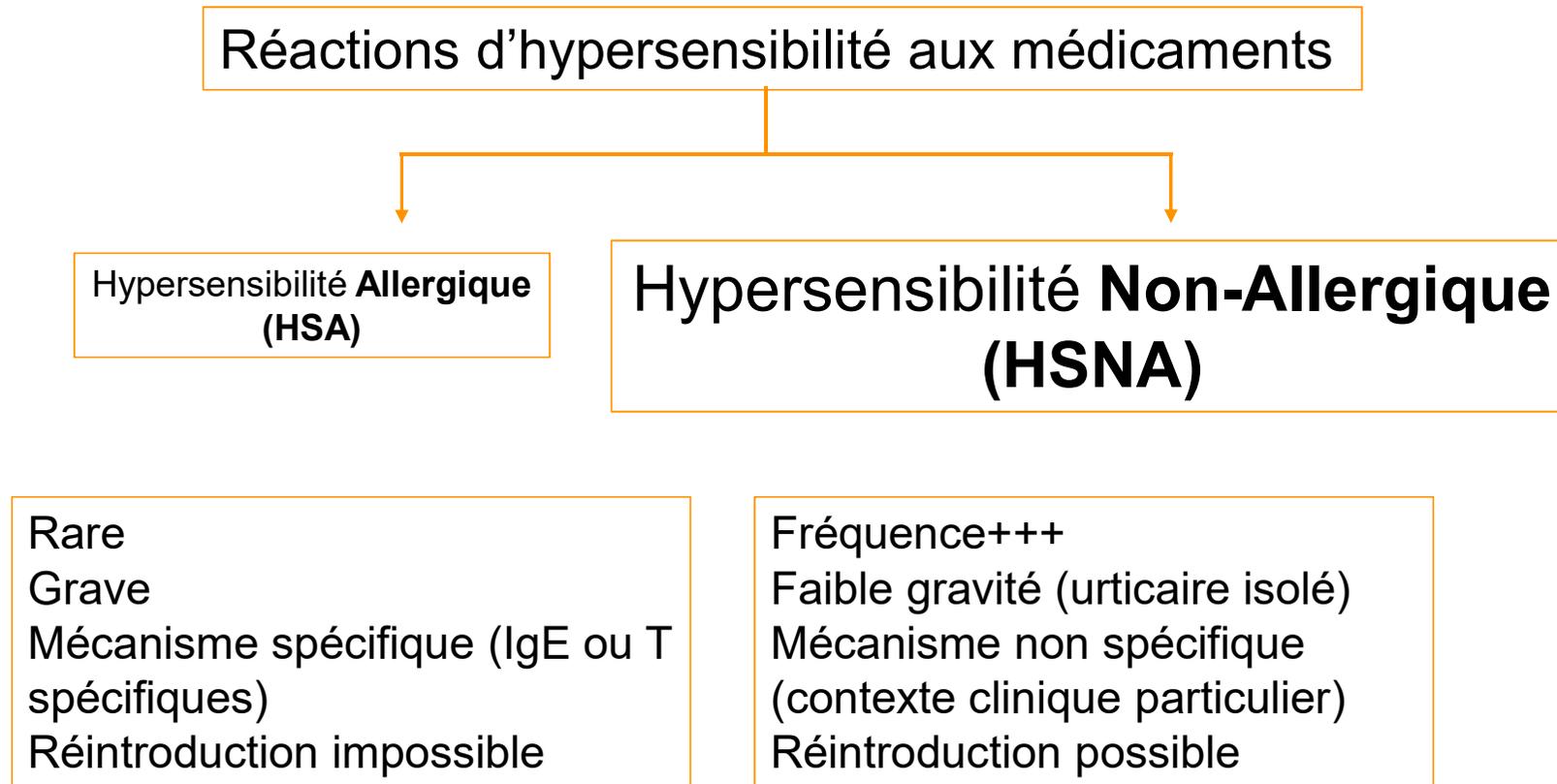
Début de l'Induction

| Date de plvt | Prick | IgE arachide (kU/L) | IgG4 arachide (mg/L) | Ratio IgG4/IgE | r ara h1 | r ara h2 | r ara h3 | r ara h8 | r ara h9 | Dose ingérée durant le TPO |
|--------------|-------|---------------------|----------------------|----------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------------------|
| 19/01/2016 | 10 | 60,3 | 0,6 | 4,11 | 0,21 | 19,7 | 0,19 | 88,6 | 0,24 | 66 (douleurs abdo) |
| 28/06/2016 | 5 | 85,2 | 0,95 | 4,61 | 0,22 | 27,4 | 0,4 | >100 | 0,47 | 210 |
| 20/12/2016 | 3 | 50,1 | 1,68 | 13,86 | 0,12 | 17,2 | 0,21 | >100 | 0,24 | 950 |
| 19/09/2017 | 2 | 61,3 | 6,42 | 43,28 | 0,18 | 15,2 | 0,23 | 92,6 | 0,23 | 3200 |

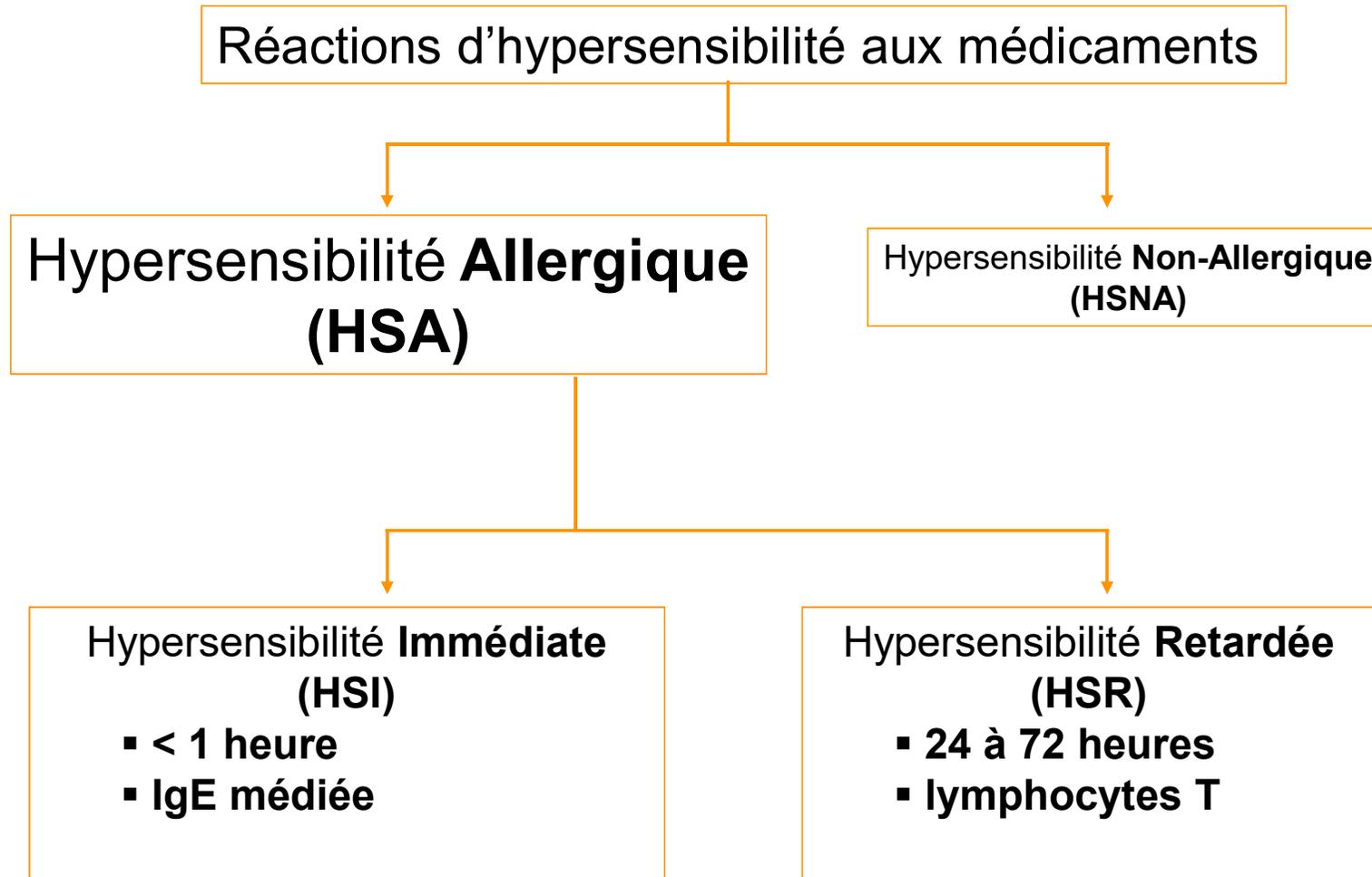
Tests cellulaires

Tests d'activation des basophiles

Réactions d'hypersensibilité aux médicaments



Réactions d'hypersensibilité aux médicaments



Limites du dosage des IgE spécifiques

1. **Nombre limité de tests commerciaux disponibles pour certains antigènes** (médicaments) pour des raisons :
 - Techniques : **Difficulté de produire des réactifs pour doser des IgE spécifiques dirigées contre des haptènes**
 - Commerciales : Fréquence faible des allergies médicamenteuses par rapport aux allergies aux antigènes protéiques (respiratoires, alimentaires et venins)
2. Le dosage des IgE spécifiques est un dosage **quantitatif**, qui ne prend pas en compte l'affinité de l'IgE vis-à-vis de l'Ag
 - Quantité d'IgE n'est pas forcément un signe de gravité de l'allergie
 - Certains individus ont des IgE spécifiques sans être allergique : sensibilisation biologique

Limites du dosage des IgE spécifiques

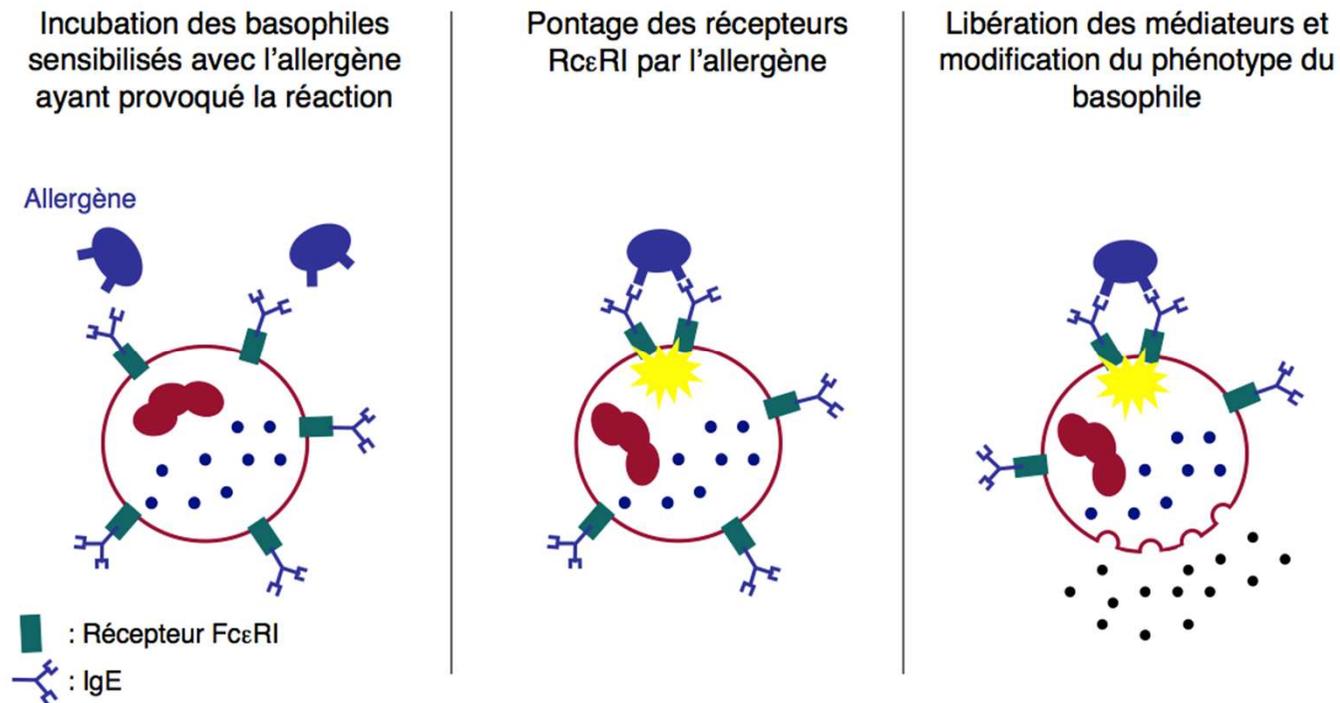
Nécessité de développer des tests « à la carte » permettant de tester n'importe quel allergène (ie : médicament qu'a reçu le patient lors de son accident)

⇒ **Test d'Activation des Basophiles**

Test d'Activation des Basophiles (TAB)

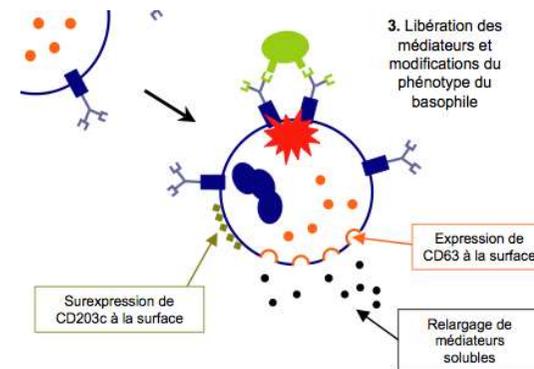
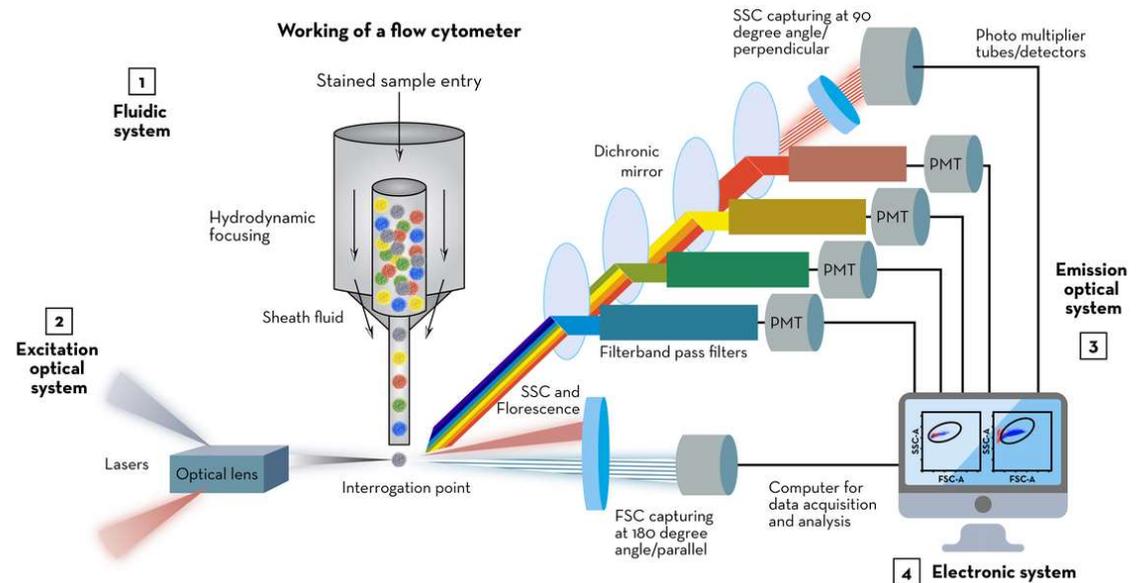
- Principe :

- Reproduire *in vitro* les conditions ayant conduit aux phénomènes allergiques cliniques observés chez le patient :



Identification des basophiles en cytométrie en flux

- Technique d'analyse des cellules en suspension dans un liquide
- Passage des cellules devant une source laser
- Emission d'un signal de diffraction laser : renseignements sur la taille et la structure des cellules
- Emission d'un signal de fluorescence par des anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes fixés sur les cellules



Conditions à respecter

✓ Réalisation de contrôles:

- Contrôle **négatif**: en présence de tampon seul
- Contrôle **positif** : stimulation par anti-IgE ou anti-récepteur FcεRI
N.B. ≈ 10% de non répondeurs

✓ Réalisation des dilutions de médicaments:

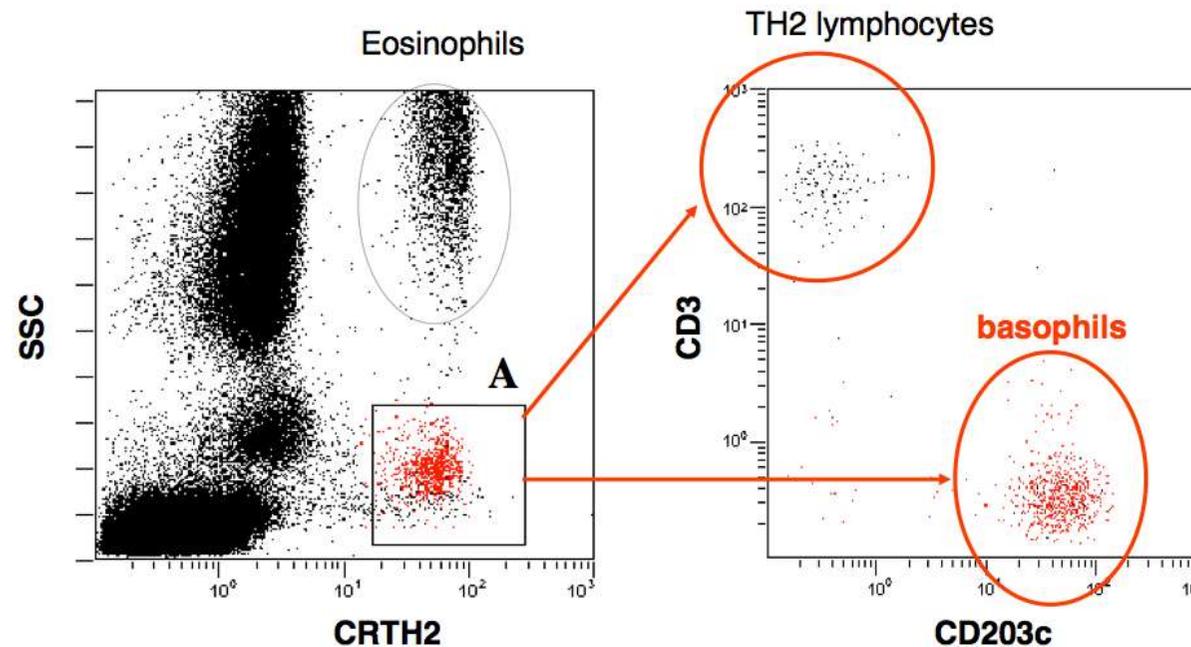
- Au moins 3 dilutions en se basant sur le Prick Test
- Vérifier l'absence de toxicité pour les basophiles
- Vérifier l'absence d'activation non spécifique

✓ Critères d'interprétation des résultats:

- Expression en % de **basophiles activés** et/ou **index de stimulation**
- Seuil de positivité: **10% voire 5%**, à définir pour chaque médicament
- Activation beaucoup plus faible que pour les allergènes protéiques

Identification des basophiles en cytométrie en flux

- Pas de consensus sur l'identification des basophiles
- Marquages les plus utilisés :
 - CD3-, CRTH2+
 - CCR3+, Faible SSC

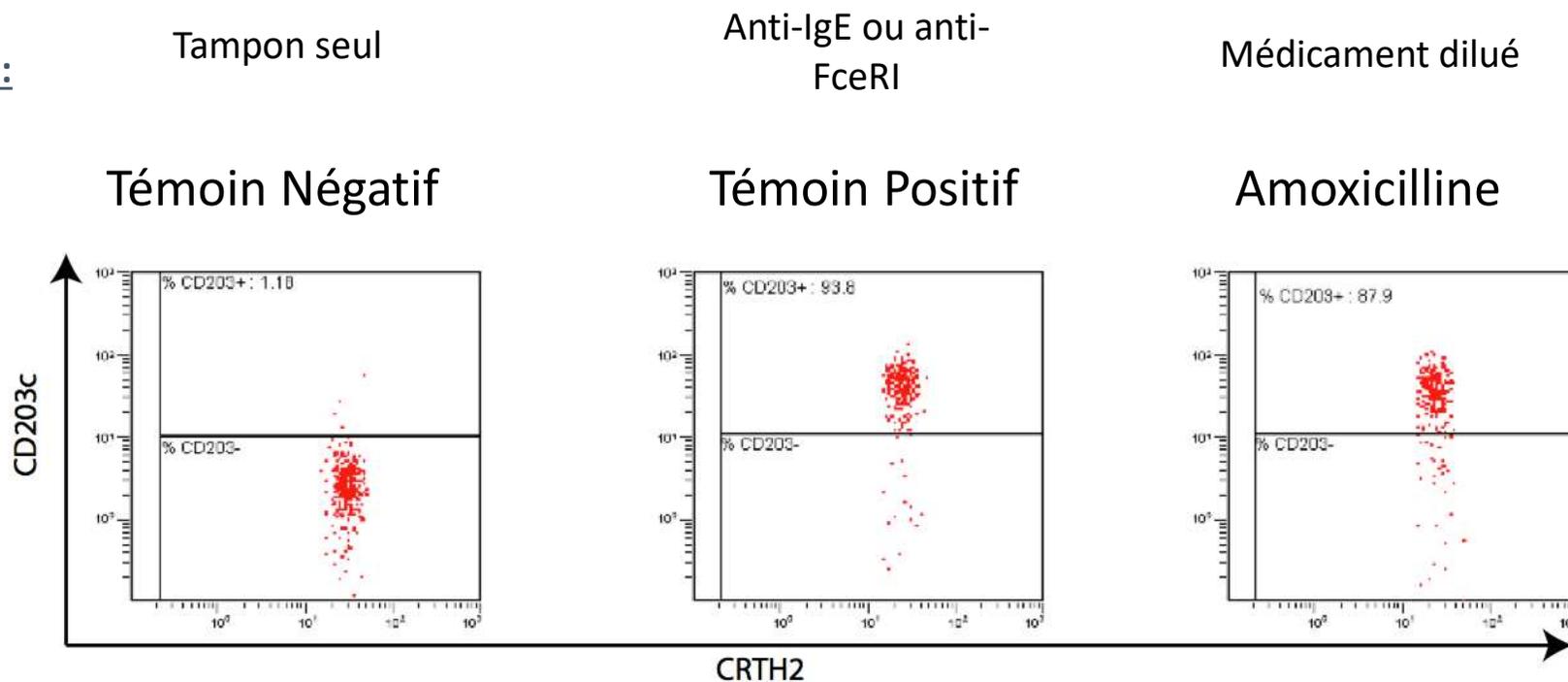


Principaux marqueurs d'activation des basophiles

| | CD203c | CD63 |
|--|---|--|
| Nom | Ectonucleotide Pyrophosphatase phospho- diesterase (E-NPP3) | Lysosomal Associated protein 3 (LAMP-3) |
| Exprimé par | Basophiles, mastocytes | Basophiles, mastocytes, monocytes, plaquettes |
| Expression sur les basophiles quiescents | Expression constitutive faible | Non exprimé à la surface Exprimé à la surface des granules de sécrétion |
| Expression sur les basophiles activés | Sur-expression | Exposition à la surface cellulaire |
| Cinétique | Rapide (5-15 min) | Plus lente (10-25 min) |

Exemple d'activation en présence d'Amoxicilline

Incubation des basophiles avec :



- Expression en % de basophiles activés et/ou index de stimulation
- Seuil de positivité : 10% voire 5%, à définir pour chaque médicament

Principaux médicaments testés

- Antibiotiques :
 - B-lactamines,
 - Fluoroquinolones
- Curares
- Produits de contraste iodés
- Anesthésiques locaux
- Bleu patente
- Produits de chimiothérapie (Platines, Taxol)

β -lactamines

| Author (year) | Reference test | Activation marker | Sensitivity (%) | Specificity (%) | Patients and controls (n) |
|-------------------------------|--------------------------------|---|-----------------|-----------------|---------------------------|
| Sanz <i>et al.</i> (2002) | H | CD63 | 50 | 93 | 88 |
| Torres <i>et al.</i> (2004) | H \pm ST \pm IgE \pm DPT | CD63 | 49 | 91 | 110 |
| Abuaf <i>et al.</i> (2008) | H \pm ST | CD203c CD63 | 52 22 | 100 79 | 41 |
| Eberlein <i>et al.</i> (2010) | H \pm ST \pm IgE | CD63-CCR3 ⁺ CD63-IgE ⁺ | 55 53 | 100 | 39 |
| De Weck <i>et al.</i> (2009) | H | CD63 | 50 | 89–97 | 262 |

Ebo DG *et al.*, Expert Review, 2011

Curares

| Study (year) | Stimulus | Reference test | Activation marker | Sensitivity (%) | Specificity (%) | Patients and control individuals (n) |
|---------------------------------|--|----------------|-------------------|--------------------|-----------------|--------------------------------------|
| Abuaf <i>et al.</i> (1999) | NMBA | H | CD63 CD45 | 64 43 | 81 96 | 28 |
| Monneret <i>et al.</i> (2002) | NMBA | H ± ST | CD63 | 54 | 100 | 56 |
| Sudheer <i>et al.</i> (2005) | NMBA | H | CD63 CD203c | 79 36 | 100 100 | 31 |
| Kvedariene <i>et al.</i> (2006) | NMBA | H + ST | CD63 | 36–86 [†] | 93 | 92 |
| Ebo <i>et al.</i> (2006) | Rocuronium [†] nonresponders: 76 | H + ST | CD63 | 92 | 100 | 22 |
| Sainte-Laudy and Orsel (2008) | NMBA | H ± ST ± IgE | CD63 | 60 | 100 | 49 |

Ebo DG *et al.*, Expert Review, 2011

Caractéristiques des TAB

- Test fonctionnel qui évalue la réactivité des basophiles vis-à-vis de l'allergène
- Très performant pour les allergènes protéiques
- Mais, application aux médicaments difficile :
 - médicaments = haptènes monovalents le plus souvent
- Très utile lorsque la détermination des IgE n'est pas possible (14 allergènes médicamenteux disponibles)
- Dans l'exploration des HSI médicamenteuses :
 - Sensibilité **faible**
 - Spécificité **excellente**

En résumé sur l'exploration biologique de l'hypersensibilité de type I

- Allergie = sensibilisation + symptômes cliniques
- Outils biologiques :
 - Objectiver un accident anaphylactique : Histamine / Tryptase
 - Mettre en évidence une sensibilisation à des trophallergènes, pneumallergènes, venins, certains médicaments : IgE spécifiques
 - TAB utilisés lorsque les dosages d'IgE spécifiques ne sont pas disponibles (médicaments) ou comme un outil supplémentaire au suivi biologique des ITS
 - Pas d'intérêt du dosage des IgE totales
- Apport des allergènes moléculaires :
 - Amélioration des tests biologiques classiques
 - Réactions croisées
 - Prise en charge (sévérité/indication d'une ITS)
- **Interprétation d'un bilan biologique : tenir compte de l'anamnèse et de la clinique (importance du dialogue biologiste/clinicien)**