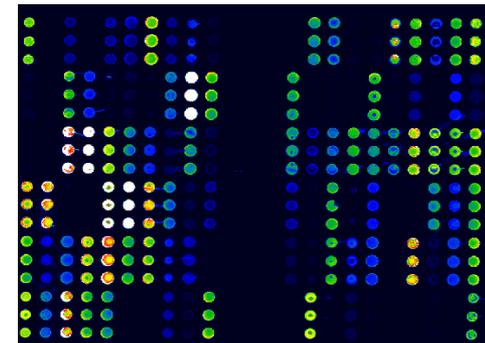


Tests multiparamétriques en allergie : conseils du biologiste

Dr Pascale NICAISE ROLAND
Immunologie biologique
LBMR « Allergies »
Hôpital Bichat
UMR 1152, Université de Paris



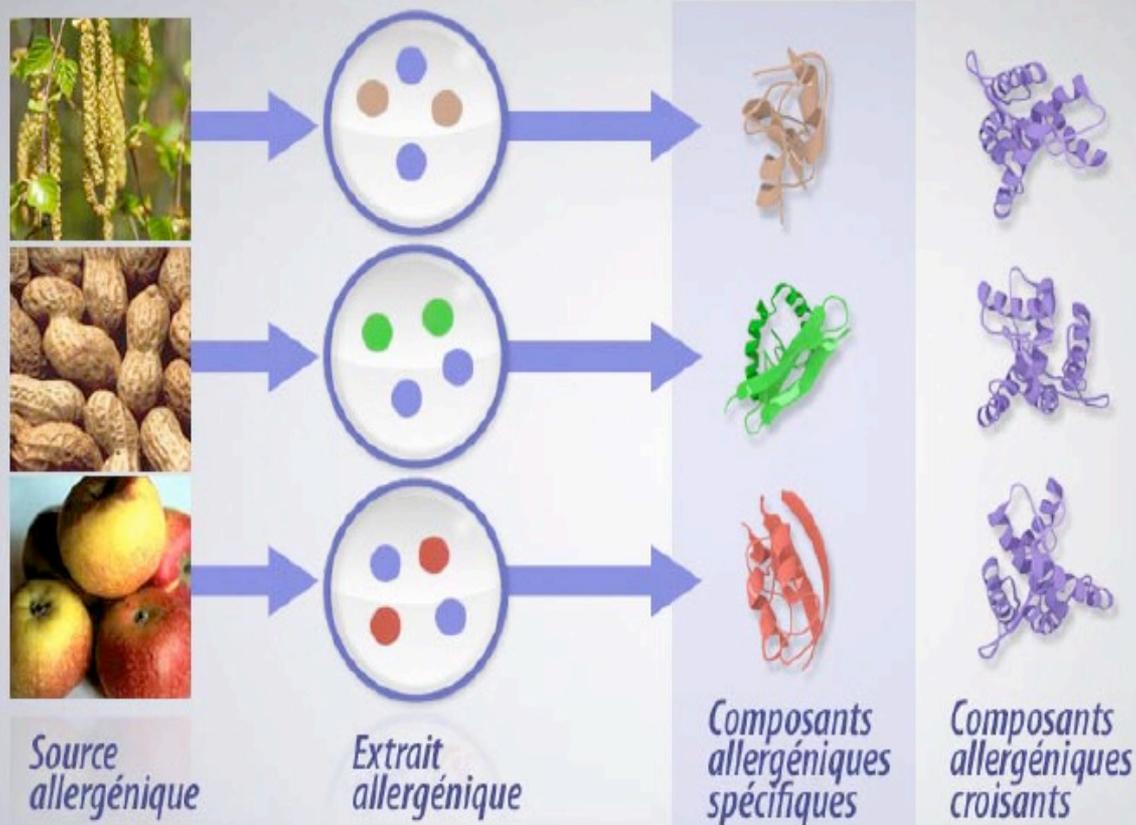


- Différencier la sensibilisation (biologique) et l'allergie (clinique)
- Certaines sensibilisations sont **sans pertinence clinique** :
 - **Réactions croisées** entre allergènes : partagent des allergènes moléculaires de la même famille
 - **IgE anti-CCD** : composants glucidiques très présents dans les extraits végétaux et les allergènes natifs qui ne sont associés que très rarement à des réactions cliniques mais peuvent positiver les résultats d'IgE spécifiques (« faux positifs »)

Quels allergènes sont testés ?



De la source allergénique aux composants



Composants allergéniques croisants

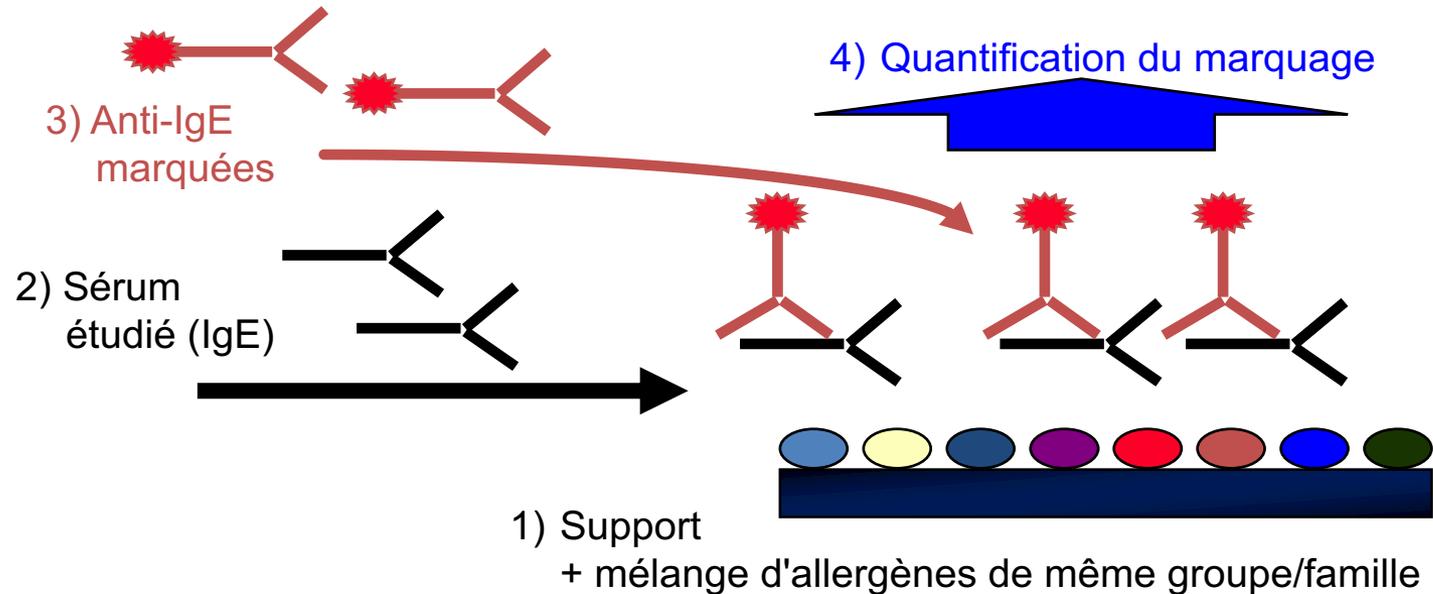


Tropomyosines	crevettes (Pen a 1, etc..), homard, crabe, huître, acariens, blatte, anisakis
PR-10 ou Bet v 1-like : thermosensibles, symptômes oraux	bouleau (Bet v 1), noisetier (Cor a 1.01), noisette (Cor a 1.04), pomme (Mal d 1), cerise (Pru av 1), Arachide (Ara h 8), Soja (Gly m 4)
LTP lipid transfer proteins : thermoresistantes, symptômes systémiques	pêche (Pru p 3), cerise (Pru av 3), noisette (Cor a 8), armoise (Art v 3), maïs (Zea m 14), pomme (Mal d 3)
Béta expansines	pollens de graminées (groupe 1)
Parvalbumines	Carpe (Cyp c 1), morue (Gad c 1), poissons
Chitinases	latex (Hev b 11, Hev b 6.01, Hev b 6.02(hévéine)), avocat (Pers a 1), banane
Profilines: panallergènes	bouleau (Bet v 2), frêne (Fra e 2), fléole (Phl p 12), latex (Hev b 8)
Polcalcines 2EF-hand Ca-binding proteins	bouleau (Bet v 4), fléole (Phl p 7), et pollens
Ole e 1-like	olivier (Ole e 1), frêne (Fra e 1), chénopode (Che a 1), plantain (Pla l 1)

Réactions croisées possibles entre allergènes appartenant à la même famille moléculaire

- Regroupent différents tests dont le principe de dosage et l'information sont différents :
- Tests multiallergéniques avec **allergènes non séparés** : seuls tests considéré comme du dépistage
- Tests multiallergéniques **avec allergènes séparés** :
 - Qualitatifs : dots , CLA [®]
 - Quantitatifs : puces à allergènes

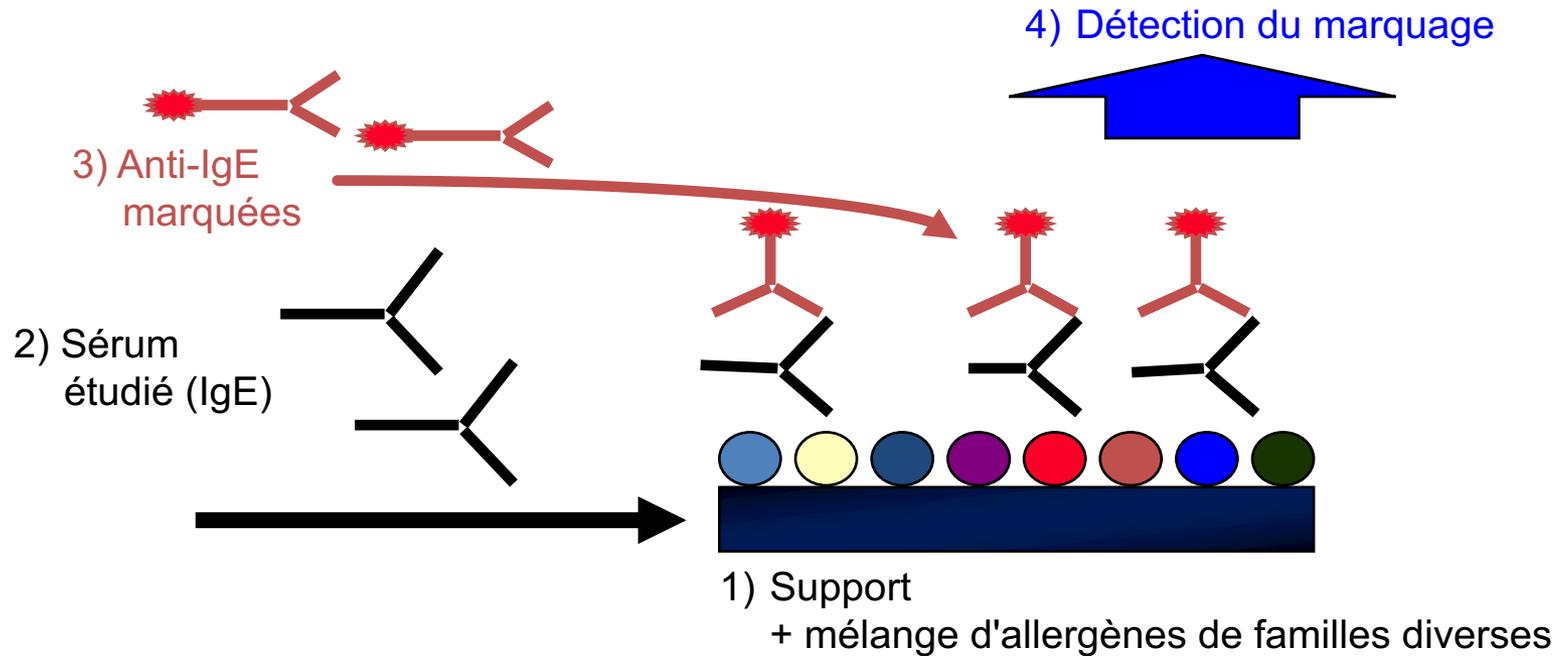
IgE spécifiques unitaires



Quantitatif : résultat évalué par rapport à une courbe de calibration rendu en kUA/l

Permet de répondre : le patient a ou n'a pas des IgE spécifiques vis à vis de l'extrait (ex : bouleau) ou du composant moléculaire (ex betv1) testé uniquement

Tests multi-allergéniques de dépistage



- allergènes non séparés : Pas d'identification de l'allergène
- **Résultat qualitatif**

Répond à la question : le patient a ou n'a pas des IgE spécifiques vis-à-vis d'un ou plusieurs allergènes du mélange sans identification précise



Test de dépistage ex : Phadiatop®

Tests multi-allergéniques de dépistage : Interprétation



- **Attention : composition des mélanges non équivalente selon les fournisseurs et pas toujours connue:**
 - Certains ne contiennent pas la blatte par exemple
- **Seuil de positivité retenu par le fournisseur pas toujours équivalent à celui des IgE unitaires**

Tests multiparamétriques avec allergènes séparés



Pas de calibration : semi-quantitatif

Pas des test pour le suivi d'une éviction ou d'une immunothérapie

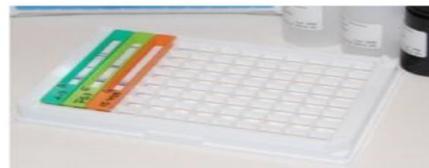
• **Indications :**

- polysensibilisations
- recherche de réactions croisées
- bilan allergie alimentaire sans orientation

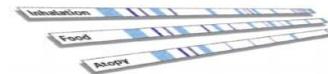
→ résultats repris par allergologue (données cliniques, test de provocation)



CLA[®]
Eurobio /Ingen



TAP[®]
Eurobio /Ingen



Euroline[®]
Euroimmun

Tests multiparamétriques avec allergènes séparés



- Pas des tests de dépistage
- Interprétation délicate :
- Essentiellement des **extraits** (certains panels ciblés avec des allergènes moléculaires)
- multiples positivités sans pertinence clinique : **réactions croisées, IgE anti-CCD** (même si certains ont dans leur panel un allergène un marqueur de CCD)
- **Très sensibles à la qualité du prélèvement** (hémolyse, IgE totales élevées)

Liste des allergènes		Enregistrement Luminométrique	Unités	Classe	Enregistrement graphique
Contrôle positif		300		4	
Contrôle négatif		9		0	
1	Pollens d'arbres				
	Aulne (t2)	43		1	
2		53		1	
3	Bouleau (t3)	55		1	
4	Olivier (t9)	300		4	
5	Chêne (t7)	79		2	
6	Platane (t11)	58		1	
7	Frêne (t15)	300		4	
8	Pollens de graminées				
	Phléole (g6)	300		4	
9	Paturin (g8)	300		4	
10	Dactyle (g3)	299		4	
11	Chiendent (g2)	73		2	
12	Blé (g15)	215		3	
13	Poll. Avoine (g14)	158		3	
14	Seigle (g12)	159		3	
15	Pollens d'herbacées				
	Plantain (w9)	27		=	
16	Chénopode (w10)	15		0	
17	Pariétaire (w21)	12		0	
18	Ambroisie (w1)	39		1	
19	Fausse ambroisie (w4)	26		=	
20	Armoise (w6)	26		=	
21	Phanères d'animaux				
	Chat (e1)	37		1	
22	Chien (e5)	61		1	
23	Cheval (e3)	40		1	
24	Moisissures				
	Aspergillus (m3)	50		1	
25	Alternaria (m6)	63		1	
26	Candida (m5)	50		1	
27	Latex				
	Latex (k82)	107		2	
28	Insectes				
	Blattes (i6)	300		4	
29	Acarie				
	Pteronyssinus (d1)	300		4	
30	Farinae				
	Farinae (d2)	201		3	

Signature :

Concentration
IgE spécifiques

Unités
Lumens

> 242

Classe 4 Très forte

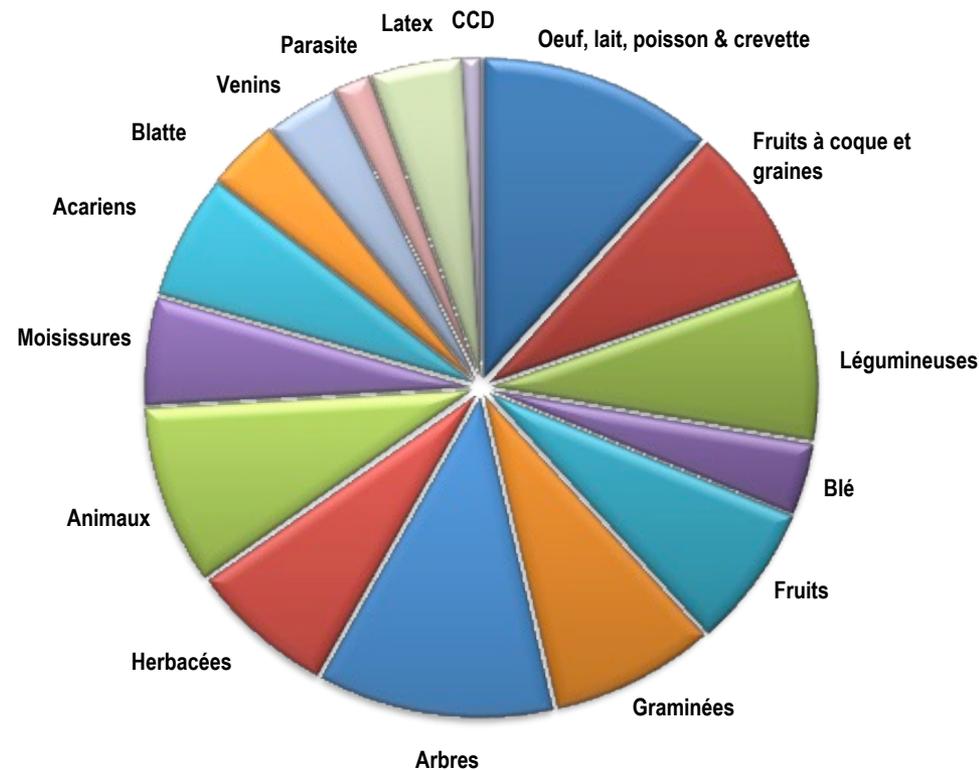
Classe 3 Forte

143 à 242

Puces à allergènes

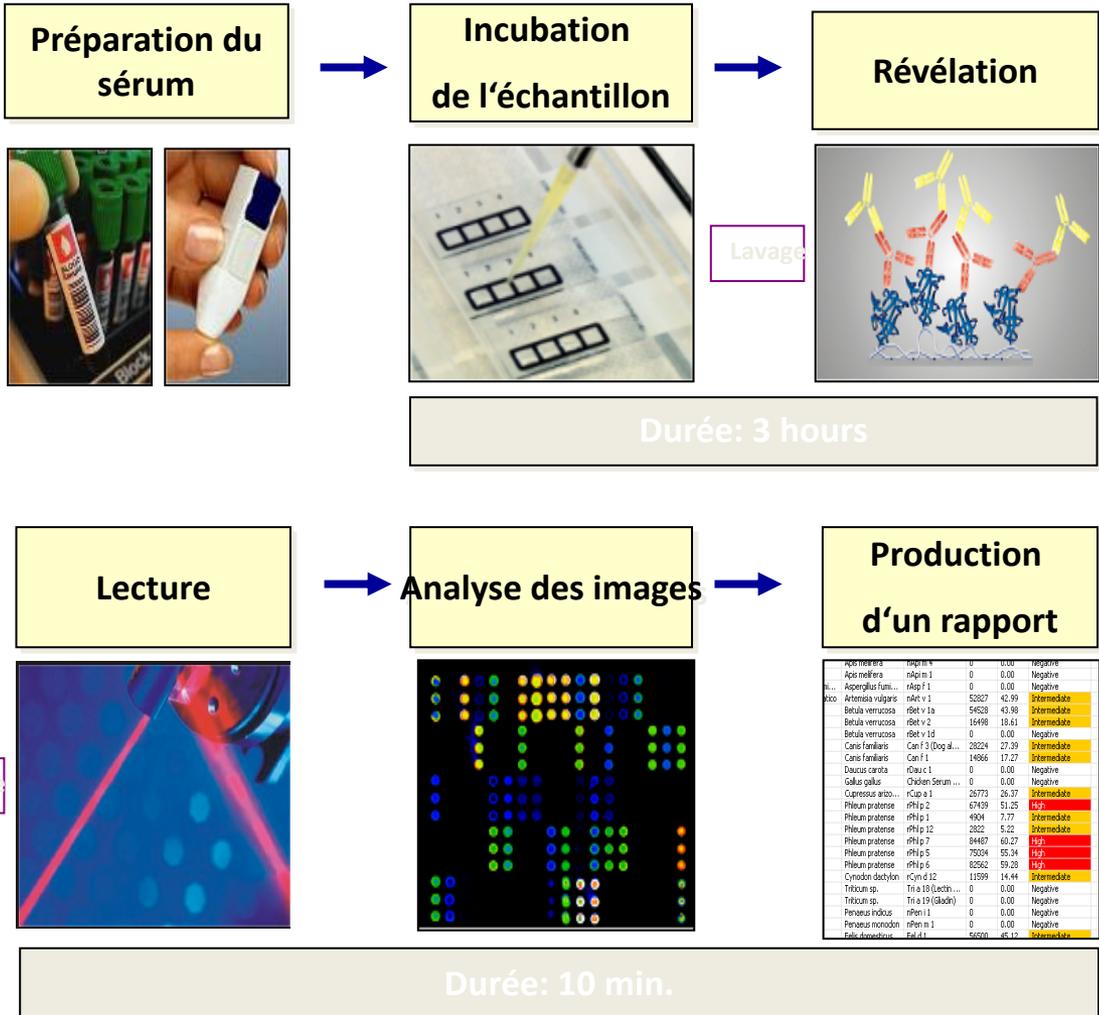


- **ISAC[®] : première puce à allergènes commercialisée**
- **comporte 112 composants allergéniques couvrant 51 sources allergéniques**
- **Inclut les composants les plus pertinents :**
 - **Spécifiques d'espèce**
 - **Croisants**



Nbre de composants = 112

Puce ISAC®

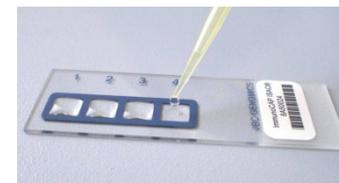


Résultats en unités ISU interprétation« semi-quantitative »
Les résultats en ISU ne sont pas comparables à ceux en kU/l.

Les résultats négatifs sont aussi importants que les résultats positifs

Ascochiza	rAsp m 1	0	0.00	Negative
Apis mellifera	rAp m 1	0	0.00	Negative
Aspergillus fum...	rAsp F 1	0	0.00	Negative
Artemisia vulgaris	rArt v 1	52827	42.99	Strongly positive
Betula verrucosa	rBet v 1a	54623	43.98	Strongly positive
Betula verrucosa	rBet v 2	16498	18.61	Strongly positive
Betula verrucosa	rBet v 1d	0	0.00	Negative
Canis familiaris	Can F 3 (Dog al...	28224	27.29	Strongly positive
Canis familiaris	Can F 1	14868	17.27	Strongly positive
Daucus carota	rDauc 1	0	0.00	Negative
Gallus gallus	Chicken Serum ...	0	0.00	Negative
Cupressus arbo...	rCup o 1	26779	26.57	Strongly positive
Phleum pratense	rPh p 2	67439	51.25	High
Phleum pratense	rPh p 1	4904	7.77	Strongly positive
Phleum pratense	rPh p 12	2822	5.22	Strongly positive
Phleum pratense	rPh p 7	84487	60.27	High
Phleum pratense	rPh p 5	73024	55.74	High
Phleum pratense	rPh p 6	62662	59.28	High
Cynodon dactylon	rCyn d 12	11599	14.44	Strongly positive
Trifolium sp.	Tri 10 (Lectin ...)	0	0.00	Negative
Trifolium sp.	Tri 19 (Glycin)	0	0.00	Negative
Penaeus indicus	rPen i 1	0	0.00	Negative
Penaeus monodon	rPen m 1	0	0.00	Negative
Felis domesticus	rFel d 1	62291	48.12	Strongly positive

Unitaire/puces à allergènes



ImmunoCAP IgE®

Echelle macroscopique
: μg allergène /cap (excès allergène)

CV < 15%

Résultat quantitatif

Méthode automatisée

40 μl de sérum/test (+120 μl)

Haute capacité de fixation

Peu de fixation non spécifique

Grande sensibilité

1 test = 1 résultat pour une source allergénique ou un allergène moléculaire

ImmunoCAP ISAC®

Echelle microscopique : **100 pg allergène/spot et >100 allergènes /cm²**

CV < 25% au delà de 1 ISU

Résultat semi-quantitatif

Méthode manuelle, 30 μl de sérum

Haute capacité de fixation

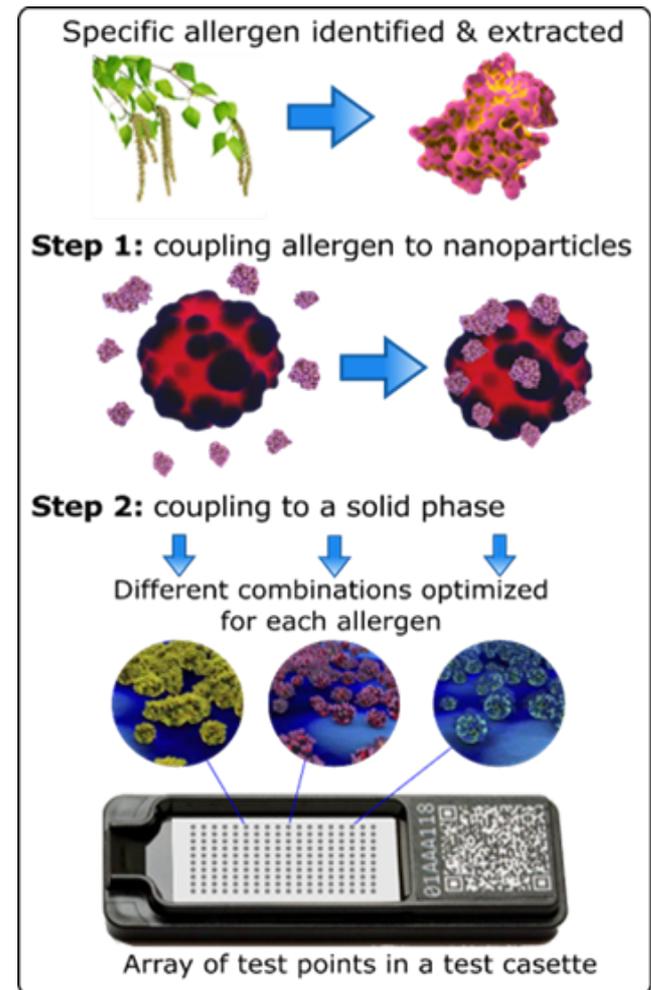
Peu de fixation non spécifique

Bonne sensibilité (possibilité de compétition avec les IgG spécifiques)

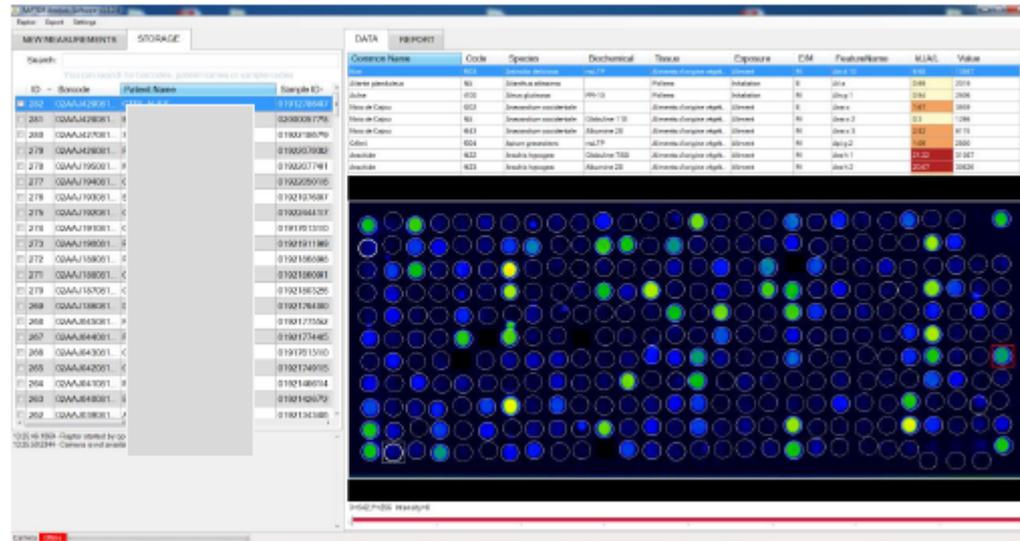
Haute spécificité

Fournit le profil de sensibilisation du patient : multiples résultats

Allergènes :
-157 extraits
-125 allergènes moléculaires
fixés sur des nanobilles ,
elles-mêmes immobilisées
sur une matrice.



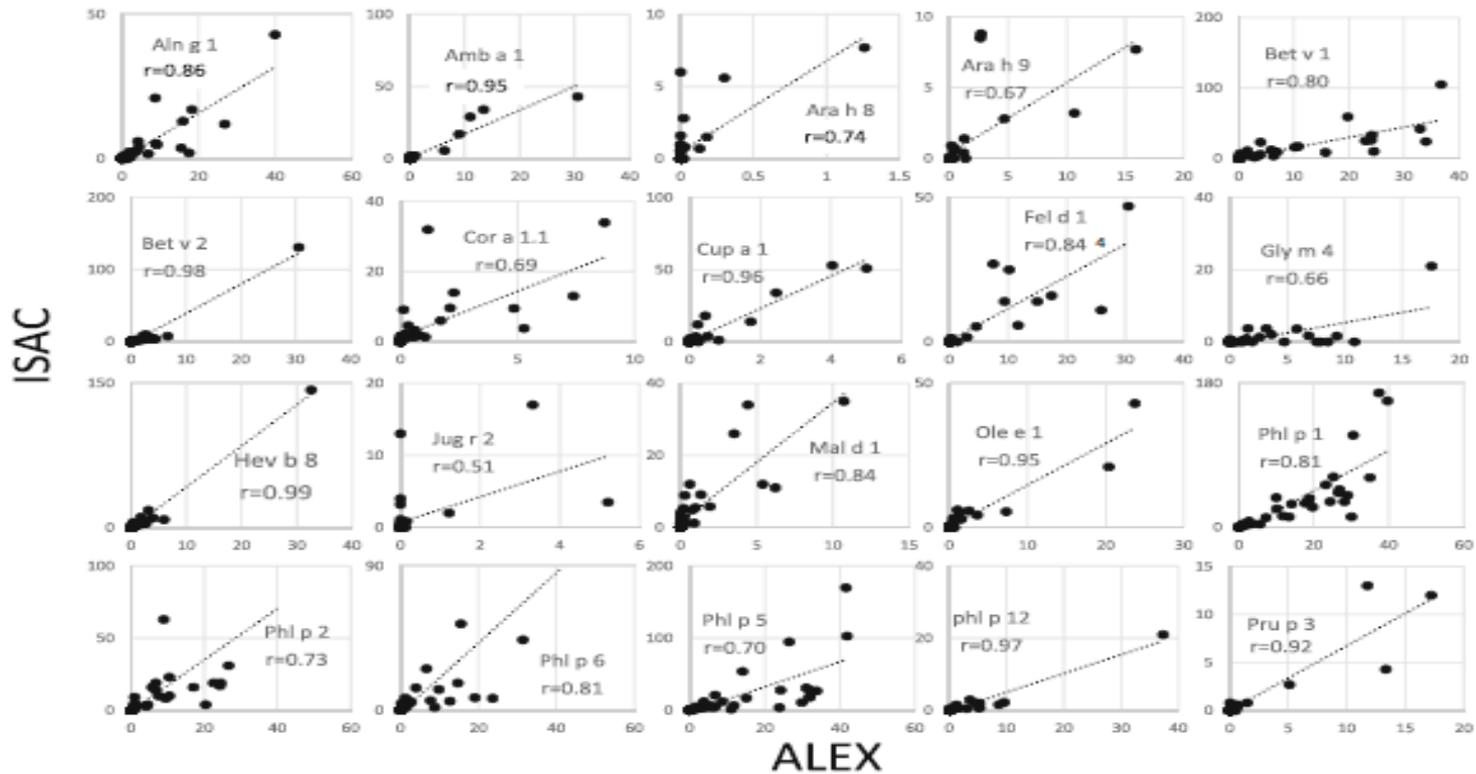
Puce Alex[®]



Avantage : large panel d'allergènes : profil de sensibilisation plus complet en couvrant l'allergénicité des sources allergéniques

Risque : positivités non pertinentes liées en particulier aux CCD (utilisation d'un inhibiteur de CCD)

Comparaison ISAC[®] /Alex[®]



Heffler et al. World Allergy Organization Journal (2018) 11:7

Corrélation variable selon les allergènes

Comparaison ISAC[®] / Alex[®]



Famille	Total	ISAC [®] + (%)	[C] moyenne ISAC [®]	ALEX [®] + (%)	[C] moyenne ALEX [®]	PPA (%)	NPA (%)	Coefficient de corrélation	Comparaison des [C] moyennes
PR-10	168	25 (14,9)	6.9	20 (11,9)	10	17/25 (68,0)	140/143 (97,9)	0,60	0.01
PR-10 alimentaires	105	15 (14,3)	5	14 (13,3)	7.5	11/15 (73,3)	87/90 (96,7)	0,60	0.09
PR-10 polliniques	63	10 (15,9)	9.4	6 (9,5)	13.3	6/10 (60,0)	53/53 (100,0)	0,59	0.09
LTP	189	11 (5,8)	3.5	14 (7,4)	5.5	10/11 (90,9)	174/178 (97,8)	0,50	NS
Protéines de stockage	285	11 (3,9)	12.3	12 (4,2)	13.2	9/11 (81,8)	271/274 (98,9)	0,54	NS
Lipocalines	129	16 (12,4)	2.9	14 (10,9)	4	13/16 (81,3)	112/113 (99,1)	0,81	NS
Profilines	84	7 (8,3)	6.3	6 (7,1)	3.6	5/7 (98,7)	76/77 (98,7)	0,78	NS

Lecolant S et al, CFA 2021

Bonne concordance pour les mêmes allergènes ou par famille moléculaire.

- ISAC[®] un peu plus sensibles pour les PR10 , Alex[®] pour les LTP

- allergènes uniquement sur ISAC[®] : alpha Gal

- Alex[®] : plus d'allergènes de poisson, viandes, céleri ,fruits à coque (pistache, noix de cajou, noisette). L'ajout de certains allergènes (pollens) n'aurait pas un intérêt majeur (réactions croisées)

Indications

Définition du profil de sensibilisation d'un polysensibilisé

- Asthme sévère
- Allergies alimentaires multiples et sévères
- Poser l'indication d'une immunothérapie spécifique chez un polysensibilisé

Histoire clinique mal ou non expliquée par les tests traditionnels

- Anaphylaxie avec enquête allergologique négative
 - Nouvel éclairage ?
 - Découverte de sensibilisations inattendues qui font avancer dans le diagnostic

Pathologies nécessitant un bilan allergologique étendu au diagnostic

Diagnostic d'élimination de l'allergie

Etudes épidémiologiques

Connaître les limites du test ISAC :

- Moins sensible que les tests unitaires
- Il manquera toujours des allergènes

Aide des puces à allergènes dans ces contextes ?

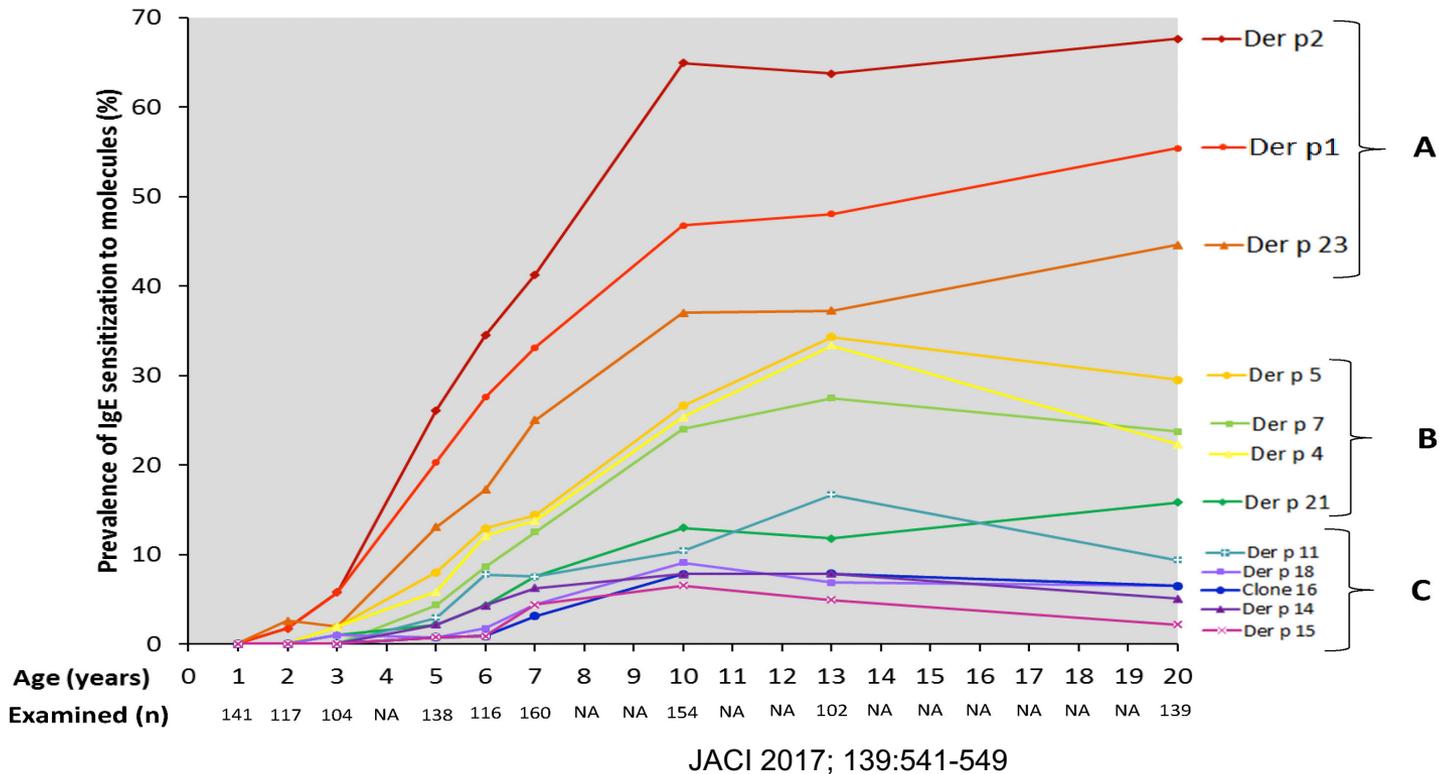


- **Etablir un profil de sensibilisation**
 - Sévérité : en fonction des sensibilisations à certaines familles moléculaires
 - Aide à la prédiction de l'évolution clinique
- **Allergènes non disponibles en unitaires :**
 - Certains composants du kiwi, anisakis, souris, crustacés

Seconde intention actuellement : en complément de l'anamnèse , tests cutanés et le plus souvent de dosage d'IgE unitaires

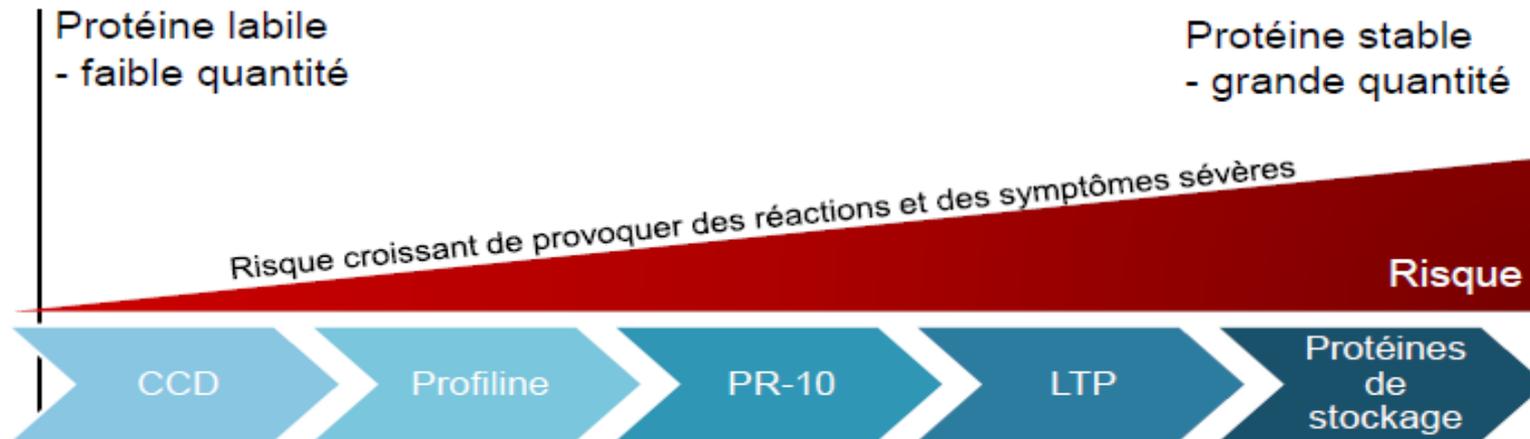
Pas pour une caractérisation d'une sensibilisation ciblée (acariens, graminées)

Profil de sensibilisation étendu : aide à la prédiction de l'évolution clinique



Patients avec sensibilisation contre les 3 groupes de composants allergéniques des acariens (ABC) ont plus de risque de développer une rhinite allergique et un asthme que ceux ne reconnaissant que les allergènes du groupe A ou AB

Risque de sévérité en fonction du profil moléculaire



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

Anaphylaxie inexpliquée chez jeune femme de 20 ans



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

Composants d'aliments principalement spécifiques d'espèces

Noix	nJug r 2	Prot. de stockage, globuline 7S	7,9 ISU-E	
Blé	rTri a 14	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	12 ISU-E	

Composants d'aéroallergènes principalement spécifiques d'espèces

Pollens de graminées				
Chiendent digité	nCyn d 1	Graminées, groupe 1	0,8 ISU-E	
Phléole	nPhl p 4	Réticuline oxydase	6,1 ISU-E	
Pollens d'arbres				
Bouleau	nBet v 1	Protéine PR-10	5,5 ISU-E	
Platane	nPla a 2	Polygalacturonase	1,2 ISU-E	
Animaux				
Chien	rCan f 5	Arginine-estérase	0,4 ISU-E	

Composants marqueurs de réactivité croisée

Protéines de transfert des lipides (nsLTP)

Arachide	rAra h 9	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	12 ISU-E	
Noisette	rCor a 8	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	4,4 ISU-E	
Noix	nJug r 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	12 ISU-E	
Pêche	rPru p 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	10 ISU-E	
Armoise	nArt v 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	2,6 ISU-E	
Pollen de platane	rPla a 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	3,6 ISU-E	

Protéines PR-10

Bouleau	nBet v 1	Protéine PR-10	5,5 ISU-E	
Pollen de noisetier	rCor a 1.0101	Protéine PR-10	0,5 ISU-E	
Noisette	rCor a 1.0401	Protéine PR-10	1,6 ISU-E	
Pomme	rMal d 1	Protéine PR-10	14 ISU-E	
Pêche	rPru p 1	Protéine PR-10	0,9 ISU-E	
Soja	rGly m 4	Protéine PR-10	0,5 ISU-E	
Arachide	rAra h 8	Protéine PR-10	4,5 ISU-E	

Sensibilisations à plusieurs LTP en faveur d'un risque plus élevé de réactions anaphylactiques alimentaires

Enfant polysensibilisé :



Jaune d'œuf/viande de poulet	nGal d 5	Livétine / Albumine sérique	0,8 ISU-E	
Lait de vache	nBos d 4	Alpha-lactalbumine	0,4 ISU-E	
Noix de cajou	rAna o 2	Prot. de stockage, globuline 11S	0,9 ISU-E	
Noisette	nCor a 9	Prot. de stockage, globuline 11S	0,6 ISU-E	
Arachide	rAra h 1	Prot. de stockage, globuline 7S	2,2 ISU-E	
Soja	nGly m 5	Prot. de stockage, Bêta-conglycinine	4,4 ISU-E	
	nGly m 6	Protéine de stockage, Glycinine	1,8 ISU-E	
Kiwi	nAct d 1	Cystéine protéase	5,3 ISU-E	

Protéines de stockage : risque symptômes sévères
Croisement avec pois, lentilles

Tropomyosine

Anisakis	rAni s 3	Tropomyosine	47 ISU-E	
Blatte	nBla g 7	Tropomyosine	73 ISU-E	
D. pteronyssinus	rDer p 10	Tropomyosine	100 ISU-E	
Crevette	nPen m 1	Tropomyosine	>100 ISU-E	

Croisement acariens ?

Protéines de transfert des lipides (nsLTP)

Arachide	rAra h 9	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	0,6 ISU-E	
Noisette	rCor a 8	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	2,6 ISU-E	
Noix	nJug r 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	3 ISU-E	
Pêche	rPru p 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	1,5 ISU-E	
Armoise	nArt v 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	1,4 ISU-E	
Pollen de platane	rPla a 3	Prot. transfert des lipid. (nsLTP)	2,8 ISU-E	

LTP : risque symptômes sévères

Protéines PR-10

Bouleau	nBet v 1	Protéine PR-10	0,7 ISU-E	
Céleri	rApi g 1	Protéine PR-10	2,6 ISU-E	

PR10 : Syndrome oral

asthme aux acariens, Syndrome oral : céleri, carotte, pêche,
Symptômes sévères avec poisson, pois cassés, lentilles

Enfant 13 ans : urticaire, douleurs abdominales après ingestion kiwi, banane, raisin.



Pas de sensibilisation en IgE unitaires aux composants disponibles de ces sources allergéniques : PR10, LTP, profilines

1. Résumé des résultats IgE positifs

Composants alimentaires principalement spécifiques d'une espèce

Kiwi	Act d 1	Cystéine-protéase	0,6 ISU-E	
------	---------	-------------------	-----------	---

Composants d'aéroallergènes principalement spécifiques d'une espèce

Moisissure

Cladosporium	Cla h 8	Mannitol déshydrogénase	0,3 ISU-E	
--------------	---------	-------------------------	-----------	---

Acarien

D. pteronyssinus (acarien)	Der p 23	Peritrophin-like protein domain (PF01607)	3,4 ISU-E	
----------------------------	----------	---	-----------	---

Composants à réactivité croisée

Thaumatine-like protein (TLP)

Kiwi	Act d 2	Thaumat-like protein (TLP)	3,5 ISU-E	
------	---------	----------------------------	-----------	---

Intérêt puce : mise en évidence sensibilisation à :

-Actd1 spécifique du kiwi

- Actd2 : TLP commune aux raisin et banane non disponibles en unitaires et associées à des réactions sévères

Femme 26 ans chocs multiples avec arachide , soja, crustacés et poisson



Seafood					
Herring worm	Ani s 1	M	Kunitz Serin Protease Inhibitor	≤ 0,10	
Herring worm	Ani s 3	M	Tropomyosin	4,59	
Crab	Chi spp.	E		3,33	
Herring	Clu h	E		≤ 0,10	
Herring	Clu h 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10	
Brown shrimp	Cra c 6	M	Troponin C	0,31	
Carp	Cyp c 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10	
Atlantic cod	Gad m	E		≤ 0,10	
Atlantic cod	Gad m 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10	
Atlantic cod	Gad m 2+3	M	β-Enolase & Aldolase	≤ 0,10	
Lobster	Hom g	E		3,99	

Name	Allergen	E/M(*)	Function	kU _A /L
Shrimp	Lit s	E		3,61
Squid	Lol spp.	E		1,76
Common mussel	Myt e	E		0,80
Oyster	Ost e	E		1,98
Shrimp	Pan b	E		2,22
Scallop	Pec spp.	E		≤ 0,10
Black Tiger Shrimp	Pen m 1	M	Tropomyosin	7,14
Black Tiger Shrimp	Pen m 2	M	Arginine kinase	9,54
Black Tiger Shrimp	Pen m 3	M	Myosin, light chain	0,24
Black Tiger Shrimp	Pen m 4	M	Sarcoplasmic Calcium Binding Protein	≤ 0,10
Thornback ray	Raj c	E		≤ 0,10
Thornback ray	Raj c parvalbumin	M	α-Parvalbumin	≤ 0,10
Clam	Rud spp.	E		1,97
Salmon	Sal s	E		≤ 0,10
Salmon	Sal s 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10
Atlantic mackerel	Sco s	E		≤ 0,10
Atlantic mackerel	Sco s 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10
Tuna	Thu a	E		0,12
Tuna	Thu a 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10
Swordfish	Xip g 1	M	β-Parvalbumin	≤ 0,10

Mise en évidence de sensibilisations vis-à-vis de différents allergènes de poisson et de crustacés IgE unitaires poisson négatives

Limites des puces allergènes



- **Pas un test de dépistage**
- **Bonne connaissance de l'allergie moléculaire**
- « Faux positifs » : sensibilisation par réaction croisée sans traduction clinique
- Faux négatifs ! :
 - **Composants présents ne représentent pas toute l'allergénicité de la source allergénique : extraits ou molécules absents de la puce** même si l'interprétation peut être étendue à des composants homologues qui ne sont pas présents dans la puce (composants croisants)
 - **Interférence des IgG spécifiques** : détection des IgE peut être en défaut (œsophagite à éosinophiles, au cours de l'immunothérapie spécifique)

Conclusion



- Développement récent de nombreux tests en allergie en particulier multiparamétriques
- Leurs indications ne sont pas les mêmes et les résultats nécessitent de connaître leurs avantages et inconvénients respectifs.
- Ceci permet :
 - d’orienter le choix du test à réaliser
 - une bonne interprétation des résultats
 - d’expliquer les éventuelles discordances de résultats qui pourraient être observées selon les tests.