



**3^e JOURNÉE DE RÉALITES
ALLERGOLOGIQUES INTERACTIVES
26 novembre 2016**

**ALLERGIE ALIMENTAIRE :
INTÉRÊT DES RECOMBINANTS**

Amaryllis Haccuria , CUB Erasme
Isabelle Jacques, Bruxelles



« Waltzing with allergens in Vienna »

Volume 27 • Supplement 1 • May 2016

PAI

PEDIATRIC ALLERGY AND IMMUNOLOGY

Guest Editors:
Paolo Maria Matricardi
Jörg Kleine-Tebbe
Hans-Jürgen Hoffmann
Rudolf Valent
Markus Dillert

Molecular Allergy User's Guide

EAACI Molecular Allergy User's Guide

WILEY Blackwell

Official Journal of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology

EAACI

MOLECULAR ALLERGOLOGY

USER'S GUIDE

Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology
2016

• • • • •

Plan de l'exposé

- Définitions
- Utilité clinique des AR en AA
 - ✓ Sensibilisation vraie vs réactions croisées
 - ✓ Familles de protéines
 - ✓ ISAC
- Illustrations cliniques

Définitions

Définitions

Allergène natif ou global

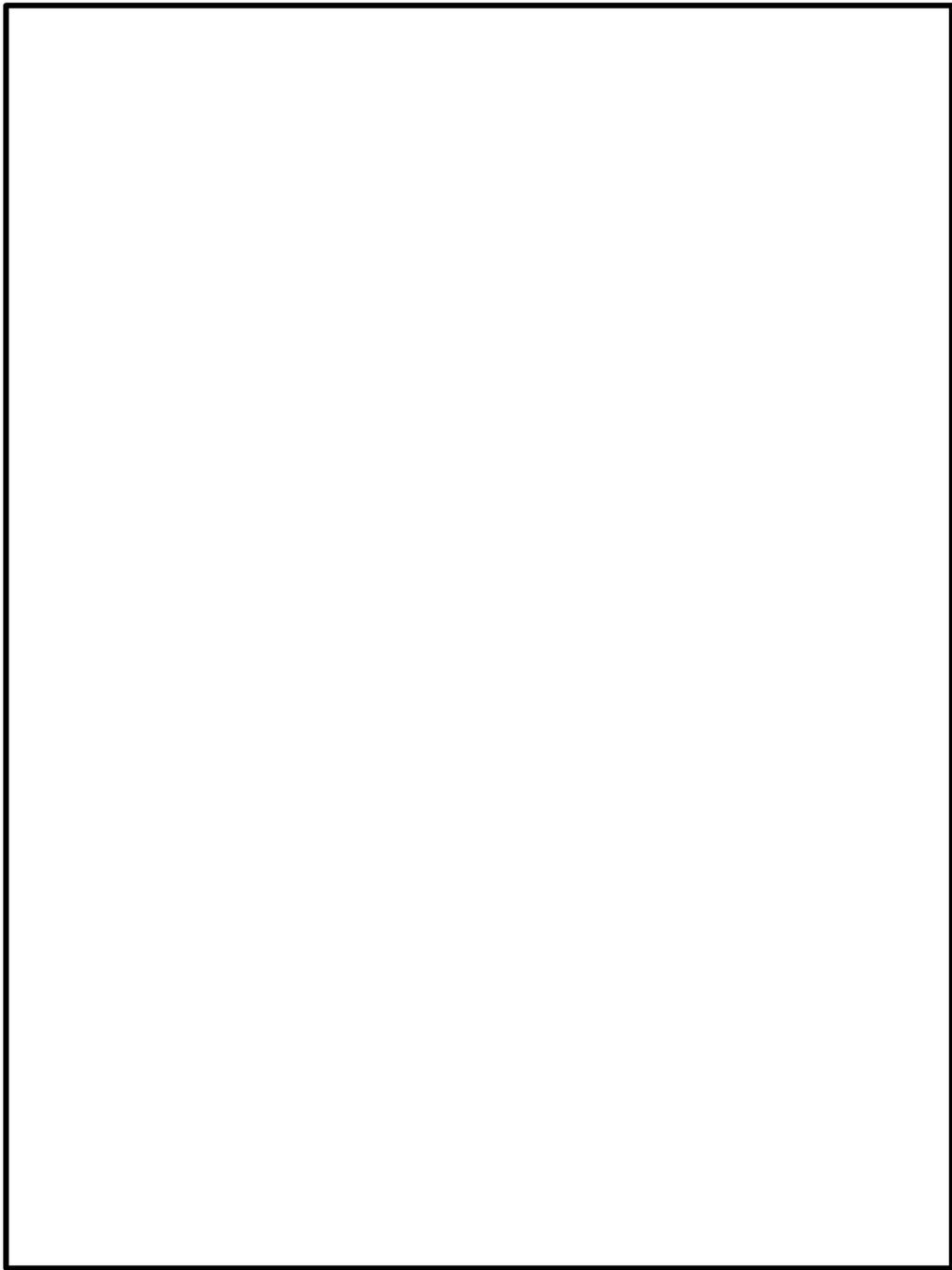
- Extrait allergénique = mélange
- Ou forme purifiée



Allergène recombinant

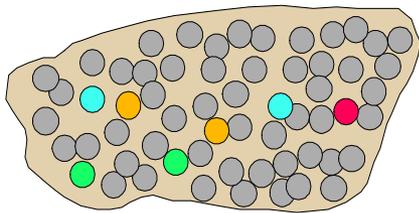
- protéine produite de manière exogène dans une cellule dont l'ADN a été modifié par recombinaison génétique





Extrait global ou allergène recombinant

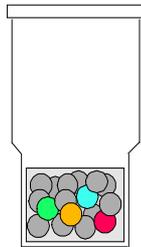
ALLERGÈNE NATIF



Extraction, immobilisation
en phase solide d'
EXTRAITS GLOBAUX

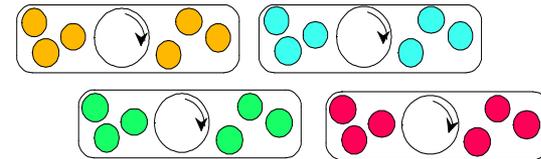


Extrait global
pour prick



ImmunoCAP
(noir/ bleu)

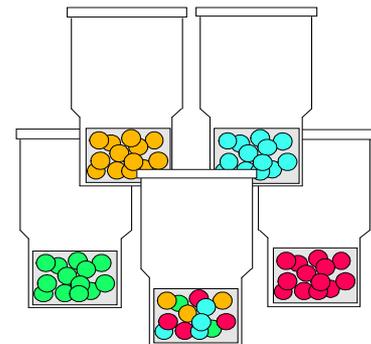
Synthèse de cDNA , sélection de clones cDNA
encodant des allergènes individuels



Production d'

ALLERGÈNES RECOMBINANTS

Extraction, Immobilisation en phase solide



ImmunoCAP
(en vert)

Nomenclature des recombinants

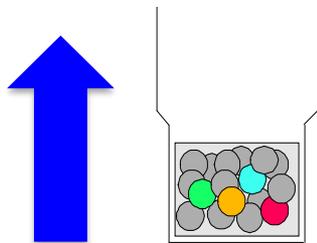
- t3: *Betula verucosa*
- g6: *Phleum pratense*
- d1: *Dermato. pteronys.*
- f13 : *Arachis hypogaea*

Bet v 1, 2, 4, 6, 7

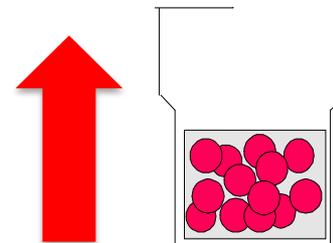
Phl p 1,..5,..7...12

Der p 1, 2, 3,.....10,..

Ara h 1, 2 , 3,8,



Extrait global



Recombinants

Grass pollens :

g6 *Phleum pratense*

- rPhl p 1 *Phleum pratense* g205
- rPhl p 2 *Phleum pratense* g206
- nPhl p 4 *Phleum pratense* g208
- rPhl p 5b *Phleum pratense* g215
- rPhl p 6 *Phleum pratense* g209
- rPhl p 7 **Calc. Bind. Prot.** *Phleum pratense* g210
- rPhl p 11 *Phleum pratense* g211
- rPhl p 12 **Profilin** *Phleum pratense* g212
- Mix** rPhl p 1, rPhl p 5b *Phleum pratense* g213
- Mix** rPhl p 7, rPhl p 12 *Phleum pratense* g214

Weed pollens :

w6: *Artemisia vulgaris*

- nArt v1 *Artemisia vulgaris* w231
- nArt v3 **LTP** *Artemisia vulgaris* w233
- w9: *Plantago lanceolata*
- rPla l1 *Plantago lanceolata* w234

Tree pollens :

t3: *Betula verrucosa*

- rBet v 1 **PR10** *Betula verrucosa* t215
- rBet v 2 **Profilin** *Betula verrucosa* t216
- rBet v 4 **Calc. Bind. Prot.** *Betula verrucosa* t220
- rBet v 6 *Betula verrucosa* t225
- Mix** rBet v 2, rBet v 4 *Betula verrucosa* t221
- t9: *Olea europaea*
- rOle e 1 *Olea europaea* t224
- t222: *Cupressus arizonica*
- nCup a1 *Cupressus arizonica* t226
- t11: *Platanus acerifolia*
- rPla a1 *Platanus acerifolia* t241

Mites

d1: *Dermatophagoides pteronyssinus*

- nDer p1 *Dermatophagoides pteronyssinus* d202
- rDer p2 *Dermatophagoides pteronyssinus* d203
- rDer p10 **Tropomyosin** *Dermatophagoides pteronyssinus* d205

Microorganisms

m3 : *Aspergillus fumigatus*

- rAsp f 1 *Aspergillus fumigatus* m218
- rAsp f 2 *Aspergillus fumigatus* m219
- rAsp f 3 *Aspergillus fumigatus* m220
- rAsp f 4 *Aspergillus fumigatus* m221
- rAsp f 6 *Aspergillus fumigatus* m222
- m6 : *Alternaria alternata*
- rAlt a 1 *Alternaria alternata* m229

Foods

f13: *Peanut Arachis hypogaea*

- rAra h 1 *Arachis hypogaea* f422
- rAra h 2 *Arachis hypogaea* f423
- rAra h 3 *Arachis hypogaea* f424
- rAra h 8 **PR10** *Arachis hypogaea* f352
- rAra h 9 **LTP** *Arachis hypogaea* f427
- f17: *Hazelnut Corylus avellana*
- rCor a 1 **PR10** *Corylus avellana* f428
- rCor a 8 **LTP** *Corylus avellana* f425
- nCor a 9 *Corylus avellana* f440
- rCor a 14 *Corylus avellana* f439
- f18: *Brazil nut Bertholletia excelsa*
- rBer e1 *Bertholletia excelsa* f354
- f256: *Walnut Juglans spp*
- rJug r 1 *Juglans spp* f441
- rJug r 3 **LTP** *Juglans spp* f442
- f202: *Cashewnut Anacardium occidentale*
- rAna o 3 *Anacardium occidentale* f443
- f4: *Wheat Triticum spp*
- rTri a 19; **Omega-5 Gliadin** *Triticum spp.* f416
- rTri a 14: **LTP** *Triticum spp.* f433
- f14: *Soy Glycine max*
- rGly m 4 **PR10** *Glycine max* f353
- nGly m 5 *Glycine max* f431
- nGly m 6 *Glycine max* f432
- f49: *Appel Malus domestica*
- rMal d 1 **PR10** *Malus domestica* f434
- rMal d 3 **LTP** *Malus domestica* f435
- f95: *Peach Prunus persica*
- rPru p 1 **PR10** *Prunus persica* f419
- rPru p 3 **LTP** *Prunus persica* f420
- rPru p 4 **Profilin** *Prunus persica* f421
- f85: *Celery Apium graveolens*
- rApi g 1.01 **PR10** *Apium graveolens* f417
- f84: *Kiwi Actinidia chinensis*
- rAct d 8 **PR10** *Actinidia chinensis* f430
- f1 **Egg white**
- nGal d 1 **Ovomucoid** *Gallus spp.* f233
- nGal d 2 **Ovalbumin** *Gallus spp.* f232
- nGal d 3 **Conalbumin** *Gallus spp.* f323
- nGal d 4 **Lysozyme** *Gallus spp.* k208
- f2: *Milk Bos spp*
- nBos d 4 **α -lactalbumin** *Bos spp.* f76
- nBos d 5 **β -lactoglobulin** *Bos spp.* f77
- nBos d 8 **Casein** *Bos spp.* f78
- Bovine lactoferrin** *Bos spp.* f334

f24 **Shrimp**

- rPen a 1 **Tropomyosin** *Penaeus aztecus* f351
- f3: **Fish (cod)**
- rCyp c 1 **Parvalbumin** *Cyprinus carpio* f355
- rGad c1 **Parvalbumin** *Gadus morhua* f426

Epidermals & other proteins

e1: **Cat Felis domesticus**

- rFel d 1 *Felis domesticus* e94
- nFel d 2 **serum albumin** *Felis domesticus* e220
- rFel d 4 *Felis domesticus* e228
- e5: **Dog Canis familiaris**
- rCan f 1 *Canis familiaris* e101
- rCan f 2 *Canis familiaris* e102
- nCan f 3 **Serum albumin** *Canis familiaris* e221
- rCan f 5 *Canis familiaris* e226
- e4: **Cow Bos spp**
- nBos d 6 **BSA Serum albumin** *Bos spp.* e204
- e83: **Swine Sus scrofa**
- Swine serum albumin** *Sus scrofa* e222
- nSus s **Pepsin** From *Sus scrofa* k213

Occupational allergens

k82: *Hevea brasiliensis*

- rHev b 1 *Hevea brasiliensis* k215
- rHev b 3 *Hevea brasiliensis* k217
- rHev b 5 *Hevea brasiliensis* k218
- rHev b 6.01 *Hevea brasiliensis* k219
- rHev b 6.02 *Hevea brasiliensis* k220
- rHev b 8 **Profilin** *Hevea brasiliensis* k221
- rHev b 9 **Enolase** *Hevea brasiliensis* k222
- rHev b 11 *Hevea brasiliensis* k224

Enzymes

- nCar p 1 **Papain** *Carica papaya* k201
- nAsp o 1 **α -amylase** From *Aspergillus oryzae* k87
- Alkalase** From *Bacillus sp.* k205
- Maxatase** From *Bacillus licheniformis* k204
- Savinase** From *Bacillus sp.* k206

Venoms

i1: *Apis mellifera*

- rApi m 1 **Phospholipase A2** *Apis mellifera* i208
- i3: *Vespula vulgaris*
- rVes v 1 **Phospholipase A1** *Vespula vulgaris* i211
- rVes v 5 **Antigen 5** *Vespula vulgaris* i209
- i77: *Polistes dominulus*
- rPol d 5 **Antigen 5** *Polistes dominulus* i210

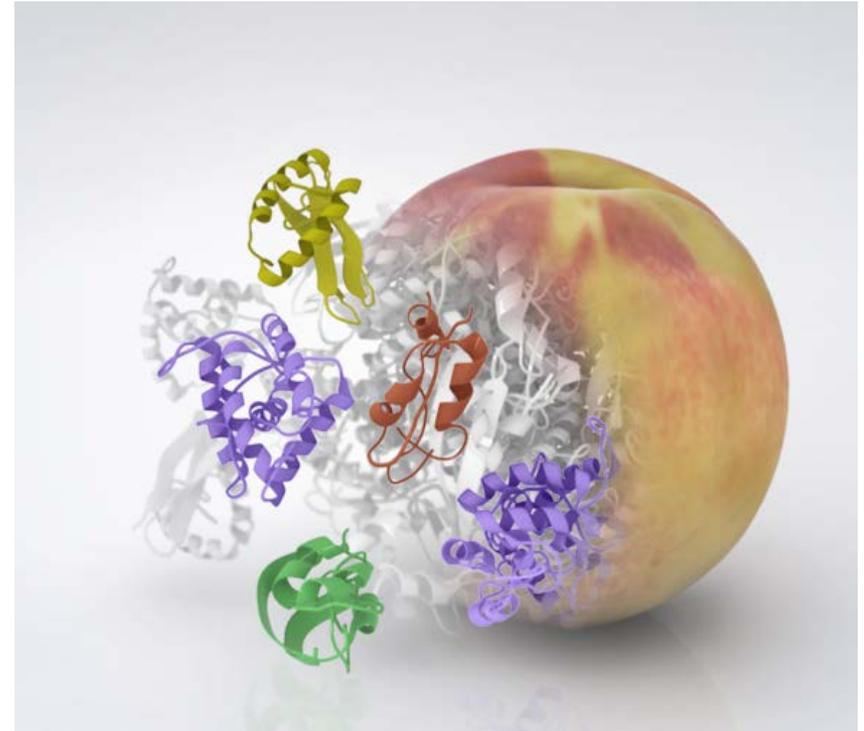
Carbohydrate Determinants (CCD)

- Bromelin** k202
- CCD; MUXF3** (from bromelin) o214

Définitions

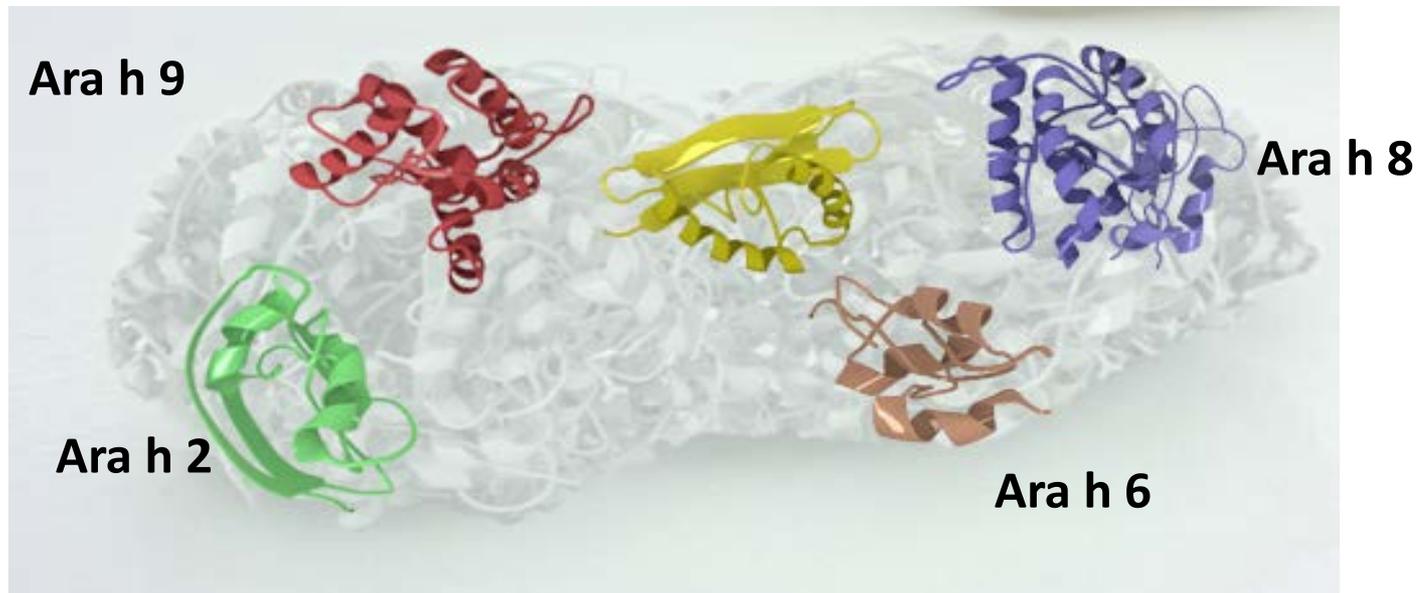
Le produit natif contient des allergènes recombinants:

- Spécifiques
- Réactions croisées
- Différentes labilités
- Différentes quantités



Définitions

- Le produit natif peut contenir plusieurs familles de protéines



<i>PR-10</i>	<i>LTP:s</i>	<i>Profilins</i>	<i>Ca²⁺ binding proteins</i>
Bet v 1	Pru p 3	Bet v 2	Bet v 4
Pru p 1	Par j 2	Pru p 4	Phl p 7
Gly m 4	Cor a 8	Phl p 12	
Ara h 8	Ara h 9	Hev b 8	
Api g 1.01	Jug r 3*		
Cor a 1	Art v 3*		
Mal d 1			
Dau c 1			

<i>Storage proteins</i>		<i>Carbohydrate markers</i>	
<i>2S albumins</i>	Ara h 2 Ber e 1 Jug r 1* Ana o 3*	<i>7S globulins</i>	Ara h 1 Soy Beta-conglycinin*
<i>Gliadins</i>	Tri a 19	<i>11S globulins</i>	Ara h 3 Soy glycinin* Cor a 9*
			CCD;MUXF3 nAna c 2

<i>Tropomyosins</i>	<i>Parvalbumins</i>	<i>Serum albumins</i>	<i>Enzymes</i>
Pen a 1	Cyp c 1	nBos d 6	nCar p 1, Papain
Der p 10*	Gad c 1	nFel d 2	nGal d 4, Lysozyme
		nCan f 3	nAsp o 1, α -amylase
		nSus s PSA	nSus s Pepsin
			Alkalase
			Savinase

PR-10 (Pathogen-Related), Bet v 1 homologue

Allergènes thermolabiles

Syndrome d'allergie orale avec fruits ou légumes crus

Sensibilisation d'abord par les pollens, souvent Nord de l'Europe

LTP (non-specific Lipid Transfer Protein, nsLTP)

Allergènes thermorésistants

Syndrome d'allergie orale et symptômes systémiques

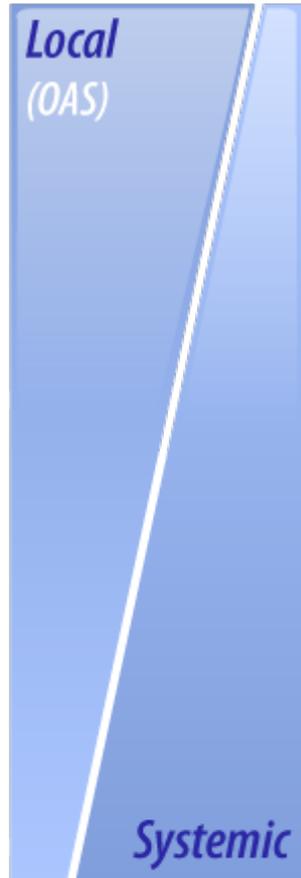
Sensibilisation via la pêche, souvent en Méditerranée

Profilines: Sensibilisation souvent asymptomatique

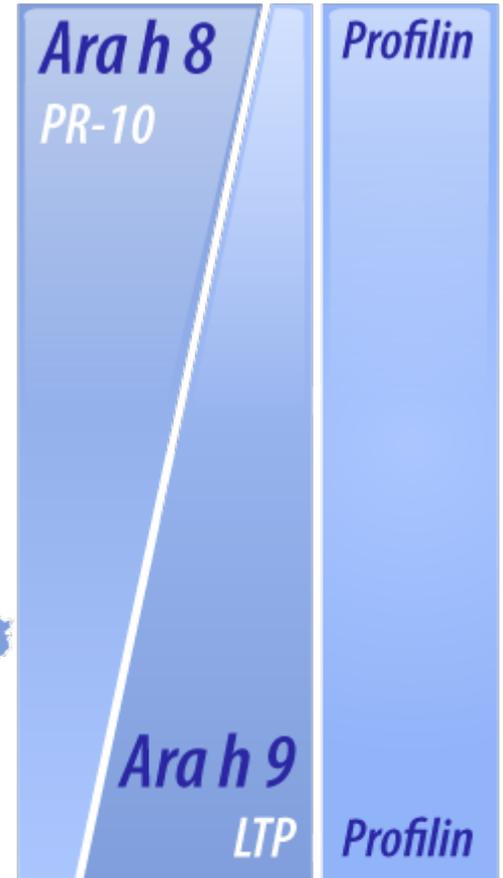
Protéines de stockage

Thermostables, réactions sévères aux fruits à coque et oléagineuses

Characteristic symptoms



Sensitization profiles



Tropomyosine: protéine des muscles

Réactions croisées entre les acariens, les crustacés et la blatte

CCD: cross-reactive carbohydrate determinants

Responsables de réactions croisées entre venins, souvent marqueurs de sensibilisation asymptomatique

Parvalbumine: allergène majeur du poisson

Réactivité croisée entre poissons, thermorésistant et pH-résistant

Serum albumin: protéine commune de différents liquides (lait de vache) et de solides biologiques (veau, œufs, volaille)

Croise avec des albumines de différents espèces animales (ex: syndrome « chat-porc »)

Utilité clinique des recombinants en allergie alimentaire

Utilité clinique des recombinants

DIAGNOSTIC

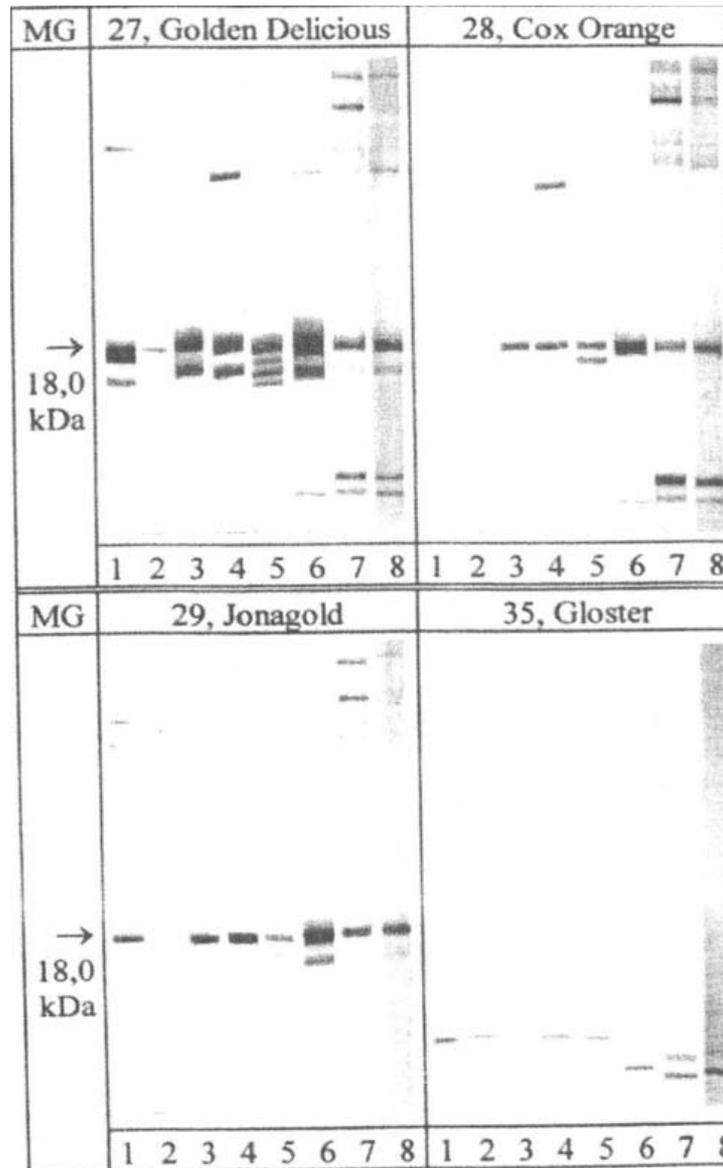
1. Identification des allergènes majeurs
2. Extraits natifs ou globaux non fiables
3. Compréhension des réactions croisées
4. Profil de risque

TRAITEMENT

1. Prescription de désensibilisation: pollens et venins → pomme
2. Futur: ITS avec AR, étiquetage, aliments HA

Tests cutanés en AA

- Extraits commerciaux contenant peu d'allergènes ou allergènes labiles (ex: PR-10)
 - Allergènes manquants (ex: oléosines)
- Possibilité de faux négatifs: utilisation d'extraits natifs et/ou des recombinants



Vieths S *et al.* Factors influencing the quality of food extracts for *in vitro* and *in vivo* diagnosis. *Allergy* 1998;53: 65–71.

Tests cutanés avec allergènes recombinants

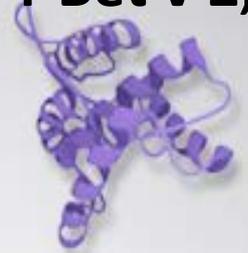
- Non disponibles en routine. Plusieurs études:
- Bet v 1, Mal d 1 (Sn 90%), d 4
- Pru p 3
- r Ara h 1,2,3,6



r Bet v 1



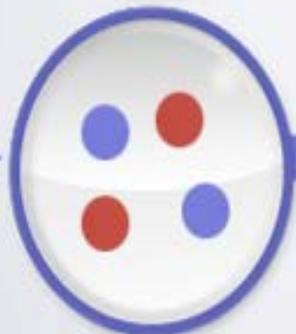
r Bet v 2,4



r Ara h 1,2,3,9



r Ara h 8



r Mal d 3



r Mal d 1,4

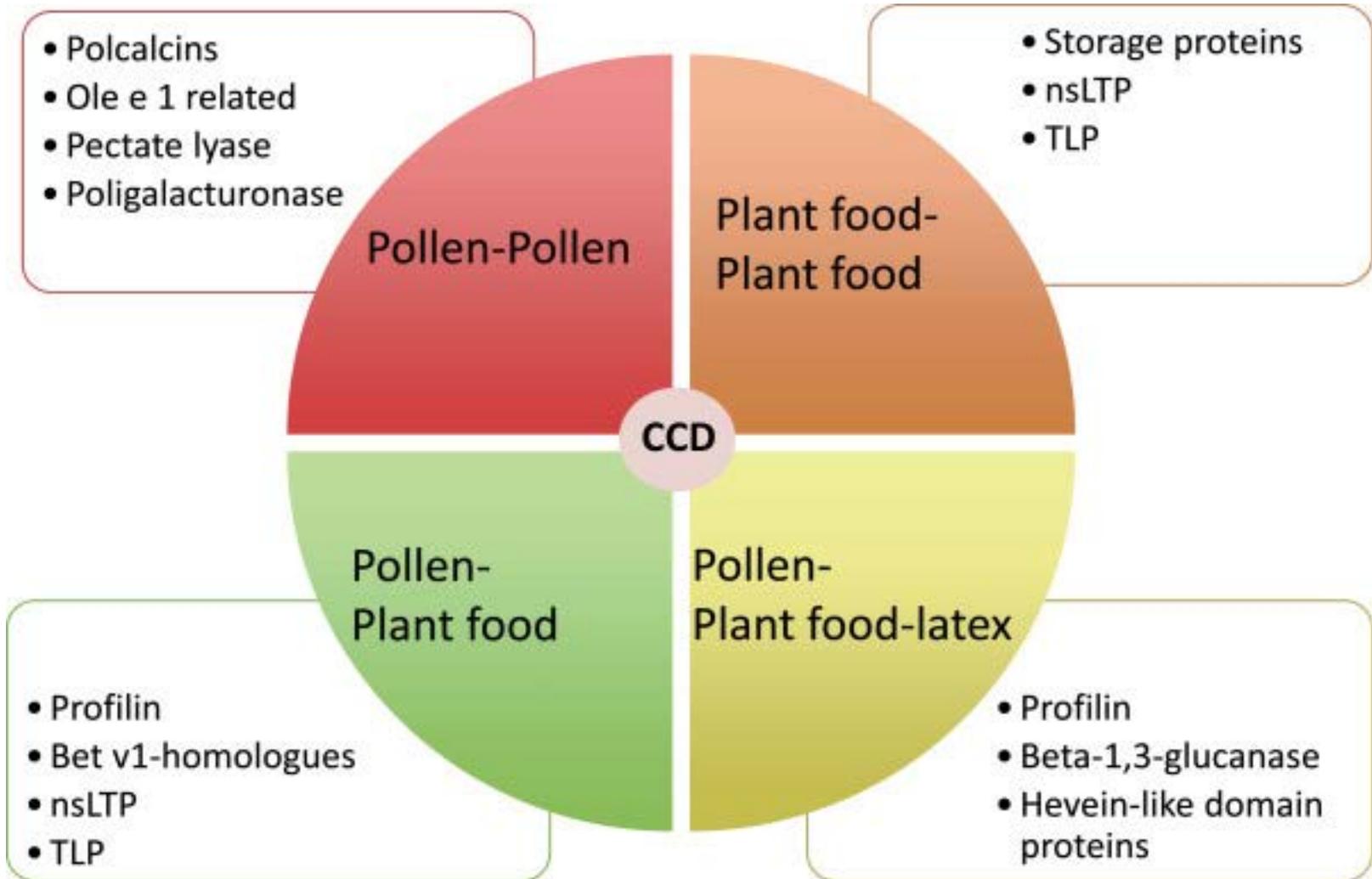


Allergen source

Allergen extract

Specific allergen components

Cross-reactive allergen components

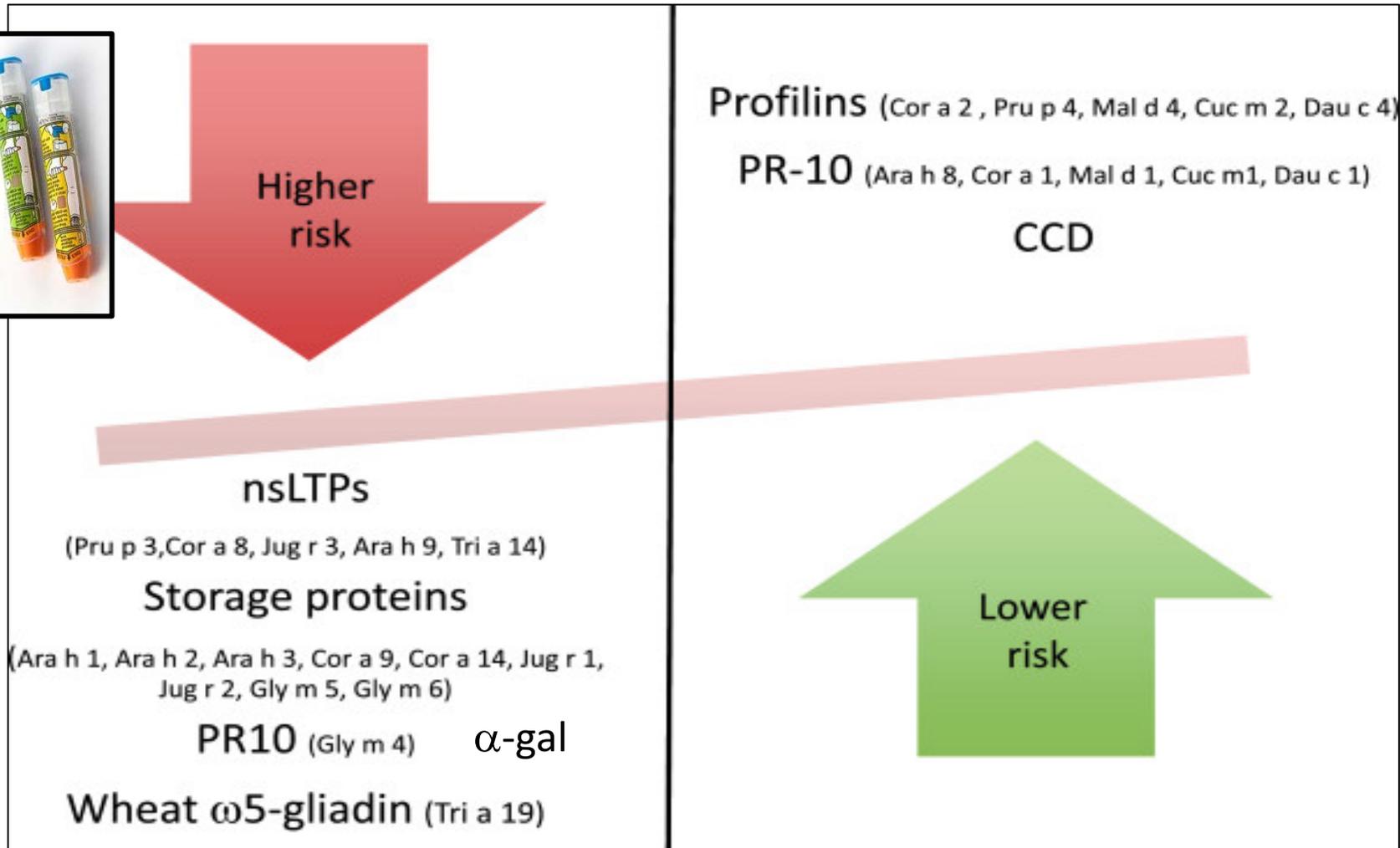
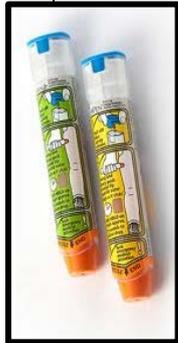


Luengo *O et al.* Component resolved diagnosis: when should it be used? *Clinical and Translational Allergy* 2014, 4:28

Stabilité des protéines: pH/t°

- pH résistant: réaction généralisée (ex: LTP/PS)
- pH labile: syndrome oral (ex: PR-10)
- Thermorésistant: réactions si cuit et cru (ex: LTP/PS)
- Thermolabile: réaction si cru (ex: PR-10)

Profil de risque



PR-10

- Allergène thermolabile et pH-labile
- Patients allergiques au bouleau ayant un SAO:

- ✓ Noisette 46%
- ✓ Pomme 39%
- ✓ Pêche 24%
- ✓ Cerise 22%
- ✓ Poire 20%
- ✓ Amande 19%
- ✓ Carotte 13%
- ✓ Arachide 10%
- ✓ Fraise 10%

PR-10

Bet v 1

Pru p 1

Gly m 4

Ara h 8

Api g 1.01

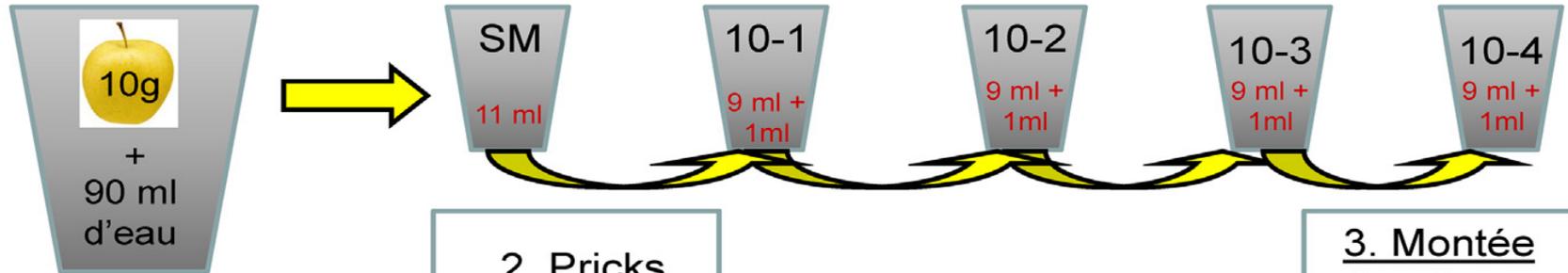
Cor a 1

Mal d 1

Dau c 1

Initialisation du protocole d'induction de tolérance à la pomme

1. Préparation des dilutions

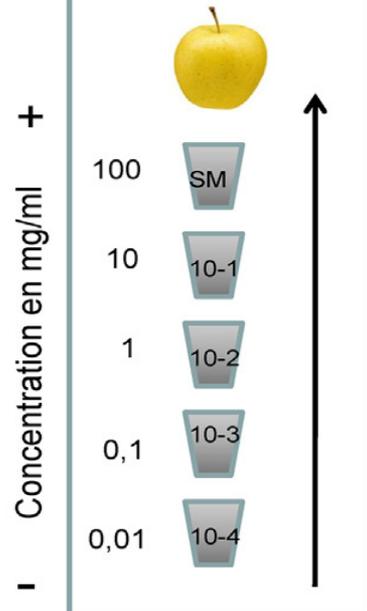


Préparation de la solution mère (SM) (aliment natif avec la peau)



2. Pricks

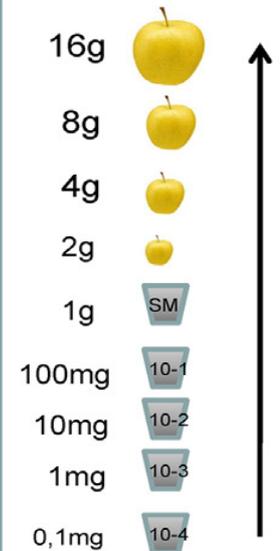
Tous en même temps



hôpital de jour ou cabinet de ville

3. Montée des doses

Quantité de pomme prise



Bouvier M *et al.* Induction of oral tolerance in allergy to *Rosaceae*. *Revue Fr All* 2014; 54:127

Bolhaar S *et al.* Efficacy of birch-pollen immunotherapy on cross-reactive food allergy confirmed by skin tests and double-blind food challenges. *Clinical & Exp Allergy* 2004;34:761

Cas particulier Gly m 4

- Allergène PR-10
pouvant occasionner
des réactions graves



PR-10

Bet v 1

Pru p 1

Gly m 4

Ara h 8

Api g 1.01

Cor a 1

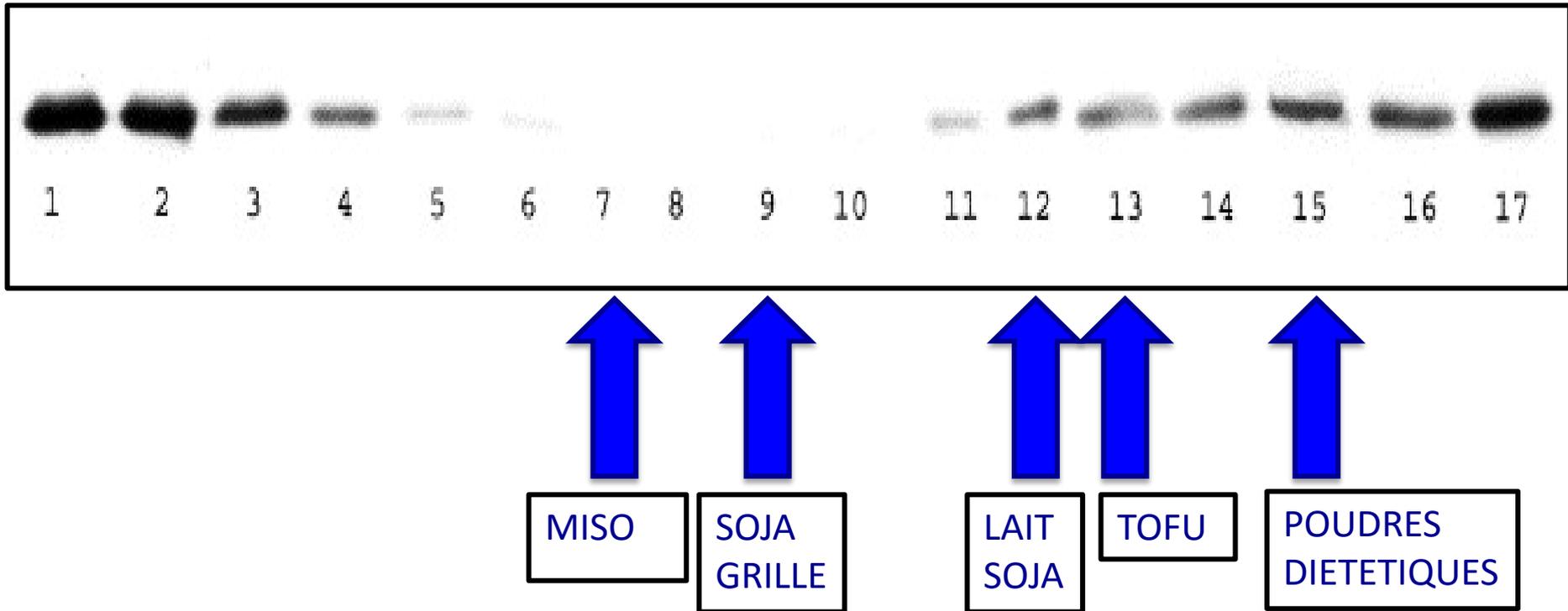
Mal d 1

Dau c 1

Kosma P *et al.* Severe reactions after the intake of soy drink in birch pollen-allergic children sensitized to Gly m 4. *Acta Paediatr* 2011;100:305

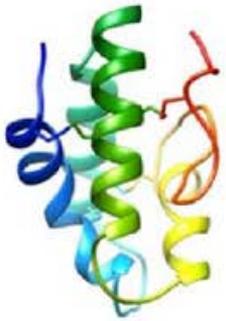
Cas particulier Gly m 4

rGly m 4 standards (50, 25, 10, 5, 2, and 1 ng/cm)



Mittag D *et al.* Soybean allergy in patients allergic to birch pollen : Clinical investigation and molecular characterization of allergens. JACI 2004;113:148

LTP



LTP:s

Pru p 3

Par j 2

Cor a 8

Ara h 9*

Jug r 3*

Art v 3*



LTP

- LTPs ont des propriétés de défense contre les microorganismes et les stress (t°, salinité)
- Concentration plus élevée dans l'enveloppe pour la pomme et la pêche (vs identique pour la prune et l'abricot)
- AA aux LTP peuvent être soit des sensibilisations primaires soit un syndrome pollens-AA

LTP

PNEUMALLERGÈNES

- Armoise **Art v 3**
- Pariétaire Par j 2
- Platane Pla a 3
- Olivier Ole e 7
- Ambroisie Amb a 6
- Cannabis **Can s 3**

ALLERGÈNES DE CONTACT

- Cotoneaster Cot l 3 ,Latex Hev b 12

ROSACÉES

- Pêche **Pru p 3**
- Pomme **Mal d 3**
- Prune Pru d 3
- Poire Pyr c 3
- Cerise Pru av 3
- Abricot Pru ar 3

FRUITS À COQUES

- Noisette **Cor a 8**
- Noix Jug r 3
- Amande Pru du 3
- Arachide **Ara h 9**
- Sésame Ses i LTP
- Blé **Tri a 14**
- Riz Orys 14
- Maïs **Zea m 14**
- Orge Hor v 14

AUTRES:

- Kiwi vert Act d 10
- Grenade Pun g 3
- Citron Cit l 3
- Orange **Cit s 3**
- Tomate Lyc e 3
- Raisin Vit v 1
- Laitue Lac s 1

45 à 65 % de séquence d'aa homologue entre LTP → réactions croisées fréquentes. Présente dans les fruits à noyaux et à pépins, mais aussi dans les graines (blé, orge) et les feuilles (laitue)

LTP: Sensibilisation asymptomatique

- 130 enfants du NE Espagne avec anaphylaxie alimentaire
- Sensibilisation LTP asymptomatique:
 - 69% (40/58) tolérants à la pêche avaient + rPru p 3
 - 63% (17/27) tolérants à la noix avaient + nJug r 3
- 60% de sensibilisation asymptomatique aux protéines de stockage
- Les IgE spécifiques aux LTPs et/ou aux protéines de stockage n'étaient pas toujours utiles pour prédire une sensibilisation d'une allergie vraie pour la pêche, la noix, l'arachide ou la noisette

LTP en zone non-méditerranéenne

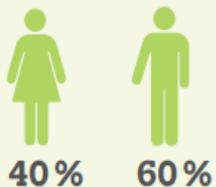
- 72 patients du Nord de l'Espagne
- Pêche 69%, noix 55%, arachide 54% et noisette 43%.
- Allergie en moyenne à 6 aliments
- 36% sensibilisés à l'armoise (72% + Art v 3), 33% aux graminées et 24% au platane (94% + Pla a 3).
- Etudes de double inhibition: Pru p 3 semble être le facteur induisant la sensibilisation



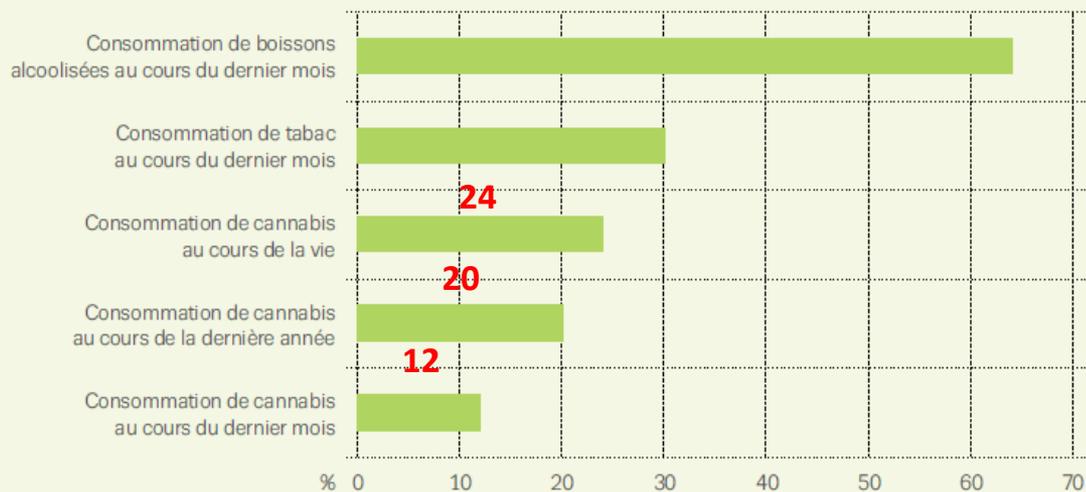
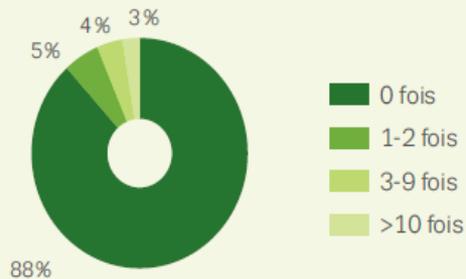
European Monitoring Centre
for Drugs and Drug Addiction

CONSOMMATION DE SUBSTANCES PAR LES ADOLESCENTS SCOLARISÉS DE 15 ET 16 ANS (ESPAD, 2011)

Consommateurs de cannabis au cours du
dernier mois par sexe



Fréquence de la consommation de
cannabis au cours du dernier mois (%)



LTP et cannabis

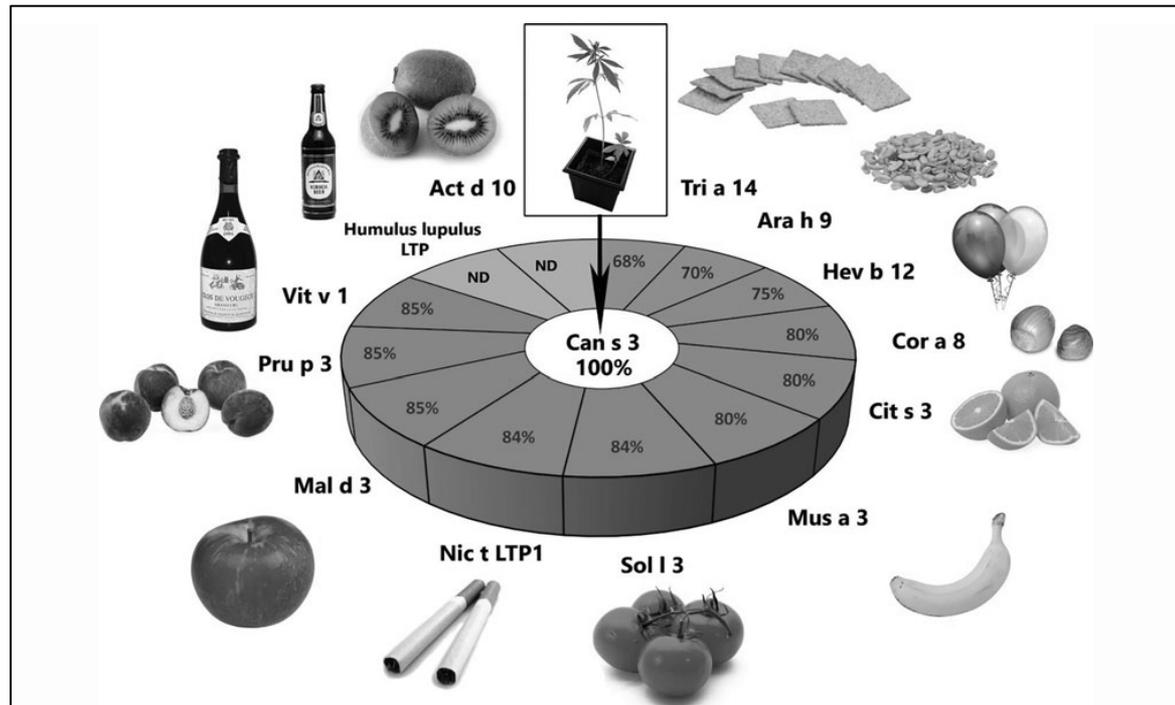
- Sensibilisation au rCan s 3 induit des sensibilisations à rPru p 3: 60% d'homologie
- Epidémie de cas d'AA sévère aux LTP chez des patients du Nord de l'Europe
- Pas forcément d'allergie associée au cannabis

Rihs *et al.* A recombinant lipid transfer protein from Cannabis sativa: IgE-binding properties in patients with symptoms to Cannabis. *Clinical and Translational Allergy* 2014;57

Decuyper I *et al.* Cannabis sativa allergy: looking through the fog. *Allergy* 2016 in press

Table 1 (Putative) *Cannabis sativa* allergens

Molecular weight (kDa)	Allergen	Function	Homologues (not exhaustive)	References
9	Can s 3	Ns-LTP (PR-14)	Pru p 3, Mal d 3, Cor a 8, Hev b 12, Ara h 9, Tri a 14, Jug r 3, Art v 3	(8, 10, 24, 27, 29, 30, 32–34)
14	Profilin (?)	Cytoskeleton	Bet v 2, Phl p 12	(30)
23	Oxygen-evolving enhancer protein	Photosynthesis		(31)
38	TLP (thaumatin-like)	PR-5	Act d 2, Mal d 2, Mus a 4, Pru av 2, Cup a 3	(10)
50	Can s RuBisCo	Photosynthesis		(31)



LTP

- Si > 5 LTP positifs: risque de réactions plus sévères
- Co-sensibilisations PR-10: SAO plus fréquent
- Les extraits pour ITS armoise et platane contiennent Art v 3 et Pla a 3: inhibition des sera de patients allergiques → effet sur les allergies alimentaires croisées LTP à définir.

LTP: résumé



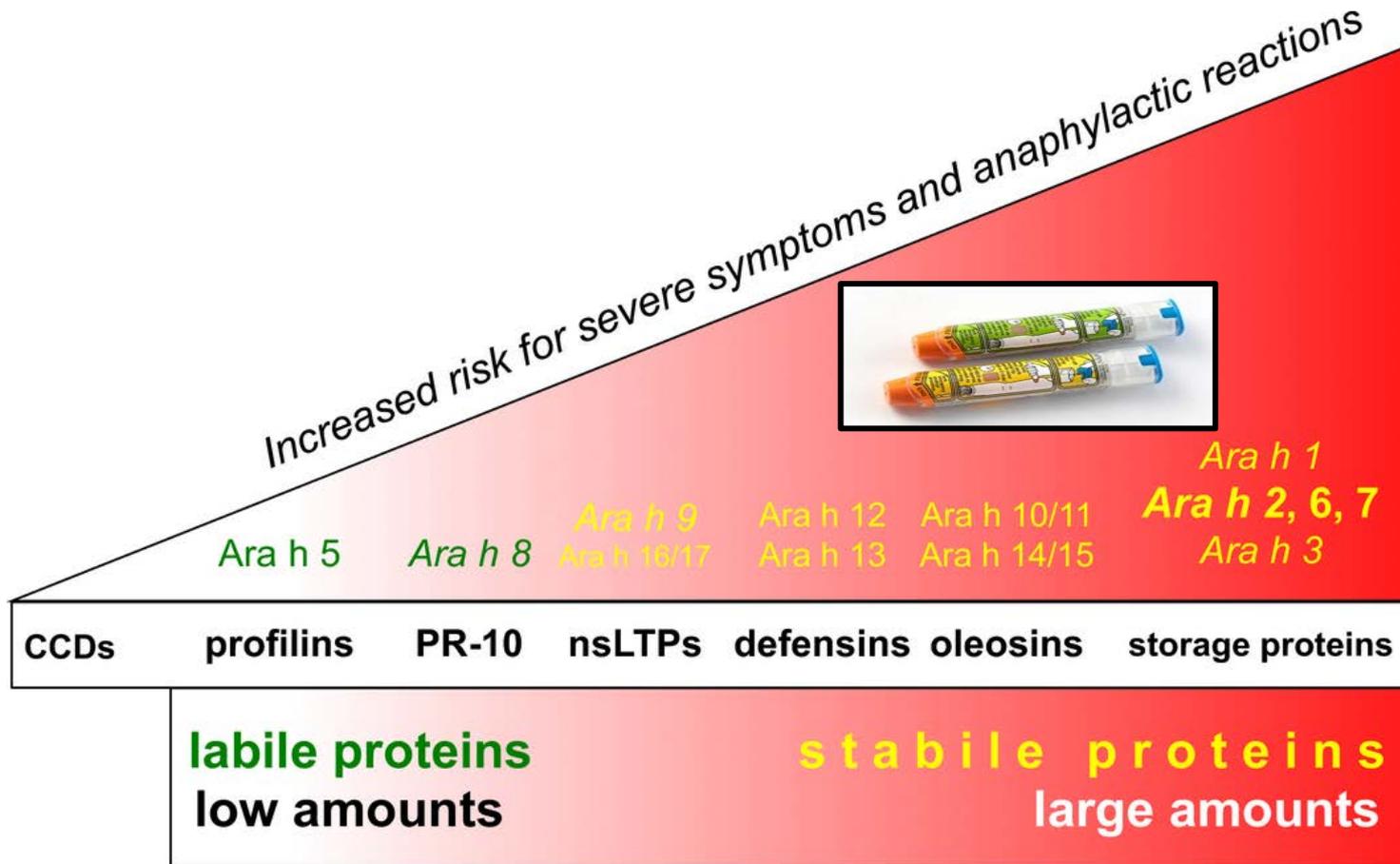
- Patient issu du bassin méditerranéen
- Si Nord de l'Europe: contact cutané professionnel, cannabis?
- Pas d'allergie pollinique retrouvée ou allergie isolée à l'armoise, pariétaire, olivier ou platane
- Co-facteurs dans 1/3 cas (AINS, effort, alcool)
- Symptômes anaphylactiques et tests positifs à des aliments « inhabituels »
- Attention aux co-sensibilisations
- AIA et éviction, maintien de ce qui est toléré

Protéines de stockage

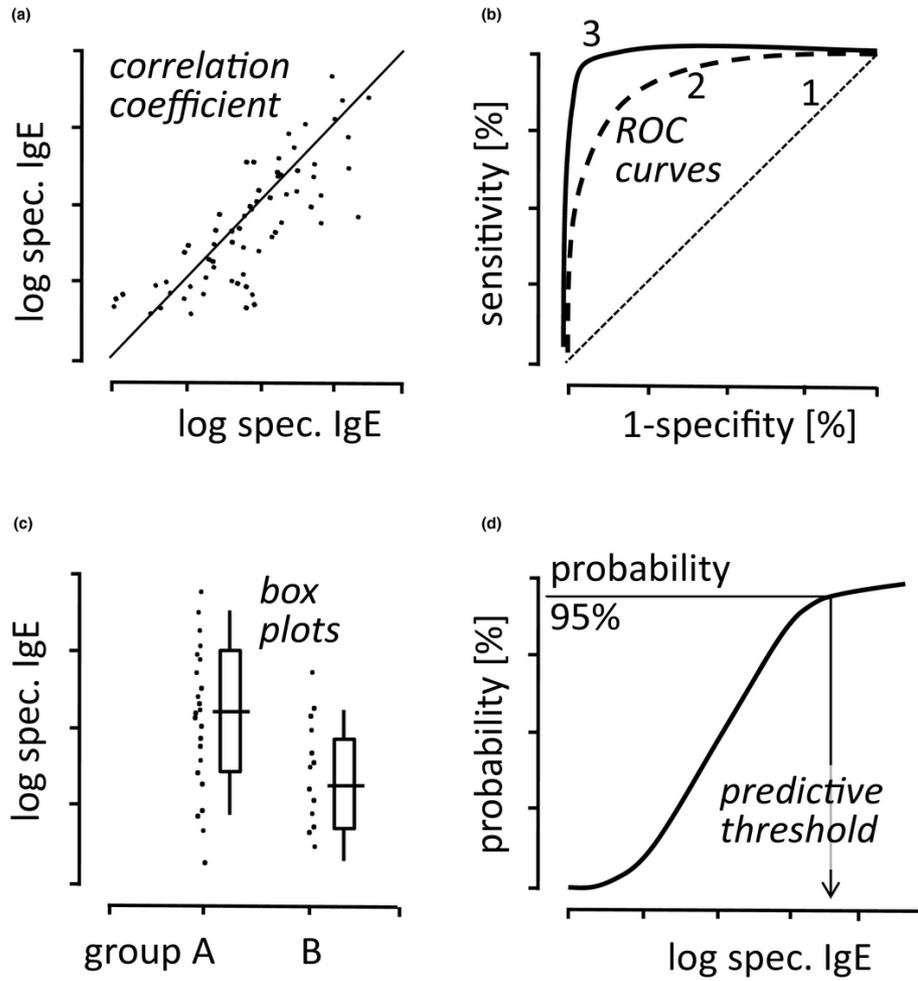
Arachide	Ara h 1 Ara h 2 Ara h 3 Ara h 6 (ISAC)	7S globuline 2S albumine 11S globuline 2S albumine
Noisette	Cor a 9 Cor a 14	11S globuline 2S albumine
Noix	Jug r 1	7S globuline
Noix du Brésil	Ber e 1	2S albumine
Noix de cajou	Ana o 3	11S globuline
Soja	Gly m 5 Gly m 6	7S globuline 11S globuline

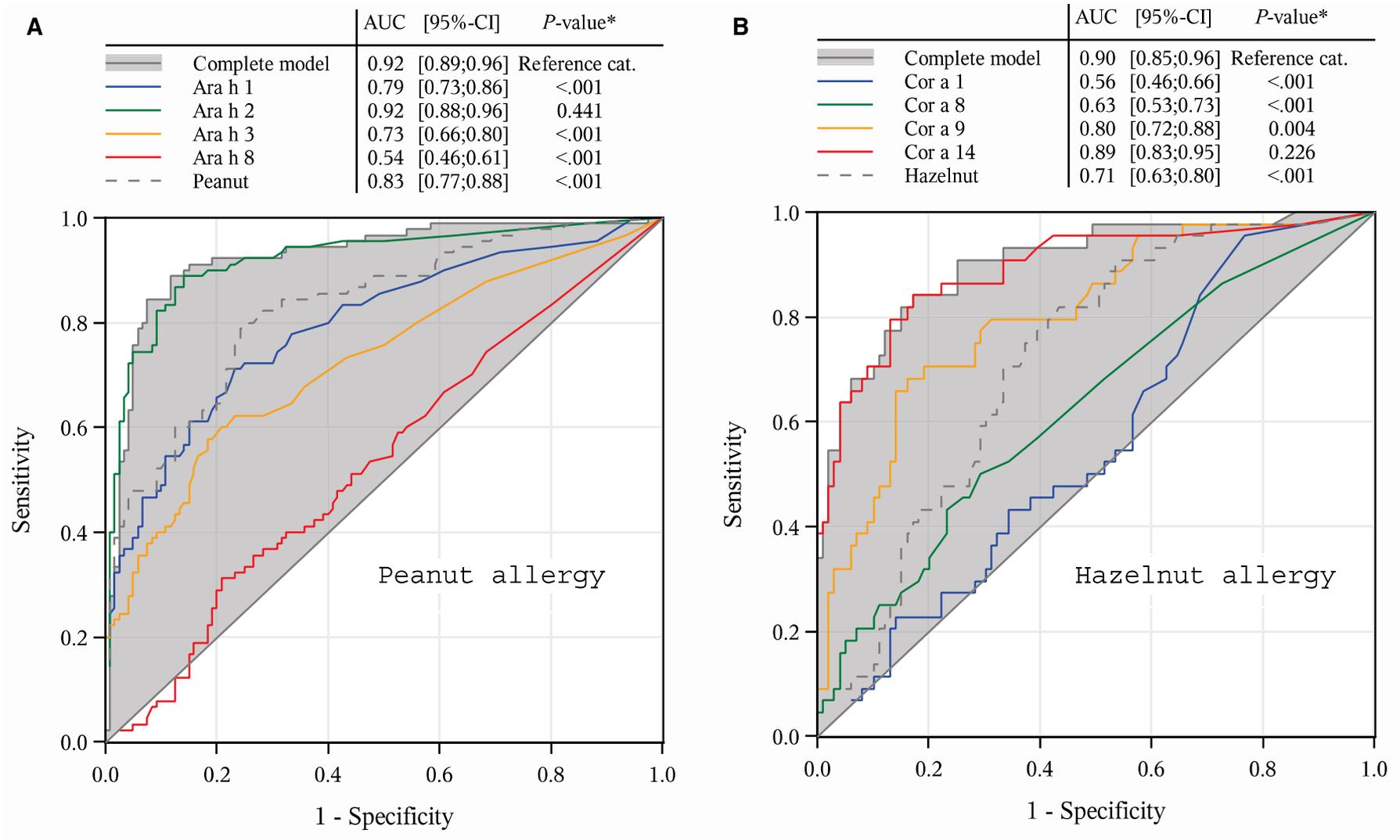
	MW (kD)	Allergen	Lab test
Ara h 1	64	Storage Protein (Vicilin)	ImmunoCAP
Ara h 2	17	Storage Protein (Conglutin)	ImmunoCAP
Ara h 3	60	Storage Protein (Glycinin) homology with Ara h 4	ImmunoCAP
Ara h 4	37	Storage Protein (Glycinin) homology with Ara h 3	
Ara h 5	15	Profilin, highly cross-reacting, low risk	
Ara h 6	15	Storage Protein (Conglutin) Similar to Ara h 2	ISAC
Ara h 7	15	Conglutin. Homology with Ara h 2	
Ara h 8	17	PR-10, Cross-reactive with birch Bet v1. Regional differences	ImmunoCAP
Ara h 9	9,8	Lipid Transfer Protein (LTP), high risk. Regional difference	ImmunoCAP
Ara h 10	16	16 kD Oleosin	
Ara h 11	14	14 kD Oleosin	
Ara h 12,13	12,10	defensins	

Profil de risque



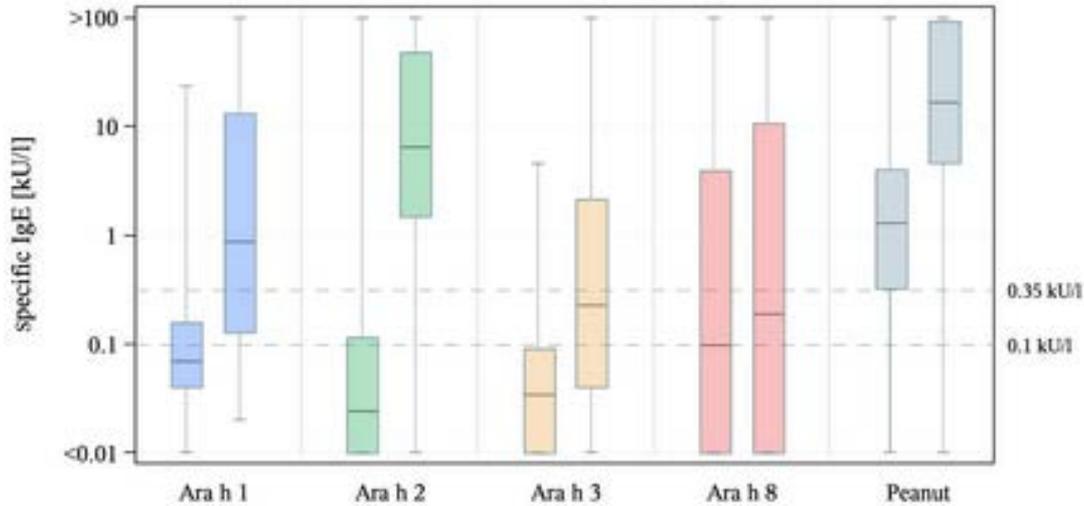
Courbes ROC





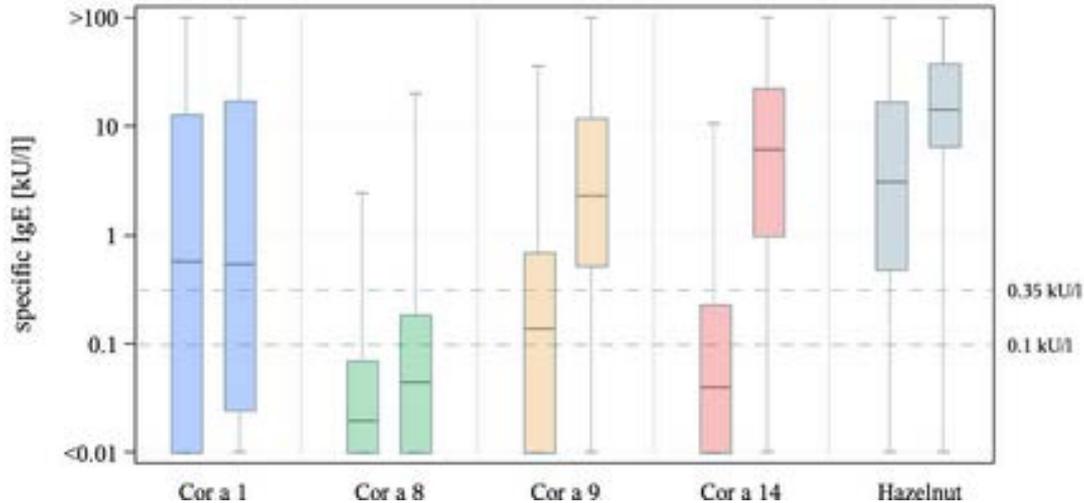
Beyer K *et al.* Predictive values of component-specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy* 2015; 70: 90

Food challenge	neg		pos		neg		pos		neg		pos	
n	120	90	120	90	120	90	120	90	120	90	120	90
Q3 [kU/l]	0.2	13.4	0.1	47.5	<0.1	2.1	3.9	10.6	4.0	91.9		
Median [kU/l]	<0.1	0.9	<0.1	6.5	<0.1	0.2	0.1	0.2	1.3	16.7		
Q1 [kU/l]	<0.1	0.1	<0.1	1.5	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.3	4.6		



- Extrait global arachide (f13) et rAra h 2 utiles pour éviter des TPO
- Cor a 14 (et 9) utiles pour la noisette

Food challenge	neg		pos		neg		pos		neg		pos	
n	99	44	99	44	99	44	99	44	99	44	99	44
Q3 [kU/l]	12.6	17.0	<0.1	0.2	0.7	12.0	0.2	22.2	16.8	38.1		
Median [kU/l]	0.6	0.5	<0.1	<0.1	0.1	2.3	<0.1	6.2	3.1	14.1		
Q1 [kU/l]	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.5	<0.1	1.0	0.5	6.5		



Masthoff L *et al.* JACI 2013, 132: 393

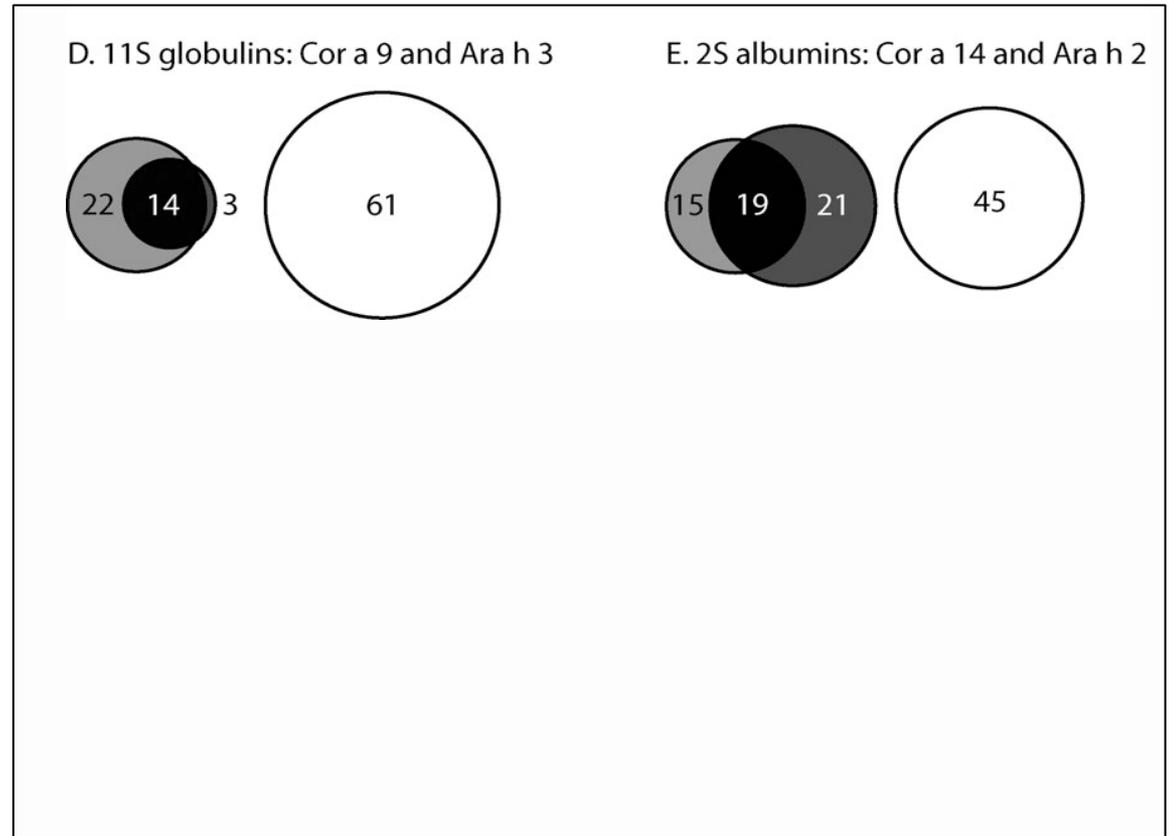
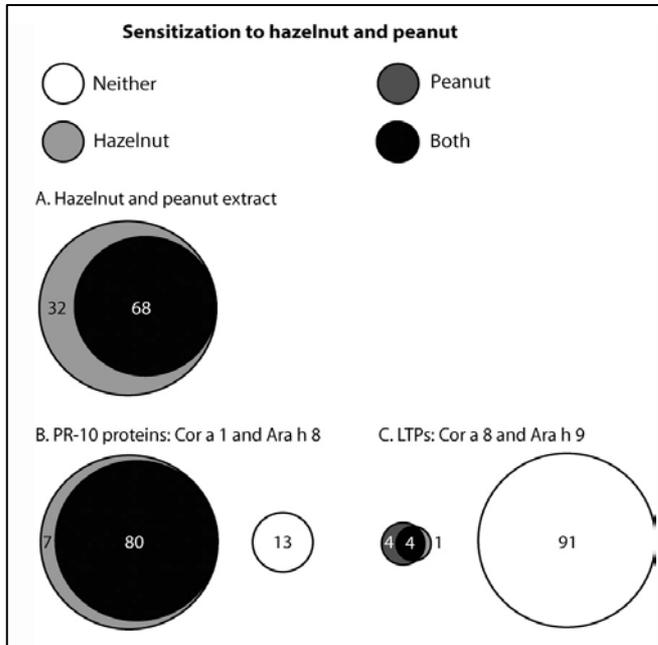
Beyer K *et al.* Allergy 2015; 70: 90

Performance diagnostique des AR

	Seuil KU/l	Se%	Sp%	VVP%	VPN%
f17	0,35	98	21	36	97
Cor a 14	0,35	85	81	64	91
f13	0,35	95	26	50	91
Ara h 2	0,35	86	86	80	88

Beyer K *et al.* Predictive values of component-specific IgE for the outcome of peanut and hazelnut food challenges in children. *Allergy* 2015; 70: 90–98.

Explication des co-sensibilisations



Masthoff LJ *et al.* Peanut allergy is common among hazelnut-sensitized subjects but is not primarily the result of IgE cross-reactivity. *Allergy* 2015; 70: 265

ITO arachide

- Extraits crus versus farine d'arachides grillées: spectrométrie de masse avec AR
- Ara h 1 and Ara h 3: abondantes, diminution dans la farine
- Ara h 2 and 6: moins abondants, pas de modification dans la farine
- Ara h 8 et Ara h 9: peu abondantes
- Ara h 10 and 11, modérément abondants dans l'extrait cru et 100-X moins abondants dans la farine que Ara h 1, 3, 2, et 6.

Autres allergènes

- Lait de vache
- Œuf
- Blé
- α -gal

ImmunoCAP®
COMPLETE EXTRACT



Milk (f2)



ImmunoCAP®
COMPONENTS



Bos d 4 (f76) Bos d 5 (f77) Bos d 6 (e204) Bos d 8 (f78) Bos d lactoferrin (f334)



Bos d 4,
 α -lactalbumin

- Risk for reactions to fresh milk
- IgE levels fall as tolerance develops
- Heat labile protein

iCAP

Bos d 5,
 β -lactoglobulin

- Risk for reactions to fresh milk
- IgE levels fall as tolerance develops
- Heat labile protein

iCAP

Bos d 6,
BSA

- Risk for reactions to fresh milk
- The main allergen in beef
- Heat labile protein

ISAC

Bos d 8,
Casein

- Risk for reactions to all forms of milk
- High levels are connected with persistent milk allergy
- IgE levels fall as tolerance develops
- Stable to heat and digestion

iCAP

Bos d lactoferrin

- Risk for reactions to fresh milk
- Heat labile protein

iCAP

ImmunoCAP®
COMPLETE EXTRACTS



Egg white (f1)

Egg yolk
(f75)

ImmunoCAP®
COMPONENTS



Gal d 1 + Gal d 2 + Gal d 3 + Gal d 4
(f233) (f232) (f323) (k208)

Further investigation:
chicken meat f83 (Suggestive
of egg-bird syndrome)



Gal d 1, Ovomucoid

- Heat-stable and highly allergenic
- Risk for reaction to all forms of egg
- High levels indicate persistent allergy

iCAP

Gal d 2, Ovalbumin

- Heat-labile
- Most abundant egg white protein
- Risk for clinical reaction to raw or slightly heated egg and certain vaccines

iCAP

Gal d 3, Conalbumin

- Heat-labile
- Adds information on the complete egg sensitization profile
- Risk for clinical reaction to raw or slightly heated egg

iCAP

Gal d 4, Lysozyme

- Risk for clinical reaction to raw or slightly heated egg
- Lysozyme is used as an additive in certain pharmaceutical products and foods

iCAP

**Gal d 5 ,
serum
albumin
ISAC**

Performance diagnostique des AR pour l'oeuf

- 99 enfants, âge moyen 3 ans suivis sur 26 mois, avec TPO séquentiels à l'œuf cru
- 27% sont devenus tolérants endéans 2 ans
- $f1 < 6,22$ kU/l et/ou Gal d 1 $< 5,86$ kU/l: tolérance
- Si augmentation des taux d'ovomucoïde dans l'année: persistance

Performance diagnostique des AR pour l'œuf en pédiatrie

	Seuil (kU/l)		Sens %	Spec %
f1	1,23	2,82	80	77
Gal d 1	1,01	2,26	67	87
Gal d 2	0,61	3,88	87	65
Gal d 3	0,09		66	87
Lysozyme	0,06		80	45

Gradman J et al. Relationship between specific IgE to egg components and natural history of egg allergy in Danish children. *Pediatr Allergy Immunol* 2016 in press

[Ando H et al. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:58](#)

Performance diagnostique des AR pour l'œuf en pédiatrie

Challenge food	Raw egg white (groups A+B vs group C)			Heated egg white (group A vs groups B+C)		
	Egg white (f1)	Ovalbumin (f232)	Ovomucoid (f233)	Egg white (f1)	Ovalbumin (f232)	Ovomucoid (f233)
Assay cutoff point*						
Specific IgE concentration (kU _A /L)	0.36	0.37	0.37	0.36	0.37	0.37
Sensitivity, specificity	97%, 29%	97%, 32%	87%, 41%	100%, 20%	100%, 21%	97%, 36%
PPV, NPV	69%, 86%	70%, 87%	71%, 65%	40%, 100%	41%, 100%	45%, 96%
Optimal cutoff point†						
Specific IgE concentration (kU _A /L)	2.82	3.88	2.26	7.38	6.33	4.40
Sensitivity, specificity	81%, 85%	76%, 83%	73%, 83%	66%, 79%	74%, 73%	76%, 81%
PPV, NPV	90%, 73%	88%, 68%	88%, 65%	62%, 81%	60%, 84%	69%, 86%
Positive decision point						
Specific IgE concentration (kU _A /L)	 7.38	9.84	5.21	30.70	29.30	 10.80
Sensitivity, specificity	57%, 95%	58%, 95%	52%, 95%	42%, 96%	47%, 96%	55%, 96%
PPV, NPV	95%, 57%	95%, 58%	95%, 55%	84%, 75%	86%, 77%	88%, 80%
Negative decision point						
Specific IgE concentration (kU _A /L)	 0.60	0.79	ND	0.85	1.17	 1.16
Sensitivity, specificity	96%, 39%	96%, 46%	ND	97%, 36%	97%, 36%	97%, 53%
PPV, NPV	72%, 84%	74%, 86%	ND	45%, 96%	45%, 96%	53%, 97%

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

Allergie au blé

Protéines du blé:

1/ albumines et globulines (hydrophiles)

→ associées à l'allergie au blé ou à l'asthme du boulanger

2/ gliadines et gluténines (hydrophobes) dont

l' ω -5 gliadine → associées à l'AIE au blé (wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis, WDEIA)

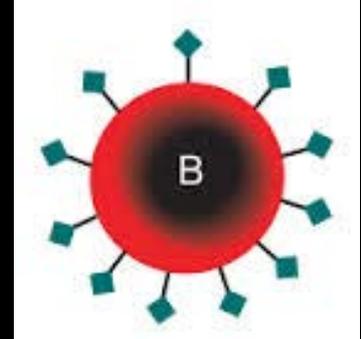
Allergie au blé

- **Tri a 19 (ω -5 gliadine)**, est un allergène majeur du blé, responsable du WDEIA et de réactions immédiates au blé chez l'enfant

	WDEIA (% sensibilité)	WDEIA (%spécificité)	Isolats de blé (%sensibilité)
Blé	35	50	70
Gluten	37	89	76
R Tri a 19	81	100	6,6
MHW GS	16	92	5



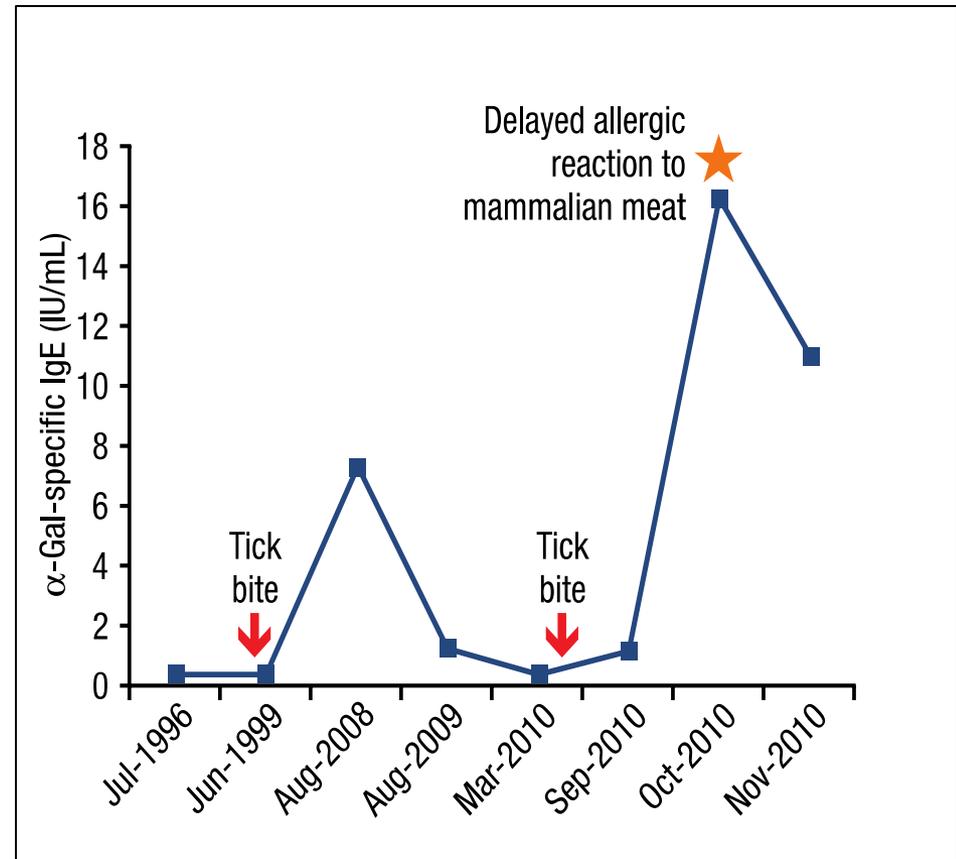
galactose- α 1,3-
galactose.



To add a picture right click and
Format Picture > Fill >
Picture or Texture Fill

α -gal

- Symptômes sévères, différés, à la viande de mammifères
- Réactions croisées avec gélatines et Cetuximab
- Après morsure de tiques
- Cofacteurs: alcool, AINS, effort
- TCA et IgE souvent négatifs
- Groupe B protégé



Steinke J *et al.* The alpha-gal story: Lessons learned from connecting the dots. J Allergy Clin Immunol 2015;135:589

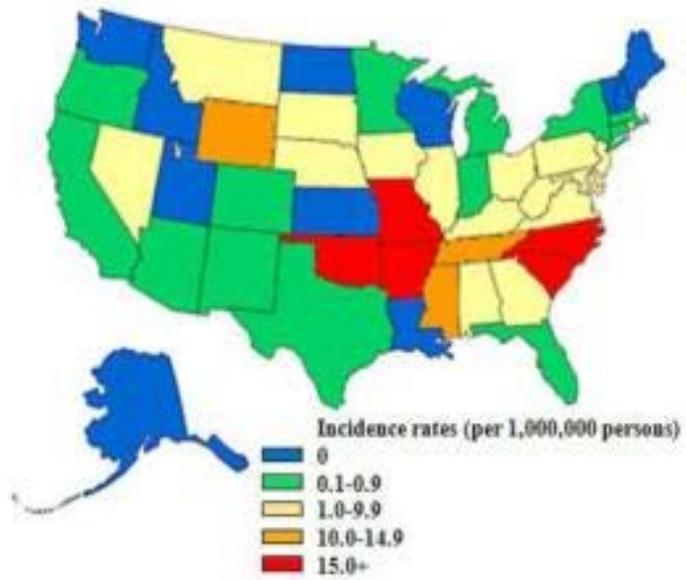
A



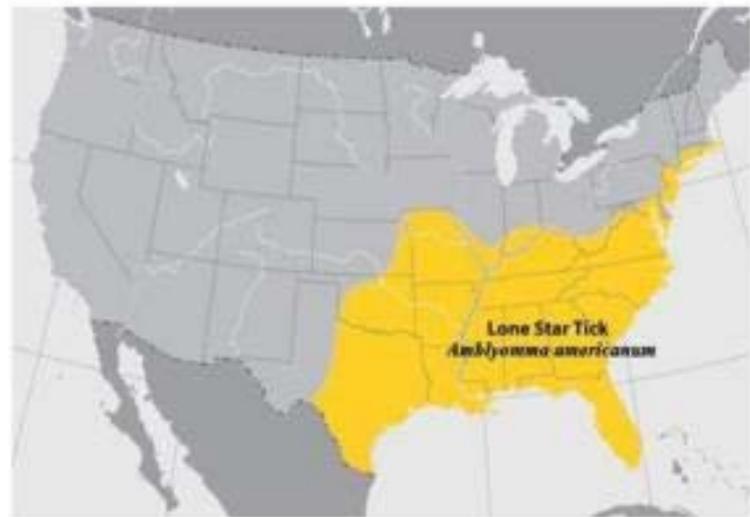
C



B



D



ImmunoCAP ISAC

- Résultats semi-quantitatifs
- 112 allergènes

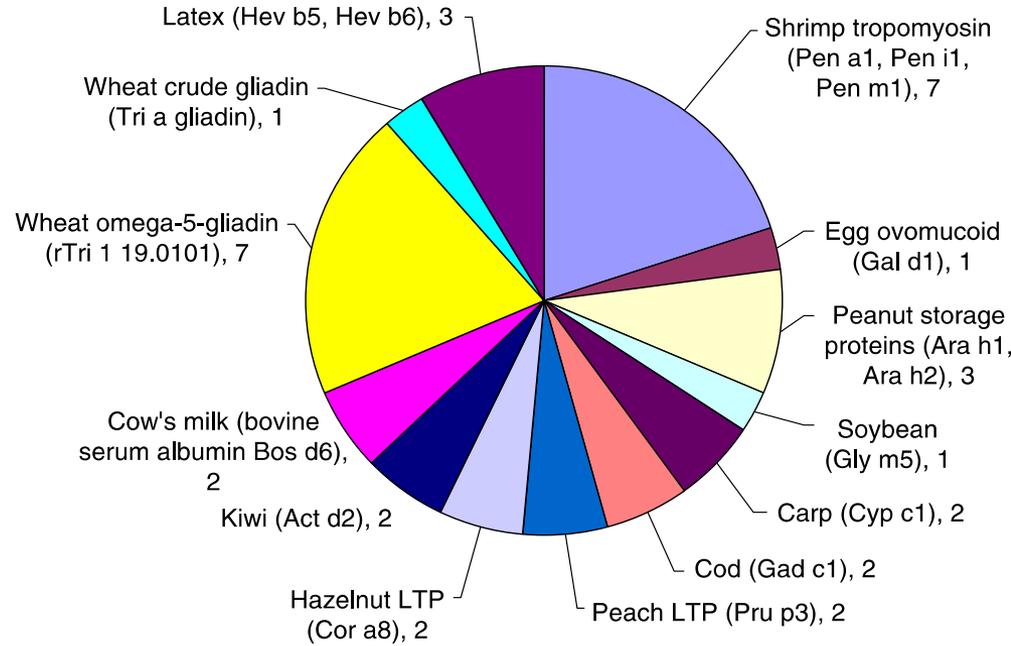
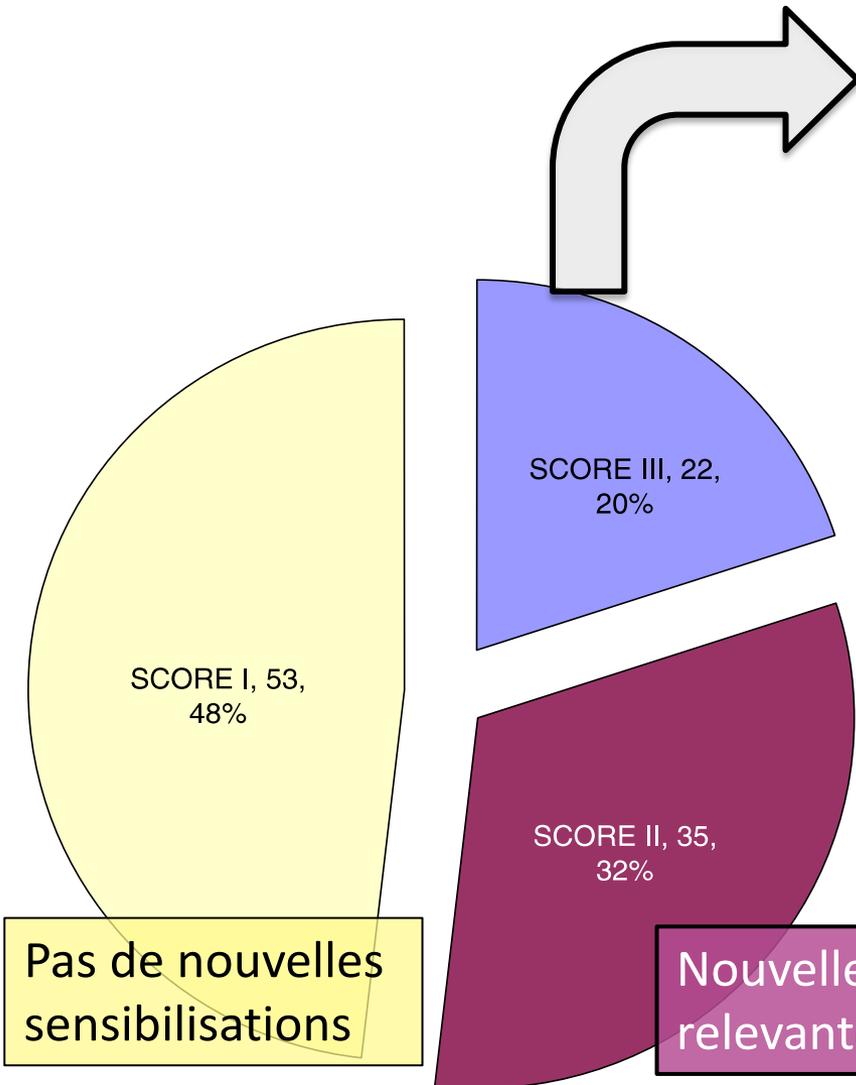


Patelis A *et al.* Multiplex component-based allergen microarray in recent clinical studies. *Clinical and experimental Allergy* 2016; 46:1022

Indications de l'ISAC en AA

- Anaphylaxie idiopathique
- Profil complexe
- Profils + détaillés pour certains allergènes:
Arachide: Ara h 6, Noix: Jug r 2
Sésame: Ses i 1, Sarrazin: Fag e 2
Kiwi: Act d 2,5,8, Crevette: Pen m 2,4
- Etudes épidémiologiques

Nouvelles sensibilisations détectées: 20%



Illustrations cliniques

Cas clinique 1

- F 21 ans, rhinoconjonctivite saisonnière en mars et avril depuis plusieurs années
- Prurit buccal, œdème lingual, labial sans symptômes systémiques avec pommes, cerises, pêches, noisettes
- Tests cutanés + bouleau 15 mm
- Labo: + rBet v 1 , rMal d 1

Question 1

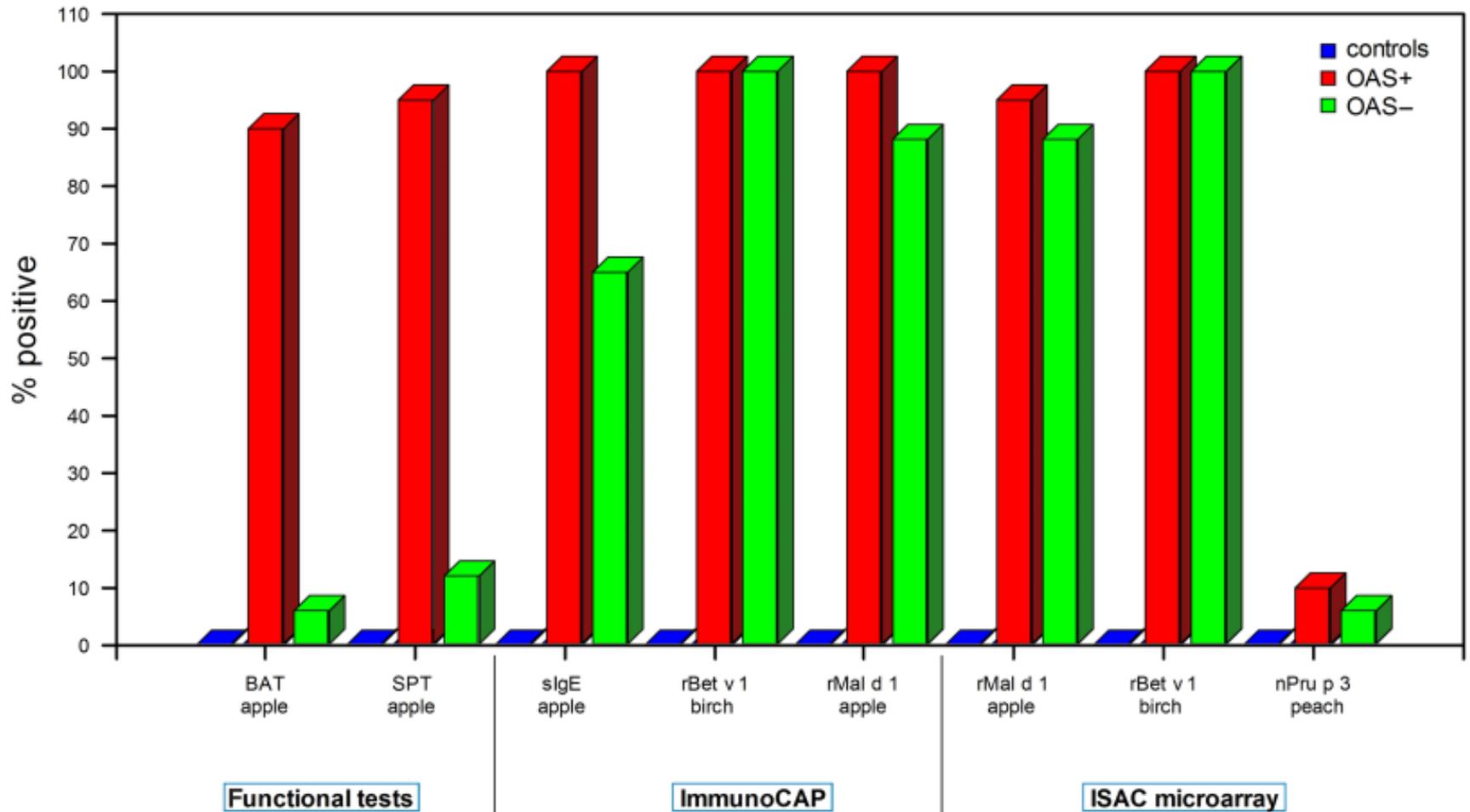
Quels allergènes recombinants doseriez vous avant une ITS à la pomme?

- A. r Mal d 1
- B. r Mal d 3
- C. r Mal d 1 et r Mal d 3
- D. Aucun

Réponse 1

Quels allergènes recombinants doseriez vous avant une ITS à la pomme?

- A. r Mal d 1
- B. r Mal d 3
- C. r Mal d 1 et r Mal d 3**
- D. Aucun



Ebo D *et al.* Sensitization profiles in birch pollen-allergic patients with and without oral allergy syndrome to apple: lessons from multiplexed component-resolved allergy diagnosis. *Clinical & Experimental Allergy* 2010;40:339

Cas clinique 2

- H 22 ans, travail de bureau, sicilien, séjournant en Belgique depuis l'âge de 12 ans
- 1^{er} épisode d'anaphylaxie. 1 bol de cerises rouges → douleurs abdominales, nausées, vomissements, diarrhées, malaise sans perte de connaissance, dyspnée. Résolution des symptômes après 1 h (cetirizine)
- Rhinite perannuelle intermittente
- Sd de Lessof avec pomme, pêche, noisette

Question 2

Quelles autres questions poseriez vous?

- A. Etes vous migraineux?
- B. Etes vous épileptique?
- C. Consommez vous du tabac ou autre chose que du tabac?
- D. Vos parents ont ils un verger en Sicile?
- E. Aviez vous consommé de l'alcool ou fait un effort avant la réaction?

Question 2

Quelles autres questions poseriez vous?

- A. Etes vous migraineux?
- B. Etes vous épileptique?
- C. Consommez vous du tabac ou autre chose que du tabac?
- D. Vos parents ont ils un verger en Sicile?
- E. Aviez vous consommé de l'alcool ou fait un effort avant la réaction?

Cas clinique 2

- Consomme occasionnellement du cannabis depuis 5 ans. Pas de plants chez lui
- Participe à la cueillette de pêches et autres fruits du verger de sa famille en Sicile tous les ans.
- Ne prend pas d'AINS
- N'avait pas fait d'effort ou bu de l'alcool avant la réaction

Cas clinique 2

- Pneumallergènes:

DPT, DPF 10 mm

Chien, cobaye 5 mm

Graminées 10 mm, bouleau 20 mm, olivier 15 mm,
armoïse 0 mm

- Trophallergènes en extraits commerciaux:

Abricot, Pêche: 5 mm

Maïs: 10 mm

Arachide: 5 mm, Noix 4 mm

- Cerise en natif: 20 mm, lait de soja natif 4 mm

Cas clinique 2

- rAra h 2 : 0 kU/l
- rAra h 8 : 1,03 kU/l
- rAra h 9 : 1,44 kU/l
- rGly m 4 : 0,44 kU/l
- rPru p 1: 14,2 kU/l
- rPru p 3: 4,77 kU/l

Cas clinique 2

- Anaphylaxie aux cerises via sensibilisation aux LTP de la cerise induite par la consommation de cannabis et la manipulation de pêches
- Cosensibilisation PR-10

CAT

- Eviction cerises, pêches, abricots. Epipen. Stop cannabis. Explication des co-facteurs.
- Vigilance par rapport aux autres rosacées et arachide, maïs, lait de soja

Cas clinique 3

- F 42 ans adressée pour bilan avant vaccination pour la fièvre jaune.
- Allergie sévère aux œufs crus et cuits et aux vapeurs de cuisson: éviction stricte.
- Prick-tests: blanc d'œuf 15 mm, jaune 0 mm
- IgE spécifiques: blanc d'œuf 8,77 kU/l, jaune 0,72 kU/l

Question 3

Quels allergènes recombinants
doseriez vous?

- A. Gal d 1+ Gal 2+ Gal d 3
- B. Gal d 2
- C. Aucun

Question 3

Quels allergènes recombinants
doseriez vous?

- A. Gal d 1+ Gal 2+ Gal d 3
- B. Gal d 2
- C. Aucun

Cas clinique 3

- IgE spécifiques:
 - r Gal d 1: 8,38 kU/l
 - r Gal d 2: 0,57 kU/l
 - r Gal d 3: 2,91 kU/l
- Gélatine, poulet: négatifs
- Prick vaccin 1/10 et IDR 1/100: positifs

Cas clinique 3

Table 1 Yellow fever vaccine administration schedule

American Academy of Pediatrics
schedule

New schedule

Time (minutes)	Dose (ml)	Time (minutes)	Dose (ml)
0	0.05 (1 : 10)	0	0.05 (1 : 1)
30	0.05 (1 : 1)	30	0.15 (1 : 1)
60	0.10 (1 : 1)	60	0.30 (1 : 1)
90	0.15 (1 : 1)		
120	0.20 (1:1)		

Wood RA *et al.* An algorithm for treatment of patients with hypersensitivity reactions after vaccines. *Paediatrics* 2008;122:771

Muñoz-Cano R *et al.* Yellow fever vaccine and egg allergy: really a problem? *Allergy* 2010 ;65:533

Question 4

Quelles informations tirez vous de ces dosages?

- A. Elle reste surement allergique à l'œuf cru et cuit
- B. Elle reste probablement allergique à l'œuf cru et cuit
- C. Elle n'est allergique qu'à l'œuf cru

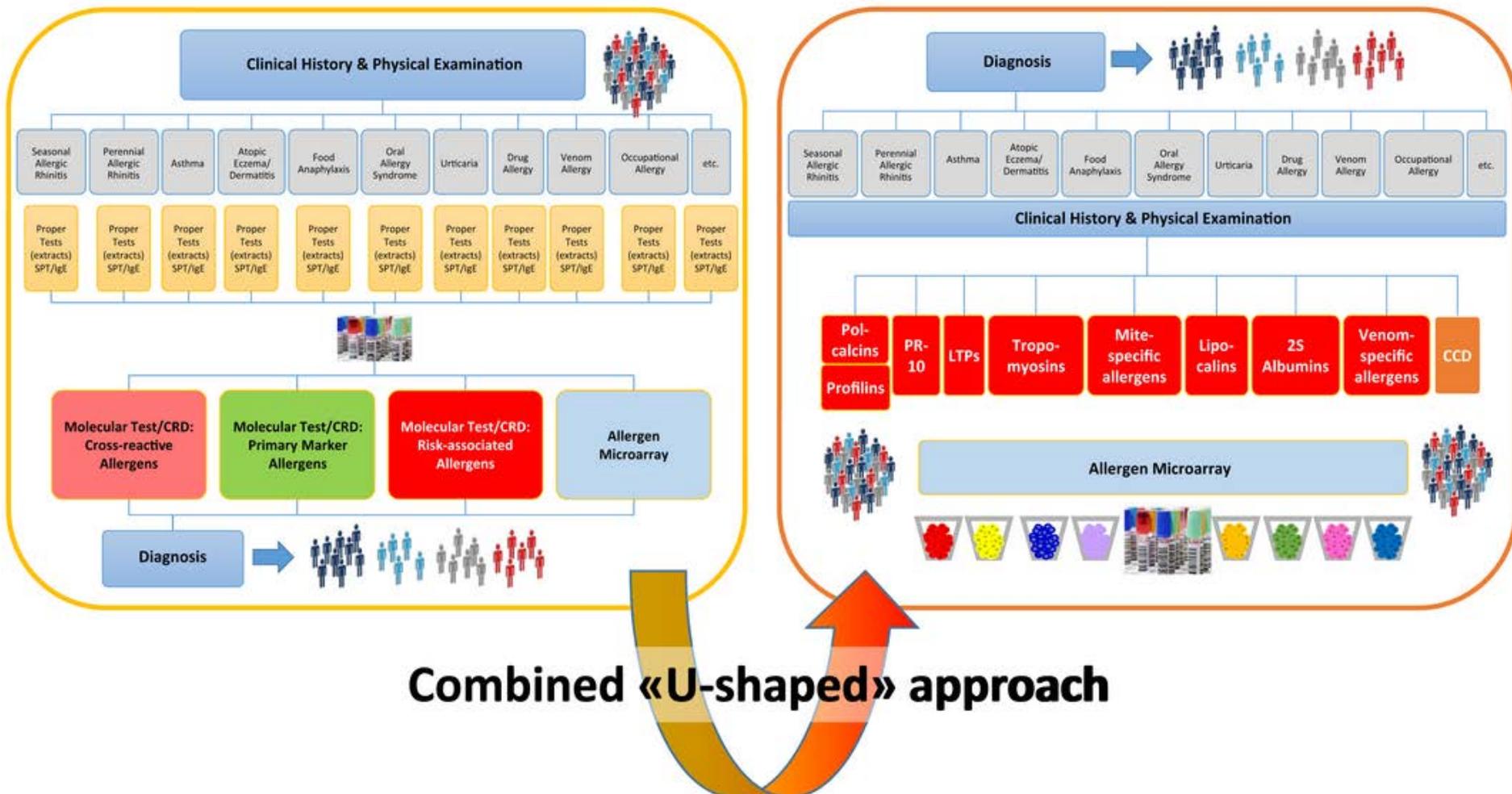
Question 4

Quelles informations tirez vous de ces dosages?

- A. Elle reste surement allergique à l'œuf cru et cuit
- B. Elle reste probablement allergique à l'œuf cru et cuit**
- C. Elle n'est allergique qu'à l'œuf cru

Conclusions

- L'anamnèse et les tests avec extraits globaux demeurent la première étape de la MAP
- Les recombinants sont devenus un outil incontournable de l'AA:
 - Réactions croisées
 - Sensibilisation vs allergie vraie
 - Profil de risque: ITS, prescription d'AIA
 - Évitent des TPO et des régimes inutiles



Matricardi PM *et al.* EAACI Molecular Allergology User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol* 2016;27(23):1-250.

Conclusions

- Leur interprétation est à mettre en rapport avec:
 - L'allergène
 - La situation géographique
 - Les sensibilisations concomitantes aux pneumallergènes

Futur

- Certains allergènes recombinants ne sont pas encore disponibles en clinique de routine
 - ISAC
 - Immunoblots
 - TPO ou éviction d'emblée
- Tests cutanés avec allergènes recombinants
- Confrontation aux ITO

Futur

- Etiquetage par AR des produits alimentaires
- Développement d'aliments hypoallergéniques, ex: « silencing » de Mal d 1

Krath B *et al.* Development of hypo-allergenic apples: silencing of the major allergen Mal d 1 gene in 'Elstar' apple and the effect of grafting. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 2009:52