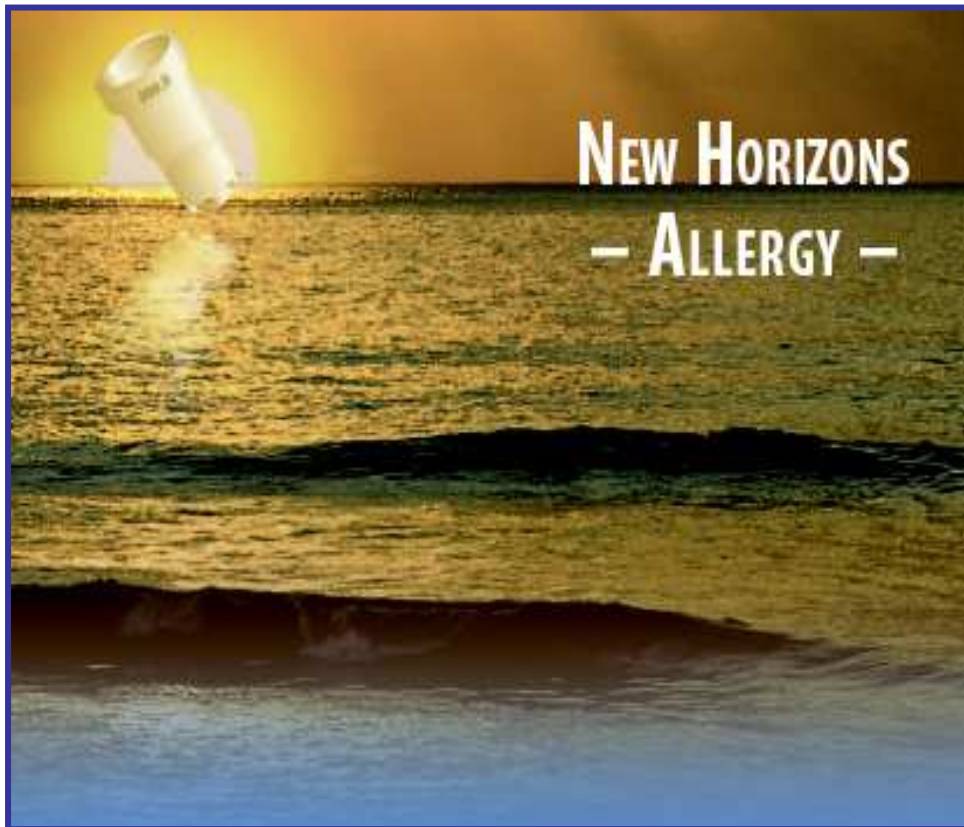


L'utilisation des recombinants dans le diagnostic des allergies

Patrick Lehoucq – Phadia

J-L Grand – CHR Citadelle



Les allergènes spécifiques et les panallergènes

- Une substance allergisante, contient presque toujours plusieurs protéines allergisantes
 - Certaines spécifiques
 - Certaines communes à plusieurs membres de la même famille: les panallergènes
 - Ces panallergènes sont responsables de réactions croisées à l'origine de faux positifs en CAP-RAST ou en tests cutanés.
- La possibilité de tester les différents composants allergisants d'un seul allergène permet de préciser le diagnostic, de prédire les réactions croisées et rejeter les tests faussement positifs.

Component resolved diagnosis

Allergènes polliniques

- Allergènes témoignant d'une sensibilisation spécifique au pollen de bouleau:
 - Pollens de betulacées et fagacées: Bet v 1
 - Pollens de graminées: Phl p 1 et Phl p 5
 - Pollen d'oléacées(frêne): nOle e 1
- Panallergènes des pollens et autres produits végétaux: en particulier:
 - Profiline: Bet v 2 et Phl p 12
 - Polcalcine: Bet v 4 et Phl p 7

Bet v 1

- Allergène majeur du pollen de bouleau:
 - 90% en cas d'allergie au pollen de bouleau
 - 70% des allergiques y sont monosensibilisés
- Syndrome d'allergie orale chez 70% des sujets allergiques au pollen de bouleau.
- Sensible à la chaleur et à la protéolyse
- Induit par le stress microbien, fongique, chimique, mécanique.
- Présent de façon constitutionnelle dans le pollen et les feuilles de bouleau.
- Fonction: transport de ligand phytostéroïde.

Bet v 1

- Responsable en priorité des AA:
 1. **Aux rosacées**: pomme, cerise, poire, pêche, prune, abricot, amande, fraise, framboise
 2. **Aux apiacées**: céleri, fenouil, carotte, persil, carvi, coriandre, aneth, cerfeuil, anis, cumin
- Rosacées → SAO
- Apiacées → SAO et réactions anaphylactiques: 3 allergènes:
 - Analogue Bet v 1 (Api g 1): sensible à digestion
 - Profiline: sensible à digestion
 - 3ème allergène résistant à la digestion

Bet v 1

- **Analogues de Bet v 1:**

– Pomme	Mal d 1	
– Cerise	Pru av 1	
– Abricot	Pru ar 1	
– Poire	Pyr C 1	
– Céleri	Api g 1	
– Carotte	Dau c 1	
– Pollen noisetier	Cor a 1	
– Arachide	Ara h 8	Rf 352
– Soja	Gly m 4	Rf 353

- Forte corrélation entre IgE anti-Bet v 1 et allergie clinique au pollen de bouleau

Profiline

- Protéine de régulation du cytosquelette, par interaction avec les filaments d'actine du cytoplasme.
- Présentes dans toutes les plantes, fruits, légumes, pollens, épices → SAO à de nombreux aliments si IgE positives.
- IgE positives n'est pas toujours corrélé à une allergie clinique.
- Homologie de séquence:
 - ***Entre profilines végétales***: 75-85% → allergie croisées multiples
 - ***Entre profilines végétales et profilines fongiques et animales***: 25-40%

Profiline

- Résistance de profilines:
 - *Chaleur*: intermédiaire entre Bet v 1 et LTP
 - *Digestion et pH acide*: faible à nulle
- IgE anti profilines présentes chez 10 à 30%:
 - Des sujets allergiques aux pollens
 - Des sujets souffrant d'allergie alimentaire aux aliments végétaux.
- Exemple: profilines de:
 - Pollen bouleau Bet v 2
 - Pollen de graminée Phl p 12
 - Pollen d'armoise Art v 4
 - Latex Hev b 8

Profiline

- **Latex et profiline:**
 - Sensibilisation à la profiline de latex:
 - 20-25% des adultes allergiques au latex
 - 6-12% des enfants
 - Profiline de latex: réaction croisée totale avec profiline de bouleau, armoise et graminées: attention à l'interprétation d'un RAST latex positif en cas de sensibilisation aux pollens!!
 - Allergiques au pollens de graminées: RAST Latex positif faussement dans 20-30% des cas.

Profiline

- Légumes: en cas d'allergie au pollen de graminées, allergie croisée entre:
 - Tomate (Lyc e 1 = profiline)
 - Arachide (Ara h 5 = profiline → SAO avec l'arachide)
 - Petit pois
 - Blé, mais la sensibilisation aux profilines de pollens de graminées ou de céréales ne prédit pas une allergie alimentaire aux céréales: attention à l'interprétation d'un RAST blé positif!!

Profiline: en résumé

- En cas de sensibilisation aux profilines:
 - Risque élevé d'allergie:
 - A de nombreux pollens
 - A de nombreux aliments présentant des réactions croisées avec les pollens. Cependant beaucoup de sujets asymptomatiques sont sensibilisés.
 - Risque élevé de RAST positif pour les aliments végétaux, le latex.
 - Cliniquement:
 - Réactions allergiques modérées
 - SAO, rhinoconjonctivite

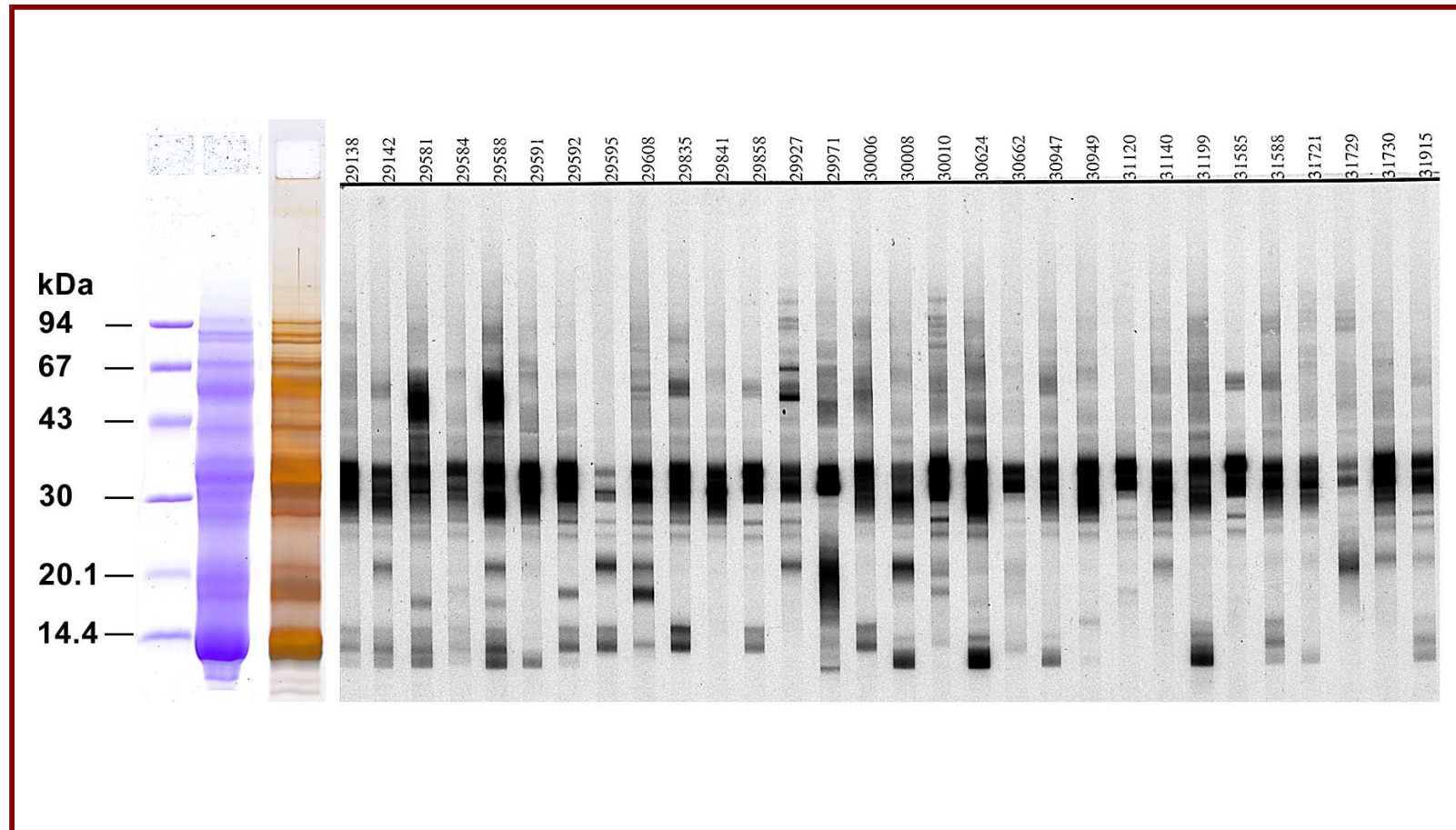
Tableau 1
Bases moléculaires des sensibilisations croisées entre pollens, et entre pollens et aliments

	PR 10	PFL	EFP	LTP	IFR
<i>Fagales</i>					
<i>Bétulacées</i>					
Bouleau	Bet v 1	Bet v 2	Bet v 4		Bet v 6
Aulne	Aln g 1	Aln g pfl	Aln g 4		
<i>Corylacées</i>					
Charme	Car b 1	Car b 2			
Noisetier	Cor a 1	Pfl			
<i>Fagacées</i>					
Chêne	Que a 1	Que a pfl			
Châtaignier	Cas s 1	Cas s pfl			
<i>Graminées</i>					
Phléole		Phl p 12	Phl p 7		Phl p 1 Phl p 5
Chicdent		Cyn d 12	Cyn d 7		
<i>Herbacées</i>					
Ambroisie		Amb a 8		Amb a 6	
Armoise		Art v 4		Art v 3	
<i>Oléacées</i>					
Olivier		Ole e 2	Ole e 3 Ole e 8	Ole e 7	Ole e 1
Frêne		Pfl	Fru e 3		Fru e 1
Lilas			Syr v 3		Syr v 1
Troène					Lig v 1
<i>Rosacées</i>					
Pomme	Mal d 1	Mal d 4		Mal d 3	
Pêche		Pru p 4		Pru p 3	
Cerise	Pru av 1	Pru av 4		Pru av 3	
Poire	Pyr c 1	Pyr c 4			Pyr c 5
Abricot	Pru ar 1				
<i>Bétulacées</i>					
Noisette	Cor a 1	Pfl		Cor a 8	
<i>Ombellifères</i>					
Carotte	Dau e 1				
Céleri	Api g 1	Api g 4			
Persil	PcPR1				
<i>Solanacées</i>					
Tomate		Lyc e 1			
Pomme de terre	pSTH2	Pfl			
<i>Légumineuses</i>					
Soja	Gly m 4	Gly m 3			
Cacahuète	Ara h 8	Ara h 5			
<i>Autres</i>					
Ananas		Ana c 1			
Piment		Cap a 2			

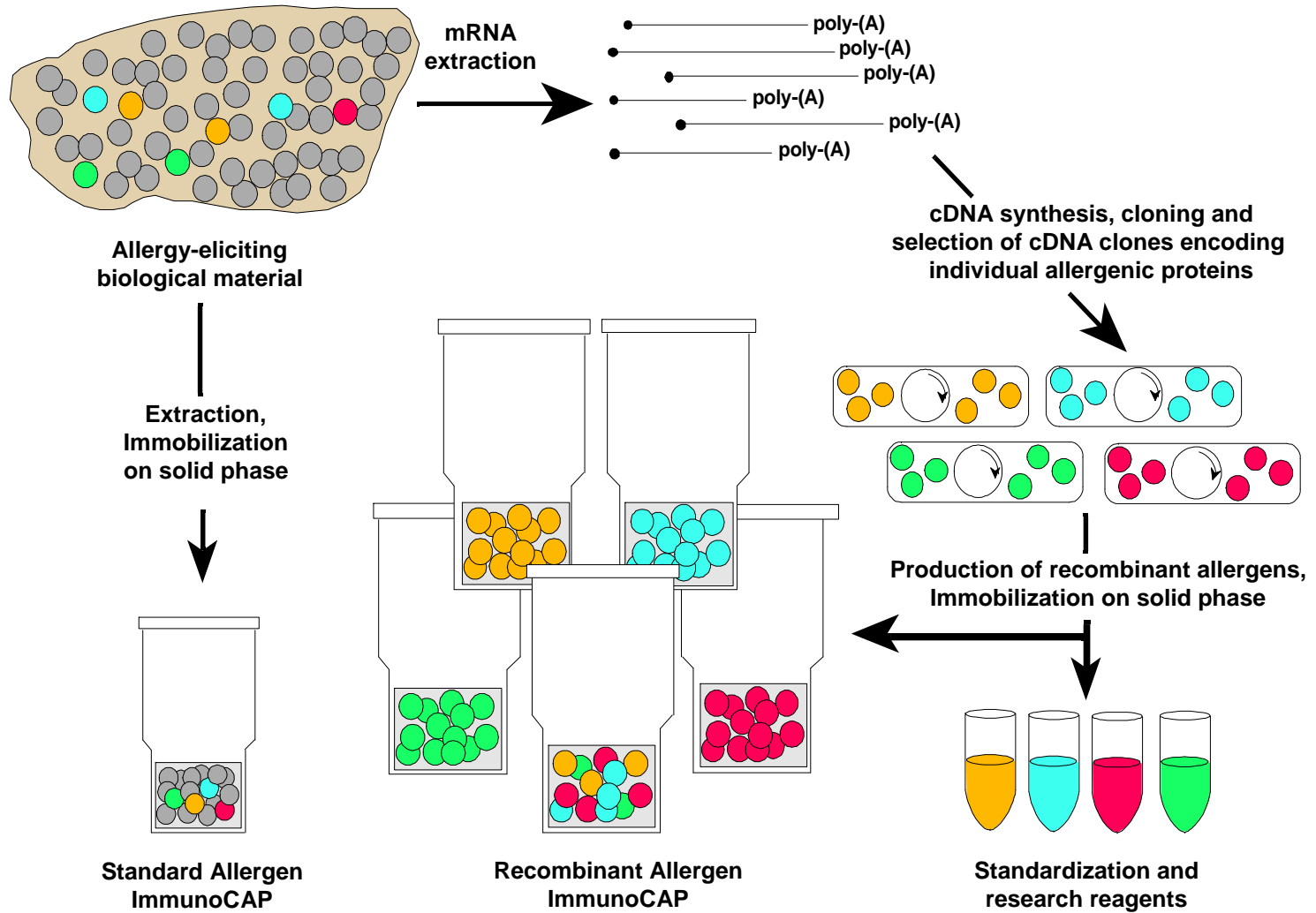
PR 10 = protéine de type PR 10 ; PFL = profiline ; EFP = protéine de liaison du calcium de type « EF-hand » (polcalcine) ; LTP = lipotransférase ; IFR = isoflavone-réductase. Les protéines pour lesquelles une recherche d'IgE sériques spécifiques vis-à-vis de l'allergène recombinant ou naturel purifié est disponible en pratique courante sont indiquées en gras.

Timothy pollen proteins and allergens

Protein pattern and immunoblotting of serum IgE from allergic patients



Single, purified allergen components



L'intérêt des recombinants

- Obtention d'allergènes fragiles ou non hydrosolubles, impossibles d'être obtenus par les techniques classiques d'extraction.
- Sélectionner les différents isoformes d'un même allergène (22 isoformes de Bet v 1)
- Déterminer l'homologie d'un allergène avec une autre par séquençage de l'ADN et étude des homologies de séquence des acides aminés: études de probabilité d'allergie croisée.
- Component resolved diagnosis: affiner le diagnostic en recherchant une sensibilisation aux différentes protéines sensibilisantes d'une substance.
- Traitements désensibilisants avec les allergènes utiles et non pas un mélange de tous les allergènes utiles et inutiles.

In vitro testing in latex allergy



Clinical performance of latex IgE antibody assay 1994-1997

Author	Ref No	Patients / Controls	n	Sensitivity %	Specificity
Blanco	9	Adult LA	25	92	-
Alroth	10	18 LA / 14 nonallerg. contr.	32	89	100
Latasa	11	Adult LA	7	86	-
Mäkinen-Kiljunen	12	61 LA / 30 nonallerg. contr.	91	77	100
Sorva	13	Atopic children LA	11	100	-
Alenius	14	Adult LA	22	82	-
Lundberg	15	27 LA / 38 nonallerg. contr.	65	100	100
Michael	3	Spina bif. 37 SP T+ / 44 SP T-	81	97	80
Ylitalo	16	Children LA	30	97	-
Chen	17	76 LA (11 Spina bif.) / 10 nonallerg. contr.	86	99	100
De Swert	18	Spina bif., 17 LA / 57 nonLA	74	89	93

LA=Clinical latex allergy

The Journal of
Allergy and Clinical Immunology

January 2000, part 2 • Volume 105 • Number 1

- [Drug Links](#) from Mosby's DrugConsult
- [Genetic Information](#) from OMIM

249 The Absence of Hev b 5 in Capture Antigen May Cause False-negative Results in Serologic Assays for Latex-specific IgE Antibodies

*Z Chen**
*HP Rihs**
JE Slatert
EJ Paupore†
*EM Schneider**
*X Baur**

**BGFA, Bochum, Germany †CBER/FDA, Bethesda, MD*

Research conclusions

- Recombinant Hev b 5 has been successfully expressed in *E. coli* using a synthetic gene
- An efficient purification method has been developed which generates pure and immunoreactive rHev b 5
- Recombinant Hev b 5 can be used as a complementation reagent to enhance the quantitative performance of Latex ImmunoCAP[™] for specific IgE testing

Correlation between former and new assays of latex IgE-specific determination using the K82 and K82 recombinant allergens from the Pharmacia Diagnostics® laboratory

Accepted for publication 16 May 2004
Allergy 2005; 60:131–132

The new Hev b5-enriched latex-specific IgE K82+ is superior in the detection of latex sensitization.

M.-L. Hemery, B. Arnoux, M. Rongier, E. Barbotte, J. Bousquet, P. Demoly*

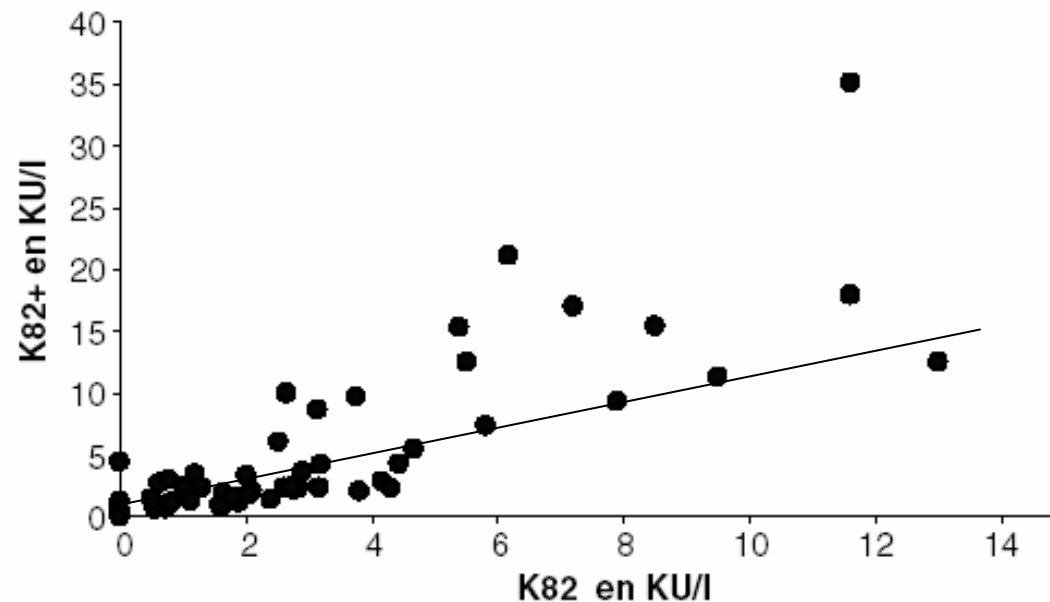


Figure 1. Correlation between former K82 and new recombinant K82+ in latex allergic population.

Allergie vraie au latex:

- Hev b 5 et Hev b 6.01
- Egalement Hev b 1, 3, 2, 13

Allergie aux catheters:

- Hev b 1 et 3 (particules solides)

Spina bifida:

- Hev b 1 (54-100%) contre 13-32% HCW

Présence de CCD dans:

- Hev b 2, 4, 13

Profiline: Hev b 8:

- Croise avec la profiline de pollens
- Bet v 2, Phl p 12, céleri, poivron

Enolase: Hev b 9:

- Croise avec enolase d'alternaria, cladosporium

MNSOD: Hev b 10

- Croise avec MNSOD D'aspergillus

Latex allergen	Molecular mass (Kda)	Protein name	Significance allergen	Significance Cross-reaction	IgE Binding Prevalence
Hev b 1	14.6	Rubber elongation factor	High (SB)	Not observed	HCW:52% SB:81%
Hev b 2	34-36	Beta-1,3-glucanase	Medium	Medium	HCW:65% SB:54%
Hev b 3	24-27	Small rubber particle protein	High (SB)	Not observed	HCW:13-20% SB:76-78%
Hev b 4	50-57	Beta-glucosidase	Not known	Not observed	Not Clear
Hev b 5	16-24	Acidic structural protein	High in all risk groups	Not observed (Homology Kiwi)	HCW:68-92% SB:33-56%
Hev b 6.01	20	Prohevein	High in all risk groups	High (Banana-kiwi-avocado)	LAP:75-83%
Hev b 6.02	4.7	Hevein	High in all risk groups	High (Banana-kiwi-avocado)	LAP:56% HCW:75% SB:27%
Hev b 6.03	14	C-domaine of prohevein	High	High (Homlogy plant stress proteins)	LAP:15-21%
Hev b 7.01	42	Patatin-like protein	Low-Medium	Unclear (Homology potato-tomato)	LAP:11-49%
Hev b 7.02	44	Patatin-like protein	Medium only in SB	Unclear (Homology potato-tomato)	SB:39.5%
Hev b 8	14	Profilin	Low	Medium panallergen	LAP:11% HCW:20-24% SB:6-12%
Hev b 9	51	Enolase	Low	Medium (Molds)	LAP:15%
Hev b 10	26	Manganese superoxyde dismutase	Low	Medium (Molds)	LAP:27% HCW:0% SB:10%
Hev b 11	32	Class I chitinase	Low	High (Fruits)	LAP:19-29%
Hev b 12	9	Lipid transfer protein	Low	Medium (fruits) panallergen	LAP:24%
Hev b 13	42	Esterase	High	Not determined	HCW:63%

AA banane, châtaigne, banane, avocat, acerola:

- Hev b 6.02 (h veine)

AA Châtaigne:

- Hev b 6.01 et Hev b 8

Pomme de terre crue:

- Radicaux CCD de Hev b 13 croisent avec ceux de la patatine de pomme de terre.

Hev b 2:

- Croise avec protéines analogues de poivron, olive, tomate, pomme de terre, banane, pollen de fr ne et de bouleau.

Allergie croisée latex – ficus

- Via Hev b 6.01

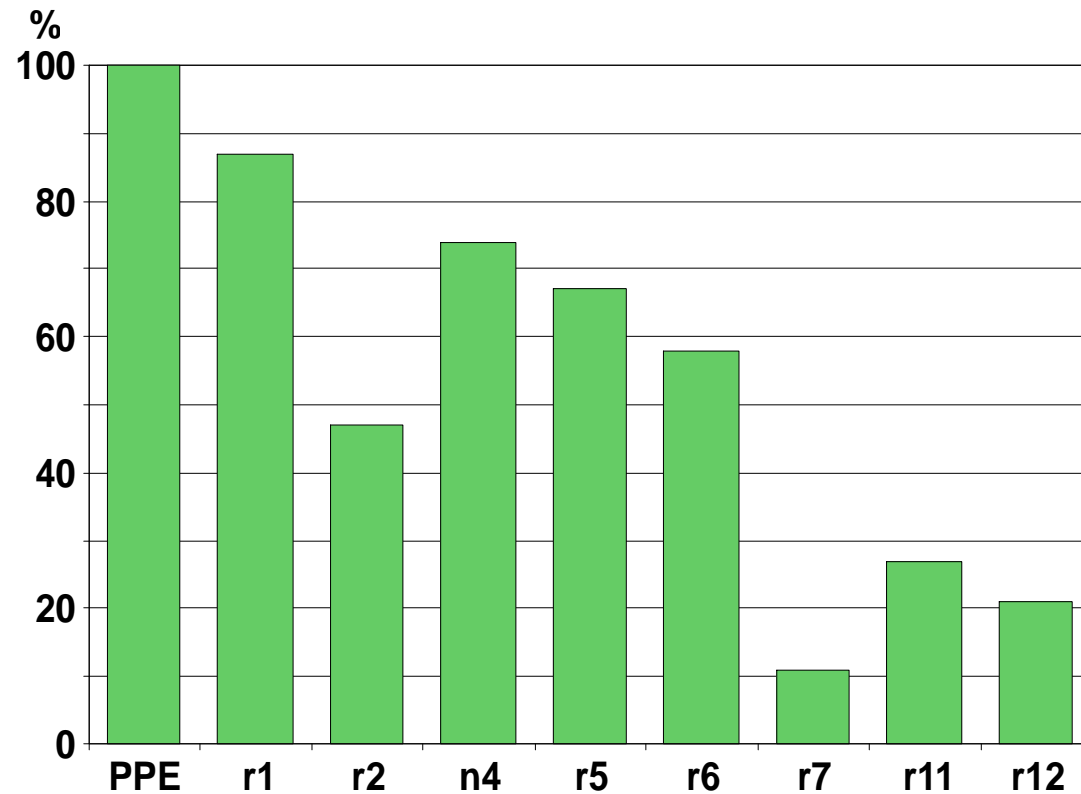
Latex allergen	Molecular mass (Kda)	Protein name	Significance allergen	Significance Cross-reaction	IgE Binding Prevalence
Hev b 1	14.6	Rubber elongation factor	High (SB)	Not observed	HCW:52% SB:81%
Hev b 2	34-36	Beta-1,3-glucanase	Medium	Medium	HCW:65% SB:54%
Hev b 3	24-27	Small rubber particle protein	High (SB)	Not observed	HCW:13-20% SB:76-78%
Hev b 4	50-57	Beta-glucosidase	Not known	Not observed	Not Clear
Hev b 5	16-24	Acidic structural protein	High in all risk groups	Not observed (Homology Kiwi)	HCW:68-92% SB:33-56%
Hev b 6.01	20	Prohevein	High in all risk groups	High (Banana-kiwi-avocado)	LAP:75-83%
Hev b 6.02	4.7	Hevein	High in all risk groups	High (Banana-kiwi-avocado)	LAP:56% HCW:75% SB:27%
Hev b 6.03	14	C-domaine of prohevein	High	High (Homlogy plant stress proteins)	LAP:15-21%
Hev b 7.01	42	Patatin-like protein	Low-Medium	Unclear (Homology potato-tomato)	LAP:11-49%
Hev b 7.02	44	Patatin-like protein	Medium only in SB	Unclear (Homology potato-tomato)	SB:39.5%
Hev b 8	14	Profilin	Low	Medium panallergen	LAP:11% HCW:20-24% SB:6-12%
Hev b 9	51	Enolase	Low	Medium (Molds)	LAP:15%
Hev b 10	26	Manganese superoxyde dismutase	Low	Medium (Molds)	LAP:27% HCW:0% SB:10%
Hev b 11	32	Class I chitinase	Low	High (Fruits)	LAP:19-29%
Hev b 12	9	Lipid transfer protein	Low	Medium (fruits) panallergen	LAP:24%
Hev b 13	42	Esterase	High	Not determined	HCW:63%

Pollens

Polysensitisation/Crossreaction & Immunotherapy?



Frequency of sensitization to single components



Frequency of elevated IgE (>0,35 kU/l) to individual allergen components among 150 grass pollen sensitized patients

	r1	r2	n4	r5	r6	r7	r11	r12
n	131	71	111	101	87	17	41	31
percentage	87%	47%	74%	67%	58%	11%	27%	21%

Timothy recombinants / extract

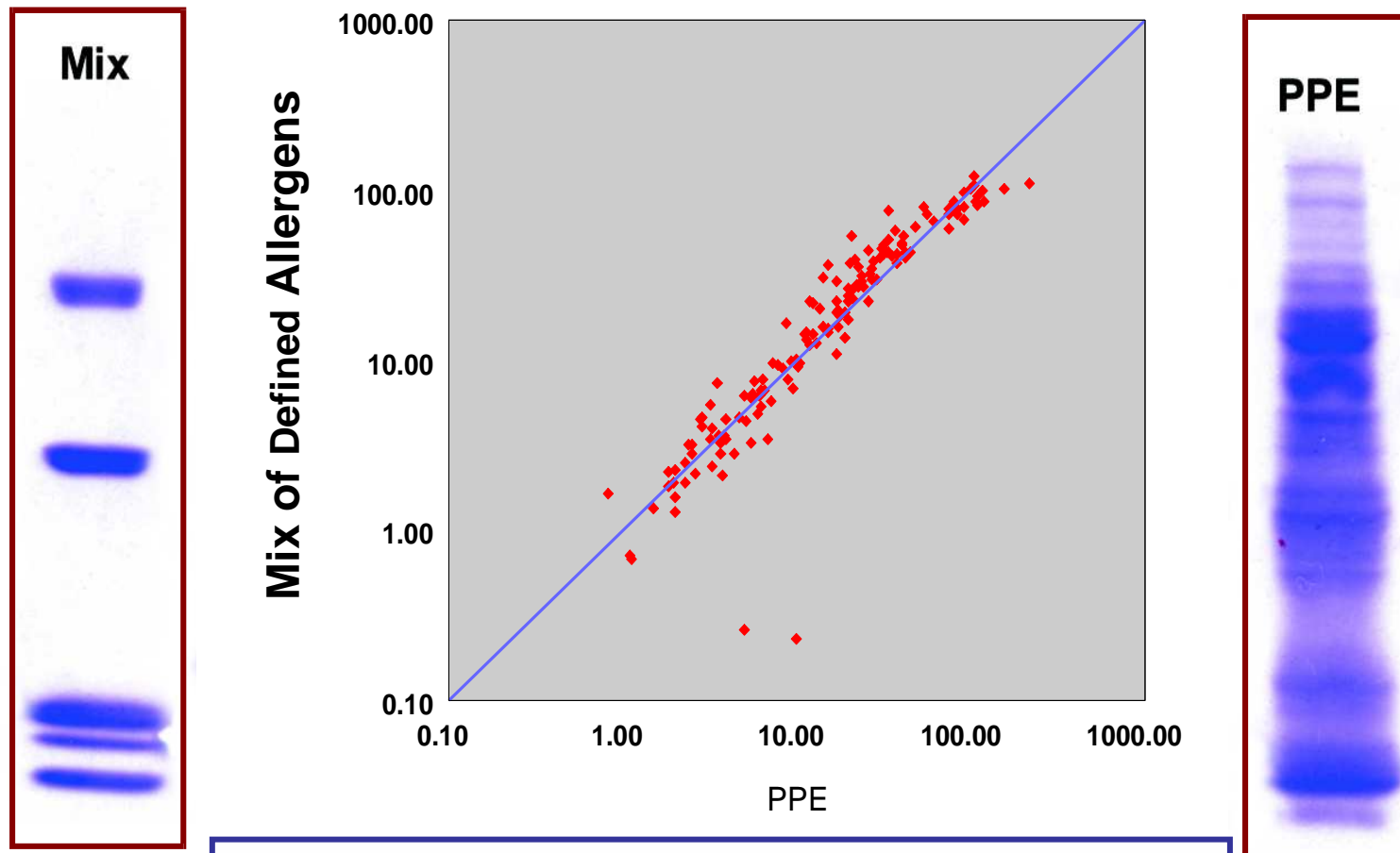


Fig. 5. A mixture of purified recombinant and natural timothy grass pollen allergens can be shown to reproduce virtually the full IgE binding capacity of a natural timothy grass pollen extract required for *in vitro* diagnosis of grass pollen allergy. Specific serum IgE levels (150 sera) to the defined allergen mixture are shown on the y-axis and specific IgE levels to timothy grass pollen extract (PPE) were plotted on the x-axis.

Effect of seasonal exposure on IgE to Bet v 1

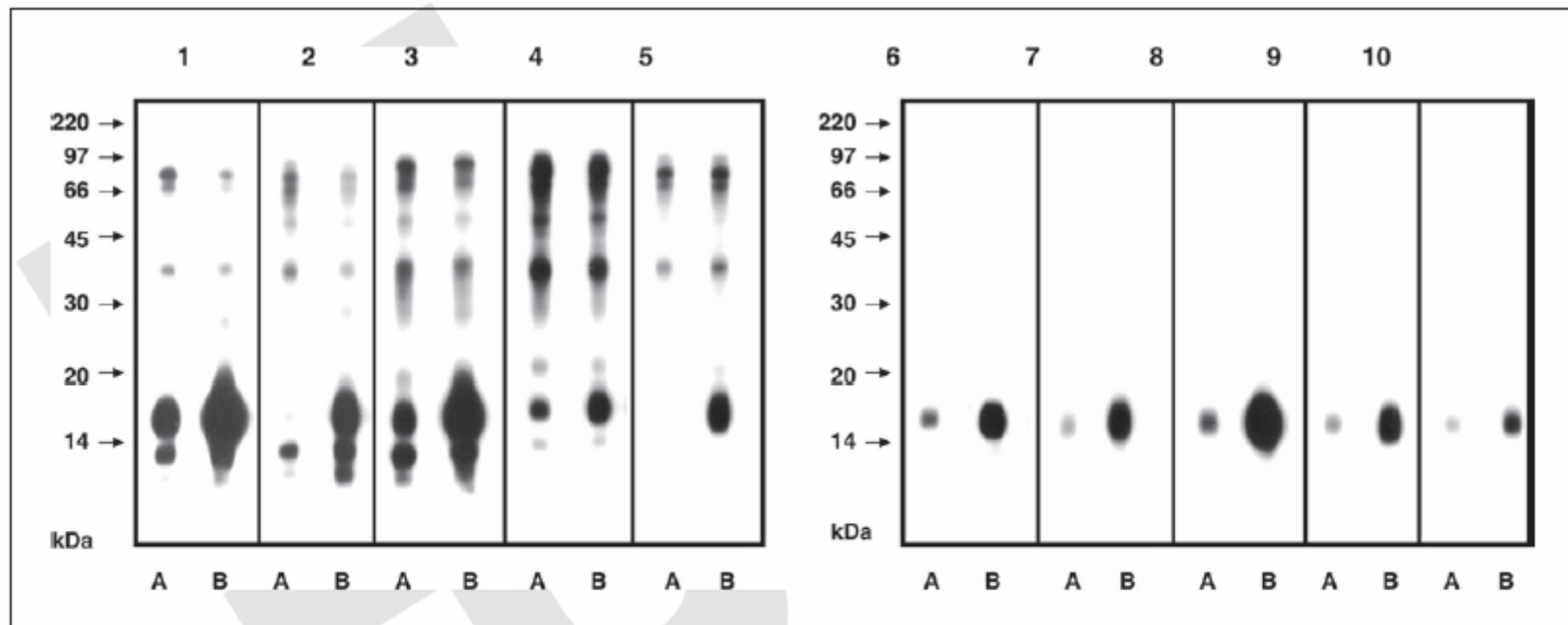
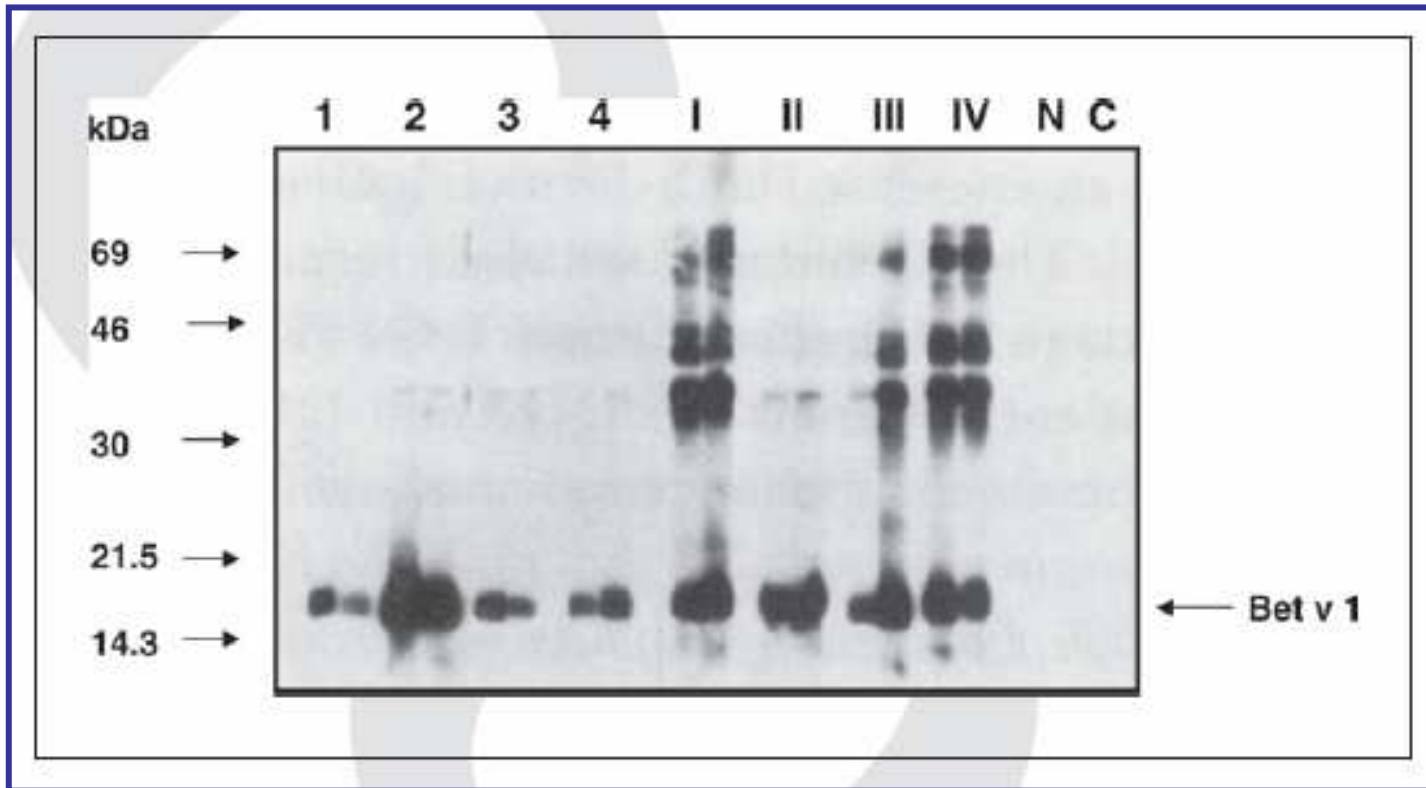
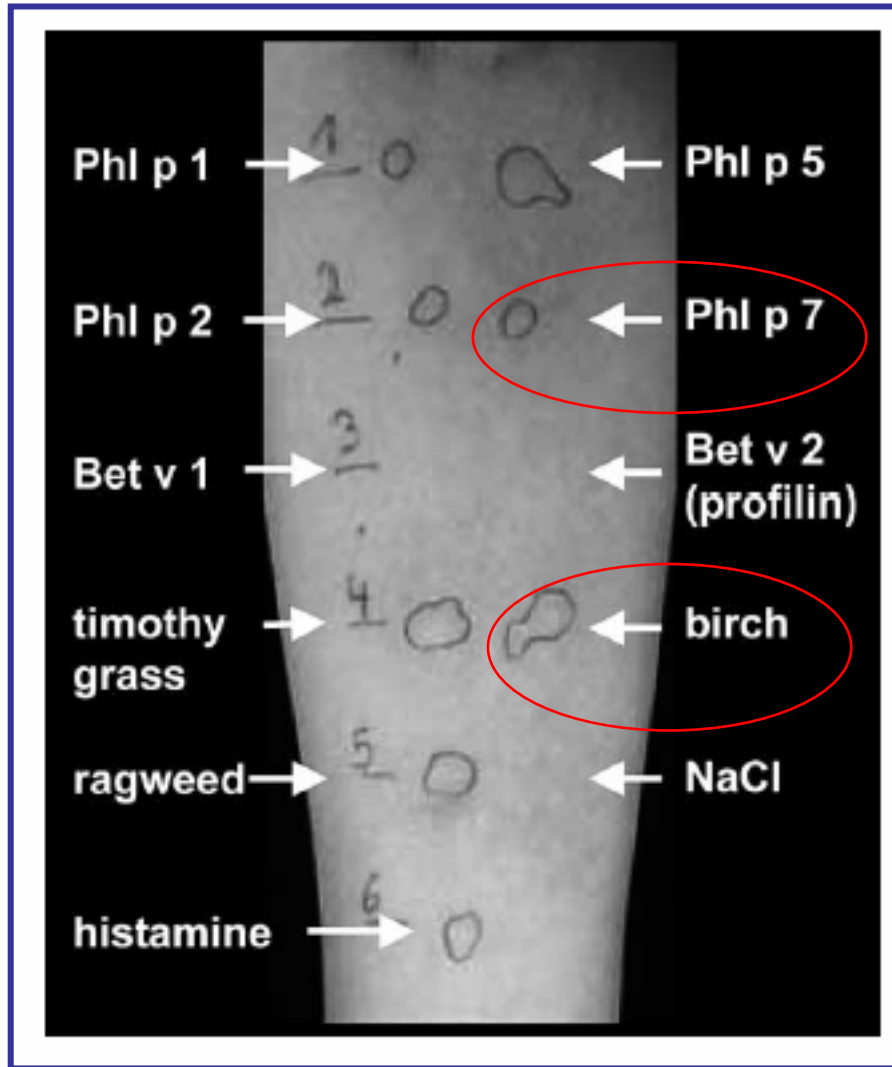


Fig. 3. Seasonal birch pollen exposure boosts IgE reactivity to the major birch pollen allergen, Bet v 1. Serum samples collected from birch pollen allergic patients (1–10) before (lanes A) and after (lanes B) birch pollen season were tested for IgE reactivity to birch pollen extract. Bound IgE antibodies were visualized by autoradiography. Molecular weights are indicated in kilodaltons on the left margin. Seasonal birch pollen exposure strongly boosts IgE reactivity to Bet v 1 (17 kDa) but has little or no effect on IgE reactivity to other allergens in birch pollen.



[154–157]. Fourth, it has been demonstrated that patients who reacted exclusively with Bet v 1 had a better clinical outcome when treated with birch pollen extract than patients reacting also with other allergens [158]. Figure 5 from the latter study shows the IgE reactivity profile of patients who showed clinical improvement after birch pollen immunotherapy versus patients who did not improve. Patients without clinical improvement frequently reacted with other allergens in addition to Bet v 1.

Les recombinants pollens permettent de comprendre les faux positifs en RAST et en tests cutanés

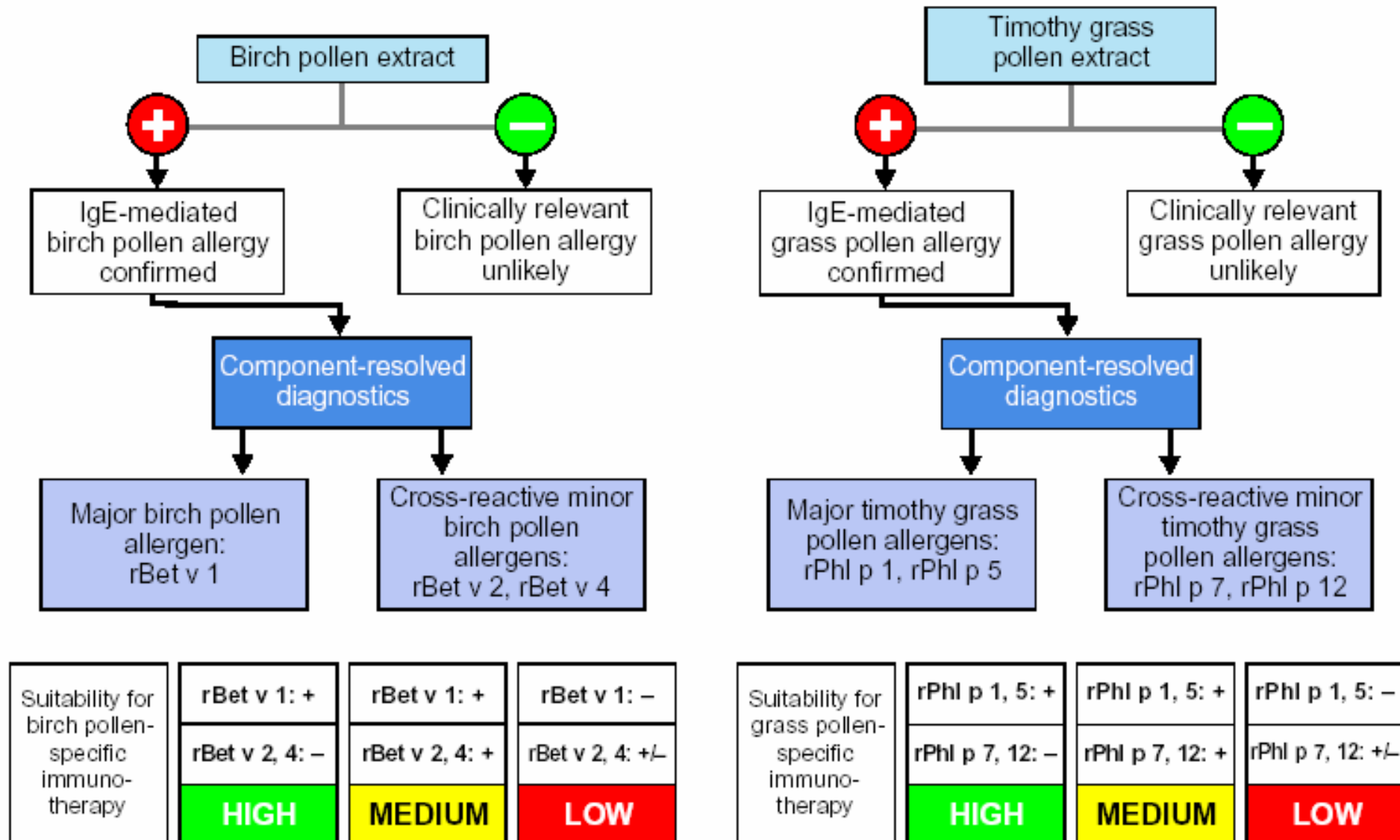


Prick positifs pour pollen de bouleau, négatifs pour Bet V1 et pour Bet v 2 (profiline).

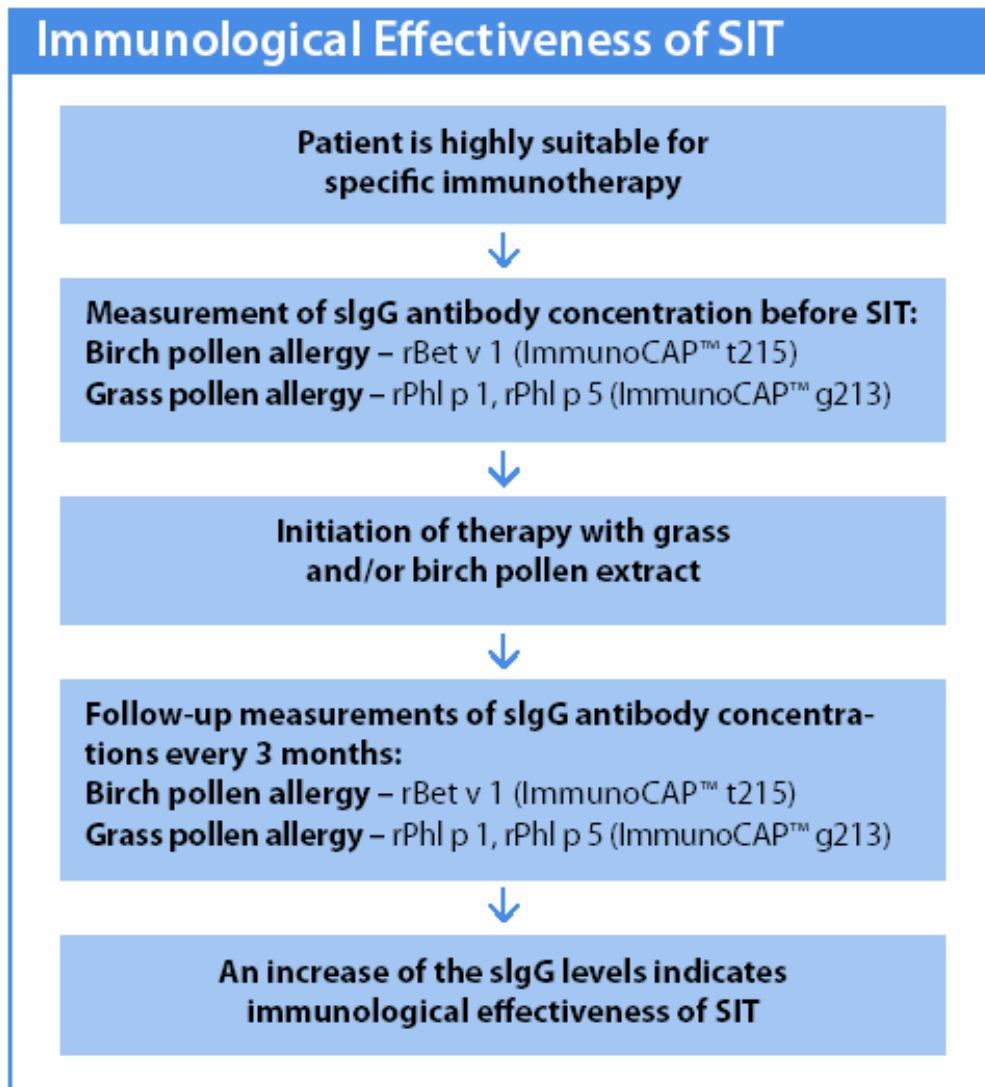
La positivité du prick pour le pollen de bouleau est liée à une sensibilisation pour le pollen graminées, par l'intermédiaire de la polcalcine, commune au pollen de graminée et de bouleau (Phl p 7 = Bet v 4).

Fig. 4. Clinically relevant sensitization to cross-reactive calcium-binding allergens. The patient lacks IgE antibodies and skin reactivity to Bet v 1 and Bet v 2 and birch pollen is therefore unlikely as a primary sensitizer. IgE reactivity to Phl p 1, Phl p 2 and Phl p 5 demonstrates sensitization to grass pollen and in addition there are IgE antibodies to the calcium-binding allergen Phl p 7. The immediate type skin reaction to birch pollen extract is apparently caused by IgE cross-reactivity between Phl p 7 and the homologous protein in birch pollen, Bet v 4.

Immunotherapy: decision



Monitoring of immunotherapy: Specific IgG4



For monitoring the immunological effect of specific immunotherapy, determination of antigen specific IgG. antibodies against the major allergen rBet v 1 (in cases of birch pollen allergy), or rPhl p 1/rPhl p 5 (in cases of grass pollen allergy), is recommended.

Determination of these antibodies should be performed before starting therapy and regularly (every 3 months) thereafter. Induction of IgG antibodies against the mentioned major allergens is an important sign of the immunological effectiveness of SIT

Predict cross-reactivity

Common allergenic structures:

- due to close biological relation
- but also in seemingly unrelated species

Clusters of cross-immunity / cross-allergy.

Acta Clinica Belgica, 2001; 56-4

D.G. Ebo, W.J. Stevens

ALLERGEN (FUNCTION / PRP CLASS)	SOURCES (NOT EXHAUSTIVE)
Defence proteins	
Bet v 1 homologues (protease / PRP class 10)	Pollen : alder, birch, hazelnut Food : apple, almond, carrot, cherry, celery, hazelnut, kiwi, peach, pear, plum, potato
Art v 1 homologues (Pectate lyase)	Pollen : birch, Japanese cedar, mugwort, ragweed Food : anise, apple, carrot, celery, dill, fennel, parsley, tomato
Thaumatococcus – like proteins (Permeatins, osmotins / PRP 5)	Apple, bell peppers, cherry, wheat, oat, tomato
Hevein – like domain (class I chitinases / PRP 3)	Natural Rubber Latex (<i>Hevea brasiliensis</i>) Food : avocado, banana, chestnut
Lipid transfer proteins (PRP 14)	Apple, apricot, broccoli, carrot, celery, cereals, kiwi, melon, peach, peanut, pistachio, tomato, walnut
α -amylase inhibitors	Barley, Indian millet, maize, rice, wheat
Lysozymes (α -lactalbumine)	Cow's milk, egg white, meat (beef)
Seed storage proteins	
2S albumin	Mustard, nuts, peanuts
Vicilins	Cacao, cotton seed, nuts, peanuts, soybean
Muscle proteins	
Parvalbumin	Amphibians, carp, codfish, eel, perch, salmon, tuna
Tropomyosin	crab, crayfish, insects, lobster, mites, molluscs, shrimps, snails, cockroach
Miscellaneous	
Albumin (Serum protein)	Egg yolk, sera, meat, feathers, epithelia (cat)
Profilins (Actin binding cytoskeleton protein)	Pollen : birch, mugwort, ragweed Food : apple, bell peppers (paprika), carrot, celery, coriander, fennel, peanut, potato, tomato

Relation entre structure, fonction et allergénicité d'une protéine

Review

International Archives of
**Allergy and
Immunology**

Int Arch Allergy Immunol 334
DOI: 10.1159/0000XXXXX

Transition from a Botanical to a Molecular Classification in Tree Pollen Allergy: Implications for Diagnosis and Therapy

Nadine Mothes^a Friedrich Horak^b Rudolf Valenta^a

Departments of ^aPathophysiology and ^bOtorhinolaryngology, Vienna General Hospital, University of Vienna, Vienna, Austria

Plant species	Allergen	kDa	Allergen biological function	Cross-reactivity		Reference, accession No.
				source	molecule	
<i>Fagales</i>						
Birch (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v 1	17	Pathogenesis-related protein (PRP) RNase Plant steroid carrier Nucleotide-binding protein	Pollen Trees Alder Hazel Hornbeam White oak	Aln g 1 Cor a 1 Car b 1 Que a 1	45 ^a 46, 47
				Food Fruits Apple Cherry Apricot Pear	Mal d 1 Pru av 1 Pru ar 1 Pyr e 1	48–50
				Vegetables Celery Carrot Soybean	Api g 1 Dau c 1 Gly m 4	51–53 54
				Nuts Peanut	Ara h 8	AY328088 ^b

Oral allergy syndrome (OAS)

% tree pollen allergic patients reacting to different foods:

- Hazel nut, 46%
- Apple, 39%
- Peach, 24%
- Cherry, 22%
- Walnut, 21%
- Pear, 20%
- Almond, 19%
- Plum, 17%
- Brazil nut, 16%
- Potato, 15%
- Carrot, 13%
- Peanut, 10%
- Strawberry, 10%
- Orange, 9%
- Apricot, 7%

Multialignment of Bet v 1 and related proteins

	1					60
Birch	MGVFN Y ETET	TSV I PAARLF	KAF I L D GNL	FPK V APQALS	SVEN I EGNGG	PGT I KKISFP
Hazel	MGVFN Y ETES	TSV I PAARLF	KAF I L D GNL	IPK V APQAVS	SVEN V EGNGG	PGT I KKITFS
Alder	MGVFN Y AAET	P S VI P AARLF	KAF I L D GNL	LPK V APAVS	SVEN I EGNGG	PGT I KKITFS
Hornbeam	MGVFN Y AAET	TSV I PAARLF	KAF I L D GNL	IPK V APQAVS	SVEN V EGNGG	PGT I KKITFS
Beech	MGV F TY S EN	TSV I P A ARLF	KAF V L D ADNL	IPK V APQ S IK	ST H IL E GD G G	PGT I KKIT F G
Apple	MGVFN Y ETET	TSV I PA A R L F	KAF I L D GNL	IPK I APQ A IK	ST H IL E GD G G	VGT I KK V T F G
Cherry	MGV F TY S EF	T S E I P P RL F	KAF V L D ADNL	V P K I APQ A IK	H S E I L E GD G G	PGT I KKIT F G
Apricot	MGV F TY E TE F	TSV I P P E K L F	KAF I L D ADNL	IPK V AP T AVK	GT H IL E GD G G	VGT I KK V T F G
Pear	M G L Y T F N E F	T S E I P P RL F	KAF V L D ADNL	IPK I APQ A IK	H A R I L E GN G G	PGT I KKIT F G
Medicago	MGVFN F ED E T	T S I V AP A R L Y	K A L V I D S D N L	IPK V I. D A I Q	S I H I V E GN G G	AGT I KK L T F V
Garden pea	MGVFN V ED E I	TSV V AP A I L Y	K A L V I D ADNL	TPK V I. D A I K	S I H I V E GN G G	AGT I KK L T F V
Soybean	MGV F T F ED E I	N S P V AP A T L Y	K A L V I D AD N V	IP K A L . D S F K	SVEN V EGNGG	PGT I KKIT F L
Tomato	MGV N I T Y E S	T T I L S P T R L F	K A L V L D F D N L	V P K L L S H V K	N N H I L E GD G G	V G S I L K Q M N V
Celery	MGV Q K T V V E A	F T V S A E K M Y	Q G L L D M D V	F P K V L S L K	S V H I L E GD G G	V G I V L V H L G
Carrot	M G A Q S H S L E I	T S V S A E K I F	S G I V L V D V	IPK A A F Q Y K	S V D. K D G G	AGT V R I T L E
Asparagus	M S S A V S H L E	E S V S A A R L F	K S M L E W H L	AP K I L E I V	S A S V A V D G G	V G S T R O N T
						120
Birch	EG S P F K Y V K D	R V D E V D H I N F	K Y N Y S V I E G G	P I G D T L E K I S	N E I K I V A T P D	G G S I L K I S N K
Hazel	EG S P F K Y V K E	R V E V D H I N F	K Y S Y I V I E G G	F V G D K V E K I C	N E I K I V A A P D	G G S I L K I S N K
Alder	EG S P F K Y V K E	R V D E V D R V N F	K Y S F S V I E G G	A V G D A L E K V C	N E I K I V A A P D	G G S I L K I S N K
Hornbeam	EG S F K Y V K E	R V E V D H I N F	K Y S Y I V I E G G	F V G D K V E K I C	N E I K I V A A P D	G G S I L K I T S K
Beech	EG S Q F K Y V K H	R I D E V D Q A N F	S Y G S V I E G D	V V S G L I E K I S	Y E I K I V A S P D	G G S L L A S T S K
Apple	EG S Q Y G V V K Q	R V N G I D K D N F	T S Y S V I E G D	T L S D K L E K I T	Y E T K L I A S P D	G G S I L K I T T S H
Cherry	EG S Q Y G V V K H	K I D S I D K E N Y	S Y S Y T L I E G D	A L S D T L E K I S	Y E T K L V A S S	G G S I L K I T S H
Apricot	EG S Q Y A V V K H	R V D G I D K D N L	S Y S Y T L I E G D	A L S S V I L N I A	Y D T K L V A S P D	G G S I V A T T S H
Pear	EG S Q Y G V V K H	R V D S I D E A S Y	S W A N T L I E G D	A L T D T L E K I S	Y E A K L V A S G S	G G S T I A S I S H
Medicago	EG G E T K F D L H	K V D L V D D V N F	A N Y S I V G G	G L P D T V E K I S	F E S K L S A G P D	G G S I A L L I V K
Garden pea	ED G E T K F V L H	K W E L V D V A N L	A N Y S I V G V	G F P D T V E K I S	F E A K L S A G N	G G S I A L L S V K
Soybean	ED G E T K F V L H	K I E S I D E A N L	C N S Y S V V G A	A L P D T A E K I T	F D S K L V A G E N	G G S A G L L I V K
Tomato	EG G E T K V L H	K I H V I D D K N L	E T K Y S L I E G D	I L E K L S E T	Y D I K F E A N D N	G G C V Y K I T T E
Celery	R A T E Y T I M K Q	K V D V I D K A G L	A M Y T I L E G D	I L V D V L E S V	N E F V V V E T . D	G G C V I M N I T I
Carrot	EG S E L T S M T V	R I D A N K E A L	T D S T V I D G D	I L L G F I E S E	T H L V V V E A D	G G S I L K I T T A I
Asparagus	S A M P E F L L E	R L D F V D E A N F	E C K S L L E G G	D L E T I K L E S A S	S H F K L M P S S N	G G C V V L E G I
						178
Birch	Y H T K D H E V K	A B Q V K A S K E M	G E T L L R A V E S	Y L L A H S D A Y N	~~~~~	~~~~~
Hazel	Y H T K D H E V D	A H H I K G G K E K	V G L F R A V E A	Y L L A H S D A Y N	~~~~~	~~~~~
Alder	F H T K D H E I N	A B Q I K I E K E K	A V G L L K A V E S	Y L L A H S D A Y N	~~~~~	~~~~~
Hornbeam	Y H T K D H E V P	A H H I K G G K E R	V G L L K P V E A	Y L L A H T A E N	N~~~~~	~~~~~
Beech	Y H I K D H E I K	E H V K A G K E K	A A G L F K A V E A	Y L L A H F D A Y N	~~~~~	~~~~~
Apple	Y H A K D V H I K	E H V K A G K E K	A S G L F K L I E A	Y L L A H S D A Y N	~~~~~	~~~~~
Cherry	Y H T K D V H I K	E H V K A G K E K	A S N L F K L I E T	Y L K H F D A Y N	~~~~~	~~~~~
Apricot	Y H T K D V H I K	E B Q V K A G K E K	A A G L F K L V E A	Y L L A N E D A Y N	~~~~~	~~~~~
Pear	Y H T K D I H I K	E H V K A G K E K	A H G L F K L I E S	Y L K H F D A Y N	~~~~~	~~~~~
Medicago	Y F T K D A A P S	E H E I N G G A R	C D G L F K A L E G	Y L L A N E D A Y N	~~~~~	~~~~~
Garden pea	Y F T K D A A P S	E B Q L K I D A K	C D G L F K A L E G	Y L L A N E D A Y N	~~~~~	~~~~~
Soybean	Y E T K D A A P N	Q D E L T G A K	A D A L F K A I E A	Y L L A N E D A Y N	~~~~~	~~~~~
Tomato	Y H T K D H V S	E H E H N V G R R E	N H E Y F Q G C R S	I P S R E F C L R	L N I D E K E S G L	H V R N Y A C T
Celery	Y N T K D A V L P	E D K I N E A T E K	S A L A F K A V E A	Y L L A N L Q F L A	~~~~~	~~~~~
Carrot	F H T K D A V V P	E H N I K F A D E Q	N T A L F K A I E A	Y L L A N	~~~~~	~~~~~
Asparagus	F K A L P G V E T T	D E V A N .G K E V	M I N A I K A R A	Y L V A N E P T A Y A	~~~~~	~~~~~

Sequence identity between Bet v 1 and homologous proteins from:

○ Hazel	83%	○ <u>Pear</u>	54%
○ Alder	81%	○ Pea	54%
○ Hornbeam	79%	○ Soybean	49%
○ Beech	69%	○ Tomato	47%
○ <u>Apple</u>	66%	○ Celery	40%
○ <u>Apricot</u>	60%	○ <u>Carrot</u>	38%
○ <u>Cherry</u>	59%	○ Asparagus	39%

Pollen d'armoise

- **W231: nArt v 1**
- Allergène majeur du pollen d'armoise
- Risque d'allergie croisée avec les aliments du groupe des ombellifères:
 - le céleri: rave, branche, sel de céleri (jus de tomate et sachets de potage...
 - le fenouil et les graines de fenouil,
 - la carotte,
 - le panais,
 - les épices: carvi, cumin, coriandre. cerfeuil, anis, aneth,
 - le persil: lorsqu'il est présent en grande quantité dans un plat, sous forme de beurre persillé (escargots), ou dans le taboulé syrien.
 - le curry: mélange de différentes épices dont la composition peut varier suivant le pays d'origine...

Cat: rFel d 1 & nFel d 2

- **Cat allergens**

- Fel d 1, a uteroglobin-like protein
 - Fel d 2, serum albumin
 - Fel d 3, cystatin, a cysteine protease inhibitor
 - Fel d 4, a Lipocalin
 - Fel d 5
 - Fel d 6
 - Fel d 7
- Fel d 1 is the most important, eliciting IgE responses in 80% to 90% of patients with Cat allergy and accounting for 60% to 90% of the total allergenic activity of Cat extracts



Cat: rFel d 1 & nFel d 2

e1: Cat epithelium and dander

Felis domesticus

Family: Felidae

Common names: Cat, Domestic cat

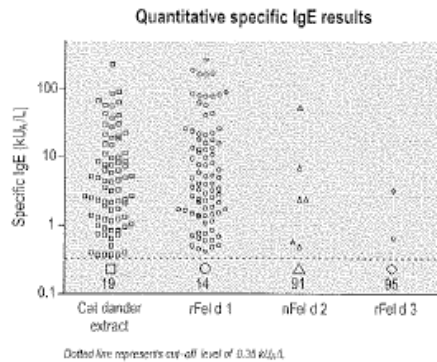
Source material: Epithelium and dander



e94: rFel d 1 (recombinant)

Common names: Cat I, Ag4, Fel d 1-related protein

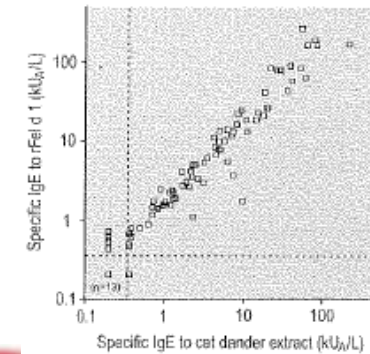
Source material: An E. coli strain carrying a cloned cDNA encoding *Felis domesticus* allergen Fel d 1



Conclusion

Sensitization to cat dander at young age is essentially restricted to Fel d 1, which is therefore an excellent diagnostic marker allergen.

Comparison of quantitative IgE measurements to cat dander extract and rFel d 1



e220: Cat serum albumin (nFel d 2)

Felis domesticus

Family: Felidae

Source material: Serum albumin



Dog: rCan f 1 & rCan f 2



- **Dog allergens**
 - Can f 1, a lipocalin
 - Can f 2, a lipocalin
 - Can f 3, Dog serum albumin
 - Can f 4
- Can f 1 is a major allergen and one of the most important Dog allergens, and Dog dander and saliva have a high content of it (but serum has none).
- About 50-70% of Dog-allergic patients have been shown to have specific IgE directed to Can f 1 alone
- Can f 1 was preferentially detected in the dander and saliva, but not in skin, salivary gland, serum and liver extracts. Can f 2 was strongly expressed in skin, but not in dander, serum and liver
- The epitopes of Can f 1 are scattered among 7 different zones on the protein.

Dog: rCan f 1 & rCan f 2

e5: Dog dander – e2: Dog epithelium

Latin name: *Canis familiaris*

Family: Canidae

Common names: Dog, Domestic Dog, Hound

Source material: Dander



e101: rCan f 1 – e102: rCan f 2

Latin name: *Canis familiaris*

Family: Canidae

Common names: Dog

Source material: An E. coli strain carrying a cloned cDNA encoding Canis familiaris allergen

e221: Dog serum albumin

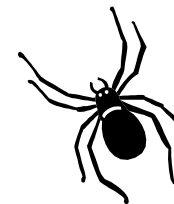
Can f 3, Dog serum albumin, a 69 kDa protein, is found in dander, epithelia, saliva, and serum . It has also been found in salivary glands (parotid and submandibular) and liver .

Dog albumin represents an important allergen for up to 35% of patients who are allergic to Dogs.

Established immunological relations within invertebrates:



- **Crustaceans: e.g. shrimp, crab, crawfish, lobster**
- **Mollusks: e.g. clams, mussels, oysters, snails, squid**
- **Arachnids: e.g. mites, spiders**
- **Insects: e.g. cockroaches**



Reese G et al. Immunol 1999;119:247-58

Allergen cross-reactivity between d1 and d2

Mite cross-reactivity

Table 1. Known allergens of house-dust mites

Allergen	Homology %	kDa	Description	Prevalence of HDM allergics reacting to allergen(s) in %
Der p 1 Der f 1	80	24	Cystein proteases	40–100
Der p 2 Der f 2	88	14	Like epididymal protein	70–96
Der p 3 Der f 3	81	25	Trypsin-like	16–100
Der p 4 Der f 4	–	56–63	Amylase	25–50
Der p 5 Der f 5	–	14	–	40–60
Der p 6 Der f 6	75	25	Chymotrypsin	39–41
Der p 7 Der f 7	86	26–31	–	40–52
Der p 8 –	–	26	Glutathione-S-transferase	40–50
Der p 9 –	–	24–68	Collagenolytic enzyme	92
Der p 10 Der f 10	98	37	Tropomyosin	41–81
Der f 11 –	–	98	Paramyosin	61–88
Der p 14 Der f 14	–	190	Apolipoporphin	–

Der m 1 is also known. Its N-terminal end shows 70% homology with Der p 1 and 93% with Der f 1. Source: Thomas & Smith (9) and other works (10–31).

“Allergen cross-reactivity between house-dust mites and other invertebrates”

K. E. Sidenius,
Allergy 2001; 56: 723-733

La tropomyosine Rf 351

- Tropomyosine retrouvée dans:
 - Crevette: Pen a 1, Met e 1, Pen I 1
 - Autres crustacés: crab Cha f 1, lobster Pan s 1, Hom a 1
 - Mollusques: oyster Crag g 1, Gastropod Tur c 1 et Tod p 1
 - Acariens: Der p 10 et Der f 10.
 - Blatte: Per a 7
- Tropomyosine des vertébrés ne montre pas d'allergie croisée avec celle des invertébrés: différence dans la séquence primaire de l'allergène. Pas d'allergie croisée démontrable entre la tropomyosine de crevette et celle de: porc, boeuf, poulet, souris.
- Tropomyosine est l'allergène thermostable des crevettes, crabe, homard, mais également des moules coquilles saint-jacques, ormeau.

Sequence identity between tropomyosins - from shrimp and:

- Lobster 99%
- Cockroach 82%
- D. farinae 81%
- D. pteronyssinus 81%
- Cattle tick 81%
- Locusta 81%

- Drosophila 77%
- C. elegans 70%
- Chironomus 72%
- Schistosoma 59%
- Man 57%
- Mytilus 56%

Table 1. Amino acid sequence identity among tropomyosins from different organisms

	<i>Mytilus edulis</i> (Blue mussel)	<i>Homo sapiens</i>	<i>Schistosoma haematobium</i> (Trematode)	<i>Mizuhopecten yessoensis</i> (Scallop)	<i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematode)	<i>Drosophila melanogaster</i> (Fruit fly)	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (House dust mite)	<i>Locusta migratoria</i> (Locust)	<i>Blatella germanica</i> (German cockroach)	<i>Charybdis feriatius</i> (Crab)	<i>Homarus americanus</i> (Lobster)
<i>Penaeus aztecus</i> (Shrimp)	57%	57%	60%	62%	71%	78%	81%	82%	83%	92%	99%
<i>Homarus americanus</i> (Lobster)	57%	57%	60%	62%	71%	79%	81%	82%	83%	92%	
<i>Charybdis feriatius</i> (Crab)	56%	60%	58%	62%	73%	81%	83%	84%	84%		
<i>Blatella germanica</i> (German cockroach)	57%	55%	56%	60%	69%	86%	81%	90%			
<i>Locusta migratoria</i> (Locust)	59%	57%	57%	61%	71%	88%	81%				
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (House dust mite)	56%	59%	59%	62%	72%	77%					
<i>Drosophila melanogaster</i> (Fruit fly)	54%	56%	56%	60%	69%						
<i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematode)	56%	60%	57%	60%							
<i>Mizuhopecten yessoensis</i> (Scallop)	68%	55%	64%								
<i>Schistosoma haematobium</i> (Trematode)	58%	50%									
<i>Homo sapiens</i>	54%										

Recombinant tropomyosin from *Penaeus aztecus* (rPen a 1) for measurement of specific immunoglobulin E antibodies relevant in food allergy to crustaceans and other invertebrates

Asa Marknell DeWitt, Lars Mattsson, Iris Lauer, Gerald Reese, Jonas Lidholm
Mol. Nutr. Food Res. 2004, 48, 370 – 379

L'arachide



Arachide

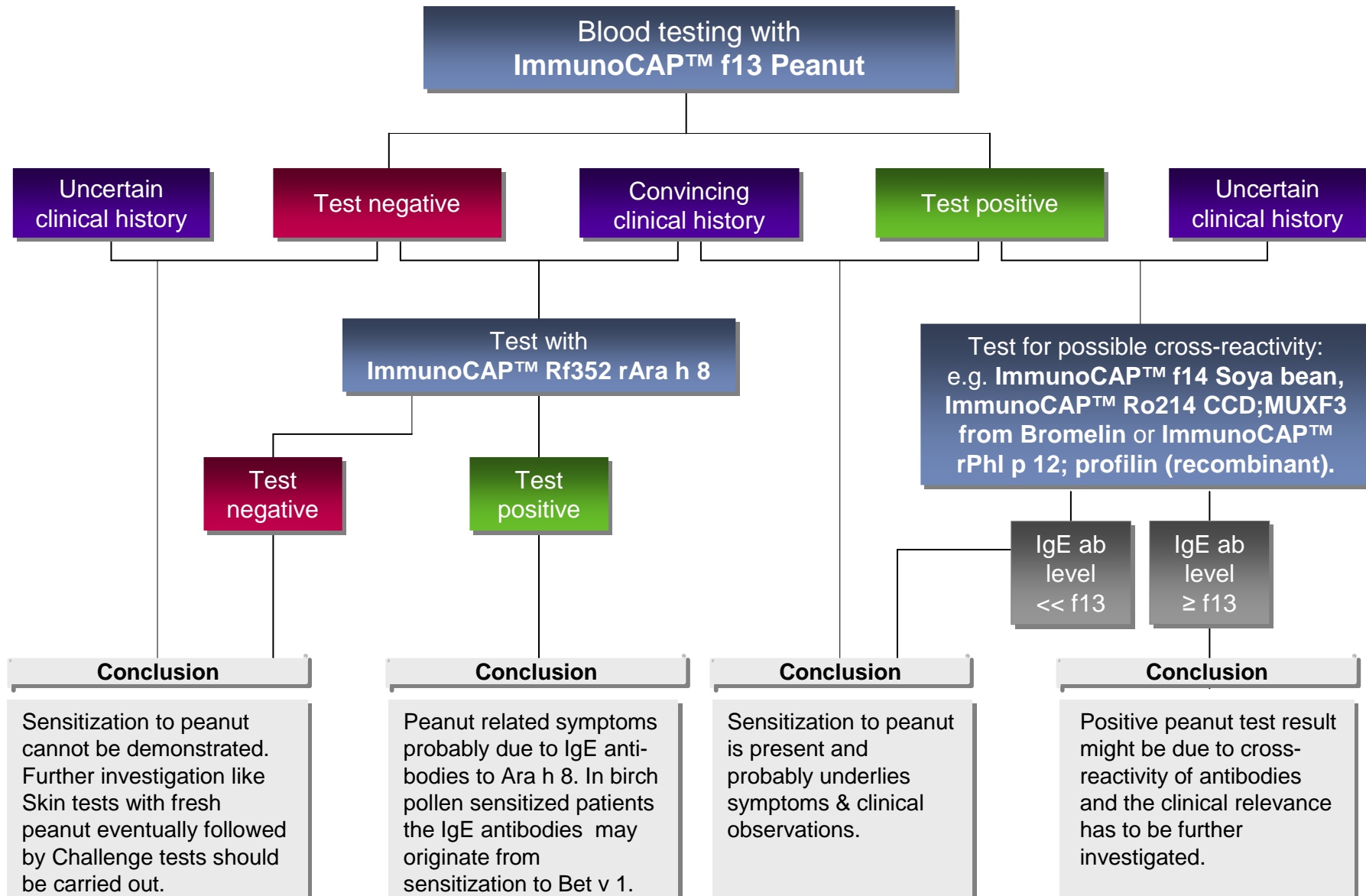
Ara h 1	Rf 422	Vicilline
Ara h 2	Rf 423	Conglutine
Ara h 3	Rf 424	11S globuline
Ara h 4		Glycinine
Ara h 5		Profiline
Ara h 6		2S albumine
Ara h 7		Albumine
Ara h 8	Rf 352	Analogue Bet v 1
Ara h LTP		LTP
Ara h Oleosine		Oleosine

- Ara h 2 est spécifique de l'AA à l'arachide
- Les patients également sensibilisés à Ara h 1 et Ara h 3 présentent les réactions les plus sévères
- Ara h 8: analogue de Bet v 1: SAO à l'arachide
- Ara h 5: profiline: risque de faux positif en cas de sensibilisation aux pollens
- 57% des sujets allergiques au pollen de graminée ou de bouleau: CAP + pour arachide:
 - Ara h 2: 2.5%
 - Ara h 8: 80%

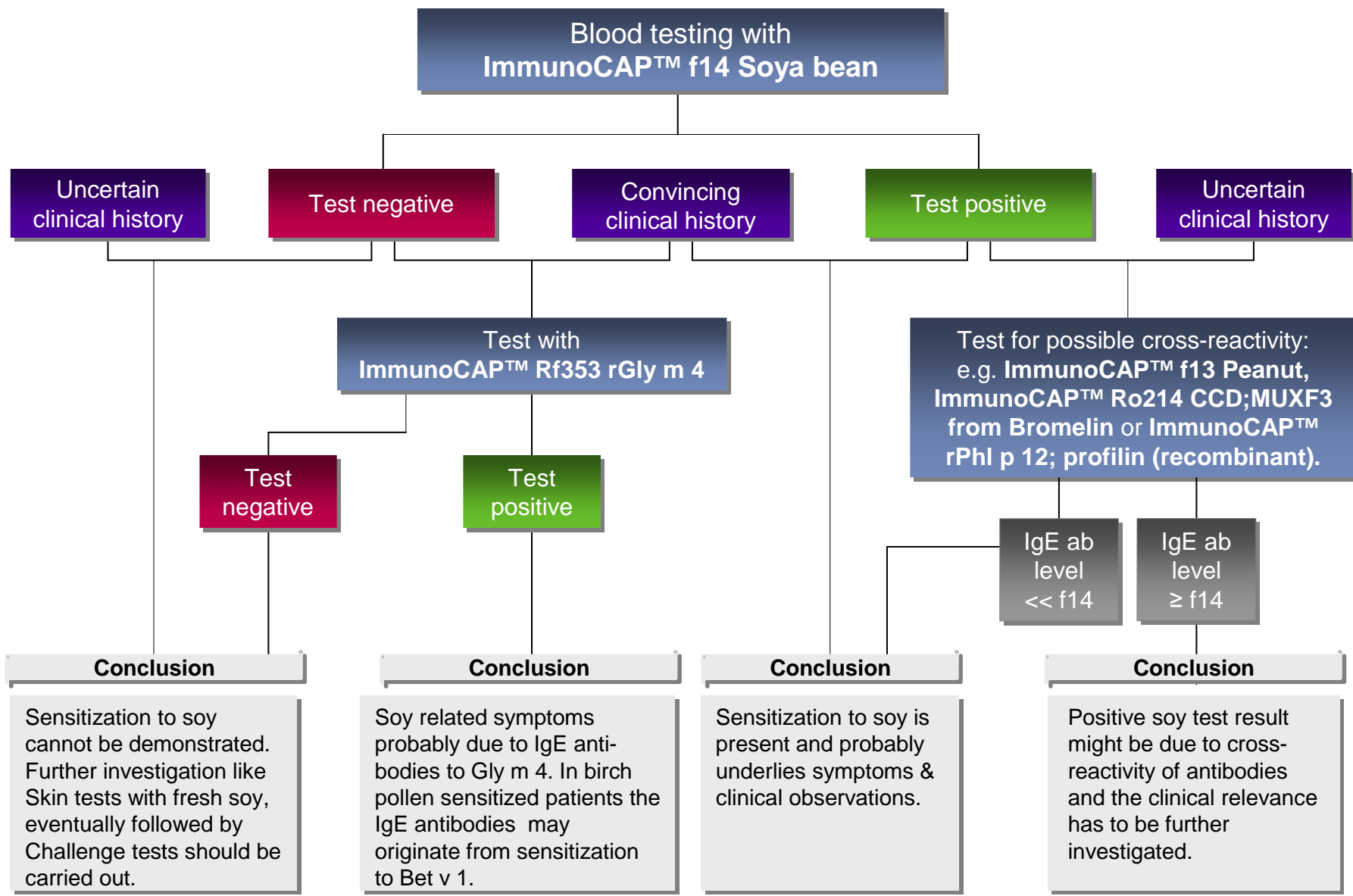
NB: Soja: analogue de Bet v 1:

Gly m 4 **Rf 353**

Suggested IgE ab testing of suspected peanut allergic patients



Suggested IgE ab testing of suspected soy allergic patients



Allergie à la farine de blé

Batais F.;REV.FR.ALLERGOL.IMMUNOL.CLIN.2007;VOL.47(3):171-174

- Protéines du blé classées suivant leur solubilité:
 - Albumines, solubles dans l'eau
 - Globulines, dans les solutions salines
 - Gliadines, dans mélange eau/ethanol
 - Gluténines, partiellement solubles dans les solutions acides et dans certains détergents
- Protéines du blé divisées en deux groupes:
 - 1.- Protéines de structure et fonction (20% du total): albumines et globulines
 - 2.- Protéines de réserve (80%) appelées prolamines ou gluten.
 - Les prolamines sont constituées à 50/50% de gliadines (protéines monomériques) et de gluténines (protéines polymériques).

Allergie à la farine de blé

Batais F.;REV.FR.ALLERGOL.IMMUNOL.CLIN.2007;VOL.47(3):171-174

- Les GLIADINES:
 - sont classées en fonction de leur mobilité électrophorétique en alpha, bêta et omega-gliadines.
 - Alpha et bêta gliadines sont regroupées ensemble (40-60% du total des gliadines.
 - Gamma-gliadines: très proches en composition d'AA des premières.
 - Omega-gliadines: 6-20% du total: se différencient des autres par leur forte teneur en résidus glutamine, proline et l'absence de cystéine. En fonction de leur mobilité électrophorétique, sont séparées en omega 1,2 et 5-gliadine.

Allergie à la farine de blé

Batais F.;REV.FR.ALLERGOL.IMMUNOL.CLIN.2007;VOL.47(3):171-174

Allergènes des ALBUMINES ET GLOBULINES

- Reconnus comme allergènes: inhibiteurs de l'alpha-amylase, acyl-coenzyme A oxidase, fructose biphosphate aldolase, peroxydase: responsables d'allergie respiratoire ou alimentaire. Reconnues dans 72% des allergies alimentaires.
- LTP1 de blé: reconnue dans 28%
- Thioredoxine: reconnue également comme allergène

Allergie à la farine de blé

Batais F.;REV.FR.ALLERGOL.IMMUNOL.CLIN.2007;VOL.47(3):171-174

ALLERGENES DU GLUTEN: GLIADINES ET GLUTENINES

- Alpha et omega5-gliadines interviennent dans les allergies respiratoires.
- Alpha, bêta, gamma et omega gliadines interviennent dans les allergies alimentaires, mais le profil de sensibilisation varie avec l'âge et des symptômes:
 - *alpha, bêta et gamma gliadines* dermatite atopique surtout
 - *omega5* dans l'anaphylaxie induite par l'effort (100%) et l'urticaire (53%), allergies immédiates au blé chez l'enfant.

Allergie au blé

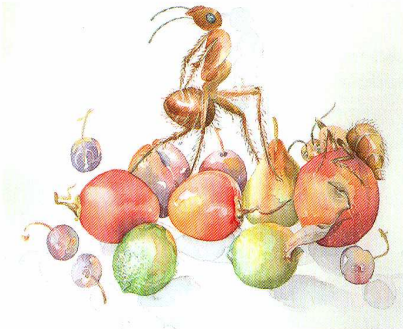
Anaphylaxie induite par l'effort

rTri a 19 – ω 5-gliadine (Rf 416)

- **AA au blé:** 12% des AA de l'enfant – 25% des AA de l'adulte.
- **Dans AIE:** rôle du blé dans 50%, mais prick positifs dans 7% des cas
- **CAP pour rTri a 19 (Rf 416):**
 - Positif dans 72% en cas d'AIE
 - 42% d'AA au blé
- **CAP négatif pour rTri a 19:**
 - Elimine le rôle du blé avec une probabilité de 92% dans AIE

Methods for improving natural fruit extracts

Maria Lundberg¹, MSc, Hans Öman¹, PhD, Anita Kober², PhD¹ MIAB and ² Phadia AB, Uppsala, Sweden.
 EAACI congress Gothenburg 2007 Poster group 2 - Poster Session - Food Allergy: Fruits and Vegetables, no 956
 Artwork: Cecilia Ceder, mail cecilia.ceder@skolor.vallentuna.se



Background

Allergy to fruit and vegetables is often associated with pollinosis. In central and northern Europe food allergy to fruits of the Rosaceae family is strongly associated with Bet v 1 allergens where in the Mediterranean population this type of allergic reactions are often related to lipid transfer proteins [1, 2] (LTPs).

The aim of this study was to explore new buffers trying to find the optimal formula for conserving labile Bet v1 structures during extraction.

Methods

Six fruits with somewhat limited uptake of IgE ab from Bet v 1 sensitized patient samples; Peach (f95), Cherry (f242), Plum (f255), Apricot (f237), Pear (f94) and Kiwi (f84) were selected. We used a panel of extraction procedures meant to preserve Bet v 1 structures, and coupled the extracts to ImmunoCAP[®] solid phase. The principal methods of stabilization of extraction were: "thermal shield" (TS), extraction on ice bath, "sacrifice substance" (SS) with 1 % ascorbic acid, "protease inhibition" (PI) with an inhibitor cocktail, Complete (Roche), and finally, "gentle environment" (GE), extraction in the presence of 2% Polyvinylpyrrolidone, PVP, a synthetic polymer with a molecular average weight of 25000 D, and combinations of these. The best method was used to produce an Improved ImmunoCAP diagnostic reagent.

Patient samples from different European regions were analysed with the Improved ImmunoCAP and compared to results from the corresponding Previous ImmunoCAP Inhibition studies with ImmunoCAP t215 rBet v 1 was used to confirm the hypothesis.

Conclusion

A polymer stabilized cold extraction method which preserved Bet v 1 analogue structures made it possible to make Improved ImmunoCAP[®] with natural extracts for six fruits and thus enhanced capability of quantifying IgE Ab in patient samples from regions where Bet v 1 sensitization is common.

References

- Pastorello EA, Ortolani C, Farioli L, et al. Allergenic cross-reactivity among peach, apricot, plum, and cherry in patients with oral allergy syndrome: an *in vivo* and *in vitro* study. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94(4):699-707.
- Salcedo G, Sanchez-Monge R, Diaz-Perales A, Garcia-Casado G, Barger D. Plant non-specific lipid transfer proteins as food and pollen allergens. *Clin Exp Allergy* 2004 Sep;34(9):1336-41.

Results

Of the different extraction methods evaluated, optimal performance was achieved with a polymer stabilized cold extraction procedure (TS+GE) and very limited effects were seen with the other extraction methods. In a majority of selected samples there was a higher uptake by the Improved than by the Previous ImmunoCAP[®] (Figure 1). Samples from northern part of Europe had a more profound increase than samples from the Mediterranean region, suggesting a higher content of Bet v 1 analogues in the Improved reagent.

This was confirmed by results from the inhibition studies, where the IgE ab binding to ImmunoCAP[®] t215 rBet v 1 (Figure 2) was more inhibited by the Improved than by the corresponding Previous fruit extracts (Figure 2).

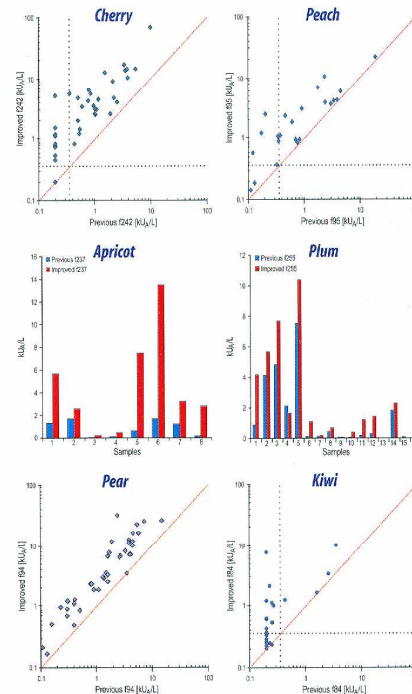


Figure 1. IgE Ab analysis for selected samples with ImmunoCAP[®] produced from six native fruits with either polymer-stabilized cold (Improved) or normal (Previous) extractor

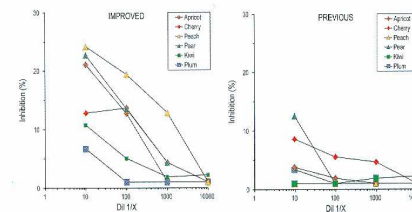
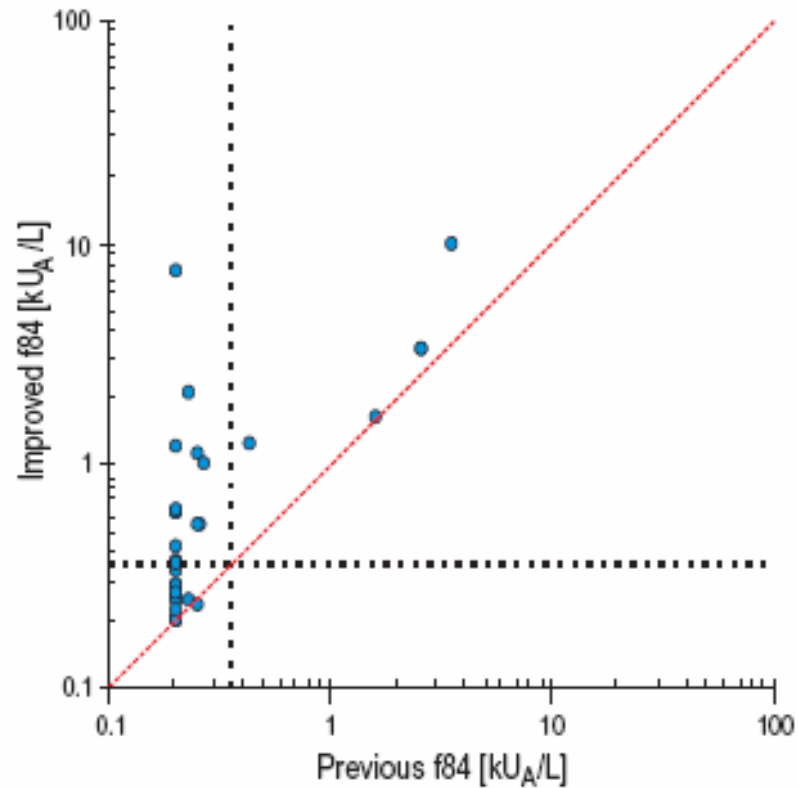


Figure 2. Inhibition of ImmunoCAP[®] t215 rBet v 1 reaction with six Improved and corresponding Previous native fruit extracts.

Improving natural fruit extracts

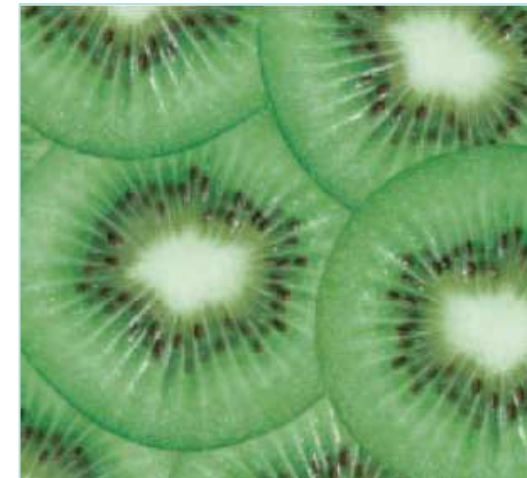
- Extraction des allergènes par une solution respectant les protéines fragiles, comme Bet v 1.
- Extraction à froid sur bain de glace, et stabilisation de la solution d'extraction par Polivinylpyrrolidone

Updated Foods: (Extraction)



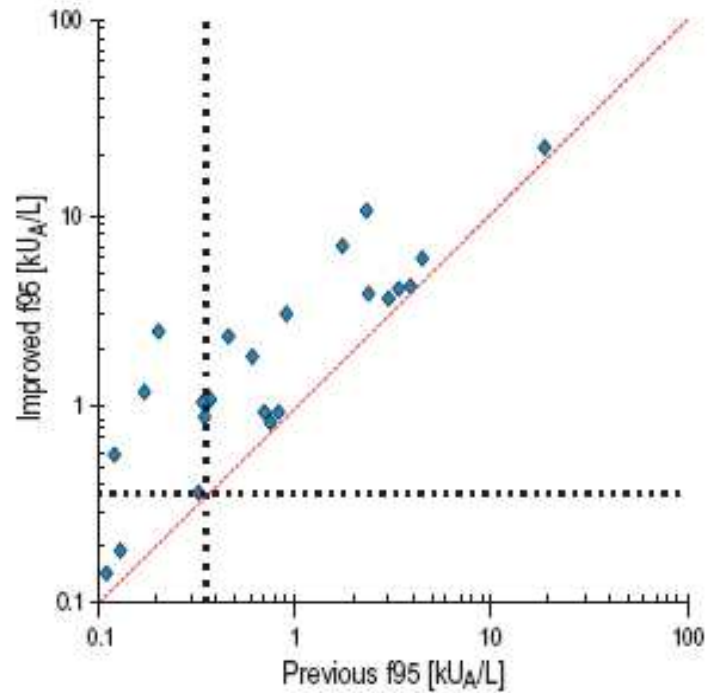
Comparison between the previous and the new improved ImmunoCAP™ Allergen f84.

f84 Kiwi
Actinidia deliciosa



Updated Foods: (Extraction)

f95 Peach
Prunus persica



Comparison between the previous and the new improved ImmunoCAP™ Allergen f95.



f94 Pear

Pyrus communis
Family: *Rosaceae*



f237 Apricot

Prunus armeniaca
Family: *Rosaceae*



f255 Plum

Prunus domestica
Family: *Rosaceae*



f242 Cherry

Prunus avium
Family: *Rosaceae*



Updated Foods: (Extraction)

f201 Pecan nut

Carya illinoensis
Family: *Juglandaceae*



f256 Walnut

Juglans spp.
Family: *Juglandaceae*



Rf348 Litchi

Litchi chinensis
Family: *Sapindaceae*



IgE mediated allergy to Litchi, a case study demonstrating clinical relevant sensitisation to profilin

Costa C¹, Pereira Santos M C², Pereira Barbosa M A¹, Lundberg M³, Kober A⁴

¹ Santa Maria Hospital, Immunoallergy Unit, Lisbon, Portugal; ² Lisbon Faculty, Clinical Immunology Unit IMM, Lisbon, Portugal;

³ Miab, Research & Development, Uppsala, Sweden; ⁴ Phadia AB, Medical Department, Uppsala, Sweden



Litchi chinensis

Conclusion

The profilin in Litchi fruit was identified as the protein probably mainly responsible for the patient's symptoms. The new modified Litchi extract where profilin was preserved resulted in an improved Litchi ImmunoCAP™ f348. With the updated ImmunoCAP a clear positive reaction with the patient serum was demonstrated.

New recombinants

Rf354 rBer e 1 (recombinant)

rBer e 1 from Brazil nut

Family: *Bertholletia excelsa*



Ber e 1 is a 2S albumin, a family of common major storage proteins, found in many edible seeds and nuts including walnut, mustard, sesame, Brazil nut, peanut, cottonseed, sunflower and castor bean (1-3). Ber e 1 is a major allergen of Brazil nut and binds IgE antibodies from sera of more than 80% of Brazil nut-allergic subjects (4-5).

t224 nOle e 1 (native)

nOle e 1 from *Olea europaea*



Ole e 1 has been reported to be a marker allergen for the diagnosis of olive and European ash pollen allergy (14).

t25 European Ash

Latin: *Fraxinus excelsior*

Family: *Oleaceae*

Source material: Pollen



Allergie au pollen de Frêne

- Famille des oléacées.
- Pollinise en même temps que le bouleau
- Allergènes:
 - **Fra e 1**, allergène majeur, analogie de structure de 75% avec Ole e 1.
 - **Fra e 2**: profiline: inhibé par Bet v 2
 - **Fra e 3**: polcalcine: inhibé par Phl p 7
 - **Isoflavone reductase**, analogue de Bet v 5
- Tests cutanés très souvent positifs en même temps que le pollen de bouleau:
 - Sans rapport avec Bet v 1
 - En rapport avec profiline et polcalcine

Allergie au pollen de Frêne

- Comment faire la différence entre une sensibilisation au frêne, au bouleau, en cas de symptômes de pollinose en mars-avril:
 - CAP pour:
 - rBet v 1
 - nOle e 1
 - rBet v 2
 - rPhl p 12

Parvalbumin: rCyp c 1

- rCyp c 1: Parvalbumin from Carp
- rGad c 1: Parvalbumin from Cod
- Parvalbumins are abundant and stable allergens.
- Parvalbumins are small (12-kDa) calcium-binding proteins with a remarkable resistance to heat, denaturing chemicals, and proteolytic enzymes.
- sensitizing agents for > 95% of fish allergic patients



Céleri – rApi g 1 (f417)

- Allergènes du céleri:
 - **Api g 1:** analogue de Bet v 1
 - Api g 3: chlorophyl Ab-binding protein
 - Api g 4: profiline
 - Api g 5: Glycoprotéine chargée en CCD
 - LTP
- IgE contre Api g 1: positives chez 59% des patients sensibilisés à Bet v 1.
- Céleri: symptômes allant du SAO au choc

Allergènes de la pêche

Rf419	Pru p 1	Analogue de Bet v 1
Rf420	Pru p 3	LTP
Rf 421	Pru p 4	Profiline

Rf420 – Pru p 3 - LTP

- Responsables de réactions anaphylactiques:
 - Thermostable
 - Résistance à la digestion peptique
- Panallergène croisant au sein des rosacées:
 - Pomme (Mal d 3)
 - Prune (Pru d 3)
 - Abricot (Pru ar 3)
 - Poire
 - Cerise
- 4 épitopes caractérisés couvrant 40% de la surface de la protéine (Biochem Biophys Res Commun 2008;365(4):685-90)

Rf420 – Pru p 3 - LTP

- Croise également avec les LTP de:
 - Riz
 - Maïs
 - Raisin
 - Noix, noisette
 - Arachide
 - Laitue, chou...
- **Blé:**
 - la LTP de blé intervient dans l'asthme du boulanger, mais analogie de séquence de 45% avec la LTP de pêche: risque faible d'allergie croisée.

Table 1. LTP allergens in inhalants and foods.

Allergen name*	Taxonomic name of allergenic source	Common name of allergenic source
Pollens		
Amb a 6	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Short ragweed
Art v 3	<i>Artemisia vulgaris</i>	Mugwort
Par j 1	<i>Parietaria judaica</i>	Wall pellitory
Par j 2	<i>Parietaria judaica</i>	Wall pellitory
Par o 1	<i>Parietaria officinalis</i>	Wall pellitory
Cas s 8	<i>Castanea sativa</i>	Chestnut
Cor a 8	<i>Corylus avellana</i>	Hazel
Pla a 3	<i>Platanus acerifolia</i>	London plane tree
Ole e 7	<i>Olea europea</i>	Olive
Latex		
Hev b 12	<i>Hevea brasiliensis</i>	Rubber (latex)
Foods		
Tri a 14	<i>Triticum aestivum</i>	Wheat
Zea m 14	<i>Zea mays</i>	Maize
Cor a 8	<i>Corylus avellana</i>	Hazelnut
Mal d 3	<i>Malus domestica</i>	Apple
Pru ar 3	<i>Prunus armeniaca</i>	Apricot
Pru av 3	<i>Prunus avium</i>	Sweet cherry
Pru d 3	<i>Prunus domestica</i>	European plum
Pru p 3	<i>Prunus persica</i>	Peach
Pyr c 3	<i>Pyrus communis</i>	Pear
Aspa o 1	<i>Asparagus officinalis</i>	Asparagus
Lac s 1	<i>Lactuca sativa</i>	Lettuce
Vit v 1	<i>Vitis vinifera</i>	Grape
Jug r 3	<i>Juglans regia</i>	English walnut
Cas s 8	<i>Castanea sativa</i>	Chestnut
Cit l 3	<i>Citrus limon</i>	Lemon
Cit s 3	<i>Citrus sinensis</i>	Orange
Fra a 3	<i>Fragaria ananassa</i>	Strawberry
Lyc e 3	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomato
Bra o 3	<i>Brassica oleracea</i>	Cabbage
Hel a 3	<i>Helianthus annuus</i>	Sunflower seeds

* Based on IUIS nomenclature (www.allergen.org)

- LTP disponibles:
 - Rf 420 : Pru p 3
 - Rf 425 : Cor a 8
 - Rf 427 : Ara h 9

Les CCD

(Cross-reactive carbohydrate determinants)

CCD

Inducteurs de RAST faussement positifs

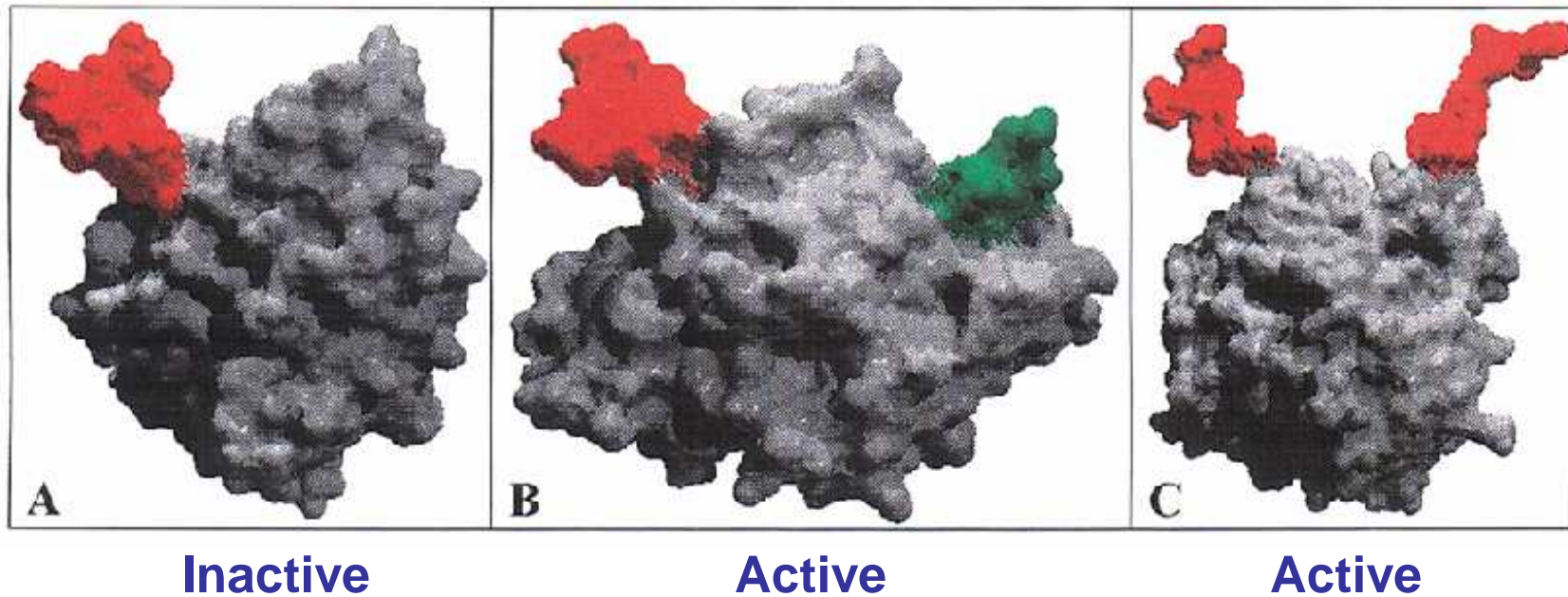
- Radicaux carbohydrates:
 - Antigènes monovalents
 - Faible affinité pour les IgE
- ➔ Risque faible de dégranulation des basophiles et mastocytes (nécessité d'allergènes divalents et de forte affinité)
- ➔ Mais donnant des RAST positifs (système monovalent et de faible affinité)

CCD

Inducteurs de RAST faussement positifs

- **Présence d'IgE anti-CCD:**
 - 24% des sujets allergiques à un pollen
 - Jusqu'à 72% des sujets allergiques à plusieurs pollens
 - 18% des sujets allergiques au venin d'hyménoptère
 - 8.5% des sujets allergiques au latex
- **Toujours rechercher une sensibilisation aux CCD si RAST positif pour:**
 - Aliments végétaux
 - Latex
 - Venin d'hyménoptères

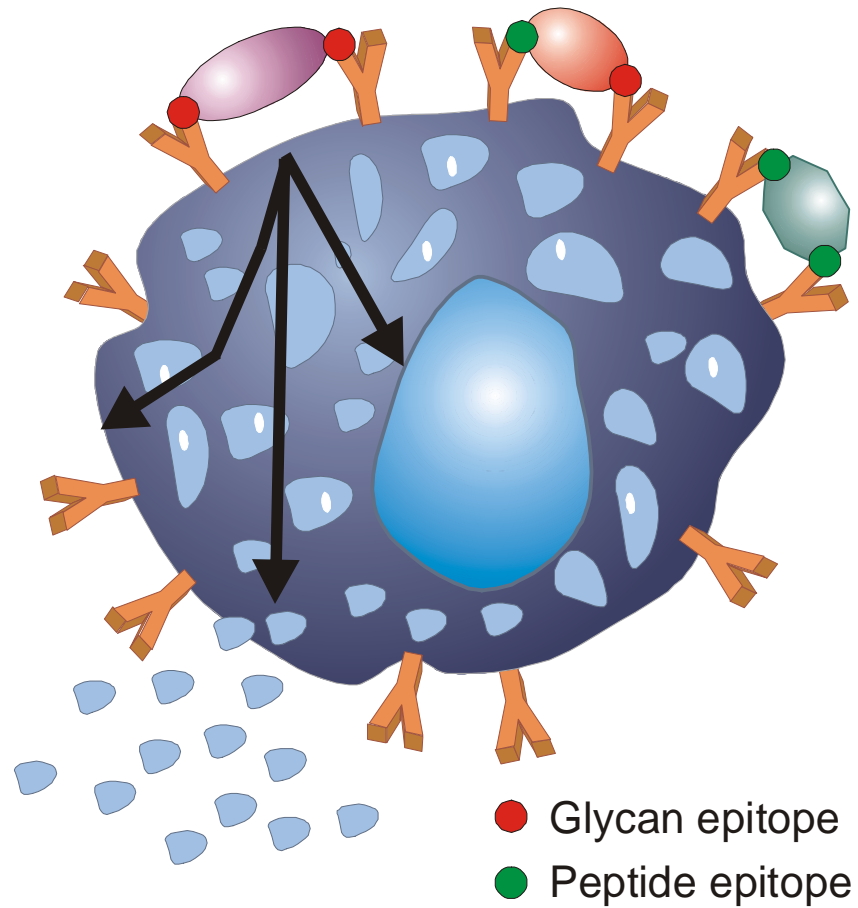
Are CCD epitopes biologically active or not?



Red - carbohydrate epitope

Green - peptidic epitope

Crosslinking can be achieved by "cooperation"
between carbohydrate and peptide epitopes!



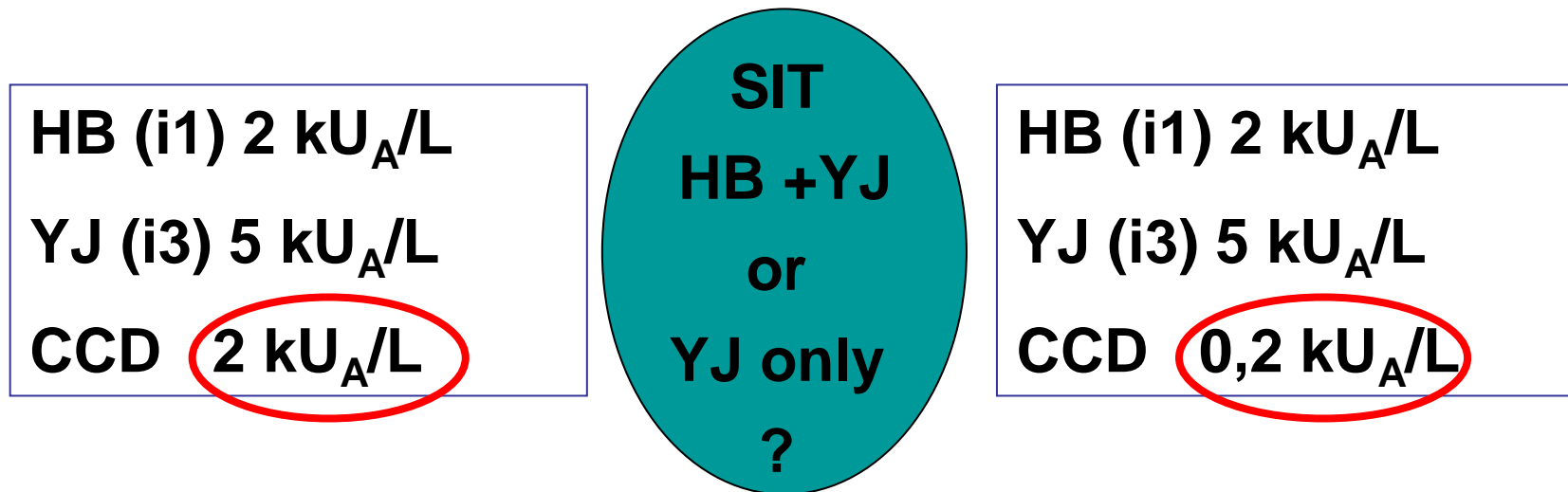


Double positive Venoms



Prevalence and clinical relevance of specific immunoglobulin E to pollen caused by sting- induced specific immunoglobulin E to cross-reacting carbohydrate determinants in Hymenoptera venoms

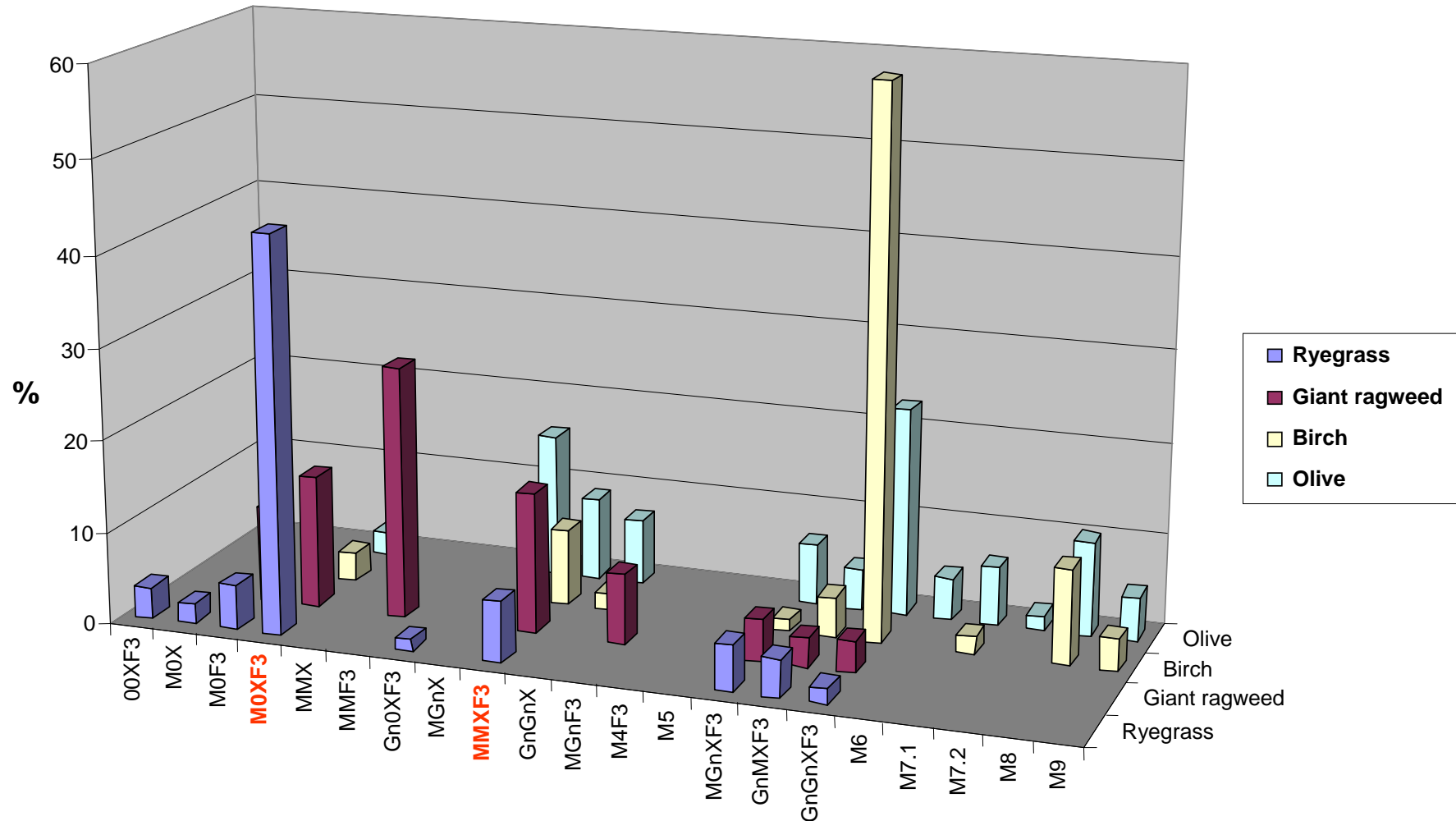
Kochuyt AM et al. Clin Exp All 2005; 35:441-47



In vitro hymenoptera venom allergy diagnosis: improved by screening for cross-reactive carbohydrate determinants and reciprocal inhibition

Jappe U et al. Allergy 200661: 1220-29

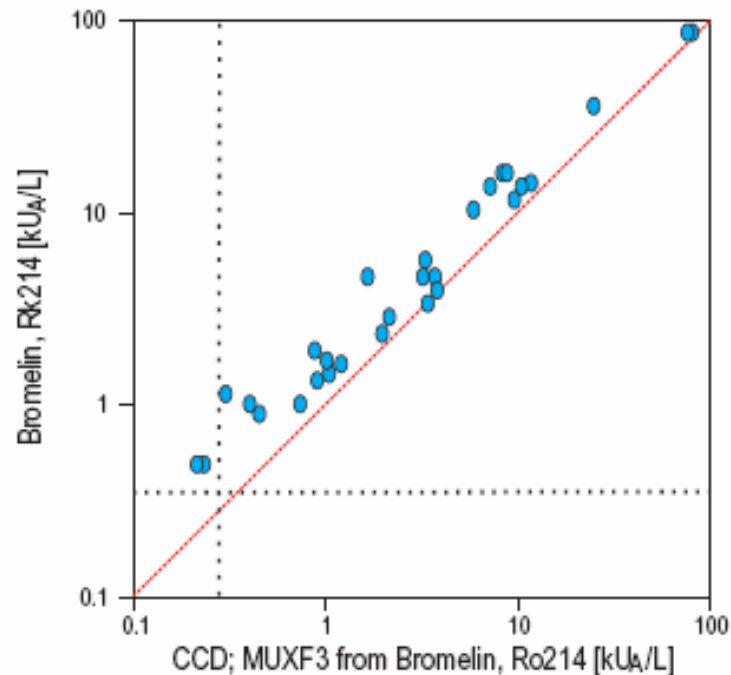
Relative frequency of carbohydrate structures in some pollens



N-glycans from pollens

New ImmunoCAP™ CCD: Ro 214

- The new ImmunoCAP™ Allergen, **CCD- MUXF3** from bromelin, is a pure CCD reagent containing only the MUXF3 carbohydrate epitope, thus avoiding IgE antibody binding to other bromelin epitopes. The MUXF3 carbohydrate epitope is purified from digested bromelin.



CCD; MUXF3, Ro214 and Bromelin, Rk202 show good correlation. Rk202, containing the complete bromelin glycoprotein, gives slightly higher results than the Ro214 containing only the MUXF3 carbohydrate chains.

Pathologies allergiques induites par les moisissures

- Asthme
- Sinusite et rhinite allergique
- Asthme allergique
- Pneumopathies d'hypersensibilité
- ABPA
- Dermatite atopique

Pathologies allergiques induites par les moisissures

- Allergies respiratoires, en particulier l'asthme ont été clairement associés à l'exposition à:
 - Aspergillus
 - Alternaria
 - Cladosporium
 - Penicillium
 - Basidiomycètes

Prévalence de l'allergie aux moisissures

- Chiffres variables en fonction des études, en rapport avec la qualité des extraits
- Prévalence de la sensibilisation:
 - 3 – 10% de la population

Problème des extraits allergéniques

Moser et al, J Immunol 1992;149:450-460

- **Aspergillus:**
 - 80 allergènes majeurs et mineurs: la standardisation d'un tel extrait est presque impossible
 - Comparaison entre les extraits d'aspergillus de 8 compagnies différentes:
 - La concentration de l'allergène majeur Asp f 1 varie de 0.1 à 64 µgr/ml
 - Démonstré également pour alternaria

Le problème des polysensibilisations aux moisissures

Table 1. Sensitization to different fungi of patients with a clinical history of *A. fumigatus* allergy determined by ImmunoCAP

Patient	m3 (kU _A /l)	m6 (kU _A /l)	m2 (kU _A /l)	m70 (kU _A /l)
	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. alternata</i>	<i>C. herbarum</i>	<i>M. sympodialis</i>
1	>100	20.4	14.5	2.71
2	>100	5.63	5.82	0.62
3	99.3	5.89	6.61	2.18
4	70.4	4.32	1.98	0.37
5	61.5	16.5	5.35	10.1
6	45.3	18.5	56.4	7.53
7	11.3	42.8	25.2	nd
8	10.6	22.9	8.26	nd
9	5.01	23.4	7.02	>0.35
10	1.95	9.56	7.48	>0.35

nd = Not determined.

Classification des allergènes des moisissures

- **Spécifiques d'espèce**
 - *Aspergillus fumigatus*: Asp f 1
 - *Alternaria alternata*: Alt a 1
 - *Coprinus comatus*: Cop c 1
- **Panallergènes: non spécifiques d'espèce:**
 - Enolases
 - Protéines peroxisomales
 - Aldehyde déshydrogénases
 - Heat shock proteins
 - MnSOD
 - Protéines ribosomales P1 et P2
 - Cyclophilines
 - Facteur de transport nucléaire 2
 - Thioderoxines

Caractéristiques des panallergènes des moisissures

- Structures très conservées sur le plan phylogénétiques:
 - Structure proche, même fonction métabolique
 - Identité de séquence des AA de 50-80%, autorisant les réactions croisées.
- On retrouve ces panallergènes:
 - Chez l'homme: MnSOD
 - Les plantes: MnSOD, cyclophiline
 - Les moisissures
- Avec des identités de séquence > 50%:
 - Permettant les allergies croisées

Caractéristiques de
quelques panallergènes
fongiques

Manganèse superoxyde dismutase

MnSOD

- Fonction physiologique:
 - Protection de l'ADN contre le stress oxydatif
- Uprégulation en cas de:
 - Stress oxydatif
 - Traumatisme mécanique
 - Irradiation UV
- C'est l'allergène spécifique de l'ABPA
- Exemples
 - Asp f 6
 - Mala s 11
 - Ole e 5
 - Hev b 10

Manganèse superoxyde dismutase

MnSOD

- Identité de séquence d'acides aminés de la MnSOD humaine avec celle de:
 - Latex: 59%
 - Aspergillus: 50%
 - Malassezia: 50%
- MnSOD d'aspergillus croise avec MnSOD:
 - Humaine
 - Saccharomyces
 - Latex (Hev b 10)
 - Ferreira F, Allergy 2004;59(3): 243-67

Enolase

- Enzyme glycolytique catalysant la conversion de 2-phosphoglycerate et phosphoenolpyruvate.
- Présent également dans le règne animal et végétal.
- Identité de séquence d'acides aminés très proches entre les énolases, de la bactérie au mammifère.
- Impliqué fortement dans les sensibilisations croisées entre levures (candida, saccharomyces), mais également entre nombreuses moisissures
- Exemples
 - Alt a 6
 - Asp f 22
 - **Hev b 9**
 - Levures, pollens, bactéries

Enolase

- Réactions croisées entre énoleses de:
 - Cladosporium herbarum
 - Alternaria alternata
 - Aspergillus fumigatus
 - Candida albicans
 - Saccharomyces cerevisiae
 - Penicillium citrinum
 - Fusarium solani
- Enolase d'alternaria et cladosporium croise avec celle du latex
- Sensibilisation primaire probable à enolase de candida et saccharomyces, puis réaction croisée aux autres enolases

Les principaux panallergènes connus dans les moisissures

	Alternaria alternata	Aspergillus fumigatus	Penicillium citrinus	Cladospor. herbarum	Fusarium culmorum	Candida albicans	Malassezia sympodialis	Saccharom. cerevisiae	Latex	Homme
MnSOD		Asp f 6					Mala s 11	Sac c MnSOD	Hev b 10	Hom s MnSOD
P.ac.ribos.p1	Alt a 12			Cla b 12						
P.ac.ribos.p2	Alt a 5	Asp f 8		Cla b 5	Fus c 1					
Cyclophiline		Asp f 27				Cand a CyP	Mala s 6	Sac c CyP		Hom s CyP
Thioredoxine		Asp f 28-29			Fus c 2		Mala s 13			Hom s Trx
Enolase	Alt a 6	Asp f 22	Pen c 22	Cla b 6		Cand a ?		Sac c ?	Hev b 9	
P.peroxisomale		Asp f 3				Cand a 1	Mala s 5			
Aldehyde deshyd.	Alt a 10			Cla b 10		Cand a 3				
Heat shock p.	Alt a 3	Asp f 12	Pen c 19				Mala s 10			
Serine prot. Alcal. Vacu.		Asp f 13 Asp f 18	Pen c 1-13 Pen c 1-18	Cla b 9						

Trois cas particulier:

- Asthme sévère
- ABPA / Mucoviscidose
- Dermatite atopique autoimmune

Asthme sévère et IgG anti – α -énolase

Nahm D. – JACI 2006;118(2):376-81

- L'asthme sévère est corrélé à un taux élevé d'IgG anti- α -énolase.
- Mécanisme auto-immun suspecté, α -énolase serait l'auto-antigène.

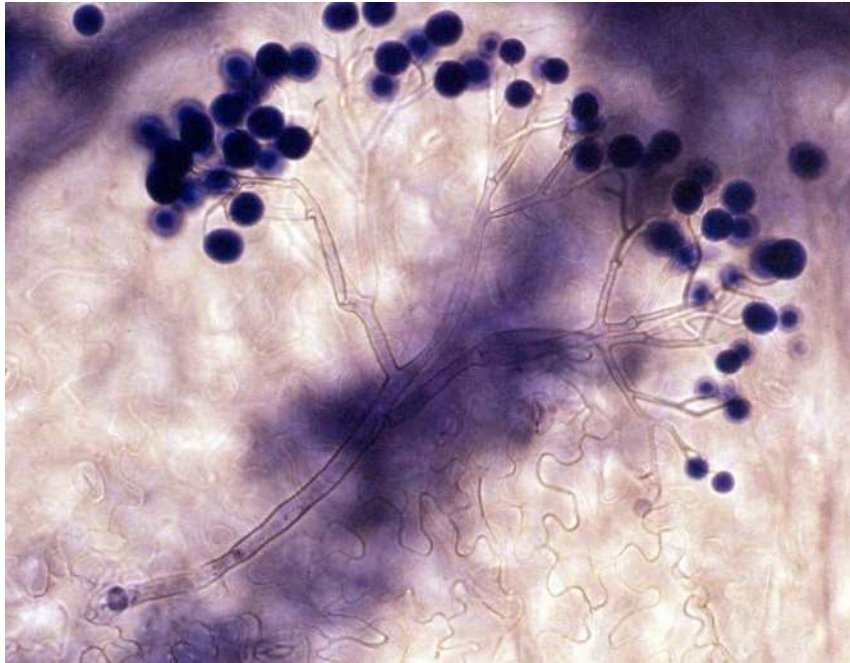
ABPA

Schwienbacher M, Allergy 2005,60(11):1430-1435

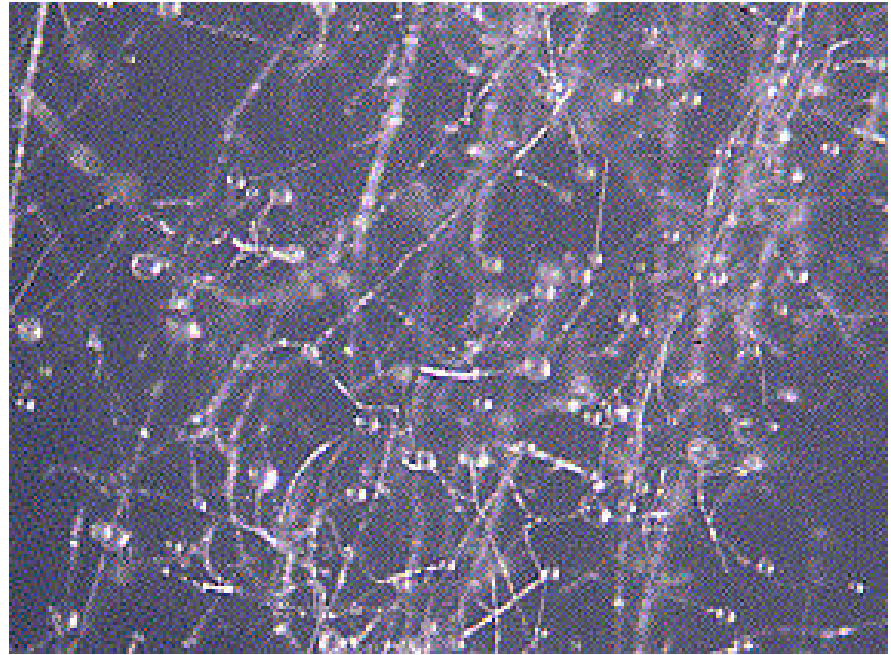
- En particulier dans la mucoviscidose, il est important de savoir si les patients sont simplement sensibilisés à *Aspergillus*, ou s'ils souffrent d'ABPA.
- Asp f 6 (MnSOD) est reconnu spécifiquement par les sujets souffrant d'ABPA.
- Asp f 6 ne se trouve que dans les hyphes d'*aspergillus*, pas dans les spores.
- IgE anti-Asp f 6 signent donc une *colonisation* par *aspergillus*, et *pas une sensibilisation* aux spores.

ABPA

Conidies sur conidiophore



Hyphes



Hyphes + Thalle = Mycelium

ABPA et mucoviscidose

Casaulta C, Pediatr Allergy Immunol 2005;16:217-225

- Mucoviscidose:
 - Colonisation par aspergillus dans 30-40%
 - ABPA dans 10%
- CAP-+RAST positif pour:
 - rAsp f 1 et rAsp f 3 en cas de sensibilisation à aspergillus
 - rAsp f 4 et rAsp f 6 en cas d'ABPA
- L'augmentation des IgE contre rAsp f 4 et rAsp f 6 évoquent une rechute d'ABPA
- Le taux d'IgE pour les recombinants ne permettent pas de monitoriser le traitement et ne se normalisent pas sous traitement.
- Idem pour les IgG anti-aspergillus

ABPA et mucoviscidose

Casaulta C, Pediatr Allergy Immunol 2005;16:217-225

- Cut-off prédictif d'une ABPA
 - IgE totales > 1.000 (faible sensibilité)
 - IgG anti-aspergillus fumigatus > 20 kU/l
 - IgE anti rAsp f 1 > 9.6 kU/l
 - 3 > 13.2
 - 4 > 8.4 (bonne sensibilité)
 - 6 > 7.2 (bonne sensibilité)

MnSOD et dermatite atopique

- Deux types de DA:
 1. Extrinsèque: 70-80% : sensibilisation +
 2. Intrinsèque: 20-30% : Sensibilisation –
- Malassezia/Pityrosporum est responsable de:
 - Pityriasis versicolor
 - Folliculite
 - Dermatite séborrhéique
 - DA / Syndrome tête et cou

MnSOD et dermatite atopique

Guarneri F, JACI 2006;117(4):957-8

- Malassezia induirait une forme autoimmune de DA, par réaction croisée entre la MnSOD de malassezia et humaine (kératinocytes).
- Même risque si contact précoce de l'enfant avec le latex (Hev b 10)
- Avec auto-entretien de la DA.
- Identité entre MnSOD humaine et de:
 - Latex: 56%
 - Aspergillus: 50%
 - Malassezia: 50%

MnSOD et dermatite atopique

Schmid-Grendelmeier P, JACI 2005;115:1068-75

- 69 patients souffrant de DA
- Mesure des IgE spécifiques, prick, APT et prolifération des leucocytes contre MnSOD humaine, d'aspergillus et malassezia:
 - IgE + chez 29/67
 - MnSOD humaine induit une prolifération des leucocytes chez les patients positifs
 - MnSOD uprégulée, dans les foyers inflammatoires, pas en peau saine.
 - Co-sensibilisation avec la MnSOD d'aspergillus et Malassezia.
- ➔ MnSOD humaine est un autoallergène
- ➔ Vu les réactions croisées, Asp f 6 permettrait-il de vérifier la sensibilisation à la MnSOD humaine?

Schmid-Grendelmeier P, JACI 2005;115:1068-75
 Schmid-Grendelmeier P, Chem Immunol Allergy
 2006;91:98-109

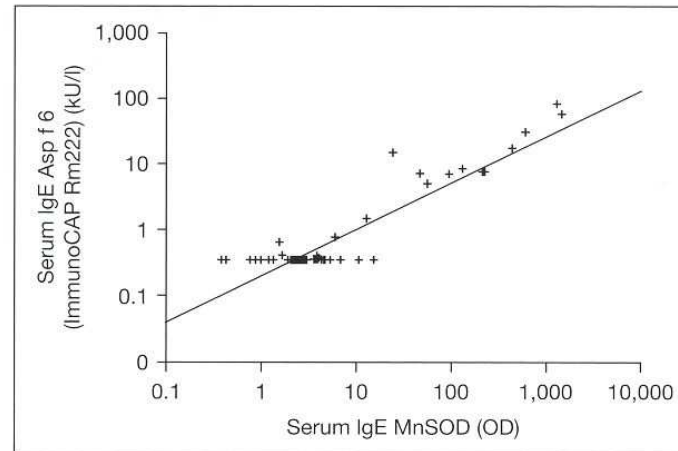
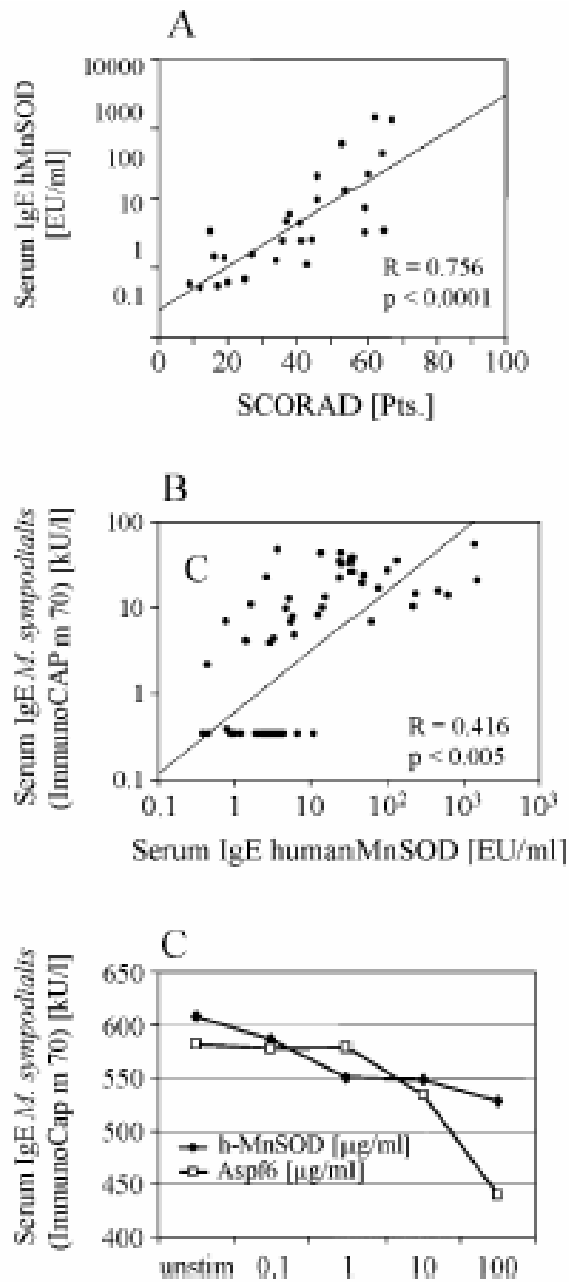


Fig. 1. Correlation between IgE against Asp f 6 and IgE against Mala s 11 in AE patients sensitized to *M. sympodialis* extract. The serology indicates strong cross-reactivity between the two MnSOD structures which has been confirmed also by Western blot analyzes and inhibition ELISA [Glaser, pers. commun.].

FIG 1. A. The relationship between disease activity expressed by SCORAD and specific IgE against MnSOD in the subgroup sensitized against hMnSOD. **B.** Values of specific IgE against *M. sympodialis* analyzed by ImmunoCAP are compared with specific IgE against hMnSOD measured by ELISA. **C.** The inhibition of detectable IgE levels against *M. sympodialis* by fungal MnSOD (Asp f 6) and human MnSOD is shown, pointing out the cross-reactivity between these proteins and *M. sympodialis* extract.

Qu'avons-nous sous la main en pratique?

- Dermatite atopique:
 - Rm 227: Malassezia
 - Rm 222: Asp f 6
- Allergies aux moisissures
 - Rm 218: Asp f 1
 - Rm 220: Asp f 3
 - Rk 222: Hev b 9 (enolase)
 - Rm 229: Alt a 1
- ABPA:
 - Rm 221: Asp f 4
 - Rm 222: Asp f 6

IgG (precipitines) available

Products for IgG determinations in Allergic alveolitis				
Product	Code	Size	Art. No.	Note
<i>Alternaria alternaria</i>	Gm6	16	14-4444-01	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Gm3	16	14-4442-01	
<i>Aspergillus versicolor</i>	RGm25	10	14-5305-10	1
<i>Candida albicans</i>	Gm5	16	14-4443-01	
<i>Cladosporium herbarum</i>	Gm2	16	14-4441-01	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	RGm26	10	14-5306-10	1
<i>Micropolyspora faeni</i> ←	RGm22	10	14-5302-10	1
<i>Penicillium spp.</i>	RGm27	10	14-5307-10	1
<i>Stachybotrys atra</i> ←	RGm24	10	14-5304-10	1
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i> ←	RGm23	10	14-5303-10	1
Budgerigar serum proteins, feathers and droppings	RGe90	10	14-5316-10	1
Pigeon serum proteins, feathers and droppings	RGe91	10	14-5315-10	1
Parrot serum proteins, feathers and droppings	RGe92	10	14-5317-10	1
Mixes				
m1, Gm2, m4, Gm6	RGmx6	10	14-5319-10	1
<i>Penicillium notatum, Cladosporium herbarium (Homodendrum), Mucor racemosus, Alternaria alternata (A. tenuis)</i>				
RGm22, RGm23	RGmx7	10	14-5318-10	1
<i>Micropolyspora faeni, Thermoactinomyces vulgaris</i>				

Note 1: Analyte Specific Reagents (for IgG)

DOSAGE DES IGG ANTI-MOISSISSURES ET ANTI-AVIAIRES SUR UNICAP DANS L'ALVEOLITE ALLERGIQUE EXTRINSEQUE ET L'ASPERGILLOSE BRONCHOPULMONAIRE ALLERGIQUE

GILLAIN N. (*), GRAND J.-L. (**), BROUX R. (**), SACRE J.-P. (***), MINON J.-M. (*)
 (*) SERVICE DE BIOLOGIE MÉDICALE, (**) PNEUMOLOGIE, (***) PÉDIATRIE,
 CHR LA CITADELLE - 1, BOULEVARD DU 12^{ème} DE LIGNE, 4000 LIEGE.

Aspergillus fumigatus

Alternaria tenuis

IgG anti-	normes suédoises (mg/l)	normes proposées (mg/l)
<i>Alternaria tenuis</i>	3 à 25	0 à 9,5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5 à 126	0 à 50
<i>Aspergillus versicolor</i>		0 à 56
<i>Cladosporium berbarum</i>	5,1 à 56	0 à 21,5
<i>Cladosporium cladosporoides</i>		0 à 13
<i>Micropolyspora faeni</i>	1,5 à 8,9	0 à 4,5
<i>Penicillium spp</i>	2,5 à 33	0 à 39
<i>Stachybotrys atra</i>		0 à 11,5
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	2,8 à 37	0 à 16
perruche	2 à 11	0 à 6,5
pigeon	2 à 12	0 à 14
perroquet	2 à 9,1	0 à 6
canari		0 à 3

Recombinants available



Native and recombinant allergen components

Grass pollens

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rPhi p 1 (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g205	10	14-5234-01	
rPhi p 2 (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g206	10	14-5235-01	
nPhi p 4 (native, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g208	10	14-5286-01	
rPhi p 5b (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g215	10	14-5338-01	
rPhi p 6 (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g209	10	14-5289-01	
rPhi p 7 (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g210	10	14-5290-01	
rPhi p 11 (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g211	10	14-5291-01	
rPhi p 12; profilin (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g212	10	14-5292-01	
rPhi p 1, rPhi p 5b (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g213	10	14-5312-01	
rPhi p 7, rPhi p 12 (recombinant, Timothy grass)	<i>Phleum pratense</i>	g214	10	14-5313-01	

Wood pollens

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rPar j 2 (recombinant, Wall pellitory)	<i>Parietaria judaica</i>	w211	10	14-5311-01	

Tree pollens

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rBet v 1 (recombinant, Birch)	<i>Betula verrucosa</i>	l215	10	14-5225-01	
rBet v 2; profilin (recombinant, Birch)	<i>Betula verrucosa</i>	l216	10	14-5226-01	
rBet v 4 (recombinant, Birch)	<i>Betula verrucosa</i>	l220	10	14-5287-01	
rBet v 6 (recombinant, Birch)	<i>Betula verrucosa</i>	Rt225	10	14-5345-10	1
rBet v 2, rBet v 4 (recombinant, Birch)	<i>Betula verrucosa</i>	l221	10	14-5310-01	
nOle e 1 (native, Olive)	<i>Olea europaea</i>	l224	10	14-4925-01	

Microorganisms

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rAsp f1 (recombinant)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m216	10	14-5293-01	
rAsp f2 (recombinant)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m219	10	14-5294-01	
rAsp f3 (recombinant)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m220	10	14-5295-01	
rAsp f4 (recombinant)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m221	10	14-5296-01	
rAsp f6 (recombinant)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m222	10	14-5297-01	
rAlt a 1 (recombinant)	<i>Alternaria alternata</i>	Rm229	10	14-5346-10	1

Epidermals & other proteins

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rFel d 1 (recombinant, Cat)		e94	10	14-4905-01	

Foods

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rAra h 8 (recombinant, Peanut)		Rf352	10	14-5341-10	1
rBer e 1 (recombinant, Brazil nut)		Rf354	10	14-5343-10	1
rCyp c 1 (recombinant, Carp)	<i>Cyprinus carpio</i>	Rf355	10	14-5344-10	1
rGly m 4 (recombinant, Soy)		Rf353	10	14-5340-10	1
rPen a 1; Tropomyosin (recombinant, Shrimp)		f351	10	14-5335-01	
rTri a 19; Omega-5 Gladin (recombinant, Wheat)		f416	10	14-4954-01*	

* Available
February 2007

Occupational allergens

Allergen components		Code	Size	Art. No.	Note
rHev b 1 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k215	10	14-5324-01	
rHev b 3 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k217	10	14-5326-01	
rHev b 5 (recombinant)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k218	10	14-5327-01	
rHev b 6.01 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k219	10	14-5328-01	
rHev b 6.02 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k220	10	14-5329-01	
rHev b 8 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k221	10	14-5330-01	
rHev b 9 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k222	10	14-5331-01	
rHev b 11 (recombinant MBP-fusion protein)	<i>Hevea brasiliensis</i>	k224	10	14-5333-01	

Research tools for clinical applications

ImmunoCAP™ for atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS)

Product	Code	Size	Art. No.	Note
<i>Malassezia</i> spp.	m227	10	14-5321-01	
<i>Pityrosporum orbiculare</i> (syn. <i>Malassezia</i>)	m70	10	14-4349-01	
Staphylococcal enterotoxin A	m80	10	14-4889-01	
Staphylococcal enterotoxin B	m81	10	14-4890-01	
Staphylococcal enterotoxin C	m223	10	14-5298-01	
Staphylococcal enterotoxin D	m224	10	14-5299-01	
Staphylococcal enterotoxin TSST	m226	10	14-5301-01	

Cross-reactive Carbohydrate Determinants (CCD)

Product	Code	Size	Art. No.	Note
Bromelain	k202	10	14-5127-01	
CCD; MUXF3 from bromelain	Rc214	10	14-5339-10	1
HRP (Horse Radish Peroxidase)	-	10	-----	1

jl.grand@skynet.be



"That's all Folks!"