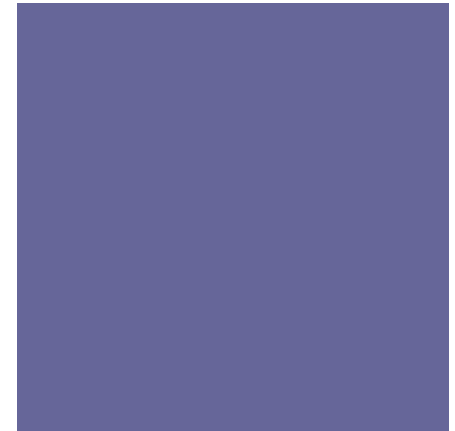




# RNSA 2018 BORDEAUX



## Intérêt des IgE standards et des IgE recombinants dans les pollinoses

Dr Stéphane Guez

PH Chef de service

Médecine Interne Post-Urgences et Allergologie

Hôpital Pellegrin CHU Bordeaux 33076



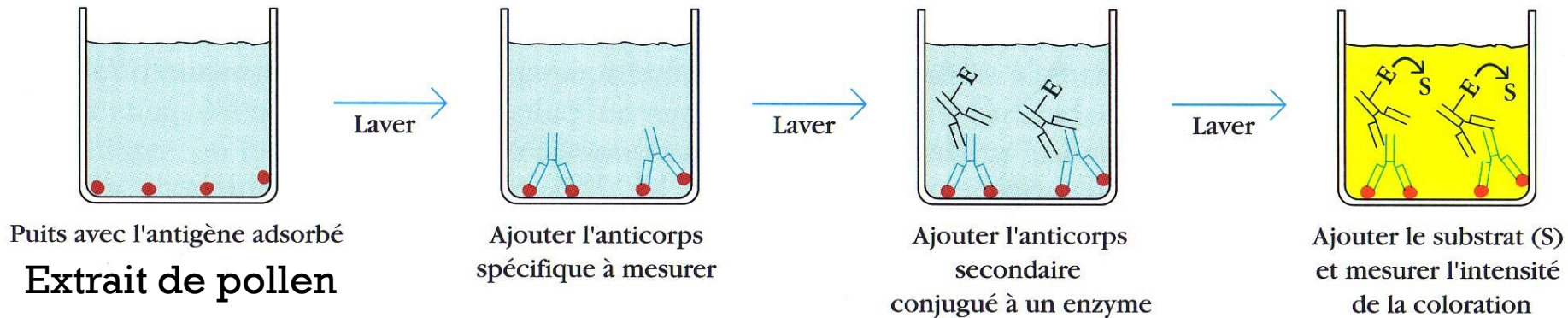
# Pourquoi rechercher des IgE ?

- Allergie → présence d'IgE qui reconnaissent des allergènes responsables de la pollinose du patient
- Le dosage des IgE est un des outils d'identification des allergènes impliqués dans la pollinose d'un patient.
- L'objectif de clinicien allergologue :
  - Confirmer une allergie pollinique
  - Eventuellement proposer une immunothérapie spécifique ou désensibilisation vis-à-vis du la ou des allergènes en cause.

L'identification précise des allergènes (pollens) est donc l'étape indispensable de cette démarche

+

IgE standards → IgE spécifiques  
permettent d'identifier le ou les allergènes  
responsables



**Ex : L'allergène fixé sur le support est un EXTRAIT du pollen de bouleau:**

- **Le dosage s'appelle IgE spécifique du bouleau**
- **Extrait de *Betula verrucosa***

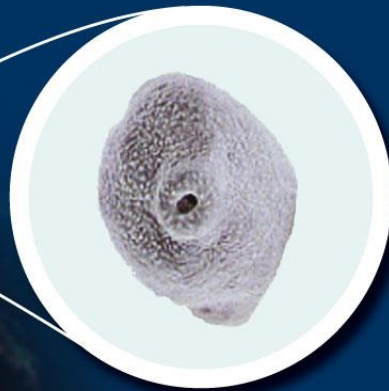
1° Révolution dans le diagnostic allergologique

# Allergène moléculaire

De la vision macromoléculaire à la vision moléculaire des allergènes

Exemple du bouleau

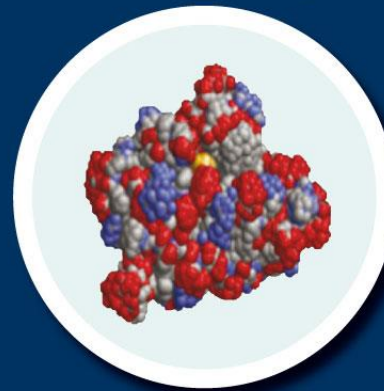
Source  
allergénique



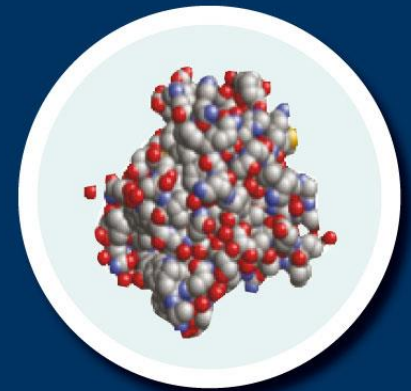
Pollen de  
bouleau



Allergène moléculaire



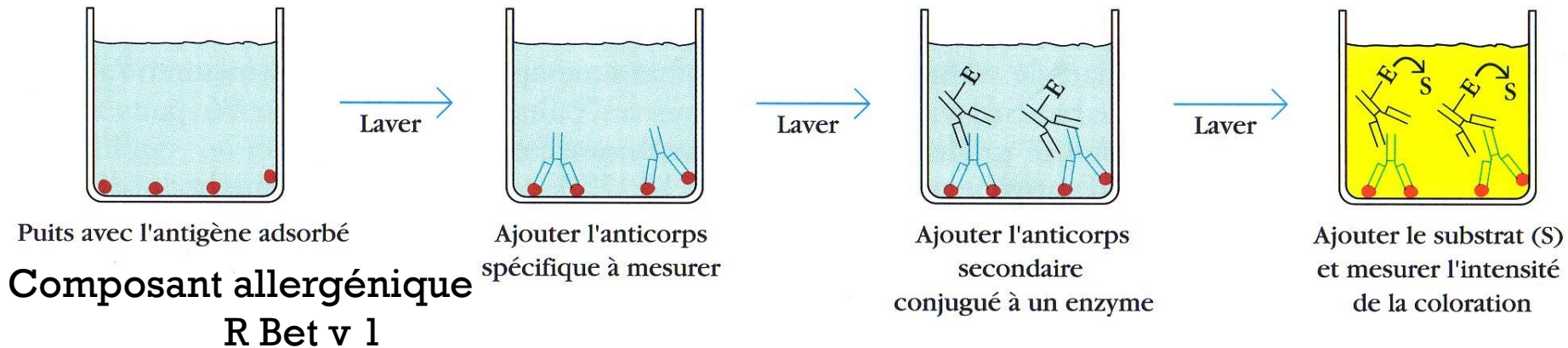
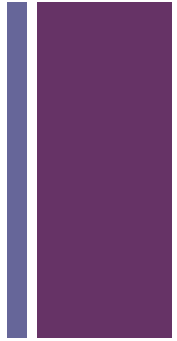
Bet v 1  
Allergène  
majeur



Bet v 2  
Allergène  
mineur



# + Nouveaux tests IgE : IgE recombinants



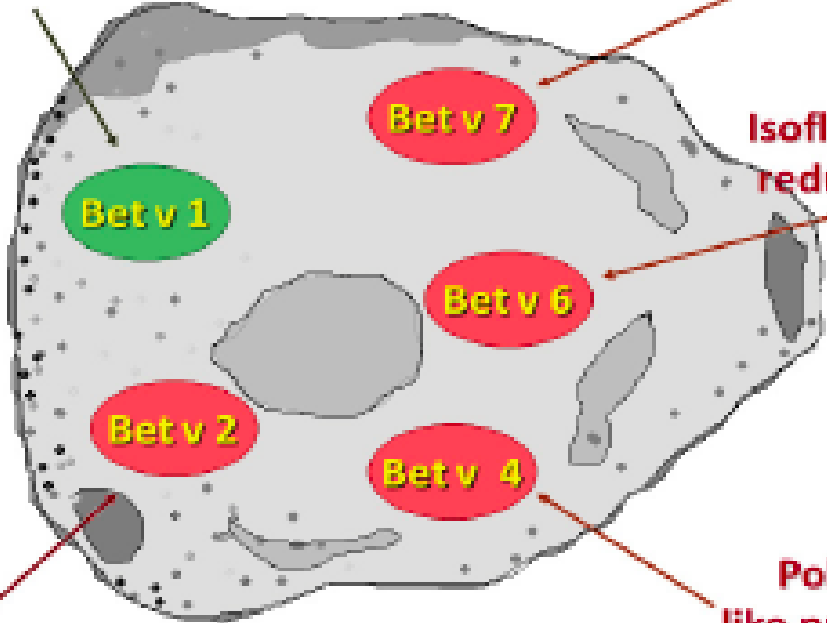
**Ex : L'allergène fixé sur le support est un EPITOPE = IgE spécifique d'un composant allergénique du pollen de bouleau**  
**- Ex dosage r Bet v 1**



# Betulaceae

Pathogenesis-related protein,  
PR-10, Bet v 1 family member

Cyclophilin



Isoflavone  
reductase

Profilin

Polcalcin  
like protein  
(4 EF hand domains)



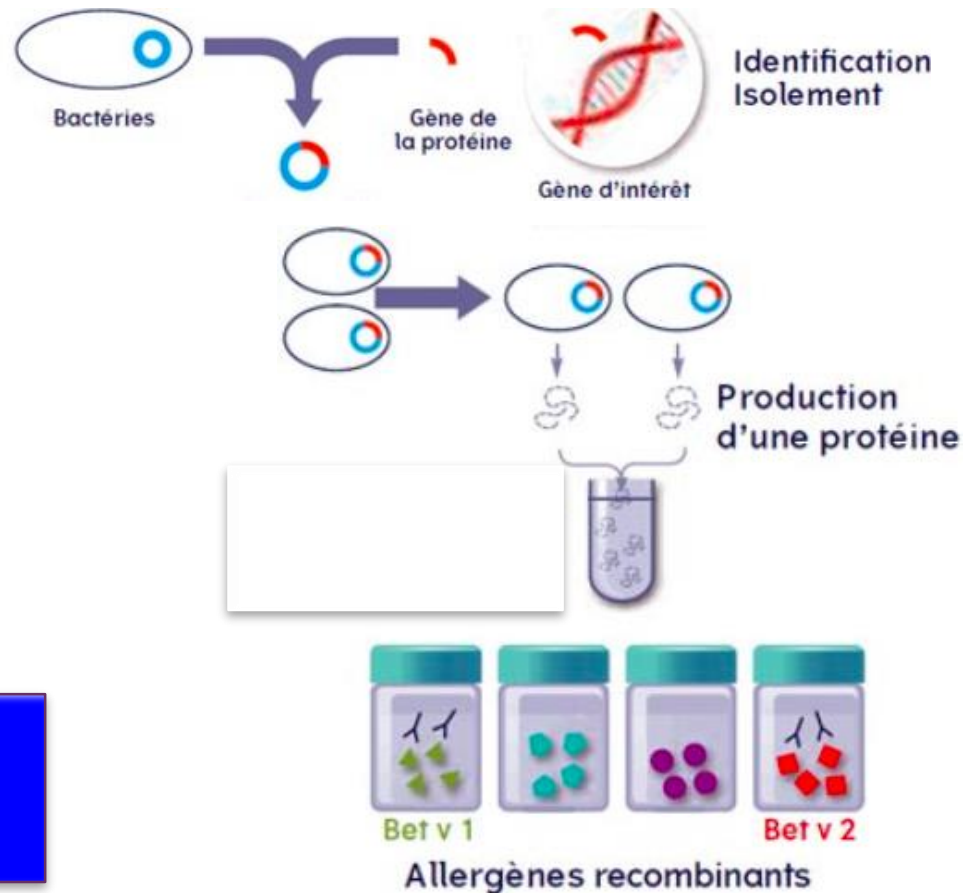
# Obtention des allergènes moléculaires pour le diagnostic :

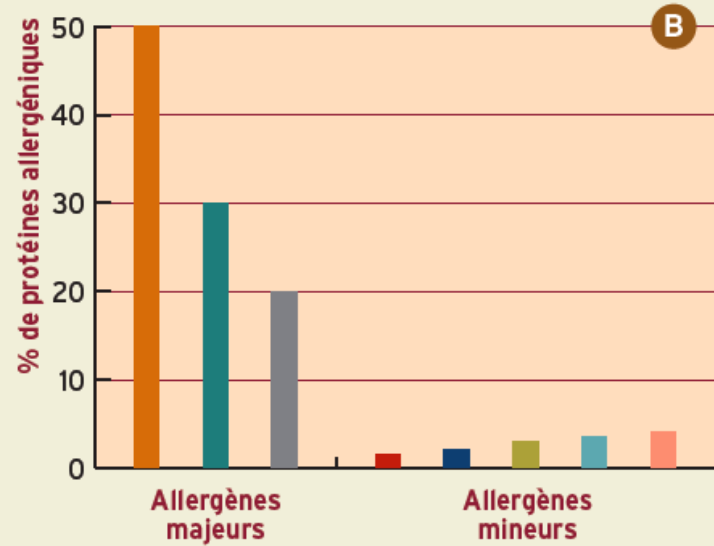
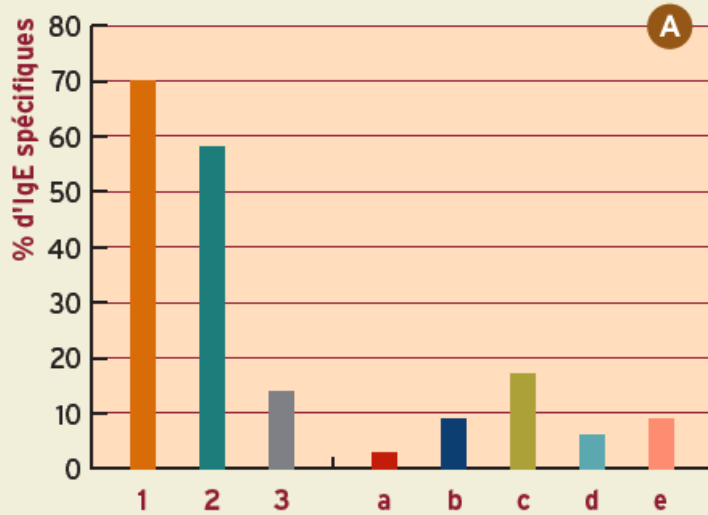
## Allergènes naturels

- Extraction physico-chimique
- Purification
- Obtention d'allergènes moléculaires mais non recombinants

Composants allergéniques

## Allergènes recombinants





**Figure 1** Spectrotype d'un patient (A) et contenu en protéines allergéniques d'un extrait allergénique (B). Réponse IgE prédominante vis-à-vis des allergènes majeurs 1 et 2, faible réponse vis-à-vis de l'allergène mineur C.



# La révolution des composants moléculaires :

- **Allergènes majeurs**

- **Allergènes mineurs**

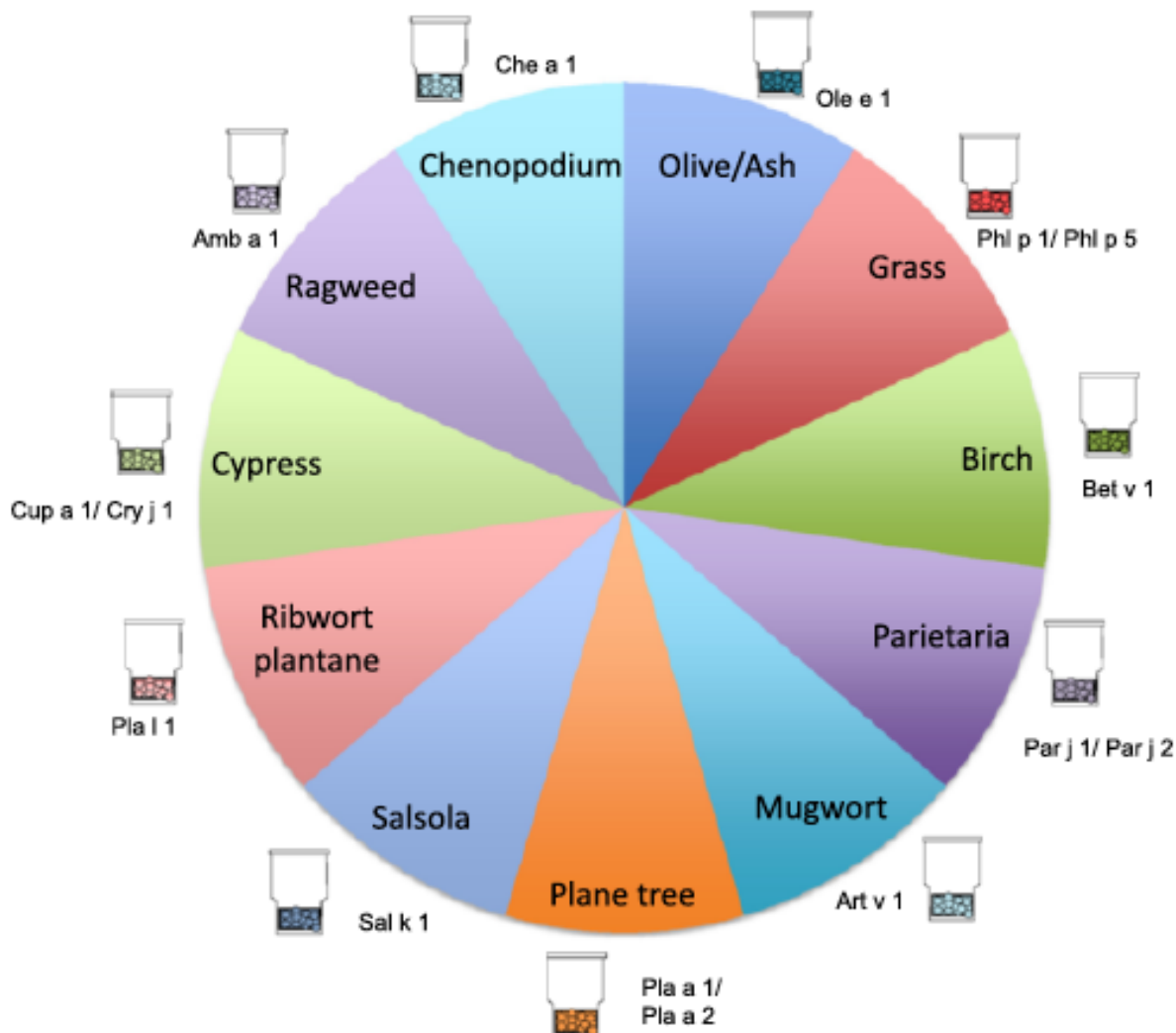
- **Pan- allergènes**

- **Homologies entre les composants allergéniques d'une même famille**

- **Réactivité croisée**

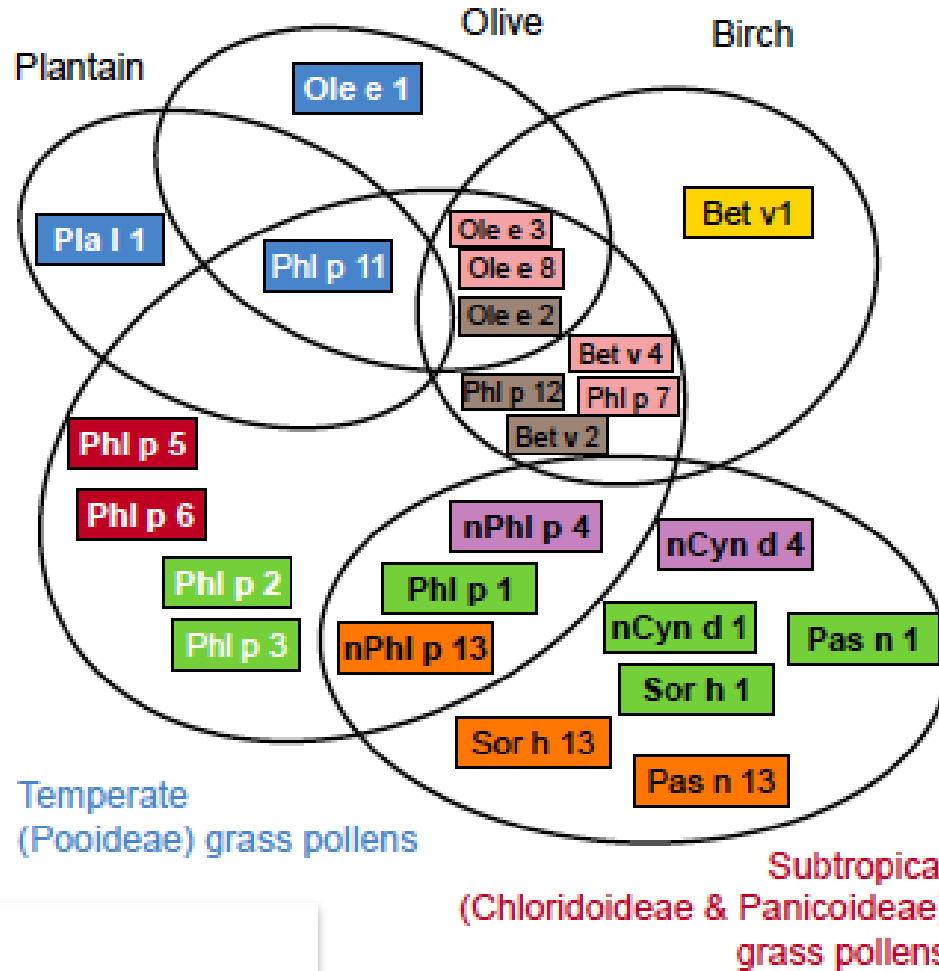
- **Allergie croisée**

# + Allergènes majeurs de différentes sources polliniques :





# Réactivité croisée pollens / pollens





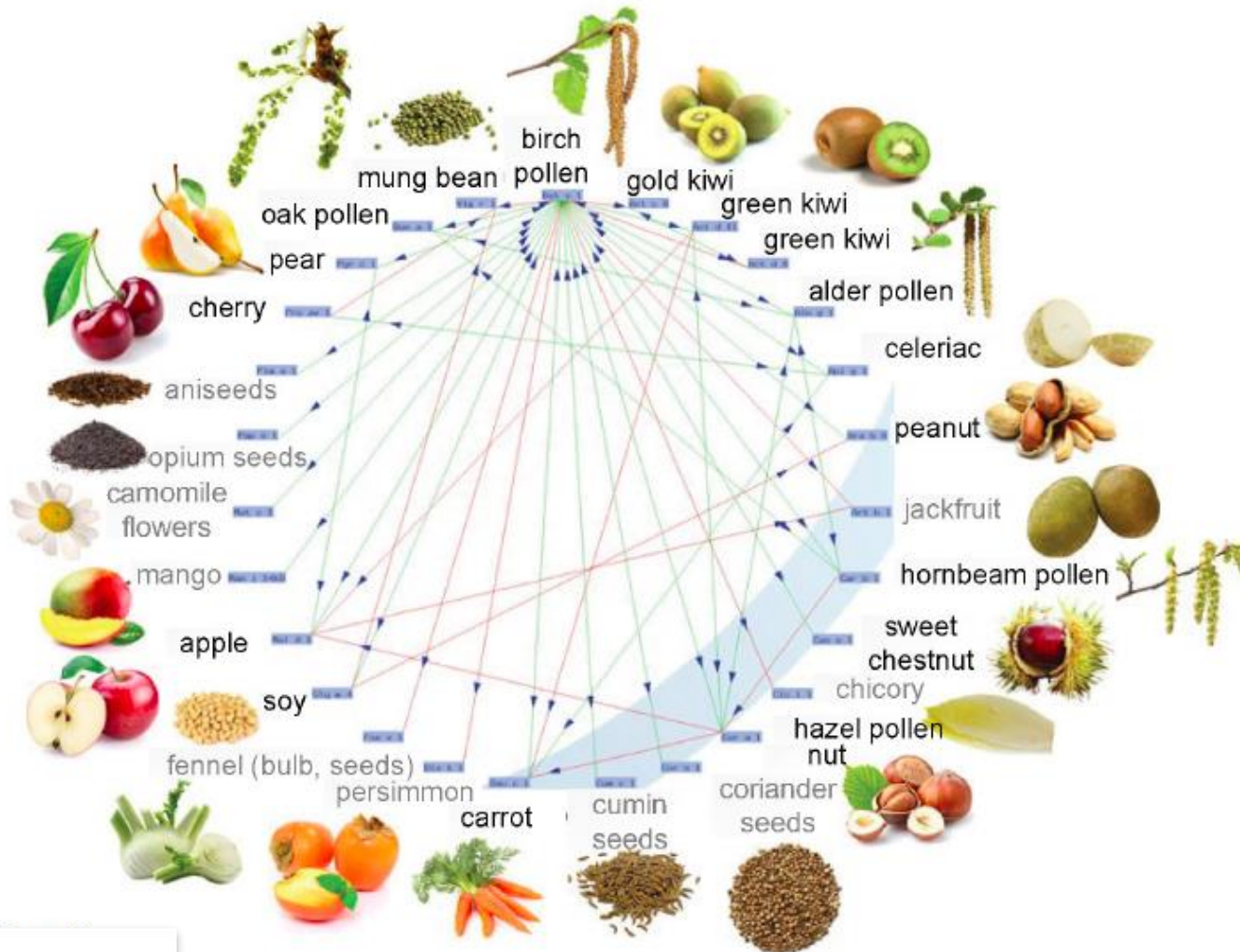
# Les différentes familles de composants allergéniques



<b>Famille</b>	<b>Non sévère</b>	<b>sévère</b>
PR10	Thermosensible Gastro-sensible Sd oral	
LTP		Thermorésistante Gastro-résistante Réaction sévère
Profiline	Thermosensible Gastro-sensible Généralement peu sévère	
Etc.		

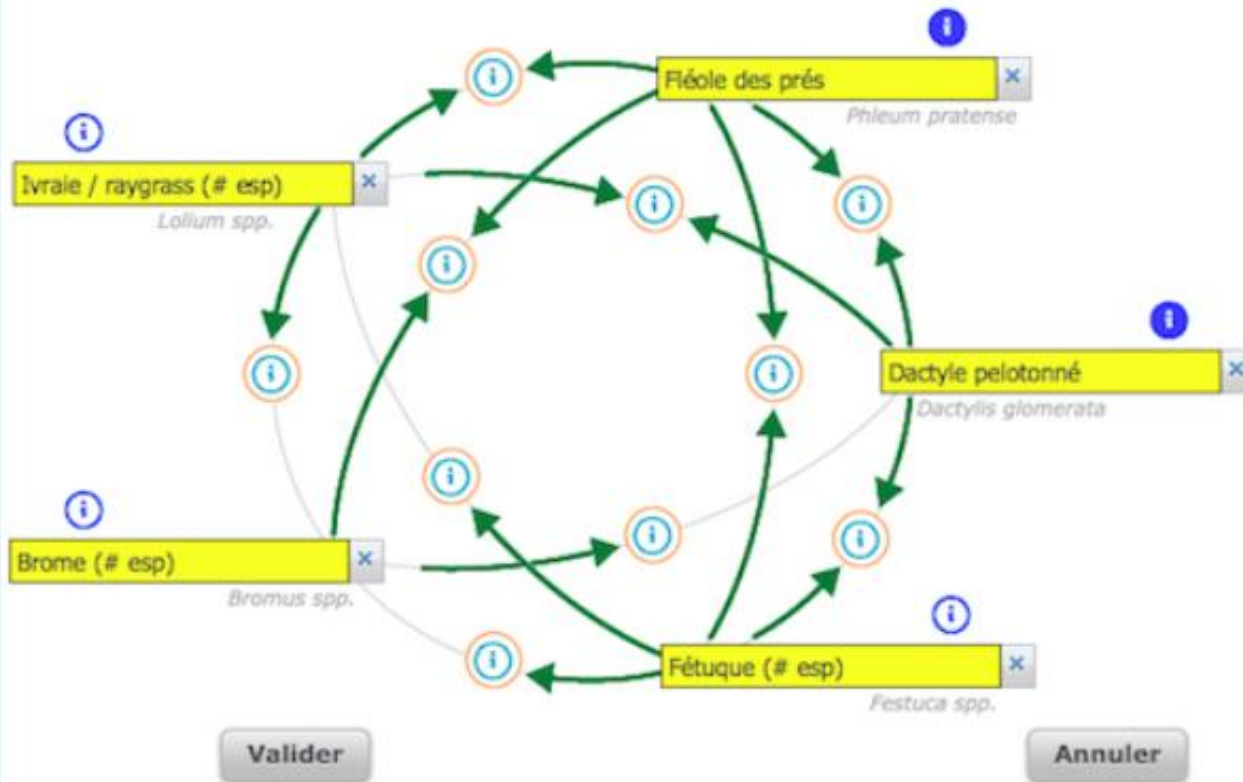
Toutes ces protéines ont un rôle fonctionnel dans la vie de la plante +++

# + Réactivité pollens / aliments



## Besoin d'Aide ?

Obtenir l'adresse de cette page



## Croisent également

Produit	Nb	
Flouve odorante	5	<a href="#">i</a>
Pâturin des prés	5	<a href="#">i</a>
Agropyre de l'ouest	4	<a href="#">i</a>
Sorgho d'Alep (pollen)	4	<a href="#">i</a>
Bouleau	3	<a href="#">i</a>
Chiendent digité	3	<a href="#">i</a>
Chénopode blanc	3	<a href="#">i</a>
Herbe de Bahia	3	<a href="#">i</a>
Olivier	3	<a href="#">i</a>
Roseau commun	3	<a href="#">i</a>
Seigle (pollen)	3	<a href="#">i</a>
Agrostide blanche	2	<a href="#">i</a>
Agrostide rampante	2	<a href="#">i</a>
Ambrosie élevée	2	<a href="#">i</a>
Armoise commune	2	<a href="#">i</a>
Auline / verne	2	<a href="#">i</a>
Avoine (pollen)	2	<a href="#">i</a>
Blé (farine)	2	<a href="#">i</a>
Blé complet (farine)	2	<a href="#">i</a>
Boutelou gracieux	2	<a href="#">i</a>
Broméline	2	<a href="#">i</a>
Chiendent officinal / Chik	2	<a href="#">i</a>
Cyprès blanc	2	<a href="#">i</a>
Céleri	2	<a href="#">i</a>
Fromental	2	<a href="#">i</a>
Frêne élevé	2	<a href="#">i</a>
Convolvulus sp.	2	<a href="#">i</a>

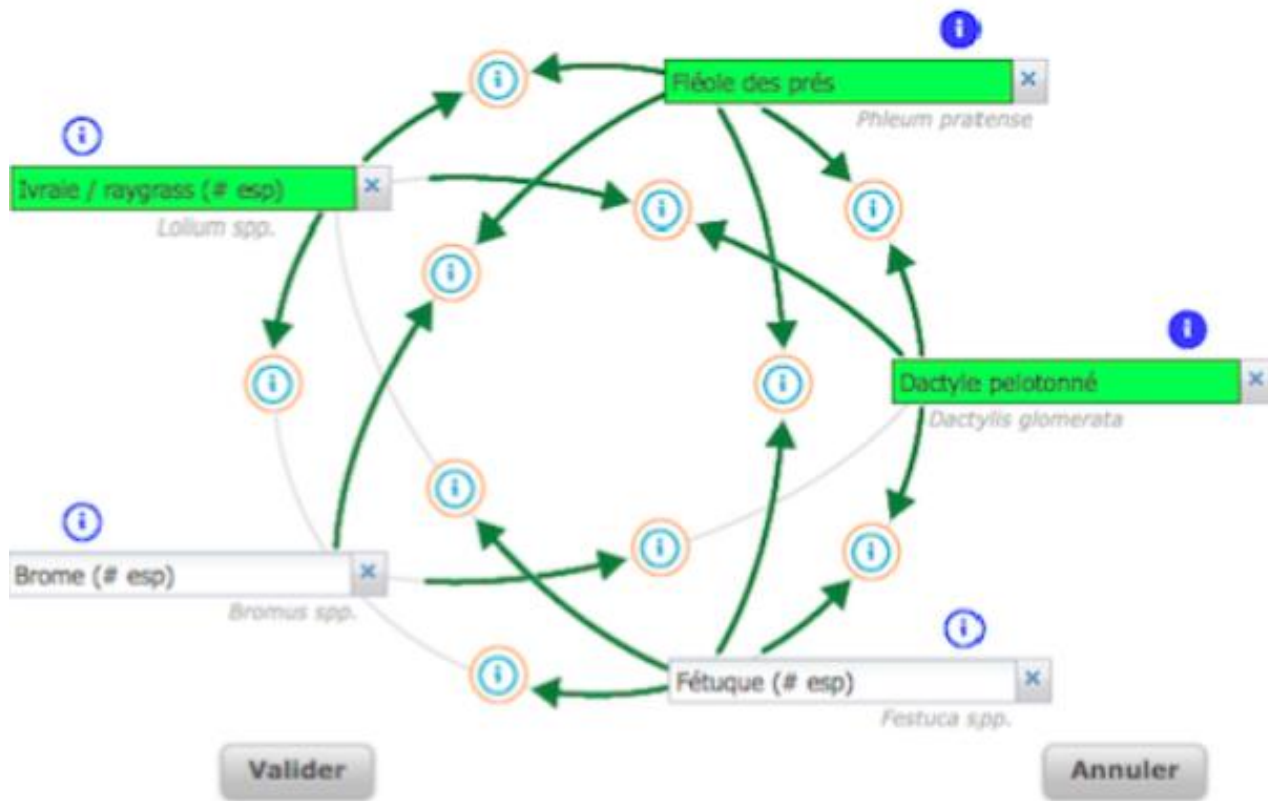
## Familles moléculaires

Libellé	Nb	Tests biologiques représentatifs
Bêta expansines	5	<a href="#">i</a> rPhi p 1 (fléole)
Groupe 4 des graminées	5	<a href="#">i</a> nPhi p 4 (fléole)
Polcalcines (2EF-hand)	5	<a href="#">i</a> rBet v 4 (bouleau) / rPhi p 7 (fléole)
Groupe 5 des graminées	4	<a href="#">i</a> rPhi p 5b (fléole)
Polygalacturonases	4	<a href="#">i</a>
Groupe 2 des graminées	3	<a href="#">i</a>
Groupe 3 des graminées	3	<a href="#">i</a>
Profilines	3	<a href="#">i</a> rBet v 2 (bouleau) / rPhi p 12 (fléole)
Ole e 1-like	2	<a href="#">i</a> rOle e 1 (olivier)

## CCD prouvés

3





**Croisent également**

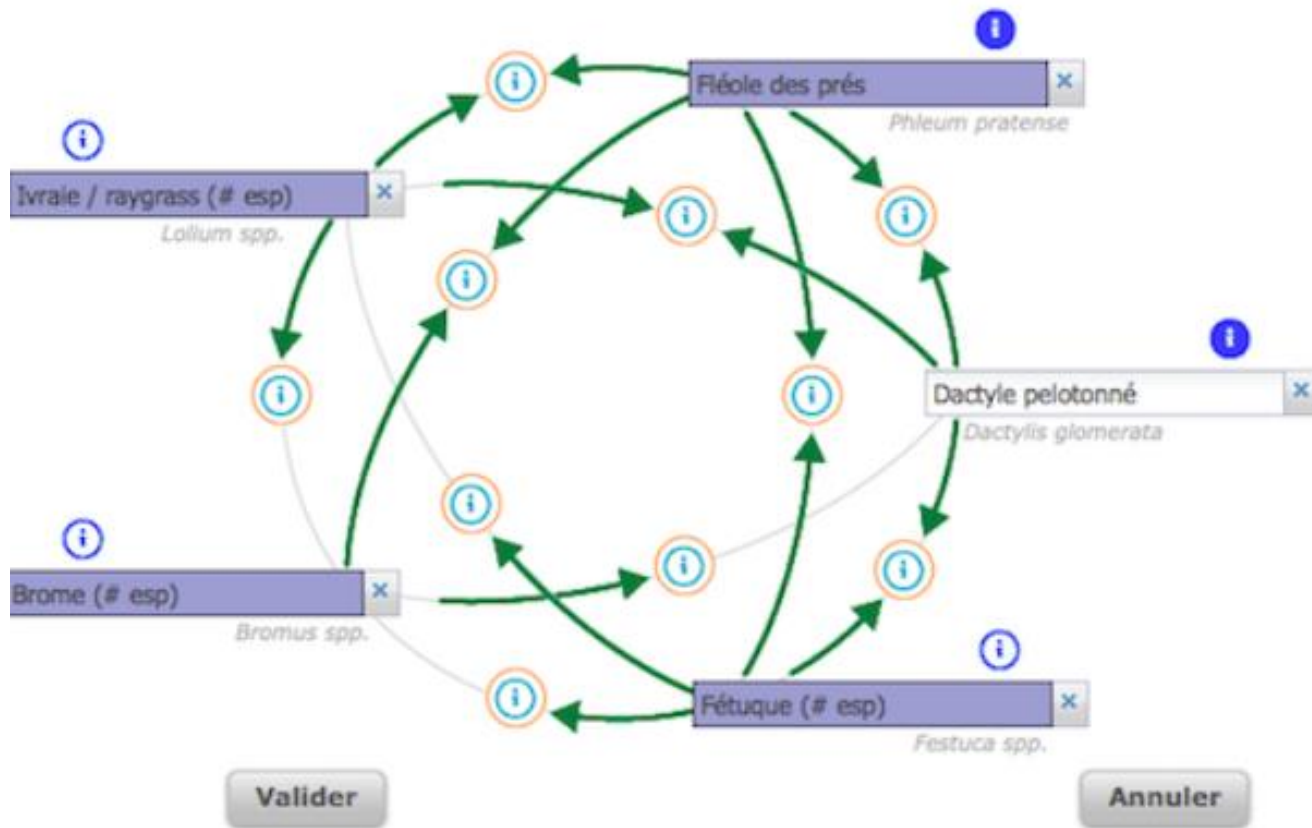
Produit	Nb	
Flouve odorante	5	(i)
Pâturin des prés	5	(i)
Agropyre de l'ouest	4	(i)
Sorgho d'Alep (pollen)	4	(i)
Bouleau	3	(i)
Chiendent digité	3	(i)
Chénopode blanc	3	(i)
Herbe de Bahia	3	(i)
Olivier	3	(i)
Roseau commun	3	(i)
Seigle (pollen)	3	(i)
Agrostide blanche	2	(i)
Agrostide rampante	2	(i)
Ambrosie élevée	2	(i)
Armoise commune	2	(i)
Auline / verne	2	(i)
Avoine (pollen)	2	(i)
Blé (farine)	2	(i)
Blé complet (farine)	2	(i)
Boutelou gracieux	2	(i)
Broméline	2	(i)
Chiendent officinal / Chik	2	(i)
Cyprès blanc	2	(i)
Céleri	2	(i)
Fromental	2	(i)
Frêne élevé	2	(i)
Centifolia...	2	(i)

**Familles moléculaires**

Libellé	Nb	Tests biologiques représentatifs
Béta expansines	5 (i)	rPh1 p 1 (fléole)
Groupe 4 des graminées	5 (i)	nPh1 p 4 (fléole)
Polcalcines (2EF-hand)	5 (i)	rBet v 4 (bouleau) / rPh1 p 7 (fléole)
Groupe 5 des graminées	4 (i)	rPh1 p 5b (fléole)
Polygalacturonases	4 (i)	
Groupe 2 des graminées	3 (i)	
Groupe 3 des graminées	3 (i)	
Profilines	3 (i)	rBet v 2 (bouleau) / rPh1 p 12 (fléole)
Ole e 1-like	2 (i)	rOle e 1 (olivier)

**CCD prouvés**

**3** (i)



Croisent également

Produit	Nb	
Flouve odorante	5	<a href="#">i</a>
Pâturin des prés	5	<a href="#">i</a>
Agropyre de l'ouest	4	<a href="#">i</a>
Sorgho d'Alep (pollen)	4	<a href="#">i</a>
Bouleau	3	<a href="#">i</a>
Chiendent digité	3	<a href="#">i</a>
Chénopode blanc	3	<a href="#">i</a>
Herbe de Bahia	3	<a href="#">i</a>
Olivier	3	<a href="#">i</a>
Roseau commun	3	<a href="#">i</a>
Seigle (pollen)	3	<a href="#">i</a>
Agrostide blanche	2	<a href="#">i</a>
Agrostide rampante	2	<a href="#">i</a>
Ambroisie élevée	2	<a href="#">i</a>
Armoise commune	2	<a href="#">i</a>
Auline / verne	2	<a href="#">i</a>
Avoine (pollen)	2	<a href="#">i</a>
Blé (farine)	2	<a href="#">i</a>
Blé complet (farine)	2	<a href="#">i</a>
Boutelou gracieux	2	<a href="#">i</a>
Broméline	2	<a href="#">i</a>
Chiendent officinal / Chi	2	<a href="#">i</a>
Cyprés blanc	2	<a href="#">i</a>
Céleri	2	<a href="#">i</a>
Fromental	2	<a href="#">i</a>
Frêne élevé	2	<a href="#">i</a>
Convolvulus...	2	<a href="#">i</a>

Familles moléculaires

Libellé	Nb	Tests biologiques représentatifs
Béta expansines	5	<a href="#">i</a> rPhi p 1 (fléole)
Groupe 4 des graminées	5	<a href="#">i</a> nPhi p 4 (fléole)
Poicalcines (2EF-hand)	5	<a href="#">i</a> rBet v 4 (bouleau) / rPhi p 7 (fléole)
Groupe 5 des graminées	4	<a href="#">i</a> rPhi p 5b (fléole)
Polygalacturonases	4	<a href="#">i</a>
Groupe 2 des graminées	3	<a href="#">i</a>
Groupe 3 des graminées	3	<a href="#">i</a>
Profilines	3	<a href="#">i</a> rBet v 2 (bouleau) / rPhi p 12 (fléole)





## Les composants allergéniques ont résolus des problèmes allergologiques :



- **Le pseudo-polysensibilisé** : allergie majeure aux graminées, et tests positifs secondaires à la présence d'IgE vis-à-vis de panallergènes sans signification clinique
- **Les réactions croisées pollens / aliments** : ressemblance moléculaire suffisante entre protéines allergisantes de la même famille expliquant des manifestations contre des pollens et des aliments contenant ces mêmes composants allergéniques
- **Les réactions croisées alimentaires avec manifestations cliniques différentes selon l'allergène en cause** :
  - IgE contre des composants facilement dégradables par les enzymes des muqueuses digestives : ex Bet v 1 → simple syndrome oral sans gravité
  - IgE contre des composants non dégradables : LTP → risque allergique sévère
- **Les sensibilisations à des panallergènes sans allergies cliniques** : témoins d'un contact entre le SI et les allergènes par exemple pollinique

## Mais pas tous les problèmes allergologiques

:

- **Il manque encore beaucoup de données cliniques pour préciser :**
  - **la place de chaque « recombinant » dans la démarche clinique allergologique**
  - **et sa signification exacte**
- **Dosage des IgE : reste un test biologique → limites « systémiques » liées à ce test**
- **Très peu de composants allergéniques par rapport au très grands nombres des allergènes de l'environnement**



Peut-on se passer des IgEs et demander directement les composants ?



+


# Donc il y a un seul « sens » le plus souvent validé :

- Allergène → TC et/ou IgEs positives → explication par les connaissances des composants allergéniques → possibilité de vérification en dosant les IgE vis-à-vis de certains composants ++



- Mais il y n'est pas possible de dire à partir du seul dosage d'un composant allergénique que le patient est réellement allergique :
  - Il est certes sensibilisé = présence d'IgE
  - **Mais il est impossible de prédire si cette sensibilité peut entraîner ou non une réaction allergique**





In conclusion, the above listed advantages of molecular allergy diagnostics mostly refer to an improved detection and discrimination of allergic sensitization. Molecular allergy diagnostics, however, have clear limitations for improving predictions of the clinical outcome. After all, the detection of sIgE is primarily an indicator of "sensitization" and - despite various attempts to integrate clinical data and results of challenge tests - not a decisive predictor of clinical reactivity.

J Kleine-Tebben, T Jakob

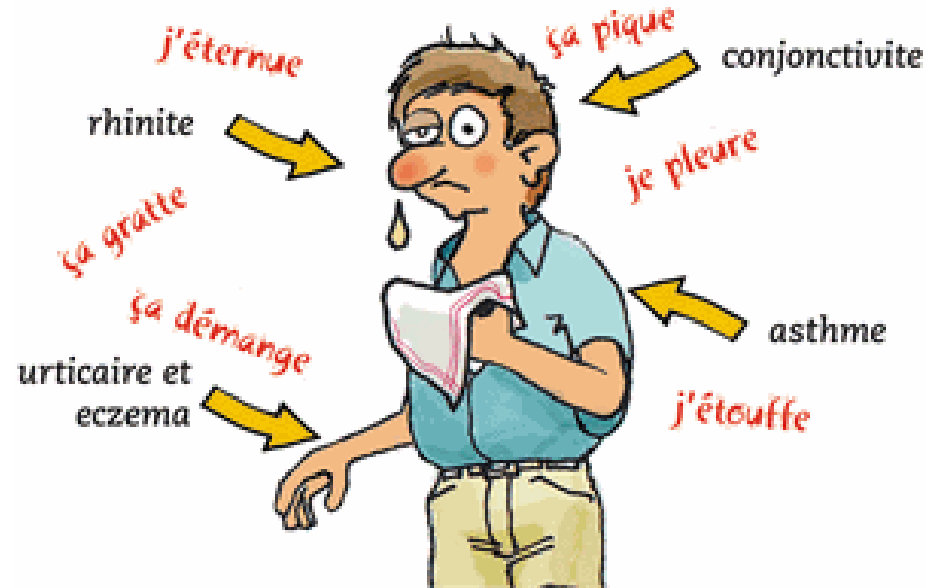
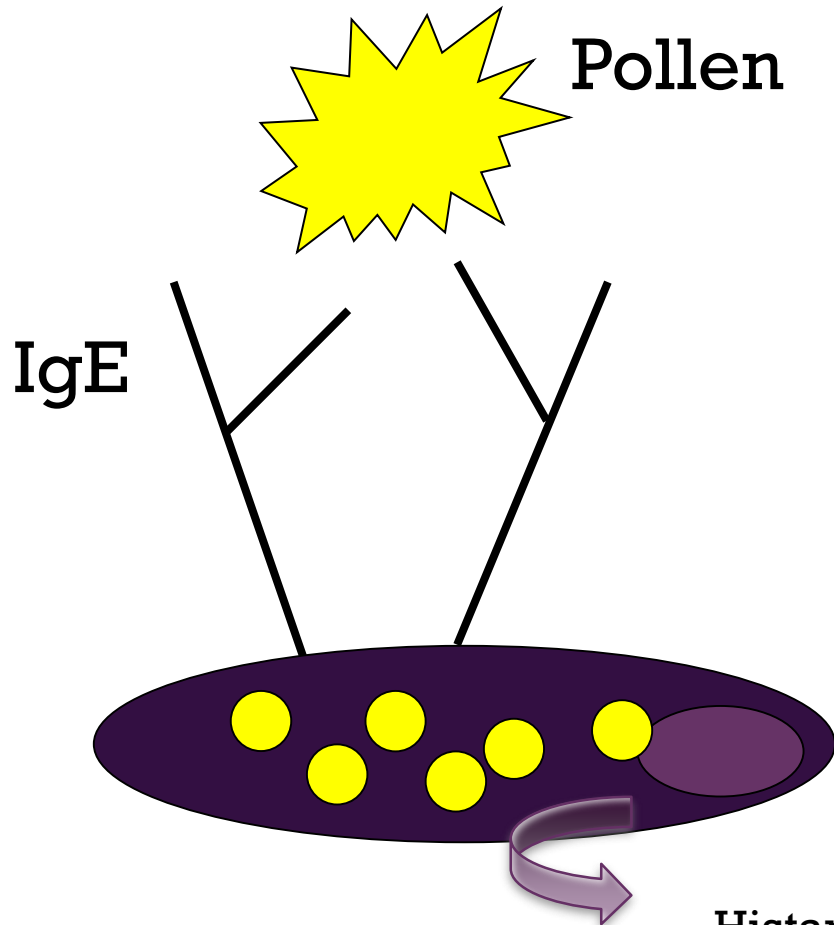
EAACI Molecular Allergology  
User's Guide (2016)

The rule-of-thumb for the diagnostic work-up of Bet v 1-associated allergic reactions concludes: "The physician's interpretation, based on the patient's individual symptoms, and not the outcome of a sensitization test will establish the decision about the clinical relevance of previous diagnostic findings."

**Les composants allergéniques  
à eux seuls ne peuvent prédire  
une allergie clinique**

+

# Place des IgE dans la pollinose

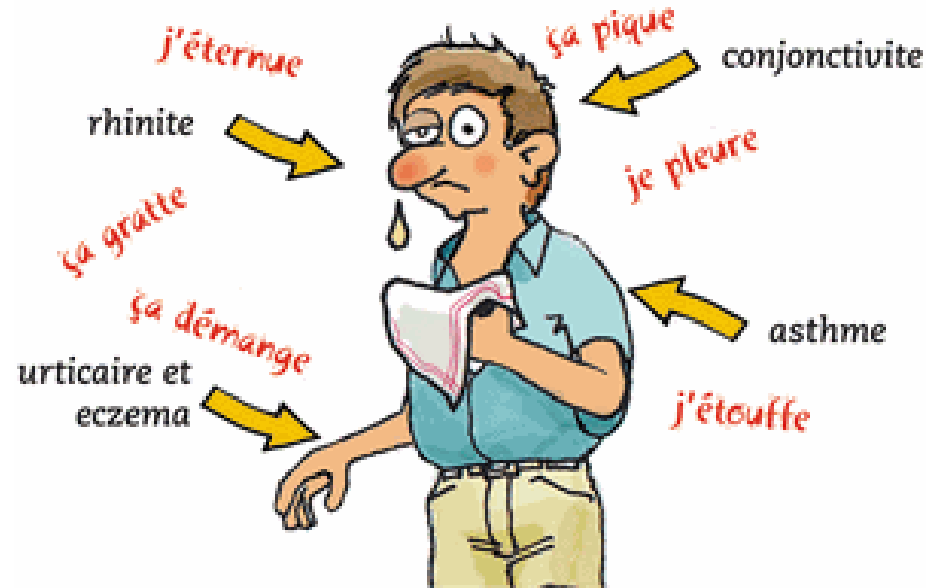
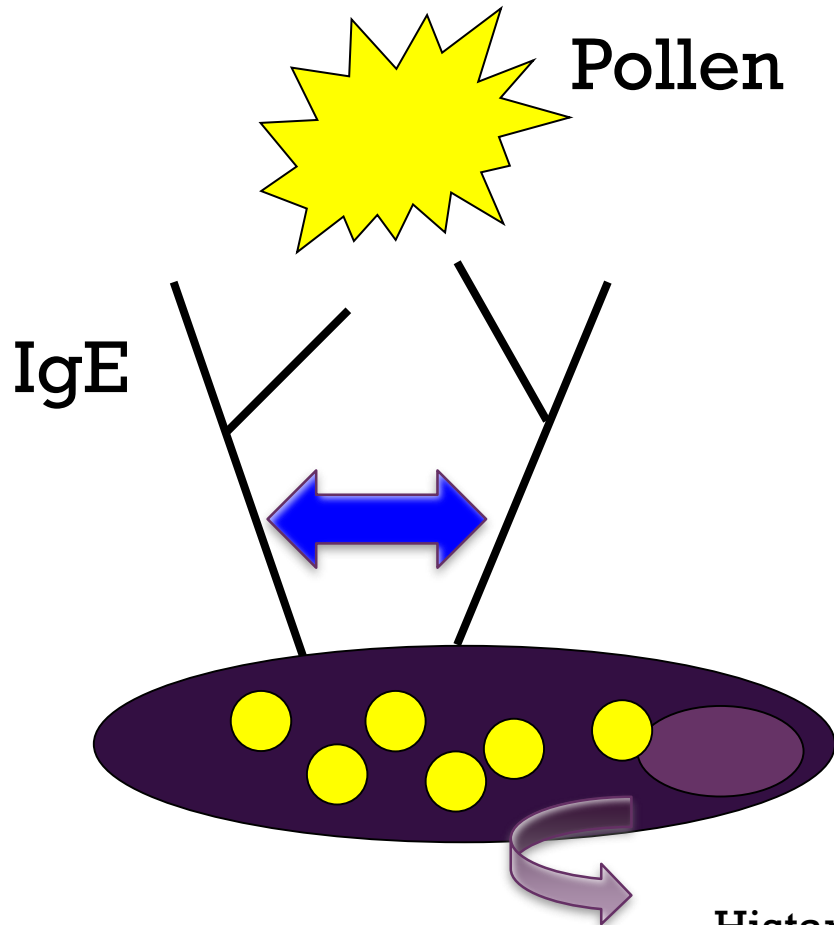


Histamine et autres → Allergie



+

# Place des IgE dans la pollinose

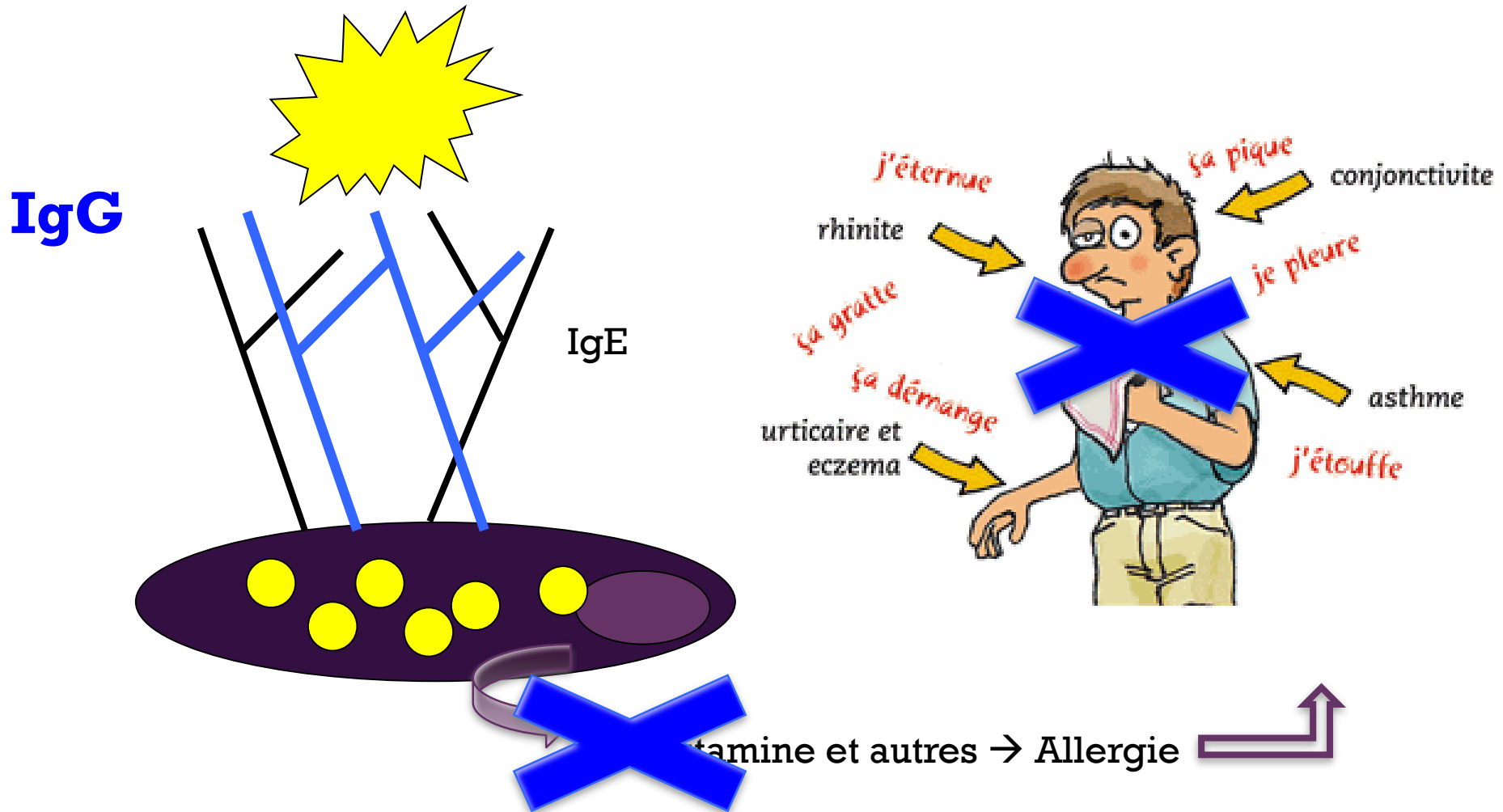


Histamine et autres → Allergie



+

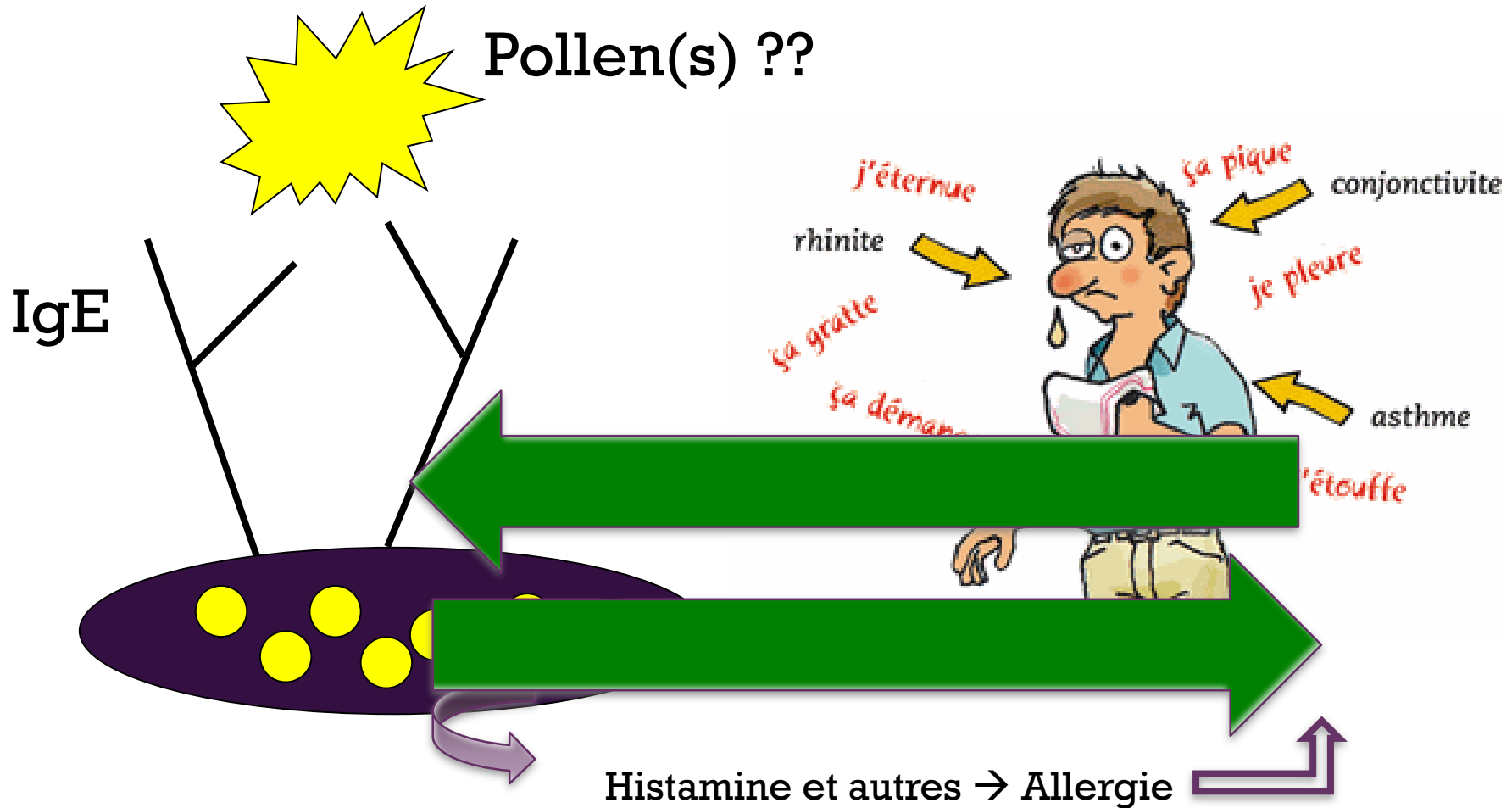
# Place des IgE dans la pollinose





+

# Place des IgE dans la pollinose





# « Gold Standard » diagnostic : test de provocation



- Non réalisable en pratique courante
- Approche indirecte par l'interrogatoire :
  - Calendrier pollinique ++++
  - Les périodes symptomatiques
- Il n'y a pratiquement pas eu de test de provocation avec les composants allergéniques pour vérifier s'ils peuvent réellement induire une réaction allergique



Le « catalogue » actuel disponible de composants pour la pratique est restreint :

- Il y a 108 composants allergéniques pour **46 sources**
- IgEs standards : presque **400 sources +++++**
- **Les composants allergéniques ne sont donc pas tant des méthodes d'exploration d'une allergie qu'un moyen de comprendre de façon plus précise les manifestations cliniques d'un patient allergique**
- Les composants allergéniques cherchent à répondre à un questionnaire : les utiliser « à l'envers » ou sans TC et/ou IgEs préalable expose à un grand risque d'erreur.

# + Intérêt des IgE standards dans la pollinose : premier niveau d'exploration !

## ■ Si accès à un allergologue :

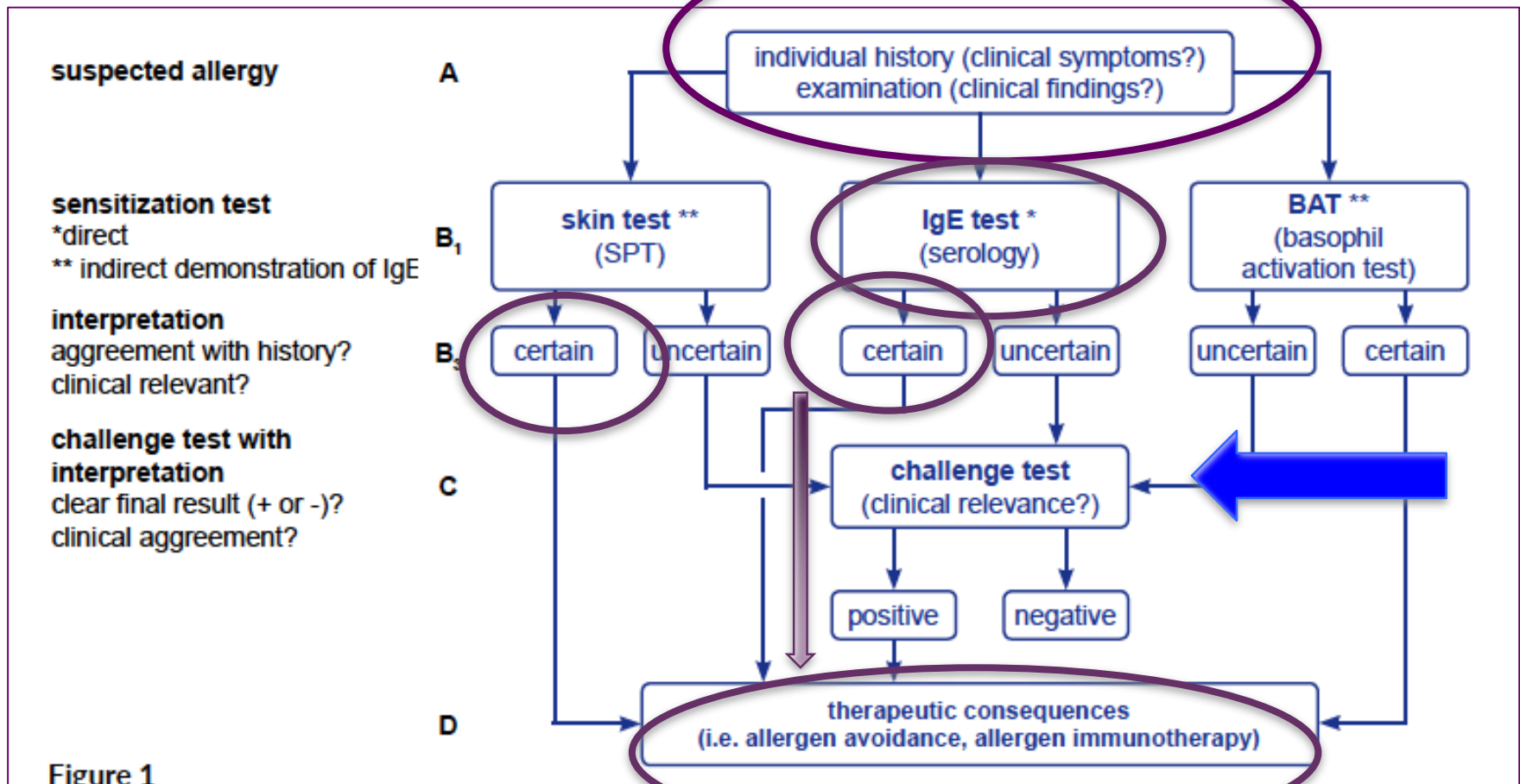
- TC et IgEs : outils complémentaires

## ■ Si pas d'accès à un allergologue :

### ■ IgE standards :

- si négatif : pas d'IgEs vis à vis de tous les composants allergéniques +++
- Si positif : IgEs contre l'extrait → la source est identifiée +++

- Donne un réponse globale : oui le patient à des IgE vis-à-vis de l'allergène source exploré, non le patient n'est pas sensibilisé à cette source allergénique.
- Cela peut être suffisant si bonne corrélation : symptômes / saison / calendrier pollinique
- Allerdata +++



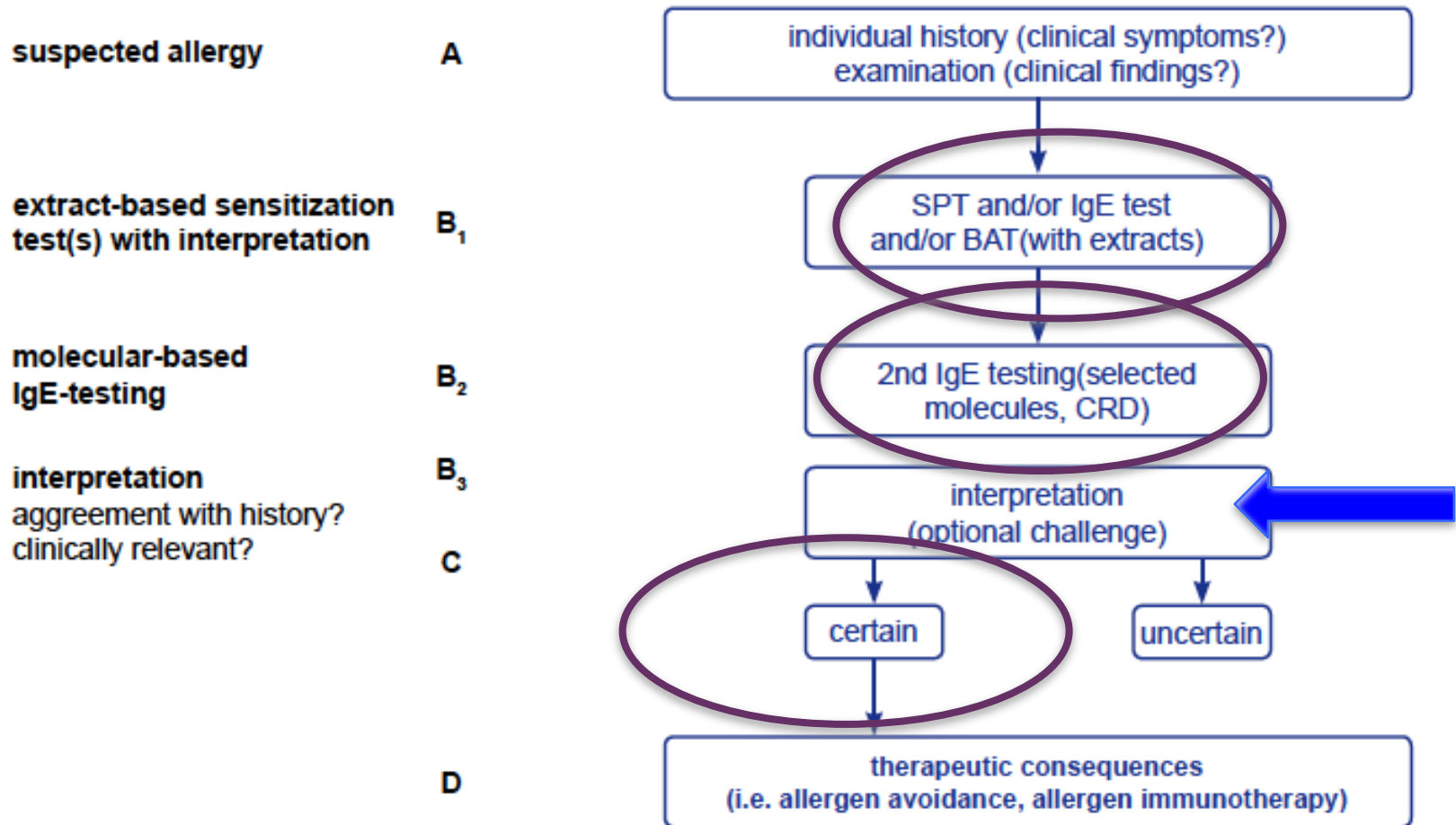
## Interprétation « upgradée » des TC et des IgEs



## Intérêt des composants allergéniques dans les allergies aux pollens : 2<sup>o</sup> niveau d'exploration



- *Beaucoup de positivités mais sans pertinence clinique* : réactivité croisée ? → Etude des composants +++
- *Allergie aux pollens et manifestations allergique alimentaires* : réactivité croisée ? Evaluation du risque allergique ? → Etude des composants +++
- *Une immunothérapie est envisagée* : il faut vérifier l'adéquation entre l'extrait proposé pour l'ITS et la place de cet extrait dans les manifestations allergiques du patient :
  - S'il n'est pas sensibilisé à l'allergène majeur de l'extrait utilisé dans l'immunothérapie → inutile
  - Mais à discuter au cas par cas en fonction de l'allergène proposé pour l'ITS et du « process » de fabrication de l'extrait qui peut être caractérisé ou non par sa teneur en certains composants allergéniques.





# Conclusion (1):

- 2 outils : IgE standards et IgE composants allergéniques
- Composants allergéniques : un formidable outil de compréhension
- Ils ne sont pas opposables mais complémentaires
- **L'un dépiste, l'autre précise ++++**
- Attention dans l'utilisation des composants à titre systématique en première intention :
  - risque majeur d'interprétation erronée
  - Une sensibilisation ne prouve pas une allergie : risque d'éviction par exemple alimentaire inconsidérée et sans aucune pertinence





## Conclusion (2):

- Composants : outils nouveaux ++++ beaucoup de progrès à venir !
- Les composants sont très importants pour mieux caractériser les contenus allergéniques des allergènes sources :
  - On peut donc espérer dans l'avenir des extraits très performants pour la pratique des tests cutanés
  - Et également pour les dépistages d'allergie par une prise de sang simple avec des IgE standards
  - Devrait permettre une optimisation des extraits utilisés pour l'immunothérapie spécifique



# + Comment faire le diagnostic d'une allergie pollinique ?

- Des outils diagnostics permettent de mettre en évidence la présence d'IgE spécifique d'un allergène :
  - L'anamnèse : unité de temps et de lieu avec des manifestations cliniques liées à la libération d'histamine
    - Compte pollinique +++
  - Les test cutanés : reproduction d'une réaction allergique au niveau de l'épiderme
    - Qualité de l'extrait +++
  - Dosage des IgE spécifiques sanguins ou dans les fluides (nasals, bronchiques etc.)
    - Qualité de l'extrait +++
  - Le test de provocation : rencontre forcée entre le patient et le/les allergènes identifiés (Gold standard)
    - Chambre d'exposition
    - Compliqué +++

# + Précisions sur les termes employés :

- « recombinants » : molécules allergéniques produites par génie génétique.
- Mais il y a aussi des molécules obtenues par séparation physico-chimiques : molécules « naturelles »
- Donc il est préférable de parler de « component-resolved - diagnosis » et en français de « composants allergéniques »

## ■ On a donc :

- Des allergènes
- Des composants allergéniques

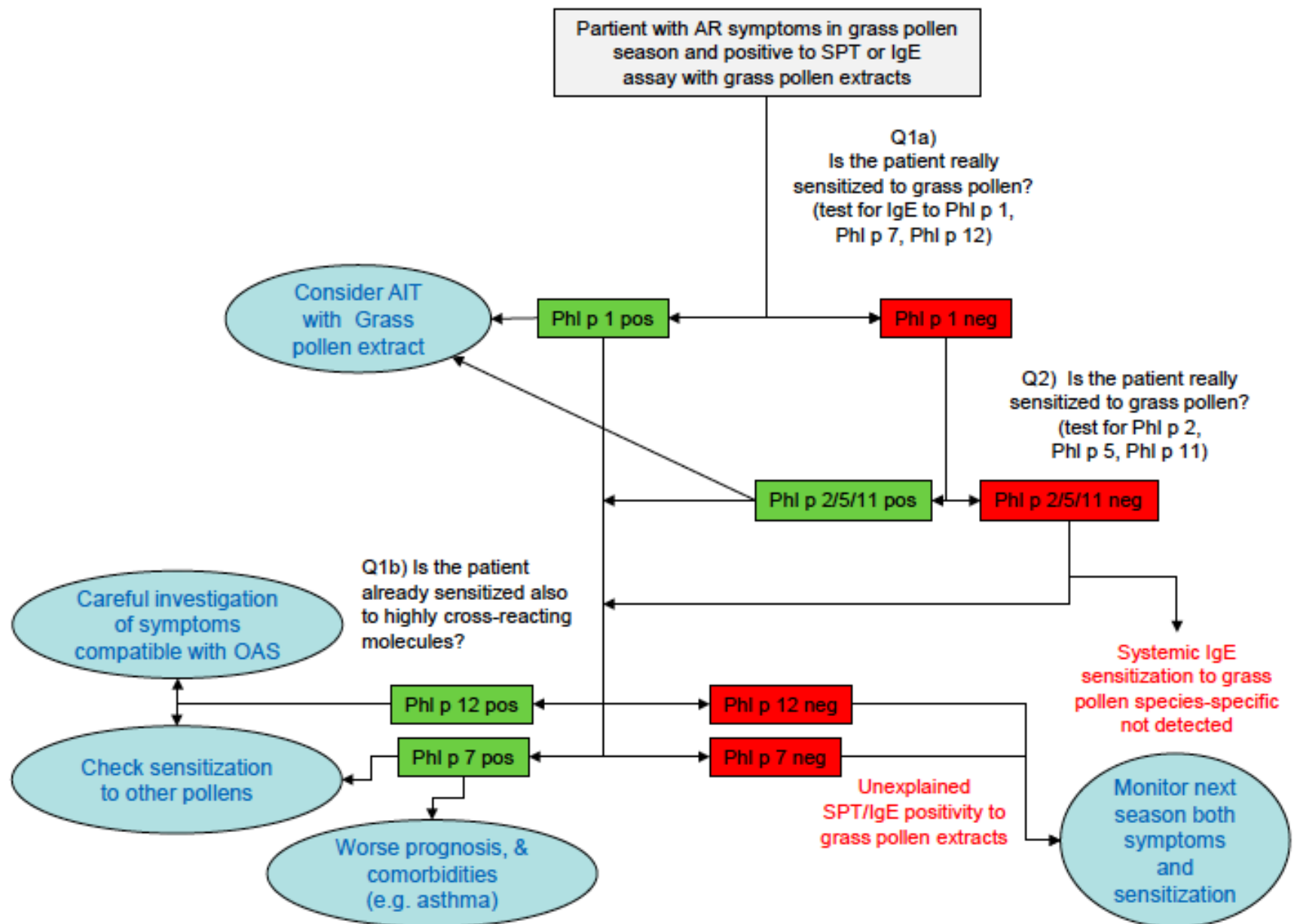
→ Les allergènes d'hier sont aujourd'hui des « sources » de composants allergéniques



# L'allergologue a donc à sa disposition 2 niveaux d'exploration

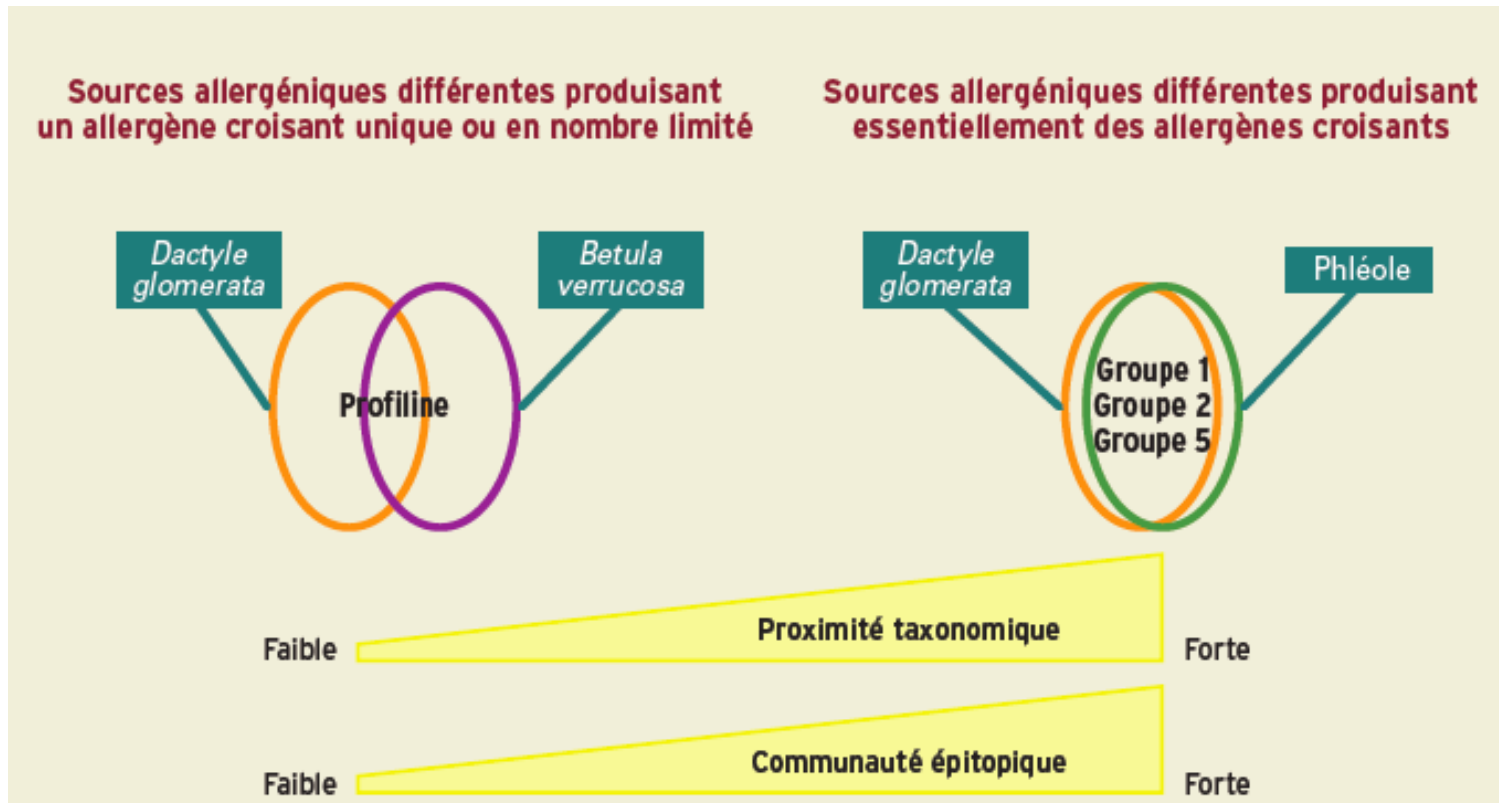


- Un premier niveau :
  - Identification des allergènes pouvant être impliqués dans les manifestations allergiques de son patient
  - Les outils d'identification des sources allergéniques :
    - Interrogatoire
    - Tests cutanés
    - IgE standards : dactyle, bouleau etc.
  
- Un second niveau :
  - Identification des composants allergéniques impliqués pour une compréhension moléculaire de l'allergie du patient
  - Outils : tests biologiques → prise de sang, délai et coût





# Notion d'homologie





# Des problèmes sont apparus...

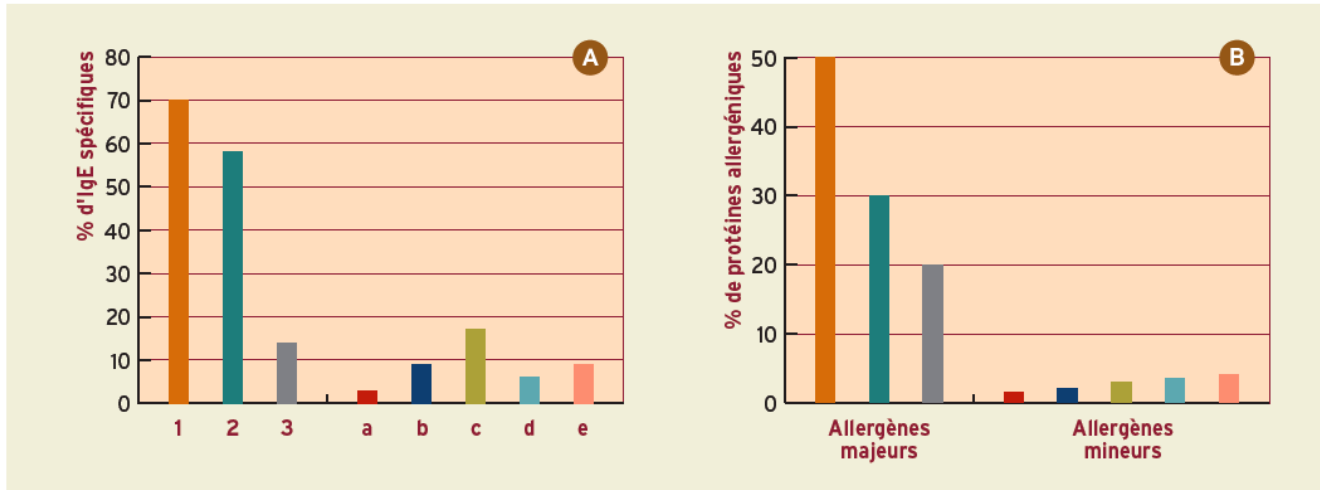


- IgEs à priori mieux que TC ?
  - aucune étude n'a permis de trancher la question
  - Le problème est la nature de **l'extrait qui n'est pas le même** ! L'un peut être meilleur que l'autre pour chaque allergène (TC ou IgEs) ++
  - **Variation des extraits**
- Des patients ont des IgEs positives pour de très nombreux pollens bien que gênés seulement lors de certaines périodes polliniques ? **Polyallergiques ou polysensibilisés ? Et à quoi ?**
- Certains patients allergiques aux pollens développent préférentiellement certaines **allergies alimentaires** ? Et de **gravité très variable selon les patients** ?
- Des patients ont des **IgE positives à des allergènes mais aucune manifestation clinique** ?





# Tous les composants allergéniques ne sont pas équivalents : Majeurs et Mineurs, Panallergènes



**Figure 1** Spectrotype d'un patient (A) et contenu en protéines allergéniques d'un extrait allergénique (B). Réponse IgE prédominante vis-à-vis des allergènes majeurs 1 et 2, faible réponse vis-à-vis de l'allergène mineur C.

Allergène majeur → toujours présent si allergie, donc on considère qu'il signe une allergie clinique (ex Bet v 1)

Allergènes mineurs, plus rarement positifs (ex Bet v 3, 4 ...)

→ marqueur de sensibilisation le plus souvent

→ panallergènes : profilines, polcalcines, CCD (allergie croisée pollens/aliments)



## Développement de la notion de Réactivité croisée :

- Les épitopes moléculaires sont des protéines de structure
- Ces protéines participent au développement, à la croissance et aux mécanismes de défenses de la plante
- Elles appartiennent à des familles qui ont des fonctions identiques dans le règne végétal
- Il y a donc logiquement des **homologies** possibles entre les différentes protéines fonctionnelles d'une même famille
- S'il y a au moins 25% d'homologies → réactivité croisée





## Determination of sIgE to rPhl p 1 is sufficient to diagnose grass pollen allergy

D. Bokanovic<sup>1</sup>, W. Aberer<sup>1</sup>, W. Hemmer<sup>2</sup>, A. Heinemann<sup>3</sup>, P. Komericki<sup>1</sup>, J. Scheffel<sup>4</sup> & G. J. Sturm<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Dermatology and Venereology, Medical University of Graz; <sup>2</sup>Floridsdorf Allergy Center, Vienna; <sup>3</sup>Institute of Experimental and Clinical Pharmacology, Medical University of Graz, Austria; <sup>4</sup>Laboratory of Molecular Immunogenetics, National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

---

**To cite this article:** Bokanovic D, Aberer W, Hemmer W, Heinemann A, Komericki P, Scheffel J, Sturm GJ. Determination of sIgE to rPhl p 1 is sufficient to diagnose grass pollen allergy. *Allergy* 2013; **68**: 1403–1409.



# Un nouveau regard sur les IgE standards :



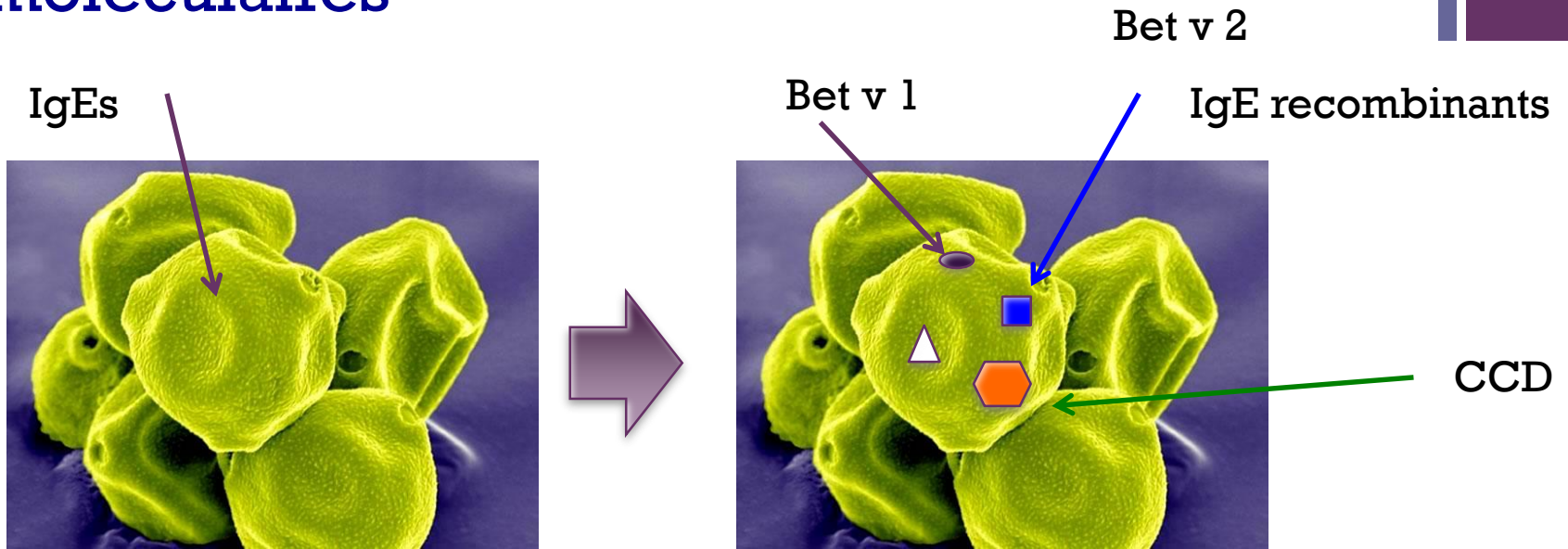
- Tous les allergènes « extraits » peuvent exprimer des CCD
  - Pour interpréter correctement des résultats de dosage d'IgE spécifiques, il faudrait s'assurer systématiquement qu'il n'y ait pas reconnaissance par les IgE des CCD
  - Sinon ininterprétable → dosages de composants allergéniques +++
- Un extrait contient beaucoup, beaucoup de composants allergéniques : on a également pu enrichir des extraits qui ne contenaient pas suffisamment certains composants (latex)
- Il est très difficile voir impossible de « reconstituer » un extrait total à partir de l'addition des composants allergéniques :
  - On en découvre des nouveaux tous les jours ou presque
  - La notion d'allergènes majeurs est « géographiquement » dépendant
  - Difficile de passer d'une statistique générale à un cas individuel

# La révolution des composants moléculaires :

- **Des patients considérés auparavant comme identiques peuvent être en fait très différents :**
  - *A l'échelle macromoléculaire* : IgEs positives au bouleau → on a toujours considéré tous les patients positifs comme pareillement allergiques au bouleau
  - *Mais à l'échelle moléculaire* : les patients pour une exploration d'allergie au bouleau peuvent avoir des profils de sensibilisation très différents : Ex :
    - IgEs bouleau positive : mais positivité essentiellement à Bet v 1
    - IgEs bouleau positive : mais positivité surtout à Bet v 3 et 4 ou Bet v 2 seul etc....
  - **Donc des profils différents pour une même exposition allergénique → est-ce important ?**



# 2° révolution : Une nouvelle vision des allergènes. Connaissances immunologiques moléculaires



Extrait classique  
Du pollen de bouleau

Protéines de structure →

- Bet v 1 : ribonucléase → PR10
- Bet v 2 : profilines
- Bet v 3, Bet v 4 : polcalcines
- Bet v 6 : isoflavone reductase
- Bet v 7 : cyclophiline
- Bet v 8 : glutathion-S-transferase etc.



# Pourquoi faire la différence entre allergènes « naturels » et « recombinants » ?



## ■ Allergènes naturels :

- Présence de CCD
- Résidus glycosylés commun à beaucoup d'allergènes naturels
- Si des IgE reconnaissent les CCD → facteur de confusion, interprétation impossible ++++
- Il faut donc s'assurer que le test CCD est négatif pour valider les résultats reposant sur les composants allergéniques naturels
  - Ex : n Ole e 7 (n = naturelle) → recherche IgE MUXF3 +++

## ■ Les allergènes recombinants n'expriment pas ces CCD

- Ex : r Bet v 1 (r = recombinant)
- Donc pas de confusion dans l'interprétation d'une positivité