

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 2010



THESE N° 3327 / 1

**LES ALLERGENES MOLECULAIRES : ETUDE SUR UNE
POPULATION PEDIATRIQUE DES TESTS SIEMENS®
DES ACARIENS, DU CHAT ET DU CHIEN**

MEMOIRE

Pour le DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE

TENANT LIEU DE

THESE

Pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présenté et soutenu publiquement le 13 octobre 2010

Par

Florence JACOMET

Née le 21 octobre 1978 à Boulogne (92)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : S.Rogez, Professeur, UFR Pharmacie, Limoges

Juges :

D.Caillaud, Professeur, UFR Médecine, Clermont-Ferrand

MP. Vasson, Professeur, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand

A.Tridon, Maître de Conférence Universitaire, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand

Directeur de thèse : B.Evrard, Praticien Hospitalo-Universitaire, UFR Médecine, Clermont-Ferrand



**LES ALLERGENES MOLECULAIRES : ETUDE SUR UNE
POPULATION PEDIATRIQUE DES TESTS SIEMENS®
DES ACARIENS, DU CHAT ET DU CHIEN**

MEMOIRE

Pour le DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE

TENANT LIEU DE

THESE

Pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présenté et soutenu publiquement le 13 octobre 2010

Par

Florence JACOMET

Née le 21 octobre 1978 à Boulogne (92)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : S.Rogez, Professeur, UFR Pharmacie, Limoges

Juges :

D.Caillaud, Professeur, UFR Médecine, Clermont-Ferrand

MP. Vasson, Professeur, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand

A.Tridon, Maître de Conférence Universitaire, UFR Pharmacie, Clermont-Ferrand

Directeur de thèse : B.Evrard, Praticien Hospitalo-Universitaire, UFR Médecine, Clermont-Ferrand

DOYEN DE LA FACULTE

Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

VICE-DOYEN

Monsieur le Professeur **CARDOT** Philippe

VICE-DOYEN

Madame **FAGNERE** Catherine, Maître de Conférences

PROFESSEURS

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
BOTINEAU Michel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DREYFUSS Gilles	PARASITOLOGIE - MYCOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	PHYSIQUE - BIOPHYSIQUE
LOUDART Nicole	PHARMACOLOGIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE - HYDROLOGIE - ENVIRONNEMENT
ROGEZ Sylvie	BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN GIRY Karine	PHARMACIE GALENIQUE
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, MATHÉMATIQUES, INFORMATIQUE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE
COMBY Francis	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
DELEBASSEE Sylvie	BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
DREYFUSS Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
LIAGRE Bertrand	SCIENCES BIOLOGIQUES
LOTFI Hayat	TOXICOLOGIE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE
MOREAU Jeanne	IMMUNOLOGIE
POUGET Christelle	CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE A LA THÉRAPEUTIQUE
ROUSSEAU Annick	BIOMATHÉMATIQUES
SIMON Alain	CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINÉRALE
TROUILLAS Patrick	BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE
	PHARMACEUTIQUE
VIANA Marylène	PHARMACOTECHNIE
VIGNOLES Philippe	BIOMATHÉMATIQUES

PROFESSEUR CERTIFIE

MARBOUYT Jean-Michel	ANGLAIS
-----------------------------	---------

REMERCIEMENTS

AU PRESIDENT DE THESE

Madame le Professeur Sylvie ROGEZ

Je vous remercie d'avoir accepté si promptement de présider ce jury.

Veillez trouver ici le témoignage de mon estime et de ma reconnaissance.

AU DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Docteur Bertrand EVRARD

Qui m'a proposé ce sujet passionnant.

Qui a guidé et encadré ce travail avec compétence, bienveillance et sympathie.

Je tiens à te remercier pour ton optimisme et ta bonne humeur.

AU JURY DE THESE

A Monsieur le Professeur Denis CAILLAUD

Je vous suis très reconnaissante de participer à l'évaluation de ce travail.

Vous me faites l'honneur d'apporter votre vision de clinicien.

Soyez assurée de ma gratitude.

A Madame le Professeur Marie Paule VASSON

Je vous remercie de l'intérêt que vous me portez en acceptant de faire partie de ce jury.

Veillez trouver ici le gage de ma reconnaissance et de mon respect.

A Madame le Docteur Arlette TRIDON

Qui me faire l'honneur de juger ce travail.

Je tiens à vous remercier pour votre gentillesse et votre disponibilité.

Merci au Docteur Sylvie UGHETTO pour son aide à l'analyse statistique.

Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire d'Immunologie pour son aide et son soutien: Brigitte, Annie, Vivianne, Joëlle, Christine, Aude, Gisèle, Véronique.

A mes parents qui m'ont toujours encouragée.

A mon frère Etienne, qui m'as toujours soutenue.

A ma famille.

A mes amis.

TABLE DES MATIERES

I.	INTRODUCTION.....	12
II.	PARTIE 1 : GENERALITES	14
A.	L'ALLERGIE IGE-DEPENDANTE	14
1.	<i>Terrain atopique.....</i>	<i>14</i>
2.	<i>Mécanisme de l'allergie</i>	<i>15</i>
2.1	Classification de Gell et Coombs	15
2.2	Classification EAACI.....	16
2.3	Mécanisme de l'hypersensibilité immunologique IgE- dépendante	17
(1)	Phase de sensibilisation.....	17
(2)	Phase de déclenchement.....	18
(3)	Régulation du système	19
3.	<i>Grandes familles d'allergènes.....</i>	<i>19</i>
3.1	Pneumallergènes.....	20
(1)	Pneumallergènes de l'environnement intérieur	20
(2)	Pneumallergènes de l'environnement extérieur.....	21
3.2	Trophallergènes	21
3.3	Autres : médicaments, venins, latex	22
4.	<i>Diagnostic de l'allergie.....</i>	<i>23</i>
4.1	Interrogatoire clinique	23
4.2	Tests cutanés	23
4.3	Tests de provocation.....	24
4.4	Diagnostic biologique.....	25
(1)	Mise en évidence d'une atopie.....	25
(2)	Dosage des IgE spécifiques	25
4.5	Autres tests	26
(1)	CAST® (Test de Stimulation Cellulaire par un Allergène).....	26
(2)	Test de dégranulation des basophiles	27
(3)	Dosage de la protéine cationique de l'éosinophile (ECP)	27
5.	<i>Traitement étiologique de l'allergie : immunothérapie spécifique.....</i>	<i>27</i>
5.1	Mécanisme de l'immunothérapie spécifique	28
5.2	Modalité de l'ITS	29
5.3	Indication de l'ITS.....	29
5.4	Désensibilisation et grossesse.....	30
5.5	Effets indésirables et problèmes de l'ITS	30
B.	LES ALLERGENES MOLECULAIRES	31
1.	<i>Définitions</i>	<i>31</i>
2.	<i>Extraits allergéniques et allergènes moléculaires.....</i>	<i>31</i>
2.1	Extraits allergéniques	31
2.2	Allergènes moléculaires	32
(1)	Allergènes recombinants et allergènes naturels purifiés.....	32
(2)	Nomenclature.....	33

(3) Classification.....	33
(4) Production des allergènes recombinants	34
(5) Validation des allergènes recombinants	35
3. <i>Allergènes majeurs, mineurs et panallergènes</i>	36
3.1 Allergènes majeurs et mineurs.....	36
3.2 Panallergènes.....	36
3.3 Quelques exemples.....	37
(1) Allergènes d'origine végétale.....	37
(2) Allergènes d'origine animale	39
4. <i>Les déterminants carbohydrates</i>	39
5. <i>Apport des allergènes moléculaires</i>	40
5.1 Production d'allergènes	40
5.2 Allergènes moléculaires et exposition	41
(1) Les pollens	41
(2) Le latex	41
5.3 Allergènes moléculaires et réactivité croisée biologique.....	42
(1) Les pollens	42
(2) La tropomyosine	43
5.4 Allergènes moléculaires et allergies croisées (réactivité croisée clinique).....	44
(1) Allergies croisées entre le latex et certains fruits ou pollens.....	44
(2) Allergies croisées entre le pollen de bouleau et les Rosacées	44
5.5 Allergènes moléculaires et sévérité clinique.....	45
(1) Arachide.....	45
(2) Rosacées.....	46
5.6 Allergènes moléculaires et traitement.....	46
III. PARTIE 2 : LES ALLERGIES AUX ACARIENS, AU CHAT ET AU CHIEN	48
A. GENERALITES SUR L'ALLERGIE AUX ACARIENS, AU CHAT ET AU CHIEN	48
1. <i>Allergie aux acariens</i>	48
1.1 Les acariens	48
(1) Classification et morphologie.....	48
(2) Espèces responsables d'allergie (2,16,17,22, 63,65).....	48
(3) Biologie et écologie	49
(4) Les allergènes.....	50
1.2 Pathologies	51
1.3 Diagnostic.....	51
1.4 Traitement étiologique.....	52
2. <i>Allergie au chat et au chien</i>	53
2.1 Les allergènes.....	53
(1) Allergènes du chat.....	53
(2) Allergènes du chien.....	53
2.2 Pathologies	53
2.3 Diagnostic.....	54
2.4 Traitement étiologique.....	54
B. APPORT DES FRACTIONS ALLERGENIQUES AU DIAGNOSTIC ET AU TRAITEMENT DE L'ALLERGIE	56
1. <i>Allergie aux acariens</i>	56
1.1 Les différentes fractions allergéniques	56

1.2	Apport au diagnostic.....	60
(1)	Validité par rapport aux extraits globaux	60
(2)	Intérêt dans la détermination du spectrotype.....	60
(3)	Identification des réactions croisées.....	61
1.3	Apport au traitement.....	61
(1)	Choix des patients pouvant bénéficier d'une ITS.....	61
(2)	Utilisation des fractions dans l'ITS	61
2.	<i>Allergie au chat et au chien</i>	62
2.1	Les différentes fractions allergéniques du chat.....	62
(1)	Fel d 1	62
(2)	Fel d 2	63
(3)	Fel d 3	64
(4)	Fel d 4	64
(5)	Immunoglobulines du chat.....	65
(6)	Fel d 7	65
(7)	La protéine BASE	66
2.2	Les différentes fractions allergéniques du chien.....	66
(1)	Can f 1.....	66
(2)	Can f 2.....	67
(3)	Can f 3.....	68
(4)	Can f 4.....	68
(5)	Can f 5.....	69
(6)	Fel d 1 like	69
(7)	Autres allergènes.....	69
2.3	Apport au diagnostic : aide à l'interprétation des polysensibilisations (cosensibilisation ou réactivité croisée)	70
(1)	Les lipocalines	70
(2)	Fel d 1 et Can f 1 – Can f 2	70
(3)	L'albumine	71
(4)	Fel d 1 et Fel d 1 like.....	71
2.4	Apport au traitement.....	72

IV. PARTIE 3 : EVALUATION SUR UNE POPULATION PEDIATRIQUE DES ALLERGENES MOLECULAIRES SIEMENS® DES ACARIENS, DU CHAT ET DU CHIEN..... 73

A.	INTRODUCTION	73
B.	MATERIEL ET METHODES	73
1.	<i>Patients</i>	73
1.1	Acariens.....	73
1.2	Chat, chien.....	74
2.	<i>Dosage des IgE spécifiques sur l'automate Immulite®</i>	75
2.1	Prélèvements	75
2.2	Principe du dosage.....	75
2.3	Allergènes.....	76
(1)	Allergènes des acariens.....	76
(2)	Allergènes du chat et du chien	76
3.	<i>Etude statistique</i>	77
C.	RESULTAT DE LA POPULATION ACARIEN	78

1.	<i>Validation des allergènes moléculaires</i>	78
1.1	Test de corrélation.....	78
	(1) Corrélation tests cutanés – dosage des IgE spécifiques.....	78
	(2) Corrélation entre les dosages d'IgE spécifiques (extrait globaux et allergènes moléculaires) ...	78
	(3) Corrélation des dosages des IgE spécifiques anti-allergènes moléculaires les uns par rapport aux autres.....	79
1.2	Sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative, concordance.....	79
	(1) Estimation de la sensibilité dans notre population	80
	(2) Estimation de la spécificité dans notre population	80
	(3) Estimation de la valeur prédictive positive (VPP) et de la valeur prédictive négative (VPN) dans notre population	81
	(4) Estimation de la sensibilité, de la spécificité, de la VPP et de la VPN par rapport à l'association des deux extraits globaux D1 et D2.....	82
	(5) Estimation de la concordance dans notre population au seuil de 0,35 kU/l.....	82
2.	<i>Aspect quantitatif</i>	83
3.	<i>Spectrotype des patients allergiques aux acariens</i>	83
3.1	Cas général.....	83
3.2	Cas particuliers.....	83
	(1) Patients monosensibilisés.....	83
	(2) Cas 19 et 21.....	84
4.	<i>Identification de réactions croisées</i>	84
D.	DISCUSSION SUR LA POPULATION ACARIEN.....	86
1.	<i>Validation des allergènes moléculaires</i>	86
1.1	Corrélation par rapport aux tests cutanés et autres IgE spécifiques.....	86
	(1) Entre les tests cutanés et les dosages des IgE spécifiques.....	86
	(2) Entre les dosages d'IgE spécifiques (extrait globaux et allergènes moléculaires).....	87
1.2	Performances statistiques de ces tests.....	87
1.3	Analyse quantitative.....	88
2.	<i>Elaboration de stratégies diagnostiques et cliniques de ces tests</i>	88
2.1	Distinction entre D1 et D2.....	88
2.2	Choix des fractions allergéniques à doser en pratique quotidienne.....	89
2.3	Détermination des spectrotypes : identification des patients monosensibilisés.....	90
3.	<i>Réactions croisées</i>	90
E.	RESULTAT DE LA POPULATION CHAT ET CHIEN.....	92
1.	<i>Validation des allergènes moléculaires</i>	92
1.1	Test de corrélation.....	92
	(1) Tests cutanés et extraits globaux.....	92
	(2) Tests cutanés et allergènes moléculaires.....	92
	(3) Evaluation des tests cutanés.....	92
	(4) Extraits globaux et allergènes moléculaires.....	93
	(5) Allergènes moléculaires entre eux.....	93
1.2	Caractéristiques statistiques des tests et comparaison des positivités.....	93
1.3	Analyse quantitative.....	94
2.	<i>Intérêts cliniques</i>	94
2.1	Distinction entre sensibilisation et allergie.....	94
2.2	Les différents spectrotypes.....	95

(1) Cas général.....	95
(2) Patients multisensibilisés	95
(3) Faux positif de nCan f 1	96
3. <i>Identification de réactions croisées</i>	96
3.1 Distinction entre l'allergie au chat et au chien par nFel d 1 et nCan f 1	96
3.2 Distinction entre l'allergie au chat et au chien par l'albumine	97
F. DISCUSSION SUR LA POPULATION CHAT ET CHIEN	98
1. <i>Validation des allergènes moléculaires</i>	98
1.1 Corrélation.....	98
(1) Par rapport aux tests cutanés	98
(2) Extraits globaux et allergènes moléculaires	98
(3) Allergènes moléculaires entre eux	99
1.2 Estimation de la concordance et comparaison des positivités.....	100
1.3 Analyse quantitative.....	100
2. <i>Elaboration de stratégies diagnostiques et cliniques : identification des différents spectrotypes</i>	101
2.1 Distinction entre sensibilisation et allergie	101
2.2 Identification des différents spectrotypes	101
3. <i>Identification des réactions croisées : distinction entre l'allergie au chat et au chien</i>	102
3.1 Par les allergènes majeurs nFel d 1 et nCan f 1	102
3.2 Par l'albumine	103
V. CONCLUSION	105
A. ACARIEN	105
B. CHAT ET CHIEN.....	106
C. PERSPECTIVES	106
ANNEXES	108

I. Introduction

Les maladies respiratoires IgE-dépendantes, en particulier l'asthme et la rhinite sont en augmentation ces 20 dernières années, dans les pays industrialisés comme dans les pays où elles étaient absentes jusque là (1-3). La prévalence de la rhinite allergique chez le jeune adulte à Paris est passée de 3,8% en 1968 à 10,2% en 1982 et 28,5% 1992 (2). Dans la population générale française, la prévalence de la rhinite allergique (RA) était estimée à 24.5% en 2004 (dont un tiers de RA persistantes) et 31% en 2006 (4,5). En France, à Paris chez le jeune adulte, la prévalence de l'asthme est passée de 3,3% en 1968 à 5,4% en 1982 et 13,9% en 1992 (2). Dans la population générale (tous âges confondus), elle est passée de 5.8% en 1998 à 6.7% en 2006 (6). Plusieurs hypothèses ont été suggérées pour expliquer cette évolution, dont l'impact des facteurs environnementaux : augmentation de l'exposition aux allergènes favorisée par la présence plus fréquente d'animaux de compagnie, l'augmentation de la température dans les habitations, la pollution atmosphérique, l'augmentation du temps passé à l'intérieur ... (1,2,7).

Parmi les pneumallergènes de l'environnement intérieur, l'allergie aux acariens est la cause la plus fréquente d'allergie chez les asthmatiques (jusqu'à 85 % selon les pays) (8). Le chat vient en seconde position, après les acariens, pour la fréquence des manifestations allergiques respiratoires (rhinoconjonctivites et asthme). Les allergènes du chat ont un pouvoir allergisant très important. La sensibilisation aux allergènes de chat s'élève à 10-30% dans la population générale (9). L'allergie au chien est moins fréquente que celle au chat. Néanmoins elle n'est pas négligeable, car les taux de sensibilisation chez les enfants sont compris entre 2,6 % et 19 % et elle est souvent associée à l'allergie au chat (10).

Des fractions allergéniques purifiées et recombinantes des acariens, du chat et du chien sont maintenant disponibles (8,11,12). Elles peuvent théoriquement être utilisées en diagnostic pour déterminer à quelle fraction allergénique est sensibilisé le patient. Cependant, actuellement, nous manquons de recul pour le faire puisque ces fractions sont disponibles seulement depuis deux ans. Leur évaluation est donc nécessaire.

Dans notre étude nous avons ainsi testé les fractions moléculaires allergéniques majeures des acariens (nDer p 1, nDer p 2, nDer f 1 et nDer f 2), du chat (nFel d1) et du chien (nCan f 1). Nous avons également testé des fractions mineures comme les fractions moléculaires de la tropomyosine de crevette (nPen a 1), qui est un allergène potentiellement

croisant avec les allergènes des acariens, ainsi que l'albumine du chien (nCan f3) et du chat (nFel d2).

Dans un premier temps, nous nous rappellerons de quelques généralités sur l'allergie IgE-dépendante et sur les allergènes moléculaires en tentant de mettre en évidence les aspects les plus nécessaires à la compréhension de notre sujet. Ensuite nous aborderons l'allergie aux acariens, au chat et au chien, d'abord d'un point de vue global, puis nous verrons ce que peuvent apporter les fractions allergéniques moléculaires au diagnostic et au traitement de ces allergies. Enfin dans une troisième partie nous évaluerons les allergènes moléculaires Siemens® des acariens, du chat et du chien sur une population pédiatrique.

Le but principal de cette étude était de valider les allergènes moléculaires des acariens, du chat et du chien par rapport aux extraits globaux correspondants, mais aussi d'élucider d'éventuelles réactions croisées ainsi que d'élaborer des stratégies d'indications de ces tests dans la démarche allergologique (vérifier la présence d'une vraie allergie, évaluation de la nécessité de mise en place d'une sensibilisation).

II. Partie 1 : généralités

A. L'allergie IgE-dépendante

Les réactions allergiques IgE-dépendantes sont des réactions d'hypersensibilité médiées par les IgE, qui utilisent des mécanismes immunitaires normaux mais dont la conséquence peut être néfaste pour l'organisme (13).

1. Terrain atopique

Le terme d'« atopie » a été créé en 1923 par *Coca et Cooke* pour désigner des phénomènes d'hypersensibilité (14). Les auteurs utilisaient ce terme pour désigner une affection héréditaire, différente de l'« anaphylaxie » et de l'« allergie », touchant un nombre limité de patients, caractérisée par une réaction qualitative anormale survenant chez des patients particuliers (atopiques), se manifestant cliniquement par des rhinites et de l'asthme associée à une réaction cutanée immédiate (14,15).

Ce terme a été redéfini dans les années 1970 après la découverte des IgE spécifiques (c'est-à-dire des IgE dirigées spécifiquement contre un allergène à la différence des IgE totales qui regroupent l'ensemble des IgE spécifiques) : l'atopie désigne l'anormale facilité à produire des IgE spécifiques contre des allergènes et permettant à certains patients de présenter des réactions allergiques (15,16). L'atopie est une notion faisant intervenir une prédisposition génétique associée à une sensibilisation progressive à des substances aériennes, alimentaires et professionnelles responsables de manifestations cliniques respiratoires, cutanées, ophtalmiques ou alimentaires (17).

En 2001, *Johansson et al* proposent une nouvelle définition de l'atopie : « tendance personnelle ou familiale à produire des IgE en réponse à de faibles doses d'allergènes (en général des protéines) et à développer des symptômes comme l'asthme, les rhinoconjunctivites ou de l'eczéma » (18). Dans l'atopie, la présence d'antécédents familiaux, notamment chez les parents au premier degré est à rechercher. En effet, le risque de développer une atopie est plus important lorsque des parents au premier degré sont atopiques : environ 50% lorsque les deux parents sont atopiques, 30% lorsqu'un seul des deux parents est atopique, mais seulement 10% lorsqu'aucun des deux parents n'est atopique.

Les manifestations de l'atopie sont différentes en fonction de l'âge auxquelles elles apparaissent : ce phénomène s'appelle la « marche atopique » (18,19). Elle se caractérise par

le passage d'un symptôme d'allergie à un autre ou par l'association de plusieurs manifestations d'allergie. Dans un premier temps, l'atopie se manifeste dans l'enfance principalement par des symptômes tels que diarrhée et rash cutanés, souvent dus à des allergènes alimentaires. Dans un deuxième temps, des symptômes respiratoires (de type asthme et rhinite) apparaissent, en général dus à des pneumallergènes.

Tant que la sensibilisation médiée par les IgE n'a pas été mise en évidence, par des dosages d'IgE spécifiques ou des tests cutanés, le terme d'atopie doit être utilisé avec prudence (18).

2. Mécanisme de l'allergie

2.1 Classification de Gell et Coombs

La classification de Gell et Coombs (1968), théoriquement abandonnée depuis 2001, mais toujours très utilisée en pratique, différencie quatre types de réactions d'hypersensibilité en fonction du délai entre le contact avec l'allergène et les symptômes (13,20):

- Hypersensibilité de type I ou hypersensibilité immédiate (délai d'apparition inférieur à une heure). Elle apparaît dans les minutes suivant le contact avec l'allergène. Elle correspond aux manifestations IgE-médiées. C'est le seul cas dont nous parlerons par la suite.
- Hypersensibilité de type II ou hypersensibilité cytotoxique. Elle apparaît après plusieurs heures (4 à 6 heures). Des anticorps circulants (IgM ou IgG) reconnaissent des déterminants antigéniques (endogènes ou médicaments) fixés ou exprimés à la surface de membranes cellulaires. Cela entraîne l'activation du système du complément, l'activation de granulocytes et phagocytes mononucléés induisant la destruction puis la phagocytose de la cellule présentant le déterminant allergénique. Ce mécanisme peut être à l'origine de cytopénies médicamenteuses, si les antigènes sont à la surface de cellules sanguines.
- Hypersensibilité de type III ou hypersensibilité à immuns complexes. Elle apparaît en plusieurs heures (délai d'apparition supérieur à 12 heures) suite à la formation de complexes antigènes-anticorps. Ces complexes se fixent sur la paroi des vaisseaux entraînant l'activation de la voie classique du complément et la libération d'anaphylatoxines. Les cellules de l'inflammation recrutées par les anaphylatoxines sont

alors responsables de lésions au niveau de la paroi des vaisseaux entraînant une vascularite. C'est le cas de la maladie du poumon de fermier.

- Hypersensibilité de type IV ou hypersensibilité retardée (HSR) ou hypersensibilité à médiation cellulaire. Le délai d'apparition est de un à trois jours. L'allergène capté par les cellules présentatrices d'antigène est endocyté, dégradé et couplé au CMH de classe II. C'est ce complexe qui va être exprimé à la surface de la cellule présentatrice d'antigène et reconnue par le lymphocyte T CD4+. Cela entraîne l'activation du lymphocyte qui va libérer des médiateurs facilitant le recrutement de macrophages. Ces macrophages une fois activés notamment par de l'interféron γ augmentent leur synthèse de médiateurs de réactions inflammatoires, de radicaux libres oxygénés et de monoxyde d'azote, ce qui entraîne une augmentation de leurs capacités de destruction (microbicidie quand l'antigène est une bactérie). Il en existe trois formes cliniques: l'hypersensibilité retardée de contact (de type eczéma de contact), l'hypersensibilité retardée de type tuberculique (c'est ce qui est utilisée dans l'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine) et enfin l'hypersensibilité retardée granulomateuse (formation de granulomes en réponse à une infection chronique par différents types d'agents : mycobactéries, champignons, parasites ...). L'hypersensibilité granulomateuse a été suggérée par Rajan comme étant un cinquième type de réaction d'hypersensibilité (20).

2.2 Classification EAACI

Une nouvelle classification a été proposée en 2001 par l'EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology) (Figure 1) (18). Le terme d'hypersensibilité peut être défini comme étant une réaction responsable de symptômes objectifs suite à l'exposition à un stimulus à une dose tolérée chez les patients normaux (18). L'hypersensibilité peut être de mécanisme allergique (immunologique) ou non (18). Le terme d'hypersensibilité non allergique est utilisé lorsque le mécanisme immunologique ne peut être prouvé (18). Le terme d'allergie désigne les réactions d'hypersensibilité de mécanisme immunologique (18).

L'hypersensibilité immunologique peut être IgE-dépendante ou non (18). L'hypersensibilité immunologique non IgE-dépendante peut se diviser en deux grands groupes (18). Dans le premier groupe, la réponse cellulaire est prédominante : médiée par des lymphocytes T (comme par exemple dans la dermatite de contact) ou des polynucléaires éosinophiles (comme c'est le cas dans les gastroentéropathies) (18). Dans le deuxième groupe, la réponse est médiée par des anticorps spécifiques d'un allergène autres que les IgE (IgG par exemple) (18). L'hypersensibilité immunologique IgE-dépendante peut être de

mécanisme atopique ou non (venins, médicaments, parasites,...) (18). Dans le cas de l'hypersensibilité immunologique IgE-dépendante de mécanisme non atopique, les quantités d'allergènes sont souvent plus importantes (de l'ordre du milligramme voire du gramme), mais aussi elle survient chez des patients qui n'ont pas tendance à avoir une réponse IgE après une stimulation allergénique.

Dans la suite de ce mémoire nous nous intéresserons uniquement à l'hypersensibilité immunologique IgE-dépendante.

2.3 Mécanisme de l'hypersensibilité immunologique IgE-dépendante

Les allergies aux acariens ainsi qu'aux mammifères comme les chats ou les chiens sont des réactions d'hypersensibilité immunologique IgE-dépendante selon la nouvelle classification (hypersensibilité de type I d'après la classification de Gell et Coombs). Ces hypersensibilités apparaissent en deux temps : sensibilisation et production d'anticorps de type IgE (8 à 15 jours) puis réaction allergique (16,17).

(1) Phase de sensibilisation

La phase de sensibilisation, qui est cliniquement muette, s'effectue en trois étapes : capture de l'allergène, migration des cellules présentatrices d'antigène (CPA) vers les ganglions lymphatiques et enfin présentation antigénique aux cellules T naïves.

(a) Capture de l'allergène

Pour les allergènes de haut poids moléculaires (comme les acariens), la cellule dendritique est capable de phagocytose ou d'endocytose par le récepteur (interaction de type sucre lectine) (21). Les CPA sont essentiellement des cellules dendritiques tissulaires (dont les cellules de Langerhans) ou des monocytes/macrophages. Les allergènes de plus petite taille, les haptènes (tels que les ions métalliques) sont absorbés par absorption passive ou pinocytose et deviennent immunogènes après interaction avec une protéine. Les CPA prennent en charge l'allergène : internalisation, apprêtement de l'antigène en peptides et expression de l'antigène à la surface de la cellule associé au CMH de classe II.

(b) Migration des CPA vers les ganglions lymphatiques

Pendant la migration des CPA vers les ganglions lymphatiques, les cellules dendritiques immatures sont transformées en cellules dendritiques matures : augmentation de l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité de type I (CMH I) et II (CMH II), apparition de molécules co-stimulatrices (CD40, CD80, CD86, et CD83), disparition des récepteurs Fc.

(c) Présentation antigénique

Les CPA présentent l'antigène grâce au CMH de classe II aux lymphocytes T CD4+ qui reconnaissent le peptide par le récepteur T (TCR). Ces lymphocytes, selon l'environnement cytokinique seront orientés plus vers une population TH1 (notamment sous l'influence de l'IL12 produites par les cellules dendritiques, dont la synthèse est augmentée sous l'influence d'IFN γ) ou une population TH2 (sous l'influence de l'IL4 dont l'origine est moins claire). Chez l'allergique la population de lymphocyte TH2 prédomine.

(d) Phase de synthèse des IgE

Ces lymphocytes TH2 expriment le CD40 ligand (CD40L) et sécrètent des cytokines (notamment l'IL4, l'IL5 et l'IL13). Sous l'influence de l'IL4 et du CD40L, le lymphocyte B réalise une commutation isotypique et se transforme en plasmocyte à IgE. Chez le patient non atopique, c'est la population TH1 qui prédomine : ces lymphocytes libèrent de l'IFN γ qui inhibe la production d'IgE par le lymphocyte B différencié en plasmocyte. Les plasmocytes sécrètent alors de grande quantité de cet anticorps. Les taux sanguins d'IgE sont bas car ce sont des anticorps cytophiles qui se fixent sur les cellules au niveau du récepteur RFc ϵ I de la membrane des mastocytes tissulaires et des polynucléaires basophiles sanguins. La fixation de ces anticorps au niveau du Fc ϵ RI, récepteur de haute affinité est de longue durée.

(2) Phase de déclenchement

Lors d'un deuxième contact avec l'allergène, les IgE fixées à la surface des mastocytes tissulaires et des polynucléaires basophiles reconnaissent et se lient à l'allergène par le fragment Fab (Figure 2). Cela entraîne le pontage des IgE par l'allergène et le rapprochement du récepteur RFc ϵ I, induisant une activation de ces cellules qui vont libérer immédiatement (en quelques minutes) des médiateurs préformés contenus dans les granulations neutrophiles

(histamine, protéase neutre, tryptase ...) ou néosynthétisés à partir des phospholipides membranaires (prostaglandines, leucotriènes, PAF). La libération de ces médiateurs entraîne des réactions telles que la contraction de muscles lisses, la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire responsables des manifestations allergiques comme la rhinoconjonctivite, l'asthme et l'urticaire.

La liaison des IgE au FcεRI entraîne également la production de cytokines impliquée dans l'initiation et la modulation de réactions inflammatoires retardée (4 à 12 heures).

L'activation du mastocyte entraîne la libération de facteurs chimiotactiques pour les cellules de l'inflammation : les polynucléaires éosinophiles principalement, les polynucléaires neutrophiles et les macrophages, qui vont donc arriver dans les heures qui suivent la réaction immédiate. C'est ce qu'on appelle la phase tardive des réactions d'hypersensibilité immédiate.

De plus, les lymphocytes TH2 libèrent de l'IL5 entraînant la prolifération et l'activation des polynucléaires éosinophiles. Une fois activée, ces cellules libèrent des médiateurs très cytotoxiques (ECP, MBP), responsables d'une inflammation massive et de lésions tissulaires.

(3) Régulation du système

Ces mécanismes sont très finement régulés par différents systèmes :

- les lymphocytes T régulateurs. Il en existe différents types en particulier les lymphocytes T régulateurs CD4+, CD25+, FOXP3+. Ils contrôlent la balance TH2/TH1.
- l'antagonisme réciproque des cytokines TH1/TH2 en particulier l'IFNγ capable d'inhiber les effets de l'IL4.
- le FcεRII soluble, appelée également CD23 libéré par les lymphocytes B et les CPA, est capable d'inhiber la synthèse d'IgE.

3. Grandes familles d'allergènes

Depuis 2001, on appelle allergène des antigènes responsables de réactions d'hypersensibilité immunologique (ou allergie) (18). Un allergène est une substance capable d'induire une synthèse d'IgE spécifique chez un individu donné lorsque les conditions sont favorables (conditions environnementales associées à des facteurs génétiques) (18,21). La plupart des allergènes sont des protéines, le plus souvent des glycoprotéines, mais ce sont

parfois des résidus carbohydrates (18). De nombreux allergènes sont responsables de sensibilisation chez un patient prédisposé et peuvent induire des manifestations cliniques d'allergie. Les allergènes peuvent avoir des origines variées : pollens, acariens, moisissures, aliments, venins, médicaments, ... (21).

Dans la majorité des cas (environ 75%), les manifestations cliniques sont localisées au niveau des voies aériennes supérieures et inférieures (rhinite, asthme, conjonctivite ...) et sont causées par des allergènes inhalés (pneumallergènes) : pollens (>50%), acariens (30%), poils et squames d'animaux (15%), blattes, moisissures et allergènes professionnels. Ils peuvent aussi être ingérés (allergènes d'origine alimentaire : trophallergènes, médicaments), injectés (venins, médicaments) ou provoquer des réactions par contact cutané (allergènes cutanés) (16,21).

3.1 Pneumallergènes

Deux types de pneumallergènes peuvent être rencontrés : ceux de l'environnement intérieur (acariens, animaux domestiques, moisissures) et ceux de l'environnement extérieur (pollens).

Les pneumallergènes les plus fréquemment responsables d'allergies sont par ordre de fréquence les pollens, la poussière de maison (constituée de débris d'acariens), les poils et squames d'animaux et les moisissures (17,21,22). Sur le plan clinique, ils sont principalement responsables d'asthme et de rhinites intermittentes, anciennement appelées saisonnières (c'est le cas des pollens ou de la moisissure *Alternaria*) ou persistantes, anciennement dénommées per-annuelles (acariens, certaines moisissures, animaux) (17,21,22,23). Ils peuvent également être la cause de rhinoconjonctivites et plus rarement d'allergies cutanées ou d'œdèmes de Quincke (16,17,21).

(1) Pneumallergènes de l'environnement intérieur

L'allergène de l'environnement intérieur le plus fréquemment responsable d'asthme et de rhinites est la poussière de maison (22). Elle est constituée de débris d'acariens de la poussière de maison.

Viennent ensuite les animaux: le chat est le plus fréquemment incriminé en raison du contact étroit entre l'homme et l'animal (22,24). Après le chat, le chien est aussi incriminé mais moins fréquemment sans doute car les contacts avec l'animal sont plus restreints. Par la suite, ce mémoire portera essentiellement sur ces trois types d'allergènes.

D'autres mammifères peuvent également être la cause d'allergie : le cheval peut être responsable d'allergie violente (œdème de Quincke, crise d'asthme), les autres animaux de compagnies tels que le hamster, le cobaye, la souris, le rat et le lapin peuvent également être responsables d'allergie. Les oiseaux peuvent également être allergisants par les plumes même si leur pouvoir allergénique est faible (16,17,21).

Les principales moisissures responsables d'allergies en France sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* (16,17,21,22,24,25). L'émission de spores de *Cladosporium* et *Alternaria* est prédominante en été (de juin à septembre), tandis que *Aspergillus* et *Penicillium* sont présents toute l'année à des taux importants (23,25). Le diagnostic de l'allergie aux moisissures est difficile en raison de la survenue de pics atmosphériques en même temps que les pollens de graminées ou de pollution à l'ozone (25).

(2) Pneumallergènes de l'environnement extérieur

L'allergie pollinique est caractérisée d'une part par le caractère intermittent de l'allergie (d'où la nécessité de connaître le calendrier pollinique de la région considérée) mais aussi d'autre part par la fréquence d'allergies alimentaires associées (des fruits de la famille des Rosacées, des légumes de la famille des Ombellifères ou des Solanacées ou les noisettes) (22,26). Ils sont principalement responsables de rhinites intermittentes associées à une conjonctivite, l'asthme est plus rare. Mais la symptomatologie peut être persistante à cause de la succession de différentes rhinites intermittentes car la plupart des patients sont sensibilisés à plusieurs types de pollens (23). Ce sont les graminées (ou poacées) qui sont le plus fréquemment en cause dans l'allergie pollinique (16,17,21,24). Elles sont responsables d'allergies de mai à juillet. Les pollens d'arbres (cupressacées, bétulacées, ...) sont plus précoces (de janvier à mai). Les herbacées sont en cause dans les pollinoses d'arrière-saison (septembre à octobre).

3.2 Trophallergènes

La plupart des trophallergènes sont des glycoprotéines appartenant à la famille des albumines ou des globulines. Une des caractéristiques de l'allergie alimentaire est la résistance des allergènes à la protéolyse ainsi que pour certains d'entre eux à la dénaturation thermique et aux pH acides. Les trophallergènes sont responsables de symptômes digestifs (nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales), cutanés (dermatite atopique, urticaire aigüe), respiratoires (rhinoconjonctivite, asthme, laryngospasme) ou généraux (choc anaphylactique). Ils peuvent être d'origine végétale (75%) ou animale (25%). La répartition

des trophallergènes est différente selon l'âge, les pays et les habitudes alimentaires (16,21). Les trophallergènes les plus fréquents au niveau mondial sont le lait de vache, l'œuf de poule, les poissons, les crustacés, l'arachide, le soja et la noisette (26). En France, chez l'enfant de moins de quinze ans, l'allergie au blanc d'œuf est la plus fréquente suivie par l'arachide, le lait de vache et le poisson. Chez les patients de plus de quinze ans, ce sont les végétaux qui sont les allergènes les plus fréquents et en particuliers les fruits de la famille des Rosacées.

3.3 Autres : médicaments, venins, latex

Les médicaments ou leurs métabolites peuvent être responsables de réactions allergiques parfois graves. Ils peuvent être responsables principalement d'hypersensibilité de type I (choc anaphylactique, œdème de Quincke, urticaire, asthme, rhinite ...) et IV (eczéma de contact, photosensibilisation ...). Les médicaments les plus fréquemment incriminés dans l'allergie, quelle que soit le type de mécanisme évoqué, sont les antibiotiques (principalement les pénicillines), les antalgiques, les antipyrétiques (notamment l'aspirine), les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les anesthésiques généraux de type curare (16,21,27). En France, les chocs anaphylactiques sont principalement causés par des médicaments, et en particulier par des antibiotiques probablement en raison de leur fréquence d'utilisation (28). Les curares sont les substances le plus fréquemment incriminées (70%) dans les chocs anaphylactiques peropératoires.

Parmi les venins, ceux d'hyménoptères sont reconnus comme étant allergisants. Les hyménoptères le plus souvent responsables de piqûres en France sont la guêpe commune (*Vespula vulgaris*), le frelon (*Vespa crabro*) et l'abeille commune (*Apis mellifera*) (24). Dans le Sud de la France et de l'Europe, la guêpe poliste (*Polistes dominula*) est aussi rencontrée.

Le latex est un allergène à la fois professionnel et domestique (24). Le plus souvent, il est responsable d'urticaire localisée aux zones de contact ou de manifestations respiratoires, mais en cas d'exposition plus profonde, les manifestations peuvent être plus graves allant notamment jusqu'au choc anaphylactique en cas de contact sanguin ou muqueux (24).

Par la suite, nous nous intéresserons aux pneumallergènes et plus particulièrement à ceux de l'environnement intérieur : de la poussière de maison, du chat et du chien.

4. Diagnostic de l'allergie

Le diagnostic repose dans un premier temps sur une anamnèse rigoureuse, puis dans un deuxième temps sur la réalisation de tests cutanés aux différents allergènes suspectés à l'issue de l'anamnèse (2,29). Enfin dans un troisième temps le diagnostic peut éventuellement être complété par des dosages biologiques, des tests de provocation spécifique nasale ou bronchique.

Ce mémoire correspondant à une Thèse de Biologie Médicale, nous détaillerons surtout la partie diagnostic biologique.

4.1 Interrogatoire clinique

L'interrogatoire clinique est fondamental dans le diagnostic d'allergie respiratoire puisque les symptômes ne sont pas spécifiques de l'origine allergique ou non (2). Toutefois l'association d'une rhinoconjonctivite et d'un asthme est en faveur d'une allergie respiratoire (2). L'interrogatoire recherche la notion d'un terrain atopique (antécédents allergiques personnels ou familiaux), les facteurs déclenchant et aggravant, la chronologie et l'intensité des symptômes ainsi que l'environnement du patient (2,29,30).

4.2 Tests cutanés

Il existe deux types de tests cutanés : les tests à lecture immédiate (les prick-tests ou les intradermoréactions) qui mettent en évidence les IgE spécifiques fixées sur les mastocytes et les tests à lecture retardée (les patch-tests) qui explorent les IgE spécifiques fixées sur les cellules de Langerhans (2,31.).

Les prick-tests sont réalisés au niveau de la face interne de l'avant-bras, sur peau saine (2,31). Leur réalisation doit se faire sous contrôle médical en raison du risque de déclencher une réaction systémique (2). Une goutte d'extrait allergénique est déposée sur la peau, puis une piqûre est réalisée à l'aide d'une lancette au travers de la goutte, pour faire pénétrer l'allergène dans le derme. Chaque prick-test doit être espacé d'au moins deux centimètres des autres. Il est nécessaire de réaliser un témoin positif (le phosphate de codéine ou l'histamine) ainsi qu'un témoin négatif (sérum physiologique) (2,31). La lecture se fait 15 à 20 minutes après la réalisation du test. Le diamètre minimum de la papule induite par le témoin positif est de 3 mm (31). Une réaction positive est caractérisée par la triade de Lewis : association d'un œdème (papule de diamètre supérieur à 3 mm et supérieur à 50% du diamètre du témoin

positif), d'un érythème périphérique ainsi qu'un prurit local (2,31). La sensibilité des prick tests est très bonne en ce qui concerne les pneumallergènes (proche de 100%), mais leur spécificité est plus faible (70 à 80%) (2). Leurs résultats doivent donc être confrontés à la clinique. Dans certains cas une intradermoréaction peut être réalisée (allergie aux médicaments et aux venins).

Les patch-tests sont généralement utilisés dans le diagnostic de l'hypersensibilité retardée. L'extrait allergénique est appliqué sur la peau du dos et laissé en contact pendant 48 heures. La lecture et l'interprétation du test se fait au bout des 48 heures en comparant la réaction obtenue avec l'allergène et celle obtenue avec un témoin négatif. Dans l'hypersensibilité immédiate, des atopy patch-tests peuvent être également utilisés pour identifier des pneumallergènes ou des trophallergènes aggravant une dermatite atopique (32). Ils sont réalisés de façon similaire aux patch-tests traditionnels.

4.3 Tests de provocation

Les tests de provocation sont surtout utilisés dans les diagnostics de l'allergie alimentaire. Dans ce cas, il s'agit de tests de provocation orale ou labiale (33). Le test de provocation orale consiste en l'ingestion de l'aliment suspecté à doses progressivement croissantes afin de reproduire les manifestations d'allergie (34). Il peut à la fois être utilisé à visée diagnostique, mais aussi pour évaluer la tolérance à un aliment chez un patient sensibilisé et enfin pour déterminer la dose qui déclenche les manifestations. Cependant ces tests comportent certains risques (déclenchement d'une réaction anaphylactique par exemple) et doivent donc être réalisés dans un environnement médicalisé. Ce test n'est nécessaire qu'en cas de tests cutanés et de dosage d'IgE spécifiques négatif ou lorsque l'histoire clinique n'est pas claire. Le test de provocation labial est indiqué en cas de syndrome oral après ingestion d'aliments. Il consiste à mettre en contact la muqueuse orale avec l'aliment (extrait alimentaire commercial ou aliment frais) (33). Le nombre d'effets indésirables systémiques est plus limité.

Dans le cas d'une allergie respiratoire des tests de provocation nasale, bronchique ou oculaire peuvent être utilisés (2). Le principe est de reproduire les symptômes et d'observer les manifestations d'allergie au niveau de la muqueuse nasale, bronchique et oculaire après contact avec l'allergène introduit à doses progressivement croissantes. Les tests de provocation nasale sont préférés aux tests de provocation bronchique en raison de leur simplicité et de leur aspect moins agressif et plus rapide. Ils sont utilisés en cas de polysensibilisation ou de discordance entre la situation clinique et le résultat des tests cutanés (2).

Les tests de provocation sont les seuls tests à faire la preuve d'une allergie par rapport à une simple sensibilisation à un allergène. Ils permettent ainsi de vérifier la pertinence des tests cutanés et des dosages des IgE spécifiques.

4.4 Diagnostic biologique

(1) Mise en évidence d'une atopie

Un dosage des IgE totales sériques élevé ainsi qu'un taux de polynucléaires éosinophiles augmenté peuvent permettre de mettre en évidence au niveau biologique un état atopique (2). Le dosage des IgE sériques totales se fait par des techniques immuno-enzymatiques ou fluorimétriques (30,31). Les valeurs normales des IgE totales sont fonction de l'âge (chez l'adulte et l'enfant de plus de 8 ans : IgE totales < 150 kUI/L) (31).

Mais ces deux tests manquent de spécificité et de sensibilité (2). Un dosage des IgE totales élevé est également retrouvé dans les parasitoses, des déficits immunitaires et le syndrome d'hyper IgE (syndrome de Job) (30,31). A l'inverse un taux bas en IgE totales ne permet pas d'exclure une allergie. De même un taux élevé de polynucléaires élevés peut se voir dans les parasitoses mais aussi dans certaines affections hématologiques. Ces deux tests n'ont qu'une valeur de présomption et non d'exclusion.

(2) Dosage des IgE spécifiques (IgE spécifiques)

Il existe des dosages des IgE spécifiques monoallergéniques et multiallergéniques (31).

Les mélanges multiallergéniques sont utilisés comme tests de dépistages (2,30). Ces tests ont une sensibilité et une spécificité supérieure à 90%. Pour les pneumallergènes, le test de référence est le Phadiatop®. Il contient un mélange de protéines, représentatives des constituants allergéniques de certains pneumallergènes : acariens, animaux domestiques, pollens et moisissures. Mais un test positif ne permet pas de déterminer l'allergène responsable de l'allergie. Pour les trophallergènes, il existe également un test multiallergénique : le Trophatop®.

Le dosage des IgE spécifiques unitaires est utile en cas de discordance entre la situation clinique et le résultat des tests cutanés ainsi que lorsque le test cutané n'existe pas pour cet allergène, est non réalisable (dermatose, dermographisme, traitement par

bétabloquant ...) ou non interprétable (2,30). Il est moins sensible que les tests cutanés (60 à 80% pour les pneumallergènes) mais plus spécifique (souvent supérieur à 90%) (2). L'interprétation du résultat de ces dosages est fonction de plusieurs paramètres : taux d'IgE circulantes et qualité de l'extrait allergénique par exemple. Le taux d'IgE totales peut être faible (jeunes enfants, patients mauvais répondeurs), dans ce cas les tests cutanés peuvent être positifs et les dosages d'IgE spécifiques négatifs (30). A l'inverse, un taux d'IgE total élevé (supérieur à 3000 UI/l) peut être à l'origine de faux positifs (2).

Les taux d'IgE spécifiques peuvent être utilisés pour prévoir la probabilité d'une réaction clinique (29). L'interprétation du résultat est également fonction de l'allergène testé (35). A titre d'exemple, un faible taux en IgE spécifiques anti-œuf a plus de sens que de faibles taux d'IgE spécifiques anti-lait. Dans une étude réalisée en 1998 chez des enfants atteints de dermatite atopique, la valeur prédictive positive était évaluée à 95% (comparée au test de provocation orale) pour des seuils d'IgE spécifiques différents selon les allergènes : 6kUI/l pour l'œuf, 15 kUI/l pour l'arachide et 32 kUI/l pour le lait. Ils permettent également dans certaines situations de prédire l'évolution de l'allergie : une étude a montré que les enfants présentant de faibles taux d'IgE spécifiques vis-à-vis de plusieurs pneumallergènes (0,3 – 1 kUI/l), perdent fréquemment ces IgE spécifiques à 5 ans et qu'à l'inverse de plus fortes sensibilisations (> 3,5 kUI/l) perdurent.

Depuis la récente commercialisation des allergènes moléculaires, les résultats de dosage des IgE spécifiques s'interprètent en fonction des familles moléculaires (29). Pour un patient l'allergénicité d'un allergène va dépendre de la fraction allergénique à laquelle est sensibilisé le patient. De plus la connaissance des familles moléculaires de ces fractions allergéniques permet d'expliquer certaines réactions croisées entre des allergènes apparemment éloignés. Nous reviendrons en détail sur ces allergènes moléculaires dans la suite de ce travail.

Actuellement la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) limite le nombre de dosages d'IgE spécifiques à 5 pneumallergènes et/ou trophallergènes (2). La NABM ne permet pas la réalisation à la fois du dosage des IgE totales et des IgE spécifiques.

4.5 Autres tests

(1) *CAST[®] (Test de Stimulation Cellulaire par un Allergène)*

Le CAST[®] est un test cellulaire, basé sur la détermination quantitative des sulfidoleucotriènes produits par les polynucléaires basophiles lorsqu'ils sont stimulés par un

allergène *in vitro* (36). Ce dosage est très utile dans le diagnostic de l'allergie à l'aspirine ou aux AINS, car le dosage des IgE spécifiques a peu d'intérêt dans le diagnostic de l'allergie médicamenteuse.

(2) Test de dégranulation des basophiles

Le test de dégranulation des basophiles est basé sur la détermination, en cytométrie de flux, de l'expression des marqueurs de surface CD63 (marqueur d'activation membranaire) sur des polynucléaires basophiles après stimulation antigénique. Il est intéressant quand les dosages IgE spécifiques sont de mauvaise qualité voire inexistant (par exemple pour le diagnostic de l'allergie aux médicaments ou aux venins). Cependant il existe actuellement des problèmes de standardisation de ces protocoles, c'est pourquoi des études européennes débutent.

(3) Dosage de la protéine cationique de l'éosinophile (ECP)

Il s'agit d'une protéine présente dans les granules spécifiques des polynucléaires éosinophiles. C'est un marqueur de l'hyperréactivité bronchique et d'atopie. Des taux élevés d'ECP ont été retrouvés dans les sérums de patients asthmatiques. Il augmente également lors des tests de provocation.

5. Traitement étiologique de l'allergie : immunothérapie spécifique

La prise en charge de l'allergie repose sur l'éviction des allergènes qui n'est pas toujours réalisable, un traitement médical adapté et parfois l'immunothérapie spécifique (ITS) (2).

Ce mémoire correspondant à une Thèse de Biologie Médicale, nous avons choisi de ne développer que les aspects en lien avec les allergènes moléculaires, c'est-à-dire, l'immunothérapie spécifique sans nous intéresser aux traitements préventifs et symptomatiques (anti-histaminiques H1, corticoïdes, β -2 stimulants...).

Il repose sur la désensibilisation spécifique ou immunothérapie spécifique (ITS) avec des extraits allergéniques choisis en fonction des allergènes identifiés comme étant

responsable des symptômes (37). Le principe consiste à réorienter la réponse immune en une réaction similaire à celle du non allergique vis-à-vis de l'allergène considéré (21).

5.1 Mécanisme de l'immunothérapie spécifique

Plusieurs mécanismes d'actions ont été proposés pour expliquer les effets bénéfiques de l'ITS : diminution à long terme du taux d'IgE spécifiques, augmentation d'IgG4 spécifiques, diminution du recrutement des cellules effectrices, induction de cellules T régulatrices, anergie de cellules T, déviation Th2/Th1 de la réaction immune vers une réaction de type Th1 (21,37,38).

Si nous les reprenons plus en détail, l'ITS induit des modifications de la réponse anticorps, car elle agit au niveau des lymphocytes B en diminuant leur activation (21). Cela entraîne une diminution de la production des récepteurs de faible affinité des IgE et une modification de la balance IgE/IgG4 (diminution de la production des IgE spécifiques et augmentation de la production des IgG4 spécifiques) (21). Cela a pour conséquence de diminuer la libération d'histamine par les mastocytes et les polynucléaires basophiles (21). Les taux d'IgE spécifiques augmentent temporairement au début de la phase initiale de désensibilisation, mais diminuent en dessous du taux d'IgE spécifiques avant ITS, lors de la poursuite du traitement (37). Parallèlement, les taux d'IgG spécifiques augmentent et en particulier la sous-classe des IgG4 (37). Il a d'abord été proposé que les IgG4 spécifiques reconnaissent les allergènes et bloquent la réponse médiée par les IgE au niveau des muqueuses (37). Cependant, actuellement cette hypothèse est controversée parce que d'une part l'augmentation des IgG spécifiques suit l'amélioration clinique, et d'autre part, les mastocytes sont présents au niveau des muqueuses et rencontrent l'allergène avant les IgG spécifiques (37). De plus la corrélation entre l'augmentation des IgG4 spécifiques et la réponse clinique est faible (37). Dans la plupart des études cliniques, le taux d'IgG4 spécifiques est mieux corrélé avec la dose d'allergène utilisée dans l'ITS qu'avec le bénéfice clinique (37).

L'ITS induit des modifications de la réponse cellulaire spécifiques de l'allergène. Elle entraîne une diminution du recrutement des cellules T et des polynucléaires éosinophiles en réponse à l'allergène (37). L'ITS agit aussi au niveau des lymphocytes T par la déviation Th2/Th1 de la réaction immune vers une réaction de type Th1. Cela entraîne la production de cytokines Th1 (IL2, IFN- γ , IL12) et de cytokines immunosuppressives comme l'IL10 (21,37). L'IL10 induit la synthèse d'IgG4 spécifiques et de lymphocytes T régulateurs (37). L'IL12 est

une cytokine produite par les monocytes et les macrophages, indispensable à la différenciation Th1 et qui inhibe la différenciation Th2 (21).

5.2 Modalité de l'ITS

L'ITS est réalisée par injection sous cutanée d'un allergène ou par voie sublinguale en particulier en pédiatrie (21,38). L'utilisation de mélanges d'allergènes est à éviter en raison de la dilution des allergènes. Les études menées avec des mélanges d'allergènes se sont révélées négatives.

L'allergène doit être administré à doses progressivement croissantes en commençant par une très faible dose jusqu'à une dose d'entretien pour une allergie per-annuelle (21,37,38). Dans le cas d'une allergie saisonnière (comme les pollens), le but est d'obtenir la dose la plus forte avant le début de la période d'allergie, cette dose pourra être réduite pendant la saison pollinique et reprise ensuite à la dose maximale en entretien mensuel. Lors d'une désensibilisation par voie sous cutanée, le rythme des injections est de une injection par semaine puis tous les 15 jours jusqu'à atteindre la dose d'entretien puis de une injection par mois pendant 3 à 5 ans. Lorsqu'une ITS par voie sublinguale est utilisée, l'allergène est administré sous forme de gouttes qui sont prises quotidiennement (ou trois fois par semaine) par le patient lui-même (37). La solution contenant l'allergène est déposée sous la langue et maintenue en bouche deux à trois minutes avant d'être avalée ou recrachée. La dose maximale est atteinte en quelques semaines.

Actuellement, l'ITS se réalise avec des extraits globaux. Bien qu'elle ait prouvée son efficacité, elle comporte quelques inconvénients (manque d'efficacité dans certains cas, nouvelles sensibilisations ou effets indésirables pouvant être sévères). C'est pourquoi, de nouvelles approches sont actuellement testées dans plusieurs essais cliniques (utilisation de fractions moléculaires, création d'allergènes hypoallergéniques ...) qui seront traités plus loin (II.B.5.6 Allergènes moléculaires et traitement, page 46).

5.3 Indication de l'ITS

L'ITS est indiquée dans l'allergie au venin d'hyménoptères (environ 90% d'efficacité) (37). Elle est indiquée chez les patients, dont le taux d'IgE spécifiques persiste plusieurs années après l'exposition (37). Ces patients ont un risque plus élevé de faire une réaction anaphylactique (37).

Elle est aussi indiquée dans les rhinites allergiques, et en particulier son intérêt dans les rhinites saisonnières dues aux pollens de bouleau, de graminées et d'herbacées a été

confirmé par de nombreux essais (37). Elle présenterait l'avantage non seulement de diminuer le risque de nouvelles sensibilisations mais aussi de limiter l'évolution de la rhinite allergique vers un asthme allergique (39). Plus le début est précoce, plus l'efficacité est importante. L'ITS est aussi utilisée dans le traitement de l'asthme allergique pour les formes persistantes légères et modérées (37). Cependant son utilisation est controversée en raison des effets indésirables potentiels (37).

Nous reviendrons sur les indications de l'ITS dans l'allergie au chien, au chat et aux acariens dans les parties « allergie aux acariens » et « allergie au chat et au chien ».

5.4 Désensibilisation et grossesse

Aucun effet tératogène de l'ITS n'a à ce jour été mis en évidence, elle n'est donc pas contre-indiquée pendant la grossesse. Une ITS débutée avant la grossesse peut être poursuivie cependant il n'est pas conseillé de débiter une ITS pendant la grossesse (40).

5.5 Effets indésirables et problèmes de l'ITS

L'ITS avec les extraits allergéniques est un traitement utile de l'allergie mais comporte un certain nombre de problèmes.

Premièrement elle n'est pas toujours efficace, en particulier lorsque le patient est sensibilisé à une fraction allergénique présente en faible quantité dans l'extrait utilisé (37,38). Dans ce cas, le traitement peut même être responsable de sensibilisations à de nouveaux allergènes. La sensibilisation à de nouveaux allergènes peut également être due à une contamination de l'extrait utilisé par d'autres allergènes (par exemple extrait de phanères d'animaux contaminé par de la poussière de maison).

Deuxièmement elle induit parfois des effets secondaires pouvant aller jusqu'à la réaction anaphylactique (38). Les effets secondaires de l'ITS sont le plus souvent locaux et bénins (21). Mais des réactions générales peuvent se produire allant de manifestations peu graves (comme une rhinite ou une urticaire) à des manifestations plus graves telles que asthme et choc anaphylactique (21,37). L'incidence des réactions systémiques varie selon les études de 5 à 35% (37). C'est pourquoi il est nécessaire que le patient soit surveillé pendant les 30 minutes qui suivent l'injection. Certains traitements contre-indiquent l'utilisation de l'ITS : immunosuppresseurs ou immunomodulateurs, bêtabloquants (37).

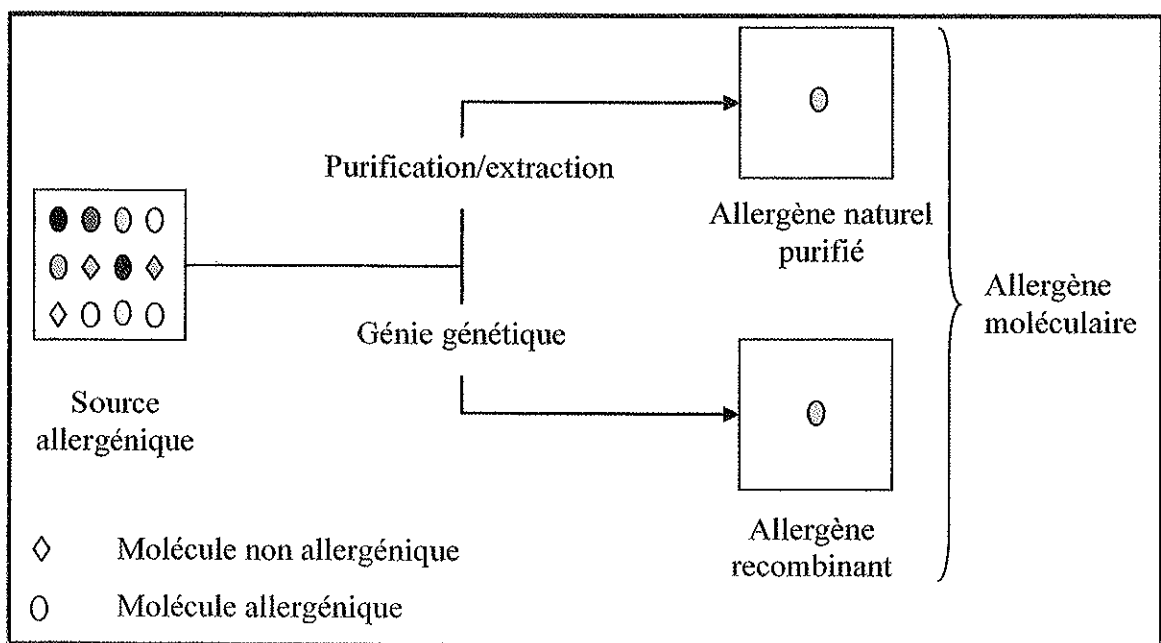


Figure 3: source allergénique et allergène moléculaire

B. Les allergènes moléculaires

Jusqu'à il y a 5 ans, le diagnostic biologique de l'allergie utilisait des extraits allergéniques pour doser les IgE spécifiques de l'allergène suspecté (41). Des tests de nouvelles générations ont été développés. Il existe maintenant des dosages d'IgE spécifiques dirigées contre plus de 30 fractions allergéniques (comme par exemple rBet v 1 et 2 pour le bouleau, rPhl p 1 pour les graminées, rPen a 1 pour la tropomyosine de crevette, r Ara h 1 pour l'arachide ...).

1. Définitions

Les extraits globaux ou extraits allergéniques naturels sont des mélanges complexes de composants allergéniques et non allergéniques, obtenus à partir de sources naturelles diverses (15,21,41). Un allergène moléculaire (ou une fraction allergénique ou encore un composant allergénique) est un composant protéique unique au sein mélange d'allergènes, c'est-à-dire une protéine ou un peptide contenu dans un extrait global. Il peut être obtenu soit par génie génétique (allergène recombinant), soit par purification/extraction d'une source allergénique (allergène naturel purifié) (Figure 3).

On appelle isoallergènes les différentes formes moléculaires d'un même allergène moléculaire (42). Deux isoallergènes possèdent plus de 67% d'homologie de séquence en acides aminés. Le terme d'isoforme (ou variant) est utilisé pour désigner différentes formes moléculaires d'un même allergène ayant plus de 90% d'homologie de séquence.

Une fraction allergénique est dite majeure lorsque la prévalence de la sensibilisation chez les sujets allergiques est supérieure à 50% (22,41). Elles sont fréquemment responsables de symptômes. De même, une fraction allergénique est dite mineure lorsque moins de 50% des patients allergiques présentent des IgE spécifiques à cette fraction allergénique. La sensibilisation à ces fractions est en général sans conséquence clinique mais peut être responsable de réactivité croisée.

2. Extraits allergéniques et allergènes moléculaires

2.1 Extraits allergéniques

Les extraits allergéniques naturels sont composés de molécules allergéniques et de molécules non allergéniques (Figure 3) (15,21,41). Ils sont utilisés pour le diagnostic

(réalisation de tests cutanés et dosage d'IgE spécifiques) et le traitement de l'allergie (immunothérapie spécifique) (21). Ils sont obtenus à partir de sources naturelles diverses : grains de pollens, culture d'acariens, aliments (41). Ce sont des systèmes qui contiennent plusieurs constituants allergéniques pouvant être à l'origine de sensibilisations : ils peuvent être multiallergéniques (comme par exemple pour l'extrait de pollen de graminées qui contient 13 allergènes identifiés) ou pauciallergéniques (comme l'extrait de chat qui en contiendrait seulement 4) (21,41).

Malgré leur faible coût, l'utilisation de ces extraits comporte certains inconvénients, qui rendent difficile la standardisation des méthodes diagnostiques :

- certains allergènes (parfois majeurs) sont non hydrosolubles et ne seront donc pas extraits par des techniques classiques,
- le rendement de l'extraction est peu élevé,
- le contenu en molécule allergénique est variable d'un extrait à l'autre en fonction des procédés d'extraction, de purification et de stockage,
- en ce qui concerne les pollens, le contenu en molécules allergéniques est fonction du degré de maturation des sources végétales mais aussi du pays où sont préparés les extraits allergéniques (répartition des arbres différentes selon la localisation géographique),
- pour le latex, de la même façon, la teneur en fractions allergéniques est différente selon les continents d'origine des arbres,
- ils peuvent être contaminés par des enzymes protéolytiques (allergéniques ou non) susceptible de diminuer leur potentiel allergénique, ou par d'autres allergènes (c'est le cas par exemple de la contamination de l'extrait de chat par les acariens) (15,21,41).

2.2 Allergènes moléculaires

(1) Allergènes recombinants et allergènes naturels purifiés

Les limites des extraits allergéniques naturels ont donc conduit à développer les fractions allergéniques (43).

La plupart de ces fractions allergéniques sont produites grâce à la technologie de l'ADN recombinant : ce sont des fractions allergéniques recombinantes ou allergènes recombinants (Figure 3). Cela permet d'obtenir des réactifs standardisés, caractérisés sur le plan immunologique, de haute pureté et produit à grande échelle (15,21). Les allergènes

Tableau 1 : principales familles protéiques des trophallergènes végétaux (44)

Classification selon	Famille protéique	Quelques exemples
Superfamille des cupines	Viciline (7S globuline)	Ara h 1
	Légumine (11S globuline : arachine, glycine)	Ara h 3, Ara h 4
Superfamille des prolamines	Albumine 2S	Ara h 2
	ns LTP	Pru p 3, Ara h 9
Système de défense de la plante	Céréales α -amylase et inhibiteurs de protéase	Hor v 15, Sec c 1
	Prolamine de céréales (gliadine)	Tri a 19
	PR2 : glucanase	Hev b 2
	PR3 : chitinase de classe I	Hev b 11
	PR4 : chitinase de classe II	Hev b 6.01
	Protéine PR	Mal d 2
	PR5 : thaumatine like	Bet v 1, Pru p 1
	PR10 : Bet v 1-like	Art v 1
	PR12 : défensine	Pru p 3, Ara h 9
	PR14 : nsLTP	Act c 1
Fonctions biologiques	Protéase et inhibiteurs de protéases	Cuc m 1
	Cystéine protéase papaine-like	
	Sérine protéase subtilisine-like	
	Céréale α -amylase	
	Profilines	Bet v 2, Pru av 4
	Polcalcines	Bet v 4, Phl p 7
	Oléosines	Peanut oleosine
	Patatine	Sola t 1
	Certaines cupines et prolamines	Ara h 1, Ara h 2
	Certaines protéines de défense	Hev b 2
SOD dismutase	Hev b 10	
Cystéine protéase	Act c 1, Phl p 1	
Pectate lyase	Art v 6, Phl p 4	

recombinants ont également permis la détermination de la structure tridimensionnelle des allergènes.

Un nombre plus restreints de fractions allergéniques peuvent également être produites par extraction et purification à partir d'une source d'allergène. L'extrait allergénique est purifié par chromatographie d'affinité. La pureté de la fraction allergénique ainsi obtenue peut être évaluée par Western Blot, SDS PAGE, spectrométrie... .

(2) Nomenclature

La nomenclature des allergènes moléculaires est gérée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'International Union of Immunological Societies (IUIS) (42). La dénomination de ces allergènes repose sur le principe suivant : les trois premières lettres du genre, suivies de la première lettre de l'espèce et d'un chiffre représentant l'ordre de leur découverte, avec un espace entre chaque élément. Cette désignation est précédée de « n » pour l'allergène naturel purifié et de « r » pour l'allergène recombinant. Lorsque plusieurs isoformes ou isoallergènes existent pour le même allergène moléculaire, ils sont distingués par un deuxième chiffre pour l'isoforme (01, 02 ...) suivi si besoin d'un troisième chiffre pour les isoallergènes (01, 02 ...). Si l'on prend par exemple le cas de la fraction allergénique majeure du bouleau Bet v 1 : Bet pour Bétulacées, v pour verrucosa (*Betula verrucosa* étant le bouleau en latin). Les 31 isoallergènes de Bet v 1 sont appelés Bet v 1.01 à Bet v 1.31, et les 42 isoformes de Bet v 1 sont nommés Bet v 1.0101, Bet v 1.0102

(3) Classification

Les allergènes moléculaires sont classés selon leurs caractéristiques biochimiques ainsi que leurs fonctions biologiques (Tableau 1) (42,44) :

- les protéines structurelles et de régulation : profilines, tropomyosines, protéines liant le calcium,
- les protéines de stockage : prolamines (albumine 2S par exemple) et cupines (vicilines, glycinines, légumineuses),
- les protéines de transfert lipidique non spécifique (nsLTP),
- les protéines PR (Pathogenesis-Related) : protéines de défense des végétaux (ou protéine de stress) dont l'expression augmente lors des agressions des plantes,
- les enzymes et inhibiteurs d'enzymes (cystéines protéases, inhibiteurs de protéase...),

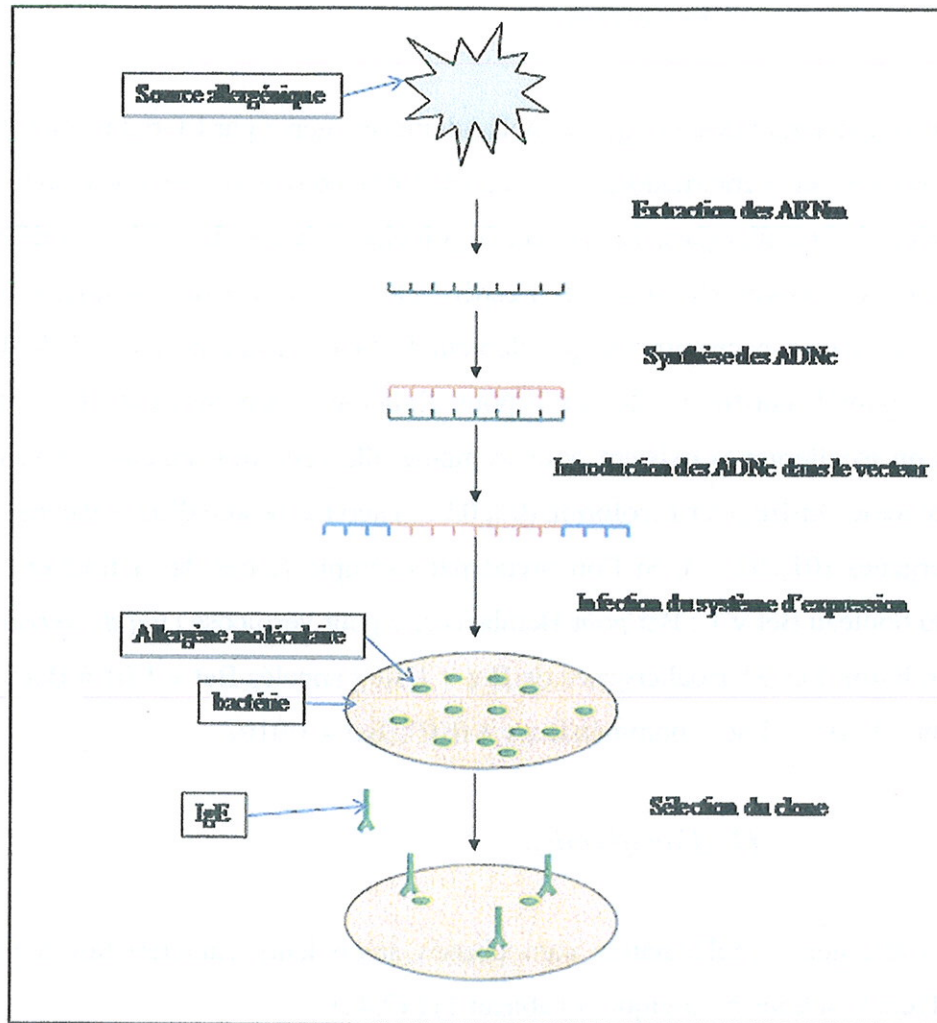


Figure 4 : Obtention d'un allergène recombinant

- les lipocalines ...

Les pneumallergènes de l'environnement intérieur peuvent être des enzymes (en général des protéases), des lipocalines, l'albumine, les tropomyosines et des protéines de liaison du calcium (42). Les allergènes moléculaires des pollens sont essentiellement des protéines PR, des protéines de liaison du calcium (polcalcines), des pectates lyases, des β -expansines et des inhibiteurs de protéases (Tableau 1). Les trophallergènes sont surtout des protéines de transfert lipidique non spécifiques (nsLTP), des profilines, des protéines de stockage, des protéines PR et des tropomyosines (42,44).

D'une manière générale, les tableaux cliniques d'allergies sont différents selon les familles protéiques auxquelles sont sensibilisés les patients. Par exemple, les protéines structurelles (profilines et polcalcines) sont généralement des allergènes mineurs, responsable de syndrome oral (trophallergènes) (44). Cependant chez certains patients elles peuvent néanmoins être responsables de réactions sévères. A l'inverse, les nsLTP sont en général responsable de réactions sévères à cause de leur résistance aux pH acides, à la chaleur et à la protéolyse. De même les protéines de stockage des fruits à coques sont elles aussi généralement responsables de réactions sévères.

(4) Production des allergènes recombinants

La première étape de la production d'allergène recombinant est le clonage de la séquence codante soit par criblage d'une banque d'ADN complémentaire (ADNc), soit par amplification sélective à partir d'ADN génomique (ADNg) ou d'ADNc afin d'obtenir une quantité suffisante d'ADN codant pour l'allergène (Figure 4) (21).

Les séquences d'ADNc des allergènes recombinants sont produites à partir de l'ARN messager (ARNm) d'un agent allergénique. L'ARNm est obtenu par extraction à partir d'une source allergénique (grain de pollen, culture d'acarien, moisissures,...). Puis ces ADNc sont insérés dans des vecteurs (plasmide, phage, virus) qui vont infecter le système d'expression (bactérie, levure, virus, cellule d'insecte ou végétale) de l'ADN recombinant (Figure 4) (21,43). Les plasmides sont des molécules d'ADN extrachromosomique doubles brins, le plus souvent circulaires, de petites tailles (inférieurs à 100000 paires de bases), capables de se répliquer indépendamment du chromosome. Ils se trouvent dans les bactéries et les levures et peuvent servir de vecteur de clonage afin de faire produire une molécule au système

d'expression. Un phage (ou bactériophage) est un virus n'infectant que les bactéries. Comme le plasmide, il peut servir de vecteur de clonage.

Dans le cas le plus fréquent qui est l'utilisation d'un couple vecteur/système d'expression de type phage/bactérie, les clones de bactéries produisant l'allergène moléculaire sont ensuite sélectionnés. Les clones peuvent être sélectionnés de différentes manières : fixation d'IgE (humaines ou animales), d'anticorps polyclonaux animaux ou monoclonaux. Dans un deuxième système très fréquent, l'ADNc est isolé puis inséré dans un plasmide (et non plus un phage) et produit par une culture de bactéries hôtes (21,43).

Le système d'expression de l'ADN recombinant est le plus souvent une bactérie (*Escherichia coli*) (21,41). Mais dans ce système d'expression la glycosylation post traductionnelle, qui permet l'acquisition d'une conformation active, ne se fait pas. C'est pourquoi pour certains allergènes (par exemple les allergènes des acariens de la famille 1) il est indispensable d'utiliser d'autres systèmes d'expression, comme par exemple des virus (Baculovirus) ou des eucaryotes : levures (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pischia pastoris*), cellules d'insecte (drosophile) ou végétales (tabac) (21,41).

(5) Validation des allergènes recombinants

Le système d'expression bactérien est le plus utilisé mais ne permet pas la glycosylation post-traductionnelle. C'est pourquoi il est indispensable de valider l'activité immunologique des allergènes recombinants produits de cette façon par rapport aux extraits allergéniques naturels (21). Pour être validé, un allergène recombinant doit d'une part satisfaire à des critères de pureté, stabilité et innocuité, et d'autre part avoir les mêmes propriétés immunologiques que l'allergène naturel *in vivo* et *in vitro* (43).

La validation des allergènes recombinants par rapport aux extraits allergéniques peut être effectuée de différentes façons (21,43):

- *in vitro*, le but est de comparer la capacité de fixation de l'allergène recombinant par rapport à l'extrait allergénique sur les IgE spécifiques (circulantes ou fixées sur les basophiles) provenant du sérum de sujets sensibilisés:
 - comparaison des structures par spectroscopie de masse.
 - techniques d'immunodétection utilisant des anticorps monoclonaux murins, des sérums de patients ou d'animaux sensibilisés avec l'allergène naturel.
 - inhibitions compétitives utilisant soit l'allergène naturel, soit l'allergène recombinant (inhibition de RAST, technique ELISA, immunoblot).

- immunoréactivité des cellules T.
- *in vivo*, le but est de mettre en évidence l'induction d'IgE spécifiques vis-à-vis de l'allergène recombinant :
 - la capacité des allergènes recombinants à induire des tests cutanés positifs (et plus rarement à stimuler les organes cibles) a été comparée le plus souvent à celle induite par l'extrait allergénique.
 - des tests cellulaires (histaminolibération, cytométrie de flux).

3. Allergènes majeurs, mineurs et panallergènes

3.1 Allergènes majeurs et mineurs

La prévalence de sensibilisation dans une population sensibilisée à l'extrait global vis à vis des différentes fractions allergéniques a permis de classer les fractions allergéniques en allergènes majeurs et allergènes mineurs comme définis précédemment (II.B.1 Définitions, page 31) (41). Le plus souvent, un allergène majeur est responsable de signes cliniques contrairement aux allergènes mineurs. C'est une notion qui peut s'appliquer à l'échelle d'une population mais pas au niveau de l'individu : des allergènes mineurs peuvent être rarement responsables de manifestations cliniques, pouvant même être sévères dans certains cas (41).

L'étude des IgE spécifiques des différentes fractions moléculaires pour un patient donné permet d'établir un profil individuel de sensibilisation ou spectrotype (41). A l'échelle de l'individu, l'importance de l'allergène se définit par rapport à la production d'IgE spécifiques vis-à-vis de l'allergène moléculaire comparée aux IgE vis-à-vis de l'extrait global (41).

La prévalence de sensibilisation à une fraction donnée est aussi fonction du type d'allergie en cause (alimentaire, respiratoire ...) comme nous le verrons plus loin (II.B.3.3 Quelques exemples, page 37).

3.2 Panallergènes

Dans le mot panallergène, le préfixe « pan » signifie « tous » (45). Ce terme est utilisé pour désigner des allergènes moléculaires ubiquitaires.

Les panallergènes décrits appartiennent à plusieurs familles protéiques : profilines (les premiers à avoir été décrits), polcalcines ou protéines de liaison du calcium de type « EF-hand » (EFP), les protéines de transfert lipidiques (LTP), les protéine de stress (PR) telles que PR10... (41,45,46).

Dans la pratique courante, le terme de panallergène est plutôt réservé aux allergènes mineurs qui ne sont pas responsables de manifestations cliniques mais plutôt de nombreuses réactions croisées biologiques, telles que les profilines et les polcalcines. A l'inverse, les LTP ne sont pas habituellement désignés par ce terme à cause de leur allergénicité, même si ce sont des allergènes ubiquitaires pouvant être responsables de réactions croisées cliniques.

3.3 Quelques exemples

(1) Allergènes d'origine végétale

Les **allergènes de la famille de Bet v 1** (ou protéines Bet v 1-like) appartiennent à la **famille des protéines PR-10** (47). L'homologie de séquence entre ces protéines et Bet v 1 est variable (de 38% à 67%). Bet v 1 est une fraction allergénique majeure de la pollinose au bouleau (prévalence de sensibilisation supérieure à 95%). La sensibilisation se traduit par des signes cliniques d'allergie respiratoire (de type rhinite et asthme) et alimentaire (de type syndrome oral). Cependant une sensibilisation à des protéines Bet v 1-like d'origine alimentaire (fruits de la famille des Rosacées et des Ombellifères) ne se traduit pas toujours par des manifestations cliniques d'allergie alimentaire comme cela a été démontré avec des tests de provocation orale (48). Ces réactions croisées seront expliquées plus en détail dans un autre paragraphe (II.B.5.3 Allergènes moléculaires et réactivité croisée biologique page 37).

Les LTP appartiennent à la **famille des protéines PR-14**. Une sensibilisation à des fractions allergéniques de cette famille d'origine alimentaire est responsable d'allergie alimentaire (pouvant être sévère dans 30% des cas) dans les pays méditerranéens (47). C'est le cas par exemple de l'allergie à Pru p 3 (pour la pêche) et de Mal d 3 (pour la pomme). Elles sont impliquées dans plusieurs réactions croisées entre les pollens (armoise, pariétaire, olivier...) et les aliments (fruits de la famille des Rosacées). Mais ces réactions croisées avec les pollens sont essentiellement biologiques et ne s'accompagnent pas généralement de pollinose. Elles sont également en cause dans des réactions croisées entre différents fruits de la famille des Rosacées (pomme, pêche, cerise) ou entre les Rosacées et d'autres fruits (noix, noisette, arachide) et peuvent donc être qualifiés de panallergènes (46).

Parmi la famille des PR, nous pouvons également citer les PR-3, comprenant les chitinases de classe I de certains fruits comme l'avocat (Pers a 1), la banane, le kiwi, la châtaigne (Cas s 5) qui croisent avec l'hévéine du latex (Hev b 6.02) (44). Les PR-5 qui comprennent les protéines thaumatine-like, se retrouvent dans certains fruits comme la pomme (Mal d 2) ou la cerise (Pru av 2). Elles peuvent être considérées comme des allergènes majeurs responsables de signes cliniques.

Les profilines sont des allergènes mineurs chez les patients allergiques aux pollens (taux de sensibilisation d'environ 20%) (47,41). Ce sont des protéines du cytosquelette des cellules eucaryotes retrouvées dans de nombreux pollens (par exemple Bet v 2 pour le bouleau et Phl p 12 pour la phléole), elles peuvent donc être considérées comme des panallergènes (46). L'homologie de structure entre ces molécules est incriminée dans de nombreuses réactions croisées entre les pollens de végétaux même s'ils appartiennent à des familles botaniques éloignées (46). Il existe un gradient nord-sud de la prévalence de sensibilisation : elle est plus importante chez les patients d'Europe du Sud présentant une allergie au pollen et une allergie alimentaire, que chez les patients d'Europe du Nord (47,41). Au Nord, la sensibilisation aux profilines se fait par les pollens, dans ce cas c'est un allergène mineur (Bet v 2), qui est responsable de peu de symptômes respiratoires. A l'inverse, dans le Sud de l'Europe, la sensibilisation aux profilines se fait par les pollens, mais aussi surtout par les fruits de la famille des rosacées, dans ce cas, elle peut être responsable de symptômes d'allergie alimentaire. La plupart des réactions cliniques de l'allergie au pollen de bouleau sont dues à la fraction allergénique majeure Bet v 1 (46,47,49). Bet v 2 n'est que rarement responsable de manifestations clinique d'allergie au bouleau. Cependant elle possède une certaine homologie avec des profilines de certains fruits. Une sensibilisation plus importante à Bet v 2 est ainsi retrouvée chez les patients allergiques à certains fruits (banane, ananas ou tomate) ou légumes (céleri, courgette ou paprika). Sa prévalence de sensibilisation est la plus importante dans les cas d'allergies aux fruits ne contenant pas de protéine Bet v 1-like (comme le melon), cependant elle est moins importante dans les allergies aux Rosacées.

Les polcalcéines telles que par exemple Phl p 7 (fraction allergénique mineure de la phléole), Bet v 3 et 4 (fractions allergéniques mineures du bouleau) peuvent également être considérées comme des panallergènes (46). Elles ont été incriminées dans des sensibilisations croisées (réaction croisées biologiques) entre les pollens de végétaux (phléole, olivier, aulne, colza, bouleau, ...) et ne sont en général pas responsables de symptomatologie clinique. En effet Bet v 4 possède une forte homologie de séquences avec des protéines de la phléole, du colza, de l'olivier La positivité des IgE spécifiques à ces fractions allergéniques ne permet

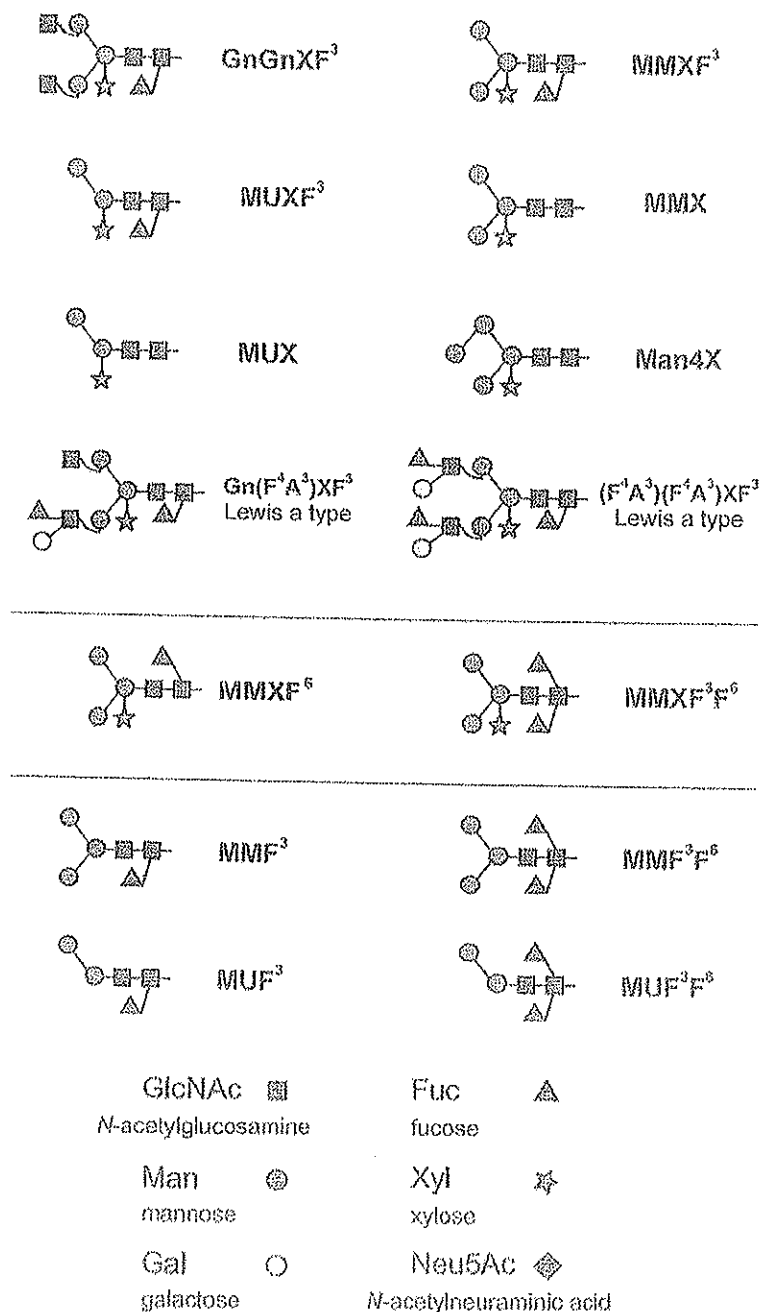


Figure 5 : principaux CCD (52)

pas d'identifier la source allergénique sensibilisante responsable de la symptomatologie, il sera donc nécessaire de poursuivre l'exploration.

(2) Allergènes d'origine animale

Parmi les pneumallergènes d'origine animale, l'albumine de mammifère et la tropomyosine (arthropodes) peuvent également être considérés comme des panallergènes (41).

La tropomyosine (Der p 10 et Der f 10 pour les acariens, Pen a 1 pour la crevette) est un allergène qui a de fortes homologues au sein des invertébrés (41). On la retrouve dans les cellules musculaires (où elle participe à la contraction) et non musculaires (où elle joue un rôle dans la régulation de la morphologie et de la mobilité de ces cellules) (50). C'est un allergène mineur dans le cadre de l'allergie respiratoire (acariens, blattes). Sa fréquence de sensibilisation est inférieure à 10% en France et il n'est que très rarement responsable de symptomatologie d'allergie respiratoire (50). Cependant, dans le cas des allergies alimentaires aux crustacés et en particulier à la crevette, c'est un allergène majeur responsable de signes cliniques d'allergie alimentaire de sévérité variable (du syndrome oral à l'anaphylaxie sévère).

4. Les déterminants carbohydrates

Les déterminants carbohydrates ou CCD (Cross-reactive Carbohydrate Determinants) ont été découverts dans les années 1970. Ce ne sont pas des allergènes moléculaires mais ils représentent la deuxième cause de réactivité croisée biologique après les pneumallergènes. Ce sont des **résidus glucidiques** fixés au niveau de séquences polypeptidiques de nombreux allergènes mais qui sont classiquement absents des glycoprotéines de mammifères (47,51,52). Ils sont présents en grande quantité dans les pollens de graminées et d'arbres mais aussi dans des aliments d'origine végétale (comme la cacahuète, le céleri, la pomme de terre et la tomate par exemple) ou des mollusques/crustacés, dans des venins d'hyménoptères et dans le latex (51,53). Les principaux CCD des végétaux sont des oligosaccharides contenant du fucose et du xylose : MMXF3 (par exemple la peroxydase du raifort) et MUXF (par exemple la broméline) (52) (Figure 5). Il existe d'autres CCD sans fucose (MMX par exemple l'ascorbate oxydase) ou sans xylose (MMF3 ou MMF6). Dans les venins d'hyménoptères, les CCD sont des oligosaccharides sans xylose mais avec un ou deux résidus fucose (MMF3F6 le plus souvent) comme par exemple ceux qui sont présents sur la phospholipase A₂ ou la hyaluronidase.

Des IgE spécifiques anti-CCD (IgE anti-broméline purifiée, Phadia®) sont présentes dans le sérum de 40% des patients allergiques au pollen ainsi que de 16 à 55% de patients allergiques à certains fruits et légumes (notamment la tomate et l'arachide) (54,55). Elles ne sont présentes que chez 5% des patients non allergiques.

Cependant ces résidus ne semblent pas avoir de signification clinique dans la plupart des cas (52,54,56,57). Plusieurs hypothèses sont suggérées pour expliquer cette absence de signification clinique (52). Les IgE anti-CCD ne seraient pas capable d'induire la dégranulation des mastocytes et des polynucléaires basophiles d'une part à cause de la liaison de faible affinité entre les IgE et le résidu carbohydrate, et d'autre part par la présence dans le sérum de patients de grandes quantités d'anticorps bloquant (probablement des IgG4) d'affinité suffisante. Les CCD peuvent être responsables de réactivité croisée (biologiques) entre certains aliments et les pollens (15,57). Dans une population de patients sensibilisés au pollen, un tiers avaient des IgE anti-arachide nAra h 1 et/ou 2 (technique maison) sans test cutané positif ni signes cliniques d'allergie à l'arachide (51). Dans ce groupe 91% des patients avaient des IgE anti-CCD (et seulement 6% des IgE anti-profilines d'arachide c'est-à-dire Ara h 5), ce qui semble indiquer que les CCD ont une importance pour expliquer les réactions croisées biologiques en particulier des IgE spécifiques d'aliments positives chez des patients allergiques au pollen.

L'obtention d'allergènes recombinants dans un système bactérien d'*E. coli* permet de s'affranchir des réactivités croisées avec les CCD. Les allergènes recombinants synthétisés dans ce système ne comportent pas de CCD (à la différence de ceux produits à partir de levures) car les bactéries sont des procaryotes qui ne possèdent pas de système de glycosylation des protéines (15).

5. Apport des allergènes moléculaires

Le diagnostic réalisé avec des extraits allergéniques naturels ne renseigne pas sur la protéine allergénique responsable de la sensibilisation, au contraire de l'allergène recombinant qui permet la détermination quantitative des IgE spécifiques dirigées contre les différents composés allergéniques moléculaires (15,41). De plus contrairement aux extraits allergéniques naturels qui n'ont pas toujours la même composition, les allergènes recombinants ont l'avantage d'avoir des propriétés constantes.

5.1 Production d'allergènes

Les méthodes de production d'allergène recombinant vues précédemment permettent d'obtenir de manière industrielle et très standardisée de grandes quantités d'allergènes : 10mg de rBet v 1 par litre de culture d'E. coli, 50-250 mg par litre de cultures de levures (21,41).

5.2 Allergènes moléculaires et exposition

Comme nous allons le voir à partir de quelques exemples, les allergènes moléculaires ont permis d'expliquer certains profils de sensibilisation, à la fois à l'échelle des populations (aide à la compréhension de l'épidémiologie des allergies) et à l'échelle de l'individu (interprétation en fonction de l'origine et du lieu d'habitation du patient) (29).

(1) Les pollens

La prévalence de sensibilisation des fractions allergéniques est fonction de la localisation géographique et donc de l'exposition à la source allergénique (21,41). En ce qui concerne le pollen de bouleau, la prévalence de sensibilisation aux allergènes Bet v 1 et Bet v 2 est différente entre l'Europe du Nord et la région méditerranéenne (21). Dans le nord de l'Europe, la prévalence de sensibilisation est supérieure à 90% pour Bet v 1 et inférieure à 30% pour Bet v 2 (21). En revanche dans la région méditerranéenne la prévalence de sensibilisation est similaire pour les deux allergènes (environ 60%) (21). La sensibilisation à Bet v 1 est responsable de la plupart des manifestations cliniques de l'allergie au bouleau (46). A l'opposé, une sensibilisation à l'allergène mineur Bet v 2 n'est que rarement responsable de symptômes respiratoires. Par contre elle joue un rôle dans les allergies alimentaires (melon, pastèque, banane, tomate, agrumes) (58).

Il en est de même pour le pollen de graminée. La prévalence de sensibilisation aux allergènes majeurs des graminées est variable selon les continents (21,41). Par exemple, en ce qui concerne Phl p 1, elle est de 95% en Europe mais seulement de 65% au Japon. Pour Phl p 5, elle est de 58% en France et même de 87% en Italie, mais seulement de 13% au Canada.

(2) Le latex

La composition en latex est très différente selon l'origine géographique des arbres à caoutchouc. La prévalence de sensibilisation aux différentes fractions allergéniques du latex dépend donc de l'origine géographique des patients. De plus la composition des extraits de latex est différente non seulement selon les arbres dont ils sont extraits mais aussi selon la saison d'extraction, le stockage du latex et de nombreux autres facteurs environnementaux et

Tableau 2 : apport des allergènes recombinants au diagnostic de l'allergie aux pollens

<i>Cas n°</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
Clinique	Mai-juillet	Avril	Avril-juillet
Test cutanés	Bouleau +	Bouleau +	Bouleau +
	Graminée +	Graminée +	Graminée +
IgE spécifiques extrait global	Bouleau +	Bouleau +	Bouleau +
	Graminée +	Graminée +	Graminée +
Moléculaire majeur spécifique bouleau	Bet v 1 -	Bet v 1 ++	Bet v 1 ++
Moléculaire majeur spécifique graminée	Phl p 1 ++	Phl p 1 -	Phl p 1 ++
	Et/ou	Et	Et/ou
	Phl p 5 ++	Phl p 5 -	Phl p 5 ++
Moléculaire mineur « croisant »	Bet v 2/Phl p 12 +	Bet v 2/Phl p 12 +	Bet v 2/Phl p 12 +/-
	Et/ou	Et/ou	Et/ou
	Bet v 4/Phl p 7 +	Bet v 4/Phl p 7 +	Bet v 4/Phl p 7 +/-
Conclusion	Allergie graminée	Allergie bouleau	Allergie bouleau + graminée

agronomiques (59). Les résultats des tests cutanés peuvent donc être différents selon l'extrait utilisé. Il est donc conseillé en cas de test cutané négatif avec un extrait commercial, en cas de forte suspicion clinique, de réaliser aussi un test cutané avec un extrait d'une marque différente et de composition différente.

Les composants allergéniques incriminés sont également fonction du contexte clinique : Hev b 1 et 3 chez les patients atteints de Spina bifida ou multi-opérés, Hev b 2, 5, 6 et 13 principalement chez les professionnels de santé (et plus rarement chez les Spina bifida) (29,41).

La positivité des IgE spécifiques anti-Hev b 8 (profiline) chez un patient allergique au pollen permet d'éliminer une allergie au latex en l'absence de positivité des fractions allergéniques majeures du latex (29).

Nous reviendrons sur ce point dans un autre paragraphe (II.B.5.4(1) Allergies croisées entre le latex et certains fruits ou pollens, page 44).

5.3 Allergènes moléculaires et réactivité croisée biologique

Les réactions croisées biologiques posent un problème majeur dans le diagnostic de l'allergie (15). Il s'agit de la reconnaissance par des IgE spécifiques de molécules de différents extraits globaux qui ne sont pas capables de déclencher une réaction allergique chez le patient, à la différence de l'allergie croisée (ou réactivité croisée clinique) (15). Avec les composants allergéniques, l'interprétation des résultats d'IgE spécifiques peut se faire en fonction des familles moléculaires et permettre la compréhension d'un certains nombres de situations cliniques (29). Autrement dit, les fractions allergéniques permettent de distinguer une sensibilisation (présence d'IgE spécifiques prouvées par des dosages d'IgE spécifiques ou des tests cutanés) d'une allergie (présence de signes cliniques) par la comparaison des positivités des allergènes majeurs et mineurs (cf. exemples ci-dessous)

(1) Les pollens

Par exemple en ce qui concerne les allergies aux pollens, une sensibilisation à des profilines telles que Bet v 2 et Phl p 12 sans sensibilisation associée à Bet v 1 (qui est responsable de la plupart des manifestations cliniques de l'allergie au bouleau) ou Phl p 1/5 (qui sont des fractions allergéniques majeures des graminées) permet d'expliquer la discordance entre les données cliniques et les résultats des tests diagnostiques (Tableau 2) (41,46). Une monosensibilisation à Bet v 2 est le plus souvent le témoin d'une sensibilisation à un autre pollen que le bouleau (46). Si l'on reprend par exemple le cas 1 mentionné dans le



Tableau 2 : il s'agit d'un patient présentant une rhinoconjonctivite de mai à juillet, il y a donc une forte suspicion d'allergie aux graminées. Mais les tests cutanés ainsi que les dosages des IgE spécifiques d'extraits globaux de graminées et de bouleau étant positifs, la question d'une double allergie aux graminées et au bouleau peut se poser. La réalisation de dosage d'IgE spécifiques des fractions allergéniques correspondantes va permettre de trancher : la positivité des tests cutanés et des extraits globaux de bouleau peut s'expliquer par la positivité des fractions allergéniques « croisantes » Bet v 2/Phl p 12 (profiline) ou Bet v 4/Phl p 7 (polcalcine). Cependant même si la sensibilisation aux profilines ne semble pas être responsable de symptomatologie clinique dans la plupart des cas, elle peut dans de rares cas être responsable de véritables réactions croisées cliniques (46). Le cas 2 correspond au cas inverse d'une allergie unique au bouleau, tandis que le cas 3 correspond à une double allergie bouleau/graminée. Ce sont les résultats des fractions allergéniques qui permettent de savoir dans lequel des trois cas on se trouve.

(2) La tropomyosine

Comme nous l'avons vu précédemment la tropomyosine peut être considérée comme un panallergène des invertébrés : c'est un allergène majeur dans le cas des allergies alimentaires (comme par exemple aux crustacés et aux mollusques) mais mineur dans le cas des allergies respiratoires aux acariens.

Si l'on prend par exemple le cas d'un patient présentant des signes cliniques d'allergie après ingestion de crevettes mais sans signes cliniques d'allergie respiratoire. Les tests cutanés vis-à-vis des crustacés et mollusques sont positifs, ainsi que ceux vis-à-vis des acariens *Dermatophagoïdes pteronyssinus* (D1) et *Dermatophagoïdes farinae* (D2). Les dosages des IgE spécifiques des extraits allergéniques correspondants sont également positifs. Les dosages des IgE spécifiques de Pen a 1 sont positifs montrant une sensibilisation avec des IgE spécifiques à la tropomyosine par ingestion de crevettes. La consommation de crustacés et de mollusques est donc à éviter. En revanche, la positivité des tests cutanés et des IgE spécifiques des acariens relève plutôt d'une réaction croisée biologique entre la tropomyosine de crevette et la tropomyosine des acariens contenu dans les extraits globaux. Si la patiente devenait symptomatique sur le plan de l'allergie respiratoire, une désensibilisation aux acariens serait d'ailleurs à éviter en raison du risque important d'aggraver l'allergie alimentaire. Pour être sûr, il faudrait réaliser le dosage des IgE spécifiques anti-fractions allergéniques majeures des acariens. Jusqu'à il y a peu, ces tests n'existaient pas mais ce sera une des questions de l'étude suivante.

Tableau 3 : algorithme décisionnel en cas de suspicion d'allergie au latex

IgE spécifiques Latex (K82)	-	+	+
IgE spécifiques Hev b 5	-	-	+
IgE spécifiques Hev b 6.01	-	-	+
Interprétation	?? Poursuivre l'exploration	Faible risque d'allergie au latex ⇒ explorer une réactivité croisée : CCD, Hev v 8	Risque élevé d'allergie au latex ⇒ évaluer les risques de réactions sévères : Hev b 1 et Hev b 3

5.4 Allergènes moléculaires et allergies croisées (réactivité croisée clinique)

(1) Allergies croisées entre le latex et certains fruits ou pollens

Hev b 6 et 11 sont responsables d'allergies croisées entre le latex et certains fruits (kiwi, banane, avocat, châtaigne) (41,49). Cette réactivité croisée clinique peut être expliquée par une sensibilisation croisée entre l'hévéine du latex (Hev b 6.02) et la portion hévéine-like des chitinases des fruits concernés (Mus p 1, Pers a 1 et Cas s 5). Hev b 11 pourrait également être impliqué (41).

Hev b 7 et la patatine de pomme de terre possèdent une homologie de structure et pourrait être impliqués également dans une réaction croisée clinique allergène alimentaire-latex (49).

Le rôle de Hev b 8 (profiline), Hev b 2 (β -glucanase) ou Hev b 12 (LTP) a également été proposé pour expliquer certaines cosensibilisations pollen-latex ou allergènes alimentaires-latex (41,49).

Le Tableau 3 résume les différentes situations cliniques pouvant être rencontrées. Lors d'une suspicion d'allergie au latex, la réalisation d'IgE spécifiques du latex associée aux IgE spécifiques des fractions allergéniques Hev b 5 et Hev b 6.01 vont permettre d'évaluer le risque d'allergie au latex. La négativité ne permet pas d'exclure totalement une allergie au latex et il est donc souhaitable de poursuivre l'exploration par la réalisation de tests de provocation. La positivité des IgE spécifiques du latex associée à au moins une des deux fractions allergéniques est en faveur d'un risque élevé d'allergie au latex. Dans un deuxième temps (ou tout de suite selon l'histoire clinique), la recherche de fractions allergéniques pouvant être responsables de réactions sévères (Hev b 1 et 3) pourra être effectuée. En cas de négativité des fractions allergéniques mais de positivité des IgE spécifiques au latex, il existe un faible risque d'allergie au latex. La recherche de réactivité croisée (CCD, Hev b 8) devra être réalisée.

(2) Allergies croisées entre le pollen de bouleau et les Rosacées

Bet v 1 est une fraction allergénique majeure du pollen de bouleau qui présente une homologie structurelle avec Mal d 1 (fraction allergénique majeure de la pomme), Pru p 1 (allergène majeur de la pêche) et Pru av 1 (allergène majeur de la cerise) (49,60). Ces quatre fractions allergéniques appartiennent à la famille moléculaire des PR-10.

Tableau 4 : algorithme décisionnel en cas de suspicion d'allergie aux fruits

IgE spécifiques Extrait fruit	-	+	+	+
IgE spécifiques Pru p 1	-	-	+	+/-
IgE spécifiques Pru p 3	-	-	-	+
Interprétation	Faible risque → poursuivre l'explorati on (TPO)	Réactivité croisée → Pru p 4, CCD	Risque de syndrome oral avec fruits crus	Risque de réactions sévères (fruits crus et cuits)

En Europe du Nord, où cet arbre est présent, les patients se sensibilisent dans un premier temps au bouleau par exposition respiratoire à Bet v 1 puis aux fruits de la famille des Rosacées avec en général des symptômes de type syndrome oral. Le syndrome oral (ou syndrome de Lessof) regroupe un ensemble de symptômes survenant chez un patient dans les minutes suivant l'ingestion d'un aliment auquel il est allergique : prurit pharyngé, œdèmes labial et de la langue. Mal d 1, Pru p 1 et Pru av 1 sont des protéines labiles, ce qui permet d'expliquer d'une part que les patients ne se sensibilisent pas en premier de manière orale, et que d'autre part que les symptômes soient limités à un syndrome oral car ce sont des protéines sensibles à l'acidité gastrique et la protéolyse (Tableau 4). De plus ces protéines étant thermolabiles, les signes cliniques ne surviennent normalement qu'après ingestion de fruits crus, les aliments cuits et les compotes ne sont généralement pas responsables de manifestations cliniques.

A l'inverse, dans les pays où le bouleau n'est pas présent (comme par exemple en Espagne), les patients peuvent présenter une allergie alimentaire vraie isolée aux Rosacées en dehors de toute pollinose (49). Les fractions allergéniques responsables sont alors des LTP appartenant à la famille moléculaire des PR14 (Mal d 3 pour la pomme, Pru av 3 pour la cerise et Pru p 3 pour la pêche) (49,60). Ce sont des polypeptides résistants à l'acidité gastrique et à la chaleur, ce qui permet d'expliquer la symptomatologie plus grave avec des réactions généralisées allant jusqu'à l'anaphylaxie y compris avec les fruits cuits (compotes) (Tableau 4). Dans ce cas, la sensibilisation à la pêche par Pru p 3 précède l'allergie à la pomme qui survient dans un deuxième temps probablement à cause de la réactivité croisée entre Pru p 3 et Mal d 3.

A noter qu'en Auvergne, la plupart des patients ont un profil de patients du Nord (sensibilisation par PR-10), mais quelques patients ont un profil du Sud (sensibilisation par les LTP).

5.5 Allergènes moléculaires et sévérité clinique

(1) Arachide

Les fractions allergéniques de l'arachide appartiennent à différentes familles protéiques : prolamine (albumine 2S) pour Ara h 2, 6 et 7, viciline pour Ara h 1, légumine pour Ara h 3 et 4, profiline pour Ara h 5 et protéine PR10 Bet v 1-like pour Ara h 8 (61). Ara h 9 est une nsLTP apparentée à Pru p 3.

Tableau 5 : algorithme décisionnel en cas de suspicion d'allergie à l'arachide

IgE spécifiques anti-arachide (extrait global)	-	+	+
IgE spécifiques anti-Ara h 2	-	-	+
Interprétation	Faible risque d'allergie ⇒ réalisation TPO	Risque d'allergie Risque de réactions sévères et /ou locales ⇒ Recherche d'autres allergènes responsables de réactions sévères (nsLTP ou Ara h 9 > Ara h 1 > Ara h 3 > Ara h 8 > CCD)	Risque élevé d'allergie Risque de réactions sévères

Les fractions allergéniques majeures sont Ara h 1, 2 et 3 et peuvent être associées à des symptômes. Ara h 3 a été impliqué dans des réactions croisées avec le lupin et le soja.

Le Tableau 5 résume les différentes situations cliniques pouvant être rencontrées. La négativité des IgE spécifiques de l'arachide et de Ara h 2, si elle est associée à une symptomatologie n'exclut pas l'allergie à l'arachide. Cela nécessite des investigations complémentaires (réalisation d'un TPO, recherche d'autres fractions allergéniques). La positivité des IgE spécifiques de l'arachide et de Ara h 2 est associée à un risque élevé d'allergie à l'arachide avec un risque de réactions systémiques et sévères (29,62). Cependant la gravité d'une sensibilisation à Ara h 2 et Ara h 1 et/ou 3 semble être plus importante que dans les cas de monosensibilisation à Ara h 2 (15). Dans le cas intermédiaire (positivité des IgE spécifiques de l'arachide mais IgE spécifiques anti-Ara h 2 négatives), il existe un risque d'allergie à l'arachide. Il sera nécessaire de rechercher la positivité des IgE spécifiques pour des fractions allergéniques pouvant être associées à un risque de réactions sévères. C'est avec les nsLTP (Ara h 9) que le risque de réactions sévères est le plus important, puis par ordre décroissant : Ara h 1 et Ara h 3, Ara h 8 et les CCD. Une positivité à Ara h 9 peut être la conséquence d'une sensibilisation primaire à une LTP des fruits ou des pollens et être responsable de réactions systémiques et de syndrome oral. Une réactivité croisée a été mise en évidence entre les fractions allergéniques du pollen du bouleau (Bet v 1 et 2) et Ara h 5 et Ara h 8 (62). Ara h 8 est une protéine thermolabile, les aliments cuits sont donc souvent tolérés. Elle peut être impliquée dans la survenue de syndrome oral lié à la consommation d'arachide.

(2) Rosacées

Comme nous l'avons vu précédemment (Tableau 4) dans le cas de l'allergie aux fruits de la famille des Rosacées, la sensibilisation aux fractions allergéniques de la famille des LTP (telles que Pru p 3 ou Mal d 3) est prédictive d'un risque de développer des réactions généralisées, tandis qu'une sensibilisation aux fractions allergéniques de la famille des PR-10 (telles que Mal d 1 et Pru p 1) sera en faveur d'un syndrome oral (49,60).

5.6 Allergènes moléculaires et traitement

Jusqu'à récemment, l'ITS utilisait des extraits allergéniques. L'utilisation de fractions allergéniques dans l'ITS permettrait d'améliorer la standardisation des composants utilisés (37,38). Par ailleurs, l'identification des composants allergéniques responsables des signes cliniques peut être utilisée dans la réalisation d'une immunothérapie spécifique ciblée vis-à-

vis de la fraction allergénique en cause. La connaissance du spectrotype du patient permet d'optimiser ce traitement : choix de la fraction allergénique la plus adaptée pour des patients monosensibilisés ou paucisensibilisés et abstention pour les patients polysensibilisés chez qui le traitement risque de ne pas être efficace (41).

L'ITS permet également d'être plus efficace pour les patients ayant un spectrotype inhabituel. En effet, la plupart des patients allergiques réagissent aux mêmes composants des extraits allergéniques (allergènes majeurs), certains patients sont sensibles à d'autres allergènes appelés allergènes mineurs (37). Chez ces patients, l'ITS avec les extraits allergéniques n'est pas toujours efficace et peut même induire de nouvelles sensibilisations. L'utilisation d'allergènes moléculaires pourrait être plus efficace et diminuerait le risque de développer de nouvelles sensibilisations (37,38).

Grâce aux technologies de biologie moléculaire, il est également possible de créer de nouvelles formes de molécules allergéniques, des « allergènes hypoallergéniques » (15,37). Par exemple un recombinant trimérique de Bet v 1 a été créé : même s'il contient les mêmes épitopes que la molécule native, il est beaucoup moins allergénique, et donc est responsable de moins d'effets secondaires. Mais il est aussi immunogène que Bet v 1 et induit une réponse analogue à celle de l'ITS standard. Des recombinants hypoallergéniques des principaux allergènes de graminées ont également été créés.

Une autre orientation possible serait la création d'épitope T qui seraient capables de se lier aux cellules T sans réagir avec les IgE (15). Cela permettrait d'induire un déséquilibre de la balance Th1/Th2 vers la voie des Th1. Par exemple des études ont été réalisées avec des épitopes T de phospholipase dérivée de venin d'abeille et avec des épitopes de Fel d 1, mais les résultats de ces études sont controversés en raison du risque de survenue d'effets indésirables sévères malgré une amélioration clinique de la tolérance à l'allergène.

D'autres voies sont également possibles comme l'utilisation d'épitope B, de protéines de fusion (allergène couplée au fragment Fc de IgG).

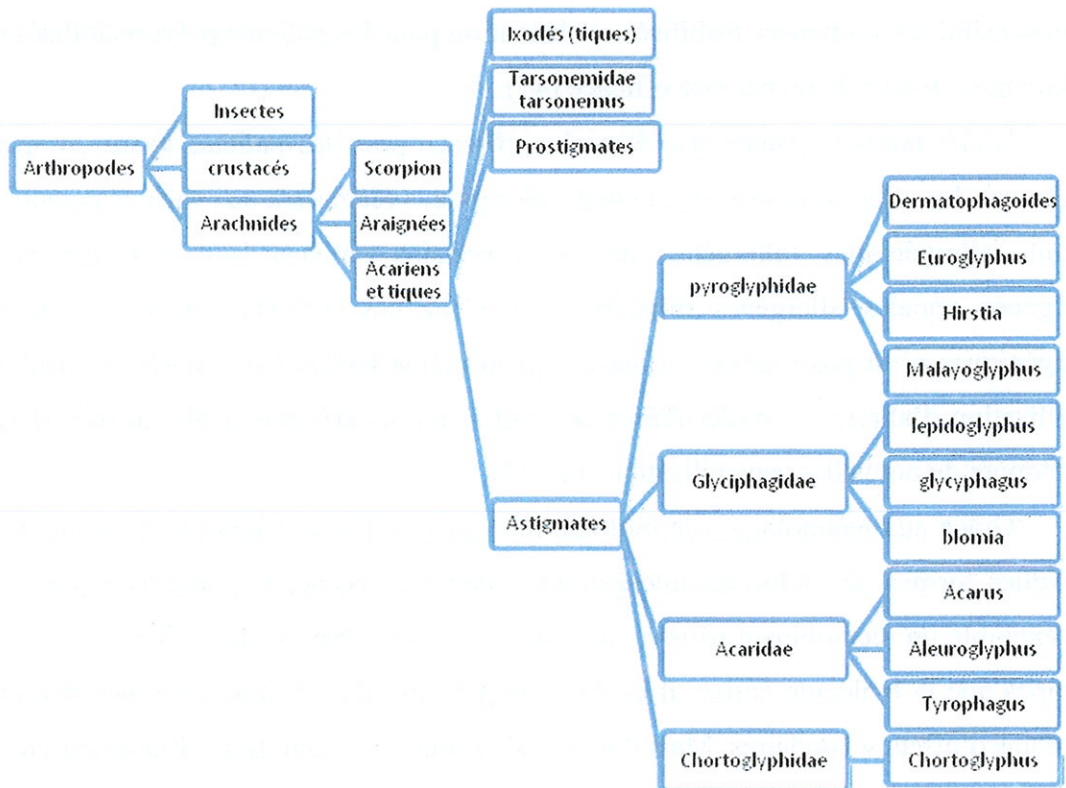


Figure 6 : systématique des acariens

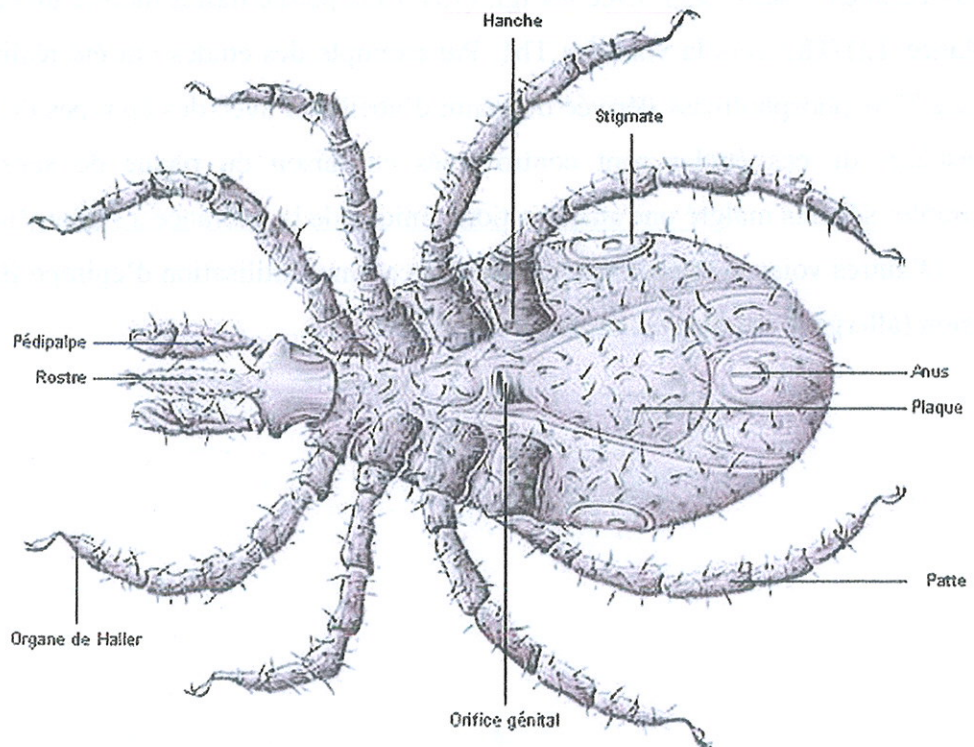


Figure 7 : morphologie des acariens

III. Partie 2 : les allergies aux acariens, au chat et au chien

A. Généralités sur l'allergie aux acariens, au chat et au chien

1. Allergie aux acariens

1.1 Les acariens

(1) Classification et morphologie

Les acariens de la poussière de maison appartiennent à l'embranchement des arthropodes, la classe des arachnides, la sous classe des acariens et l'ordre des astigmates (21,22,63). Dans l'ordre des astigmates, trois familles jouent un rôle important dans l'allergie respiratoire : les pyroglyphidae, les glycyphagidae et les acaridae (Figure 6).

Les acariens pyroglyphides sont les acariens les plus fréquemment retrouvés en pathologie humaine. Ils ont un corps ovalaire d'environ 0.3 mm de long divisé en deux parties : le prosoma portant les 4 paires de pattes articulées et l'opisthosoma (Figure 7) (16,21,64). Ils possèdent à l'avant du corps une paire de chélicères préhensiles et une paire de pédipalpes tactiles. Ils mesurent entre 170 à 500 µm.

(2) Espèces responsables d'allergie (2,16,17,22, 63,65)

Les acariens de la poussière de maison (ou acariens domestiques) appartiennent à la famille des pyroglyphidae dont les principales espèces sont *Dermatophagoïdes pteronyssinus* (Dp) dans les régions tempérées à tropicales, *Dermatophagoïdes farinae* (Df) dans les régions sèches et en moins grande quantité *Euroglyphus maynei* (Em) dans les régions tempérées (Figure 6). Ils se trouvent principalement dans les literies (matelas, couettes, oreillers) où ils se nourrissent des produits de desquamation de la peau humaine, mais aussi dans les tapis, moquettes, canapés, fauteuils et vêtements.

Les acariens de stockage appartiennent à la famille des glycyphagidae et des acaridae (Figure 6). Ils sont plutôt responsables de pathologies professionnelles de type asthme car ils se retrouvent dans les silos à grains (fermiers, ouvriers agricoles) et les boulangeries. Mais ces deux familles peuvent aussi être contaminants de la poussière de maison : ce sont des sources mineures mais non négligeables d'allergènes de la poussière de maison dans certaines conditions (humidité élevée). Les espèces principales de la famille des glycyphagidae sont *Lepidoglyphus destructor* (espèce dominante en Europe dans les régions rurales et parfois urbaine si le degré d'humidité des habitations est élevé), *Glycyphagus domesticus* et *Blomia tropicalis* (acarien domestique dans les régions tropicales et subtropicales). Dans la famille des acaridae *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae* et *Tyrophagus longior* sont les espèces principales.

Par la suite nous nous limiterons aux acariens de la poussière de maison *Dermatophagoïdes farinae* et *Dermatophagoïdes pteronyssinus* qui sont ceux testés dans notre étude.

(3) Biologie et écologie

Les acariens pyroglyphides vivent en moyenne trois mois et se reproduisent une à deux fois au cours de leur vie. La femelle de *Dermatophagoïdes farinae* pond environ 200 œufs tandis que celle de *Dermatophagoïdes pteronyssinus* pond seulement 20 à 80 œufs. Pour passer de l'œuf à l'état adulte, il s'écoule un mois au cours duquel l'acarier passe par cinq stades différents : œuf, larve, protonympe, tritonympe et enfin adulte (21,22).

Pour se développer les acariens ont besoin de conditions favorables : milieu humide et tempéré. L'humidité est un facteur primordial pour le développement des acariens : leur développement à 25°C est optimal pour une hygrométrie de 75% pour *Dermatophagoïdes pteronyssinus* et 50% pour *Dermatophagoïdes farinae*. Cette différence permet probablement d'expliquer les différences de répartition géographique de ces deux espèces. *Dermatophagoïdes pteronyssinus* préfère les régions tempérées et tropicales, tandis que *Dermatophagoïdes farinae* est prédominant dans les régions à climat continental (66). La température est aussi un facteur important : une température de 25 à 30 °C est optimale pour le développement des acariens. Ces deux facteurs (humidité et température) jouent un rôle primordial dans la croissance des acariens : lorsque les conditions ne sont pas favorables, c'est un facteur limitant leur croissance. L'altitude joue aussi un rôle non négligeable : au-delà de 1000 mètres le nombre d'acariens diminue jusqu'à être nul à partir de 1500 mètres (sauf si les conditions d'hygrométries sont favorables) (16,17,21).

Tableau 6: Expression des résultats de l'Acarex-test®

<i>Réaction</i>	<i>Classe</i>	<i>Taux de guanine (%)</i>
Nulle	0	0 - 0,06
Faible	1	0,06 - 0,25
Modérée	2	0,25 - 1
Forte	3	>1



Figure 8: Acarex-test®

(4) Les allergènes

(a) Sources d'allergènes

Les allergènes sont retrouvés principalement au niveau du corps des acariens et des matières fécales des acariens (enzymes digestives) qui s'accumulent dans la poussière domestique (21,22,63). Les protéines du corps des acariens sont thermorésistantes, alors que les protéines des déjections sont thermosensibles. Les allergènes des acariens sont également retrouvés au niveau de la salive.

(b) Les différents allergènes

C'est à partir des cultures d'acariens qu'il a été possible de purifier les allergènes des acariens (7,21,63,67). De nombreux antigènes sont produits par les acariens mais seulement une vingtaine d'entre eux sont des allergènes. Les différents allergènes peuvent être différenciés par leur poids moléculaire, leur séquence en acides aminés, ainsi que par leur fonction biologique. Nous reviendrons sur les différentes fractions allergéniques identifiées dans un autre paragraphe portant spécifiquement sur les allergènes moléculaires (III.B.1. Allergie aux acariens, les différentes fractions allergéniques page 56)

(c) Mise en évidence des acariens dans l'environnement et de leurs allergènes

Trois méthodes sont utilisables pour mettre en évidence les acariens ainsi que leurs allergènes dans l'environnement : comptage et identification des acariens, dosage des allergènes, dosage de la guanine (7,21,68). La guanine est un catabolite du métabolisme azoté, retrouvé dans les fèces des acariens. Elle est excrétée par les acariens mais pas par les autres arthropodes présents dans la poussière. L'Acarex-test® est un test semi-quantitatif colorimétrique mis au point en 1984 par Bischoff et Schirmacher (Figure 8). Les résultats sont exprimés en pourcentage de guanine présente dans la poussière analysée (Tableau 6). Ce test permet d'évaluer la quantité d'allergènes provenant des fèces des acariens, de mettre en évidence leur contamination d'un environnement (matelas, moquette,...) et d'établir une évaluation du nombre d'acariens présent dans la poussière.



1.2 Pathologies

L'allergie aux acariens est dominée par des signes respiratoires tels que la rhinite et les conjonctivites (16,17,22,68). Elle peut également se manifester par de l'asthme. La symptomatologie est généralement per-annuelle mais une recrudescence saisonnière (fin de l'été au début de l'automne en Europe) peut être observée, en particulier après la mise en route du chauffage et à la fin d'étés pluvieux. Les symptômes sont présents au domicile (en particulier dans la chambre à coucher) ou dans les habitats non dépoussiérés. Ils peuvent être provoqués par les activités domestiques mais disparaissent à l'hôpital et lors de séjours en altitude sèche supérieure à 1500 mètres. De rares cas d'allergies alimentaires après ingestion de farines contaminées par une grande quantité d'acariens ont été rapportés. Il a aussi été rapporté des cas de dermatite atopique.

1.3 Diagnostic

Le diagnostic de l'allergie aux acariens repose dans un premier temps sur un interrogatoire rigoureux, qui recherchera une symptomatologie évocatrice d'allergie (rhinite pouvant être associée à une conjonctivite bilatérale et de l'asthme) (2). L'interrogatoire cherchera à préciser les conditions de logement (literie, moquette, chauffage, humidité), les facteurs déclenchants (activités de ménage) ainsi que la périodicité des symptômes (toute l'année).

Dans un deuxième temps des tests cutanés aux allergènes suspectés, acariens domestiques (*Dermatophagoïdes pteronyssinus* et *Dermatophagoïdes farinae*) et de stockage permettent d'identifier les allergènes responsables de l'allergie (2).

Enfin si nécessaire, ce bilan pourra être complété par des dosages biologiques d'IgE spécifiques des extraits globaux de *Dermatophagoïdes pteronyssinus* (D1) et *Dermatophagoïdes farinae* (D2) (2).

Cependant il existe des problèmes de réactivité croisée non seulement entre les différents types d'acariens (notamment avec les acariens de stockage), mais aussi avec d'autres arthropodes tels que les blattes. De plus comme nous l'avons vu précédemment il existe également une réactivité croisée avec la tropomyosine de crevette. Nous reviendrons sur ce point dans un autre paragraphe. Afin d'aider à l'interprétation de ces réactions croisées, il existe depuis peu des dosages d'IgE spécifiques de fraction moléculaires des acariens et de la tropomyosine de crevette qui feront l'objet d'une partie de cette étude.

1.4 Traitement étiologique

L'éviction joue un rôle important dans le traitement des allergies aux acariens. Elle se fait principalement par des méthodes physiques : aspirateurs munis de filtre HEPA, diminution de l'humidité, changement et lavage de la literie. Les mesures d'évictions doivent être associées à un traitement symptomatique et de fond. Mais ici nous avons décidé de ne cibler que les aspects thérapeutiques en lien avec les allergènes moléculaires.

Lorsque les mesures d'éviction bien menées et le traitement médicamenteux bien suivi se révèlent inefficace, l'ITS est indiquée dans les allergies sévères à type de rhinite persistante modérée à sévère et d'asthme léger, chez les patients monosensibilisés (nDer p 1 et nDer p 2 positifs) (2). Elle permettrait de diminuer l'apparition de nouvelles sensibilisations ainsi que le risque de survenue d'un asthme.

La désensibilisation aux acariens a été réalisée depuis les années 1970 avec des extraits de poussière de maison par voie sous-cutanée (21). Progressivement ces extraits ont été remplacés par des extraits allergéniques d'acariens (D1 et D2), car la désensibilisation est plus efficace avec des extraits d'acariens qu'avec des extraits de poussière de maison (69).

Comme nous l'avons dit précédemment, le rythme des injections est d'une par semaine puis tous les 15 jours jusqu'à atteindre la dose d'entretien puis d'une injection par mois pendant 3 à 5 ans.

Les résultats des études divergent : certaines mettent en évidence une diminution de la symptomatologie ainsi que du besoin en médicament, tandis que d'autres ne montrent pas de différence entre le groupe traité par ITS et les groupes non traités par ITS (69). Ces discordances pourraient être dues au fait qu'il est difficile chez un patient souffrant d'allergie perannuelle de déterminer avec certitude à quel allergène il est allergique (37). L'ITS réalisée par voie sublinguale semble être aussi efficace que l'ITS réalisée par voie sous-cutanée (70). La diminution de la production des IgE spécifiques et l'augmentation de la production des IgG4 n'est pas toujours retrouvée dans l'allergie aux acariens (21).



2. Allergie au chat et au chien

2.1 Les allergènes

(1) Allergènes du chat

Le chat est une source d'allergie très fréquente : c'est la deuxième cause d'allergie respiratoire derrière les acariens. Parmi les allergènes de l'environnement intérieur, l'allergie au chat et au chien est une des allergies les plus fréquentes après l'allergie aux acariens (22,71). La prévalence de sensibilisation au chat est de l'ordre de 30% dans la population générale (9). Les contacts étroits liés à la présence d'un ou de plusieurs animaux dans un espace restreint augmentent l'exposition et le taux d'allergènes (70). Près d'un tiers des enfants consultant pour des manifestations respiratoires d'allergie sont sensibilisés au chat (test cutanés et/ou IgE spécifiques positifs) (22). Les principales sources d'allergènes sont les phanères ainsi que la salive. Les phanères sont les poils (et les cheveux chez l'Homme) ainsi que les ongles ou les griffes. Les squames sont des lamelles d'épiderme qui se détachent de la peau. Ce sont donc des cellules mortes de la peau qui collent aux poils et peuvent donc se retrouver dans les extraits de phanères. Nous reviendrons sur les différentes fractions allergéniques dans le paragraphe III.C.1 page 62.

(2) Allergènes du chien

L'allergie au chien est moins fréquente que l'allergie au chat, mais elle est non négligeable et souvent associée à l'allergie au chat. La prévalence de sensibilisation varie de 3 à 20% chez l'enfant (10). Une trentaine de protéines allergéniques ont été retrouvées dans les poils, les squames et le sérum de chien (7,72-74). Nous reviendrons sur les différentes fractions allergéniques dans le paragraphe III.C.2 page 66.

2.2 Pathologies

Une exposition même occasionnelle (école, travail, lieux publics) peut exister et avoir des répercussions sur la vie du patient allergique (70). De plus les allergènes de phanères d'animaux sont détectables dans la poussière de maison même en l'absence d'animal, et cela peut entraîner des symptômes chez les patients allergiques. L'allergie aux mammifères tels que le chat et le chien est dominée par des symptômes respiratoires (rhinite, rhinopharyngite,

et surtout asthme), mais il a été aussi rapporté des symptômes cutanés tels que l'urticaire et plus rarement des œdèmes de Quincke (9,21,68). Ces symptômes sont persistants toute l'année. En ce qui concerne l'allergie au chat, dans un premier temps apparaît une rhino-conjonctivite qui peut être suivie de signes respiratoires et cutanés. Pour l'allergie au chien, c'est la rhinite qui apparaît en premier suivi de signes oculaires et bronchiques.

2.3 Diagnostic

Comme pour l'allergie aux acariens, le diagnostic de l'allergie au chat et au chien repose dans un premier temps sur un interrogatoire rigoureux, qui recherchera une symptomatologie évocatrice d'allergie (rhinite pouvant être associée à une conjonctivite bilatérale et de l'asthme) en présence de l'animal considéré (2). L'interrogatoire cherchera à préciser les conditions de logement (présence d'un animal familier au domicile), les facteurs déclenchants (en présence de l'animal considéré) ainsi que la périodicité des symptômes (toute l'année).

Dans un deuxième temps des tests cutanés aux allergènes suspectés (phanères de chat et de chien) permettent d'identifier les allergènes responsables de l'allergie (2).

Enfin si nécessaire, ce bilan pourra être complété par des dosages biologiques d'IgE spécifiques (2).

Comme dans le cas de l'allergie aux acariens, il existe des réactions croisées notamment entre les différents mammifères, que ce soit pour les tests cutanés ou les dosages des IgE spécifiques.

2.4 Traitement étiologique

Le traitement de l'allergie au chat et au chien repose sur l'éviction de l'allergène lorsque c'est possible, un traitement symptomatique et l'immunothérapie spécifique (2,71). Le seul traitement curatif de l'allergie est l'immunothérapie spécifique. Lorsque l'éviction est impossible ou lorsque le mode de vie du patient implique une exposition à des allergènes la désensibilisation peut être envisagée.

L'immunothérapie par administration sous cutanée d'extraits de chat ou de chien a montré une certaine efficacité (71). Dans une étude réalisée chez des enfants allergiques au chat ou au chien, la tolérance de la sensibilité bronchique et cutanée à l'allergène est améliorée dans le groupe actif (traitement par ITS avec des extraits de phanères de chat ou de chien éventuellement complété par un traitement médical conventionnel) par rapport au

groupe contrôle (traitement médical conventionnel uniquement) (75). Plusieurs études contre placebo réalisées chez des patients allergiques au chat ont montré que la désensibilisation par ITS réalisée avec des extraits de phanères de chat entraînait une amélioration des symptômes ainsi que de la tolérance à la provocation bronchique à l'allergène (70). Cette amélioration persiste après l'arrêt du traitement par ITS et ne semble pas être influencée par l'exposition à l'animal (70).

Les avis sur l'efficacité d'une ITS par voie sublinguale divergent. L'efficacité de la désensibilisation par voie sublinguale n'a pas été confirmée dans deux études réalisées chez une quarantaine de patients allergiques au chat (76). Cependant dans une étude récente réalisée sur 50 patients allergiques au chat, les auteurs ont montrés qu'une ITS par voie sublinguale pouvait améliorer l'allergie au chat (augmentation de la tolérance cutanée et diminution des symptômes lors d'une exposition au chat dans le groupe actif) (77).

Tableau 7: allergènes des acariens *Dermatophagoïdes pteronyssinus* et *Dermatophagoïdes farinae* (22,63)

<i>Groupe</i>	<i>Fonction biochimique</i>	<i>Poids moléculaire kDa</i>	<i>Espèces</i>	<i>Prévalence de sensibilisation</i>
1	Cystéine protéase	24-27	Dp, Df	80
2	Protéine épидидymale	15	Dp, Df	80
3	Trypsine	29-31	Dp, Df	16-100
4	α -amylase	60	Dp	40-46
5	Non connue	14	Dp, Df	50-70
6	Chymotrypsine	25	Dp, Df	40
7	Non connue	26-31	Dp, Df	50
8	Glutathion-S-transférase	27	Dp	20-40
9	Sérine protéase collagénolytique	29	Dp	90
10	Tropomyosine	36-37	Dp, Df	50-95
11	Paramyosine	98-103	Df	80
13	Protéine de liaison aux acides gras		Df	
14	Apolipophorine	177	Df, Dp	90
15	Chitinase	98-109	Df	70
16	Gelsoline-villine	53	Df	50
17	Protéine de liaison au calcium	53	Df	35
18	Chitinase	60	Df	55
20	Arginine kinase		Dp	
21	Non connue		Dp	
22	Non connue		Df	
23	Non connue	14	Dp	

B. Apport des fractions allergéniques au diagnostic et au traitement de l'allergie

1. Allergie aux acariens

1.1 Les différentes fractions allergéniques

La plupart des allergènes purifiés obtenus sont des allergènes recombinants, les autres sont des allergènes naturels purifiés (chromatographie d'affinité). Une vingtaine de familles d'allergènes de la poussière de maison ont été identifiés. Au départ seules les allergènes des familles 1 (allergènes présents dans les matières fécales, par exemple Der p 1 et Der f 1) et 2 (allergènes provenant du corps des acariens, par exemple Der p 2 et Der f 2) avaient été identifiés comme majeurs (7). Cependant, les allergènes des familles 3, 5, 9, 10, 11, 14, 15 et 18 entraîneraient également la production d'IgE spécifiques chez plus de 50% des patients allergiques aux acariens (63).

Certains de ces allergènes sont polymorphes : les isoformes sont différenciées par leur séquence en acides aminés ou leur degré de glycosylation. Les variations des familles 3, 5 et 7 sont moins fréquentes que celles des familles 1 et 2.

Pour les acariens, l'IUIS (International Union of Immunological Societies) utilise la nomenclature suivante : les trois premières lettres de l'allergène désignent le genre de l'acarien (par exemple Der pour *Dermatophagoïdes*), puis la lettre suivante l'espèce (par exemple f pour farinae) et enfin le chiffre représente l'ordre de leur découverte (Tableau 7).

Groupe 1 (Der p 1, Der f 1)

Les premiers allergènes d'acariens à avoir été identifiés sont les allergènes du groupe 1. Les allergènes du groupe 1 sont des enzymes digestives d'environ 25 kDa retrouvées dans les fèces des acariens (22). Elles appartiennent à la famille des cystéines protéases (8,22). L'activité cystéine protéase de cette protéine lui permet de franchir les barrières des muqueuses et d'activer les cellules dendritiques mais son importance physiopathologique est difficile à évaluer.

Il est possible que certains allergènes du groupe 1 forment un sous-groupe de cystéines protéases : présence d'un site de liaison au magnésium chez Der p 1 absent chez Der f 1, structure dimérique de rDer p 1 mais monomérique de nDer f 1. Der p 1 possède une réactivité croisée avec d'autres allergènes de l'acarien, en particulier Der f 1 (78% d'homologie) (78).

La production de rDer f 1 peut se faire de deux manières : soit production de rPro-Der f 1 dans un système bactérien (*E. coli*) puis transformation en enzyme active en milieu acide, soit production directement de rDer f 1 dans *P. pastoris* (ce procédé est aussi utilisé pour produire rDer p 1) (8).

Groupe 2 (Der p 2, Der f 2)

Les allergènes du groupe 2 sont des glycoprotéines de 14 kDa (22). Ce sont des protéines épидидymales thermostables présentes au niveau du corps des acariens et possédant une homologie avec le lysozyme (22). Der p 2 possède une réactivité croisée avec Der f 2 (88% d'homologie) (22).

La production de rDer p 2 et rDer f 2 peut se faire dans un système d'*E. coli* ou *P. pastoris* (8). Cependant il existe quelques différences entre rDer p 2 produit par *E. coli* et celui produit par *P. pastoris* : rDer p 2 produit par *P. pastoris* a une plus forte affinité pour les IgE.

La plupart des études portent sur Der p 1 et Der p 2 (fractions allergéniques majeures): plus de 80% des patients allergiques aux acariens possèdent des IgE spécifiques dirigées contre Der p 1 et/ou Der p 2 (22,63). Dans notre étude nous avons testés ces fractions allergéniques ainsi que celles correspondants à *Dermatophagoïdes farinae* (nDer f 1 et nDer f 2).

Les allergènes des groupes 1 et 2 sont principalement portés dans l'air par des particules de plus de 10µm, ce qui explique que peu de particules soient inhalées chaque jour (autour de 200), la chronicité de l'exposition joue donc un rôle prédominant dans la survenue de manifestations cliniques. Il y a une relation entre la quantité d'allergènes et l'apparition d'une sensibilisation ainsi que l'âge de survenue des premières manifestations d'asthme. Ces allergènes (groupe 1 et 2) sont les plus représentés dans la poussière de maison et pourraient donc jouer un rôle plus important dans la survenue de manifestations cliniques.



Groupes 3, 6 et 9 : famille des sérines protéases (Der p 3, Der f 3, Der p 6, Der f 6, Der p 9)

Les allergènes des groupes 3, 6 et 9 appartiennent à la famille des sérines protéases (Tableau 7) (8,78). Les allergènes du groupe 3 sont des enzymes digestives retrouvées dans les fèces des acariens appartenant à la famille des trypsines (66,78). Les allergènes du groupe 6 sont des chymotrypsines et ceux du groupe 9 des sérines protéases collagénolytiques (78). L'activité enzymatique de ces allergènes sur les fractions C3 et C5 du complément contribue à renforcer l'allergénicité de ces allergènes par la production d'anaphylatoxines (22). Avec les allergènes du groupe 1, ce sont les allergènes les plus représentés dans la poussière de maison (22).

Selon les études, la prévalence de sensibilisation est évaluée de 16% à 100% (78). Ces différences peuvent être attribuées aux variations de pureté des différentes préparations allergéniques mais aussi au fait que le poids moléculaire des allergènes de groupe 3 est très proche des allergènes de groupe 7 (environ 30 kDa) (78). Le classement entre allergène mineur et majeur n'est donc pas forcément tranché. Selon les dernières études ce serait plutôt des allergènes majeurs. Der p 3 et 6 seraient responsables de la production d'IgE spécifiques (en général à faible taux) dans environ 50% des cas (63). Une étude a montré que la prévalence de sensibilisation de Der p 9 serait évaluée à 90% mais cette étude montrait également une forte prévalence de sensibilisation pour Der p 3 (79). L'existence d'une réactivité croisée n'est donc pas à exclure.

groupe 10 (Der p 10, Der f 10)

Les allergènes du groupe 10 sont des tropomyosines (8,78). Comme nous l'avons vu précédemment, la tropomyosine est un panallergène, très conservé au sein des espèces (comme les crustacés, les mollusques...), qui peut donc être à l'origine de réactions croisées avec les tropomyosines d'autres espèces que les acariens. Avec Der p 13 et Der p 20, Der p 10 est une des fractions allergéniques quantitativement les moins importantes dans les extraits d'acariens.

La prévalence de sensibilisation est très variable selon les pays (8,63,78). Au Japon, la prévalence de sensibilisation serait aussi élevée que celle des allergènes du groupe 1, elle serait élevée en Afrique (environ 50%) et faible en Europe. Cette différence pourrait être expliquée par l'influence de l'environnement ou de l'alimentation (consommation plus importante de mollusques et crustacés dans certaines régions par exemple).

La tropomyosine est un allergène fréquemment responsable de manifestations digestives d'allergie (mollusque, crustacés), mais plutôt rarement responsables de

manifestations d'allergie respiratoire dus aux acariens. Nous avons testés cette fraction allergénique dans notre étude portant sur les acariens.

Groupe 11, 14, 15, 18 : allergènes de poids moléculaires élevés (Der f 11, Der f 14, Der p 14, Der f 15, Der f 18)

Les allergènes des groupes 11, 14, 15 et 18 ont des poids moléculaires plus élevés (de 60 à 177 kDa) (8,63,78).

La paramyosine (groupe 11) n'est pas aussi conservée entre les espèces que la tropomyosine. Il ne semble pas y avoir de réactions croisées entre les IgE spécifiques anti-paramyosine d'acarien et les IgE anti-paramyosine d'helminthes pouvant être produites dans les infections parasitaires.

Les allergènes du groupe 14 sont soit des apolipoporphines, soit des protéines de la famille des vitellogénines (8). Il est possible que ces allergènes proviennent des œufs d'acariens et soit dispersés dans l'environnement en même temps qu'eux. Les allergènes du groupe 14 (177 kDa) sont dégradés dans les extraits en de plus petits peptides.

Les chitinases (groupe 15 et 18) sont trouvés au niveau de l'intestin mais pas dans les excréments d'acariens (8).

La prévalence de sensibilisation de ces allergènes est élevée (90% pour le groupe 14, 80% pour le groupe 11, 70% pour le groupe 15 et 55% pour le groupe 18) (63,78).

Autres groupes

Les allergènes du groupe 4 (Der p 4) sont des alpha-amylases (80,81). L'homologie de séquences entre Der p 4 et les allergènes du groupe 4 des fruits de mer, de l'homme et des blattes est d'environ 50%. rDer p 4 a été produit à partir d'un système de *P. pastoris* (8). Dans une région tropicale d'Australie, la prévalence de sensibilisation à Der p 4 est anormalement élevée, mais la prévalence de sensibilisation à Der p 1, 2 et 10 y est également plus faible.

Les allergènes du groupe 8 sont des glutathion-S-transférases, d'environ 25 kDa de poids moléculaire (82). Ils sont localisés au niveau de la tête des acariens (83).

Les allergènes du groupe 5 sont d'origine digestive et sont localisés au niveau de l'œsophage et de l'intestin des acariens (83). Der p 21 a une forte homologie de séquence avec Der p 5 (8). La fonction biochimique des allergènes du groupe 5, 7 et 21 n'est pas connue actuellement (8, 63,78,83). Cependant, la structure de Der p 7 est proche de protéines liant le LPS et de protéines bactéricides (8). Der p 7 pourrait être un ligand pour d'autres lipides bactériens. Les allergènes du groupe 7 sont fragiles, leur teneur dans les extraits est



donc variable et l'évaluation de leur allergénicité est difficile (84,85). Les allergènes des groupes 5 et 21 ont été produits par des systèmes d'*E. coli* tandis que les allergènes du groupe 7 peuvent être produits par des systèmes de *E. coli* et *P. pastoris*.

La prévalence de sensibilisation de ces allergènes est d'environ 50%, mais avec individuellement un faible taux d'IgE spécifiques (8,78). Néanmoins, une grande proportion des IgE spécifiques reconnaissant les extraits globaux d'acariens peut être des IgE spécifiques contre ces multiples allergènes. Une réactivité croisée entre les allergènes du groupe 4 et d'autres allergènes environnementaux ou des CCD n'est pas à exclure.

L'allergénicité des fractions allergéniques n'est pas toujours en accord avec leur taux dans les extraits d'acariens : Der p 7 est la troisième protéine la plus abondante dans les extraits (après Der p 1 et 2) mais sa prévalence de sensibilisation n'est pas si importante (8).

1.2 Apport au diagnostic

(1) Validité par rapport aux extraits globaux

Les fractions allergéniques les plus abondantes dans les extraits allergéniques d'acariens sont les allergènes des groupes 1 et 2 (63,8). Selon Pittner et al. en utilisant les fractions allergéniques nDer p 1 et rDer p 2 la plupart des patients allergiques aux acariens seraient diagnostiqués : seulement un patient (patient sensibilisé à un grand nombre de fractions allergéniques des acariens) sur 208 n'était positif à aucune des deux fractions allergéniques (65). nDer p 1 et rDer p 2 seraient aussi sensibles que les extraits globaux.

(2) Intérêt dans la détermination du spectrotype

Un avantage à utiliser les fractions allergéniques est de permettre d'identifier des patients allergiques aux acariens qui ne sont sensibilisés ni aux fractions allergéniques des groupes 1, ni à celles des groupes 2, c'est-à-dire avec un spectrotype inhabituel (65). Dans l'étude de Pittner et al. après Der p 1 et Der p 2, les fractions allergéniques auxquelles étaient le plus fréquemment sensibilisés les patients allergiques aux acariens, étaient Der p 5 et Der p 10 (patients appartenant au groupe de patient multisensibilisés) (65). Cela permet d'identifier les patients multisensibilisés (groupe 1 et 2 plus d'autres fractions allergéniques) qui ont des taux d'IgE plus importants que les patients sensibilisés uniquement aux fractions allergéniques des groupes 1 et 2 (8,63,65). Cette identification permet notamment deux choses : un meilleur

Tableau 8: intérêt d'une ITS chez un patient sensibilisé aux acariens (65)

Test cutané	+			
Extrait de poussière de maison	+			
Extrait d'acarien de stockage	-	-	-	+
Der p 1 et/ou Der p 2	+	+	-	+/-
Der p 10	-	+	+/-	+/-
Pertinence ITS	Forte	Intermédiaire	Faible	

choix des indications d'ITS (cf. paragraphe suivant) et l'établissement d'un grading de sévérité car les patients multisensibilisés ont également plus de symptômes d'allergie.

(3) Identification des réactions croisées

Les fractions allergéniques pourraient permettre d'identifier des sensibilités dus à des réactions croisées comme c'est par exemple le cas de la tropomyosine (63).

1.3 Apport au traitement

(1) Choix des patients pouvant bénéficier d'une ITS

La connaissance du spectrotype du patient permettrait d'améliorer l'efficacité de la désensibilisation. Elle permettrait de mieux cibler les patients candidats à une désensibilisation par des extraits globaux (patients sensibilisés uniquement aux allergènes des groupes 1 et/ou 2, qui sont les composants majoritaires des extraits globaux utilisés dans l'ITS) et de ne pas proposer cette thérapeutique à des patients multisensibilisés (Tableau 8) (65). En effet, non seulement la désensibilisation risque d'être inefficace chez ces patients, mais en plus elle risque de les sensibiliser à des fractions allergéniques auxquelles ils n'étaient pas sensibilisés auparavant (37,38,63).

Les patients polysensibilisés sont également souvent sensibilisés à la tropomyosine et aux allergènes des acariens de stockage (65). Il a été rapporté que certains patients allergiques aux acariens avaient des manifestations d'allergies alimentaires dues à la tropomyosine après une désensibilisation avec des extraits d'acariens.

(2) Utilisation des fractions dans l'ITS

Il serait envisageable chez les patients monosensibilisés (ou paucisensibilisés) de proposer une désensibilisation uniquement aux fractions allergéniques auxquels sont sensibilisés les patients. Plusieurs études sont actuellement en cours notamment concernant Der p 1 (non encore publiées).

Les fractions allergéniques peuvent également être utilisées dans le suivi des sensibilisations : une augmentation des IgG4 spécifiques des fractions allergéniques pourrait indiquer une efficacité de l'ITS (65).

Tableau 9: les fractions allergéniques du chat

<i>Allergènes</i>	<i>Allergénicité</i>	<i>Structure</i>	<i>Fonction biologique</i>	<i>Famille</i>	<i>Homologie</i>	<i>Réactions croisées</i>	<i>Localisation</i>
Feld 1	> 80-90% majeur	glycoprotéine 35-38 kDa 2 hétérodimères identiques (18-19 kDa)	protection de la peau? Transport de molécules lipidiques (stéroïdes, hormones ou phéromones)?	sécréto- globine	utéroglobine de lapin CCSP de l'épithélium bronchique humain	Can f 1 Can f 2 Fel d 1-like	glande sébacées +++ salive +
Feld 2	6 à 30% mineur	protéine 66-68 kDa		albumine			sérum salive phanères
Feld 3	60-90% mineur?	protéine 11 kDa		cystatine	inhibiteur de cystéine protéase lipocaline		
Feld 4	63% majeur	protéine 20 kDa	transport de petites molécules hydrophobes (réinoïdes, phéromones)	lipocaline	lipocaline de cheval et sanglier		
Feld 5	38% mineur	protéine		IgA	CCD	Cetuximab	sérum salive
Feld 6		protéine		IgM	CCD		Sérum
Feld 7		protéine 17,5 kDa			protéine de la glande von Ebner		
Protéine BASE	25 - 50% majeur?	protéine			protéine BASE Equ c 4 et 5	Equ c 4 et 5	

2. Allergie au chat et au chien

2.1 Les différentes fractions allergéniques du chat

Plus de 12 allergènes du chat ont été identifiés en étudiant des extraits de fourrure, de salive, de sérum et d'urine (Tableau 9). Certains sont des allergènes majeurs comme par exemple Fel d 1 (*Felis domesticus* 1) et Fel d 4. D'autres sont plutôt des allergènes mineurs comme par exemple l'albumine du chat (Fel d 2) C'est un sujet en plein développement : plusieurs fractions allergéniques ont été décrites récemment. (71).

(1) Fel d 1

Fel d 1, identifié depuis plus de 30 ans, est considéré comme l'allergène majeur du chat domestique (86,87). Plus de 80 % à 90 % des sérums de patients allergiques au chat contiennent des IgE spécifiques anti-Fel d1 (88-91). Les tests d'immunoélectrophorèses croisées ont démontré que la majorité des IgE spécifiques anti-chat du sérum des patients allergiques est dirigée contre Fel d 1, représentant 60 à 90 % de l'activité allergénique totale (10,89, 88,92).

Fel d 1 est une glycoprotéine d'environ 35-38 kDa (Figure 9) (93,94). C'est un tétramère formé de deux hétérodimères identiques, de 18-19 kDa chacun, liés de façon non covalente (94). Chaque dimère comprend deux chaînes polypeptidiques liées de façon covalente par trois ponts disulfures (10,95). La chaîne 1 présente une certaine homologie de séquence avec l'utéroglobine du lapin et avec une protéine dite CCSP de l'épithélium bronchique humain (Clara Cell Secretory Protein) (10). La chaîne 2 peut être composée de 85, 90 ou 92 aa (93). L'expression de Fel d 1 recombinant a été difficile à obtenir. Chaque chaîne a d'abord été produite séparément dans des systèmes simples utilisant des *Escherichia coli* (*E. coli*). Mais pour produire la molécule entière rFel d 1, il a fallu utiliser un système de Baculovirus, permettant la production de rFel d 1 glycosylé (contrairement à tous les recombinants produits grâce à des *E. coli*) et présentant une structure équivalente à celle de l'allergène naturel du chat nFel d 1 (97).

Les avis concernant la famille de l'allergène Fel d 1 sont controversés: pour la majorité des auteurs, elle est le seul allergène de mammifère qui n'appartient pas à la famille des lipocalines mais plutôt à la famille des globines sécrétoires ou sécrété-globines, même si pour certains elle appartient à la famille des lipocalines (homologie avec une lipocaline de hamster) (21,98). Sa fonction biologique reste encore inconnue : il a été proposé un rôle dans



Figure 9: Structure tridimensionnelle de Fel d 1 (96)

la protection de la peau, par homologie avec l'utéroglobine dont la fonction est de protéger les muqueuses, d'autres auteurs pensent que Fel d 1 aurait plutôt un rôle de transport de molécules lipidiques, en particulier de stéroïdes, d'hormones ou de phéromones (99,100).

Fel d 1 est une protéine thermostable retrouvée dans la salive, dans les glandes anales, dans les glandes sébacées, dans la peau et dans la fourrure du chat, le principal site de production étant les glandes sébacées (10,21,22,100-103).

Tous les chats produisent cet allergène mais le statut hormonal du chat modifie la production de Fel d 1 : les mâles produisent plus de Fel d 1 que les femelles, le chat mâle castré produit moins de Fel d 1 que le chat mâle non castré (7,21,22,71,100,104,105). Tous les chats ne sont donc pas responsables des mêmes taux de Fel d 1 dans l'air (106). Au niveau de la peau et de la fourrure, la quantité de Fel d 1 varie selon le site anatomique : elle est beaucoup plus importante au niveau de la tête que de la poitrine, mais la longueur des poils ne semble pas modifier la production de Fel d 1.

Dans deux grandes enquêtes nationales aux Etats-Unis, Fel d 1 a été détecté respectivement dans 99,9 % et 99,7 % des domiciles américains (107,108). Fel d 1 est retrouvé dans la poussière de canapé, de tapis et de lit dans les maisons avec ou sans chats (107). Des taux significatifs de Fel d 1 ont été retrouvés également dans les salles de classe, dans les voitures, dans les salles d'attente des allergologues et dans des centres commerciaux (109-111). Fel d 1 est donc un allergène ubiquitaire : il se dissémine probablement à partir des vêtements et des cheveux des propriétaires de chat.

Plusieurs études ont mis en évidence un effet paradoxal de la présence des animaux au domicile. Si la présence d'un chat dans l'enfance semble être un facteur de risque de sensibilisation et un facteur de risque de développer un asthme, les enfants fortement exposés au chat (au moins deux chats mâles) ont finalement un risque plus faible de développer une allergie au chat (112,113). Mais ces études donnent lieu éventuellement à une série de controverses. Le débat n'est pas tranché.

(2) Fel d 2

Fel d 2 ou l'albumine de chat, correspond à une protéine de 66–68 kDa présente dans le sérum, dans la salive et dans les phanères (114,115). rFel d 2 a été produite par des systèmes utilisant des bactéries *E. coli* ou des levures *Pichia pastoris* (11,116).

Fel d 2 est un allergène mineur. Les patients allergiques ont des IgE spécifiques anti-Fel d 2 dans 6 à 30% des cas (11,117,118). De plus, dans seulement 2 % des sérums la sensibilisation au chat était expliquée principalement par la réactivité contre l'albumine et non pas celle contre Fel d 1 (11). Selon la nature de l'extrait utilisé, les taux de positivité sont

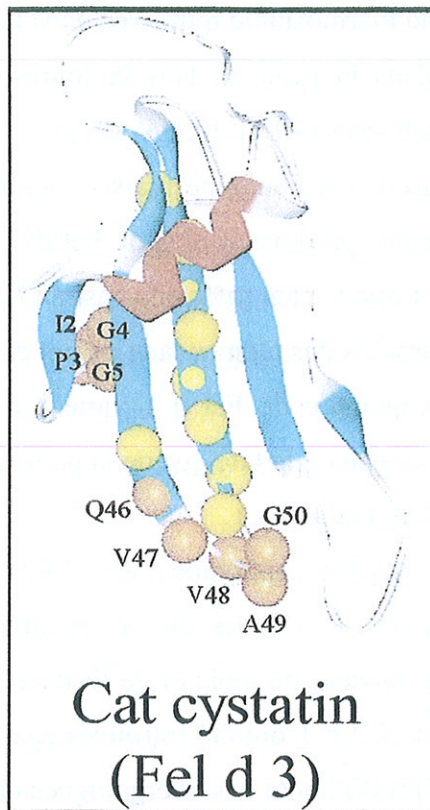


Figure 10: Structure tridimensionnelle de Fel d 3 (121).

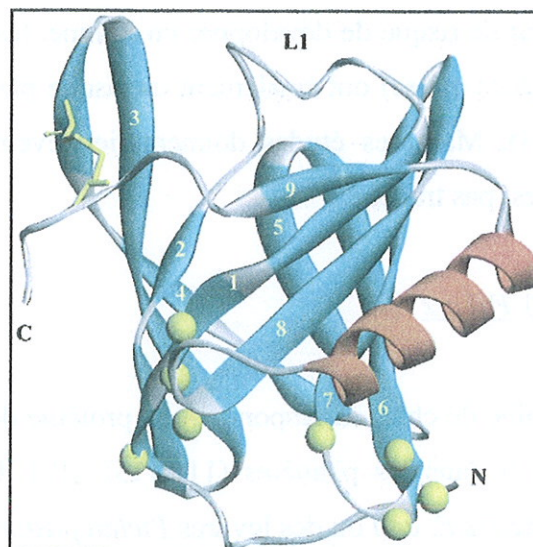


Figure 11: Structure dans l'espace de la molécule Fel d 4 (122)

variables : les taux les plus forts sont obtenus avec les extraits associant des poils et de l'épithélium par rapport aux extraits ne comprenant que des poils (11). Il est rare de trouver des IgE spécifiques anti-Fel d 2 en absence d'IgE anti-Fel d 1 (11).

Les patients souffrant de manifestations sévères d'atopie, de type dermatite atopique (et peut-être asthme allergique) sont plus fréquemment sensibilisés à l'albumine du chat que les patients ayant une simple rhinoconjonctivite allergique (116). L'albumine du chat pourrait donc être utile dans le diagnostic et le suivi des patients atteints des formes sévères d'allergie. Même si la responsabilité de Fel d 2 dans l'apparition de signes cliniques n'a pas encore été établie, son rôle dans le syndrome porc-chat semble établi (119).

(3) Fel d 3

La cystatine du chat ou Fel d 3 est une protéine de 98 aa avec une séquence conservée de type inhibiteur de cystéines protéases et deux motifs lipocaline (Figure 10). Elle présente 79 % d'homologie avec la cystatine A du bœuf qui fait aussi partie des inhibiteurs de cystéines protéases (120).

Fel d 3 a été cloné, puis séquencé à partir d'une collection de cADN de la peau du chat (120). Elle a ensuite été exprimée dans des systèmes bactériens d'*E. coli* sous la forme d'une protéine recombinante de 11 kDa (120).

Les avis concernant le caractère majeur ou mineur de Fel d 3 sont divergents. Dans la majorité des cas il est décrit comme étant un allergène mineur avec parfois une positivité de seulement 2 % des sérums de patients allergiques au chat (91,123). Pour d'autres ce serait plutôt un allergène majeur, avec 60 à 90 % des sérums de patients sensibilisés au chat présentant des IgE spécifiques anti-Fel d 3 (120).

(4) Fel d 4

Parmi les allergies aux mammifères, l'allergie au chat est la seule à ne pas avoir comme allergène fixant l'essentiel des IgE spécifiques une lipocaline mais plutôt une sécrétoglobine utéroglobine-like, Fel d 1 (12,124,125). En 2004, le screening d'une collection de cADN de la glande salivaire sous mandibulaire du chat a permis l'identification d'un deuxième allergène majeur, Fel d 4 (126). Cette protéine de 19,7 kDa est une lipocaline qui possède une forte homologie de séquence avec celles du sanglier et du cheval. Les lipocalines sont des transporteurs de petites molécules hydrophobes, tels que les rétinoïdes et

les phéromones (Figure 11) (124). La molécule recombinante rFel d 4 a ensuite été produite dans un système bactérien d'*E. coli* (126).

Dans une étude, 63 % des patients allergiques avaient des IgE spécifiques pour Fel d 4 (126). Bien que les concentrations d'IgE spécifiques anti Fel d 4 étaient faibles, dans 47 % des cas, elles étaient supérieures aux concentrations de rFel d 1.

(5) Immunoglobulines du chat

Certaines immunoglobulines du chat ont été identifiées comme des allergènes potentiels : les IgA (ou Fel d 5w) ainsi que les IgG (nommés Fel d 7 jusqu'à très récemment) (90,114,123). Près de 40% de patients sensibilisés au chat ont des IgE spécifiques anti-IgA de chat (123). Cet allergène contient des épitopes de nature glucidique : après déglycosylation de Fel d 5w seuls un quart des sérums restaient positifs. Il s'agit en fait d'un nouveau groupe de cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) car ils sont présents également sur les IgM du chat (ou Fel d 6w) et partiellement sur une protéine appelée CIP (calf intestine alkaline phosphatase) mais absents des IgG du chat et de l'ensemble des immunoglobulines humaines. Il a ensuite été montré que les IgE se fixent préférentiellement à la chaîne lourde α des IgA au niveau de résidus α -gal (galactose- α -1,3-galactose) qui représentent donc les premiers épitopes carbohydrate décrits au niveau des allergènes de mammifères (91). Cet épitope a aussi été identifié comme étant responsable de réactions anaphylactiques avec le cetuximab (127). En revanche le rôle allergénique des IgM n'a pas été démontré hormis l'existence de cette réactivité croisée avec les IgA (91).

Les IgA du chat, présentes dans le sérum et la salive, seraient transférées à la fourrure par léchage et propagation de particules aéroportées. Les IgG du chat sont présentes dans le sérum et dans les extraits de phanères (90,114). En revanche, la présence des IgM du chat dans les phanères n'a pas encore été démontrée.

(6) Fel d 7

Un nouvel allergène du chat Fel d 7, une protéine de la glande von Ebner (VEGP) de la famille des lipocalines a été récemment ajouté à la nomenclature des allergènes publiée par l'International Union of Immunological Societies (UIIS). C'est une protéine de 17,5 kDa. rFel d 7 a été produite dans un système d'*E. coli*. 44 patients allergiques au chat sur 121 ont des IgE spécifiques dirigées contre Fel d 7.

Tableau 10: les fractions allergéniques du chien

<i>Allergènes</i>	<i>Allergénicité</i>	<i>Structure</i>	<i>Fonction biologique</i>	<i>Famille</i>	<i>Homologie</i>	<i>Réactions croisées</i>	<i>Localisation</i>
Can f 1	80% majeur	protéine 21-25 kDa dimère	transport de petites molécules hydrophobes (réinoïdes, phéromones)	lipocaline	protéine VEG humaine (57%)	Fel d 1	poils squames salives
Can f 2	40-66% mineur	protéine 17-27 kDa dimère	transport de petites molécules hydrophobes (réinoïdes, phéromones)	lipocaline	Can f 1 (24%) protéine MUP	Can f 1 Fel d 1, Fel d 4	peau salive
Can f 3	5-35% mineur	protéine 66-68 kDa		albumine	albumine chat et homme	autres albumines de mammifères	sérum salive phanères
Can f 4	35-60% Mineur ?	protéine 18 kDa		lipocaline	Protéine «odorant -binding» de vache (37%)	Protéine «odorant -binding» de vache	
Can f 5	Majeur ?	28 kDa	kallikérine prostatique	arginine estérase	PSA humain (58%)		
Fel d 1-like					Fel d 1	Fel d 1	squames

(7) La protéine BASE

Un polypeptide liant les IgE a été cloné dans des systèmes bactériens *E. coli* à partir d'une banque d'ADNc mandibulaire du chat (128). Il possède un poids moléculaire de 26 kDa. Cette protéine possède une grande homologie de séquence avec la protéine BASE (breast cancer and salivary gland expression) et avec Equ c 4 et 5, les allergènes de type lathérine du cheval.

Plus de 50 % des patients allergiques au chat possèdent des IgE spécifiques dirigées contre le polypeptide recombinant. Les taux d'IgE dirigés contre ce polypeptide étaient supérieurs à ceux anti-Fel d 1 dans 55 % des cas, ce qui a amené les auteurs à conclure que cette protéine est un nouvel antigène majeur du chat (128). Mais dans une autre étude, seulement 25 % des patients étaient positifs pour ce polypeptide, mais fréquemment en l'absence d'IgE anti-Fel d 1 (O'Neil 2008 symposium). Cette protéine pourrait donc être utile pour expliquer les cas positifs pour l'extrait global de chat, mais négatifs pour Fel d 1.

2.2 Les différentes fractions allergéniques du chien

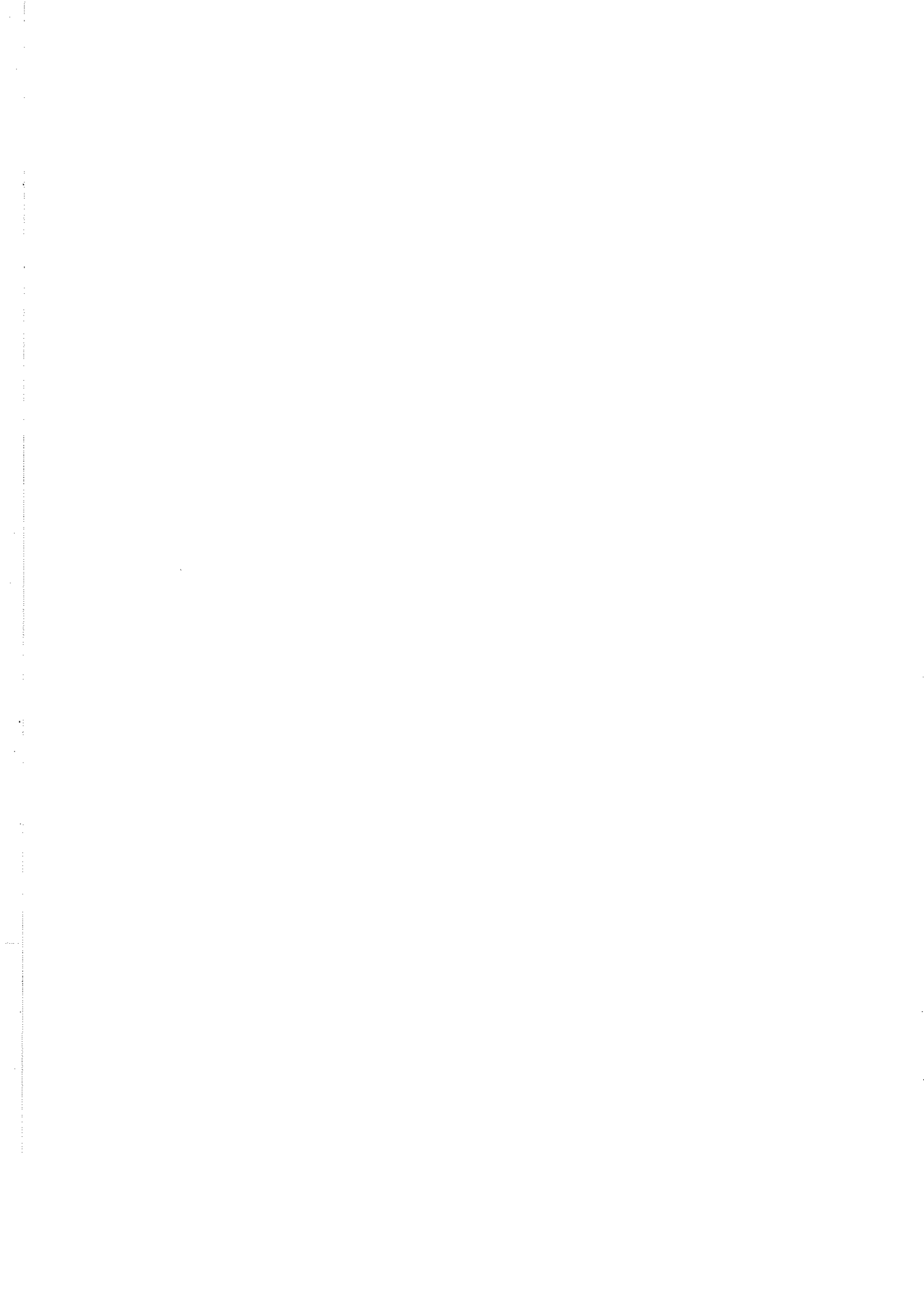
La majorité des publications concernent deux allergènes du chien caractérisés à la fin des années 80 : Can f 1 (*Canis familiaris* 1) et Can f 2 (*Canis familiaris* 2) (92,129). Plus de 70% des patients allergiques au chien sont sensibilisés à Can f 1 et Can f 2 (7,21,71). 96 % des patients sensibilisés au chien ont des IgE spécifiques dirigées contre Can f 1 et/ou Can f 2 (74) (Tableau 10).

(1) Can f 1

Can f 1 est une protéine thermostable, appartenant à la famille des lipocalines dont le poids moléculaire est de 21 à 25 kDa, de structure dimérique dans sa forme naturelle (92,12,72-74,129). Elle présente 57 % d'homologie avec la protéine VEG (von Ebner's gland) humaine et est relativement stable dans la poussière de maison (12).

Environ 80 % des patients montrent une réactivité vis-à-vis de cet allergène (12). En supprimant Can f 1 des extraits de poils et de squames de chien, la capacité de liaison des IgE est diminuée de 50% (129). L'allergène purifié inhibe de 56 % l'activité des IgE dirigées contre l'extrait dans un pool de sérums de patients allergiques au chien (129).

rCan f 1 a été produit dans des bactéries *E. coli* (12,130) et des levures *Pichia pastoris* (131). 52 % des patients allergiques au chien avaient des IgE spécifiques anti-rCan f 1 (131).



Can f 1 est présent dans les poils, les squames et la salive du chien, mais absent de la peau, du sérum, de l'urine et des matières fécales (72-74,92,129). Can f 1 est sécrétée par les glandes de von Ebner situées sur la langue du chien, c'est pourquoi, on trouve principalement Can f 1 dans la salive. Puis elle est déposée sur la fourrure et la peau par léchage, ce qui explique pourquoi l'extrait d'épithélium (E2) est plus pauvre en Can f 1 que l'extrait global de squames et phanères (E5) (132).

Le taux de Can f1 est fonction de la race du chien: les labradors semblent produire moins de Can f 1 que les autres races (7,133). En revanche la longueur des poils ne semble pas influencer la production de Can f 1. Le sexe est également un facteur important : les mâles produisent plus que les femelles. La séborrhée intervient également comme facteur modifiant de façon importante la quantité de Can f 1 dans le poil. Enfin l'âge est aussi un facteur à prendre en compte : les jeunes chiens produisent moins de squames que les plus vieux.

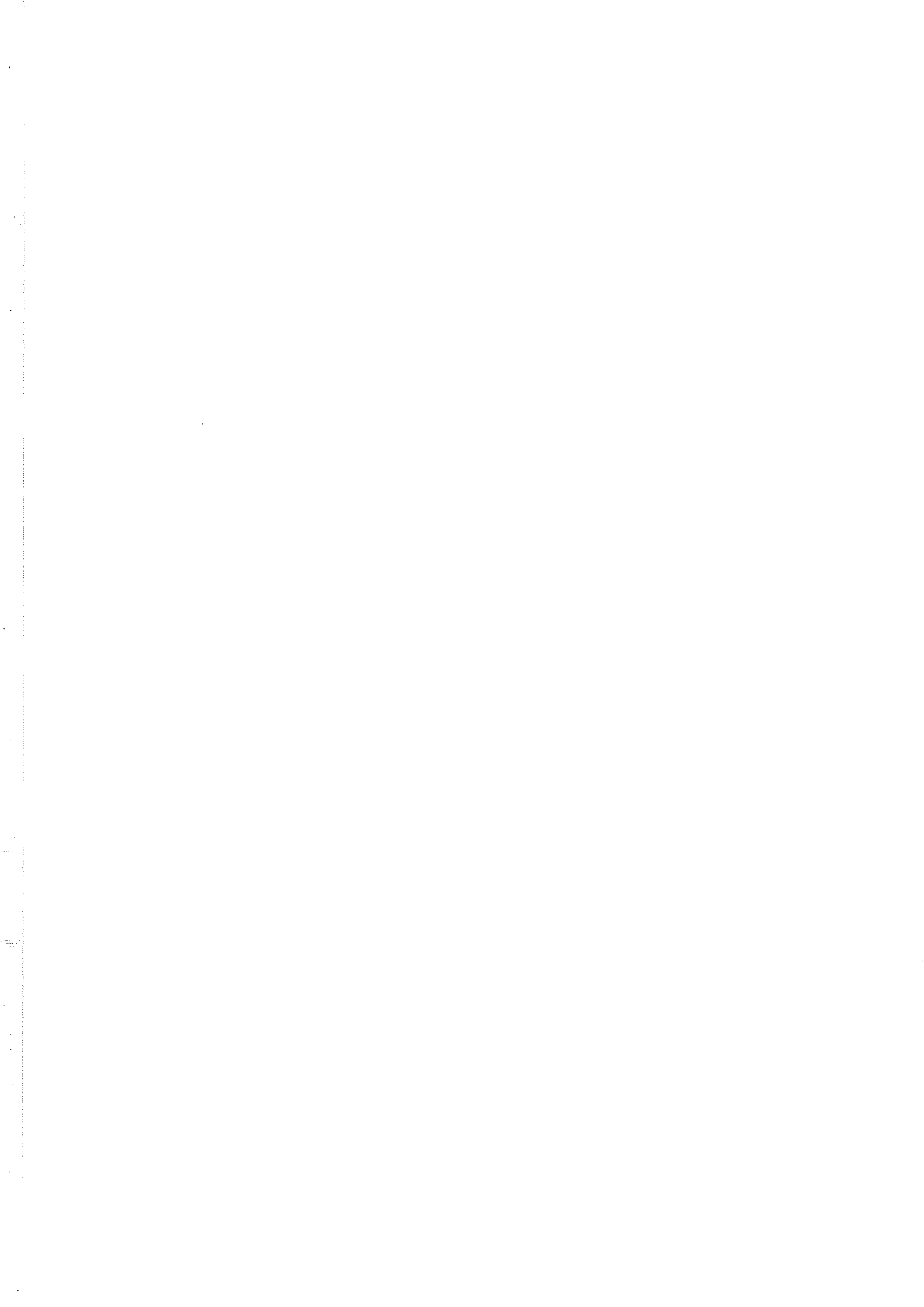
Can f 1 est un allergène ubiquitaire : il est retrouvé dans plus de 99% des domiciles américains avec ou sans chien (poussière de canapé, de tapis et de lit) (107,108). Sa présence est également détectée dans des lieux publics tels que les salles de classe ainsi que dans les voitures (109,110). Sa dissémination se fait probablement à partir des vêtements des propriétaires de chien.

(2) Can f 2

Can f 2 a été caractérisé en même temps que Can f 1 (92,72-74,129). C'est une protéine de 17 à 27 kDa, de structure dimérique dans sa forme naturelle et appartenant à la famille des lipocalines (12,73,74). Can f 2 n'a que 24 % d'homologie avec Can f 1 et présente une homologie avec la protéine MUP (mouse urinary protein) (12).

Plusieurs études ont montrés que Can f 2 pouvait être considéré comme un allergène mineur. Dans une étude, des IgE spécifiques anti-Can f 2 étaient présentes dans les sérums de 66 % des patients allergiques au chien, mais Can f 2 ne liait que 23 % des IgE spécifiques dirigées contre un extrait de squames de chien (92).

Can f 2 recombinant a été produit dans *E. coli* (12,130) et *Pichia pastoris* (131). Dans une étude, où 52 % des patients allergiques au chien montraient une réactivité vis-à-vis de rCan f 1, seulement 33 % ont réagi avec rCan f 2 (131). Une autre étude montre que 90,4 % des patients allergiques au chien avaient des IgE anti-extrait global de chien. Parmi les 75 % de patients allergiques au chien ayant des IgE anti-rCan f 1, 25 % avaient des IgE anti-rCan f 1 et anti-rCan f 2 positives et 45 % avaient des anti-rCan f 1 isolées (12). Mais aucun sérum ne présentait des IgE anti-rCan f 2 positives sans la présence d'anti- rCan f 1 associées. Ces études confirment que Can f 2 est un allergène mineur du chien. De plus, Can f 1 et Can f 2



possèdent des épitopes identiques comme le montre la réactivité croisée observée avec des IgG de lapin et des IgE humaines entre rCan f 1 et rCan f 2 (134).

Can f 2 est principalement retrouvé au niveau de la peau du chien et en plus faible quantité dans la salive où elle provient des parotides. En revanche, sa présence dans les squames et dans les poils ne fait pas l'unanimité (73,74,92,).

(3) Can f 3

L'albumine ou Can f 3 est un allergène mineur, car selon les séries, seuls 5 à 35 % des patients allergiques au chien présentent une sensibilisation vis-à-vis d'elle (21,72,135). Mais chez les patients allergiques à l'albumine du chien 70 % à 90 % des IgE spécifiques anti-chien sont dirigées contre l'albumine (72,135).

L'albumine (ou albumine sérique) est la protéine la plus importante quantitativement dans le sérum du chien avec une concentration d'environ 40 g/L (136). C'est une protéine non glycosylée de 65 à 69 kDa, synthétisée au niveau hépatique. L'albumine du chien a été clonée puis exprimée sous la forme d'un allergène recombinant dans un système d'*E. coli* (136).

L'implication d'un composant majeur du sérum en tant qu'aéroallergène est surprenante car ce sont plutôt les épithéliums et non le sérum qui sont la source de la plupart des allergènes animaux. Mais l'albumine est en fait présente dans la salive et se retrouve donc dans les extraits de phanères (squames, poils) (72,114,135,137,138).

(4) Can f 4

Une troisième lipocaline de 18 kDa, liant les IgE, Can f 4 a été retrouvée dans les squames de chien en 2004 (131,139). Can f 4 a été cloné et séquencé à partir d'une banque d'ADNc provenant de langues de chien, il a ensuite été produit sous sa forme recombinante dans un système d'*E. coli* (139). Dans l'étude de Saarelainen et al. 15 patients allergiques au chien sur 25 (environ 60%) avaient des IgE spécifiques dirigées contre cet allergène ce qui en ferait un allergène majeur (131). Cependant dans l'étude de Mattson et al. seulement 13 patients allergiques au chien sur 37 (environ 35%) avaient des IgE spécifiques dirigées contre rCan f 4 (139).

Can f 4 est une protéine d'environ 16 kDa, qui a 37% d'homologie avec une protéine de vache de 23 kDa (Bos d 23 k) appartenant à la famille des lipocalines (139). La corrélation significative entre Bos d 23 k et rCan f 4 suggère l'existence d'une réaction croisée entre ces deux protéines (139). L'existence de cette réaction croisée a été mise en évidence par des tests d'inhibition d'IgE.

(5) Can f 5

Récemment, un nouvel allergène majeur du chien présent dans l'urine et les squames du chien a été décrit. Il s'agit de Can f 5 ou kallibréine prostatique, appartenant à la famille des arginines estérases prostatiques, de 28 kDa (140,141). Selon plusieurs études, 24 à 70% des patients allergiques au chien ont des IgE spécifiques dirigées contre cette protéine (141). Parmi les 37 patients allergiques au chien, 70 % présentaient des IgE spécifiques anti-Can f 5, dont environ la moitié qui ne réagissaient ni à Can f 1, ni à Can f 2, ni à Can f 3. Cet allergène possède 58 % d'homologie avec l'antigène spécifique de prostate (PSA) humain (ou kallibréine 3). D'ailleurs des réactions croisées entre Can f 5 et la PSA humain ont été montrés dans des expériences d'inhibition de liaison avec les IgE (2 sérums sur 4 avec une inhibition supérieure à 90 %).

L'implication du PSA dans l'allergie au liquide séminal humain est désormais connue (142). Parmi les patients sensibilisés aux squames de chien 24 % étaient sensibilisés au PSA (143). Dans cette étude, une femme de 38 ans, avec comme unique antécédent de l'asthme bronchique par sensibilisation à l'épithélium de chien, souffrait de réactions anaphylactiques après contact avec le liquide séminal. D'après ces constatations, l'hypothèse d'une allergie croisée entre le PSA et Can f 5 peut être évoquée.

(6) Fel d 1 like

Depuis une trentaine d'années, la présence d'une protéine homologue de Fel d 1 (Fel d 1 like) est suspectée chez le chien (144). Des expériences d'inhibition du dosage des IgE spécifiques anti-chien par rFel d 1, chez des patients allergiques au chat ont récemment confirmée cette hypothèse dans des extraits de squames de chien par (118). Nous reviendrons sur cette protéine Fel d 1-like dans le paragraphe « cosensibilisation ».

(7) Autres allergènes

Les immunoglobulines du chien se retrouvent non seulement dans le sérum mais aussi dans les extraits épithéliaux (72,135). Leur pouvoir allergénique est connu depuis longtemps (72,135). L'alpha-antitrypsine serait également allergénique (72,135). Mais nous n'avons retrouvé aucune étude récente concernant ces allergènes.

2.3 Apport au diagnostic : aide à l'interprétation des polysensibilisations (cosensibilisation ou réactivité croisée)

Les patients allergiques au chat et/ou au chien sont souvent sensibilisés à d'autres mammifères (117). De nombreux patients ont des tests cutanés positifs à la fois aux extraits de chat et de chien (71). Il en est de même pour les dosages des IgE spécifiques. Deux hypothèses permettent d'expliquer ce phénomène : la présence d'une réactivité croisée à un allergène commun (ce qui semble être l'hypothèse privilégiée) ou des cosensibilisations à différents mammifères (71).

(1) Les lipocalines

Certains allergènes du chat et du chien appartiennent à la famille des lipocalines (Can f 1, Can f 2, Can f 4 et Fel d 4) et pourraient donc être responsables d'une réactivité croisée entre le chat et le chien (117). Mais la faible homologie structurale (environ 20%) de la lipocaline du chat avec celle du chien ainsi que la faible inhibition de RAST de l'extrait de chien par Fel d 4, dans seulement 3 cas sur 8, n'est pas en faveur de cette hypothèse (71,126). Pour pouvoir conclure à une allergie croisée, d'autres études sont donc nécessaires.

Par ailleurs, Can f 1, une fraction allergénique majeure du chien, a un fort pourcentage d'homologie avec la VEGP humaine. Fel d 7 est une protéine qui appartient également à la famille des VEGP. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse qu'il peut exister une certaine homologie entre ces trois protéines et une réactivité croisée potentielle entre Fel d 7 et Can f 1.

(2) Fel d 1 et Can f 1 – Can f 2

Même si Fel d 1, l'allergène majeur du chat n'est pas une lipocaline, il possède des épitopes communs avec Can f 1 et Can f 2 (145). Dans cette étude, 60% des patients allergiques au chat et/ou au chien avaient des IgE spécifiques dirigées à la fois contre le chat et le chien. Pour la quasi-totalité de ces patients, l'immunoblot a montré qu'un composant liait les IgE de même poids moléculaire (18 kDa) dans les extraits de chat et de chien. Les expériences d'inhibition d'immunoblot alors réalisées ont mis en évidence des épitopes communs entre les trois allergènes. Ces constatations permettent de poser l'hypothèse d'une allergénicité croisée entre les allergènes majeurs du chat et du chien.

(3) L'albumine

L'albumine est un allergène mineur retrouvé dans les deux allergies (Fel d 2 et Can f 3). Dans une étude réalisée chez des patients sensibilisés au chat, les profils de sensibilisation des patients monosensibilisés au chat et des patients sensibilisés au chat et au chien étaient différents (146). Chez tous les patients sensibilisés au chat, il a été retrouvé une positivité des IgE anti-Fel d 1 (75% chez les patients monosensibilisés vs 60% chez les patients sensibilisés à la fois au chat et au chien). En revanche, aucun des patients monosensibilisés n'avaient d'IgE anti-albumine, alors que tous les patients sensibilisés à la fois au chat et au chien avaient des IgE anti-albumine. Dans une autre étude réalisée chez des patients allergiques à la fois au chat, au chien et au cheval, seulement 21 % possèdent des IgE dirigées contre les trois albumines et 17 % contre deux (147). Des tests d'inhibition des IgE spécifiques réciproques entre les albumines de ces trois mammifères ont alors été réalisés afin d'évaluer la réactivité croisée. La présence d'une allergénicité croisée a été montrée par la présence d'inhibitions significatives. On peut rajouter que ce travail a mis en évidence que l'albumine induisait une sensibilisation au chat et au chien, mais aussi aux mammifères de façon plus large. Deux études ont mis en évidence que la réactivité croisée chat-chien peut être imputée à l'albumine dans 30% des cas (71). L'étude de Spitzauer et al. réalisée sur 200 patients allergiques à une espèce de mammifères, a montré la présence d'IgE spécifiques dirigées contre une albumine de mammifères chez 30 % des patients (137). Parmi ces patients 85 % avaient des IgE contre l'albumine de chat et/ou de chien, et 70 % contre l'albumine de cheval. Enfin, dans leur étude chez des sujets allergiques à la fois au chat et au chien, Blanc et al. ont mis en évidence que 25% de ces patients étaient sensibilisés à l'albumine sérique (IgE dosées par ImmunoCAP supérieures à 0.70 kU/L) (117).

(4) Fel d 1 et Fel d 1 like

Un travail de 2007 a montré que Fel d 1 était un allergène croisant. Chez 25 % des patients allergiques aux chats (9 patients sur 36), rFel d 1 induisait plus de 50 % d'inhibition de la réactivité IgE aux allergènes du chien (118). Un allergène de 20 kDa croisant avec Fel d 1, appelé Fel d 1-like, était retrouvé dans les extraits allergéniques de plusieurs races de chien (118). Cet allergène peut donc être responsable de double positivité chat-chien en sérologie. Cependant, sa pertinence clinique est encore inconnue puisque les patients de cette étude étaient allergiques au chat et positifs en tests cutanés pour le chien, mais cliniquement ne présentaient pas d'allergie au chien (118)

2.4 Apport au traitement

Comme nous l'avons vu précédemment, l'ITS à base d'extraits de phanères de chat entraîne une amélioration des symptômes chez les patients allergiques au chat. Cependant les niveaux de réponses sont différents en fonction des teneurs des extraits en Fel d 1 (70).

Fel d 1 est la fraction allergénique la plus fréquemment responsable d'allergie au chat, ce qui en fait un candidat idéal pour une ITS ciblée. L'immunothérapie par administration sous cutanée de peptides Fel d 1 a montré une certaine efficacité car de légères améliorations ont été observés aux doses les plus importantes : diminution significative du diamètre des tests cutanés, amélioration de la tolérance bronchique à l'allergène mais avec des effets secondaires associés important (21,70,71). La présence du chat à domicile ne modifie pas les résultats de manière significative (70). Afin de diminuer le risque d'effets indésirables dus à l'ITS avec Fel d 1, des molécules visant à interagir avec les cellules T sans réagir avec les IgE ont été créées (91).

Une première possibilité est la création de recombinants hypoallergéniques de Fel d 1. Ils semblent être capables de diminuer la réactivité IgE tout en gardant la capacité de stimuler des cellules T, ce qui en font de bons candidats dans le traitement de l'allergie au chat. Cependant leur étude chez l'homme n'a pas encore été évaluée (37).

Une autre voie est l'utilisation de peptides comprenant des épitopes T. Il a été mis en évidence après l'exposition à l'allergène, l'induction d'une tolérance spécifique de l'antigène, ainsi qu'une diminution de symptômes et de la production d'IL-4. Cependant les patients traités à la plus haute dose, ont eu des effets indésirables après administration répétées. Une seconde génération de peptides (plus courts) a été créée. Une diminution de la réactivité cutanée à l'allergène a été observée avec leur utilisation, ainsi qu'au niveau clinique, une diminution des crises d'asthmes (37).

Une autre voie de recherche est de coupler la fraction allergénique à une autre molécule ayant des propriétés immunomodulatrices (91). Une protéine chimérique de fusion composée de Fel d 1 et du fragment Fc γ I d'une IgG1 humaine (148). Cette protéine de fusion comprend un site de liaison au récepteur RFc γ IIb des basophiles et des mastocytes, qui a la capacité d'inhiber la réaction cellulaire. Elle pourrait inhiber la dégranulation des basophiles. Cela a été prouvé in vitro ainsi que sur des souris sensibilisés à Fel d 1 (149).

Tableau 11: caractéristiques des groupes contrôle et positif de la population acarien

<i>Groupe</i>	<i>N</i>	<i>D1</i>	<i>D2</i>	<i>Clinique allergie acarien</i>	<i>Clinique autres pneumallergènes</i>
Contrôle (n=21)	21	-	-	Non	9/21
Positif (n=34)	33	+	+	Oui	22/33
	1	+	-	Oui	Non

Tableau 12 : caractéristiques démographiques de la population acarien

	<i>Population globale</i>	<i>Patients positifs</i>	<i>Patients témoins</i>
Nombre	55	34	21
Age moyen (an)	8	9	7
Age extrêmes (an)	2-18	3-18	2-16
Ratio garçon/fille	1,5	2,4	0,8

IV. Partie 3 : évaluation sur une population pédiatrique des allergènes moléculaires Siemens® des acariens, du chat et du chien

A. Introduction

La société Siemens® a produit des allergènes moléculaires des acariens, du chat et du chien. Ces allergènes ont été commercialisés en 2008. Il s'agit d'allergènes naturels purifiés et non pas de classiques allergènes recombinants. Dans le laboratoire d'immunologie du CHU de Clermont-Ferrand, nous avons réalisé une **étude rétrospective**, à la demande de la société Siemens®, sur une population de patients pédiatriques, portant sur ces allergènes moléculaires. Il s'agit d'une **étude originale** puisque nous avons testé ces allergènes en avant-première (c'est-à-dire avant leur commercialisation) en tant que centre de référence français. Le but principal de l'étude était de **valider les fractions allergéniques moléculaires** des acariens, du chat et du chien par rapport aux extraits globaux. Avec cette étude, nous cherchions aussi à **élucider d'éventuelles réactions croisées** dues à des allergènes mineurs tels que la tropomyosine pour les acariens ou l'albumine pour le chat et le chien. Nous cherchions également à **élaborer des stratégies d'indications** de ces tests dans la démarche allergologique (vérifier la présence d'une vraie allergie, évaluation de la nécessité de mise en place d'une désensibilisation).

B. Matériel et méthodes

1. Patients

1.1 Acariens

De janvier 2007 à décembre 2007, 55 patients du CHU de Clermont-Ferrand, ayant consultés en pédiatrie pour des problèmes d'allergie ont été inclus rétrospectivement (ANNEXE I à III). Les critères d'inclusion des patients étaient :

- Groupe contrôle : patients négatifs en IgE anti-D1 (extrait global de *Dermatophagoïdes pteronyssinus*) et anti-D2 (extrait global de *Dermatophagoïdes farinae*) avec les tests cutanés correspondants (TC1 pour *Dermatophagoïdes pteronyssinus* et TC2

Tableau 13: caractéristiques cliniques et biologiques des populations chat et chien

	<i>N</i>	<i>E1</i>	<i>E5</i>	<i>E2</i>	<i>Clinique allergie chat</i>	<i>Clinique allergie chien</i>	<i>clinique allergie chat et chien</i>	<i>Clinique autres mammifères</i>	<i>Clinique autres pneum-allergènes</i>	<i>Pas de clinique pneum-allergène</i>
population globale n=25	10	+	+	+	2/10	3/10	3/10	cheval 1/10	pollen 7/10 acarien 5/10	non
	14	+	+	-	4/14	0/14	3/14	0/10	pollen 11/14 latex 2/14 acarien 4/14	1/14
	1	+	-	-	oui	non		non	non	non

Tableau 14: caractéristiques démographiques de la population chat-chien

Nombre	N=25
Age moyen (an)	9
Age extrême (an)	2-16
Ratio garçon/fille	3,2

pour *Dermatophagoïdes farinae*) négatifs et sans histoire clinique d'allergie aux acariens (n=21).

- Groupe positif (Tableau 11): patients positifs en IgE anti-D1 et/ou anti-D2 et une histoire clinique d'allergie aux acariens et/ou avec les tests cutanés correspondants positifs (n=34).

Pour sélectionner les patients, nous avons regardé dans un premier temps nos résultats d'IgE spécifiques dirigées contre les deux extraits globaux D1 et D2. Puis dans un deuxième temps nous avons regardé s'ils avaient des signes cliniques d'allergie aux acariens.

Les patients inclus étaient âgés de 2 à 18 ans (moyenne et médiane : 8 ans) avec un ratio garçon/fille (h/f) de 1,5 (Tableau 12). Dans le groupe positif (h/f : 2,4) les patients étaient âgés de 3 à 18 ans (moyenne : 9 ans et médiane : 7ans). Dans le groupe contrôle, les patients (h/f : 0,8) étaient âgés 2 à 16 ans (moyenne : 7 ans et médiane : 6 ans).

1.2 Chat, chien

26 Patients du CHU de Clermont-Ferrand, ayant consultés en pédiatrie pour des problèmes d'allergie, ont été sélectionnés de novembre 2005 à novembre 2007 à posteriori (Annexe IV à VI).

A la différence de la population acarien, les patients étaient inclus uniquement en fonction des résultats des dosages des extraits globaux : E1 (squames et épithélium de chat), E2 (épithélium de chien) et E5 (squames de chien). Pour un patient, nous ne disposions pas des résultats des IgE spécifiques anti-E2, anti-E5. Nous avons donc exclu ce patient.

Les patients inclus (n=25) étaient positifs à au moins un des trois extraits globaux mais tous les patients ne présentaient pas de signes cliniques d'allergie au chat et/ou au chien (Tableau 13). Les patients étaient âgés de 2 à 16 ans (moyenne et médiane : 9 ans) et le ratio filles/garçons était similaire (h/f : 3,3 pour la population chat et 3,2 pour la population chien) (Tableau 14).

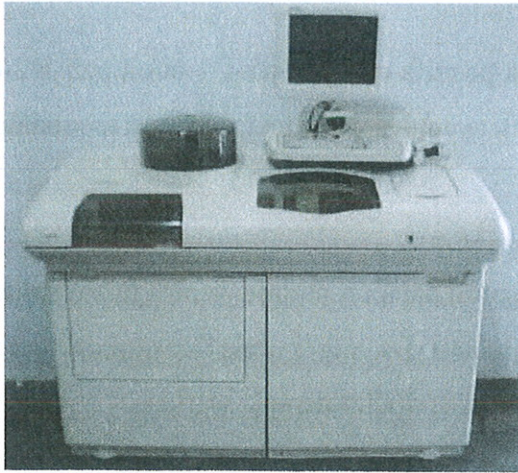


Figure 12: Immulite® 2000

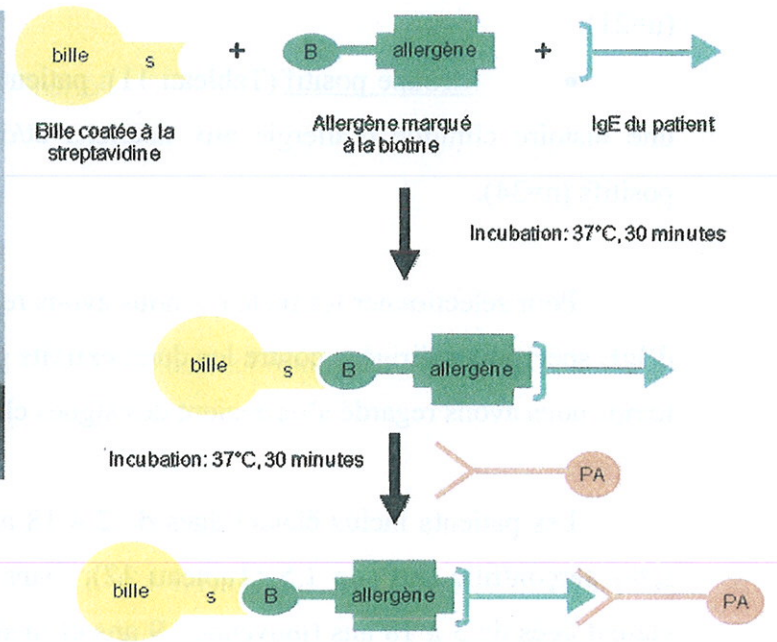
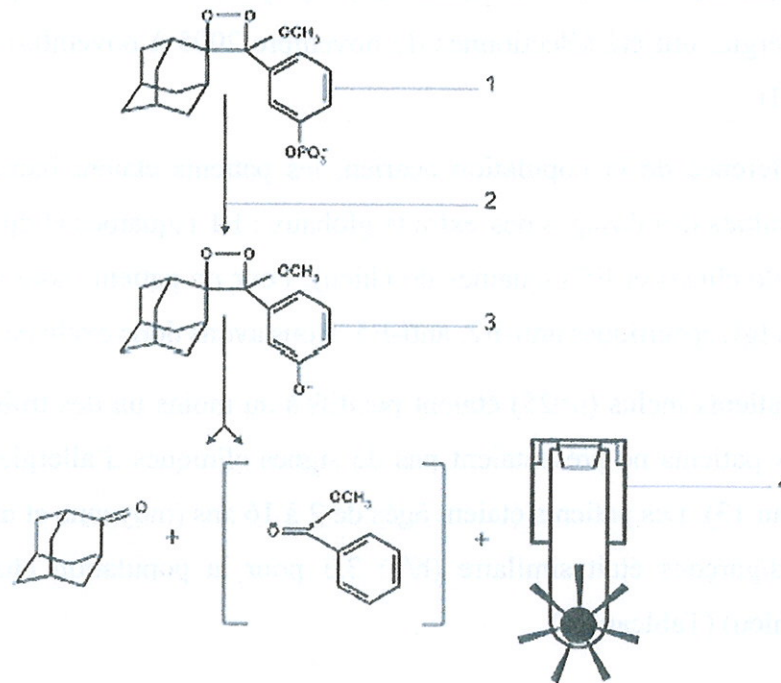


Figure 13: principe de la réaction

LUMIGEN PPD:

4-méthoxy-4-(3-phosphatephényl)-spiro-(1,2-dioxétane-3,2'-adamantane).



- 1 Dioxétane phosphate (stable)
- 2 Marqueur phosphatase alcaline
- 3 Dioxétane (instable)
- 4 Lumière (nt)

Figure 14: réaction de chimiluminescence

2. Dosage des IgE spécifiques sur l'automate Immulite®

2.1 Prélèvements

Dans notre laboratoire, de manière systématique, les sérums des patients ayant des dosages d'IgE sont congelés à -80°C afin de constituer une sérothèque pour permettre de faire des analyses complémentaires et parfois la réalisation d'études rétrospectives. Pour ces patients qui ont été inclus à postériori, le jour du dosage des IgE spécifiques, les sérums étaient décongelés et passés sur l'automate Immulite® 2000 (Société Siemens®) (Figure 12).

2.2 Principe du dosage

Les dosages d'IgE spécifiques sur l'Immulite® 2000 (Figure 12) sont des immunodosages par chimiluminescence, en milieu liquide.

Dans la première étape de la réaction, l'allergène marqué à la biotine, les billes coatées à la streptavidine (phase solide) et les IgE contenus dans le sérum du patient sont mis en contact (Figure 13). L'incubation dure 30 minutes à 37°C. Pendant ce temps, la Biotine de l'allergène se fixe à la Streptavidine de la bille coatée et les IgE spécifiques du patient se fixent à l'allergène. Cette réaction est très sensible pour plusieurs raisons. La Streptavidine est capable de fixer 4 Biotines ce qui conduit à amplifier le signal et donc augmenter la sensibilité. De plus, le fait que la Streptavidine soit fixée sur un bille (surface sphérique), augmente la surface de contact avec la Biotine fixée sur l'allergène ce qui conduit à augmenter la sensibilité de la réaction. La Streptavidine et la Biotine ont de plus une excellente affinité, la réaction est donc immédiate. Après une étape de lavage (qui sert à éliminer toutes les fractions non liées), l'anticorps anti-IgE marquée à la phosphatase alcaline est ajouté. L'incubation dure également 30 minutes à 37°C. La quantité de phosphatase alcaline liée est directement proportionnelle à la concentration en IgE spécifiques de l'allergène dans le sérum du patient.

Après un deuxième lavage, un substrat luminogène (un adamantyl dioxétane phosphate) est ajouté. L'incubation dure 5 minutes à 37°C. Le substrat est déphosphorylé en un anion intermédiaire instable (le dioxétane) par la phosphatase alcaline (Figure 14). Cet anion se décompose rapidement et spontanément en émettant un photon de lumière. La quantité de lumière émise est directement proportionnelle à la quantité de phosphatase alcaline liée et donc à la concentration en IgE spécifiques de l'allergène. Cette réaction de

chimiluminescence, c'est-à-dire d'émission de lumière après une réaction chimique, est plus sensible qu'une réaction ELISA classique.

Une particularité de cette technique est que ni l'anti-IgE, ni l'allergène ne sont fixés sur la bille, ils sont en solution liquide.

2.3 Allergènes

Les fractions allergéniques utilisées dans cette étude sont des allergènes naturels purifiés. Ils ont été obtenus à partir d'extrait de chien, de chat ou d'une culture d'acarien, par purification par chromatographie d'affinité en utilisant des anticorps monoclonaux. La pureté de ces allergènes moléculaires a été contrôlée par SDS-PAGE et Western Blot. Le procédé de purification est protégé par le secret industriel de la société Siemens[®], c'est pourquoi nous n'avons pas plus d'informations.

(1) Allergènes des acariens

Nous avons réalisé sur l'Immulite[®] 2000 les dosages d'IgE spécifiques : des extraits globaux D1 (*Dermatophagoïdes pteronyssinus*) et D2 (*Dermatophagoïdes farinae*). Puis nous avons réalisé les dosages d'IgE spécifiques des fractions allergéniques majeures nDer p 1, nDer p 2, nDer f 1, et nDer f 2. En cas de discordance des résultats des dosages entre les allergènes moléculaires et les extraits globaux (de type extrait global positif et moléculaire négatif), un dosage des IgE spécifiques de la tropomyosine (nPen m1), qui est un allergène mineur des acariens, était réalisé.

(2) Allergènes du chat et du chien

Nous avons réalisé sur l'Immulite[®] 2000 les dosages d'IgE spécifiques : des extraits globaux de chat (E1 : squames et épithélium de chat) et de chien (E2 : épithélium de chien et E5 : squames et phanères de chien). Puis nous avons réalisé les dosages d'IgE spécifiques des fractions allergéniques majeurs du chat (nFel d1 ou A345) et du chien (nCan f1 ou A174). Nous avons également réalisé des dosages des IgE spécifiques des fractions allergéniques mineures du chat (nFel d 2 ou E220) et du chien (nCan f 3 ou E221).



3. Etude statistique

Pour l'analyse statistique nous avons utilisé le logiciel SAS. La population étudiée ne suit pas une distribution normale, nous avons donc réalisé un test non paramétrique : le coefficient de corrélation de Spearman entre les différents taux d'IgE spécifiques ainsi qu'avec les tests cutanés. Le groupe contrôle ne permettait pas la réalisation du coefficient de corrélation de Spearman à cause de l'écart-type égal à zéro dans la plupart des cas. Pour comparer les taux d'IgE spécifiques, nous avons également réalisé des comparaisons de moyenne par séries appariées avec le test de Friedman (test non paramétrique). Le seuil considéré comme significatif était $p < 0.05$. Cette méthodologie a été validée par Sylvie UGHETTO, une statisticienne du DIM (Département d'Information Médicale).

Tableau 15: corrélation entre les tests cutanés et les IgE spécifiques anti-acariens

	<i>Coefficient de corrélation</i>	
	Global	Positif
TC1/D1	0,77	0,55
TC2/D2	0,78	0,55
TC1/nDer p 1	0,71	0,48
TC1/nDer p 2	0,70	0,34
TC2/nDer f 1	0,74	0,52
TC2/nDer f 2	0,72	0,37
TC1/TC2	0,90	0,86

Corrélation significative si $p < 0.05$,

NS : non significatif

Tableau 16 : corrélation entre les dosages d'IgE spécifiques anti-acariens

	<i>Coefficient de corrélation</i>	
	Global	Positif
D1/D2	0,96	0,91
D1/nDer p 1	0,83	0,68
D1/nDer p 2	0,92	0,8
D2/nDer f 1	0,9	0,74
D2/nDer f 2	0,89	0,72
D1/nDer f 1	0,87	0,68
D1/nDer f 2	0,9	0,78
D2/nDer p 1	0,84	0,71
D2/nDer p 2	0,89	0,69

Corrélation significative si $p < 0.05$,

NS : non significatif

C. Résultat de la population acarien

1. Validation des allergènes moléculaires

1.1 Test de corrélation

(1) Corrélation tests cutanés – dosage des IgE spécifiques

La corrélation entre les tests cutanés et les extraits globaux est moyenne et significative pour la population positive ($\rho=0,55$ pour D1 et D2), voire bonne pour la population globale ($\rho=0,77$ pour D1 et $\rho=0,78$ pour D2) (Tableau 15).

La corrélation entre les tests cutanés et les allergènes moléculaires est moyenne pour la population positive ($\rho<0,52$) voire bonne et significative pour la population globale (environ 0,70) (Tableau 15).

La corrélation est légèrement meilleure dans la population globale entre le test cutané TC1 et les IgE spécifiques de l'extrait global D1 ($\rho=0,77$) par rapport aux allergènes moléculaires (environ 0,70). Il en est de même en ce qui concerne la corrélation dans la population globale entre le test cutané TC2 et les IgE spécifiques de l'extrait global D2 ($\rho=0,78$) par rapport aux IgE spécifiques des fractions allergéniques correspondantes nDer f 1 et nDer f 2 (environ 0,75).

(2) Corrélation entre les dosages d'IgE spécifiques (extrait globaux et allergènes moléculaires)

Les IgE spécifiques D1 et D2 sont très fortement corrélées de manière significative que ce soit dans la population globale (coefficient de corrélation $\rho=0,96$) ou le groupe positif ($\rho=0,91$) (Tableau 16). Dans la population globale, la corrélation entre l'extrait global et les allergènes moléculaires de la famille des cystéines protéases (c'est-à-dire les allergènes du groupe 1) est très bonne et significative ($\rho=0,83$ pour D1/nDer p 1 et $\rho=0,90$ pour D2/nDer f 1). Il en est de même pour la famille des epididymal protein like (c'est-à-dire les allergènes du groupe 2) ($\rho=0,92$ pour D1/nDer p 2 et $\rho=0,89$ pour D2/nDer f 2) (Tableau 16). Des résultats similaires, mais avec des coefficients de corrélation légèrement inférieurs, sont observés avec le groupe positif ($0,7<\rho<0,8$).

Tableau 17: corrélation entre les différents allergènes moléculaires anti-acariens

	<i>Coefficient de corrélation</i>	
	Globale	Positif
nDer f 1/nDer p 1	0,98	0,98
nDer f 2/nDer p 2	0,99	0,97
nDer p 1/nDer p 2	0,77	0,43 (0,73)
nDer f 1/nDer f 2	0,81	0,43 (0,74)
nDer p 1/nDer f 2	0,78	0,42 (0,72)
nDer f 1/nDer p 2	0,82	0,43 (0,76)

Corrélation significative si $p < 0.05$

NS : non significatif

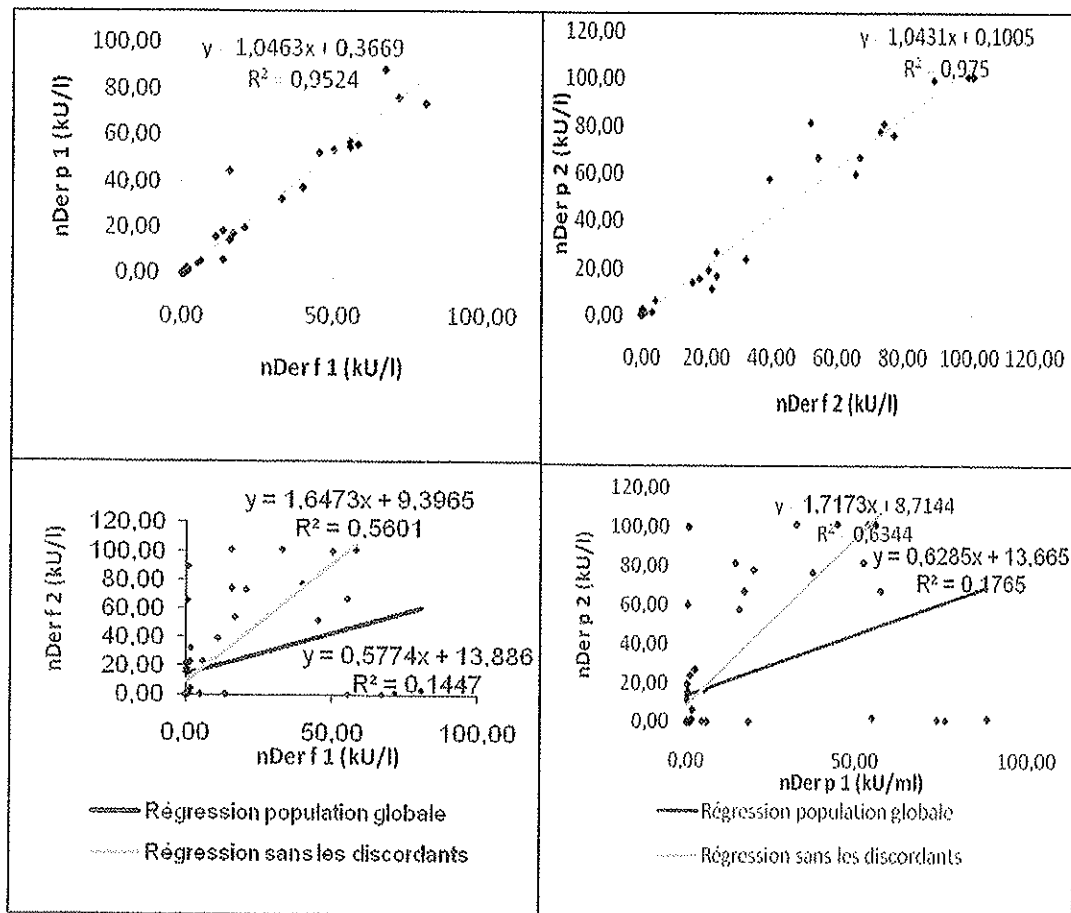


Figure 15: droite de régression entre les différents allergènes moléculaires anti-acariens

A noter que des résultats aussi élevés sont observés lorsque l'on étudie la corrélation entre les extraits globaux et les allergènes moléculaires correspondant à l'autre espèce d'acarien (Tableau 16). Dans la population globale, la corrélation est légèrement meilleure pour la famille 2 ($\rho=0.90$ pour D1/nDer f 2 et $\rho=0.89$ pour D2/nDer p 2) que pour la famille 1 ($\rho=0.87$ pour D1/nDer f 1 et $\rho=0.84$ pour D2/nDer p 1). Il en est de même pour le groupe positif.

(3) Corrélation des dosages des IgE spécifiques anti-allergènes moléculaires les uns par rapport aux autres

Dans la population globale et le groupe positif, la corrélation entre les allergènes moléculaires (Tableau 17) est significative et excellente (très proche de 1) pour les allergènes nDerf1/nDer p 1 et nDer p 2/nDer f 2 ($\rho>0.97$). Ces résultats sont confirmés par les coefficients de régression ($R^2>0,95$) (Tableau 17).

La corrélation est bonne et significative dans la population globale entre les allergènes nDer p 1/nDer p 2 ($\rho=0.77$), nDer f 1/nDer f 2 ($\rho=0.81$), nDer p 1/nDer f 2 ($\rho=0.78$) et nDer f 1/nDer p 2 ($\rho=0.82$). Dans le groupe positif elle est plutôt moyenne (environ $\rho=0.40$), mais si l'on supprime les valeurs très aberrantes (cas 37, 41, 42, 49), elle devient bonne (environ $\rho=0.70$). Ces résultats sont confirmés par les coefficients de régression (R^2 environ 0,6 lorsque l'on ne tient pas compte des très discordants) (Figure 15).

En ce qui concerne le groupe contrôle, la réalisation du test paramétrique de corrélation de Spearman n'a pas été possible (écart-type=0) ou était ininterprétable. Dans ce groupe, les tests cutanés ainsi que les IgE spécifiques (extrait global ou allergènes moléculaires) sont inférieurs au seuil de positivité (hormis pour 2 patients).

1.2 Sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et négative, concordance

Il s'agit seulement d'une estimation de ces différents paramètres car les patients ont été sélectionnés rétrospectivement à partir des résultats des IgE spécifiques des extraits globaux. Nous avons testé les seuils de positivité de 0,35 kU/l (seuil classiquement utilisé en pratique quotidienne) et de 0,20 kU/l qui est le seuil que voulait préconiser la société Siemens®. Les résultats ne sont différents que pour un patient et les pourcentages sont très proches. Pour ne pas alourdir ce mémoire, nous ne les avons pas exposés volontairement et nous avons placé en annexes les tableaux (cf Annexe VII).

Tableau 18: comparaison de positivité des extraits globaux et des fractions allergéniques de *Dermatophagoïdes pteronyssinus*

	<i>Seuil = 0,35</i>			
	D1+ (n=34)		D1- (n=21)	
	M+ (n=34)		M- (n=21)	
	n	%	n	%
Der p 1 + Der p 2+	23/34	68%	0/21	0%
Der p 1 + Der p 2 -	1/34	2%	2/21	10%
Der p 1 - Der p 2 +	5/34	15%	0/21	0%
Der p 1 - Der p 2 -	5/34	15%	19/21	90%

M+ : patient allergique aux acariens D1+ : patient positif en IgE spécifiques anti-D1

M- : patient non allergique aux acariens D1- : patient négatif en IgE spécifiques anti-D1

Tableau 19: comparaison de positivité des extraits globaux et des fractions allergéniques de *Dermatophagoïdes farinae*

	<i>Seuil = 0,35</i>							
	D2+ (n=33)				D2- (n=22)			
	M+ (n=33)		M- (n=0)		M+ (n=1)		M- (n=21)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Der f 1 + Der f 2+	21/33	64%	0/33	0%	0/22	0%	0/22	0%
Der f 1 + Der f 2 -	5/33	15%	0/33	0%	0/22	0%	2/22	9%
Der f 1 - Der f 2 +	3/33	9%	0/33	0%	0/22	0%	0/22	0%
Der f 1 - Der f 2 -	4/33	12%	0/33	0%	1/22	5%	19/22	86%

M+ : patient allergique aux acariens D2+ : patient positif en IgE spécifiques anti-D2

M- : patient non allergique aux acariens D2- : patient négatif en IgE spécifiques anti-D2

(1) Estimation de la sensibilité dans notre population

(a) Par rapport à l'extrait global

Si l'on se place au seuil de positivité de 0,35 kU/l (qui est le seuil le plus classiquement utilisé en pratique quotidienne), lorsque l'allergène D1 est positif, 68% des patients (23/34) sont double positifs Der p 1 et Der p 2, 15% (5/34) sont double négatifs Der p 1 et Der p 2, 2% (1/34) sont uniquement Der p 1 positif et 15% (5/34) Der p 2 positif uniquement soit 17% seulement Der p 1 ou Der p 2 positif (Tableau 18). **La sensibilité par rapport à l'extrait global D1 peut donc être évalué à 71% pour nDer p 1, 82% pour nDer p 2 et 85% pour l'association nDer p 1 + nDer p 2.**

Toujours en se plaçant au seuil de positivité de 0,35 kU/l, lorsque l'allergène D2 est positif, 64% des patients (21/33) sont double positifs Der f 1 et Der f 2, 12% (4/33) sont double négatifs Der f 1 et Der f 2, 15% (5/33) sont uniquement Der f 1 positif et 9% (5/34) Der f 2 positif uniquement soit 24% seulement Der f 1 ou Der f 2 positif (Tableau 19). **La sensibilité par rapport à l'extrait global D2 peut donc être évalué à 79% pour nDer f 1, 73% pour nDer f 2 et 88% pour l'association nDer f 1 + nDer f 2.**

(b) Par rapport à la clinique

Si l'on se place cette fois-ci, non plus sur la positivité des extraits globaux, mais sur la présence ou non d'une allergie aux acariens, cela ne change rien pour D1 car tous les allergiques aux acariens (M+) sont aussi positifs en extraits globaux D1. Mais pour D2, un patient de la population positive a des IgE spécifiques anti-D2 négatives. La sensibilité de nDer f 1 et de nDer f 2 dans notre population peut donc être estimée respectivement à 76% et 71%. **La sensibilité de l'association nDer f 1 + nDer f 2 peut être estimée à 85%.**

(2) Estimation de la spécificité dans notre population

(a) Par rapport à l'extrait global

Lorsque l'allergène D1 est négatif, 0% des patients sont doubles positifs nDer p 1 et nDer p 2, 10% (2/21) sont nDer p 1 uniquement faussement positif sans clinique associée, 0% sont nDer p 2 uniquement positif et 90% (19/21) sont double négatif nDer p 1 et nDer p 2

Tableau 20 : comparaison des positifs des couples d'allergènes moléculaires associant deux familles différentes par rapport à la positivité du couple D1-D2

	<i>D1+ et/ou D2+</i>	<i>D1 et D2 -</i>
nDer p 1+ et/ou nDer p 2+	29	2
nDer p1- et nDer p 2-	5	19
nDer f 1+ et/ou nDer f 2+	29	2
nDer f 1- et nDer f 2-	5	19
nDer p 1+ et/ou nDer f 2+	29	2
nDer p 1- et nDer f 2-	5	19
nDer f 1- et nDer p 2-	29	2
nDer f 1+ et/ou nDer p 2+	5	19

D2+ : patient positif en IgE spécifiques anti-D2

D2- : patient négatif en IgE spécifiques anti-D2

D1+ : patient positif en IgE spécifiques anti-D1

D1- : patient négatif en IgE spécifiques anti-D1

(Tableau 18). **La spécificité par rapport à l'extrait global peut donc être estimée à 90% pour nDer p 1, 100% pour nDer p 2 et 90% pour l'association nDer p 1 + nDer p 2.**

Lorsque l'extrait global D2 est négatif, 0% sont doubles positifs nDer f 1 et nDer f 2, 9% (2/22) sont nDer f 1 faussement positif uniquement sans clinique associé, 0% sont nDer f 2 uniquement positif et 91% (20/22) sont doubles négatifs nDer f 1 et nDer f 2 (Tableau 19). **La spécificité peut donc être estimée à 91% pour nDer f 1, 100% pour nDer f 2 et 91% pour l'association nDer f 1 et nDer f 2.**

Faux D1 ou D2 positifs

Aucun cas de type faux D1 positif (D1 et D2 positif, nDer f 1 et/ou nDer f 2 positif, nDer p 1 et nDer p 2 négatif) ou faux D2 positif (D1 et D2 positif, nDer f 1 et nDer f 2 négatif, nDer p 1 et/ou nDer p 2 positif) n'a été observé.

(b) Par rapport à la situation clinique

Si nous nous plaçons cette fois-ci, non plus sur la positivité des extraits globaux, mais sur la présence ou non d'une allergie aux acariens, cela ne change rien pour D1 car tous les allergiques aux acariens (M+) sont aussi positifs en extraits globaux D1.

Pour D2, un patient de la population positive a des IgE spécifiques anti-D2 négatives. **La spécificité peut être évaluée à 90% pour nDer f 1, 100% pour nDer f 2 et 90% pour l'association nDer f 1 + nDer f 2.**

(3) Estimation de la valeur prédictive positive (VPP) et de la valeur prédictive négative (VPN) dans notre population

D'après ces résultats nous pouvons estimer également les VPP et les VPN de ces différents tests (Tableau 18 et Tableau 19). La VPP est de 92% pour nDer p 1, 100% pour nDer p 2, 93% pour nDer f 1 et 100% pour nDer f 2. La VPN est de 65% pour nDer p 1, 78% pour nDer p 2, 70% pour nDer f 1 et 68% pour nDer f 2.

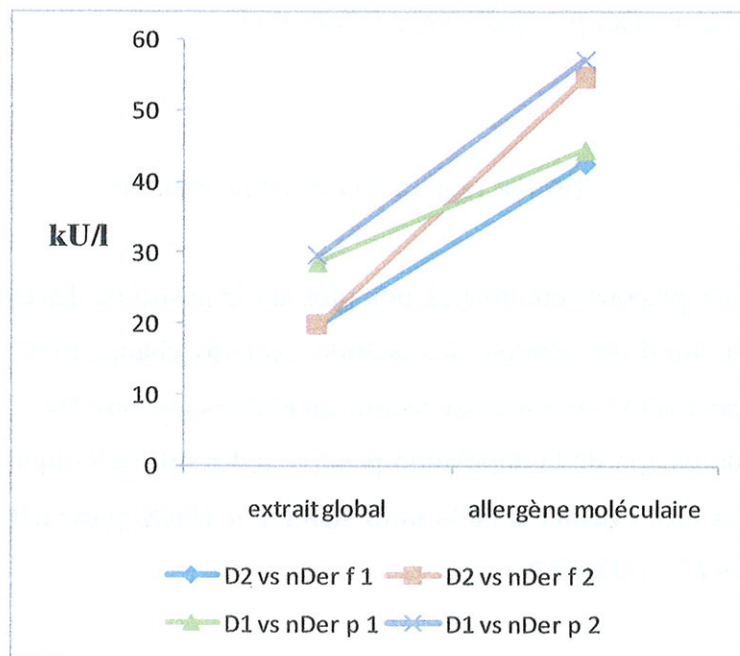


Figure 16: comparaison quantitative de la valeur des IgE spécifiques des extraits globaux et des fractions allergéniques moléculaires sur la population acarien

(4) Estimation de la sensibilité, de la spécificité, de la VPP et de la VPN par rapport à l'association des deux extraits globaux D1 et D2

Nous avons cherché à estimer la sensibilité et la spécificité des quatre fractions allergéniques moléculaires par rapport au couple D1 + D2 et non plus par rapport à D1 et D2 individuellement. Si un des deux extraits globaux est positif (D1 et/ou D2), au moins une des quatre fractions allergénique est positive dans 86% des cas (30/35). Lorsque D1 et D2 sont négatifs, les 4 fractions allergéniques sont négatives dans 90% des cas (19/21).

Si nous comparons la positivité de chaque couple d'allergène moléculaire associant deux allergènes de familles différentes (c'est-à-dire les couples nDer p 1/Der p 2, nDer f 1/nDer f 2, nDer p 1/nDer f 2 et nDer f 1/nDer p2) par rapport aux extraits globaux, il est possible d'estimer la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative de chaque couple par rapport aux extraits globaux (Tableau 20).

29 patients sur 34 sont positifs pour chaque couple d'allergènes, **la sensibilité de chaque couple par rapport à l'association D1 + D2 est donc évaluée à 85%**. De même, 19 patients sur 21 sont négatifs pour chaque couple d'allergène, **la spécificité par rapport à l'association D1 + D2 peut donc être estimée à 90%**. La valeur prédictive positive est évaluée à 94% et la valeur prédictive négative à 79%.

(5) Estimation de la concordance dans notre population au seuil de 0,35 kU/l

Lorsque l'extrait global D1 est positif, nDer p 1 et/ou 2 est positif dans 85% des cas (29/34), ce qui permet d'estimer la **concordance à 85%** (Tableau 18). A l'inverse, lorsque D1 est positif, nDer p 1 et nDer p 2 est négatif dans 15% des cas (5/34), ce qui correspond à une discordance de 15%.

Lorsque l'extrait global D2 est positif, nDer f 1 et/ou 2 est positif dans 88% des cas (29/33), ce qui permet d'estimer la **concordance à 88%**. A l'inverse, lorsque D1 est positif, nDer f 1 et nDer f 2 est négatif dans 12% des cas (4/33), ce qui correspond à une discordance de 12%.

Les 4 cas discordants pour D2 sont les cas 22, 25, 27 et 29. Les 5 cas discordants pour D1 sont les 4 cas précédents plus le cas 29. Nous reviendrons sur ces cas dans un autre paragraphe (IV.C.3 Spectrotype des patients allergiques aux acariens page 83).

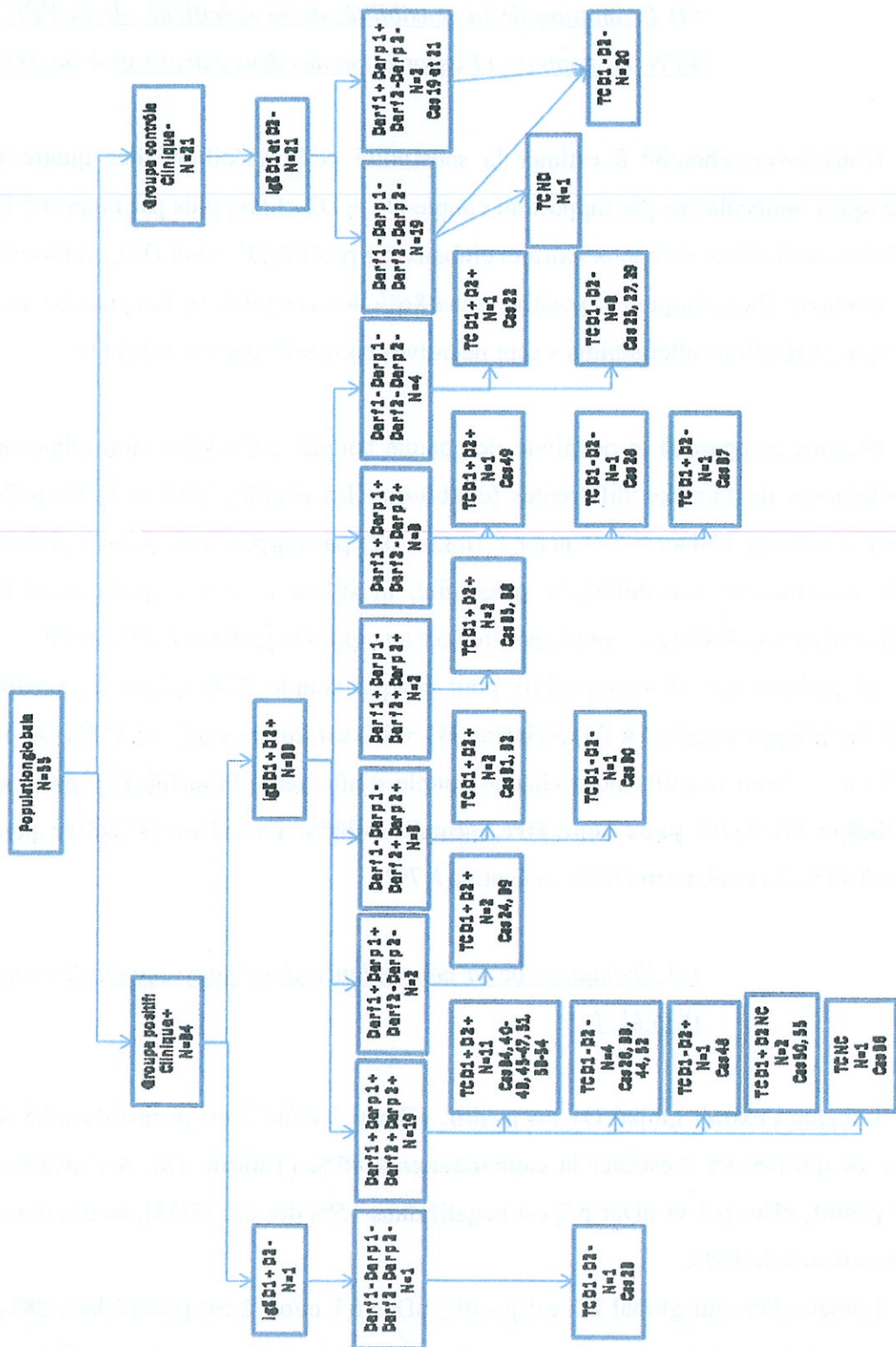


Figure 17: population acarien

- TC : test cutané
- D1 : extrait de *Dermatophagoïdes pteronyssinus*
- D2 : extrait de *Dermatophagoïdes farinae*
- Seuil de positivité des IgE spécifiques : 0,35 kU/l
- Seuil de positivité des TC : ratio TC allergène/TC histamine ≥ 0,5

2. Aspect quantitatif

Dans la population positive, lorsque les fractions allergéniques sont positives, elles sont environ deux à trois fois plus élevées que les extraits globaux correspondants (Figure 16). En ce qui concerne l'extrait global D2, nDer f 2 est trois fois plus élevé (55 vs 20, $p < 0.001$) tandis que nDer f 1 est deux fois plus haut (43 vs 20, $p = 0.07$). Pour l'extrait global D1, nDer p 1 est 1,5 fois plus élevé (45 vs 29, $p = 0.18$) tandis que nDer p 2 est deux fois plus élevé (57 vs 29, $p = 0.018$). Les différences observées sont significatives ou limite de significativité, sauf pour D1/nDer p 2.

Dans la population positive, nous n'observons pas de différence significative entre les allergènes d'une même famille, c'est-à-dire entre nDer f 1 et nDer p 1 (43 vs 45, $p = 0.55$) et entre nDer f 2 et nDer p 2 (55 vs 57, $p = 0.83$), dont les moyennes sont extrêmement proches.

3. Spectrotype des patients allergiques aux acariens

Dans le groupe positif, la grande majorité des patients sont sensibilisés à la fois à *Dermatophagoïdes pteronyssinus* et *Dermatophagoïdes farinae* (patients positifs en IgE spécifiques à la fois à D1 et D2, $n = 33/34$ soit 97%) (Figure 17). Dans le profil attendu, les patients sont positifs avec toutes les fractions allergéniques. Nous allons détailler tous les profils dans les deux paragraphes suivants.

3.1 Cas général

Dans le cas général, les patients ont des IgE spécifiques positives à la fois à D1, D2 et les quatre fractions allergéniques ($n = 19$). Ils ont également des tests cutanés positifs avec les deux extraits globaux dans un certain nombre de cas ($n = 11/19$). 4 patients sur 19 (cas 26, 33, 44 et 52) ont des tests cutanés négatifs avec les deux extraits globaux. 1 patient sur 19 est positif en tests cutanés uniquement avec l'extrait global D1 (cas 48).

3.2 Cas particuliers

(1) Patients monosensibilisés

Environ 23% des patients (8 cas sur 34) ont un profil de patients monosensibilisés, c'est-à-dire qu'ils sont sensibilisés à une seule famille moléculaire. 5 patients du groupe

Tableau 21: cas particuliers de la population acarien

	N°	D2/T	nDer f 1	nDer f 2	D2	D1/T	nDer p 1	nDer p 2	D1	nPen a 1 Troponyosine (crevette)
Monosensibilisés famille 1	24	0,9	13,4	0,302	3,75	0,8	5,78	0,12	0,96	
	28	0	4,99	0,108	1,46	0,3	4,6	0,47	2,35	
	39	0,5	13,4	0,238	20,4	1	18,4	0,32	26,9	
	37	0,4	55,6	0,222	10,5	0,6	54,8	2,43	14,4	
	49	2	67,3	0,264	25,4	2,3	88,2	1,82	53,9	
Monosensibilisés famille 2	30	0	0,335	21,6	4,35	0,1	0,08	11,2	4,46	
	31	0,5	0,254	20,6	3,71	1,3	0,08	19,2	5,74	
	32	0,6	0,231	15,6	5,55	0,5	0,16	13,9	5,87	
Problèmes de seuil	19	0,2	0,427	0,08	0,264	0,2	0,55	0,08	0,08	0,08
	21	0	1,09	0,08	0,175	0	1	0,08	0,35	
Réactions croisées	23	0	0,08	0,08	0,08	0,2	0,08	0,08	0,77	0,08
	22	0,6	0,08	0,08	0,601	0,5	0,08	0,08	0,63	0,08
	25	0	0,08	0,08	0,626	0	0,08	0,08	1,06	0,08
	27	0	0,08	0,08	2,08	0	0,08	0,08	2,3	0,08
	29	0	0,111	0,08	4,53	0	0,08	0,31	4,07	7,05

D1/T : test cutané de D1 rapporté à la valeur du témoin +

D2/T : test cutané de D2 rapporté à la valeur du témoin +

D1 : extrait global de *Dermatophagoïdes pteronyssinus*

D2 : extrait global de *Dermatophagoïdes farinae*

positif sont ainsi sensibilisés soit aux allergènes de la famille 1 (nDer p 1, nDer f 1), soit aux allergènes de la famille 2 (nDer p 2, nDer f 2) (Tableau 21). Ces 5 patients ont une histoire clinique d'allergie aux acariens. Deux patients ont des IgE spécifiques positives uniquement pour les deux fractions allergéniques du groupe 1 (Der p 1 et Der f 1), avec des tests cutanés positifs avec les deux extraits globaux (cas 24 et 39). A l'inverse, trois patients ont des IgE spécifiques positives uniquement avec les fractions allergéniques du groupe 2 (Der p 2 et Der f 2) avec des tests cutanés positifs avec les deux extraits globaux pour 2 patients (cas 31 et 32) et négatifs pour un patient (cas 30).

Trois cas peuvent être aussi considérés comme des patients monosensibilisés puisque les allergènes moléculaires de la famille 2 sont très discrètement positifs en comparaison des valeurs des IgE spécifiques vis-à-vis des allergènes moléculaires de la famille 1. Il s'agit des cas 28, 37 et 49.

(2) Cas 19 et 21

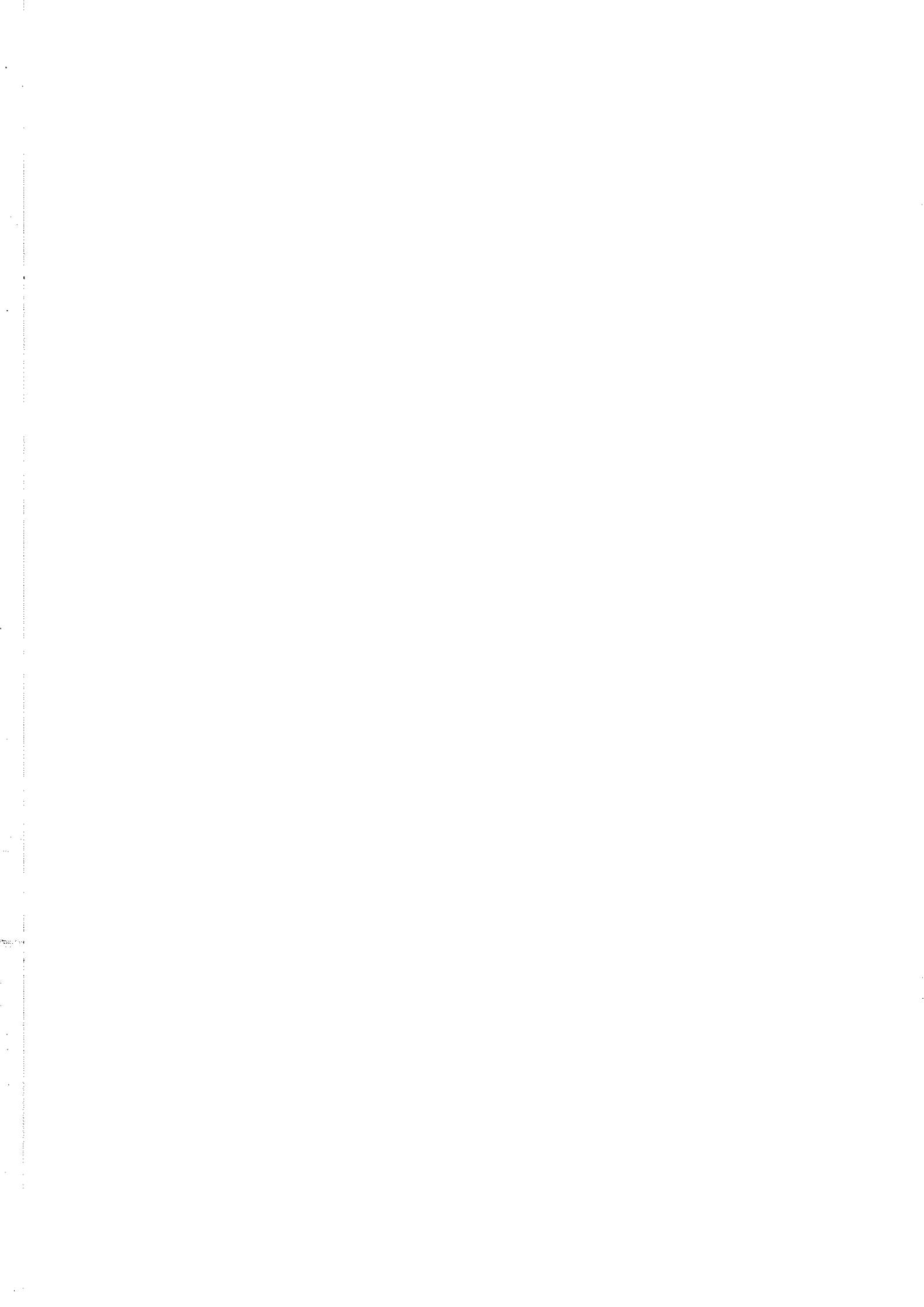
Au seuil de positivité de 0,35 kU/l, ces deux cas ont des IgE spécifiques anti-D1 et anti-D2 négatives mais avec les deux fractions allergéniques de la famille 1 (nDer f 1 et nDer p 1) positives uniquement (Tableau 21). Ils appartiennent au groupe contrôle et n'ont donc pas de clinique d'allergie. Ils sont également négatifs en ce qui concerne les deux tests cutanés.

En revanche, si l'on considère comme seuil de positivité 0,20 kU/l, un des deux extraits globaux est positif (D1 pour le cas 21 et D2 pour le cas 19), avec les deux fractions allergéniques de la famille 1 positives uniquement.

4. Identification de réactions croisées

Les dosages d'IgE spécifiques de la tropomyosine ont été réalisés en cas de discordances entre les allergènes moléculaires et globaux (Tableau 21):

- Dans 4 cas (N° 22, 25, 27, 29), les allergènes moléculaires étaient négatifs et les extraits globaux positifs (D1 et/ou D2) : dans trois cas la tropomyosine était négative et dans un cas (N° 29) la tropomyosine était positive,
- Dans un cas (N°23), les allergènes moléculaires étaient négatifs mais seul l'extrait global D1 était positif : la tropomyosine était négative.
- Un cas (N°19) où les allergènes moléculaires nDer f 1 et nDer p 1 sont faiblement positifs et les extraits globaux D1 et D2 sont négatif : la tropomyosine est négative



Dans tous ces cas, il ya une histoire clinique d'allergie aux acariens (sauf pour le cas 19 qui appartient au groupe contrôle). Il n'y a pas d'histoire clinique d'allergie alimentaire **sauf pour le cas 29, le seul dont la tropomyosine est d'ailleurs positive**, qui présente des signes cliniques de **dermatite atopique**.

D. Discussion sur la population acarien

1. Validation des allergènes moléculaires

1.1 Corrélation par rapport aux tests cutanés et autres IgE spécifiques

(1) Entre les tests cutanés et les dosages des IgE spécifiques

Nos résultats retrouvent une corrélation moyenne entre les tests cutanés et le dosage des IgE spécifiques des extraits globaux D1 et D2 sur notre population de patients allergiques aux acariens et une bonne corrélation sur la population globale (Tableau 15). Ces résultats sont supérieurs à ceux retrouvés dans la littérature. En effet, Chinoy et al. ont montrés une corrélation moyenne dans la population globale voire faible dans leur population de patients positifs en tests cutanés et IgE spécifiques (Phadia®) de l'extrait global de *Dermatophagoïdes farinae* (150,151). Dans une population de patients allergiques aux acariens, Schuetze et al. ont montrés une très faible corrélation entre les tests cutanés et les IgE spécifiques (Phadia®) vis-à-vis de l'extrait global en ce qui concerne *Dermatophagoïdes pteronyssinus* et une absence de corrélation pour *Dermatophagoïdes farinae* (152). Taketomi et al. ont montrés une absence de corrélation, dans une population de patients allergiques aux acariens, entre les tests cutanés et le dosage des IgE spécifiques (technique maison) (153). La différence entre nos résultats et ceux de la littérature est probablement due à la technique utilisée. Nos extraits semblent mieux corrélés aux tests cutanés que la technique Phadia®.

Nos résultats montrent également une **bonne corrélation entre les tests cutanés et les IgE spécifiques des allergènes moléculaires** dans la population globale et une corrélation moyenne dans la population de patients allergiques aux acariens. Ces corrélations sont seulement légèrement inférieures à celles obtenus avec les extraits globaux. Sur ce point **nous pouvons donc valider ces allergènes moléculaires. Mais ils n'apportent rien de nouveau par rapport aux extraits globaux.**

En ce qui concerne la corrélation entre les tests cutanés et les IgE spécifiques des allergènes moléculaires, la comparaison avec les données de la littérature n'a pas été possible car nous avons été les premiers à tester les allergènes moléculaires de la société Siemens®. De plus, la société Phadia® a commercialisé ses fractions allergéniques seulement l'an dernier. Nous n'avons pas trouvé d'article avec des allergènes moléculaires maison.

(2) Entre les dosages d'IgE spécifiques (extrait globaux et allergènes moléculaires)

Nos résultats montrent une **très bonne corrélation** entre les IgE spécifiques de l'extrait global D1 et les allergènes moléculaires correspondants (nDer p 1 et nDer p 2) (Tableau 16). Schuetze et al. ont montrés également une corrélation significative entre le taux d'IgE spécifiques de D1 et les IgE spécifiques anti-nDerp1 et/ou nDerp2 (immunodosage par chimiluminescence, ALK Abello®) (152). Nous retrouvons également une **très bonne corrélation** entre les IgE spécifiques de l'extrait global D2 et nDer f 1 ou nDer f 2. Cette **très bonne corrélation entre les extraits globaux et les allergènes moléculaires** montrent que sur ce point également **nous pouvons valider ces allergènes** (Tableau 22). Nous retrouvons les mêmes résultats entre les IgE spécifiques de l'extrait global et les allergènes moléculaires correspondants à l'autre extrait global (D1 et nDer f 1-2 ou D2 et nDer p 1-2), ce qui traduit probablement une réactivité croisée entre les allergènes.

1.2 Performances statistiques de ces tests

L'estimation de la **sensibilité** est bonne et l'estimation de la **spécificité** de ces tests est **très bonne** que ce soit par rapport aux extraits globaux ou la situation clinique des patients (Tableau 22). La **valeur prédictive positive** de ces différents tests sur notre population est **très élevée**, la valeur prédictive négative l'est un peu moins. La concordance est également bonne. Les différentes caractéristiques de ces tests sont donc satisfaisantes. Ces résultats sont similaires mais avec néanmoins des performances légèrement supérieures à celle d'une étude réalisée en 2006 avec des allergènes recombinants (technique maison) et non des allergènes natifs purifiés comme dans notre étude (153). Sur ces différents points nous pouvons également **valider l'utilisation de ces allergènes**.

En ce qui concerne le choix des seuils de positivité des différentes fractions allergéniques, les performances de ces tests sont similaires (légèrement meilleures) avec le seuil de 0,20 kU/l qu'avec le seuil de 0,35 kU/l. Néanmoins cette faible différence ne justifie pas forcément de changer les seuils de positivités auxquels sont habitués les praticiens.

Tableau 22 : validation des fractions allergéniques moléculaires

<i>validation des fractions allergéniques moléculaires</i>	
très bonne corrélation	par rapport aux TC
	par rapport aux EG
	au sein d'une même famille
bonnes caractéristiques statistiques quel que soit le seuil de positivité	sensibilité
	spécificité
	VPP
	VPN
probable surestimation	par rapport aux EG

TC: tests cutanés VPP: valeur prédictive positive
EG: extraits globaux VPN: valeur prédictive négative

1.3 Analyse quantitative

Une surestimation des fractions allergéniques se retrouve dans l'ensemble du groupe positif puisque les IgE spécifiques sont deux à trois fois supérieures aux extraits globaux. Cela signifie qu'il y a **probablement une surestimation de la valeur des allergènes moléculaires par rapport aux extraits globaux** (Tableau 22). En cas de valeurs limites d'IgE spécifiques anti-extraits globaux, si les fractions allergéniques moléculaires sont surestimées, il y a un risque d'avoir des faux positifs. Par exemple, deux patients du groupe contrôle sont positifs en ce qui concerne les allergènes moléculaires nDer f 1 et nDer p 1 mais négatifs (ou limite selon le choix du seuil de positivité) en ce qui concerne les extraits globaux. Cela pose le problème d'une éventuelle surestimation du dosage des IgE des allergènes moléculaires par rapport aux IgE des extraits globaux.

Pour conclure, nous pouvons **valider ces allergènes moléculaires** sur différents points (Tableau 22). Les plus importants semblent être **la très bonne corrélation** observée sur notre population **par rapport aux extraits globaux**, les **bonnes performances statistiques** de ces tests, même si leurs **surestimations** par rapport aux extraits globaux impose d'être **prudent** en ce qui concerne l'interprétation des positivités **pour les valeurs faibles**.

2. Elaboration de stratégies diagnostiques et cliniques de ces tests

2.1 Distinction entre D1 et D2

Nous avons montré dans cette étude une excellente corrélation, proche de 1, entre les allergènes d'une même famille moléculaire. De plus aucun cas de type faux D1 positif ou faux D2 positif n'a été observé. Tout patient positif à nDer p 1 le sera à nDer f 1 et il en est de même pour la famille 2. Nous avons également montré que d'un point de vue quantitatif, que les allergènes d'une même famille moléculaire avaient la même valeur.

Ces deux données signifient que ces allergènes croisent totalement et donc **ne permettent pas de faire la distinction entre une allergie à *Dermatophagoïdes pteronyssinus* ou *Dermatophagoïdes farinae***. Ces allergènes moléculaires ne peuvent donc être utilisés comme élément de diagnostic d'une allergie exclusive à D1 ou D2.

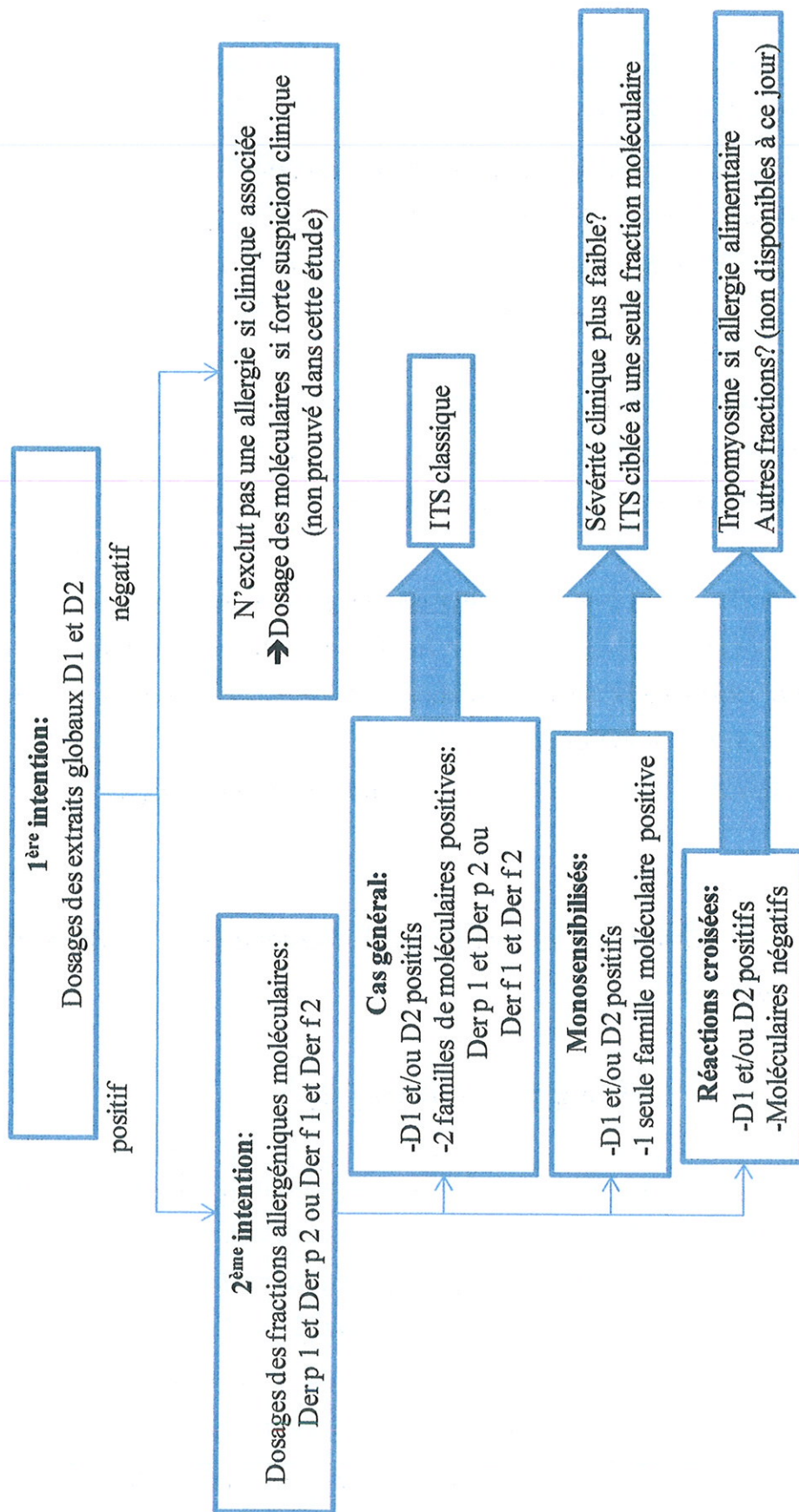


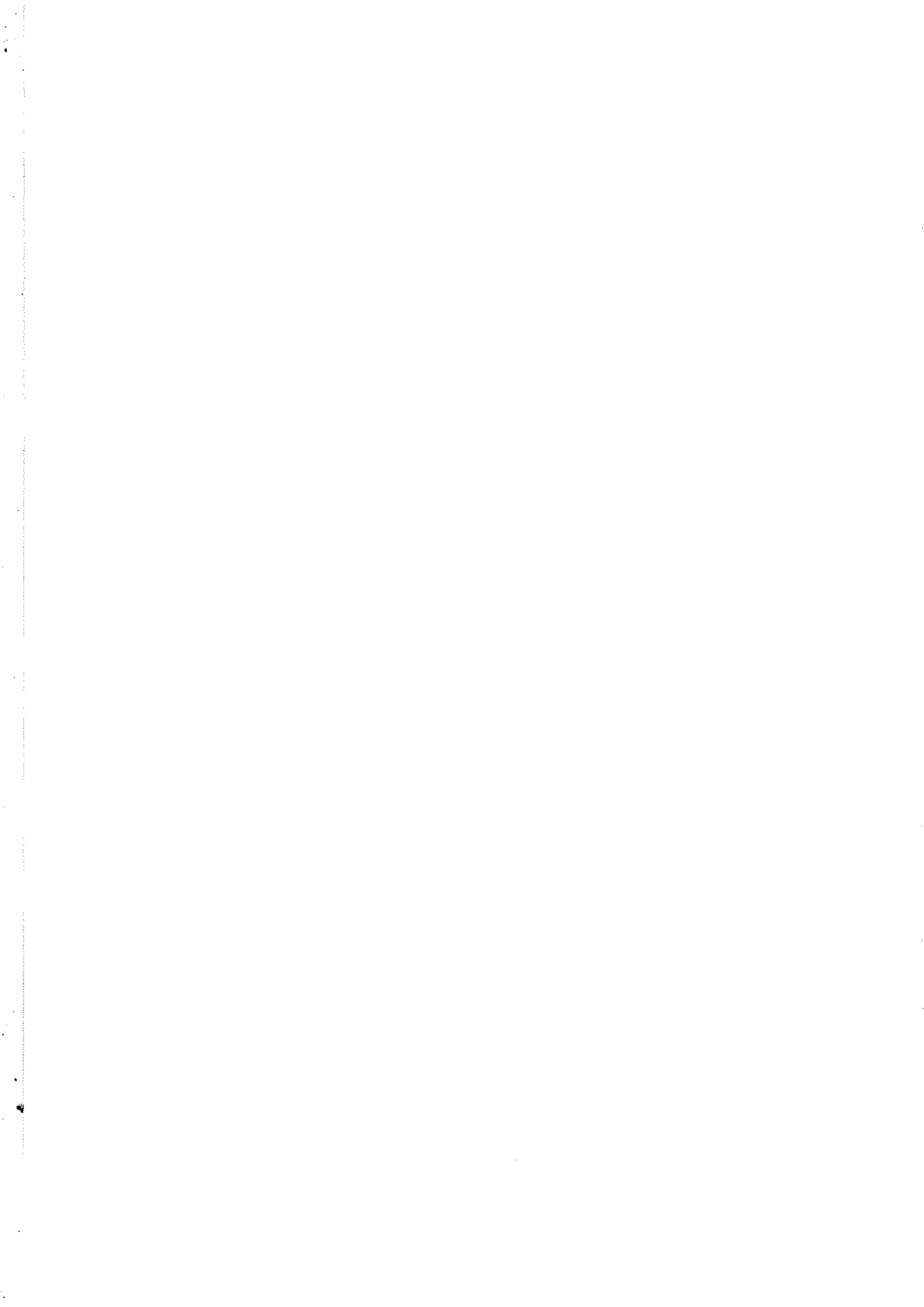
Figure 18 : stratégies diagnostiques et thérapeutiques dans l'allergie aux acariens

2.2 Choix des fractions allergéniques à doser en pratique quotidienne

Les allergènes moléculaires nDer p 1 et nDer f 1 sont des cystéines protéases : ils sont donc de la même famille protéique. De même, nDer p 2 et nDer f 2 appartiennent à la même famille protéique : ce sont des « epididymal protein like ». En revanche nDer p 1 et nDer p 2 sont des allergènes de famille protéique différente mais de même famille « allergénique » c'est-à-dire correspondant au même extrait global (*Dermatophagoïdes pteronyssinus*), tout comme nDer f 1 et nDer f 2 (*Dermatophagoïdes farinae*).

Nous avons montré par l'étude des corrélations que les allergènes moléculaires d'une même famille croisaient totalement entre eux, puisque la corrélation est proche de 1 (IV.D.2.1 Distinction entre D1 et D2 page 88). Contrairement à ce que nous attendions, la corrélation entre allergènes du même extrait global est inférieure à la corrélation entre allergènes de la même famille protéique (mais d'extraits globaux différents) qui est excellente (Tableau 17). Les IgE spécifiques dosées dans les deux cas (nDer f 1 et nDer p 1 d'une part et nDer f 2 et nDer p 2 d'autre part) sont donc les mêmes. Le dosage quantitatif identique, entre allergènes d'une même famille protéique, le prouve également. L'hypothèse la plus probable qui peut être envisagée est que les protéines d'une même famille ont des épitopes communs qui croisent totalement. Cela signifie qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser les quatre fractions allergéniques, mais qu'**une seule de chaque famille suffit**, c'est-à-dire de la famille 1 (nDer p 1 ou nDer f 1) et de la famille 2 (nDer p 2 ou nDer f 2) suffit (Figure 18). Nous avons par ailleurs démontré que l'on pouvait indifféremment choisir un allergène moléculaire de chaque famille moléculaire.

Par l'étude des sensibilités, nous avons également montré qu'il y avait un intérêt à doser une fraction allergénique de la famille 1 en association avec une fraction allergénique de la famille 2. Cette association permet d'obtenir un gain de sensibilité non négligeable, peu importe les fractions choisies. Cet élément rejoint les résultats de l'étude de Pittner et al. qui a montré que plus de 90% des patients allergiques aux acariens seraient diagnostiqués en utilisant les fractions allergéniques nDer p 1 et nDer p 2.



2.3 Détermination des spectrotypes : identification des patients monosensibilisés

La réalisation de dosages d'IgE spécifiques dirigées contre les allergènes moléculaires en deuxième intention lorsque les extraits globaux sont positifs pourrait permettre d'identifier les différents spectrotypes et en particulier le profil de patients monosensibilisés à une seule famille protéique (famille 1 : nDer f 1 et nDer p 1 + mais nDer f 2 et nDer p 2 -, ou famille 2 : nDer f 2 et nDer p 2 + mais nDer f 1 et nDer p 1 -) (Figure 18). Nous avons mis en évidence dans cette étude, des patients monosensibilisés (23% des positifs) aux allergènes des familles 1 ou 2.

L'intérêt de l'identification de ces patients est double. D'une part il a été décrit que les patients monosensibilisés ont une sévérité clinique moins importante que les patients polysensibilisés (8,63,65). Nous n'avons pas pu vérifier cette donnée car nous manquions de renseignements cliniques, mais ce point serait intéressant à vérifier dans une étude future.

D'autre part, l'ITS telle qu'elle est réalisée actuellement (c'est-à-dire avec des extraits globaux) risquerait de sensibiliser ces patients à des fractions auxquelles ils n'étaient pas sensibilisés auparavant (37,38,63). Ces patients sont des candidats potentiels à une désensibilisation ciblée par la famille d'allergènes auxquels ils sont sensibilisés. Le suivi de l'efficacité de cette désensibilisation pourrait être réalisée par la réalisation du dosage des IgE spécifiques de la fraction allergénique utilisée pour l'ITS et du dosage des IgG4 correspondantes.

3. Réactions croisées

La tropomyosine est considérée comme un panallergène chez les invertébrés (154,155). La tropomyosine joue un rôle important dans l'allergie alimentaire aux crustacés, mais elle serait plutôt considérée comme un allergène mineur dans l'allergie respiratoire aux acariens (156). La tropomyosine pourrait donc avoir un intérêt dans l'identification de réactions croisées dans l'allergie aux acariens.

Dans le cas de discordances entre le dosage des IgE des extraits globaux et des IgE des allergènes moléculaires majeurs, le dosage de la tropomyosine de crevette (nPen a 1) a été réalisé. Dans 5 cas, au moins un des deux extraits globaux étaient positifs alors que les allergènes moléculaires étaient négatifs. C'est dans ce cas que théoriquement la tropomyosine aurait le plus d'intérêt. Elle n'était positive que pour le cas 29, mais c'est le seul de ces 5 patients à présenter également des signes d'allergie alimentaire (dermatite atopique).



Cette positivité permet d'expliquer la présence d'extraits globaux positifs mais sans fractions allergéniques majeures positives. En effet les extraits globaux des acariens contiennent de la tropomyosine d'acarien (Der p 10 pour D1 et Der f 10 pour D2) qui peut croiser avec la tropomyosine de crevette (Pen a 1). Au vu de ces résultats, la tropomyosine semble intéressante pour tenter d'élucider les réactions croisées mais elle ne permet que d'en expliquer une faible part (un cas sur 5). Cependant elle garde son intérêt en cas d'allergie alimentaire associée (Figure 18). Pour les 4 autres cas il aurait pu être intéressant de tester d'autres fractions allergéniques des acariens précédemment décrites dans ce mémoire mais non commercialisées à ce jour.

Tableau 23: corrélation entre les tests cutanés et les IgE spécifiques

	<i>Coefficient de corrélation de Spearman</i>
TC E1/TC E5	0,35
TC E1/E1	0,35
TC E5/E5	0,29
TC E5/E2	NS
TC E1/nFel d 1	0,3
TC E1/nFel d 2	NS
TC E5/nCan f 1	NS
TC E5/nCan f 3	NS

NS : corrélation non significative ($p > 0,05$)

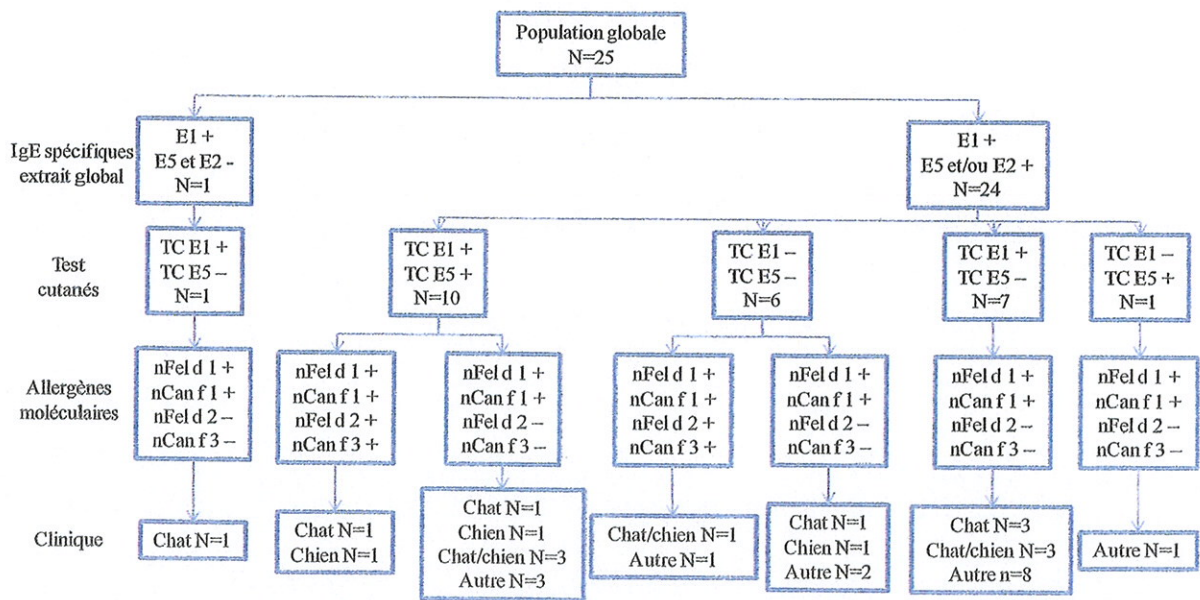


Figure 19: arborescence population chat-chien

E1 : extrait global du chat, E2, E5 : extraits globaux du chien, TC : test cutané,

Chat : allergie au chat, Chien : allergie au chien, Autre : autres pneumallergènes (non mammifères)

Seuil de positivité des IgE spécifiques > 0,35 kU/l

E. Résultat de la population chat et chien

1. Validation des allergènes moléculaires

1.1 Test de corrélation

(1) Tests cutanés et extraits globaux

En ce qui concerne le chat, la corrélation (Tableau 23) entre les tests cutanés (TC E1) et les extraits globaux (E1) est significative mais moyenne voire faible (coefficient de corrélation de Spearman $\rho=0.35$). Pour le chien, la corrélation est faible entre TC E5 et E5 ($\rho=0.29$). Il n'y a pas de corrélation entre TC E5 et E2.

(2) Tests cutanés et allergènes moléculaires

La corrélation entre les allergènes moléculaires et les tests cutanés est faible pour le chat (TC E1/nFel d 1 : $\rho=0.30$) et du même ordre de grandeur que pour l'extrait global (TCE1/E1) (Tableau 23). Il n'y a pas de corrélation pour le chien entre TC E5/nCan f 1. La corrélation entre les tests cutanés et l'albumine (TC E1/nFel d 2 et TC E5/nCan f 3) est également non significative.

(3) Evaluation des tests cutanés

Au vu des corrélations très basses entre les tests cutanés et les IgE spécifiques des extraits globaux et des allergènes moléculaires, nous avons étudié la relation entre les tests cutanés et la situation clinique des patients.

Lorsque les tests cutanés sont positifs pour le chat et le chien ($n=10/25$ soit 40%), les patients sont allergiques au chat (2/10), au chien (2/10), au chat et au chien (3/10) ou à d'autres pneumallergènes que les mammifères ($n=3$) (Figure 19). Lorsque les tests cutanés sont positifs pour le chat uniquement ($n=8/25$ soit 32%), les patients sont allergiques au chat ($n=4$), au chat et au chien ($n=3$) ou à d'autres pneumallergènes que les mammifères ($n=1$). Pour un seul patient sur 25 (soit 4%), les tests cutanés sont positifs pour le chien uniquement, ce patient est allergique au chat. Enfin lorsque les deux tests cutanés sont négatifs ($n=6/25$), les patients sont allergiques au chat ($n=1$), au chien ($n=1$), au chat et au chien ($n=1$) ou à

Tableau 24: corrélation entre extraits globaux et allergènes moléculaires

	<i>Coefficient de corrélation de Pearson</i>
E1/E2	0,42
E1/E5	0,31
E2/E5	0,61
E1/nFel d 1	0,98
E1/nfel d 2	NS
E5/nCan f 1	0,93
E2/nCan f 1	0,52
E5/nCan f 3	NS
E2/nCan f 3	NS
nFel d 1/nFel d 2	NS
nCan f 1/nCan f 3	NS
nCan f 1/nFel d 1	NS
nFel d 2/nCan f 3	0.85
nFel d 1/nCan f 3	NS
nFel d 2/nCan f 1	NS

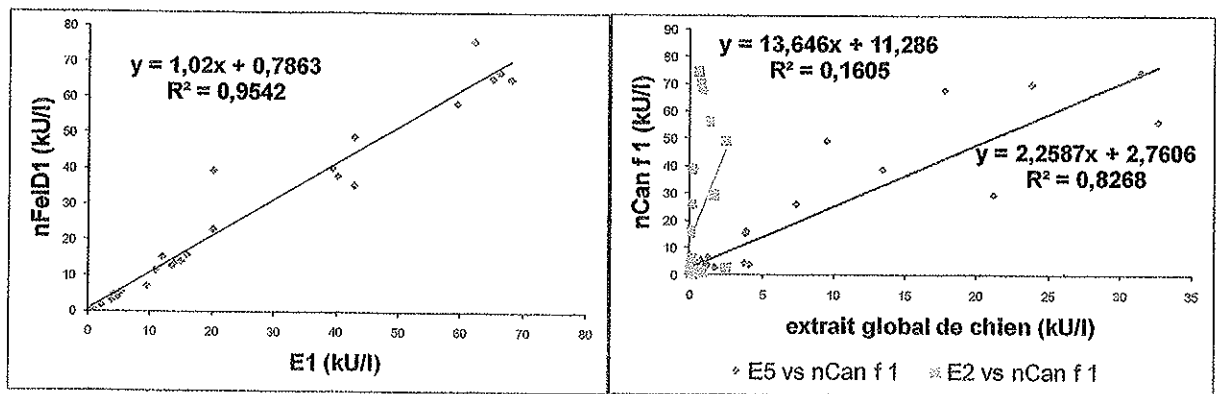


Figure 20: droite de régression entre extrait global et allergène moléculaire

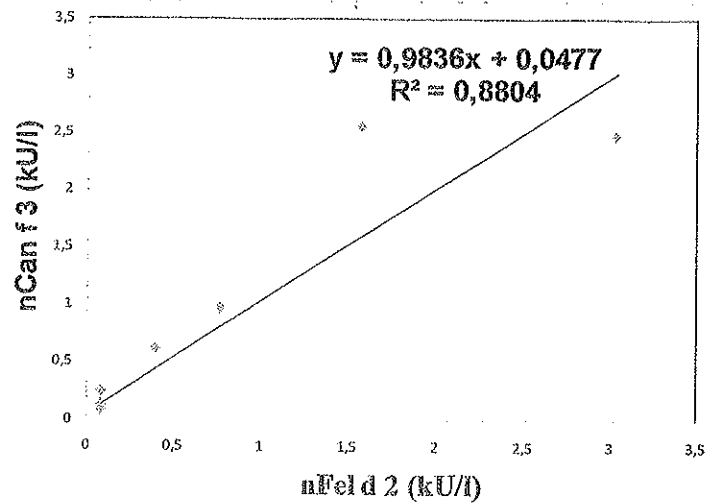


Figure 21: droite de régression entre les deux albumines

d'autres pneumallergènes que les mammifères (n=3). Tous les cas de figures sont donc possibles quelque soit la positivité des deux tests cutanés.

(4) Extraits globaux et allergènes moléculaires

La corrélation entre les deux extraits globaux de chien (squames : E5 et épithélium : E2) est significative et moyenne voire bonne ($\rho=0.61$) (Tableau 24). La corrélation entre les extraits globaux du chien (E2 ou E5) et du chat (E1) est moyenne voire faible: $0.3 < \rho < 0.4$. En revanche, la corrélation entre l'extrait global de chat (E1) et l'allergène majeur du chat (nFel d 1) est excellente et significative ($\rho=0.98$) (Tableau 24). En ce qui concerne le chien, la corrélation est excellente entre un des deux extraits globaux (E5) et l'allergène majeur du chien nCan f 1 ($\rho=0,93$) mais pas entre l'autre extrait global (E2) et nCan f 1 ($\rho=0,52$). Nous obtenons des résultats similaires avec les coefficients de régression (Figure 20)

Il n'y a pas de corrélation entre l'extrait global et l'albumine, qui est un allergène mineur du chat et du chien (c'est-à-dire E1/nFel d 2, E2/nCan f 3 et E5/nCan f 3) (Tableau 24).

(5) Allergènes moléculaires entre eux

Il n'y a pas de corrélation significative entre les allergènes majeurs et mineurs, c'est-à-dire nFel d 1/nFel d 2, nCan f 1/nCan f 3, nFel d 1/nCan f 3 et nCan f 1/nFel d 2 (Tableau 24). Il n'y a pas non plus de corrélation significative entre les deux allergènes majeurs nFel d 1 et nCan f 1. Seule la corrélation entre les deux albumines (nFel d 2/nCan f 3) est très bonne et significative ($\rho=0.85$). Ces résultats sont confirmés par le coefficient de régression (Figure 21).

1.2 Caractéristiques statistiques des tests et comparaison des positivités

Dans cette étude, il n'est pas possible d'estimer la sensibilité, la spécificité ainsi que les VPP et les VPN car nous n'avons pas de population témoin. Mais l'étude de la concordance permet d'en avoir une approche indirecte.

Lorsque E1 est positif, nFel d 1 est également positif dans 25 cas sur 25 (soit 100%) (Figure 19). De même, lorsque E2 ou E5 est positif, nCan f 1 est également positif dans 24 cas sur 24 (soit 100%). Cependant lorsque E2 et E5 sont négatifs, nCan f 1 est faussement positif, sans clinique associée, dans un cas sur 25 (soit 4%). La concordance pour ces deux

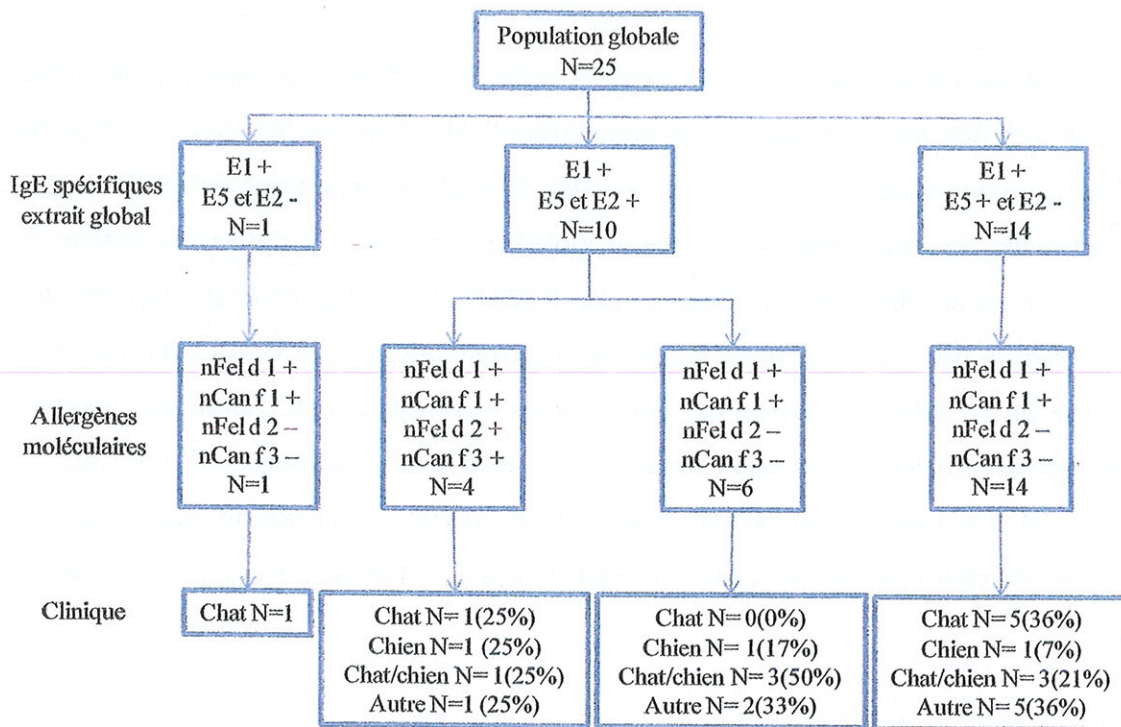


Figure 22: répartition des spectrotypes en fonction des résultats de la positivité des extraits globaux

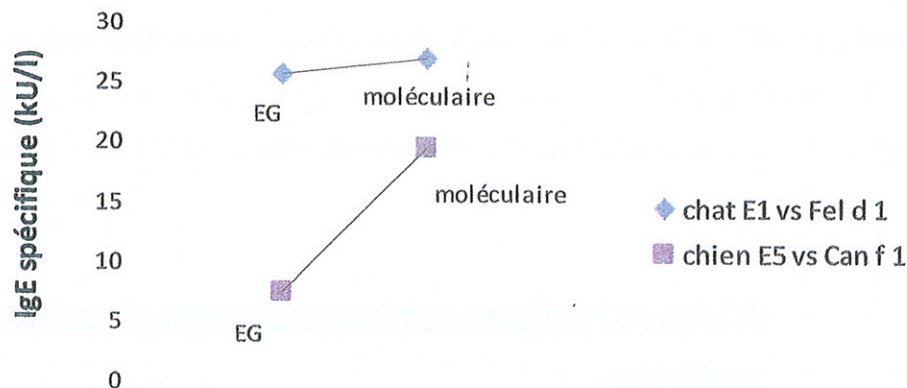


Figure 23: comparaison quantitative entre les IgE spécifiques anti-extrait global et anti-allergène moléculaire

fractions allergéniques peut donc être évaluée à 100% pour le couple E1-nFel d 1 et 96% pour le couple E2/E5-nCan f 1.

Quand nous analysons les positivités des extraits globaux du chien, on s'aperçoit que deux types de profils existent : soit E5 et E2 sont positifs, soit seulement E5 est positif et E2 est négatif. Au sein de ces groupes, différents profils cliniques sont possibles.

Si ensuite, nous confrontons les extraits globaux aux fractions allergéniques, lorsque E2 est négatif, l'albumine nCan f 3 est positive dans 0 cas sur 15 et les quatre types de situations cliniques sont rencontrés (allergie au chat et/ou au chien, allergie à un autre pneumallergène) (Figure 22). En revanche, lorsque E2 est positif, l'albumine est positive dans 40% (4/10) des cas et là encore les quatre profils sont observés dans les mêmes proportions. Pour les 6 autres patients, ils sont soit allergiques au chien, soit allergiques au chat et au chien, soit allergiques à un autre pneumallergène.

1.3 Analyse quantitative

Nous avons comparé quantitativement les dosages sériques des IgE spécifiques des extraits globaux par rapport aux fractions moléculaires. En moyenne, l'allergène moléculaire nCan f 1 est trois fois plus élevé que l'extrait global E5 (19.35 vs 7.34, $p < 0.001$) (Figure 23). En revanche, il n'y a pas de différence significative entre le taux d'IgE spécifiques anti-nFel d 1 et le taux d'IgE spécifiques anti-E1 (27.73 vs 26.36, $p = 0,55$). La différence est limite de significativité entre le taux d'IgE spécifiques anti-nFel d 1 et le taux d'IgE spécifiques anti-nCan f 1 (27.73 vs 19.35, $p = 0,07$).

2. Intérêts cliniques

2.1 Distinction entre sensibilisation et allergie

Le terme de sensibilisation est utilisée pour désigner la présence d'IgE à la surface du polynucléaire basophile et du mastocyte, ce qui peut être mis en évidence par les dosages d'IgE spécifiques ou de tests cutanés. En revanche, le terme d'allergie est employé lorsque des manifestations cliniques sont observées.

Dans cette population, 28% (7/25) des patients sont allergiques au chat uniquement (Figure 24). Tous ces patients sont positifs en extrait global E1. Ils sont également positifs en allergène majeur nFel d 1 dans tous les cas. Un patient sur 7 est positif en albumine nFel d 2.

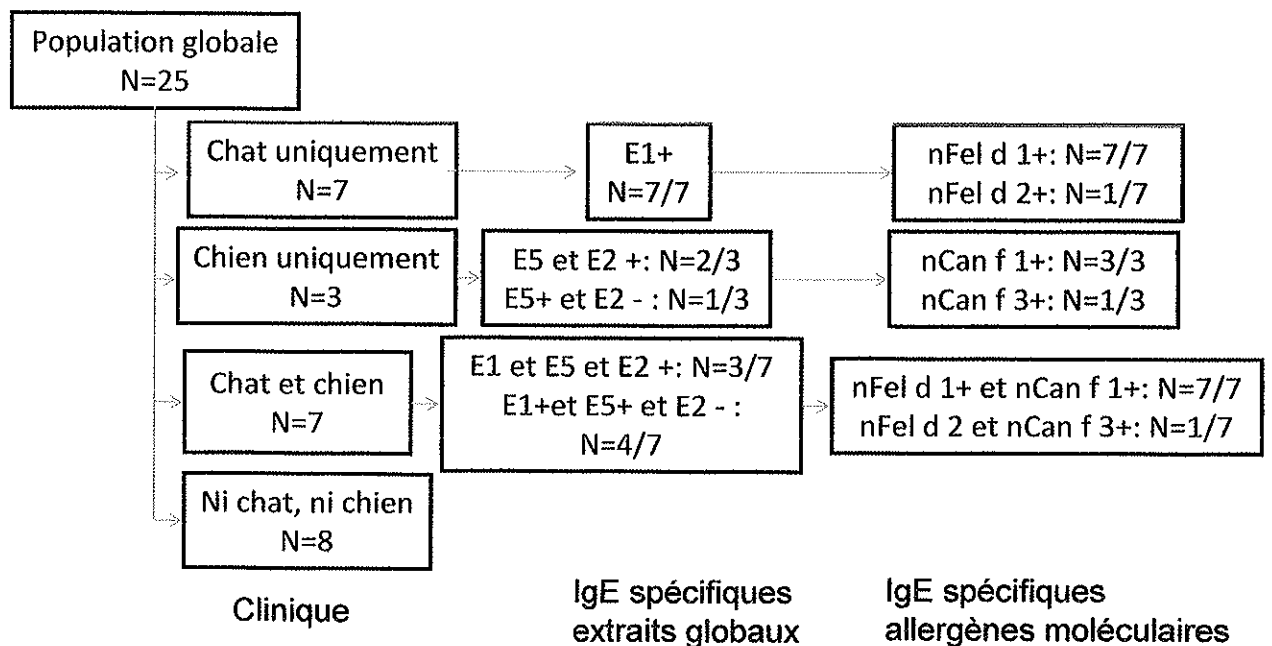


Figure 24: positivité des IgE spécifiques en fonction de la clinique

Chat : allergie au chat, chien : allergie au chien

Tableau 25 : cas particuliers

	cas	clinique	De1/ HIST	E1	nFel d 1	nFel d 2	De5/ HIST	E5	E2	nCan f 1	nCan f 3
réactions croisées	2		0,0	2,1	1,83	1,57	0,2	9,51	2,52	49,2	2,56
	20	chien	0,8	42,9	35,6	3,03	0,8	1,74	2,56	2,74	2,48
	23	chat	0,5	62,2	75,9	0,759	0,8	0,83	0,93	1,22	0,968
	25		0,3	66,2	67,3	0,387	0,0	17,8	0,91	67,9	0,612
faux + nCan f 1	14	chat	0,7	16	15,9	0,08	0,0	0,34	0,31	0,44	0,24

En gras : les valeurs supérieures au seuil de positivité (0.35 kU/l)

E1/hist : ratio entre le test cutané avec l'extrait global E1 et le témoin positif (histamine)

E5/hist : ratio entre le test cutané avec l'extrait global E1 et le témoin positif (histamine)

De même, 12% (3/25) des patients sont allergiques au chien uniquement : tous sont positifs avec au moins un des deux extraits globaux du chien. Tous sont positifs également avec la fraction allergénique majeure nCan f 1. Un patient sur trois est positif avec l'albumine nCan f 3.

28% (7/25) sont allergiques à la fois au chat et au chien : tous sont positifs avec les extraits globaux E1 et E5. Ils sont également tous positifs avec les deux fractions majeurs nFel d 1 et nCan f 1. Un patient sur 7 est positif avec l'albumine.

2.2 Les différents spectrotypes

(1) Cas général

Chez les 24 patients (96%) qui ont des IgE spécifiques positives dirigées contre l'extrait global de chat et au moins un des deux extraits globaux de chien, deux spectrotypes sont observés. Le cas général correspond à un profil de patient monosensibilisé : seuls les allergènes majeurs sont positifs (n=20) (Figure 25). Pour 4 patients, toutes les fractions allergéniques sont positives, c'est-à-dire les allergènes majeurs et l'albumine : cela correspond à un profil de patients multisensibilisés.

Pour les patients monosensibilisés, 30% sont allergiques au chat et au chien, 25% de ces patients sont allergiques au chat uniquement, 10% sont allergiques au chien uniquement et 35% ne sont allergiques à aucun mammifère (cf Annexe IV).

(2) Patients multisensibilisés

Les 4 autres patients ont des IgE spécifiques dirigées contre les trois extraits globaux et sont positifs vis-à-vis des allergènes majeurs du chat et du chien, mais aussi des deux albumines (Figure 22 et Figure 25). C'est-à-dire qu'ils sont positifs pour les 7 dosages d'IgE spécifiques sur 7. Un patient sur 4 est allergique au chat uniquement avec les deux tests cutanés positifs (Figure 25). Un patient sur 4 est allergique au chien uniquement avec les deux tests cutanés positifs. Un patient sur 4 est allergique au chat et au chien avec aucun des deux tests cutanés positifs. Et enfin un patient sur 4 n'est allergique à aucun mammifère et n'a pas de tests cutanés positifs.

Si nous comparons les moyennes des IgE spécifiques des fractions moléculaires majeures entre le groupe albumine positif (polysensibilisés) et le groupe albumine négatif

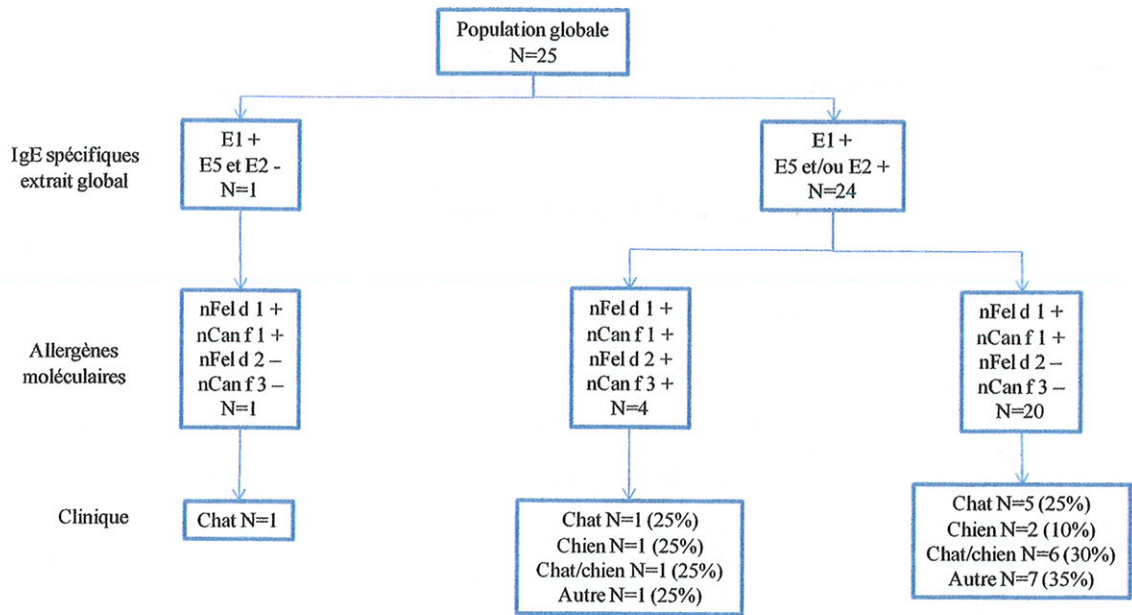


Figure 25: les différents spectrotypes de la population chat-chien

Chat : allergie au chat, chien : allergie au chien, autre : autres pneumallergènes

(monosensibilisés), nFel d 1 est plus élevé dans le groupe albumine positif (45,16 vs 24,4) et il en est de même pour nCan f 1 (30,26 vs 17,27).

De plus dans leur spectrotype individuel, les patients multisensibilisés ont des taux d'IgE spécifiques dirigées contre les fractions allergéniques majeures très élevés (>35 kU/l) par rapport aux albumines. Dans un cas (cas 25), nCan f 1 et nFel d 1 sont du même ordre de grandeur et largement supérieurs à l'albumine. Dans les trois autres cas, un des deux allergènes majeurs (nCan f 1 pour le cas 2 et nFel d 1 pour les cas 20 et 23) est largement supérieur à l'autre allergène majeur et à l'albumine (Tableau 25).

(3) Faux positif de nCan f 1

Un patient (cas n°1) est positif avec l'extrait global du chat mais négatif avec les deux extraits globaux de chien (Figure 25). Ce patient a des IgE spécifiques dirigées contre les allergènes majeurs du chat (nFel d 1) et du chien (nCan f1), mais pas contre les deux albumines. Seul le test cutané du chat est positif (Figure 19). Il présente des signes cliniques d'allergie au chat (toux et asthme intermittent) mais pas d'allergie au chien. Il s'agit donc d'un faux positif de nCan f 1.

3. Identification de réactions croisées

3.1 Distinction entre l'allergie au chat et au chien par nFel d 1 et nCan f 1

Tous les patients (25/25) sont positifs en IgE spécifiques anti-nFel d 1 et anti-nCan f 1, dont 28% (7/25) sont allergiques au chat uniquement, 12% (3/25) sont allergiques au chien uniquement, 28% (7/25) sont allergiques au chat et au chien et 32% sont allergiques à d'autre pneumallergènes que des mammifères.

Nous avons cherché à évaluer si la prédominance d'une fraction moléculaire par rapport à une autre permettait de savoir si le patient est allergique au chat, au chien, au chat et au chien ou à un autre pneumallergène.

Quand une des deux fractions allergéniques majeures est plus de deux fois supérieure à l'autre fraction allergénique majeure, toutes les situations cliniques sont rencontrées. Lorsque c'est la fraction nCan f 1 qui prédomine (4 patients sur 25 soit 16%), les patients sont

allergiques au chat dans un cas sur 4, les autres patients (3 patients sur 4) étant allergiques à un autre pneumallergène que les mammifères.

De même lorsque nFel d 1 prédomine (13 patients sur 25 soit 52%), les patients sont allergiques au chat dans 46% des cas (6/13), au chien dans 8% (1/13), au chat et au chien dans 31% (4/13) et à un autre pneumallergène que les mammifères dans 15% des cas (2/13).

Lorsqu'aucune des deux fractions ne prédomine (8 patients sur 25 soit 32%), aucun patient n'est allergique au chat uniquement, un patient sur 8 est allergique au chien uniquement, 3 patients sur 8 sont allergiques au chat et au chien et deux patients sur 8 sont allergiques à d'autres pneumallergènes.

3.2 Distinction entre l'allergie au chat et au chien par l'albumine

L'albumine est positive dans seulement 4 cas sur 25 (soit 16%) (Tableau 25). Lorsque l'albumine de chat est positive, l'albumine de chien l'est également et inversement. Chez les patients positifs en albumine, les deux allergènes majeurs le sont également. Les tests cutanés sont négatifs chez deux patients sur 4 (50%) : un patient est allergique au chat et au chien, l'autre patient est allergique à un autre pneumallergène (Figure 19 et Tableau 25). Pour les deux patients ayant des tests cutanés positifs, l'un est allergique au chien et l'autre au chat.

Pour ces 4 patients, la différence entre le taux d'IgE spécifiques anti-nFel d 2 et d'anti-nCan f 3 n'est pas significative ($p=0,3$). Il en est de même dans la population globale ($p=0,10$).

F. Discussion sur la population chat et chien

1. Validation des allergènes moléculaires

1.1 Corrélation

(1) Par rapport aux tests cutanés

Nos résultats retrouvent une corrélation moyenne à faible entre les tests cutanés et le dosage des IgE spécifiques concernées, avec une performance néanmoins légèrement supérieur pour le chat (Tableau 23). Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés par Chinoy et al. Ils ont montrés dans leur étude une corrélation moyenne entre les tests cutanés E1 et les IgE spécifiques (Phadia®) dirigées contre l'épithélium de chat E1, et une faible corrélation entre les tests cutanés E5 et les IgE spécifiques dirigées contre les squames de chien E5 (150). Schuetze et al. n'ont montré aucune corrélation que ce soit pour le chien ou pour le chat entre les tests cutanés et le dosage des IgE spécifiques concernées (152).

Nos résultats retrouvent également une faible corrélation voire une absence de corrélation entre les résultats des tests cutanés et le dosage des fractions allergéniques moléculaires. Nous n'avons pas pu comparer ces données avec la littérature car nous n'avons trouvé aucun article sur le sujet, probablement du fait de la commercialisation très récente de ces fractions allergéniques.

Ce ne sont donc pas des éléments en faveur de la validation de ces allergènes moléculaires, mais elle ne l'exclut pas non plus, d'autant plus que les performances de ces allergènes moléculaires sont proches de celles des extraits globaux et surtout que les tests cutanés sont eux-mêmes très mal corrélés à la situation clinique.

(2) Extraits globaux et allergènes moléculaires

Notre étude montre une excellente corrélation entre les IgE spécifiques dirigées contre l'extrait global E1 et nFel d 1 (Tableau 24). Grönlund et al. ont montré des résultats plus faibles dans leur étude réalisée sur une population de patients allergiques au chat : la corrélation était seulement bonne entre le dosage des IgE spécifiques de l'extrait global et rFel d 1 (produit dans *E. coli*, technique maison) (157). Cette légère différence peut s'expliquer par la différence de technique utilisée pour le dosage des IgE spécifiques : la technique Siemens® semble avoir une performance supérieure à leur technique.

Notre étude montre également que nCan f 1 est très bien corrélé à E5, mais pas à E2. E2 correspond à un extrait global d'épithélium de chien. E5 est un extrait global de squames, c'est-à-dire qu'il contient à la fois de l'épithélium et des phanères. Il contient donc une plus grande quantité d'allergène nCan f 1 que l'extrait global E2, ce qui explique la nettement meilleure corrélation de nCan f 1 avec E5 (132).

La très forte corrélation des extraits globaux avec respectivement nFel d 1 et nCan f 1 est un résultat logique car ces deux allergènes sont des allergènes majeurs. Ils sont connus pour avoir des taux de sensibilisation très importants chez l'allergique au chat (80% pour le nFel d 1) et au chien (environ 80% pour nCan f 1) (12,88-91). Ils jouent un rôle prépondérant dans ces deux allergies. Sur ce point nous pouvons donc **valider l'utilisation de ces allergènes moléculaires** par rapport aux extraits globaux.

A l'inverse, il n'y a pas de corrélation entre les deux extraits globaux et les albumines. Là encore ce résultat n'est pas surprenant car l'albumine est un allergène mineur dans l'allergie au chat ou au chien avec une prévalence de sensibilisation inférieure à 35% dans les différentes études de la littérature (117,11).

(3) Allergènes moléculaires entre eux

Il n'y a pas de corrélation entre les deux allergènes majeurs (nCan f 1 et nFel d 1). Ce résultat semble logique puisque ces deux allergènes n'appartiennent pas à la même famille moléculaire. nCan f 1 est une lipocaline et nFel d 1 est une utéroglobine.

La corrélation entre les IgE spécifiques dirigées contre les deux albumines est excellente. Ce résultat était attendu puisqu'il s'agit d'allergènes appartenant à la même famille moléculaire, connues pour leur homologie (cf III.C.2.3 L'albumine page 78).

Il n'y a pas non plus de corrélation entre les allergènes majeurs et l'albumine (nCan f 1/nCan f 3, nCan f 1/nFel d 2, nFel d 1/nFel d 2, nFel d 1/nCan f 3). Ce résultat était attendu puisque d'une part ces allergènes appartiennent à des familles moléculaires différentes, et que d'autre part certains sont des allergènes majeurs (nCan f 1 et nFel d 1) et d'autres sont des allergènes mineurs (nCan f 3 et nFel d 2).

La corrélation entre allergènes de même famille moléculaire, et l'absence de corrélation entre les autres allergènes est un élément en faveur de la validation de ces fractions allergéniques.

1.2 Estimation de la concordance et comparaison des positivités

Dans notre étude, la concordance est excellente pour le couple E1-nFel d 1 et très bonne pour le couple E2/E5-nCan f 1. Sur la population étudiée tous les patients ayant des IgE spécifiques positives pour l'extrait global E1 avaient aussi des IgE spécifiques positives pour l'allergène moléculaire nFel d1. En ce qui concerne le chien, tous les patients ayant des IgE spécifiques positifs pour l'extrait global E5 et/ou E2 avaient aussi des IgE spécifiques positifs pour l'allergène moléculaire nCan f1. Ces résultats reflètent une bonne sensibilité et spécificité de ces deux fractions par rapport aux extraits globaux. Ces résultats sont similaires à ceux d'une étude réalisée chez des patients ayant des IgE spécifiques de l'épithélium de chat positives (nFel d 1, technique maison) (11). **Du fait du rôle d'allergène majeur de Fel d 1 et de Can f 1 dans l'allergie au chat et au chien, cette excellente concordance nous permet de valider ces fractions allergéniques.**

1.3 Analyse quantitative

Notre étude met en évidence une surestimation de la fraction allergénique nCan f 1 par rapport à l'extrait global E5. Nous avons d'ailleurs un cas, où l'extrait global de chien est négatif (mais proche du seuil de positivité), avec des IgE spécifiques anti-nCan f 1 légèrement positives. Ce cas semble être un faux positif de nCan f 1 (patient allergique au chat). Cette donnée signifie qu'en cas d'extrait global E5 négatif mais proche du seuil de positivité, **l'allergène moléculaire nCan f 1 risque d'être surestimé** et donc de donner des **faux positifs** (Tableau 26). Cet élément est à prendre en compte dans l'interprétation des positivités pour les valeurs faibles.

En revanche dans notre étude nous montrons que le taux d'IgE spécifiques anti-nFel d 1 est équivalent à celui des IgE spécifiques anti-E1, contrairement à Grönlund et al., qui montrent un taux de rFel d 1 (produit dans *E. coli*, dosage des IgE spécifiques par une technique maison) augmenté de 30% par rapport à extrait global (157). Cette discordance peut être expliquée par la différence du mode de production de l'allergène moléculaire (naturel purifié dans notre étude et non recombinant) ainsi que par la différence de technique utilisée pour le dosage des IgE spécifiques.

Pour conclure nous pouvons **valider ces allergènes moléculaires** sur différents points : les plus importants nous semblent être, la **corrélation** excellente vis-à-vis des extraits globaux et l'**excellente concordance** des deux allergènes moléculaires majeurs avec les

extraits globaux correspondants, même si la **surestimation de nCan f 1** par rapport à l'extrait global E5 implique d'être prudent en ce qui concerne l'interprétation des positivités pour les valeurs faibles (Tableau 26).

2. Elaboration de stratégies diagnostiques et cliniques : identification des différents spectrotypes

2.1 Distinction entre sensibilisation et allergie

Nous avons montré que les fractions allergéniques majeures nFel d 1 et nCan f 1 sont positives aussi bien dans les cas de sensibilisation (c'est-à-dire par exemple, extrait global E1 positif chez un patient qui n'est pas allergique au chat) que dans les cas de réelle allergie (c'est-à-dire par exemple, extrait global E1 positif chez un patient allergique au chat). Ces tests **ne permettent donc pas de répondre à une question essentielle : est-ce une sensibilisation ou une allergie ?**

2.2 Identification des différents spectrotypes

La réalisation du dosage d'IgE spécifiques dirigées contre les allergènes moléculaires en deuxième intention lorsque les extraits globaux sont positifs permettraient d'identifier les différents spectrotypes, et en particulier ceux que nous avons mis en évidence dans cette étude : soit des patients monosensibilisés à nFel d 1 et nCan f 1, soit des patients sensibilisés aux quatre fractions allergéniques c'est-à-dire aux albumines en plus.

Il s'agit de patients polysensibilisés et non pas de patients sensibilisés de façon prédominante à l'albumine. En effet, nous montrons dans notre étude, que les taux en IgE spécifiques anti-allergènes moléculaires majeurs nCan f 1 et nFel d 1 sont supérieurs de manière significative à ceux des IgE spécifiques anti-albumine dans la population de patients positifs en IgE spécifiques anti-albumine. Ce résultat confirme ceux de van Ree et al., qui ont montrés dans leur étude que seulement 2% des allergies au chat étaient expliquées par une sensibilisation exclusive à l'albumine (11). Les patients de notre étude **sensibilisés à l'albumine** ont donc un **profil de patients polysensibilisés**.

L'intérêt d'identifier les différents spectrotypes est potentiellement double : identifier les patients qui ont le plus de risque d'avoir des manifestations cliniques sévères et ceux qui ont le plus de chance de pouvoir bénéficier d'une ITS adaptée.

Il a été ainsi décrit que les patients sensibilisés à l'albumine avaient des réactions plus sévères que les patients monosensibilisés (158). Nous n'avons pas pu vérifier cette donnée car nous manquions de renseignements cliniques mais il serait intéressant de vérifier ce point dans une étude future. Néanmoins dans notre étude, les patients sensibilisés à l'albumine avaient également des IgE spécifiques anti-nFel d 1 et/ou anti-nCan f 1 plus élevées que la population globale.

D'autre part les patients monosensibilisés à nFel d 1 (et nCan f 1) pourraient être des candidats à une ITS réalisée non pas avec des extraits globaux (comme c'est le cas actuellement), mais avec des fractions allergéniques moléculaires telles que Fel d 1. Un certain nombre de protocoles de ce type sont déjà en cours d'évaluation clinique.

Nous avons montré un élément intéressant concernant l'extrait global E2, bien qu'il apporte peu d'informations en ce qui concerne le diagnostic d'une allergie (car tout patient positif en extrait global E2 est déjà positif en extrait global E5). Si lorsque l'extrait global E2 est négatif, aucun patient n'est sensibilisé à l'albumine, lorsque l'extrait global E2 est positif, l'albumine l'est également dans 40% des cas. **E2 pourrait donc avoir un intérêt clinique pour distinguer les patients monosensibilisés des patients polysensibilisés.**

3. Identification des réactions croisées : distinction entre l'allergie au chat et au chien

3.1 Par les allergènes majeurs nFel d 1 et nCan f 1

Dans une situation clinique relativement fréquente, les tests cutanés du chat et du chien ainsi que les IgE spécifiques anti-extrait global de chat et de chien sont positifs en même temps. La question qui se pose alors est de savoir si le patient est allergique aux deux animaux ou seulement à un (l'interrogatoire ne permet pas toujours de trancher).

Dans notre étude tous les patients sont à la fois positifs en IgE spécifiques anti-nFel d 1 et anti-nCan f 1. Mais différentes situations cliniques sont observées : allergique au chat uniquement, au chien uniquement, au chat et au chien, ou à un autre pneumallergène. Cela signifie que ces deux fractions allergéniques croisent totalement. Elle témoigne seulement des réactions croisées. Ces fractions allergéniques ne permettent pas de faire la distinction entre une allergie au chat, au chien ou aux deux animaux. Dans l'étude de Spitzauer et al. portant sur une population de 109 patients allergique au chat et/ou au chien (histoire clinique, test cutanés et IgE spécifiques positifs), 60% des patients positifs à nFel d1 avaient des IgE

spécifiques qui reconnaissent aussi les allergènes majeurs du chien nCan f 1 et nCan f 2 (technique maison) (145). Les expériences d'inhibition d'immunoblot alors réalisées avaient mis en évidence des épitopes communs entre les trois allergènes. Ces constatations permettent de poser l'hypothèse d'une allergénicité croisée entre les allergènes majeurs du chat et du chien (145).

Ces résultats peuvent sembler contradictoires avec la faible corrélation que nous retrouvons dans notre étude entre nFel d 1 et nCan f 1. Cependant même si ces deux fractions sont toujours positives en même temps, les valeurs peuvent être très différentes au niveau quantitatif (par exemple, pour certains patients nFel d 1 peut être très augmenté par rapport à nCan f 1 et pour d'autres ce peut être l'inverse). Ceci explique l'absence de corrélation.

Nous avons également montré qu'il n'y avait pas de lien entre la fraction allergénique majeure la plus augmentée et la situation clinique du patient : toutes les situations (allergie au chat, au chien, au chat et au chien ou à un autre pneumallergène) sont rencontrés quelle que soit la fraction qui prédomine. Par exemple, ce n'est pas parce que les IgE spécifiques anti-nCan f 1 sont largement supérieures à celles dirigées contre nFel d 1, que le patient est allergique au chien.

3.2 Par l'albumine

Comme nous l'avons vu précédemment, l'albumine a été incriminée dans l'association entre l'allergie au chat et l'allergie au chien, notamment en raison de l'homologie de structures et de séquences entre les albumines de différentes espèces animales et de la présence d'épitopes communs (119,145). De plus, les extraits de poils et squames d'animaux (chat, chien, cheval, ...) contiennent de fortes concentrations en albumine pouvant être à l'origine de réactions croisées (145,137). Dans notre étude, tous les patients sensibilisés à l'albumine de chat l'étaient également avec l'albumine de chien et inversement. Cette donnée confirme **l'existence de réactions croisées très fréquentes entre les albumines de chat et de chien.**

Le problème là-encore, avec ces patients positifs en IgE spécifiques anti-albumine, est que toutes les situations cliniques (allergie au chat, au chien, au chat et au chien, ou à autre mammifère) peuvent être rencontrées. **L'intérêt clinique de la positivité en IgE spécifiques anti-albumine pour expliquer les réactions croisées entre l'allergie le chat et le chien est donc faible.** Car elle ne permet pas de répondre à la question : est-ce qu'un patient allergique au chat, positif à la fois pour les deux tests cutanés, les deux extraits globaux et en plus l'albumine, n'est pas allergique au chien (ou inversement)? La réponse est non : le plus souvent la positivité des IgE spécifiques anti-albumine n'exclut aucune situation.

Cependant, comme nous l'avons vu précédemment dans ce mémoire, dans certains cas, l'existence d'une réaction croisée ne peut pas être expliquée par l'albumine. Dans une étude réalisée en 2007, les auteurs ont mis en évidence dans les extraits de squames de chien, d'une fraction allergénique (appelée Fel d 1-like) croisant avec Fel d 1, l'allergène majeur du chat (118). L'existence d'une réaction croisée impliquant des lipocalines a également été proposée. Il pourrait donc être intéressant d'étudier ces possibles réactions croisées avec ces fractions allergéniques.

V. Conclusion

A. Acarien

Dans cette étude, nous avons montré que les fractions allergéniques natives purifiées Siemens® nDer f 1, nDer f 2, nDer p 1 et nDer p 2 pouvaient être validées par rapport aux extraits globaux. Premièrement parce que la corrélation est bonne voire très bonne par rapport aux tests cutanés et aux extraits globaux. Deuxièmement, parce que les caractéristiques statistiques de ces tests sont très bonnes. Cependant d'un point de vue quantitatif, ces allergènes semblent surestimés par rapport aux extraits globaux, ce qui implique d'en tenir compte dans l'interprétation.

Nous avons également pu montrer dans cette étude que les allergènes de même famille moléculaire croisaient totalement (de part l'excellente corrélation entre allergènes d'une même famille moléculaire), ce qui permet de ne doser qu'un seul allergène pour une même famille (nDer f 1 ou nDer p 1 d'une part, et nDer f 2 ou nDer p 2 d'autre part). Nous avons aussi montré qu'il était nécessaire de doser un allergène moléculaire de chaque famille protéique afin d'en augmenter la sensibilité.

En revanche, cela signifie également que ces allergènes ne peuvent pas être utilisés pour faire le diagnostic d'une allergie exclusive à *Dermatophagoïdes pteronyssinus* ou *Dermatophagoïdes farinae*. Ces tests peuvent être utilisés en deuxième intention (après les extraits globaux) afin de déterminer le spectrotype du patient : patients multisensibilisés ou patient monosensibilisés (sévérité clinique souvent plus faible mais non démontrée dans cette étude). Identifier les patients monosensibilisés permettrait également de sélectionner les patients chez qui une ITS conventionnelle (avec des extraits globaux) risquerait de les sensibiliser à de nouvelles fractions allergéniques. Chez ces patients il serait plus judicieux de leur proposer une ITS avec des allergènes moléculaires de la famille auxquels ils sont sensibilisés.

Enfin l'utilisation de la tropomyosine semble intéressante pour élucider certaines réactions croisées, notamment chez les patients présentant des allergies alimentaires. Néanmoins, elle ne permet que d'en expliquer une faible part. Pour les cas où la tropomyosine ne permet pas de trancher, le dosage d'autres fractions allergéniques pourrait également être intéressant mais elles ne sont pas commercialisées à ce jour.

B. Chat et chien

Dans cette étude nous avons montré que **les fractions allergéniques purifiées natives Siemens®** nFel d 1, nCan f 1, nFel d 2 et nCan f 3 pouvaient être **validées** par rapport aux extraits globaux car d'une part, la corrélation est excellente entre les allergènes majeurs et les extraits globaux et d'autre part, la concordance est excellente vis-à-vis des extraits globaux. Néanmoins il existe une légère surestimation de nCan f 1 par rapport à l'extrait global E5, dont il faut tenir compte dans l'interprétation.

L'intérêt clinique de ces tests est limité à ce jour car ils ne permettent **pas de faire la distinction entre une sensibilisation** (avec des IgE spécifiques positives) **et une véritable allergie** (se traduisant par des signes cliniques). De plus, **ils ne permettent pas non plus de distinguer une allergie au chat d'une allergie au chien** puisque l'allergène majeur du chat nFel d 1 et du chien nCan f 1 croisent. En revanche leur dosage peut être utile afin de **déterminer les spectrotypes** des patients et notamment les spectrotypes sensibilisés, potentiellement associés à une **sévérité clinique** plus importante comme les patients sensibilisés à l'albumine (non démontré dans cette étude). Cela permettrait également de sélectionner les patients chez qui une **ITS avec une fraction allergénique** serait à préférer à une ITS conventionnelle (c'est-à-dire avec des extraits globaux).

Enfin **l'intérêt de l'albumine pour élucider les réactions croisées semble limité**. Cependant l'albumine n'est pas le seul allergène à être impliqué dans des réactions croisées. Il serait donc envisageable de compléter cette étude par l'utilisation d'autres allergènes telles que Fel d 1-like et les lipocalines par exemples.

C. Perspectives

Les résultats de cette étude seraient intéressants à confirmer par une **étude prospective**. Une telle étude permettrait de **vérifier les réelles performances statistiques** de ces tests (sensibilité, spécificité, valeur prédictive négative, valeur prédictive positive et concordance). Elle permettrait également de répondre à la question essentielle à laquelle cette étude n'a pas répondu du fait de sa méthodologie (en tout cas pour les acariens) : s'agit-il d'une réelle **allergie** ou d'une simple **sensibilisation** sans impact clinique.

Compléter cette étude par une **comparaison avec les tests Phadia®** très récemment commercialisés, recombinant ou naturel purifiés selon les allergènes, serait également intéressant, tout comme l'évaluation de nouvelles fractions allergéniques, non encore

commercialisées à ce jour mais dont l'intérêt clinique semble réel (Fel d 1-like, protéine BASE, kallitréine prostatique).

ANNEXE I: caractéristiques de la population acarien

	N°	M/F	Age	Antécédents familiaux	Allergie acarien	Allergie autres pneumallergènes	ORL	BP	autre
population contrôlée	1	F	8	?	non			SA	DA
	2	F	6	oui	non		RC		
	3	M	4	oui	non		RS	SA	
	4	F	10	oui	non		RC	SA	
	5	M	4	oui	non		T C		DA
	6	F	9	oui	non	Graminée		A	DA
	7	M	5	non	non		RC	A	DA
	8	F	6	oui	non		TH		
	9	F	7	?	non	Graminée, alt	RC		
	10	F	9	?	non	Graminée	RC	SA	
	11	F	2	?	non			A	DA
	12	M	4	?	non			HRB	
	13	F	2	?	non	Chat	HRN	HRB	
	14	F	10	oui	non	Chat, graminée	RConj		AA
	15	M	2	oui	non	Chat		A	AA
	16	M	3	?	non	Graminée, chien	HRN	HRB	
	17	F	11	oui	non			SA	
	18	M	16	?	non	Graminée, chat	RS	SA	
	19	M	4	oui	non		CC	A	
	20	M	10	?	non	Graminée, latex	RS	SA	
	21	F	4	?	non			HRB	
population positive	22	F	9	oui	oui	chat/bouleau, (chien graminée)	RS	A	
	23	F	12	oui	oui			HRB	
	24	M	7	?	oui	Chat, Bouleau	RC	A	
	25	M	11	oui	oui		HRN	SA	
	26	M	5	?	oui	Graminée, alt	RS		DA
	27	M	4	?	oui	Graminée, bouleau	RS	SA	
	28	M	6	oui	oui	Chat	RC	A	DA
	29	F	8	non	oui	Chat, chien, graminée, bouleau	R	HRB	DA
	30	F	5	oui	oui	Bouleau, chat	R	HRB	
	31	M	10	?	oui			SA	
	32	M	9	oui	oui	Graminée, bouleau	RC		
	33	M	8	non	oui		RC		AA
	34	M	12	?	oui		RC		
	35	F	13	oui	oui	Graminée	RC	HRB	
	36	F	4	oui	oui	Chien, chat, graminée		A	AA
	37	M	3	oui	oui	Graminée		HRB	DA
	38	M	11	?	oui	Chat, graminée	RC	A	
	39	M	12	oui	oui	Graminée, chat	RC	SA	
	40	F	5	oui	oui	Chat		HRB	
	41	M	12	oui	oui	Chien, chat, bouleau	R	A	AA
	42	F	11	oui	oui	Graminée, chat	RS		DA
	43	M	14	?	oui	Graminée, chat		SA	
	44	M	3	oui	oui		RC	SA	
	45	M	15	?	oui			SA	
	46	M	5	?	oui		TH		
	47	M	9	oui	oui	Graminée, bouleau	RS	SA	
	48	M	12	?	oui	Bouleau, chat		A	DA
	49	F	10	oui	oui			SA	
	50	F	18	?	oui	Graminée, chat	RC		
	51	M	5	oui	oui		RS		
	52	M	5	oui	oui			HRB	
	53	M	8	oui	oui	Chat		A	
	54	M	10	?	oui	Graminée		A	AA
	55	M	7	?	oui				AA

R : rhinite, RC: rhinite chronique, RS: rhinite saisonnière, RConj : rhinoconjonctivite, CC : conjonctivite chronique, HRN : hyperréactivité nasale, HRB : hyperréactivité bronchique, A : asthme, SA : asthme intermittent, TH : toux hivernale, TN : toux nocturne, TC : toux chronique, AA : allergie alimentaire, DA : dermatite atopique

ANNEXE II: population acarien, critères d'inclusion

	N°	IgE spécifique		test cutané				
		D1	D2	Témoin +	D1	D2	D1/témoin+	D2/témoin+
population contrôle	1	0	0	4	0	0	0	0
	2	0	0	3	0	0	0	0
	3	0	0	2,5	0	0	0	0
	4	0	0	3,5	0	0	0	0
	5	0	0	5	0	0	0	0
	6	0	0	4	0	0	0	0
	7	0	0	6	0	0	0	0
	8	0	0	3	0	0	0	0
	9	0	0	4	0	0	0	0
	10	0	0	4	0	0	0	0
	11	0	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	0	0	0	ND	ND
	13	0	0	4	1	0	0,3	0
	14	0	0	2	0	0	0	0
	15	0	0	2	0	0	0	0
	16	0	0	4	0	0	0	0
	17	0	0	5	0	0	0	0
	18	0,35	0	3	0	0	0	0
	19	0	0,3	5	1	1	0,2	0,2
	20	0	0	3	0,5	1	0,2	0,3
	21	0,3	0,11	6	0	0	0	0
population positive	22	26,9	7,13	6	3	3,5	0,5	0,6
	23	0,45	0	5	1	0	0,2	0
	24	0,7	3	4	3	3,5	0,8	0,9
	25	0,4	0,48	4	0	0	0	0
	26	1,08	0,49	4	1,5	0	0,4	0
	27	2,77	1,67	4	0	0	0	0
	28	3,47	1,06	5	1,5	0	0,3	0
	29	3,19	3,92	5	0	0	0	0
	30	4,74	6,46	4	0,5	0	0,1	0
	31	5,66	4,96	2	2,5	1	1,3	0,5
	32	6,67	6,06	4	2	2,5	0,5	0,6
	33	6,81	12,1	4	0,5	1	0,1	0,3
	34	5,73	15,1	2	3,5	3,5	1,8	1,8
	35	14,7	12,4	4	2	2	0,5	0,5
	36	14,5	12,1	NC	NC	NC	NC	NC
	37	10,4	6,51	8	5	3	0,6	0,4
	38	25,8	15,9	3	2	3	0,7	1
	39	34,4	33,7	4	4	2	1	0,5
	40	27,1	21,6	4	3	3	0,8	0,8
	41	53	50,9	3,5	4	3,5	1,1	1
	42	36	34,9	5,5	11	4,5	2	0,8
	43	36,1	50,6	5	7	4	1,4	0,8
	44	36,9	39,9	2	0	0	0	0
	45	41,7	24,2	3	6	5	2	1,7
	46	52,3	20,2	3	7	3	2,3	1
	47	35	30,4	5	4	3,5	0,8	0,7
	48	67	59	6	0	3	0	0,5
	49	49,5	37,7	3	7	6	2,3	2
	50	66,2	59	4	6,5		1,6	0
	51	76,5	62,1	4	3	2,5	0,8	0,6
	52	64	40,8	7	3	2,5	0,4	0,4
	53	54,1	19,6	3	4	2	1,3	0,7
	54	91	72,5	4	7	7,5	1,8	1,9
	55	89,4	69,1	2	5		2,5	0

ND : indéterminé, NC : non connu

TC positif si TC/Témoin > 0.5, IgE spécifique positive si > 0.35 kU/l

ANNEXE III : population acarien, résultat des extraits globaux et des IgE spécifiques
anti-allergènes moléculaires

	N°	D2	nDer f 1	nDer f 2	D1	nDer p 1	nDer p 2	nPen a 1
population contrôle	1	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	2	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	3	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	4	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	5	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	6	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	7	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	8	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	9	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	10	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	11	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	12	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	13	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	14	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	15	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	16	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	17	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	18	0,16	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	
	19	0,26	0,43	0,08	0,08	0,55	0,08	0,08
	20	0,08	0,08	0,08	0,12	0,08	0,08	
	21	0,18	1,09	0,08	0,35	1	0,08	
population positive	22	0,6	0,08	0,08	0,63	0,08	0,08	0,08
	23	0,08	0,08	0,08	0,77	0,08	0,08	0,08
	24	3,75	13,4	0,3	0,96	5,78	0,12	
	25	0,63	0,08	0,08	1,06	0,08	0,08	0,08
	26	0,41	0,96	0,85	1,16	1,46	1,45	
	27	2,08	0,08	0,08	2,3	0,08	0,08	0,08
	28	1,46	4,99	0,11	2,35	4,6	0,47	
	29	4,53	0,11	0,08	4,07	0,08	0,31	7,05
	30	4,35	0,34	21,6	4,46	0,08	11,2	
	31	3,71	0,25	20,6	5,74	0,08	19,2	
	32	5,55	0,23	15,6	5,87	0,16	13,9	
	33	11,6	6,02	23,1	6,06	5,26	16,6	
	34	13,8	1,75	32,1	7,34	1	23,8	
	35	8,99	0,43	17,8	10,9	0,35	15,5	
	36	9,54	1,55	23	13	2,4	26,7	
	37	10,5	55,6	0,22	14,4	54,8	2,43	
	38	10,9	0,72	65,5	22,8	0,19	59,9	
	39	20,4	13,4	0,24	26,9	18,4	0,32	
	40	22,6	55,4	66,8	27,1	57,3	66,9	
	41	30,3	71,9	1,14	27,7	76,1	0,97	
	42	42,4	80,8	3,08	32,6	73,6	1,29	
	43	31,3	1,64	4,18	33	1,59	6,19	
	44	25	50,2	99,6	40,5	53,6	101	
	45	20,6	16,6	54,1	43,7	17,1	66,7	
	46	15,5	45,2	51,7	46,4	52,2	81,5	
	47	32,9	20,4	73,1	46,6	19,8	77,7	
	48	48,3	39,8	77,2	53	37,2	76,2	
	49	25,4	67,3	0,26	53,9	88,2	1,82	
	50	44,5	15,5	74,2	54	14,4	81,1	
	51	37,1	0,82	89,1	59,3	0,45	99,5	
	52	29,3	15,4	101	69,8	44,4	101	
	53	19,6	10,9	39,2	74,7	15,7	57,5	
	54	58,8	58,1	101	81,9	55,8	101	
	55	78,8	32,8	101	101	32,3	101	

D1 : extrait global de *Dermatophagoïdes pteronyssinus*

D2 : extrait global de *Dermatophagoïdes farinae*

IgE spécifique positive si > 0,35 kU/l

ANNEXE IV: population chat-chien et histoire clinique

<i>N</i>	<i>Sexe</i>	<i>Age</i>	<i>Chat/chien</i>	<i>Autre pneum- allergène</i>	<i>Antécédents familiaux</i>	<i>ORL</i>	<i>BP</i>	<i>AUTRES</i>
1	M	2	?		oui			DA AA
2	M	5	?	pollen	oui	DA	SA	AA
3	M	9	?	pollen	oui	TN	SA	AA
4	M	15	?	pollen	oui	R	HRB SA	AA
5	M	11	chat	pollen	oui	R	SA	DA
6	M	8	chat chien	pollen	oui		A	DA AA
7	M	5	?	pollen acarien	oui		A	AA
8	M	15	?	pollen latex	?	RC+++		
9	M	6	chat	pollen latex acarien	oui	HRN	A	AA
10	M	9	chat chien	pollen acarien	oui	T	HRB A	DA AA
11	F	14	chat	pollen	non	HRB RC		DA AA
12	M	8	?	acarien	non		HRB SA	AA
13	M	12	chat	pollen	oui	RS	HRB	
14	F	2	chat	non	non	T	SA	AA
15	F	11	chat	pollen	?	RC		AA
16	M	10	chien	pollen acarien	?		SA	DA
17	M	16	chat	pollen	?	R	SA	
18	M	12	chat chien	non	?			
19	M	14	chat chien	acarien cheval	?	HRN	HRB	DA
20	M	8	chien	pollen	non	RS	SA	DA
21	F	10	?	pollen	non		SA	DA AA
22	F	5	chat chien	pollen	non	TC	A	DA AA
23	M	2	chat	non	?		A	
24	M	12	chat	pollen acarien	non		A	DA
25	F	9	chat chien	pollen acarien	non	T		DA AA
26	M	3	chien	acarien	non		SA	AA DA

R : rhinite, RC: rhinite chronique, RS: rhinite saisonnière, RConj : rhinoconjonctivite, CC : conjonctivite chronique, HRN : hyperactivité nasale, HRB : hyperréactivité bronchique, A : asthme, SA : asthme intermittent, T : toux, TH : toux hivernale, TN : toux nocturne, TC : toux chronique, AA : allergie alimentaire, DA : dermatite atopique

ANNEXE V : population chat/chien, critères de sélection

N°	IgE spécifique			Test cutané				
	E1	E2	E5	Témoin+	E1	E5	E1/	E5/
							Témoin+	Témoin+
1	0,838		3,76	4	0	2	0	0,5
2	2,72		10,9	6,5	0	1,5	0	0,2
3	2,71		4,21	5	0	0	0	0
4	4,15		0,926	6	4	3	0,7	0,5
5	3,28	0,11	1,03	8	8	5	1	0,6
6	5,2		0,716	5	3	3	0,6	0,6
7	3,02		1,12	6	0	0	0	0
8	7,78		0,441	6	3,5	1,5	0,6	0,3
9	11,1		0,65	4	5	0	1,3	0
10	13,7		0,48	5	2,5	0	0,5	0
11	13		1,28	4	7	2	1,8	0,5
12	16,8		37,3	5	5	2,5	1	0,5
13	16,2		8,39	3	2,5	1	0,8	0,3
14	16,4		0,386	3	2	0	0,7	0
15	16,5		0,369	3	8		0	0
16	21,6		1,08	2,5	0	0	0,3	0,3
17	27,8		4,16	6	1,5	2	2,7	0
18	42,1		1,27	5	5	5	1	1
19	29,8		21,5	8	10	3	1,3	0,4
20	39,5		1,61	4	3	3	0,8	0,8
21	49,8		13,7	3	7	11	2,3	3,7
22	59,1		24,6	4	7	1	1,8	0,3
23	60,8		0,835	2	1	1,5	0,5	0,8
24	73,2		4,81	6	7	8	1,2	1,3
25	69,3		17,9	5	1,5	0	0,3	0
26	78,9		36,8	5	3	4	0,6	0,8

TC positif si TC/Témoin > 0.5, IgE spécifique positive si > 0.35 kU/l

ANNEXE VI : population chat/chien, résultat des dosages des IgE spécifiques

<i>N</i>	<i>E1</i>	<i>E5</i>	<i>E2</i>	<i>nFel d 1</i>	<i>nFel d 2</i>	<i>nCan f 1</i>	<i>nCan f 3</i>
1	0,7	3,9	0,1	0,79	0,08	16	0,08
2	2,1	9,5	2,5	1,83	1,57	49,2	2,56
3	3,8	4,1	0,4	3,23	0,08	3,78	0,08
4	4,1	0,9	0,2	4,81	0,08	1,73	0,08
5	4,8	NC	NC	4,16	NC	NC	NC
6	4,9	0,7	0,1	5,11	0,08	1,18	0,08
7	5,3	1,3	0,2	5,38	0,08	6,39	0,08
8	9,5	0,5	0,1	7,19	0,08	0,97	0,08
9	11	0,7	0,1	11,7	0,08	1,67	0,08
10	12	0,4	0,2	15,4	0,08	2,26	0,12
11	14	1,3	0,1	12,9	0,08	3,62	0,08
12	14	31	0,7	13,5	0,08	74,4	0,08
13	15	7,4	0,2	14,1	0,08	26,1	0,08
14	16	0,3	0,3	15,9	0,08	0,44	0,24
15	20	0,8	0,2	39,5	0,08	5,42	0,08
16	20	3,9	0,1	23	0,08	15,2	0,08
17	20	0,5	0,1	23,1	0,08	0,71	0,08
18	39	1,1	0,1	40,4	0,08	3,65	0,08
19	40	21	1,8	38,1	0,08	29,4	0,08
20	43	1,7	2,6	35,6	3,03	2,74	2,48
21	43	13	0,3	49,1	0,08	38,8	0,08
22	59	24	0,9	58,5	0,08	70,1	0,08
23	62	0,8	0,9	75,9	0,76	1,22	0,97
24	65	3,8	0,4	65,6	0,08	4,43	0,08
25	66	18	0,9	67,3	0,39	67,9	0,61
26	68	33	1,4	65,3	0,08	56,4	0,08

E1: extrait global du chat, E2 et E5 : extrait global de chien, NC : non connu

IgE spécifique positive si > 0.35 kU/l

ANNEXE VII: comparaison des positivités des extraits globaux et des fractions allergéniques de *Dermatophagoïdes pteronyssinus* et de *Dermatophagoïdes farinae* (seuils de positivité 0,35 kU/l et 0,20 kU/l)

	Seuil = 0,35				Seuil = 0,20							
	D1+ (n=34)		D1- (n=21)		D1+ (n=35)				D1- (n=20)			
	M+ (n=34)		M- (n=21)		M+ (n=34)		M- (n=1)		M+ (n=0)		M- (n=20)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Der p 1 + Der p 2+	23/34	68%	0/21	0%	24/35	69%	0/35	0%	0/20	0%	0/20	0%
Der p 1 + Der p 2 -	1/34	2%	2/21	10%	1/35	3%	1/35	3%	0/20	0%	1/20	5%
Der p 1 - Der p 2 +	5/34	15%	0/21	0%	5/35	14%	0/35	0%	0/20	0%	0/20	0%
Der p 1 - Der p 2 -	5/34	15%	19/21	90%	4/35	11%	0/35	0%	0/20	0%	19/20	95%

	Seuil = 0,35								Seuil = 0,20							
	D2+ (n=33)				D2- (n=22)				D2+ (n=34)				D2- (n=21)			
	M+ (n=33)		M- (n=0)		M+ (n=1)		M- (n=21)		M+ (n=33)		M- (n=1)		M+ (n=1)		M- (n=20)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Der f 1 + Der f 2+	21/33	64%	0/33	0%	0/22	0%	0/22	0%	28/34	82%	0/34	0%	0/21	0%	0/21	0%
Der f 1 + Der f 2 -	5/33	15%	0/33	0%	0/22	0%	2/22	9%	1/34	3%	1/34	3%	0/21	0%	1/21	5%
Der f 1 - Der f 2 +	3/33	9%	0/33	0%	0/22	0%	0/22	0%	0/34	0%	0/34	0%	0/21	0%	0/21	0%
Der f 1 - Der f 2 -	4/33	12%	0/33	0%	1/22	5%	19/22	86%	4/34	12%	0/34	0%	1/21	5%	19/21	90%

1. Liccardi G. Pets and cockroaches: two increasing causes of respiratory allergy in indoor environments. Characteristics of airways sensitization and prevention strategies. *Respiratory Medicine*. 2000;94(11):1109-1118.
2. Neukirch C. Allergies respiratoires de l'adulte : diagnostic et prise en charge thérapeutique. *EMC - Médecine*. 2004;1(4):295-305.
3. Demoly P, Godard P, Bousquet J. Une synthèse sur l'épidémiologie de l'asthme. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2005;45(6):464-475.
4. Bousquet J, Scadding G, Williams A. Enquête sur le poids de la rhinite allergique en France. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2008;48(5):382-389.
5. Klossek J, Annesi-Maesano I, Pribil C, Didier A. Un tiers des adultes ont une rhinite allergique en France (enquête INSTANT). *La Presse Médicale*. 2009;38(9):1220-1229.
6. Delmas M, Fuhrman C. L'asthme en France : synthèse des données épidémiologiques descriptives. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2010;27(2):151-159.
7. de Blay F, Casel S, Mbazoa-Amougou C. Atopie et environnement domestique. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2000;40(1):110-118.
8. Thomas WR, Hales BJ, Smith W. House dust mite allergens in asthma and allergy. *Trends in Molecular Medicine*. 2010;16(7):321-328.
9. Rancé F. Animal dander allergy in children. *Arch Pediatr*. 2006;13(6):584-586.
10. Morgenstern JP, Griffith IJ, Brauer AW, Rogers BL, Bond JF, Chapman MD, et al. Amino acid sequence of Fel dI, the major allergen of the domestic cat: protein sequence analysis and cDNA cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1991;88(21):9690-9694.
11. van Ree R, van Leeuwen WA, Bulder I, Bond J, Aalberse RC. Purified natural and recombinant Fel d 1 and cat albumin in in vitro diagnostics for cat allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104(6):1223-1230.

12. Konieczny A, Morgenstern JP, Bizinkauskas CB, Lilley CH, Brauer AW, Bond JF, et al. The major dog allergens, Can f 1 and Can f 2, are salivary lipocalin proteins: cloning and immunological characterization of the recombinant forms. *Immunology*. 1997;92(4):577-586.
13. Bongrand P. Bases immunologiques et classification de l'allergie. *Arch Pediatr*. 1999;6(Supplement 1):20-28.
14. Coca AF, Cooke RA. On the Classification of the Phenomena of Hypersensitiveness. *J Immunol*. 1923;8(3):163-182.
15. Kanny G, Jacquenet S. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le traitement des allergies. *La Revue de Médecine Interne*. 2006;27(Supplement 2):66-69.
16. Delsol M, Perrin LF. *Allergologie pratique*. Edition Masson. 1998. 261 pages.
17. Dutau G. *Allergoguide : du symptôme au traitement*. 2001. Paris. 191 pages.
18. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Brujnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001;56(9):813-824.
19. Deschildre A, Rancé F. La marche atopique existe-t-elle ? *Revue Française d'Allergologie*. 2009;49(3):244-246.
20. Rajan TV. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. *Trends in Immunology*. 2003;24(7):376-379.
21. Vervloet D, Magnan A. *Traité d'allergologie*. Médecine-Sciences Flammarion. 2003. Paris. 1148 pages.
22. Deschildre A. Allergènes responsables d'allergie respiratoire: les pneumallergènes. *Arch Pediatr*. 1999;6(Supplement 1):48-54.
23. Bousquet J, van Cauwenberge P, Khaltayev N. Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(5, Part 2):147-334.

24. Drouet M, Nicolie B, Le Sellin J, Bonneau JC. Allergie et environnement. Revue Française des Laboratoires. 2004;2004(361):33-37.
25. Thibaudon M, Lachasse C. Alternaria, Cladosporium : dispersion atmosphérique, rythmes nyctéméral et saisonnier. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. 2006;46(3):188-196.
26. Jaffuel D, Demoly P, Bousquet J. Les allergies alimentaires Food allergies. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. 2001;41(2):169-186.
27. Ponvert C. Nouveautés en allergie médicamenteuse. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 2008;23(1):49-53.
28. Laxenaire M-, Mertes P-. Accidents anaphylactiques Anaphylactic reactions. EMC - Médecine. 2004;1(1):59-69.
29. Guilloux L. Explorations biologiques en allergologie. Revue Française d'Allergologie. 2010;50(3):303-307.
30. Ardelean-Jaby D, Traube C, Ahmad W, Sawadogo M, Lorilloux J, Cailliez M. La démarche pour le diagnostic de l'allergie IgE dépendante. Immunoanalyse & Biologie Spécialisée. 2000;15(5):334-345.
31. Sabbah A, Drouet M. Actualisation du diagnostic immuno-biologique de l'allergie. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 2000;15(2):71-76.
32. Nosbaum A, Hennino A, Rozières A, Vocanson M, Nicolas J. Les tests épicutanés chez les patients atteints de dermatite atopique : les atopy patch tests. Annales de Dermatologie et de Vénérologie. 2009;136(8-9):630-634.
33. Dutau G. Allergies alimentaires et alternatives diagnostiques : test de provocation labial, test de provocation oral. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. 2000;40(7):728-741.

34. Deschildre A, Bonnel C, Thumerelle C, Santos C. Quelles sont les indications d'un test de provocation oral ? *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2007;47(3):190-192.
35. Sampson H. Predictive values of food-specific IgE in food allergy. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 1998;38(10):914-920.
36. De Weck AL, Sanz ML. Cellular allergen stimulation test (CAST). *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2004;14(4):253-273.
37. Frew AJ. Allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2, Supplement 2):306-313.
38. Niederberger V. Allergen-specific immunotherapy. *Immunol. Lett.* 2009;122(2):131-133.
39. Passalacqua G, Durham SR. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma update: Allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(4):881-891.
40. Birnbaum J, Vervloet D. Indications de la désensibilisation en fonction des données épidémiologiques récentes. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2004;44(3):270-275.
41. Pauli G. Les allergènes recombinants : leur apport à l'allergologie en 2006. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2007;47(2):72-79.
42. Chapman MD, Pomés A, Breiteneder H, Ferreira F. Nomenclature and structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(2):414-420.
43. Pauli G. Les allergènes recombinants : Le point de vue du clinicien. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 1996;36(5):455-458.
44. Breiteneder H, Radauer C. A classification of plant food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(5):821-830.
45. Hauser M, Roulias A, Ferreira F, Egger M. Panallergens and their impact on the allergic patient. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2010;6(1):1.

46. Fontaine J. Les recombinants des panallergènes polliniques : application à l'interprétation des polysensibilisations. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2007;47(3):129-132.
47. Pauli G, Metz-Favre C, Fontaine J. Allergènes alimentaires croisant avec les allergènes des pollens. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2006;46(3):153-157.
48. Ballmer-Weber BK, Scheurer S, Fritsche P, Enrique E, Cistero-Bahima A, Haase T, et al. Component-resolved diagnosis with recombinant allergens in patients with cherry allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(1):167-173.
49. Fontaine J, Pauli G. Allergies croisées : de la théorie à la pratique. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2006;46(5):484-487.
50. Metz-Favre C, Rame J, Pauli G, de Blay F. La tropomyosine : un pan-allergène. *Revue Française d'Allergologie*. 2009;49(5):420-426.
51. van der Veen MJ, van Ree R, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koppelman SJ, Jansen HM, et al. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100(3):327-334.
52. Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;142(2):99-115.
53. Malandain H. IgE-reactive carbohydrate epitopes--classification, cross-reactivity, and clinical impact. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2005;37(4):122-128.
54. Ferrara R, Mari A. IgE to crossreactive carbohydrate determinants: A demographical and allergological study. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(1, Supplement 1):210.
55. Vieths S, Scheurer S, Ballmer-Weber B. Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2002;964:47-68.

56. Foetisch K, Westphal S, Lauer I, Retzek M, Altmann F, Kolarich D, et al. Biological activity of IgE specific for cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(4):889-896.
57. van der Veen MJ, van Ree R, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koppelman SJ, Jansen HM, et al. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;100(3):327-334.
58. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Zanoni D, Barocci F, et al. Detection of clinical markers of sensitization to profilin in patients allergic to plant-derived foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(2):427-432.
59. Yeang H, Hamilton RG, Bernstein DI, Arif SAM, Chow K, Loke Y, et al. Allergen concentration in natural rubber latex. *Clin Exp Allergy.* 2006;36(8):1078-1086.
60. Fernández-Rivas M. Les allergènes croissants à l'échelle moléculaire : comparaison nord-sud. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.* 2006;46(3):167-169.
61. Jacquenet S, Moneret-Vautrin D. Les allergènes de l'arachide et des fruits à coque. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.* 2007;47(8):487-491.
62. Astier C, Morisset M, Roitel O, Codreanu F, Jacquenet S, Franck P, et al. Predictive value of skin prick tests using recombinant allergens for diagnosis of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(1):250-256.
63. Thomas WR, Smith W, Hales BJ. The allergenic specificities of the house dust mite. *Chang Gung Med J.* 2004;27(8):563-569.
64. Les acariens responsables de parasitose chez les reptiles : importance de terrariophilie. Juin 2010; <http://www.inf-faune.com/articles-parasitologie.php>
65. Pittner G, Vrtala S, Thomas WR, Weghofer M, Kundi M, Horak F, et al. Component-resolved diagnosis of house-dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens. *Clin Exp Allergy.* 2004;34(4):597-603.
66. Thomas WR, Hales BJ, Smith W. House dust mite allergens in asthma and allergy. *Trends*

in *Molecular Medicine*. 2010;16(7):321-328.

67. Weghofer M, Thomas WR, Pittner G, Horak F, Valenta R, Vrtala S. Comparison of purified *Dermatophagoides pteronyssinus* allergens and extract by two-dimensional immunoblotting and quantitative immunoglobulin E inhibitions. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(10):1384-1391.

68. Informations médicales et paramédicales - EM|consulte. <http://www.em-consulte.com/module/logincomplement/E-ALLERGO>

69. Efficacité de l'immunothérapie sous-cutanée. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 1999;39(5):408-412.

70. Nicolie B. Indication de l'immunothérapie spécifique aux phanères d'animaux, efficacité et sécurité : revue de la littérature. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2006;46(7):648-655.

71. de Blay F, Barnig C, Muti D, Schweitzer B, Purohit A. Allergie au chat et au chien. *Revue Française d'Allergologie*. 2009;49(3):147-155.

72. Ford AW, Alterman L, Kemeny DM. The allergens of dog. I. Identification using crossed radio-immunoelectrophoresis. *Clin Exp Allergy*. 1989;19(2):183-190.

73. Ford AW, Kemeny DM. The allergens of dog II. Identification and partial purification of a major dander allergen. *Clin Exp Allergy*. 1992;22(8):793-803.

74. Spitzauer S, Schweiger C, Anrather J, Ebner C, Scheiner O, Kraft D, et al. Characterisation of dog allergens by means of immunoblotting. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993;100(1):60-67.

75. Bertelsen A, Andersen JB, Christensen J, Ingemann L, Kristensen T, Ostergaard PA. Immunotherapy with dog and cat extracts in children. *Allergy*. 1989;44(5):330-335.

76. Oppenheimer J, Areson JG, Nelson HS. Safety and efficacy of oral immunotherapy with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;93(1 Pt 1):61-67.

77. Alvarez-Cuesta E, Berges-Gimeno P, Mancebo EG, Fernández-Caldas E, Cuesta-Herranz J, Casanovas M. Sublingual immunotherapy with a standardized cat dander extract: evaluation of efficacy in a double blind placebo controlled study. *Allergy*. 2007;62(7):810-817.
78. Thomas WR, Smith W, Hales BJ, Mills KL, O'Brien RM. Characterization and Immunobiology of House Dust Mite Allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;129(1):1-18.
79. King C, Simpson RJ, Moritz RL, Reed GE, Thompson PJ, Stewart GA. The isolation and characterization of a novel collagenolytic serine protease allergen (Der p 9) from the dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98(4):739-747.
80. Kuay K, Wang W, Shang H, Lim S, Chew F. Molecular cloning and characterization of a group 4 [alpha]-amylase *Blomia tropicalis* allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(1, Supplement 2):S204.
81. Lake FR, Ward LD, Simpson RJ, Thompson PJ, Stewart GA. House dust mite-derived amylase: Allergenicity and physicochemical characterization. *J Allergy Clin Immunol*. 1991;87(6):1035-1042.
82. O'Neill GM, Donovan GR, Baldo BA. Glutathione S-transferase a major allergen of the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Immunol. Lett*. 1995;48(2):103-107.
83. Gattuso J, Hales B, Thomas W, Bi X, Chew F, Tovey E. Localization of recently discovered allergens in *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(2, Supplement 1):S91.
84. Shen HD, Lin WL, Tsai LC, Tam MF, Chua KY, Chen HL, et al. Characterization of the allergen Der f 7 from house dust mite extracts by species-specific and crossreactive monoclonal antibodies. *Clin Exp Allergy*. 1997;27(7):824-832.
85. Lynch NR, Thomas WR, Garcia NM, Di Prisco MC, Puccio FA, L'opez RI, et al. Biological activity of recombinant Der p 2, Der p 5 and Der p 7 allergens of the house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;114(1):59-67.
86. Ohman JL, Lowell FC, Bloch KJ. Allergens of Mammalian Origin: III. Properties of a

- Major Feline Allergen. *J. Immunol.* 1974;113(6):1668-1677.
87. Kleine-Tebbe J, Kleine-Tebbe A, Jeep S, Schou C, Løwenstein H, Kunkel G. Role of the major allergen (Fel d I) in patients sensitized to cat allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 1993;100(3):256-262.
88. Anderson M, Baer H. Allergically active components of cat allergen extracts. *J Immunol.* 1981;127(3):972-975.
89. Ohman JL, Lowell FC. IgE antibody to cat allergens in an allergic population. *J Allergy Clin Immunol.* 1977;60(5):317-323.
90. Løwenstein H, Lind P, Weeke B. Identification and clinical significance of allergenic molecules of cat origin. Part of the DAS 76 Study. *Allergy.* 1985;40(6):430-441.
91. Grönlund H, Saarne T, Gafvelin G, van Hage M. The major cat allergen, Fel d 1, in diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;151(4):265-274.
92. de Groot H, Goei KG, van Swieten P, Aalberse RC. Affinity purification of a major and a minor allergen from dog extract: serologic activity of affinity-purified Can f I and of Can f I-depleted extract. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;87(6):1056-1065.
93. Kaiser L, Velickovic TC, Badia-Martinez D, Adedoyin J, Thunberg S, Hallén D, et al. Structural characterization of the tetrameric form of the major cat allergen Fel d 1. *J Mol Biol.* 2007;370(4):714-727.
94. Duffort O, Carreira J, Lombardero M. Monoclonal antibodies against Fel d I and other clinically relevant cat allergens. *Immunol Lett.* 1988;17(1):71-77.
95. Griffith IJ, Craig S, Pollock J, Yu X, Morgenstern JP, Rogers BL. Expression and genomic structure of the genes encoding FdI, the major allergen from the domestic cat. *Gene.* 1992;113(2):263-268.
96. Kaiser L, Grönlund H, Sandalova T, Ljunggren H, van Hage-Hamsten M, Achour A, et al. The Crystal Structure of the Major Cat Allergen Fel d 1, a Member of the Secretoglobulin Family. *Journal of Biological Chemistry.* 2003;278(39):37730-37735.

97. Seppälä U, Hägglund P, Wurtzen PA, Ipsen H, Thorsted P, Lenhard T, et al. Molecular characterization of major cat allergen Fel d 1: expression of heterodimer by use of a baculovirus expression system. *J Biol Chem.* 2005;280(5):3208-3216.
98. Kaiser L, Grönlund H, Sandalova T, Ljunggren H, van Hage-Hamsten M, Achour A, et al. The Crystal Structure of the Major Cat Allergen Fel d 1, a Member of the Secretoglobulin Family. *Journal of Biological Chemistry.* 2003;278(39):37730-37735.
99. Karn RC. The mouse salivary androgen-binding protein (ABP) alpha subunit closely resembles chain 1 of the cat allergen Fel dI. *Biochem. Genet.* 1994;32(7-8):271-277.
100. Vervloet D, Charpin D, Birnbaum J. Origine des allergènes du chat. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.* 1995;35(6):533-538.
101. Bartholomé K, Kissler W, Baer H, Kopietz-Schulte E, Wahn U. Where does cat allergen I come from? *J Allergy Clin Immunol.* 1985 Sep;76(3):503-506.
102. Charpin C, Mata P, Charpin D, Lavaut MN, Allasia C, Vervloet D. Fel d I allergen distribution in cat fur and skin. *J Allergy Clin Immunol.* 1991 Jul;88(1):77-82.
103. Mata P, Charpin D, Charpin C, Lucciani P, Vervloet D. Fel d I allergen: skin and or saliva? *Ann Allergy.* 1992;69(4):321-322.
104. Jalil-Colome J, de Andrade AD, Birnbaum J, Casanova D, Mège JL, Lanteaume A, et al. Sex difference in Fel d 1 allergen production. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98(1):165-168.
105. de Blay F, Krieger P. Les allergies aux principaux mammifères domestiques et leur traitement. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.* 1997;37(1):56-64.
106. Wentz PE, Swanson MC, Reed CE. Variability of cat-allergen shedding. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;85(1 Pt 1):94-98.
107. Arbes Jr. SJ, Cohn RD, Yin M, Muilenberg ML, Friedman W, Zeldin DC. Dog allergen (Can f 1) and cat allergen (Fel d 1) in US homes: Results from the National Survey of Lead and Allergens in Housing. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(1):111-117.

108. Salo PM, Arbes SJ, Crockett PW, Thorne PS, Cohn RD, Zeldin DC. Exposure to multiple indoor allergens in US homes and relationship to asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(3):678-684.
109. Justino CM, Segundo GRS, Pereira FL, Silva DAO, Sopelete MC, Sung SJ, et al. Mite and pet allergen exposure in Brazilian private cars. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005;94(6):658-661.
110. Munir AK, Einarsson R, Schou C, Dreborg SK. Allergens in school dust. I. The amount of the major cat (Fel d I) and dog (Can f I) allergens in dust from Swedish schools is high enough to probably cause perennial symptoms in most children with asthma who are sensitized to cat and dog. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;91(5):1067-1074.
111. Enberg RN, Shamie SM, McCullough J, Ownby DR. Ubiquitous presence of cat allergen in cat-free buildings: probable dispersal from human clothing. *Ann Allergy.* 1993;70(6):471-474.
112. Platts-Mills TAE. Paradoxical effect of domestic animals on asthma and allergic sensitization. *JAMA.* 2002;288(8):1012-1014.
113. Lau S, Illi S, Platts-Mills TAE, Riposo D, Nickel R, Grüber C, et al. Longitudinal study on the relationship between cat allergen and endotoxin exposure, sensitization, cat-specific IgG and development of asthma in childhood-report of the German Multicentre Allergy Study (MAS 90). *Allergy.* 2005;60(6):766-773.
114. Ohman JL, Bloch KJ, Kendall S, Lowell FC. Allergens of mammalian origin : IV. Evidence for common allergens in cat and dog serum. *J Allergy Clin Immunol.* 1976;57(6):560-568.
115. Didierlaurent A, Foglietti M, Guerin B, Hewitt B, Percheron F. Comparative Study on Cat Allergens from Fur and Saliva. *Int Arch Allergy Immunol.* 1984;73(1):27-31.
116. Reininger R, Swoboda I, Bohle B, Hauswirth AW, Valent P, Rumpold H, et al. Characterization of recombinant cat albumin. *Clin Exp Allergy.* 2003;33(12):1695-1702.

117. Blanc A, Donnay C, Metz-Favre C, de Blay F, Pauli G. Sensibilisation concomitante au chat et au chien : cosensibilisation ou allergènes croisants ? *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2007;47(5):375-376.
118. Reininger R, Varga EM, Zach M, Balic N, Lindemeier AD, Swoboda I, et al. Detection of an allergen in dog dander that cross-reacts with the major cat allergen, Fel d 1. *Clin Exp Allergy*. 2007;37(1):116-124.
119. Pilette C, Sohy C, Sauvage C, Just N, Wallaert B. L'allergie aux albumines sériques Allergy to serum albumin. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*. 2003;43(3):180-185.
120. Ichikawa K, Vailes LD, Pomés A, Chapman MD. Molecular cloning, expression and modelling of cat allergen, cystatin (Fel d 3), a cysteine protease inhibitor. *Clin Exp Allergy*. 2001;31(8):1279-1286.
121. Ichikawa K, Vailes LD, Pomés A, Chapman MD. Molecular cloning, expression and modelling of cat allergen, cystatin (Fel d 3), a cysteine protease inhibitor. *Clinical & Experimental Allergy*. 2001;31(8):1279-1286.
122. Smith W, Butler AJL, Hazell LA, Chapman MD, Pomés A, Nickels DG, et al. Fel d 4, a cat lipocalin allergen. *Clinical & Experimental Allergy*. 2004;34(11):1732-1738.
123. Adedoyin J, Gronlund H, Oman H, Johansson S, Vanhage M. Cat IgA, representative of new carbohydrate cross-reactive allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(3):640-645.
124. Mäntyjärvi R, Parkkinen S, Rytönen M, Pentikäinen J, Pelkonen J, Rautiainen J, et al. Complementary DNA cloning of the predominant allergen of bovine dander: a new member in the lipocalin family. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;97(6):1297-1303.
125. Gregoire C, Rosinski-Chupin I, Rabillon J, Alzari PM, David B, Dandeu JP. cDNA cloning and sequencing reveal the major horse allergen Equ c1 to be a glycoprotein member of the lipocalin superfamily. *J Biol Chem*. 1996;271(51):32951-32959.
126. Smith W, Butler AJL, Hazell LA, Chapman MD, Pomés A, Nickels DG, et al. Fel d 4, a cat lipocalin allergen. *Clin Exp Allergy*. 2004;34(11):1732-1738.

127. Grönlund H, Adédoyin J, Commins SP, Platts-Mills TA, van Hage M. The carbohydrate galactose- α -1,3-galactose is a major IgE-binding epitope on cat IgA. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(5):1189-1191.
128. O'Neil S, Smith W, Heinrich T, Hales B, Thomas W. BASE a Major Cat Allergen. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(1, Supplement 1):S157.
129. Schou C, Svendsen UG, Løwenstein H. Purification and characterization of the major dog allergen, Can f I. *Clin Exp Allergy.* 1991;21(3):321-328.
130. Kamata Y, Miyanomae A, Nakayama E, Miyanomae T, Tajima T, Hoshi H. Characterization of dog allergens Can f 1 and Can f 2. 1. Preparation of their recombinant proteins and antibodies. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;142(4):291-300.
131. Saarelainen S, Taivainen A, Rytönen-Nissinen M, Auriola S, Immonen A, Mäntyjärvi R, et al. Assessment of recombinant dog allergens Can f 1 and Can f 2 for the diagnosis of dog allergy. *Clin Exp Allergy.* 2004;34(10):1576-1582.
132. Martínez A, Martínez J, Sanz ML, Bartolomé B, Palacios R. Dander is the best epithelial source for dog allergenic extract preparations. *Allergy.* 1994;49(8):664-667.
133. Ramadour M, Guetat M, Guetat J, Biaze ME, Magnan A, Vervloet D. Dog factor differences in Can f 1 allergen production. *Allergy.* 2005;60(8):1060-1064.
134. Kamata Y, Miyanomae A, Nakayama E, Miyanomae T, Tajima T, Nishimura K, et al. Characterization of dog allergens Can f 1 and Can f 2. 2. A comparison of Can f 1 with Can f 2 regarding their biochemical and immunological properties. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;142(4):301-308.
135. Blands J, Lowenstein H, Weeke B. Characterization of extract of dog hair and dandruff from six different dog breeds by quantitative immunoelectrophoresis. Identification of allergens by crossed radioimmunoelectrophoresis (CRIE). *Acta Allergol.* 1977;32(3):147-169.
136. Pandjaitan B, Swoboda I, Brandesjkypichler F, Rumpold H, Valenta R, Spitzauer S. *Escherichia coli* expression and purification of recombinant dog albumin, a cross-reactive

animal allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(2):279-285.

137. Spitzauer S, Pandjaitan B, Söregi G, Mühl S, Ebner C, Kraft D, et al. IgE cross-reactivities against albumins in patients allergic to animals. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96(6):951-959.

138. Calam DH, Davidson J, Ford AW. Studies on allergens of mammalian origin. *J. Chromatogr*. 1984;288(1):137-145.

139. Mattsson L, Lundgren T, Olsson P, Sundberg M, Lidholm J. Molecular and immunological characterization of Can f 4: a dog dander allergen cross-reactive with a 23 kDa odorant-binding protein in cow dander. *Clinical & Experimental Allergy* [Internet]. [cité 2010 Jun 18];9999(9999). Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03533.x>

140. Mattsson L, Lundgren T, Everberg H, Larsson H, Lidholm J. Prostatic kallikrein: A new major dog allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(2):362-368.

141. Tonnel A, Schlatter J. L'allergie au liquide séminal. *Revue Française d'Allergologie*. 2010;50(3):197-199.

142. Weidinger S, Mayerhofer A, Raemsch R, Ring J, Köhn F. Prostate-specific antigen as allergen in human seminal plasma allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(1):213-215.

143. Basagana M, Bartolome B, Pastor C, Torres F, Alonso R, Vivanco F, et al. Allergy to human seminal fluid: Cross-reactivity with dog dander. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(1):233-239.

144. Brandt R, Yman L. Dog Dander Allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 1980;61(4):361-370.

145. Spitzauer S, Pandjaitan B, Mühl S, Ebner C, Kraft D, Valenta R, et al. Major cat and dog allergens share IgE epitopes. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99(1, Part 1):100-106.

146. Boutin Y, Hébert H, Vrancken ER, Mourad W. Allergenicity and cross-reactivity of cat and dog allergenic extracts. *Clin Exp Allergy*. 1988;18(3):287-293.

147. Cabañas R, López-Serrano MC, Carreira J, Ventas P, Polo F, Caballero MT, et al. Importance of albumin in cross-reactivity among cat, dog and horse allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2000;10(2):71-77.
148. Zhu D, Kepley CL, Zhang K, Terada T, Yamada T, Saxon A. A chimeric human-cat fusion protein blocks cat-induced allergy. *Nat Med*. 2005;11(43):446-449.
149. Terada T, Zhang K, Belperio J, Londhe V, Saxon A. A chimeric human-cat Fc[gamma]-Fel d1 fusion protein inhibits systemic, pulmonary, and cutaneous allergic reactivity to intratracheal challenge in mice sensitized to Fel d1, the major cat allergen. *Clinical Immunology*. 2006;120(1):45-56.
150. Chinoy B, Yee E, Bahna SL. Skin testing versus radioallergosorbent testing for indoor allergens. *Clinical and Molecular Allergy*. 2005;3(1):4.
151. Chinoy B, Yee E, Bahna SL. Skin testing versus radioallergosorbent testing for indoor allergens. *Clinical and Molecular Allergy*. 2005;3(1):4.
152. Schuetze G, others. Comparison between serial skin-prick tests and specific serum immunoglobulin E to mite allergens. *Pediatric Allergy and Immunology*. 1999;10(2):138-142.
153. Taketomi EA, Silva DA, Sopelete MC, Gervásio AM, Alves R, Sung SJ. Differential IgE reactivity to Der p 1 and Der p 2 allergens of *Dermatophagoides pteronyssinus* in mite-sensitized patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006;16(2):104.
154. Reese G, Schick Tanz S, Lauer I, Randow S, Lüttkopf D, Vogel L, et al. Structural, immunological and functional properties of natural recombinant Pen a 1, the major allergen of Brown Shrimp, *Penaeus aztecus*. *Clin Exp Allergy*. 2006;36(4):517-524.
155. Reese G, Ayuso R, Lehrer SB. Tropomyosin: an invertebrate panallergen; Allergen. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999;119(4):247-258.
156. DeWitt AM, Mattsson L, Lauer I, Reese G, Lidholm J. Recombinant tropomyosin from *Penaeus aztecus* (rPen a 1) for measurement of specific immuno-globulin E antibodies

relevant in food allergy to crustaceans and other invertebrates. *Molecular nutrition & food research*. 2004;48(5):370–379.

157. Grönlund H, Adédoyin J, Reininger R, Varga E, Zach M, Fredriksson M, et al. Higher immunoglobulin E antibody levels to recombinant Fel d 1 in cat-allergic children with asthma compared with rhinoconjunctivitis. *Clin Exp Allergy*. 2008 8;38(8):1275-1281.

158. Reininger R, Swoboda I, Bohle B, Hauswirth AW, Valent P, Rumpold H, et al. Characterization of recombinant cat albumin. *Clinical & Experimental Allergy*. 2003;33(12):1695-1702.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 3327

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME

Les pneumallergènes de l'environnement intérieur les plus fréquemment responsables d'allergie respiratoire sont les acariens, le chat et le chien. Jusqu'à présent le diagnostic utilisait principalement les extraits globaux (EG), mais récemment des allergènes moléculaires ont été développés.

Dans une étude rétrospective (55 patients acarien, 25 patients chat-chien), nous avons testé les fractions allergéniques, natives purifiées, majeures des acariens (nDer p 1 et 2, nDer f 1 et 2), du chat nFel d 1 et du chien nCan f 1, ainsi que les allergènes mineurs des acariens nPen a 1, du chat nFel d 2 et du chien nCan f 3. Le but était de valider ces allergènes par rapport aux EG, d'élucider d'éventuelles réactions croisées et d'élaborer des stratégies d'indication de ces tests.

La très bonne corrélation des allergènes majeurs des acariens, du chat et du chien vis-à-vis des EG ($\rho \approx 0.9$), ainsi que les performances statistiques satisfaisantes des différents tests permettent leur validation. Mais du fait de réactions croisées, ils ne peuvent faire la différence entre une allergie exclusive à D1 ou à D2, ou entre une allergie au chat ou au chien. Pour les allergènes d'acariens, un seul de chaque famille est suffisant. Ces allergènes identifient différents spectrotypes, polysensibilisés ou monosensibilisés, et permettent potentiellement d'évaluer la sévérité clinique et de sélectionner les patients candidats à une ITS avec des allergènes moléculaires. La tropomyosine permet d'élucider certaines réactions croisées (en cas d'allergie alimentaire) à l'inverse de l'albumine. Comparer ces fractions aux allergènes recombinants et évaluer d'autres fractions allergéniques seraient intéressants.

Mots-clés: allergène du chat, allergène du chien, allergène des acariens, fractions allergéniques moléculaires, réactivité croisée

MOLECULAR ALLERGENS: STUDY ON A PEDIATRIC POPULATION OF MITES, CAT AND DOG SIEMENS[®] TESTS

SUMMARY

Indoor inhalant allergens most frequently responsible of respiratory allergies are mites, cats and dogs. So far the diagnosis used mainly the crude extracts (CE), but molecular allergens have been developed.

In a retrospective study (55 mites-allergic and 25 cats and dogs-allergic), we tested major native allergenic molecules of mite (nDer p 1 and 2, nDer f 1 and 2), cats (nFel d 1) and dogs (nCan f 1), as well as minor allergens mites (nPen a 1), cats (nFel d 2) and dogs (nCan f 3). The objective was to validate these allergens compared to the CE, to clear up possible cross-reactivity and to work out indication's strategies for these tests.

The very good correlation of these tests regarding to EG ($\rho \approx 0.9$) for mite's, cat's and dog's major allergens and the satisfactory statistical performances of these tests allow us to validate those tests. Because of cross-reactivity, they can't differentiate allergy to D1 from allergy to D2, or allergy to cat from allergy to dog. For mite's allergens, only one of the same molecular family is necessary. These allergens make it possible to identify the different spectrotypes, polysensitized patients from monosensitized, and potentially allow to evaluate clinical severity and select patients candidate to a SIT by molecular allergens. Tropomyosin allows clearing up some cross-reactivity (in case food allergy). To compare these fractions with the recombinant allergens and to evaluate of other allergenic fractions would be interesting.

Keywords: cat allergen, cross-reactivity, dog allergen, mite allergen, molecular allergen

Discipline : Biologie médicale, Immunologie

CHU Estaing, Laboratoire d'Immunologie

1 place Lucie Aubrac

63003 Clermont-Ferrand cedex