

Actualités en Allergie et biologie moléculaire

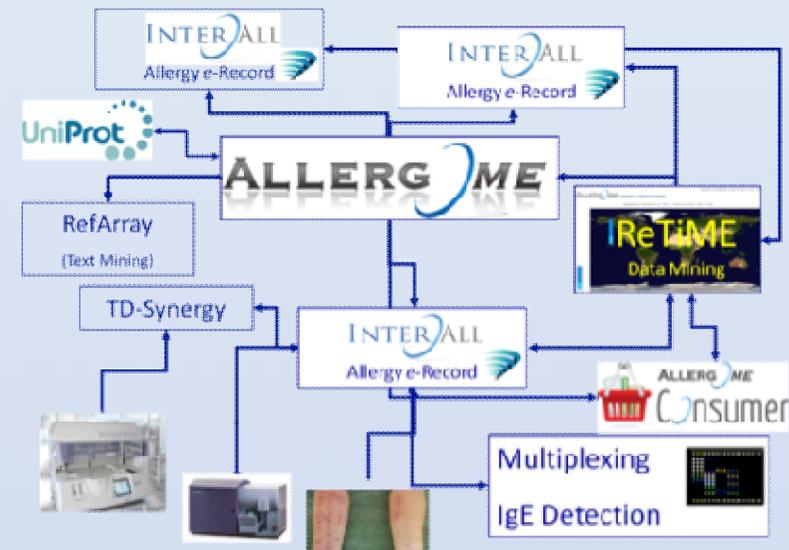
- Romy GADISSEUR -
CORATA BELGIQUE

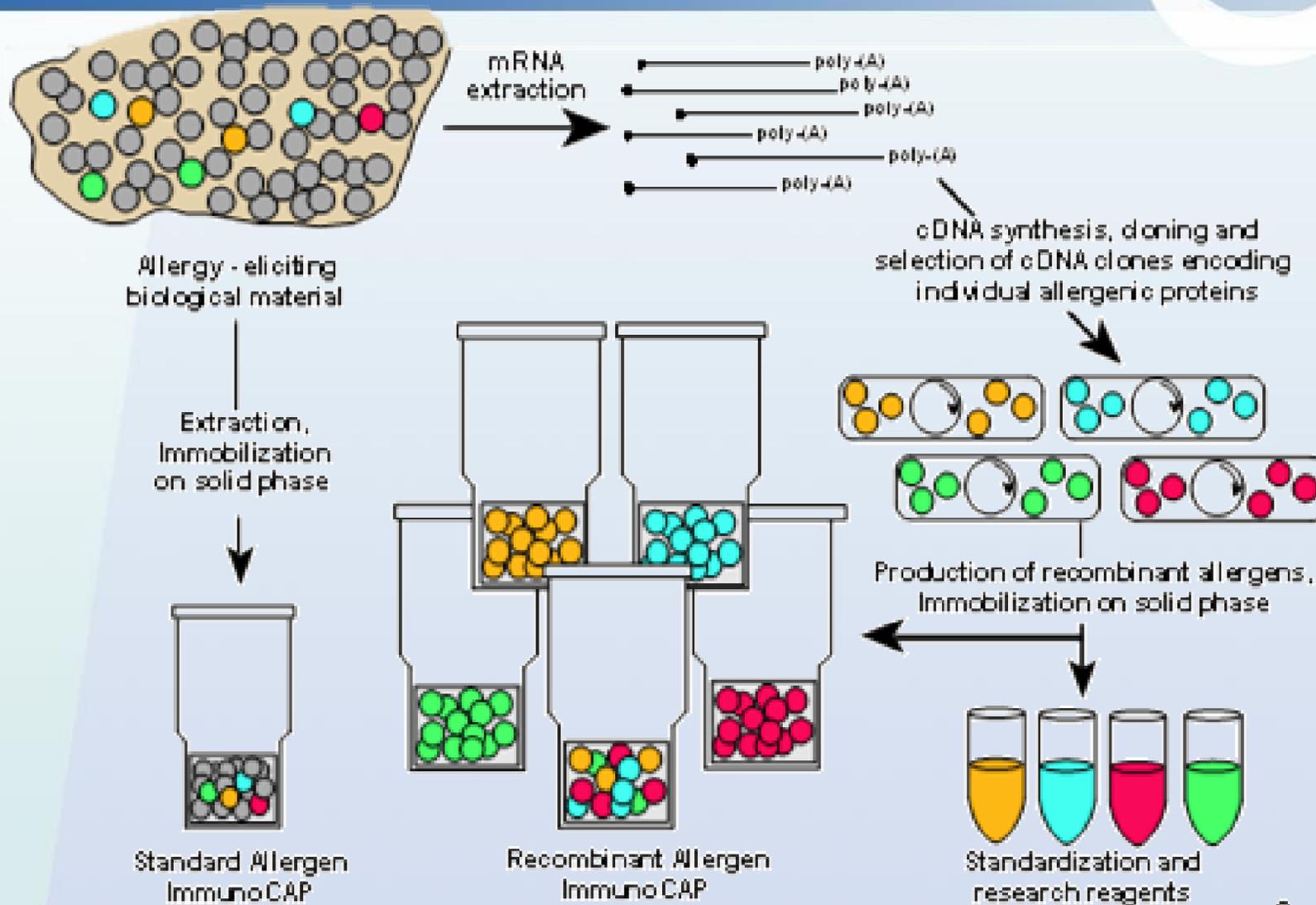
1^{er} octobre 2014



- “ Progrès en biologie moléculaire :
 - “ **Synthèse des protéines recombinantes** analogues aux protéines qui induisent une réaction allergique et qui leur ressemblent au niveau immunologique.
 - “ Production avec **une qualité constante et en quantité suffisante**.
- La détermination des IgE spécifiques dirigées contre ces protéines permet de déterminer un **profil réactionnel individualisé** pour chaque patient.
 - ✓ **Identification exacte des molécules qui induisent la maladie.**

- “ Actuellement,
 - ✓ 5000 allergènes décrits.
 - ✓ >130 molécules allergéniques commercialisées pour le dosage in-vitro des IgEs.





Le bilan allergologique

- É **Allergologue** : non reconnu comme tel mais une spécialisation à part entière !
- É **Examen clinique & Anamnèse**
- É **Tests in-vivo basés sur l'histoire clinique** :
 - ó Tests cutanés voire TC réalistes (prick-to-prick)
 - ó Tests de provocation orale (TPO)
 - ó Régimes d'épreuve ou régime d'éviction (= diagnostique et thérapeutique)
- É **Test in-vitro basés sur l'histoire clinique et/ou sur les tests cutanés**



É Test in-vitro :

ó Dosage des **IgE totales** sériques :

- Pour la modulation et l'interprétation des IgEs uniquement !

ó Dosage de **IgE spécifiques**, dosages unitaires :

1. **Mixtures** d'extraits globaux (exemple : fX5 = lait, morue, arachide, soja, froment)

- ó Si allergène responsable non identifié formellement (pas d'orientation clinique)
- ó Si positif => poursuivre l'enquête allergique.

2. **Extraits** globaux (exemples : f13 arachide, f1, f4...)

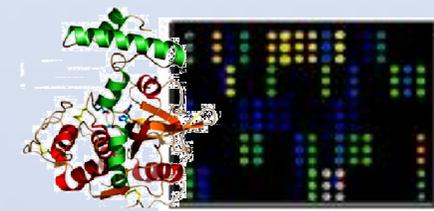
- ó Peu discriminants pour le pronostic, faux négatifs possibles

3. **Protéines recombinantes ou naturelles purifiées (t215, f423,...)**

- ✓ Si **source allergénique définie**, si étude approfondie nécessaire
- ✓ **Réactions croisées** cliniques
- ✓ **Pronostic** (PFL-PR10-LTP-Prot stockage)
- ✓ Poser l'indication d'un **TPO**, d'une **désensibilisation**
- ✓ Standardisation des résultats

✧ **Multiplexes, 112 allergènes recombinants, IgEs**

- ó Si profil allergique complexe, réactions croisées



Différents types de réactions croisées (RC)

É RC entre espèces taxonomiquement proches :

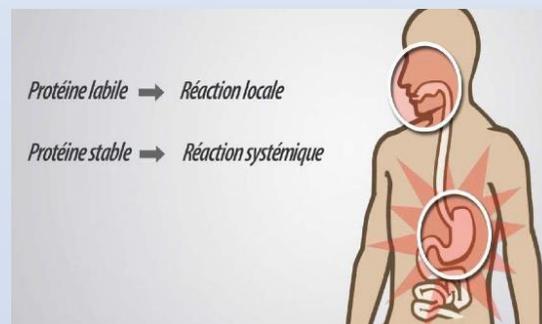
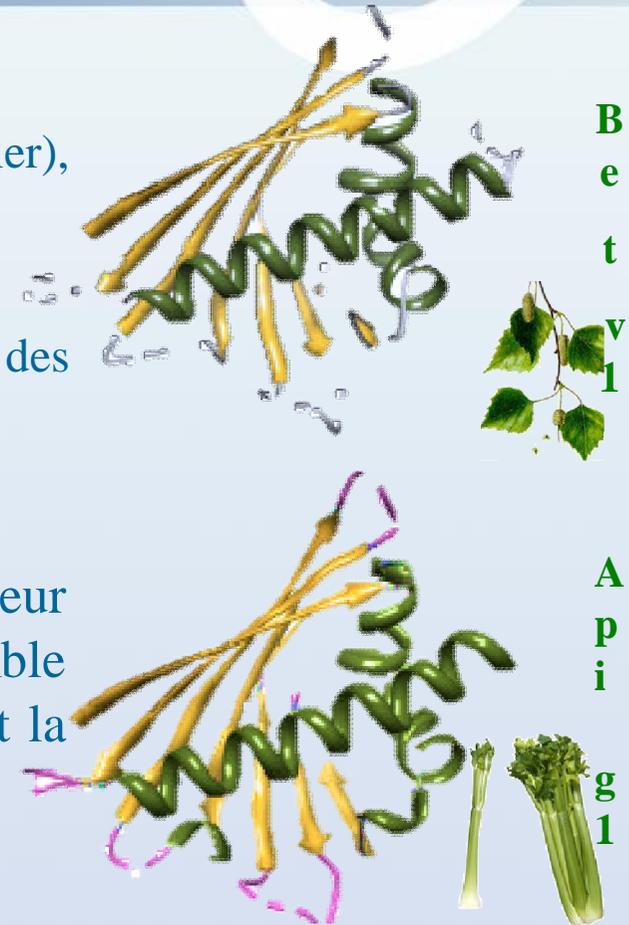
- ó Exemples : acariens, graminées, oléacées (frêne, olivier), ombellifères (céleri, armoise)

É RC entre espèces taxonomiquement éloignées ??

- ó Exemples : pomme/bouleau, allergie orale 50% des allergiques au pollen de bouleau (PR10 : Bet v 1/Mal d 1)

➤ Pas de relation botanique !

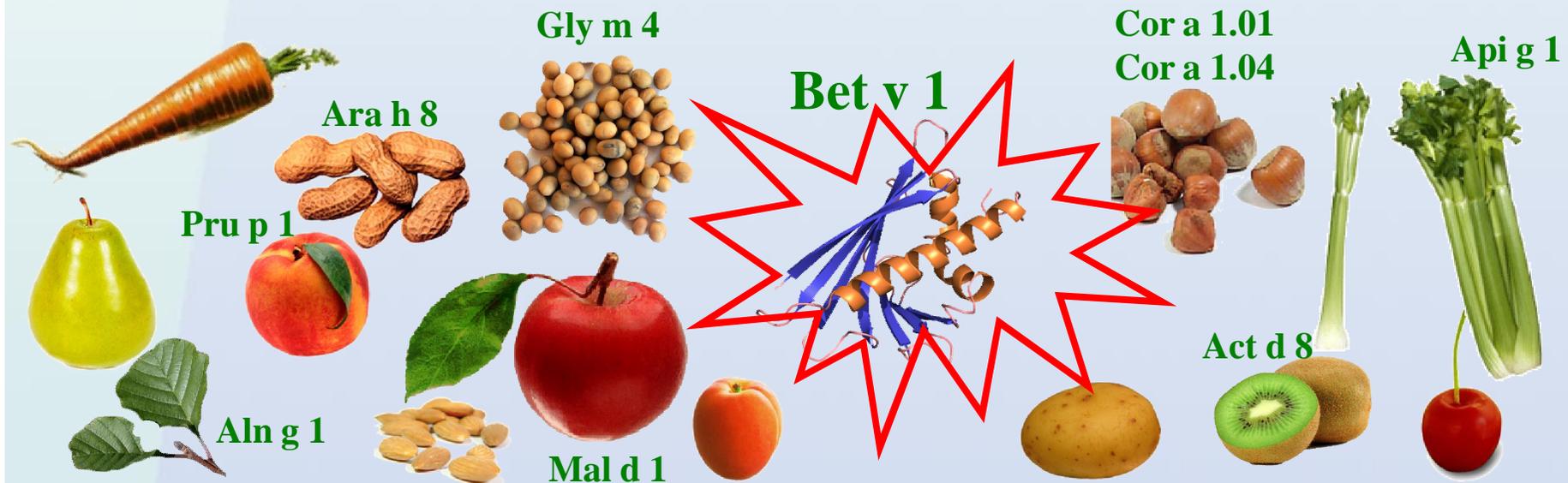
➤ Explication par la **structure des allergènes** et leur fonction avec notion de **famille moléculaire** (rassemble des protéines provenant de divers allergènes et ayant la même fonction physiologique).



Comprendre l'allergie à la pomme... C'est du bouleau !

É Protéines PR-10, Bet v 1 homologue

- ó Instable à la chaleur, aliment cuit toléré en général.
 - » Breiteneder H, *Biotechnol Adv*, 2005
- ó Associé à des symptômes locaux comme le Syndrome Oral Allergique (OAS).
- ó Associé aux réactions allergiques aux fruits et légumes au Nord de l'Europe.



Allergie moléculaire

Syndrome d'allergie orale

É **Syndrome d'Allergie Orale** : Réaction allergique, gêne au niveau de la bouche qui apparaît instantanément ou peu de temps après l'ingestion de l'aliment.

ó Un chatouillement ou sensation de brûlure au niveau des lèvres, de la bouche et/ou du pharynx.

É Associé à la sensibilisation à une ou plusieurs protéine de type **PR-10** c'ad **homologue de Bet v 1** (bouleau).

- | | |
|------------------------|------------------------------|
| o <u>Noisette, 46%</u> | o <u>Noix du Brésil, 16%</u> |
| o <u>Pomme, 39%</u> | o <u>Pomme de terre, 15%</u> |
| o <u>Pêche, 24%</u> | o <u>Carotte, 13%</u> |
| o <u>Cerise, 22%</u> | o <u>Arachide, 10%</u> |
| o <u>Noix, 21%</u> | o <u>Fraise, 10%</u> |
| o <u>Poire, 20%</u> | o <u>Orange, 9%</u> |
| o <u>Amande, 19%</u> | o <u>Abricot, 7%</u> |
| o <u>Prune, 17%</u> | |

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

	1	60				
Birch	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Hazel	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Alder	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Hornbeam	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Beech	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Apple	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Cherry	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Apricot	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Pear	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Medicago	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Garden pea	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Soybean	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Tomato	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Celery	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Carrot	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
Asparagus	MGVFNYTEE	TSVIPAARLF	KAFILDGDNL	EPKVAPOAVS	SVENIEGNGG	PGTIKKITSF
	120					
Birch	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Hazel	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Alder	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Hornbeam	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Beech	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Apple	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Cherry	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Apricot	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Pear	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Medicago	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Garden pea	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Soybean	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Tomato	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Celery	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Carrot	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
Asparagus	EGFPFKYVKL	RVDEVDTNFI	KYNSVIEGG	FIGDTLEKIS	NEIKIVATPD	GGSILKISNK
	178					
Birch	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Hazel	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Alder	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Hornbeam	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Beech	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Apple	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Cherry	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Apricot	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Pear	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Medicago	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Garden pea	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Soybean	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Tomato	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Celery	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Carrot	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~
Asparagus	YHTRGDHEVD	AHQVQKASKE	SETLLRAVES	YLLAHSDAYN	~~~~~	~~~~~

É nsLTP (*Protéines de transfert lipidique non spécifique*)

- ó Stables à la chaleur et à la digestion
 - => allergies aux aliments cuits.
- ó Souvent associées à des réactions systémiques, OAS
 - => réactions + sévères.
- ó Caused souvent des allergies alimentaires aux fruits sans allergie pollinique.
- ó Souvent, associées aux réactions allergiques aux fruits et légumes au Sud de l'Europe.





É L'allergie au cannabis

- ó Allergène incriminé : Can s 3, LTP

É Symptômes cliniques

- ó Respiratoire : rhinoconjonctivite, asthme (pfs grave) et angio-èdème palpébral : surtout chez les fumeurs de marijuana quand l'allergène est aéroporté, exposition au pollen.
 - Sensibilisation passive récemment suggérée chez un enfant de 5 ans
- ó Cutané : immédiat (urticaire, angio-èdème) au contact de la plante avec la peau ou les muqueuses (lèvres et paupières). Un cas de poussée de Dermatite atopique chez patiente lors de l'exposition au cannabis.
- ó Anaphylaxie après l'ingestion de graines de cannabis ou buvant du thé de marijuana.

Sensitization to Cannabis sativa caused by a novel allergenic lipid transfer protein, Can s 3. (Gamboa et al, JACI 2007)

New food allergies in a European Non-Mediterranean Region : Is Cannabis sativa to blame ? (DG Ebo et al Int Arch Allergy Immunol 2013) : n=12, IgEs, BAT, SPT, ISAC.

É *Protéines de stockage*

- ó Présentes dans les graines.
- ó Souvent, stables et résistantes à la chaleur
 - => causant des réactions aux aliments cuits.



" *Tropomyosine*

- ó « Actin-binding protein » des fibres musculaires, panallergène, thermostable, marqueur de sévérité
- ó Allergène majeur des invertébrés comestibles, 2/3 des allergiques
- ó Allergène mineur des acariens.
- ó Marqueur de réactions croisées entre les crustacés, les acariens et les blattes.



rPen a 1
nPen m 1



rDer p 10

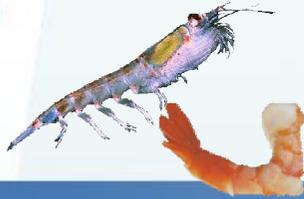


nBla g 7



rAni s 3





- “ Allergie aux crustacés relativement **fréquente** (surtout crevette)
 - “ + fréquente et + sévère adulte > enfant
 - “ **Eviction à priori de tous les crustacés** si allergie crevette (jusque SPT)
- “ Voie cutanée et respiratoire entretiennent l'allergie à la crevette (sensibilisation) mais l'ingestion induit l'allergie
- “ **Allergènes multiples** : tropomyosine MAIS AUSSI chitine, SCP
 - “ Sarcoplasmic calcium binding protein (SCP) allergène mineur mais forte homologie entre les divers crustacés, important chez l'enfant allergique, augmente l'intensité des réactions si présent
 - “ Arginine kinase: plus de 90% d'homologie entre les différentes espèces et réactivité croisée entre crevette/homard/crabe, Pen m 2
- “ **SURTOUT** : Penser...
 - “ Aux cofacteurs de l'allergie (AINS, effort, alcool)
 - “ A l'allergie croisée due à E120 (rouge cochenille)



Allergènes des venins de Hyménoptères : Où en sommes-nous?

- “ **2 - 3^{ème} cause d'anaphylaxie en Europe.**
- “ **Allergies croisées abeille/vespula : diagnostic et traitement problématiques.**
 - Abeille : au départ 1, ...3 allergènes connus, 12 en 2014 !
 - Vespula : 7 allergènes en 2014.
 - Nouvelles protéines allergisantes : familles des hyaluronidases, dipeptyl peptidases et vitellogénines.
- ✓ **Abeille : Api m 1 + non expliqué que 55 à 88% des sensibilisations selon les études => autres allergènes en cause. Si nouvelles protéines, améliore diagnostic à 92-98%.**
- ✓ **Vespula : Ves v 1 + Ves v 5 permet diagnostic dans 95-100% des cas.**
- ✓ **Ajout de Api m 3 (phosphatase acide) + Api m 10 (icarpine glycosylée) : amélioration diagnostic de 18-21%**
 - ✓ Rattrape les bilans négatifs à l'abeille malgré une histoire clinique évocatrice
 - ✓ Mais...très peu présents dans les extraits de désensibilisation.
- **Ces allergènes seront prochainement disponibles en diagnostic permettant d'améliorer la prise en charge des patients.**

Albumine sérique

- ó Protéine commune des fluides et solides biologiques comme le lait de vache, la viande de boeuf, les oeufs et le poulet.
- ó Alb. bovine et ovine proches
- ó Alb. mammifères >< aviaires
- ó Instable à la chaleur.
- ó RC entre les différents animaux (syndrome porc/chat ou oeuf/oiseau).
- ó RC Viande/lait/phanère et Volaille/plume/oeuf

nCan f 3



nGal d 5



BSA

nBos d 6



nEqu c 3



Cav p GSA



nFel d 2



Gal d (muscle)



rCyp c 1
rGad c 1

Parvalbumine

- ó Allergène **majeur** chez les poissons
 - ó Concentration + élevée muscle blanc > rouge, variable selon l'espèce
 - Responsable de 95% des allergies au poisson.
 - Persistance de l'allergie (80 % à 10 ans)
 - ó Marqueur de RC entre **poissons/amphibiens**.
 - Pas de différence entre poissons d'eau douce/mer
 - Tolérance fréquente pour le thon
 - ó Protéine extrêmement **stable à la chaleur et à la digestion**
 - Souvent des quantités minimales provoquent une réaction grave (odeur)
 - Réactions même à l'aliment cuit !
 - Allergènes détruits partiellement par l'acidité de l'estomac (Attention si IPP)
-
- Nouvel allergène => le collagène du poisson
 - Différent du syndrome scombroïde

Le sucre n'est pas toujours une friandise... Faux positifs in-vitro

É *CCD, MUXF3 (cross-reacting carbohydrate determinants) :*

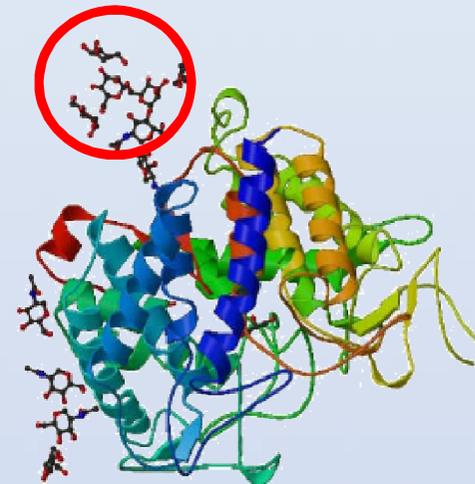
- ó Marqueur de sensibilisation aux déterminants carbohydrates (Glyco-épitopes).
- ó Présents dans la majorité des plantes et dans le venin d'hyménoptères
- ó Mise en évidence d'IgEs dirigés contre des glycans :
 - Profils de sensibilisations croisées larges parmi extraits allergéniques
 - ó Responsables de réactions croisées in-vitro.
 - Effets « in-vivo » ?
 - ó Rarement associé à des symptômes cliniques

Disponibles

MUXF3

o214

Bromelin



Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose- α -1,3-galactose

Scott P. Commins, MD, PhD,^a Shama M. Satinover, MS,^a Jacob Hosen, BS,^a Jonathan Mozena, MD,^b Larry Borish, MD,^a Barrett D. Lewis, MD,^c Judith A. Woodfolk, MBChB, PhD,^a and Thomas A. E. Platts-Mills, MD, PhD^a *Charlottesville and Fredericksburg, Va, and Springfield, Mo*

- “ Recrutement de 24 patients avec histoire d'urticaire, angioedème ou anaphylaxie 3-6h après ingestion de viande
 - “ Délais ++
- “ 24/24 patients IgE alpha-GAL + et IgE viandes + Tests cutanés aux viandes fraîches positifs
- “ Exprimé à la surface des cellules et des tissus des mammifères non-primates
- “ Sensibilisation via infestation parasitaire? allergie au chat?

J Allergy Clin Immunol. 2011 May ; 127(5): 1286–1293.e6. doi:10.1016/j.jaci.2011.02.019.

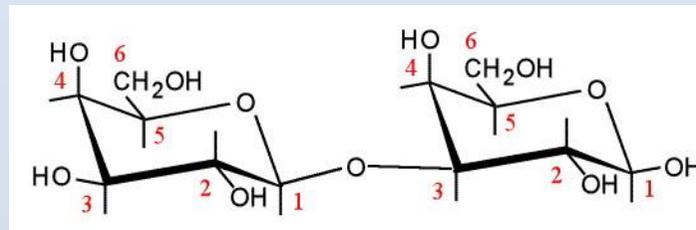
The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- α -1,3-galactose

Scott P. Commins, MD, PhD^{a,*}, Hayley R. James, BS^{a,*}, Elizabeth A. Kelly, MD^a, Shawna L. Pochan, CNM, MPH^a, Lisa J. Workman, BA^a, Matthew S. Perzanowski, PhD, MPH^b, Katherine M. Kocan, PhD^c, John V. Fahy, MD^d, Lucy W. Nganga, MD^e, Eva Ronmark, PhD^f, Philip J. Cooper, MB BS, PhD^{g,h}, and Thomas A. E. Platts-Mills, MD, PhD, FRS^a



- “ On a pu démontrer que les IgE anti -gal provenaient de la sensibilisation humaine après morsure de tiques => répartition géographique !

- É L'homme ne possède pas de glycoprotéine portant la séquence terminale « galactose-1,3-galactose »
- É La structure « -gal » est immunogène pour l'homme
- É IgE préexistantes se lient également aux protéines de mammifères (chien, chat, lait de vache, porc)
- É Symptômes : réaction anaphylactique, urticaire sévère 3 à 5 heures après consommation de viande rouge (surtout les abats)
- É Mais tolérance pour volailles et poissons !



- É Réactions Cétuximab et viandes mammifères (*Commins SP & al. JACI 2009*)
- É Mise en évidence d'une sensibilisation à α -gal dans une étude sur des sera de patients ayant présenté des symptômes d'HS au Cetuximab (Ac monoclonal chimérique murin humanisé) (*Chung CH, NEJM 2008*)
- É Les IgE se liant au Cetuximab sont spécifiques de α -gal, épitope glucidique porté par le Cétuximab
- É Réaction immédiate et sévère survenant quelques minutes après le 1^{er} contact avec Cetuximab !!

L'omelette sera pour qui sait attendre ! Les IgEs peuvent décider si l'omelette sera baveuse ou bien cuite

- “ Urticaire, dermatite atopique, trouble GI, anaphylaxie.
- “ Ré-investiguer les patients anciennement diagnostiqués « allergiques à l'œuf ou au lait »



- “ Blanc d'œuf (f1)
- “ IgEs Ovomucoïde/Gal d1 positif
 - ó Souvent allergie persistante, à vie
 - ó Souvent l'œuf n'est toléré ni cuit, ni cru
- “ IgEs Ovomucoïde négatif
 - ó Souvent l'œuf cuit est supporté



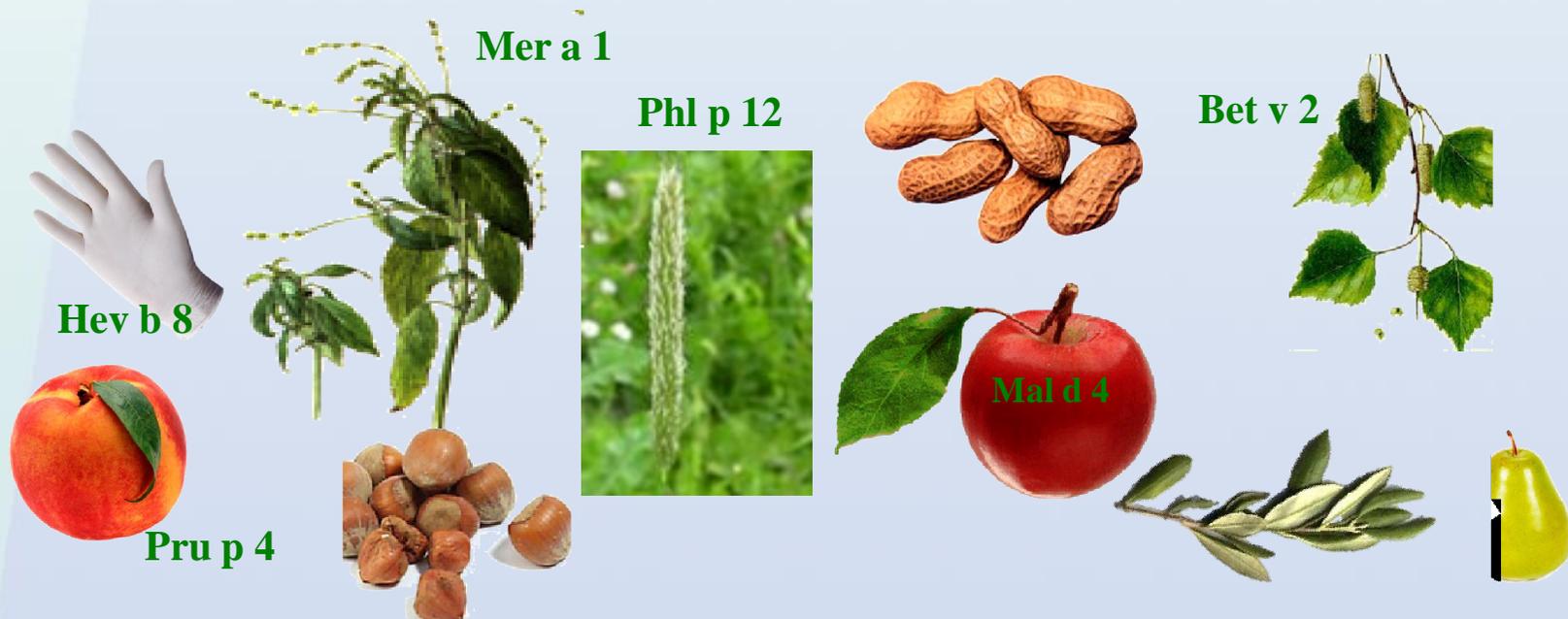
- “ Lait de vache (f2)
- “ IgEs Caséine positif
 - ó Souvent allergie persistante, à vie
 - ó Souvent lait n'est toléré ni cuit, ni cru, sous aucune forme.
- “ IgEs caséine négatif
 - ó Souvent lait cuit est supporté



**Goldstandard:
provocation par étapes**

É *Profiline*

- ó Rarement associée à des symptômes cliniques mais réactions sévères pour une minorité de cas (rare ! melon, céleri, orange).
- ó Panallergènes = présente dans une large variété de pollens (d'arbres, d'herbacées et de graminées) et d'aliments d'origine végétale.
- ó Grande homologie de structure entre les **profilines des différents fruits et légumes**.



É *Thaumatin-like protein*

- ó « nouveau » panallergène
- ó Syndromes croisés pollens-aliments (=> biais du pollen de cèdre et de cyprès)
- ó Actuellement, seul Act d2 dans le kiwi est disponible en ISAC
 - Allergène majeur chez les sujets allergiques au kiwi (avec Act d1 et d3)
- ó La présence d'homologues dans d'autres aliments et pollens, fait suspecter sa responsabilité dans les réactions croisées kiwi/végétaux/pollens
- ó Sa stabilité en fait un allergène potentiel de l'allergie au kiwi



Act d1



” Allergènes du froment :

- ” Albumines (soluble dans l'eau)
- ” Globulines (soluble dans le sel, insoluble dans l'eau)
- ” Gluten (insoluble dans l'eau et dans le sel)
- ” Gluténines
- ” Gliadines (, , ,)
- ” -gliadines (-1, -2, -3, -4, -5)
- **Tri a19 (-5 gliadine):**
 - **Anaphylaxie induite par l'exercice**
 - **Confirmation du diagnostic par TPO + Effort**



Int Arch Allergy Immunol. 2012;158(1):71-6. Epub 2011 Dec 29.

*Clinical Utility of IgE Antibodies to -5 Gliadin in the Diagnosis of Wheat Allergy:
A Pediatric Multicenter Challenge Study.*

Ebisawa M, Shibata R, Sato S, Borres MP, Ito K.

CONSENSUS DOCUMENT

Open Access

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

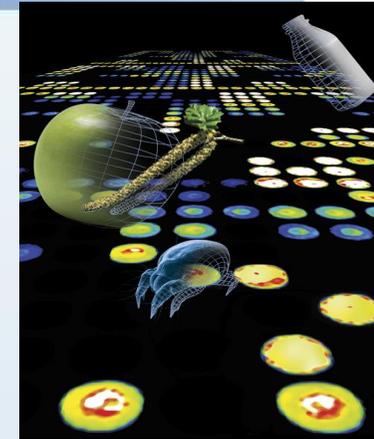
Giorgio Walter Canonica^{1*}, Ignacio J Ansotegui², Ruby Pawankar³, Peter Schmid-Grendelmeier⁴, Marianne van Hage⁵, Carlos E Baena-Cagnani⁶, Giovanni Melioli⁷, Carlos Nunes⁸, Giovanni Passalacqua⁹, Lanny Rosenwasser¹⁰, Hugh Sampson¹¹, Joaquin Sastre¹², Jean Bousquet¹³, Torsten Zuberbier¹⁴ and WAO-ARIA-GA²LEN Task Force: Katrina Allen, Riccardo Asero, Barbara Bohle, Linda Cox, Frederic de Blay, Motohiro Ebisawa, Rene Maximiliano-Gomez, Sandra Gonzalez-Diaz, Tari Haahtela, Stephen Holgate, Thilo Jakob, Mark Larche, Paolo Maria Matricardi, John Oppenheimer, Lars K Poulsen, Harald E Renz, Nelson Rosario, Marc Rothenberg, Mario Sanchez-Borges, Enrico Scala, Rudolf Valenta

Allergie moléculaire

2 concepts => Singleplex versus Multiplex



**ImmunoCAP
SINGLEPLEX**



**ImmunoCAP ISAC
MULTIPLEX**

- ” Une détermination = Un résultat
- ” ImmunoCAP, Immulite , HyTech
- ✧ Sélection des composants nécessaires définie par l'histoire clinique du patient.

- ” ImmunoCAP ISAC, le + complet,
- ” Une détermination = 112 résultats
=> 112 composants, > 50 sources
Large panel d'allergènes présélectionnés indépendamment de l'histoire de clinique.

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

Table 2 Studies comparing different techniques for specific IgE determinations

Techniques compared	Allergens	Main findings	References
ImmunoCAP & ISAC 50	HDM, cat dander, birch, grass, and mugwort pollen	ROC curves demonstrated that CAP and ISAC performed equally well in cat, birch, and grass pollen. ISAC was slightly less sensitive in HDM and displayed a reduced sensitivity in mugwort pollen.	Wöhrl et al. [99]
ImmunoCAP & ISAC prototype	Betula and grass allergens	Comparable sensitivity between CAP and ISAC.	Jahn-Schmid et al. [100]
ImmunoCAP & ISAC 103	grass and cypress pollen	Showed similar diagnostic performance.	Cabrera-Freitag et al. [101]
ImmunoCAP & ISAC 103	Multiple allergens	Concordance was 78.65% for sensitivity and 92.57% for specificity.	Gadisseur et al. JACI [98]
			Cabrera-Freitag et al. [101]
			Ebo et al. [76]
			Lizaso et al. [31]
			Melioli et al. [97]
			Twaroch et al. [103]

A new tool in the field of in-vitro diagnosis of allergy: preliminary results in the comparison of ImmunoCAP[®] 250 with the ImmunoCAP[®] ISAC

Gadisseur R, Chapelle JP, Cavalier E.
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Volume 49, Issue 2, Pages 277-280

- Comparaison ISAC et CAP chez 86 patients
- Concordance entre les résultats positifs (78.65%) et meilleure concordance si on considère le seuil positivité CAP 0,35KU/L (92,19%).
- Sensibilité moindre en ISAC qu'en CAP pour certains allergènes.
- Excellente spécificité avec des séra ayant des IgE_{tot} jusque 10 000KU/L.
- Des améliorations de la sensibilité doivent encore être réalisées.

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

Table 2 Studies comparing different techniques for specific IgE determinations

Techniques compared	Allergens	Main findings	References
ImmunoCAP & ISAC 50	HDM, cat dander, birch, grass, and mugwort pollen	ROC curves demonstrated that CAP and ISAC performed equally well in cat, birch, and grass pollen. ISAC was slightly less sensitive in HDM and displayed a reduced sensitivity in mugwort pollen.	Wöhrl et al. [99]
ImmunoCAP & ISAC prototype	Betula and grass allergens	Comparable sensitivity between CAP and ISAC.	Jahn-Schmid et al. [100]
ImmunoCAP & ISAC 103	grass and cypress pollen	Showed similar diagnostic performance.	Cabrera-Freitag et al. [101]
ImmunoCAP & ISAC 103	Multiples allergens	Concordance was 78.65% for positive results. Concordance was 93.57% for negative results.	Gadisseur et al. JACI [98]
Reproducibility of ISAC 103	rApi g 1, rBet v 2, nBos d 4, nGal d 1, nGal d 2, nGal d 3, rHev b 8, rPhl p 5, rPhl p 6, and rPhl p 7	Excellent intra-slide, intra-assay, and inter-assay variability. rApi g 1, nGal d 3, and rPhl p 6 showed high variability in the individual analyses.	Cabrera-Freitag et al. [101]
ImmunoCAP & ISAC 103	Latex allergens	Similar performance	Ebo et al. [76] Lizaso et al. [31] Melioli et al. [97] Twaroch et al. [103]

The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms

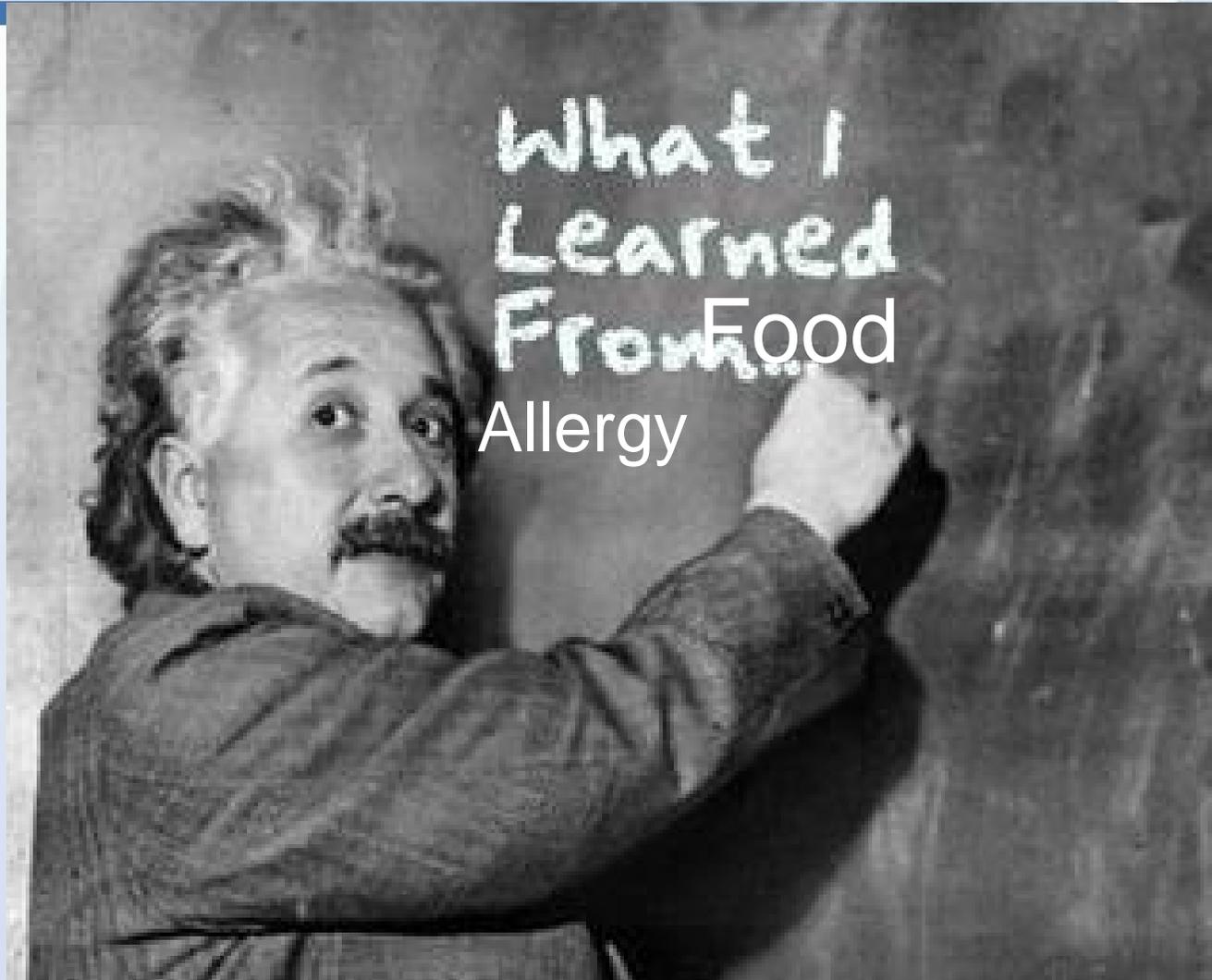
Clin Biochem. 2011 Aug;44(12):1005-11

Giovanni Melioli ^{a,*}, Floriano Bonifazi ^b, Sergio Bonini ^c, Enrico Maggi ^d, Michele Mussap ^e, Gianni Passalacqua ^f, Enzo Renato Rossi ^g, Angelo Vacca ^h, Giorgio Walter Canonica ^f and on behalf of the Italian Board for ISAC (IBI) ¹

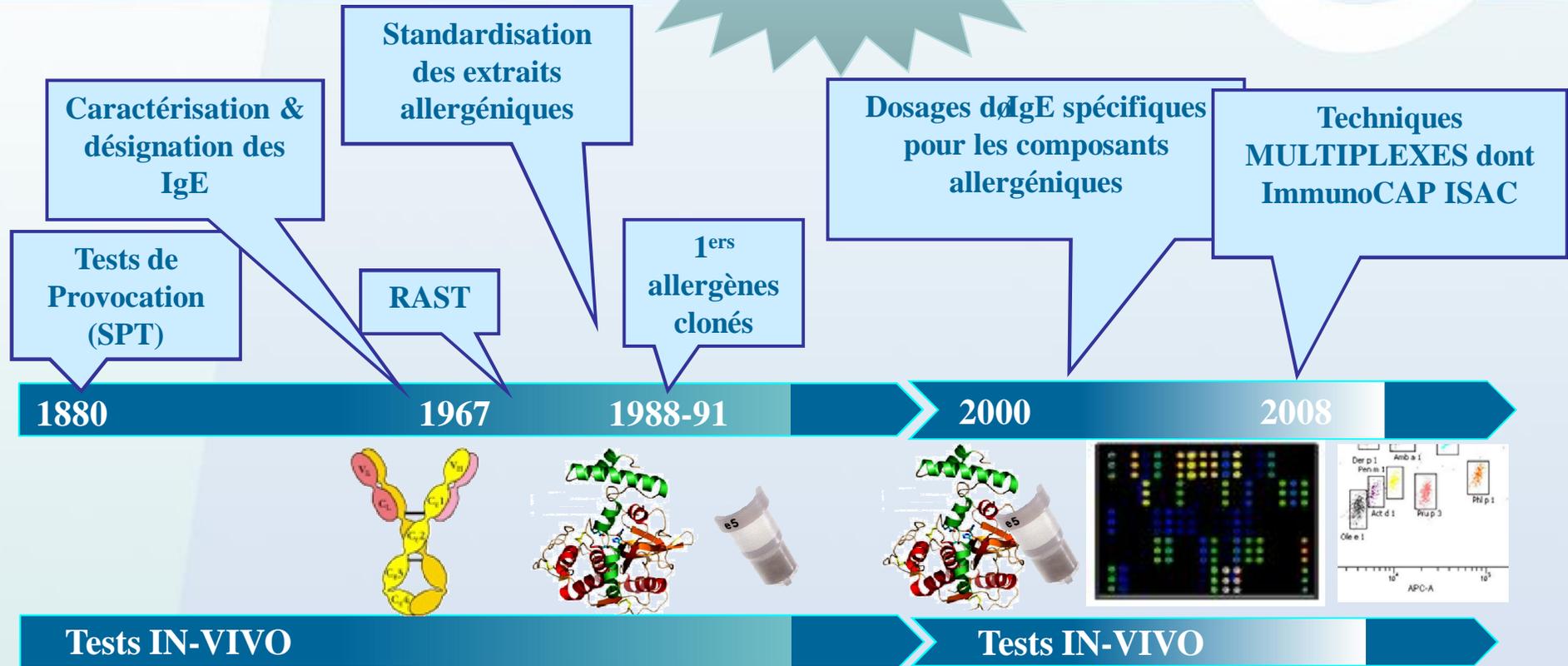
- Précision intra et inter-série bonne > 1 ISU
- ISAC : CV(%) 3 fois + élevé que les ImmunoCAP entre 1 et 15 ISU,
- ISAC : CV(%) identique au-dessus de 15 ISU.
- En tenant compte de la LOD ISAC (0,3 ISU) et LOD CAP (0,1KUI/L) moins bonne corrélation que lorsque l'on choisi un seuil de positivité ISAC à 1 ISU.
- Limitation ISAC : pas tous les allergènes et pas tous les recombinants sont représentés => attention aux faux négatifs de l'ISAC
- Intérêt de l'ImmunoCAP ISAC chez les patients polysensibilisés.

- “ Prévalence allergie aux fruits à coque, performances diagnostiques des IgEs par microarrays, en Espagne (*María Alonso*)
 - “ Etude multicentrique, allergie aux pollens et aliments végétaux (n=433, Ctrl n=90), prick-tests et histoire clinique
 - “ ISAC 112 : spécificité +/-100%, sensibilité 70, 48 et 58% pour le diagnostic d'allergie à la noix, l'arachide et la noisette.
 - L'inclusion d'autres composants allergéniques => + de sensibilité de diagnostic.

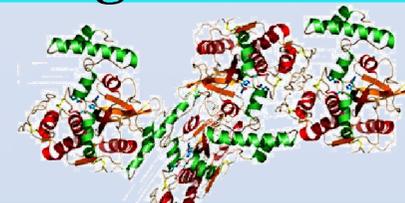
- “ Prédire l'allergie grâce à une valeur déterminée pour un meilleur équilibre entre la sensibilité et la spécificité (*Esban Eller, Allergy, 2013*)
 - “ Arachide : rAra h 2, (à un moindre degré rAra h 1), meilleure VPP que f13. rAra h 2 >1,63 kU/L : très bonne spécificité (1,00) et sensibilité (0,70), pourrait réduire le nombre de TPO. Grandes variations individuelles.
 - “ Noisette : Cor a 14, 2S albumine (homologue rAra h 2). Un taux de Cor a 14 élevé est le +discriminant pour prédire le TPO. Il est corrélé aux réactions les plus sévères et à une dose réactionnelle faible.



ANAMNESE CLINIQUE



Allergie moléculaire

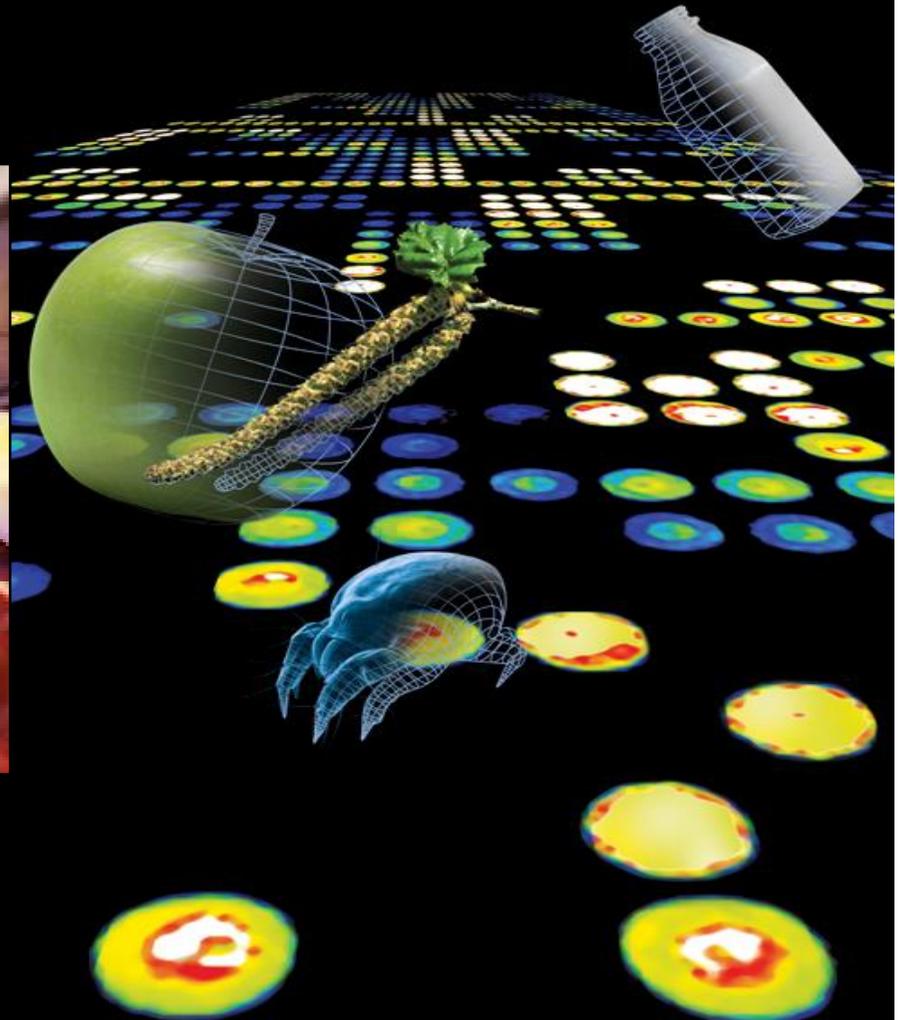


- É Diagnostic de l'allergie alimentaire parfois difficile
- É Bilan allergologique après anamnèse
- É On ne soigne pas une prise de sang !
 - Intégration des tests biologiques dans l'exploration des allergies alimentaires
 - Manque de distinction entre allergie et sensibilisation
- É Intérêt des allergènes recombinants
- É Limitation du nombre de références d'IgE spécifiques disponibles
- É Absence de tests cutanés avec des allergènes individualisés, à ce jour !
- É Limitation du nombre de dosage remboursés par l'INAMI
- É Coût de la puce ISAC

ETABLIR LA PERTINENCE CLINIQUE DU RESULTAT

- É Un Test cutané + ou la présence d'IgE pour une source allergénique peut refléter de multiples combinaisons de sensibilisations vis-à-vis des allergènes de cette source
- É Selon le profil de sensibilisation, le type, les risques et l'évolutivité de l'allergie alimentaire peuvent être très différents
- É L'allergologie moléculaire est un outil précieux dans la compréhension de l'allergie alimentaire
- É L'allergologue doit en connaître les bases et en suivre la constante évolution pour en retirer le maximum d'informations utiles à son patient
- É Ces connaissances doivent être intégrées au reste du bilan clinique et cutané classiques

**L'allergologie, c'est devenu une cuisine ...
... moléculaire : c'est fin et affiné !**





Service de Chimie Clinique du CHU de Liège
- *Endocrinologie, Allergologie, Exploration lithiase* -



romy.gadisseur@chu.ulg.ac.be

04 / 366.88.17

