



Intérêt des allergènes recombinants

- Aspects biologiques -

Phn. Romy GADISSEUR, Prof. J-P. Chapelle, Phn. Biol. E. Cavalier

24/03/2009



Epidemiology of allergy

- **4th chronic disease (OMS).**
- Child allergic asthma = 1st chronic disease .
- +/- **30%** allergic.
- **Cost** for healthcare systems +++.

Allergies x 2 the last 15 years in developed nations !!

- **Risque plus important d'être allergique si:**
 - **Enfant unique,**
 - **Niveau social aisé,**
 - **Pas été à la crèche,**
 - **Prise d'antibiotiques durant la petite enfance,**
 - **Vie citadine.**



Allergie : Définition...

“ Allergie ”

Maladie due à une réponse **inadaptée** et **excessive** de notre organisme vis à vis de l'environnement : des substances étrangères et **normalement inoffensives** entraînent une **réaction de défense** de notre système immunitaire, **nuisible** à l'organisme.

Allos = différent

Ergon = agir.





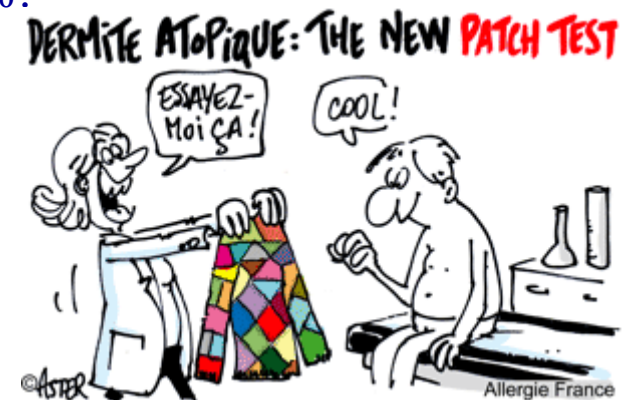
Atopie : Définition...

“Atopie”

Prédisposition **héréditaire** à produire des **IgE** en réponse à des **faibles doses d'allergènes** et développer des manifestations d'**hypersensibilité immédiate** (asthme, rhinocononctivite, eczéma, dermatite).

1 parent allergique = risque d'allergie > 30% chez l'enfant.

2 parents allergiques >50 %.





Hypersensitivity : Definition...

“Hypersensitivity”

Causes **objectively reproducible symptoms** or signs,
initiated by exposure to a **defined stimulus**
at a **dose tolerated by normal subjects**.



Hypersensibilités :

Classification de Gell et Coombs (I)

■ Hypersensibilité de type 1

(H. immédiate, allergie réaginique ou atopique) :

■ Immunité humorale = Allergie.

- Médiée par les IgE spécifiques d'un allergène (IgE dépendante).
- Tendance héréditaire.

■ Manifestations cliniques diverses (dermatite allergique, rhinite pollinique).

- Apparaissent en quelques minutes.

■ Les IgEs fixées sur les mastocytes tissulaires et sur les basophiles sanguins, réagissent avec l'Ag (allergène), induisant ainsi la dégranulation de ces cellules (libération d'histamine et d'autres médiateurs).

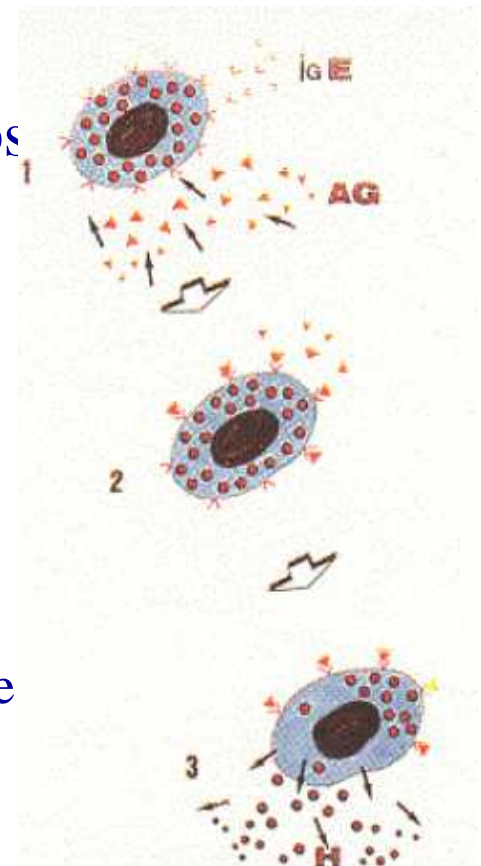


Hypersensibilité type 1

1. Fixation des anticorps IgE sur la membrane du mastocyte (ou du basophile),
2. Fixation des antigènes sur les anticorps cytophiles,
3. Dégranulation du mastocyte (ou du basophile).

NB : Pas d'intervention du complément.

- Manifestations cliniques :
 - Choc anaphylactique, arthrose, rhinite, conjonctivite urticaire, troubles digestifs, (eczéma).





Hypersensibilités :

Classification de Gell et Coombs (II)

■ Hypersensibilité de type 2

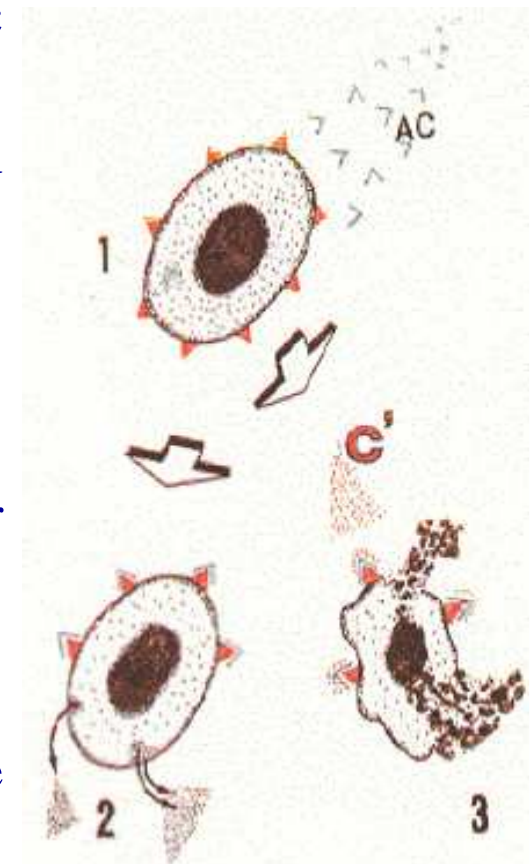
(hypersensibilité cytotoxique):

- La réaction intervient entre les Ac IgG ou IgM, et les Ag fixés sur la membrane des cellules reconnues comme étrangères.
 - Cette réaction débouche sur la cytolysse de ces cellules grâce à l'intervention de cellules cytotoxiques (macrophages, cellules NK, système réticulo-endothélial,...) ou l'action du complément.
 - Excès de production d'anticorps cytolytiques.
 - Au cours de certaines cytopénies auto-induites :
 - Lorsqu'un Ac circulant réagit avec un Ag absorbé sur une membrane cellulaire ou avec un de ses constituants naturels (Ag à la surface des GR ou PLT).
 - Réactions transfusionnelles, maladies hémolytiques auto-immunes, maladie hémolytique du nouveau-né.



Hypersensibilité de type 2

1. L'antigène est lié à la membrane cellulaire ou en fait partie. Combinaison de l'anticorps avec l'antigène,
 2. Libération du contenu cellulaire, suite au contact avec une cellule cytotoxique,
 3. Cytolyse après l'intervention du complément.
- Manifestations cliniques :
 - Incompatibilité foetomaternelle due au facteur rhésus,
 - Accident de transfusion sanguine.
 - Tests diagnostics
 - Dosages d'anticorps et d'auto-anticorps, tests de compatibilité.





Hypersensibilités :

Classification de Gell et Coombs (III)

■ Hypersensibilité de type 3

(hypersensibilité semi-retardée) :

- Les symptômes apparaissent quelques heures après le contact avec l'antigène, en cas d'exposition aiguë.
- Les IgG et IgM circulants se lient à des antigènes, formant ainsi les complexes immuns. Ceux-ci se déposent dans les parois vasculaires, entraînant une réaction inflammatoire locale par action du complément et attraction puis activation des neutrophiles.
- Polyarthrite rhumatoïde, glomérulonéphrite, Lupus E.D.
 - Présence du complexe immuns Ag/Ac type IgG avec activation du complément.



Hypersensibilité type 3

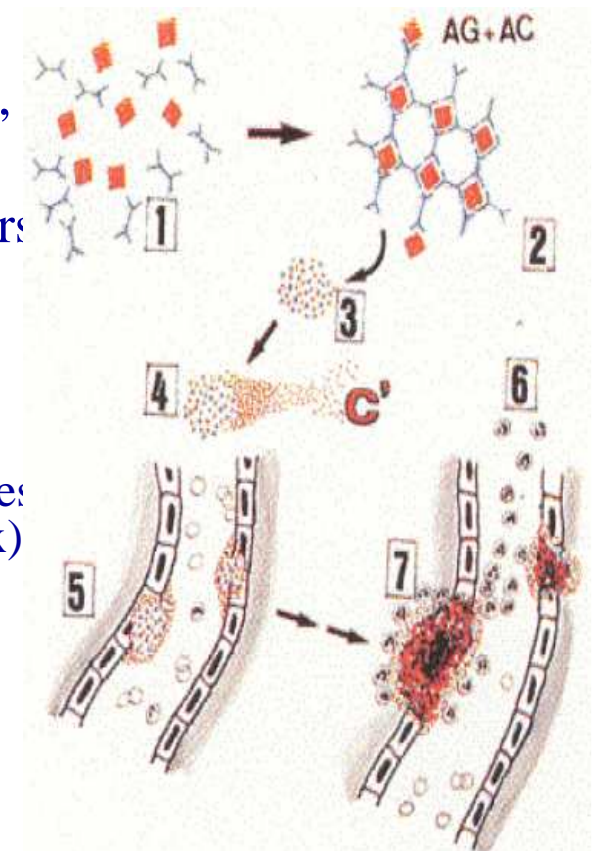
1. Anticorps bivalents et antigènes,
2. Formation d'un réseau Ac/Ag (complexes immuns),
3. Circulation des complexes immuns dans le sérum,
4. Fixation du complément sur les complexes immuns,
5. Dépôt dans les parois vasculaires,
6. Attraction des neutrophiles et libération de leurs produits toxiques,
7. Réaction inflammatoire systémique finale.

■ Manifestations cliniques :

- Vasculite allergique, maladie sérique, alvéolites (poumon du fermier, des éleveurs d'oiseaux) certaines néphropathies.

■ Tests diagnostics:

- Dosage des précipitines ou auto-anticorps
- Consommation de complément
- Recherche de complexes immuns circulants





Hypersensibilités :

Classification de Gell et Coombs (IV)

■ Hypersensibilité de type 4

(immunité cellulaire exacerbée ou retardée) :

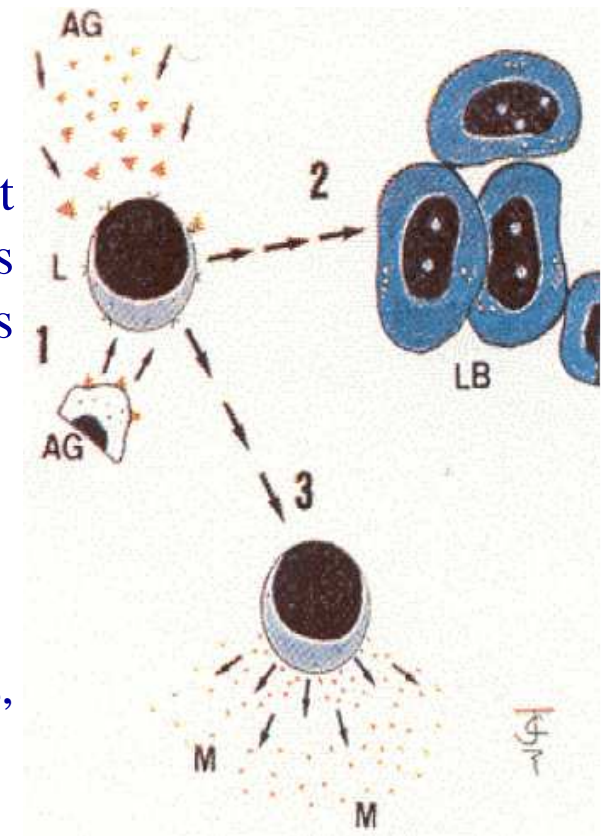
- Manifestations cliniques apparaissant dans les 48-72h après le contact avec l'antigène, en cas d'exposition aiguë.
- Les lymphocytes T se lient aux antigènes et libèrent les médiateurs sans intervention d'immunoglobulines, ni du complément.

Hypersensibilité type 4

1. L_T immuno-compétent stimulé par un antigène (isolé ou de membrane)
2. Activation des lymphocytes
3. Lymphocyte libérant des médiateurs (IL) et accumulation de monocytes et macrophages puis destruction de cellules par lymphocytes cytotoxiques

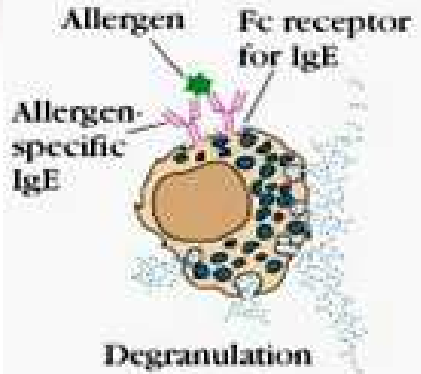
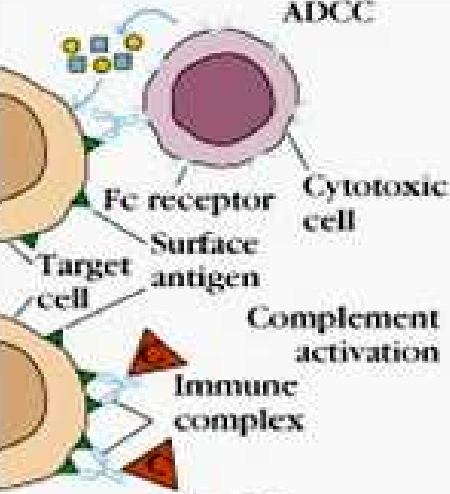
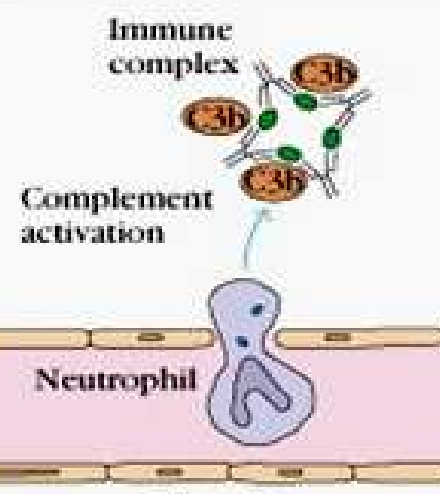
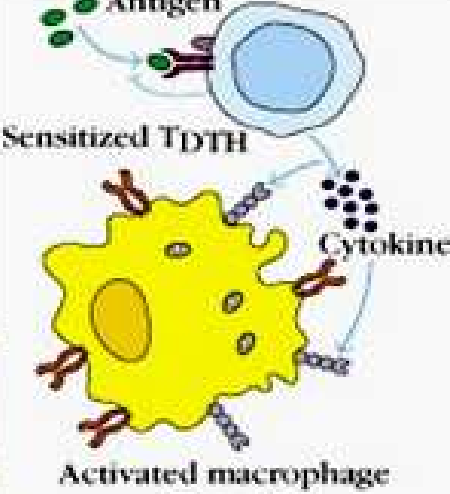
NB : Pas d'intervention du complément.

- Manifestations cliniques
 - Rejet de greffe, allergie de contact (cosmétiques, produits chimiques, réaction au test tuberculinique)
- Tests diagnostics :
 - Tests épicutanés retardés (patch tests)





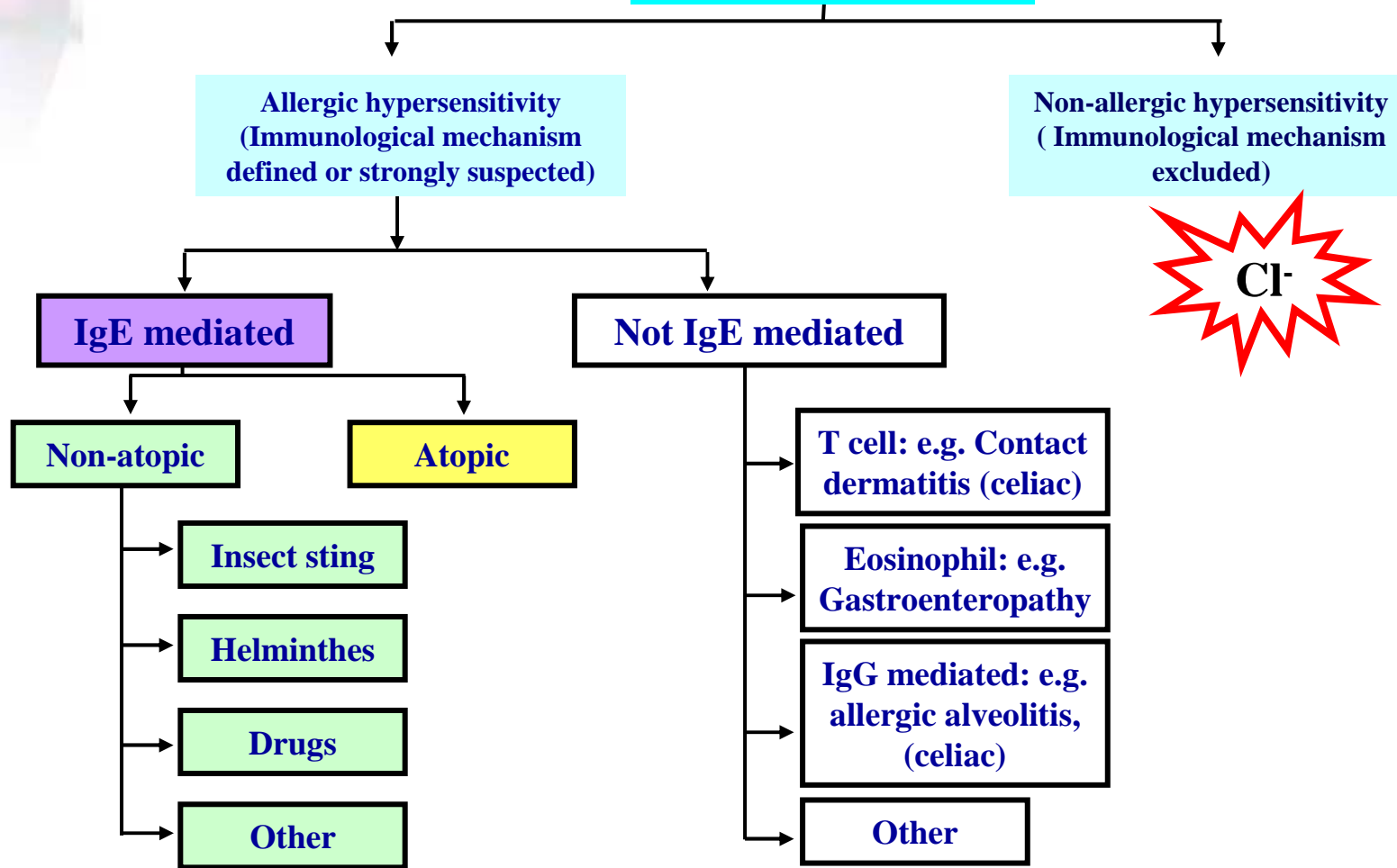
Classification de Gell et Coombs

 <p>Type I</p>	 <p>Type II</p>	 <p>Type III</p>	 <p>Type IV</p>
<p>IgE-Mediated Hypersensitivity</p>	<p>IgG-Mediated Cytotoxic Hypersensitivity</p>	<p>Immune Complex-Mediated Hypersensitivity</p>	<p>Cell-Mediated Hypersensitivity</p>
<p>Ag induces crosslinking of IgE bound to mast cells and basophils with release of vasoactive mediators</p>	<p>Ab directed against cell surface antigens mediates cell destruction via complement activation or ADCC</p>	<p>Ag-Ab complexes deposited in various tissues induce complement activation and an ensuing inflammatory response mediated by massive infiltration of neutrophils</p>	<p>Sensitized T_DTH cells release cytokines that activate macrophages or T_C cells which mediate direct cellular damage</p>
<p>Typical manifestations include systemic anaphylaxis and localized anaphylaxis such as hay fever, asthma, hives, food allergies, and eczema</p>	<p>Typical manifestations include blood transfusion reactions, erythroblastosis fetalis, and autoimmune hemolytic anemia</p>	<p>Typical manifestations include localized Arthus reaction and generalized reactions such as serum sickness, necrotizing vasculitis, glomerulonephritis, rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus</p>	<p>Typical manifestations include contact dermatitis, tubercular lesions and graft rejection</p>



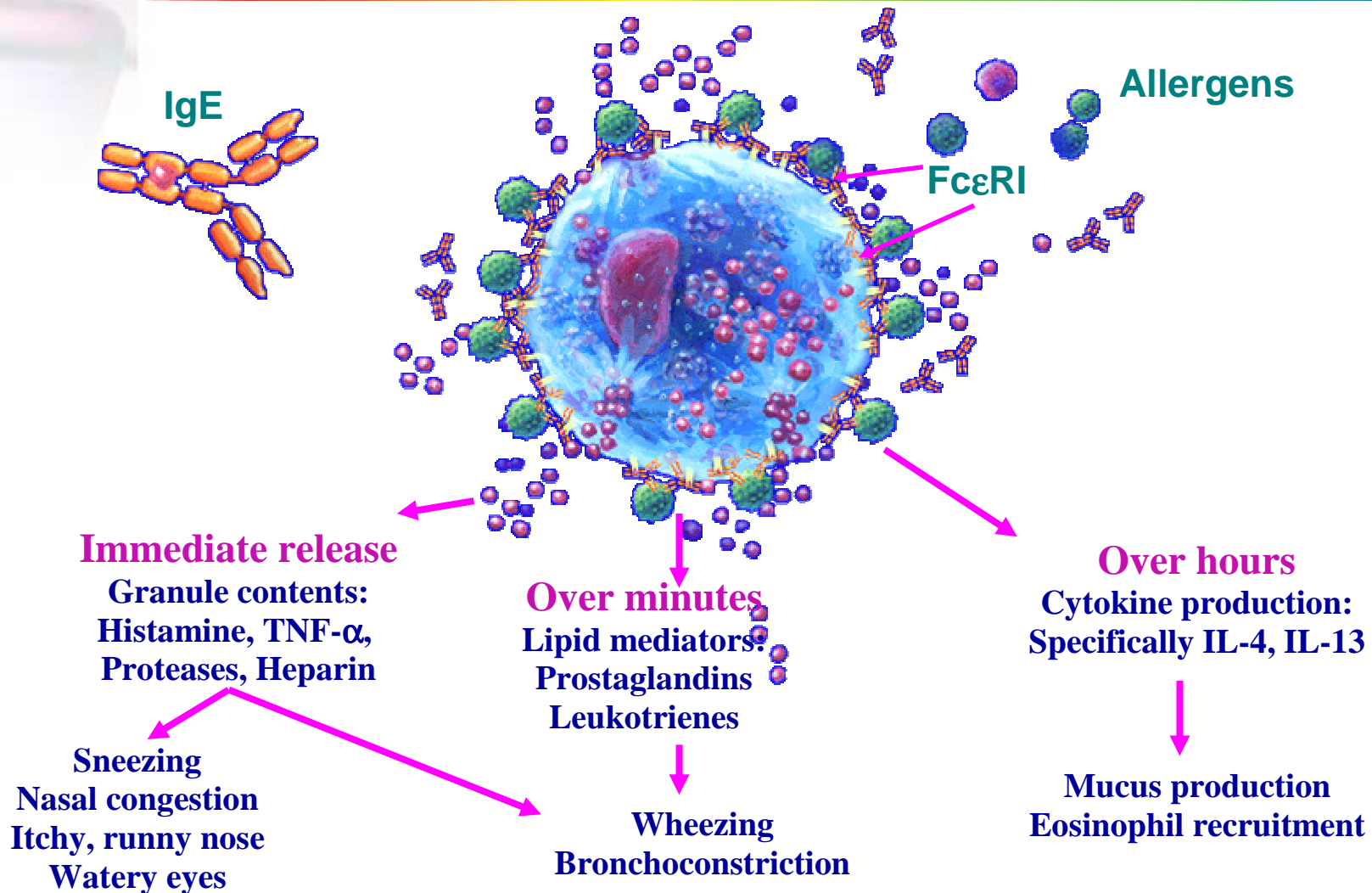
EAACI 2001: Revised Nomenclature for Allergy

Hypersensitivity





IgE dependant activation of mastocytes





Allergène : petit rappel

- Tout immunogène devient un allergène lorsque certaines conditions environnementales, associées à des facteurs génétiques individuels induisent une synthèse d'IgEs.
- Structure protéique complexe comprenant plusieurs déterminants allergéniques.
- Déterminant majeur = le + souvent responsable (vs mineur).
- La transformation de l'Antigène banal en allergène potentiellement nocif survient lors de la présentation de l'Antigène par les cellules dendritiques aux L_T.



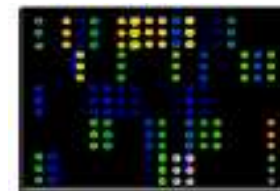
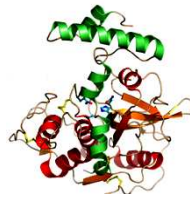
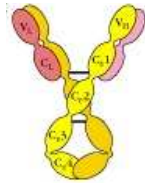
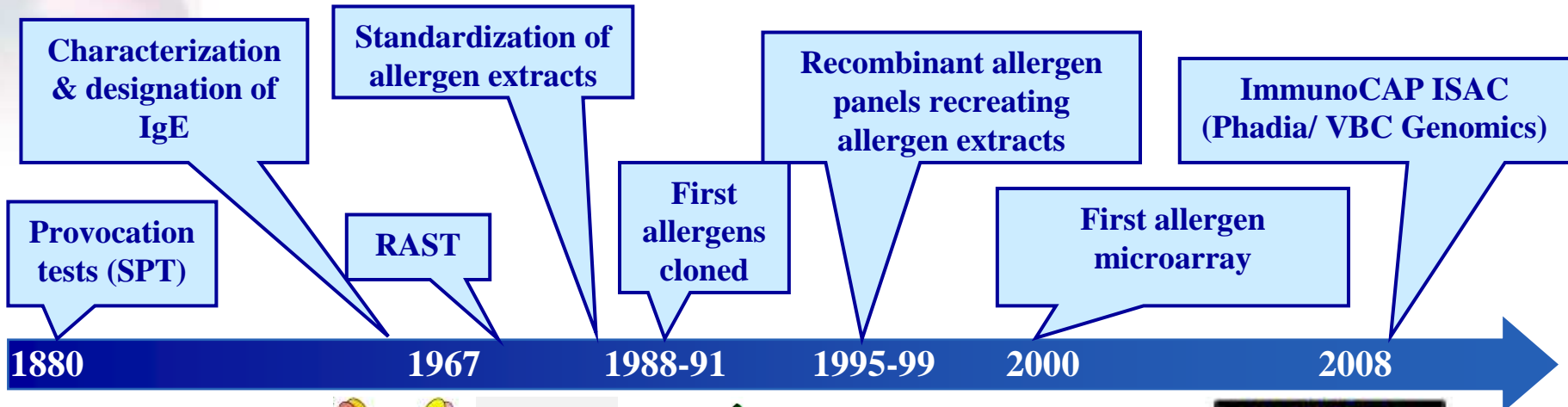
Allergènes, Différentes classes

- **Pneumallergène**
 - Pollens de graminées, d'herbacées, d'arbres, microorganismes, animaux, acariens, mélanges d'aéroallergènes.
 - Intérieur
 - Animaux domestiques, moisissures (*Penicillium*, *aspergillus*) & acariens
 - Extérieur
 - Moisissures (*Alternaria cladosporium*) & pollens
- **Trophallergène** (du grec « trophê » = nourriture)
 - D'origine animale
 - lait, œuf, poisson, crustacés...
 - D'origine végétale
 - Fruits à pépins, noyaux
 - Arachide
 - Fruits exotiques
- **Venins et insectes**
 - Venins d'hyménoptère
 - Guêpe & abeilles
- **Médicaments**
- **Parasites**
- **Allergènes professionnels**





Timeline...allergy diagnosis



IN-VIVO testing

IN-VITRO testing

Component – Resolved -Diagnostics



Diagnostic d'une allergie

- Consultation spécialiste en Immuno-Allergologie.
 - Tests cutanés :
 - Par injection intradermique



- Quantification des IgE sériques



IgE totales

■ Indication :

- Le dosage des IgE_{Tot} n'est **pas un test de première intention** pour le diagnostic de l'atopie.
 - Une valeur élevée d' IgE_{Tot} indique une forte probabilité d'atopie.
 - Une valeur normale d' IgE_{Tot} n'exclut pas l'atopie.
 - Pas un bon marqueur de prédiction de survenue de dermatite atopique chez les jeunes enfants.

■ Intérêt dans le bilan allergologique

(jeunes enfants, sujets bons ou mauvais répondeurs, polysensibilisés).

- Facteurs individuels faisant varier le taux des IgE_{Tot} :
 - Age ($\uparrow < 15$ ans puis stable puis , composante génétique, degré d'exposition à l'allergène.
- Autres affections modifiant le taux des IgE_{Tot} :
 - Parasitoses, déficit immunitaires, infections virales et bactériennes.





IgE spécifiques (I).

- Intérêt diagnostique :
 - Dosage d'IgEs isolé renseigne une **sensibilisation** à un allergène donné :
 - La présence d'IgEs peut permettre d'identifier les produits allergéniques et de parler de sensibilisation.
 - Pas nécessairement un contexte d'hypersensibilité de type I.
 - **mais** contexte clinico-biologique !!
 - Les résultats doivent être confrontés à la clinique et aux SPT.
 - Effets différents si IgEs à 5 kUI/L ou 0.35 kUI/L
 - Manifestations gravissimes parfois chez des patients ayant des taux d'IgEs faibles à modérés.
 - Recherche d'un seuil de positivité informatif autre que le seuil universel < 0.35 KU (qui a encore cours pour tous les allergènes) pour le futur...
 - Pour les acariens, il est très nettement au-dessus de la valeur seuil universelle.
 - Pour le chat, il est moins élevé.
 - Des valeurs seuils devraient être définies pour chaque allergène



IgE spécifiques (II).

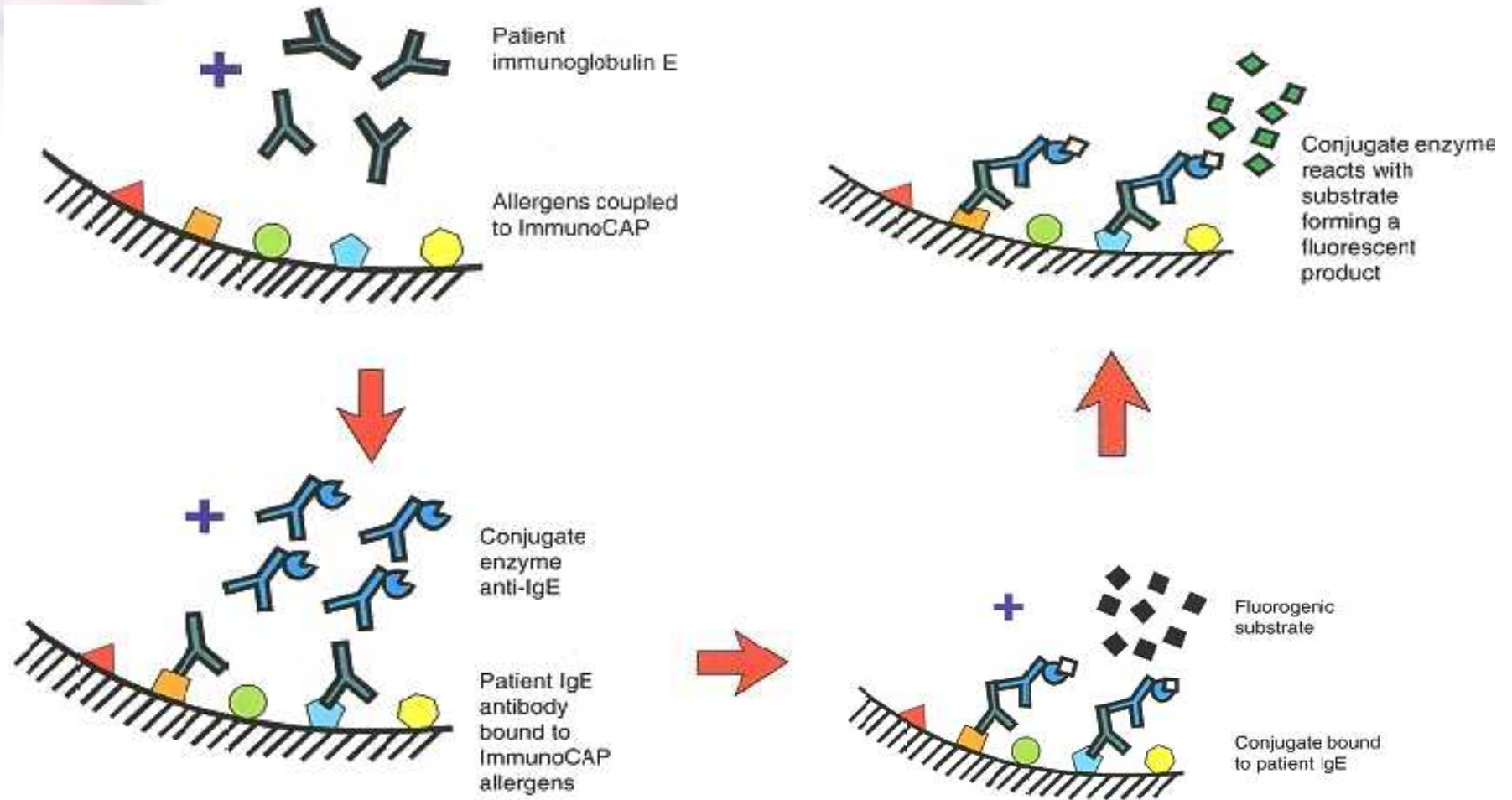
La connaissance des différentes réactions croisées est indispensable (intérêt des recombinants).

- En ce qui concerne le dosage quantitatif des IgEs :
 - Ces valeurs (principalement pour les allergènes d'origine végétale) peuvent être complètement faussées par la présence éventuelle d'IgE carbohydrate.
- Ces tests sont coûteux :
 - Limités par l'INAMI qui ne rembourse que 6 tests par prise de sang.
- Méthodes : radio-isotopiques (**RAST** = Radio AllergoSorbent Test) ou immuno-enzymatiques.



Dosage des IgEs

au  de Liège



Patient immunoglobulin E

Allergens coupled to ImmunoCAP

Conjugate enzyme reacts with substrate forming a fluorescent product

Conjugate enzyme anti-IgE

Patient IgE antibody bound to ImmunoCAP allergens

Fluorogenic substrate

Conjugate bound to patient IgE



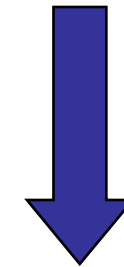
Allergens nomenclature according to the IUIS

(International Union of Immunological Societies)

- t : tree
- f : food
- g : grass
- i : insect
- w : wheat
- c : cure

- d : dust mite
- m : moisture
- e : epithelia
- p : parasite
- k : (professional allergens)

Empirical nomenclature



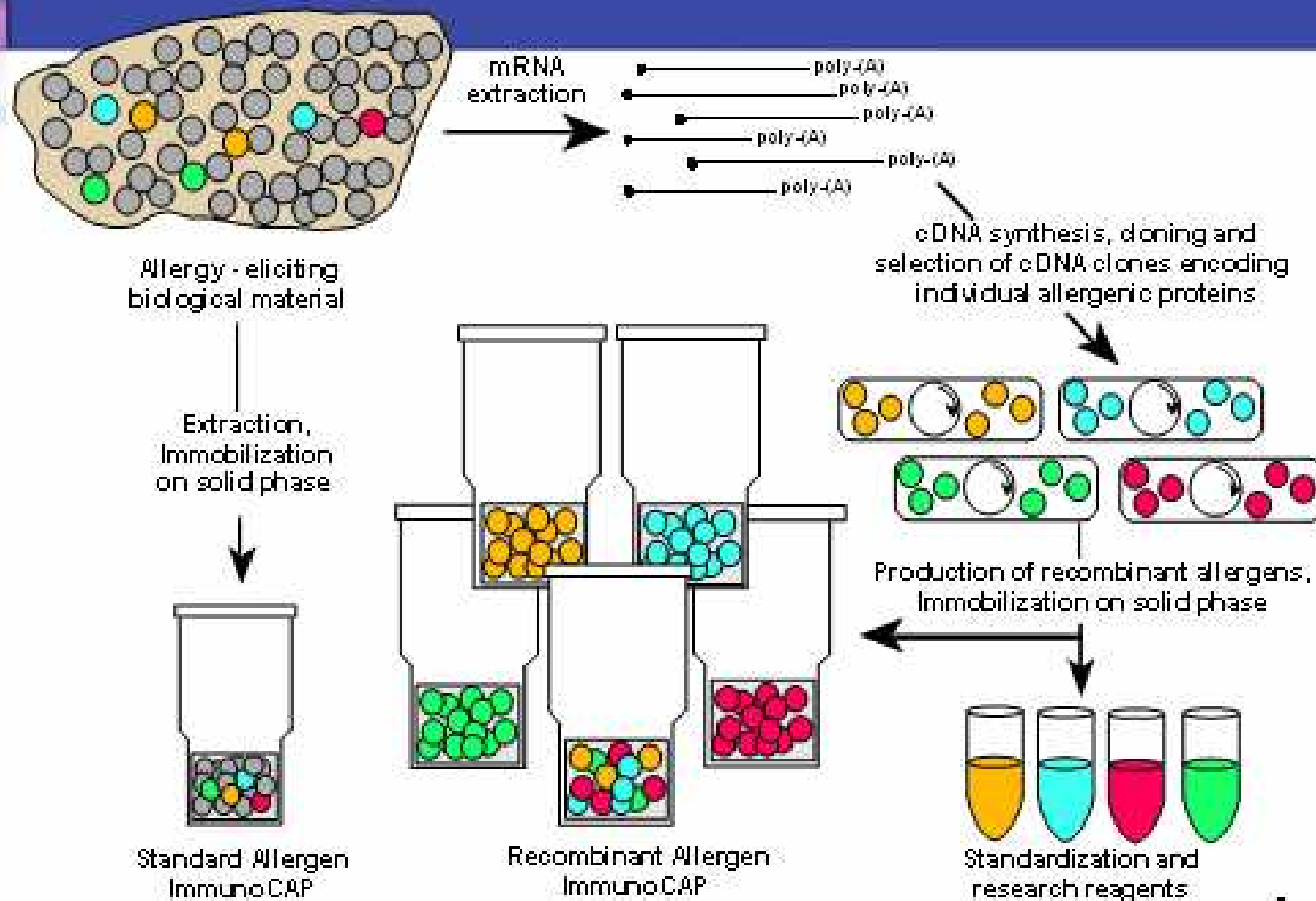
- t3 : *Betula verucosa*
- g6 : *Phleum pratense*
- d1 : *Dermatophag. pteronys.*
- e1 : *Felis domesticus*
- f13 : *Arachis hypogaea*

Taxon	genre	
		Bet v 1,2,4,6,7
		Phl p 1,...5,...7,...12
		Der p 1, 2, 3, ...10, ...
		Fel d 1, 2, 3, ...
		Ara h 1, 2, 3, ...8, ...

« Recombinants » nomenclature (IUIS)

Number according to the order of purification of proteins

Components Production





Allergens Data Bases



Windows Internet Explorer
 http://www.allergen.org/Allergen.aspx
 Allergen

ALLERGEN NOMENCLATURE
 International Union of Immunological Societies
 Allergen Nomenclature Sub-Committee

This Website is sponsored by: **ALK-ABELLO**

- Home
- Executive committee
- Allergen Nomenclature Publications
- List of allergens
- List of food allergens
- New allergen form
- Archive
- Administration

List of allergens
 List last updated: 09/Jan/2008 01:32

Home > Plantae Magnoliopsida > Fabales > *Arachis hypogaea* [Tree]

Allergen	Biochemical name	Obsolete Name	M
Ara h 1	7S seed storage protein (vicilin)		6
Ara h 2	Conglutin		1
Ara h 3	Glycinin		6
Ara h 4	Glycinin		3
Ara h 5	Profilin		1
Ara h 6	Conglutin		1
Ara h 7	Conglutin		1
Ara h 8	Pathogenesis-related protein, PR-10		1
Ara h 9	nonspecific lipid-transfer protein		9

Allergenic molecules of Peanut

Biochemical properties of allergens

ALLERGO ME A Platform for Allergen Knowledge

NEWSLETTER

LINKS HELP ABOUT

Allergens ReTIME RefArray Tools History Statistics

The Allergome Platform is partner with the following research Centers and Projects:

The Allergome Project is supported by unrestricted grants from



Components - Resolved Diagnosis (CRD)

« CRD »

■ Interest & new applications of « recombinants »

→ ■ **More sensitive** **Affiner le diagnostic**

■ **Highly sensitive** **en recherchant une sensibilisation**
specific immunotherapy.

■ Prediction and understanding of the
aux différentes protéines sensibilisantes

■ Prediction of the risks and severity of
symptom. **d'une substance.**



Components - Resolved Diagnostics (CRD)

■ Interest & new applications of « recombinants »

- More sensitive tests.



■ Help the decision to undergo a specific immunotherapy.

- Prediction and understanding of the cross-reactions.
- Prediction of the risks and severity of symptom.





Components - Resolved Diagnostics (CRD)



■ Interest & new applications of « recombinants »

- More sensitive tests.
- Help the decision to undergo a specific immunotherapy.

➡ ■ Prediction and understanding of the cross-reactions.

- Prediction of the risks and severity of symptom.





Components - Resolved Diagnostics (CRD)

■ Interest & new applications of « recombinants »

- More sensitive tests.
- Help the decision to undergo a specific immunotherapy.
- Prediction and understanding of the cross-reactions.

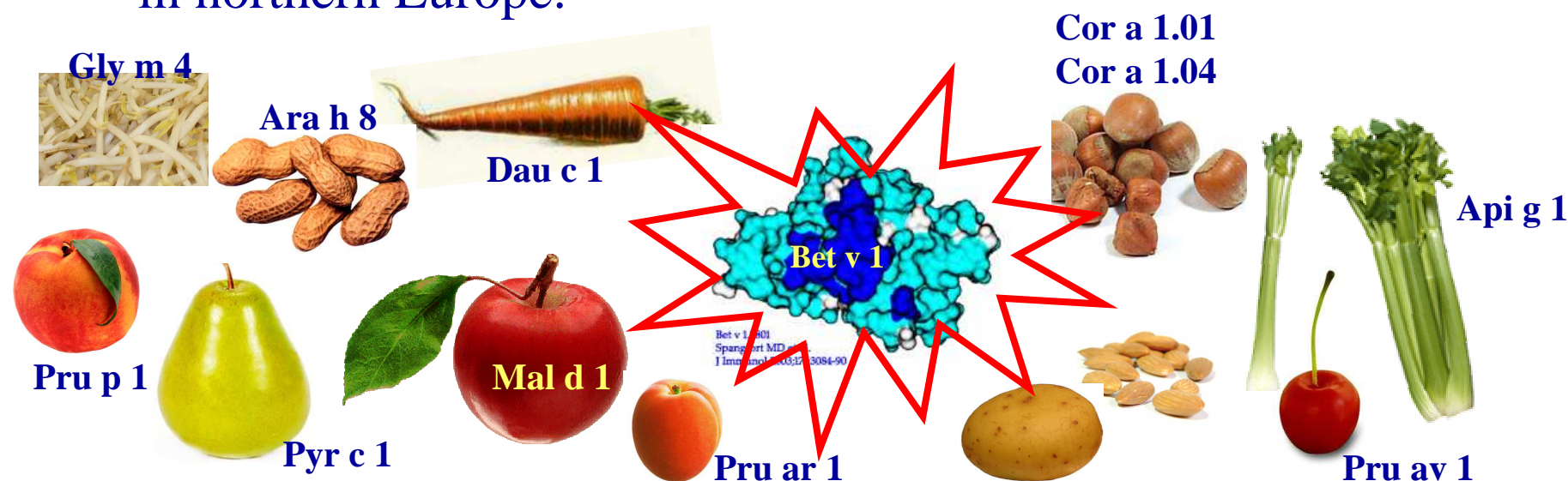


- ⇒ ■ Prediction of the risks and severity of symptom.

Predict cross reactions

■ *PR-10 protein, Bet v 1 homologue*

- A heat labile protein, cooked foods are often tolerated.
- Often associated with local symptoms such as oral allergy syndrome (OAS).
- Often associated with allergic reactions to fruit and vegetables in northern Europe.





Oral Allergy Syndrome (OAS)

- **Oral Allergy Syndrome** : allergic reactions that occur rapidly, within minutes of eating a trigger food.
 - An itching or burning sensation in the lips, mouth, and/or pharynx.
- Associated to a sensitization in one or more proteins like **PR-10 (Bet v 1-like)** (birch).
 - Hazelnut, 46%
 - Apple, 39%
 - Peach, 24%
 - Cherry, 22%
 - Nut, 21%
 - Pear, 20%
 - Almond, 19%
 - Plume, 17%
 - Brazil nut, 16%
 - Potato, 15%
 - Carrot, 13%
 - Peanut, 10%
 - Strawberry, 10%
 - Orange, 9%
 - Apricot, 7%

	1	60	120	178			
Birch	MGVFN...TS	TSVIPA...RL	KAPILD...GN	IPKVA...QAVS	SVEN...VGGG	PGTIKK...IT	TS
Hazel	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Alder	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Hornbeam	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Beech	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Apple	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Cherry	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Apricot	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Pear	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Medicago	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Garden pea	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Soybean	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Tomato	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Celery	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Carrot	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Asparagus	MGVFN...YH	TSVIPA...AR	KAPILD...DG	IPKVA...EAVS	SVEN...IEGG	PGTIKK...IT	TS
Birch	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Hazel	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Alder	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Hornbeam	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Beech	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Apple	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Cherry	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Apricot	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Pear	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Medicago	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Garden pea	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Soybean	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Tomato	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Celery	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Carrot	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Asparagus	EGSPFK...YVK	RVDEVD...HTN	KYNSV...VIEGG	PIGDT...LEKIS	NEIKI...VATPD	SGSIL...KISNK	
Birch	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Hazel	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Alder	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Hornbeam	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Beech	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Apple	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Cherry	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Apricot	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Pear	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Medicago	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Garden pea	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Soybean	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Tomato	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Celery	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Carrot	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	
Asparagus	YHTRGD...HEVD	AEVQK...ASKEN	GETLL...RAVES	YLLAHS...DAYN	~~~~~	~~~~~	

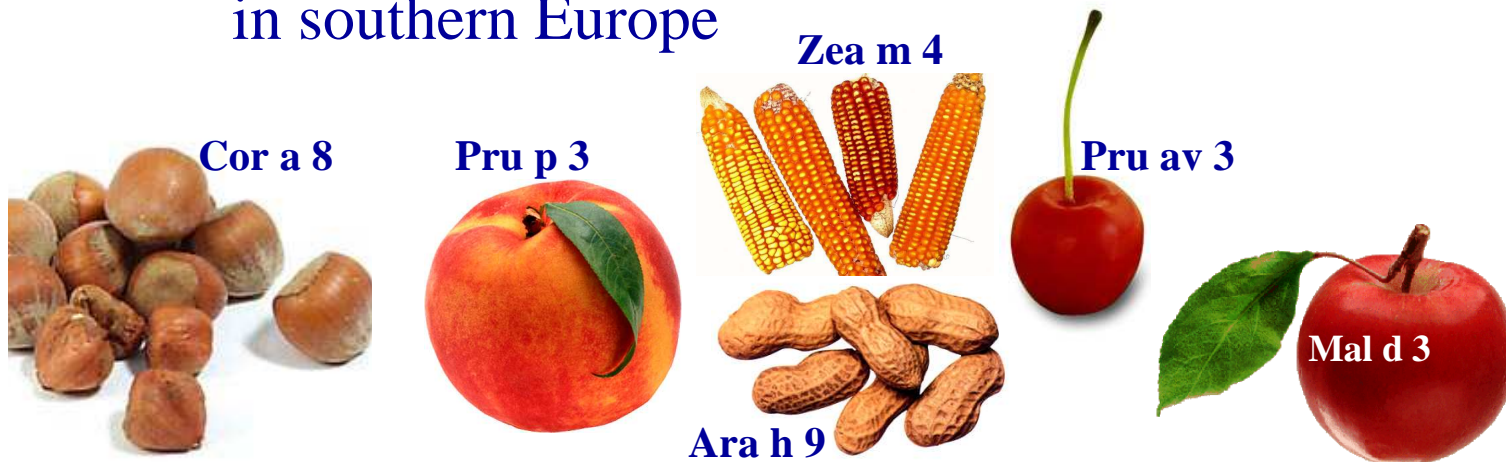
PR-10
 rBet v 1
 rPru p 1
 rGly m 4
 rAra h 8
 rApi g 1.01
 rAln g 1
 rCor a 1
 nAct d 8
 rMal d 1
 rDau c 1



Predict cross reactions

■ *LTP (non-specific Lipid Transfer Protein, nsLTP)*

- A protein stable to heat and digestion causing reactions also to cooked foods
- Often associated with systemic and more severe reactions in addition to OAS
- Often associated with allergic reactions to fruit and vegetables in southern Europe



LTP

nPru p 3
rCor a 8
rPar j 2
nArt v 3
Ara h 9
Mal d 3
Zea m 4
Jug r 3



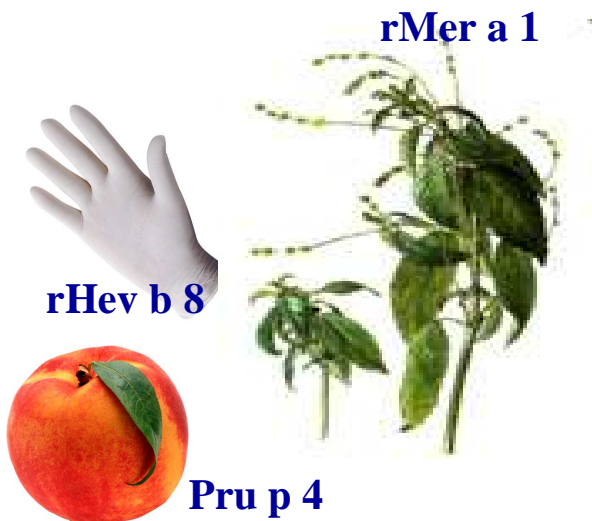
Predict cross reactions

■ *Profilin*

- Seldom associated with clinical symptoms but may cause demonstrable (OAS) or even severe reactions in a small minority of patients

PFL

- rPhl p 12
- rBet v 2
- nOle e 2
- rMer a 1
- rHev b 8
- rMal d 4
- rPru p 4
- nAct d 9
- nAna c 1
- nAra h 5





Predict cross reactions

■ *Storage protein*

- Protein found in seeds serving as source material during the growth of a new plant
- Often stable and heat-resistant proteins causing reactions also to cooked foods



**nGly mβ-conglycinin
nGly m glycinin**





Predict cross reactions

■ *Lipocalins*

- Very stable proteins
- Allergen components displaying limited cross-reactivity between species

rFel d 4



rCan f 1
rCan f 2



nMus m 1



Lipocalins

rCan f 1
rCan f 2
rFel d 4
nMus m



Predict cross reactions

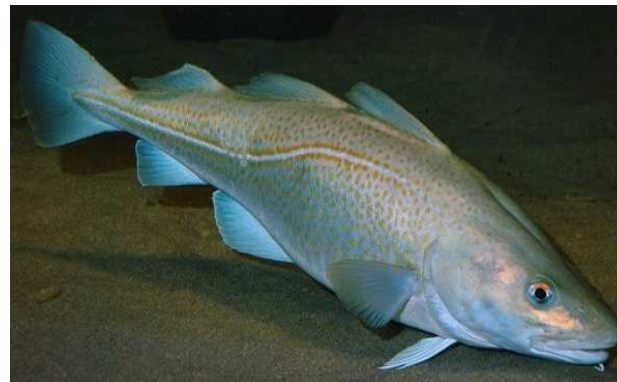
■ *Parvalbumin*

- A major allergen in fish
- A marker for cross-reactivity among different species of fish and amphibians
- A protein remarkable resistance to heat and digestion causing reactions also to cooked foods

➤ sensitizing agents for > 95% of fish allergic patients



CARP rCyp c 1



COD rGad c1

Parvalbumin

rCyp c 1
rGad c 1



Predict cross reactions

■ *Serum albumin*

- A common protein present in different biological fluids and solids e.g. cows milk and beef, eggs and chicken.
- Heat labile protein.
- Cross-reactions between albumins from different animal species are well known, for example between cat and dog and cat and pork.

nCan f 3



nGal d 5



BSA

nBos d 6



nEqu c 3



nFel d 2

Cav p GSA



Gal d (meat)

Serum albumin

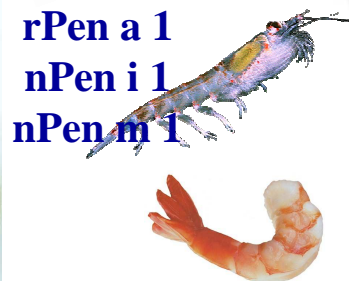
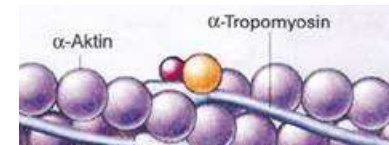
nFel d 2
nBos d 6
nCan f 3
nEqu c 3
nGal d 5
Cav p GSA
Gal d (meat)



Predict cross reactions

■ *Tropomyosin*

- An actin-binding protein in muscle fibers
- A marker for cross-reactivity between crustaceans, mites and cockroach



Tropomyosin

-
- rPen a 1
 - nPen i 1
 - nPen m 1
 - rDer p 10
 - nBla g 7
 - rAni s 3



t224 nOle e 1 ou t25 (European Ash)



New sIgE available !!



Olive tree



Ash



Ligustrum



Forcicia

- nOle e 1 represents the best the ash allergy in Europe.
- In the North of Europe, no Olive tree :
 - If Ole e 1 +++ :
 - ■ Allergy to ash, Ligustrum, Forcicia...



Microarrays & Biochips Technology



- Depuis 1995, **nouvelle biotechnologie** : les puces à ADN ("microarray« , biopuces).
 - Mariage entre informatique et médecine/biologie...
 - Technique analytique constituée d'une **plateforme miniaturisée** :
 - Fixation d'entités (protéines, oligonucléotides, fragment d'ADN...) sur une matrice solide,
 - Développement d'abord sur membrane de nylon, de plastique, de silicium puis sur lame de verre,
 - Élaboration par dépôt d'ADN sur le support ou par synthèse in situ,
 - Marquage des cibles par fluorochromes.
 - Permet la **réalisation de nombreux tests en une seule manipulation** :
 - Accroître la vitesse de réalisation d'analyse,
 - Diminuer la taille des automates
 - Augmenter la précision de l'analyse,
 - Éventuelle automatisation des dépôts de sondes par robots.



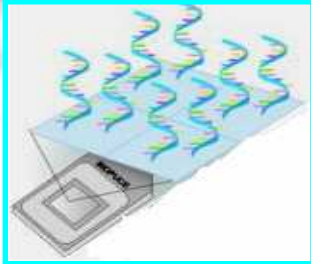
Microarrays & Biochips Technology



- Lecture par scanner des puces et mesures des niveaux de fluorescence.
- Analyse des résultats avec l'aide d'outils bioinformatiques adaptés.
- Caractérisation des gènes ou des protéines d'intérêt clinique.
- Niveau d'expression et de signification des gènes caractérisés.
- Types disponibles :
 - Microarrays sur verre
 - Macroarrays sur nylon
 - oligo-chips (oligonucléotides de 15 à 25 paires de bases = sondes)



Microarrays & Biochips Technology



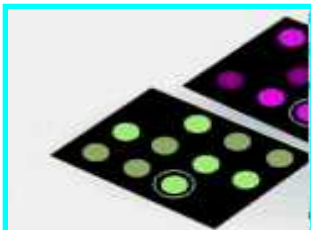
1 : La surface de la puce est divisée en de nombreuses cases qui reçoivent chacune une séquence ADN différente (en plusieurs exemplaires) appartenant à un gène connu.



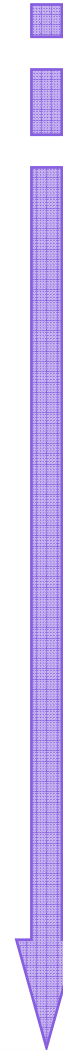
2 : Des ARNm, correspondant aux gènes actifs de la cellule à analyser, sont isolés et attachés à une substance fluorescente.



3 : La solution d'Arn est versée sur la puce. Les ARNm se fixent sur les fragments d'ADN dont ils possèdent la séquence complémentaire.



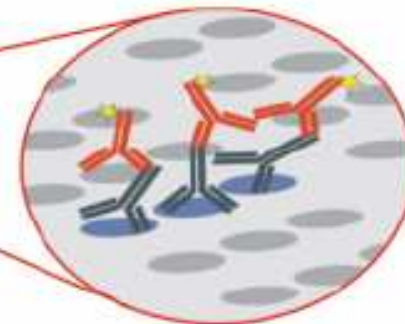
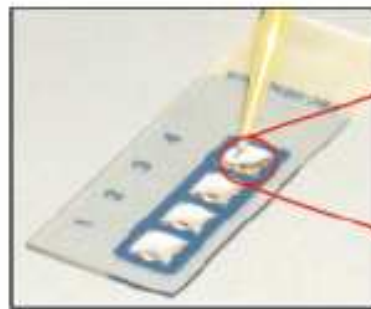
4 : La disposition des taches fluorescentes sur la puce fournit une image de l'ensemble des gènes actifs dans la cellule. Cela permet, par exemple, de comparer les cellules saines et les cellules cancéreuses d'une même personne.



Microarrays



- VBC Genomics (expert in microarrays) and Phadia (expert in allergy tests) have combined “innovative biochip technology” with “cutting-edge research in molecular allergology” to develop ImmunoCAP® ISAC.
 - Modern multiplex in vitro diagnostic tool for the allergy specialist, based exclusively on allergen components.
 - Miniaturized immunoassay platform for measurement of sIgE antibodies to over 40 common allergen sources in a single step.
 - 103 purified natural or recombinant allergen components immobilized on a solid support.
 - Run CRD assays rapidly and cost-effectively.





Allergen Components available on ImmunoCAP® ISAC

PLANTES ALIMENTAIRES

Nom français	Nom anglais	Allergène	Fonction	Nom latin
Pomme	Apple	rMal d 1	PR-10	Malus domestica
Pêche	Peach	rPru p 1 nPru p 3	PR-10 nsLTP	Prunus persica
Kiwi		nAct d 1 nAct d 2 nAct d 5 nAct d 8	Cysteine protease Thaumatococcus-like protein kiwellin PR-10	Actinidia deliciosa
Broméline	Bromelin	nAna c 2	CCD	Ananas comosus
Noix de Cajou	Cashew nut	rAna o 2	legumin-like protein	Anacardium occidentale
Cacahuète	Peanut	nAra h 1 nAra h 2 nAra h 3 rAra h 8	Storage protein, 7S globulin Storage protein, Conglutin Storage protein, Glycinin PR-10	Arachis hypogea
Noix du Brésil	Brazil nut	rBer e 1	Storage protein, 2S albumin	Bertholletia excelsa
Noisette	Hazelnut	rCor a 1.0401 rCor a 8 nCor a 9	PR-10 nsLTP Storage protein, 11S globulin	Corylus avellana
Sesame	Sesame seed	nSes i 1	Storage protein, 2S albumin	Sesamum indicum
Celeri	Celery	rApi g 1	PR-10	Apium graveolens
Carotte	Carrot	rDau c 1	PR-10	Daucus Carota
Soja	Sojabean	rGly m 4 nGly m b- conglymcinin nGly m glycin	PR-10	Glycine max
Blé	Wheat	nTri a 18 nTri a 19 Gliadin rTri a 19.0101 nTri a aA_TI	Agglutinin isolectin 1 Gliadin Omega-5 gliadin Alpha-amylase/Trypsin inhibitors	Triticum aestivum

Native components

Recombinant components



Allergen Components available on ImmunoCAP® ISAC

PLANTES INHALEES

Nom français	Nom anglais	Allergène	Fonction	Nom latin
Herbes Bermude	Bermuda Grass	nCyn d 1	Grass group 1	Cynodon dactylon
Herbes Timothy	Timothy grass	rPhl p 1 rPhl p 11 rPhl p 12 rPhl p 2 nPhl p 4 rPhl p 5 rPhl p 6 rPhl p 7	Grass group 1 Ole e 1-related protein PFL Grass group 2 Berberine bridge enzyme Grass group 5 Ca Binding protein	Pheum pratense
Latex	Latex	rHev b 1 rHev b 3 rHev b 5 rHev b 6 rHev b 8	Rubber elongation factor Small rubber particle protein Hevein precursor PFL	Hevea brasiliensis
Bouleau	Birch	rBet v 1 rBet v 2 rBet v 4	PR-10 PFL Ca Binding protein	Betula verrucosa
Pollen de noisetier	Hazel pollen	rCor a 1.0101	PR-10	Corylus avellana
Cèdre japonais	Japanese cedar	nCry j 1	Pectase lyase	Cryptomeria japonica
Cyprès	Cypress	nCup a 1	Pectase lyase	Cupressus arizonica
Olivier	Olive	nOle e 1 nOle e 2	Common olive group 5 PFL	Olea europaea
Platane	Plane tree	rPla a 1 nPla a 2	Putative invertase inhibitor Polygalacturonase	Platanus acerifolia
Aulne	Alder	rAln g 1	PR-10	Alnus glutinosa
Armoise	Mugwort	nArt v 1 nArt v 3	Defensin nsLTP	Artemisia vulgaris
Mercuriale annuelle	Annual mercury	rMer a 1	PFL	Mercurialis annua
Petite oseille	Wall pellitory	rPar j 2	nsLTP	Parietaria judaica
Soude salsovie	Saltwort	nSal k 1	Pectin methylesterase	Salsola kali
Ambroisie	Ragweed	rAmb a 1	Pectase lyase	Ambrosia artemisiifolia



Allergen Components available on ImmunoCAP® ISAC

ALIMENTS NON VEGETAUX

Nom français	Nom anglais	Allergène	Fonction	Nom latin
Œuf - Egg	Ovomucoid	nGal d 1	Ovomucoid	Galus domesticus
	Ovalbumin	nGal d 2	Ovalbumin	
	Conalbumin	nGal d 3	Ovotransferrin	
	CSA (livetin)	nGal d 5	Serum albumin	
Carpe	Carp	rCyp c 1	Parvalbumin	Cyprinus carpio
Cabillaud	Cod	rGad c 1	Parvalbumin	Gadus callarias
Lait - Milk	Alpha-lactalbumin	nBos d 4	Alpha-lactalbumin	Bos domesticus
	Beta-lactoglobulin	nBos d 5	Beta-lactoglobulin	
	BSA	nBos d 6	Serum albumin	
	Casein	nBos d 8	Casein	
	Lactoferrin	nBos d lactoferrin	Transferrin	
Anisakis (nématode)	Anisakis	rAni s 1 rAni s 3	Tropomyosin	Anisakis simplex
Crevette	Shrimp	rPen a 1 nPen i 1 nPen m 1	Tropomyosin Tropomyosin Tropomyosin	Penaeus aztecus Penaeus indicus Penaeus monodon

VENINS

Nom français	Nom anglais	Allergène	Fonction	Nom latin
Venin d'abeille	Honey bee venom	nApi m 1	Phospholipase A2	Apis mellifera
		nApi m 4	Melittin	Apis mellifera



Allergen Components available on ImmunoCAP® ISAC

INHALANTS NON VEGETAUX

Nom français	Nom anglais	Allergène	Fonction	Nom latin
Chat	Cat	rFel d 1 nFel d 2 rFel d 4	Uteroglobine Serum albumin Lipocalin	Felis domesticus
Blatte	Cockroach	rBla g 1 rBla g 2 rBla g 4 rBla g 5 nBla g 7	Cockroach group 1 Aspartic protease Calycin Glutathione S-transferase Tropomyosin	Blattella germanica
Chien	Dog	rCan f 1 rCan f 2 nCan f 3	Lipocalin Lipocalin Serum albumin	Canis familiaris
Cheval	Horse	nEqu c3	Serum albumin	Equus caballus
Poussière de maison	House dust mite	rDer f 1 rDer f 2 nDer p 1 rDer p 10 nDer p 2	Cysteine protease NCP2 family Cysteine protease Tropomyosin NCP2 family	Dermatophagoides farinae Dermatophagoides farinae Dermatophagoides pteronys Dermatophagoides pteronys Dermatophagoides pteronys
Mite	Storage mite	rEur m 2	NCP2 family	Euroglyphus maynei
Souris	Mouse	nMus m 1	Lipocalin	Mus musculus

MICROORGANISMES INHALES

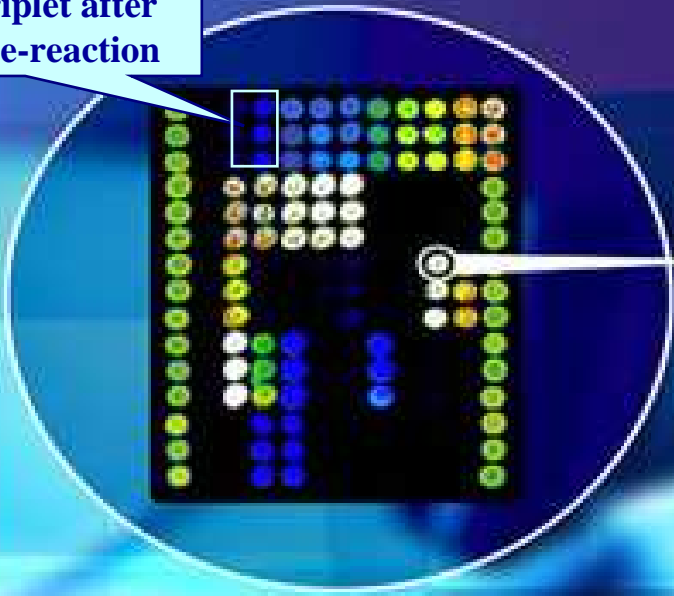
Nom français	Nom anglais	Allergène	Fonction	Nom latin
Aspergillus	Aspergillus	rAsp f 1 rAsp f 2 rAsp f 3 rAsp f 4 rAsp f 6	Mitogillin family Fibrinogen Binding Proteins Peroxisomal protein MnSOD	Aspergillus fumigatus
Cladosporium	Cladosporium	rCla h 8	Mannitol dehydrogenase	Cladosporium herbarum
Alternaria	Alternaria	rAlt a 1 rAlt a 6	Enolase	Alternaria alternata

ISAC Immuno Solid-phase AllergenChip

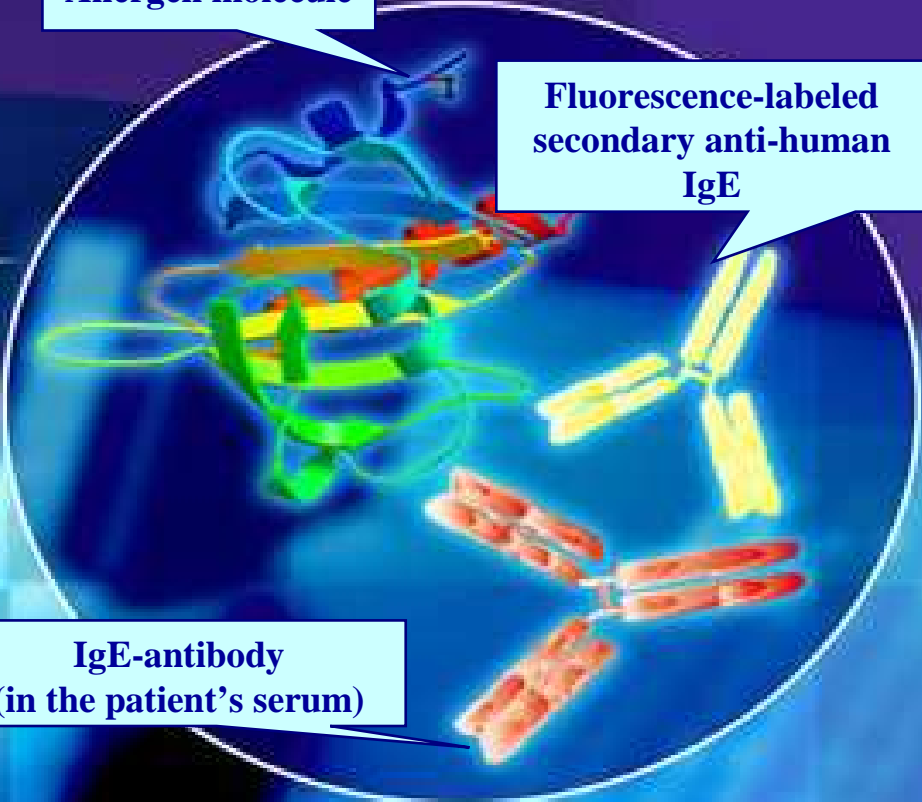


VBC-GENOMICS

Allergen-triplet after fluorescence-reaction



Allergen molecule



Fluorescence-labeled secondary anti-human IgE

IgE-antibody (in the patient's serum)

4 reaction sites

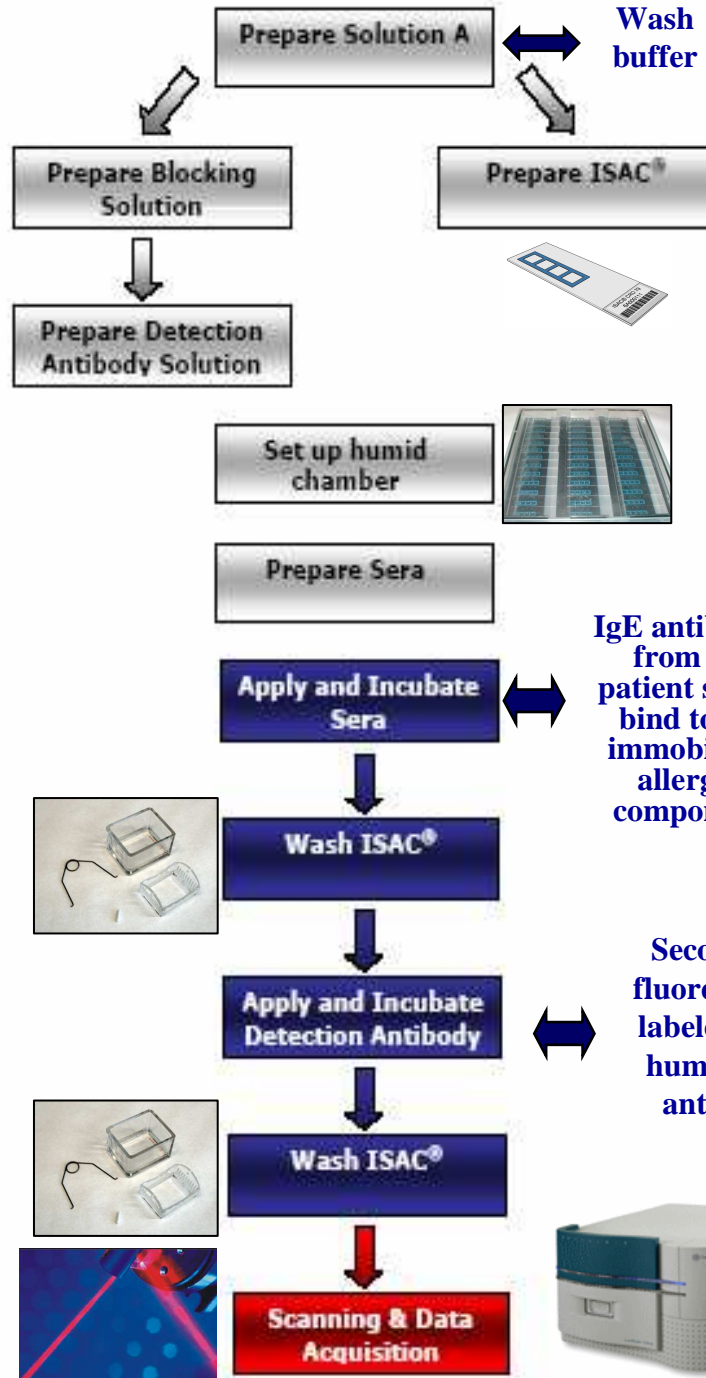


VBC-GENOMICS



P
R
E
P
A
R
A
T
I
O
N

A
S
S
A
Y

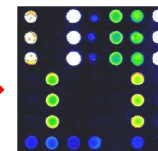
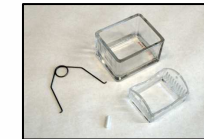


ImmunoCAP[®]ISAC A two-step assay

+/- 1 Hour

+/- 4 Hours

few minutes





Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC)



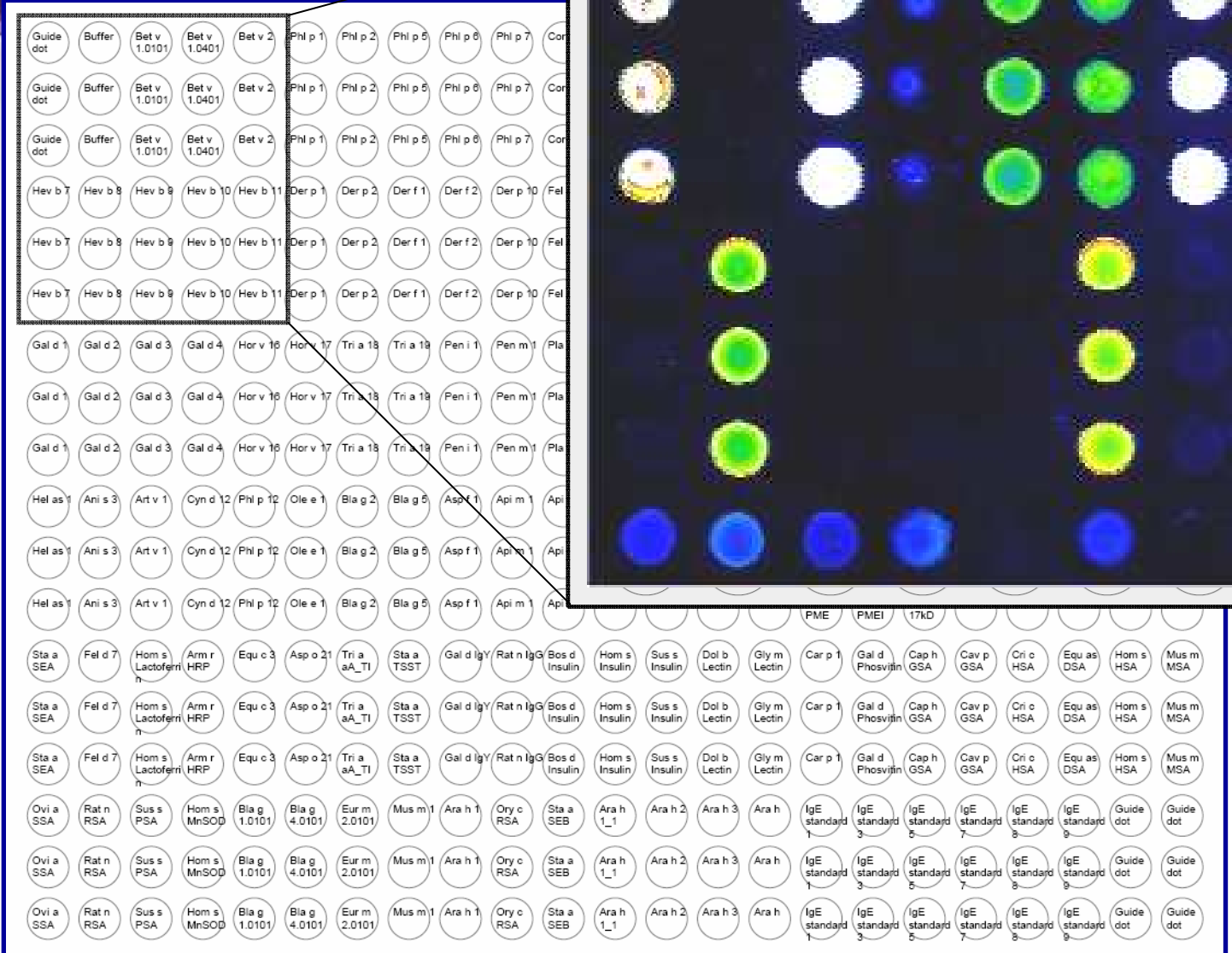
- Test results are measured with a biochip scanner and evaluated using proprietary software.
 - CapitalBio's LuxScan dual laser scanner.
- No other special laboratory equipment needed.
- ImmunoCAP ISAC is a semi-quantitative test and results are reported in ISAC Standardized Units (ISU).
- Medical report generated
 - Sent to the contracting medical practitioner.



	ISU	Classe
rBet v 1	21,17	■■■■
rAln g 1	3,37	■■■
rCor a 1.0101	1,44	■■■
rCor a 1.0401	0,43	■
rMal d 1	14,71	■■■
rPru p 1	15,49	■■■■
rGly m 4	0,45	■
rAra h 8	3,42	■■■
rApi g 1	0	□□□□
rDau c 1	0	□□□□
nAct d 8	0	□□□□



Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC)



Medical report generated



INFORMATION PATIENT

ID PATIENT: Uentem, Marie1

INFORMATION PRESCRIPTEUR

MÉDECIN PRESCRIPTEUR

INFORMATION ÉCHANTILLON

ID ECHANTILLON: 8B97224_3

Date prélèvement: 15.10.2008

Date impression: 15.10.2008

Date de naissance: Age:

Sexe: F

ID/MR#:

INFORMATION MÉDECIN

Résultats des dosages

Composants allergiques

1. Plantes

1.1. Marqueurs spécifiques

Kiwi

Noix du Brésil

Noix de cajou

Noisette

Graine de sésame

Arachide

Soja

Blé

Chiendent digité

Phléole

1.2. Marqueurs d'une réactivité croisée certaine mais limitée

PR-10 protein / Bet v 1 homologue

Bouleau rBet v 1

Auline rAln g 1

Pollen de noisetier rCor a 1.0101

Noisette rCor a 1.0401

Qualitative

ISU Classe

21,17

3,37

1,44

0,43

principaux agents
cibres alimentaires
thermosensibles
à l'origine du syndrome

Classe

Calcium binding 2-EF-hand protein

Bouleau rBet v 4

ISU Classe

0

Medical report generated



Marqueur de sensibilisation aux « cross-réactifs carbohydrate déterminants ». Rarement associé à des symptômes cliniques mais peut avoir une importance clinique et même provoquer des réactions sévères chez une petite minorité de patients.

2. Autres

2.1. Marqueurs spécifiques d'espèce

	ISU	Classe
Oeuf, Ovomucoïde	nGal d 1	Ovomucoïde
Oeuf, Ovalbumine	nGal d 2	Ovalbumine
Oeuf, Conalbumine	nGal d 3	Conalbumine
Lait, Alpha-lactalbumine	nBos d 4	Alpha-lactalbumine
Lait, Bêta-lactoglobuline	nBos d 5	Bêta-lactoglobuline
Lait, Caséines	nBos d 8	Caséines
Lait, Laotoferrine	nBos d lactoferrin	Transferrine
Blatte	rBla g 1	Cockroach group 1
	rBla g 2	Aspartic protease
	rBla g 4	Catlycin
	rBla g 5	Glutathione S-transferase
Chat	rFel d 1	Uteroglobine
	rFel d 4	Lipocalin
Chien	rCan f 1	Lipocalin
	rCan f 2	Lipocalin

2.3. Marqueurs d'une réactivité croisée

Cabillaud rGad c 1
 Allergène majeur du poisson. Marqueur de réactivité croisée entre les différentes espèces de poissons et d'amphibiens. Protéine stable à la chaleur et à la digestion provoquant des réactions aux aliments même cuits.

Trombosine

Crevette rPen a 1

ISU... ISAC Standardized Units

Classe

< 0,3
 > 0,3 to <= 1
 > 1 to <= 15
 > 15

Négatif

Basse

Faible - Haute

Très haute

2.2. Marqueurs d'une réactivité croisée certaine mais limitée

Cystéine protéase

	ISU	Classe
Acariens domestiques	nDer p 1	0,37
	nDer f 1	0,48

Allergène du groupe 1 des acariens, habituellement responsable d'une grande réactivité croisée entre les différentes espèces d'acariens.

NPC2 family

	ISU	Classe
Acariens domestiques	rDer f 2	18,02
	nDer p 2	10,51
Acariens de stockage	rEur m 2	2,57

Allergènes du groupe 2 des acariens habituellement responsables d'une grande réactivité croisée entre les différentes espèces d'acariens.

2.3. Marqueurs d'une réactivité croisée

Parvalbumin

	ISU	Classe
Carpe	rCyp c 1	0

les oeufs. Les réactions croisées entre albumines de différentes espèces animales sont bien connues, par exemple entre chat et chien et chat et porc.

	ISU	Classe
rBet v 1	21,17	Très haute
rAln g 1	3,37	Faible - Haute
rCor a 1.0101	1,44	Faible - Haute
rCor a 1.0401	0,43	Basse
rMal d 1	14,71	Faible - Haute
rPru p 1	15,49	Très haute
rGly m 4	0,45	Basse
rAra h 8	3,42	Faible - Haute
rApi g 1	0	Négatif
rDau c 1	0	Négatif
nAct d 8	0	Négatif



Our 1st validation of the method

■ Method

■ 22 sera of patients

- Positive (>0.35 kUI/L) specific IgE (sIgE) tests for recombinant allergens (ImmunoCAP[®] 250 Phadia) and/or a clinical anamnesis of allergy and/or SPT.
 - 17 sera :
 - Positive sIgE for different kind of sources (latex, peanut, birch, timothy grass, hazelnut, peach, soja, cat or dog).
 - In all, **136 sIgE for recombinant** had been performed.
 - 16 sera :
 - Clinical history of the allergy thanks to an **anamnesis** of a clinician.
 - Rhinitis, asthma, conjunctivitis, oral allergy syndrome, oedema, dermatitis, hives, colic or diarrhea.
 - 9 sera :
 - Skin Prick Tests (**SPT**).
- We managed a **microarray determination** on each serum. Then, we compared the results obtained with the sIgE, the SPT or the anamnesis.



Our 1st validation of the method



■ Results:

- The results of the ImmunoCAP[®]ISAC were similar to those of the SPT.
 - Majority of the allergens tested had the same results on ISAC and on SPT (regarding positive and negative tests).
- Amongst the 136 sIgE (recombinant allergens) tested, the ImmunoCAP[®] ISAC found 132 times concordant results.
- The ImmunoCAP[®] ISAC provided results in agreement with the anamnesis in all the 16 cases.



Validation & Clinical Case

- **U.M. (27 years old)** ♀
 - **Follow-up allergies.**
 - **Symptoms :**
 - **Colic & diarrhea**
 - After drinking milk or eating fat ?
 - No problem with bread, fish
 - Don't eat any shellfish
 - **Rhinitis, pruritus, urticaria**
 - No problem with latex
 - **Dyspnea during exercise**
- **SPT :**
 - **Positive**
 - +++ Dust mites, grass, birch
 - + Pollens of ash and poplar, hazelnut, mustard
 - **Suspicious**
 - **Peanut, soja, nuts.**
- **sIgE**
 - **Positive**
 - **Peanut, soja, shrimp, wheat.**



Clinical Case

■ Clinician's diagnosis & his decisions :

■ Allergic rhinitis

- Due to acarians all the year and increased during birch pollinisation.
- Polysensitized to grass and to ash and birch pollens

■ Diarrhoea ?

- Suspiciously sensitized to Peanut, soja, shrimps, wheat and mustard.
 - Probably due to “Cross-reactions” with birch (hazelnut, peanut, nuts & soja)
 - No eviction needed.
 - Real allergy to shrimps, mustard and wheat :
 - Eviction !

■ Next step

- Oral provocation tests peanut, hazelnut.



Clinical Case

Results of ImmunoCAP[®] ISAC

- **PR-10 (Bet v 1-like) :**
 - Bet v 1 - Pru p 1 - Aln g 1 - Cor a 1,01 - Cor a 1,04 - Mal d 1 - Ara h 8 - Gly m 4
- **Dust Mites :**
 - Der p 1 - Der f 1 - Der p 2 - Eur m 2 - Der f 2
- **Pollens :**
 - Cyn d 1 - Phl p 1 - Phl p 4 - Ole e 1 - Pla a 2 - Cry j 1 - Cup a 1 - Mer a 1
- **Soja**
 - Gly m conglutin, Gly m 4 (PR-10)
- **Saltwort**
 - Sal k 1
- **Hazelnut**
 - Cor a 1,04 (PR-10) - Cor a 8 (nsLTP)
- **Peanut**
 - Ara h 8 (PR-10) - Ara h 1 (storage protein)
- **Ana c 2 (CCD marker)**



Cor a 8

Ara h 1



Conclusions of our first validation



- The ImmunoCAP[®] ISAC permitted to find out an allergy to a major allergen of peanut and of hazelnut (Ara h 1 & Cor a 8).
 - Immediately, the clinician cancelled the planned oral provocation tests for peanut and hazelnut.

- It permitted to avoid a hazardous oral provocation test in an allergic patient.

- Very positive feedback of clinicians.



Advantages of ImmunoCAP[®] ISAC



- The results provided by the ImmunoCAP[®] ISAC allowed us to see, in a single analytical step, the allergen sensitization profile of the patients tested.
- Replicate (triplicate) array layout .
- CRD rapidly and cost-effectively.
- 20 µL of patient serum/plasma give complete results.

**We think that the ImmunoCAP[®] ISAC
will have an essential role to play in the diagnosis and the
management of complex patterns of sensitization.**



actually available allergens on ImmunoCAP[®] ISAC

Cross-reacting proteins :

- 11 PR-10
(Bet v 1-like proteins) :
 - To many ?
 - Choose the more representative PR-10 allergens?
- 4 nsLTP :
 - Add some others ?
 - Witch ones?
 - Region-dependant...
- 5 Profilins :
 - So many profilins
 - Which ones are the most interesting allergens ?
- 2 Parvalbumins :
 - Important
 - The most representative one ?
- 4 Tropomyosins :
 - Important
 - The most representative one ?
- 5 Serum albumins :
 - Important
 - The most representative one ?
- Venoms of Honeybee or wasp :
 - Add some !!!



Conclusions (I)


- La possibilité de demander une recherche d'IgEs aux allergènes recombinants est désormais à notre portée et représente une avancée que les allergologues ne peuvent pas ignorer :
 - Nous permet de comprendre la signification de certains cas de sensibilisations croisées ou prédire leur sévérité clinique mais aussi pour mieux juger et décider au mieux d'une désensibilisation.
 - Permet de mieux cerner les cas difficiles de multisensibilisations :
 - exple : les IgE impliquant une profiline ne traduisent probablement qu'une réaction de famille sans implication clinique sérieuse.
- Auparavant, la découverte d'une sensibilisation au latex pouvait poser question en termes de pertinence chez les patients polliniques :
 - Des antigènes mineurs (type profiline) peuvent être la cause de sensibilisations croisées bouleau/latex sans traduction clinique.



Conclusions (II)



- Le « CRD » permet d'affiner le diagnostic en recherchant une sensibilisation aux différentes protéines sensibilisantes d'une substance.
- L'ImmunoCAP ISAC a un rôle à jouer dans la réalisation de ces mesures et ce, afin de faciliter l'approche « CRD »

The image features a black background with a grid of small, colorful circles. The circles are arranged in a roughly rectangular pattern, with some missing or faded. The colors of the circles include white, green, blue, yellow, and red. The text "Thank you for your attention !!" is written in a bright green, serif font, centered over the grid. The text is split into two lines: "Thank you" on the top line and "for your attention !!" on the bottom line. The exclamation marks are large and prominent. The overall effect is a visually busy and colorful background for a simple message.

**Thank you
for your attention !!**