

Revue critique  
**Diagnostic de l'IgE-réactivité par analyse des  
composants moléculaires (test ISAC)**

*Component resolved diagnosis by the ISAC allergen microarray*

D.-A. Moneret-Vautrin<sup>a,\*,b,c</sup>, J. Vitte<sup>c,d,e</sup>, S. Jacquenet<sup>c,f</sup>, M. Morisset<sup>c,g</sup>, S. Denery-Papini<sup>c,h</sup>,  
J.-M. Renaudin<sup>b,c,f</sup>, F. Codreanu<sup>c,g</sup>, N. Bonardel<sup>c</sup>, M.-F. Fardeaux<sup>c</sup>, E. Beaudouin<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Université Nancy I, Nancy, France

<sup>b</sup> Service d'allergologie, hôpital Jean-Monnet, 88000 Épinal, France

<sup>c</sup> Réseau allergo-vigilance, 15, rue du Bois-de-La-Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

<sup>d</sup> Laboratoire d'immunologie, hôpital de la Conception, Assistance publique-Hôpitaux de Marseille, 13005 Marseille, France

<sup>e</sup> Inserm UMR 600/CNRS UMR 6212, université Aix-Marseille-II, 13009 Marseille, France

<sup>f</sup> Laboratoire Genclis, 15, rue du Bois-de-La-Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

<sup>g</sup> Service de médecine interne, immunologie clinique et allergologie G.-Kanny, hôpital Central, 54000 Nancy, France

<sup>h</sup> Laboratoire URPVI, Inra, 44000 Nantes, France

Reçu le 7 janvier 2011 ; accepté le 7 janvier 2011

Disponible sur Internet le 12 février 2011

## Résumé

La caractérisation de l'IgE-réactivité, essentielle au diagnostic a fait appel aux sources allergéniques puis aux allergènes majeurs purifiés. Les réactivités croisées (RC) très fréquentes liées aux déterminants carbohydrates des végétaux et des insectes ont été abolies par l'utilisation d'allergènes recombinants. Les RC liées à l'homologie des séquences d'acides aminés, larges ou limitées, offrent la notion d'allergènes spécifiques et d'allergènes croisés. Le concept de la puce ISAC basé sur 103 allergènes purifiés ou recombinants, permet un diagnostic de sensibilisation par analyse des composants. Les indications actuelles sont explorées. L'utilité de ce test pour affirmer/infirmer le diagnostic de choc anaphylactique idiopathique est présenté à partir de huit cas. Les polysensibilisations sont confirmées dans les dermatites atopiques sévères de l'enfant, selon des profils différents de ceux de l'adulte. L'exploration des oesophagites à éosinophiles montre l'importance des sensibilisations aux aéro-allergènes et trophallergènes. Une aide au choix d'une immunothérapie est envisagée dans le cas de l'allergie à différents pollens et acariens. Les restrictions actuelles d'utilisation concernent les RC non cliniquement relevantes (famille PR-10 et tropomyosines), les allergènes inopérants ou insuffisants (Ana c 2, allergènes du blé, Ana o 3) et l'absence de sources allergéniques alimentaires (moutarde, lupin, lentilles, noix, amande, sarrasin). Les applications du test ISAC à la recherche sont des études épidémiologiques et le suivi des immunothérapies par l'apparition d'IgG4 spécifiques. Le test ISAC devrait prochainement se développer par l'adjonction de nouveaux allergènes. L'aide au diagnostic et à la prédiction de persistance et de sévérité de l'allergie rendra nécessaire le traitement des données grâce à des systèmes experts d'informations.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** Composants allergéniques ; Biopuce ; Dermatite atopique ; Anaphylaxie idiopathique ; Oesophagite à éosinophiles

## Abstract

Specific IgE-reactivities have first been implemented by the use of allergenic extracts then purified or recombinant major allergens. The frequent cross-reactivity (CR) due to vegetal and insect carbohydrate determinants has been suppressed by the use of bacteria originated recombinant allergens. CR linked to homology of amino acid sequences leads to classification of allergens, either species specific or cross-reactive ones. The micro array technology (ISAC) makes a component-resolved diagnosis possible by the analysis of 103 allergens. The assessment of this technique may be applied to different pathologies. Negative tests in eight cases of idiopathic anaphylaxis are reported. The ISAC microassay applied to atopic dermatitis shows different polysensitization profiles in 22 children compared to adults. The extensive association of aeroallergen and food allergen sensitizations is a hallmark of eosinophilic esophagitis. Another indication is to set a patient-taylored immunotherapy to pollens

\* Corresponding author. 15, rue du Bois-de-La-Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France.

Adresse e-mail : [reseau@allergovigilance.org](mailto:reseau@allergovigilance.org) (D.A. Moneret-Vautrin).

and mites. Present restrictions are the CR without clinical relevance (PR-10 family and tropomyosins), the poor performance of certain allergens (wheat allergens, Ana c 2, Ana o 3), the absence of allergens from the following allergenic sources: mustard, lupine, lentils, almond, walnut, buckwheat. In the near future, ISAC could be applied to epidemiological studies and to the follow-up of immunotherapies studied by specific IgG4s. Present prospects are to conduct thorough investigations about the efficiency of the currently available allergens, and to develop computerized algorithms taking into account clinical profiles and patterns of sensitization to improve the diagnosis of clinically relevant sensitization and to achieve the prediction of persistence and severity.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Keywords:** Component-resolved diagnosis; Micro-assay; Atopic dermatitis; Idiopathic anaphylaxis; Eosinophilic esophagitis

## 1. Introduction

La fréquence des maladies allergiques dépendant des anticorps IgE a conduit dès 1967 à l'identification de l'IgE-réactivité aux sources allergéniques naturelles, accessible aux investigations par tests cutanés et biologiques par des extraits commerciaux. La caractérisation des allergènes obtenus dans un premier temps par purification, parmi des milliers de protéines « candidat », a conduit à un classement d'utilité clinique, en allergènes majeurs représentant plus de 50 % des sensibilisations à la source allergénique, et allergènes mineurs. Parallèlement les allergènes ont été regroupés en familles selon leurs structures moléculaires. Le phénomène de réactivité croisée (RC), liée à l'homologie de séquences d'acides aminés, ou à la similarité de structure entre des molécules de sources différentes, est extrêmement fréquent pour les allergènes végétaux. Cette réactivité croisée revêt une importance différente selon les familles, la RC étant particulièrement fréquente pour la famille PR-10 (*pathogenesis-related* [PR]) et pour les profilines [1–3]. Elle peut être également tributaire d'une IgE réactivité à des déterminants carbohydrates ubiquitaires sur une majeure partie des protéines végétales et d'insectes (hyménoptères) [3–5]. En outre, la question de l'implication clinique (relevance, ou pertinence clinique) de ces RC est un problème complexe et non résolu.

L'obtention d'allergènes recombinants à partir de bactéries, inaptes aux modifications post-traductionnelles telles que la glycosylation, permet une meilleure caractérisation d'une IgE-réactivité liée aux épitopes de la séquence d'acides aminés de la molécule. Leur utilisation pour le diagnostic est possible, après que leur équivalence fonctionnelle avec les allergènes naturels a été vérifiée *in vitro* et *in vivo* [6].

Il a dès lors été possible de distinguer les allergènes spécifiques d'une espèce, et les allergènes non spécifiques, croisants. Selon les sources allergéniques, le nombre d'allergènes majeurs et le nombre d'allergènes spécifiques d'espèce sont variables [7].

La démonstration que l'utilisation d'un choix d'allergènes recombinants permet de « couvrir » le spectrotypage des IgE spécifiques de la source a ouvert un nouvel horizon au diagnostic biologique [7]. Ainsi, 99 % des sensibilisations aux pollens de Graminées sont diagnostiquées par l'association Phl p1 et Phl p 5 [6,8], 95 % des sensibilisations aux acariens sont détectables par l'association Der p 1 (cystéine protéase) et Der p 2 (famille NCP2) [9].

De tels travaux ont conduit au concept de diagnostic par analyse des composants (*component-resolved diagnosis*)

proposé par Valenta et al. [7]. L'exploration des sensibilisations par plusieurs allergènes recombinants a permis de reconnaître des profils géographiques de sensibilisation différents entre les pays du Sud et du Nord de l'Europe, pour un même pollen [10], ou une même famille d'aliments [11,12]. Ainsi, le rôle des protéines de transfert lipidique non spécifiques (nsLTP) dans les allergies sévères aux Prunoidées : pêche, pomme et à la noisette paraît flagrant en Espagne et en Italie [11,12]. De surcroît, il existe des profils individuels très variés.

La multiplication croissante des allergènes bien caractérisés, comme les phénomènes complexes des réactivités croisées, induisent à considérer que la demande de multiples tests unitaires, outre l'argument économique, ne suffit pas au diagnostic. Ils ne reflètent pas l'éventail des réactivités croisées qu'il faut prendre en compte pour apprécier le risque éventuel d'extension des réactions cliniques à d'autres sources allergéniques que celles qui sont identifiées comme responsables des symptômes actuels. Ils ne permettent pas un choix éclairé des immunothérapies, puisque la stratégie peut être différente selon que, devant une polysensibilisation, il est nécessaire de distinguer ce qui est tributaire d'une RC, et ce qui correspond à de vraies co-sensibilisations.

## 2. Le concept ISAC

C'est à la suite de ces réflexions que naît en 2000 le concept de disposer simultanément de très nombreux allergènes grâce à la technique de microassay [13]. Les premières études après mise au point de la technique appliquée aux protéines confirment les performances par comparaison avec les tests cutanés et les IgE spécifiques étudiées par Cap RAST [14,15]. L'application commerciale ISAC est réalisée par Phadia (utilisant la technique VBC Genomics system), offrant 103 molécules allergéniques : 57 recombinantes et 46 purifiées. Elles représentent 47 sources allergéniques. La mise à disposition d'allergènes naturels correspond à deux cas de figure : soit l'allergène recombinant n'est pas encore disponible, soit la reconnaissance des épitopes par les IgE est mieux effectuée sur la protéine naturelle, comme il est montré pour deux allergènes du lactosérum Bos d 4 (alpha-lactalbumine) et Bos d 5 (beta-lactoglobuline) [16].

Les allergènes représentés sont d'origine végétale : 66 et animale : 37. Ils correspondent à des « allergènes marqueurs » (*disease-markers*), sélectifs pour une source (ou espèce), comme Bet v 1, Phl p 1 et Phl p 5, Par j 2, Ole e 1 Ara h 2 etc. ..., et d'allergènes croisants, soit avec une réactivité croisée large

(tropomyosines, profilines) soit avec une réactivité croisée limitée (nsLTP). Ils sont classés en tant que tels et offrent ainsi une aide au diagnostic pour le clinicien, quoique la subdivision actuelle doit être soumise à modifications comme en témoignent des publications récentes (cf infra : restrictions d'utilisation).

La présentation des allergènes sur la bio-puce passe par le *spotting*, procédure de dépôt des allergènes liés de façon covalente à la matrice. Un spot de 100 à 200 µm de diamètre fixe l'allergène dans la gamme des picogrammes. Cette minime quantité est avantageuse pour les allergènes purifiés ou recombinants, produits en très faible quantité. La présentation est assurée en triplicate, pour pallier des altérations des propriétés fonctionnelles.

Chaque allergène est un cas particulier. Son poids moléculaire, sa charge électrique, sa solubilité, sa structure tridimensionnelle, sont autant de facteurs pouvant modifier sa fixation et sa capacité d'immunoréactivité [17]. Lorsqu'il s'agit de recombinants d'origine bactérienne, l'absence de modifications post-traductionnelles (glycosylation, ponts disulfures intramoléculaires comme intermoléculaires, phosphorylation) peut induire une modification de la structure tridimensionnelle, un masquage à l'accès à certains épitopes [17]. Il est donc nécessaire qu'une validation de son efficacité soit assurée par comparaison avec la technique ImmunoCap [18,19]. De façon générale, la présence éventuelle d'IgG spécifiques ne lèse pas l'IgE-réactivité car l'affinité des IgE pour l'allergène, est très supérieure, de l'ordre du picomolaire ( $10^{-11}$  à  $10^{-10}$  M) alors que celle des IgG est dans la fourchette nanomolaire ( $10^{-7}$  à  $10^{-6}$  M) [17].

Toutefois les unités spécifiques ISU (ISAC Standardized Units) ne sont pas assimilables aux valeurs en kU/L. Le CAP unitaire, dont la richesse en allergène est réputée suffisante pour lier toutes les IgE le reconnaissant, présentes dans le sérum testé, rend un résultat quantitatif, c'est-à-dire calibré comme une méthode Elisa classique corrélant une intensité de réponse à une concentration donnée d'IgE spécifiques d'un allergène, de 0,10 à 100 kU/L. Dans la technique ISAC, la faible quantité d'allergène est un facteur limitant le nombre de molécules IgE admises à la fixation : la technique reste semi-quantitative, et ne permet qu'une approximation des taux d'IgE au-dessus de 40 à 50 ISU comme étant « très élevés ». Pour la même raison, la sensibilité d'ISAC est légèrement moins bonne pour les faibles concentrations en IgE spécifiques (0,1 à 0,5 kU/L). Ces limitations techniques, ainsi que l'évaluation des coefficients de variation intra-essai sont en partie contre-balancées par le test en triplicate, le résultat final étant la moyenne des trois spots.

Cette technique nécessite une quantité minimale de sérum : 30 µl actuellement au plus, 50 µl pour la version prochaine de 130 allergènes, alors que 40 µl sont nécessaires pour un ImmunoCap unitaire, soit un gain de 150 à 200 pour la quantité de sérum nécessaire. Il a été vérifié que le sang capillaire (prélevé par piqûre du doigt) offre les mêmes résultats que le sang veineux [20].

La richesse des informations fournies par ce test nécessite de peser avec attention ses indications pour le diagnostic, avant de

s'intéresser aux buts de recherche auxquels il est applicable et d'envisager ses futurs développements.

### 3. Indications actuelles du test ISAC pour le diagnostic

La biologie occupe inéluctablement une place croissante dans le diagnostic de l'IgE-réactivité. En effet, d'une part, les règlements très restrictifs de l'AFSSAPS limitent la commercialisation des extraits pour tests cutanés, d'autre part, la pratique courante des *prick-in-prick* aux aliments naturels, très en faveur en France et pays méditerranéens, paraît insuffisamment répandue dans d'autres pays.

Compte tenu de la richesse mais aussi de la complexité des informations fournies par ISAC, il est indispensable de porter la réflexion sur les indications de ce test très spécialisé [18,21].

#### 3.1. Le diagnostic de choc idiopathique est une première indication

Le choc anaphylactique a un risque vital. Il est d'une importance majeure de réaliser un bilan exhaustif : élimination d'une auto-immunité, d'une gammopathie monoclonale, d'infections virales chroniques, de déficit en inhibiteur de C1 estérase, de mastocytose, de syndrome carcinoïde, de phéochromocytome, de parasitoses tissulaires, d'allergies alimentaires [22–25]. Le diagnostic de choc par anaphylaxie alimentaire ne peut être a priori exclu comme l'a montré Sonin [26]. Quarante à 80 prick-tests aux aliments natifs complétés par des TPO aux aliments suspectés pourraient ne pas être suffisants.

Notre expérience repose sur huit cas, chez des patients de 27 à 53 ans (Tableau 1). Le bilan allergologique préalable, exhaustif pour douze pneumallergènes courants et 40 à 80 allergènes alimentaires, éventuellement complété par des tests de provocation orale aux allergènes alimentaires suspectés avec association d'alcool, d'effort ou d'AINS est négatif.

Dans cinq cas, il s'agit de sujets non atopiques, et sans relation suspectée avec l'alimentation. Dans deux de ces cas, des investigations ultérieures ont identifié une surexpression de l'activité kininogénase du facteur XII, à la base d'une synthèse accrue de bradykinine, avec association d'une déficience du catabolisme [27,28]. Le test ISAC est négatif trois fois, et dans deux cas, montre une monosensibilisation faible et non cliniquement relevante à des allergènes de pollen de Graminées, Phl p 4 (*berberine bridge enzyme*) et Phl p 5.

Trois cas correspondent à des patients atopiques, présentant une relation clinique avec des aliments nommément désignés.

Une femme de 32 ans (cas 6) présente une sensibilisation pollinique latente et un asthme à l'effort. Elle a subi des chocs anaphylactiques après consommation de multiples aliments, d'origine végétale ou animale. Plusieurs bilans comportent des tests de provocation orale en double aveugle (métabisulfites, sésame, huile de sésame, farine de blé + alcool). Plus de 100 prick-tests aux aliments natifs sont pratiqués : négatifs. L'ISAC confirme une monosensibilisation à Phl p 4.

Un homme de 33 ans, atopique, forestier ayant subi de multiples piqûres de tiques, présente des CA récidivants,

Tableau 1

Investigations par test ISAC dans 8 cas de choc anaphylactique idiopathique.

N°	S	Âge	Choc anaphylactique	Autres symptômes et caractéristiques	Étiologies recherchées et éliminées	Exploration du métabolisme de la bradykinine*	Diagnostic	Évolution après prise en charge
1	H	53	Récidivants  Juillet 2008 = AO généralisé puis perte de connaissance	Récidivants depuis 2002 : AO, urticaire	Allergies alimentaires (viandes de mammifères, poisson, sésame)  TPO doses usuelles + effort ou alcool : négatifs  Foyer infectieux dentaire traité	Activité kininogénase : 6,7 nmol/mn/ml (N : 2,3-5,6)  ECA : 11 U/L  (N : 20-70)	Anomalies du métabolisme bradykinine  Intolérance aux métabisulfites : TPO positif 45 mg  ISAC : Phl p 4 0,8 ISU (faible)	Sous régime d'éviction MBS et acide tranexamique (3 g/jour) : asymptomatique avec recul d'un an
2	F	46	Récidivants	Récidivants : AO, urticaire contexte infectieux des épisodes ( <i>H. pylori</i> , pneumopathie à <i>Chlamydiae pneumoniae</i> , infection urinaire, rhinopharyngite virale)	Allergies alimentaires	Activité kininogénase : 6,4 nmol/mn/ml (N : 2,3-5,6)  ECA : 12 U/L (N : 20-70)	ISAC négatif	Sous acide tranexamique 3g/j : asymptomatique avec recul de 18 mois
3	F	49	Unique 2004, contexte infectieux	Syndrome de Raynaud ancien	AA alimentaires (blé, céleri)  Restriction de l'hétérogénéité des IgG IgE tot : 3507 kU/L	Non fait	ISAC négatif	Non revue depuis 2005
4	F	24	Mars 2006 : choc grade 3, service de réanimation, adrénaline oxygénothérapie Cytolyse hépatique et polynucléose neutrophile	Récidivants : réactions systémiques sérieuses, symptômes digestifs constants	Allergies alimentaires, Mastocytose digestive	Non fait	ISAC : Phl p 5 = 0,7 ISU (faible)	lithiase vésiculaire et calculs du cholédoque distal  Relation incertaine avec les réactions anaphylactiques Perdue de vu depuis 2007 Non revue depuis 2004
5	F	28	CA biphasique	1 accès AO labial et pharyngé		Non fait	ISAC négatif	Non revue depuis bilan en 2006
6	F	32	Récidivants	Récidivants : AOL et autres localisations, Urticaire	Allergie alimentaire (TPO sésame, MBS, blé + alcool)  Mastocytose digestive	Non fait	Asthme à l'effort  HRB confirmée Sensibilisation pollinique dépitée par prick-tests, confirmée par ISAC (berbéline bridge enzyme 11SU)	Non revue depuis 2003
7	H	33	Unique : 2003	Récidivantes : réactions systémiques sérieuses  Sensibilisation pollinique	Allergies alimentaires éliminées (TPO Blé + AINS négatif), sauf suspicion viandes de mammifères (Prick test agneau, veau 3 mm)	Non fait	Anaphylaxie aux viandes de mammifères  IgE anti gal alpha 1-3 gal : 90 U/L	

Tableau 1 (Continued)

N°	Sexe	Âge	Choc anaphylactique	Autres symptômes et caractéristiques	Étiologies recherchées et éliminées	Exploration du métabolisme de la bradykinine*	Diagnostic	Évolution après prise en charge
				Forestier, piqûres de tiques			ISAC : Bos d 4 = 2,4 ISU, allergènes spécifiques Graminées, acariens, olivier, platane et profilines de pollens Atopique (prick-tests positifs cyprès Graminées, olivier, frêne)	
8,	F	27	Récidivants, à l'effort depuis 12 ans	Urticaire, rhinite pollinique (cyprès, Graminées)	Allergies alimentaires : tous prick-tests négatifs Cap Tri a 19, Pru p 1, Pru p 3, Pru p 4, Ara h 1, 2, 3, 8, 9 et Cap tomate, laitue, noisette : négatifs Tryptase sérique : 4,6 µg/L	Non fait	ISAC : pectate lyases Cry j 1 : 4,2 ISU et Cup a 1 : 7 ISU	

\* C. Drouet, Laboratoire d'exploration des angioedèmes, CHU Grenoble.

Élimination d'auto-immunité, de gammopathie monoclonale, d'infections virales chroniques, de déficit en inhibiteur C1 estérase, mastocytose, syndrome carcinoïde, phéochromocytome, parasitoses tissulaires, allergies alimentaires (40 à 80 Prick-tests aux aliments naturels complétés par TPO aux quantités usuelles si aliments suspectés) (cas 1, 2, 3, 4, 6, 7).

considérés comme idiopathiques. Ultérieurement, le diagnostic d'anaphylaxie alimentaire tardive, aux viandes de mammifères, est suspecté et confirmé par la présence d'IgE anti-galactose alpha-1,3 galactose, à 90 kU/L [29,30]. Le test ISAC montre une monosensibilisation faible à n Bos d 4 (lactoferrine), suggérant l'identification d'IgE spécifiques à ces carbohydrates présents sur la molécule naturelle.

Une femme de 27 ans, atopique présente une polysensibilisation pollinique (cyprès, Graminées, olivier, frêne). Les prick-tests sont très positifs et le Cap aux pollens de genévrier est à 29,3 kU/L. Elle présente des CA récidivants induits par l'effort après légumes verts : tomate, carotte, concombre, laitue, maïs, haricot vert, pêche. Les prick-tests à ces légumes et pêche sont négatifs, ainsi que les Cap à ces sources allergéniques. Le test ISAC identifie une monosensibilisation aux pectates lyases de pollen de cyprès : 4,2 ISU et pollen de cèdre du Japon : 1,7 ISU. Deux hypothèses sont avancées : soit une sensibilisation à des allergènes végétaux de fruits et légumes homologues des pectates lyases, non encore connus, soit une co-sensibilisation, les allergènes alimentaires en cause étant différents et non caractérisés (ns LTP ?). La suspicion d'une sensibilisation croisée entre les pectates lyases de pollens de cyprès et cèdre du Japon et de divers fruits et légumes verts est soutenue par une étude montrant l'homologie d'un épitope entre un allergène de cyprès du Japon (Cha o 1) et un peptide de la banane [31].

ISAC a donc deux intérêts dans le diagnostic des chocs anaphylactiques idiopathiques.

En premier lieu, en l'absence d'atopie, il apporte un surcroît de sécurité au diagnostic, et invite à rechercher d'autres mécanismes qu'une libération de médiateurs IgE-dépendante. En second lieu, chez les sujets atopiques, il est prudent de ne pas attribuer à un ISAC négatif pour les aliments une valeur prédictive négative absolue d'allergie alimentaire. En effet il peut exister une IgE-réactivité à des allergènes alimentaires homologues d'allergènes polliniques, mais encore non caractérisés. D'autre part, le répertoire existant d'ISAC ne couvre pas l'étendue des allergènes alimentaires potentiels. De plus, l'IgE-réactivité aux aliments concerne des molécules ayant généralement subi une digestion physique, chimique, enzymatique : chez certains sujets la sensibilisation a trait à des épitopes modifiés par ces procédés ; dans ces cas, la sensibilité des tests cutanés ou biologiques aux aliments natifs est incertaine.

Une seconde indication est l'exploration de pathologies complexes dont on connaît déjà l'implication de multiples IgE-réactivités : polysensibilisations alimentaires détectées par prick-tests et/ou test biologique unitaire [32], dermatites atopiques sévères, œsophagites à éosinophiles.

### 3.2. Les dermatites atopiques

La polysensibilisation caractérise nombre de dermatites atopiques sévères. Dans ces cas, les tests cutanés sont impossibles. Le test ISAC offre une réponse adaptée. Chez l'adulte (région d'Aix La Chapelle) les sensibilisations les plus fréquentes sont obtenues pour les allergènes polliniques, les

moisissures : 90 % de sensibilisation à *Alternaria*, 50 % à *Aspergillus*, les épithélia animaux et les acariens (Tableau 2) [33].

Notre expérience portant sur 22 cas chez l'enfant (12 cas issus du CHU de Marseille et dix cas des centres hospitaliers de Nancy et Épinal) montre un profil de fréquence similaire pour les pollens de Graminées et les épithélia animaux, un peu moindre pour les pollens de Bétulacées, diminué de moitié pour les moisissures. La fréquence des anticorps anti-carbohydrates végétaux est similaire (15 et 20 %), ainsi que celle de Hev b 6 (15 et 10 %).

La différence est très marquée pour les allergènes alimentaires : la sensibilisation aux allergènes majeurs d'arachide est de 60 % chez l'enfant et 5 % chez l'adulte. Pour le soja, 20 à 40 % chez l'enfant, 0 % chez l'adulte. En ce

qui concerne la LTP de pêche, 30 % chez l'enfant, 5 % chez l'adulte alors que la différence était moins marquée pour la LTP d'armoise Art v 3. On observe la même différence pour le lait et l'œuf. La sensibilisation au sésame est équivalente. Cette comparaison, issue d'ISAC, est un argument pour soutenir l'importance des mécanismes de tolérance aux allergènes alimentaires, qui prennent effet au niveau du système immunitaire intestinal dès les premières années de vie vis-à-vis des allergènes entrant en contact avec cette muqueuse : on doit constater qu'il n'en va pas de même pour les allergènes aériens qui affrontent la muqueuse bronchique. . .

Il n'est pas encore possible de comparer des profils de sensibilisation entre le Sud et Nord de la France. On doit souligner que la relevance clinique des sensibilisations alimentaires n'est pas abordable par ISAC et que la prise en charge devra être déterminée, d'une part, par la corrélation de certaines d'entre elles avec les données cliniques, d'autre part, par des tests d'introduction orale standardisés.

Tableau 2

Fréquences comparées des sensibilisations dans la dermatite atopique de l'enfant et de l'adulte. Exploration par test ISAC.

Sources	Allergènes	Adultes (20 cas) %*	Enfants (22 cas) %
Graminées	Cyn d 1	75	68,2 (15)
	Phl p 1	65	81,8 (18)
Bouleau	Bet v 1	55	31,8 (7)
Aulne	Aln g 1	55	22,7 (5)
Noisetier	Cor a 1	55	27,3 (6)
Armoise	Art v 3	15	22,7 (5)
Alternaria	Alt a 1	90	36,4 (8)
Aspergillus	Asp f 6	50	18,2 (4)
Chat	Fel d 1	65	72,7 (16)
Chien	Can f 1	55	59 (13)
Acariens	Der p 2	65	63,6 (14)
	Der f 2	65	63,6 (14)
	Der p 1	60	50 (11)
	Der f 1	60	50 (11)
Latex	Hev b 6	15	9,1(2)
Bromélaïne	Ana c 2	15	18,2 (4)
Arachide	Ara h 1	5	59 (13)
	Ara h 2	5	59 (13)
	Ara h 3	5	54,5 (12)
	Ara h 8	50	36,4 (8)
Soja	Gly m 5	0	22,7 (5)
	Gly m 6	0	40,9 (9)
Noisette	Cor a 8	40	18,2 (4)
Sésame	Ses i 1	30	22,7 (5)
Noix de cajou	Ana o 2	15	4,6 (1)
Pêche	Pru p 3	5	27,3 (6)
Lait	Bos d 8	10	45,5 (10)
	Bos d 5	0	22,7 (5)
Oeuf	Gal d 1	15	54,5 (12)
	Gal d 2	10	45,5 (10)
	Gal d 3	10	22,7 (5)
Crevette	Pen a 1	10	18,2 (4)
Blé	Tri a 18	5	4,6 (1)
	Autres allergènes	0	18,2 (4)
Anisakis	Ani s 3	5	18,2 (4)
	Ani s 1	10	4,6 (1)

\* Ott H, Fölster-Holst R, Merk HF, Baron JM, Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis, Eur J Dermatol, 2010;20:54–61.

### 3.3. Les œsophagites à éosinophiles

Les œsophagites à éosinophiles sont une pathologie en plein développement. Plus fréquentes chez le nourrisson et le jeune enfant, elles s'accompagnent dans 60 % des cas d'IgE spécifiques à de multiples aliments [34]. L'implication de ces sensibilisations dans l'affection a été établie par l'amélioration remarquable obtenue par substitution au régime alimentaire d'une nutrition par acides aminés [35,36]. L'appréciation de l'implication clinique des sensibilisations ne repose que sur la survenue de phénomènes de blocage, ce qui minore certainement le nombre réel des polyallergies. L'âge progressant, la diversification alimentaire et la polysensibilisation augmentent, rendant plus difficiles d'appréciation le résultat de régimes d'éviction d'épreuve. Cependant, comme l'affection est durable malgré le traitement corticoïde [36], il est nécessaire d'obtenir une vision aussi exhaustive que possible des sensibilisations alimentaires, afin d'établir un régime d'éviction aussi proche que possible de la réalité des problèmes. Le test ISAC trouve ici une place de choix, car il constitue la base de l'institution de régimes alimentaires personnalisés.

Notre expérience, portant sur 11 cas, montre la fréquence de la sensibilisation à Bet v 1 et de ses homologues alimentaires, attire l'attention sur les protéines de stockage du soja Gly m 5 (beta conglycinine) et 6 (glycinine), et sur les protéines de transfert lipidique (ns LTP). De surcroît, dans un cas d'allergie clinique à tous les fruits et légumes crus, avec prick-tests positifs à tous, il en apporte l'explication en détectant une monosensibilisation à la seule famille des profilines (présentant une grande homologie dans tous les végétaux).

### 3.4. Les réactions adverses non immunologiques étendues à de multiples aliments

Les réactions adverses non immunologiques étendues à de multiples aliments caractérisent des pathologies névrotiques [37]. Le test ISAC contribue utilement au diagnostic.

#### 4. Indication du test ISAC pour l'aide au choix d'une immunothérapie adaptée au profil individuel d'IgE – réactivité

Le choix d'une immunothérapie aux pollens ou aux acariens, se fonde sur la comparaison de la réactivité aux allergènes spécifiques et aux allergènes croissants : concept de l'allergène « garde-barrière » [7,38].

Le problème des réactions croisées rend difficile le diagnostic de la relevance clinique d'une sensibilisation à différents pollens. Ce problème est évoqué couramment car 80 % des sujets allergiques aux Graminées ont des prick-tests positifs à d'autres pollens. Il est donc utile de différencier la sensibilisation aux allergènes spécifiques d'une espèce pollinique, comme Bet v 1, Phl p 1 et 5, Ole e 1, Par j 2, de celle aux allergènes croissants, présents dans différentes espèces, non obligatoirement relevante. Phl p 1 (expansine) et Phl p 5 (ribonucléase) sont spécifiques. Phl p 7 (profiline) et Phl p 12 b (polcalcine) ont une RC avec d'autres pollens [19]. Dès lors l'IT aux Graminées est proposée sur le vu de la sensibilisation aux seuls allergènes spécifiques. Inversement, il est important de ne pas entreprendre d'IT chez des patients dont le profil de sensibilisation ne comporte que des IgE aux allergènes croissants, car l'inefficacité a été constatée [16].

Lorsque les prick-tests ou les tests biologiques unitaires sont positifs à d'autres pollens, les allergènes croissants présents indiquent la possibilité d'une réaction croisée qui peut ne pas être cliniquement relevante. Si ces allergènes croissants sont absents, une vraie co-sensibilisation aux autres pollens est plausible et peut conduire à la prendre en considération [8].

Dans le cas du frêne, la pollinisation est simultanée avec celle du bouleau. On ne peut statuer par la clinique et les prick-tests sont couramment positifs aux deux. En effet, la réactivité croisée est importante, liée à Fra e 2, 3, 4 respectivement homologues de Bet v 2, 4, 6. Le choix d'une IT soit au bouleau soit au frêne soit aux deux repose sur la comparaison des résultats de Bet v 1 et Ole e 1 (ce dernier rendant compte de l'IgE-réactivité vis-à-vis de l'allergène spécifique du frêne, Fra e 1, en raison d'une identité de 81 à 92 %), sans correspondance avec le pollen de bouleau [39].

Dans le cas des acariens, la coexistence d'une sensibilisation à Der p 1 et Der p 2 avec absence de Der p 10 augurerait d'une bonne efficacité de l'IT, alors que le profil inverse ne serait pas favorable [9]. Cela doit être nuancé : un sujet allergique aux acariens qui serait par ailleurs allergique aux crustacés, pourrait avoir une positivité de Der p 10 par RC et non pas tributaire spécifiquement de l'acarien. Il resterait à prouver que l'IT aux acariens aurait un effet médiocre : ce cas particulier n'a pas été envisagé...

#### 5. Considérations sur les restrictions actuelles d'utilisation

Les restrictions actuelles d'utilisation reposent sur quatre constatations : les réactivités croisées non cliniquement relevantes, les allergènes inopérants ou n'apportant pas d'utilité diagnostique, les allergènes pour lesquels l'ISAC n'apporte pas

un surcroît d'informations par rapport aux tests unitaires disponibles. Enfin, des sources allergéniques sont insuffisamment représentées ou ne le sont pas du tout.

##### 5.1. Les réactivités croisées non cliniquement relevantes

Il est courant d'observer une multipositivité à tous les homologues de Bet v 1 chez les sujets sensibilisés à Bet v 1. Chez des sujets allergiques au pollen de bouleau avec ou sans allergie à la pomme, les positivités enregistrées dans la famille PR-10 ne sont pas cliniquement relevantes et le taux d'IgE spécifiques aux homologues de Bet v 1 n'a qu'une tendance non significative à atteindre des valeurs plus élevées chez les allergiques alimentaires [40]. L'étude de Villalta sur 42 patients allergiques au pollen de bouleau, et sensibilisés exclusivement à Bet v 1 (Bet v 2 et Bet v 4 négatifs), dont on connaît chez 19 l'absence de sensibilisation et d'allergie aux Prunoïdées et Apiacées, et chez 23 sujets, des allergies alimentaires, confirme cette assertion, en l'étendant à l'ensemble des Prunoïdées [41]. Toutefois si Bet v 1 est négatif, une positivité isolée à l'un ou l'autre homologue attirerait l'attention sur une sensibilisation primaire à l'aliment concerné (kiwi, céleri, carotte...)

De même, la réactivité croisée est très fréquente entre les tropomyosines d'acarien (Der p 10) de blatte (Bla g 7), de crevette (Pen a 1) et d'anisakis (Ani s 3), si bien que dans certains cas d'allergie aux acariens, la positivité de Pen a 1 et Ani s 3 n'a aucune spécificité...

##### 5.2. Certains allergènes sont inopérants

La recherche d'anticorps anti-carbohydrate par Ana c 2 (bromélaïne) est déficiente car positive dans 10 % de 29 cas de polysensibilisation, alors que la fréquence attendue est de 71 % [2,3].

Le diagnostic de l'allergie au kiwi n'est pas abordable actuellement par la biologie : Act d 8 (famille PR 10) traduit une réactivité croisée avec Bet v 1. Act d 1 (actinidine) est plus souvent positif chez les sujets sensibilisés avec prick test positif que chez les allergiques vrais. Il n'y a pas de différences significatives pour Act d 2 et Act d 5 entre les sujets sensibilisés et allergiques vrais [42].

Dans le cas de l'allergie au latex, les avis sont partagés. Une étude sur 52 cas montre que la combinaison de Hev b 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11 offre une sensibilité de 87 %, versus une sensibilité du CAP au latex de 98 % [43]. Dans l'étude d'Ebo, la combinaison de Hev b 1.3.5.6 offre une sensibilité et une spécificité de 100 % [44].

##### 5.3. ISAC ne rend pas un service supérieur au CAP unitaire

ISAC ne rend pas un service supérieur au CAP unitaire pour le poisson, le lait, l'œuf [18], la noisette [12] et d'une manière générale lorsque l'on considère des allergènes issus de sources allergéniques complexes, générant des profils de sensibilisation individuels variés. Il ne permet pas la discrimination de sensibilisations croisées non cliniquement relevantes et

Tableau 3

Sensibilisation à la farine de blé explorée par test ISAC chez 13 patients.

N°	DA ou OE	AA ou S° blé	PT blé	PT gluten	PT fractions allergéniques du blé (mm)	Cap (U/L)		Elisa	TPO farine de blé (g)	ISAC (ISU)			
						IgE blé	IgE gluten			Tri a 18 (agglutinin isolectin)	Tri a gliadin (crude gliadin)	Tri a 19,0101 (omega 5 gliadine)	Tri a aA_TI (Inhibiteur Alpha amylase)
1	DA	AA	9	7	α gliadine = 8,5 β gliadine = 1 γ gliadine = 0,5 ω lentes = 2 BPM = 2 autres = négatifs	3,8	nf	α gliadine = 29 β gliadine = 4 ALB/GLO = 29 Gliadines = 3 Autres = négatifs	2 positif	0	0	0	0
2	OE	AA	3,5	nf	α gliadine = 6,5 LTP = 4,5	56	18	α gliadine = 20 β gliadine = 12 γ gliadine = 2 Gluténines BPM = 3 LTP = 8 ALB/GLO = 14 Glia totales = 7 Autres = négatifs	10 positif	0	0,53	0	2,48
3	OE	AA en cours tolérance	4	2,5	nf	8,9	nf	α gliadine = 14 LTP = 19 ALB/GLO = 12 Autres = négatifs	4,5 négatif	0	0	0	0
4	OE	AA	0	nf	nf	5,2	nf	nf	14 positif	0	0	0	0
5	OE	S	3	3	ALB/GLO = 5 α gliadine = 5 β gliadine = 3,5 ω lentes = 2,5 Gluténines BPM = 3 LTP = 2,5	nf	nf	α gliadine = 0,5 β gliadine = 0,5 ALB/GLO = 12	nf	0	0	0	0
6	OE	S	+	+	LTP : +		nf	ALB/GLO = 201 α gliadine = 141 β gliadine = 126 γ gliadine = 49 ω lente = 9 ω 5 gliadine = 42 Gluténines BPM = 133 LTP = 154 Glia totales = 201	nf	0	1,32	0,59	2,56
7	OE	S	0	nf	nf	1,01	nf		nf	0	0	0	0
8	OE	S	0	nf	nf	2,2	nf		nf	0	0	0	0
9	DA	nd	nf	nf	nf	nf	nf	AL GL = 65	nf	0	0	0	0
10	DA	S	+	nf	nf	nf	nf	Toutes fractions = nég	nf	0	0	0	0
11	DA	S	3,5	nf	nf	nf	nf		nf	1	0	0	0
12	OE	S	2	nf	nf	nf	nf		nf	0	0	0	0
13	DA	nd	0	nf	nf	nég	nf		30 : nég	0	1,9	0	0

DA : dermatite atopique, OE : œsophagite à éosinophiles, AA : allergie alimentaire, S : sensibilisation objectivée par prick test ou IgE spécifiques par Cap, AL GL : albumines/globulines, BPM : gluténines de bas poids moléculaire, LTP : protéine de transfert lipidique, nd : non déterminé par prick-test et Cap farine de blé gluten, nf : non fait.



d'allergies alimentaires chez les sujets allergiques aux pollens, pour : la carotte, la noisette, céleri [12,45,46].

#### 5.4. Les sources allergéniques insuffisamment représentées

La demande d'une extension progressive reposera sur l'expérience des cliniciens, assurant une représentation de lieux géographiques différents, et sur la caractérisation de nouveaux allergènes majeurs.

Dans l'allergie à l'arachide, il a été montré qu'Ara h 2 est sensible et spécifique [47–49]. Les allergiques sont fréquemment co-sensibilisés à Ara h 1 et Ara h 3 [48,50]. Cependant ces allergènes majeurs ne rendent compte que de 4,8 % des allergies à l'arachide dans la population italienne [51]. Dans cette population, la LTP, Ara h 9, est présente dans 45 % des cas. Ce n'est pas un marqueur spécifique d'allergie puisque présente dans 26,7 % des cas de patients allergiques à la pêche sensibilisés à Pru p 3 [49]. L'importance d'Ara h 6 comme allergène majeur (92 % des cas d'allergie en France) est soulignée par l'étude montrant sa spécificité de 92 % [48]. Sa représentation dans les populations du Sud n'est pas encore connue. L'inclusion d'Ara h 6 et 7 serait utile, pour affiner les différences de profils selon les populations non semblables d'Espagne, Etats-Unis, Suède et France [50–52].

L'expérience que nous avons par l'exploration des polysensibilisations et des allergies alimentaires certaines montre que différentes autres sources ne sont pas suffisamment représentées.

Le blé est exploré par l'agglutinine nTri a 18, l'oméga 5 gliadine rTri a 19, des inhibiteurs d'alpha-amylase (nTri a aA TI) et les gliadines (nTri a gliadin). Le diagnostic de sensibilisation sur 13 cas n'a pu être confirmé par ces allergènes que dans quatre cas (Tableau 3). L'adjonction de la nsLTP (Tri a 14) serait nécessaire : il s'agit d'un allergène majeur de l'allergie alimentaire au blé, également impliqué dans l'allergie alimentaire à l'effort [53–55], et cité depuis peu dans l'asthme du boulanger [56]. Il serait également nécessaire de disposer de la fraction albumines/globulines de la farine de blé, à laquelle plus de 80 % des enfants allergiques au blé sont sensibilisés [53], et qui contient d'autres allergènes que la LTP et les inhibiteurs d'alpha-amylase [57].

De même, les performances sont insuffisantes pour la crevette pour laquelle il conviendrait de disposer de l'arginine-kinase, allergène mineur [58], pour la noix de cajou (Ana o 3 est requise). Pour l'œuf, l'adjonction de lysozyme Gal d 4 pourrait être utile quoiqu'une étude indique une déficience de réactivité en test ISAC, par comparaison avec le CAP unitaire [18].

Dans le cas du pollen d'olivier, des allergènes paraissent importants Ole e 7 (nsLTP) et Ole e 11 (pectine méthylestérase) [59].

#### 5.5. Sources allergéniques encore non représentées

En matière d'allergie alimentaire, il serait nécessaire de disposer des allergènes majeurs et spécifiques des aliments dont le risque d'anaphylaxie sévère est démontré : moutarde, lupin, lentilles, noix, amande, sarrasin, maïs, du déterminant

galactose alpha-1,3 galactose [29]. Le diagnostic d'allergie aux légumineuses et aux laits de chèvre-brebis n'est actuellement pas accessible.

## 6. ISAC appliqué à la recherche

Des études épidémiologiques ont été déjà entreprises. L'analyse de sérums de 23 077 patients italiens consultant, il est vrai, dans des centres d'allergologie, a montré que 71 % des sérums contenaient des IgE spécifiques à au moins un allergène [60]. Les plus fréquents sont Cup a 1 (42,7 %), Der f 2 (38,7 %), Phl p 1 (37,9 %) Le premier allergène alimentaire est Pru p 3 (9,8 %). Des différences relatives caractérisent des groupes d'âge [60].

ISAC sera également appliqué à l'étude de l'apparition d'IgG4 spécifiques induites par des immunothérapies.

Les ISAC-inhibitions pourraient contribuer à l'analyse des réactivités croisées (RC), à l'appui du test d'activation des basophiles. Il vient d'être montré par ces méthodes conjointes que la nsLTP de mûre (*Morus spp*) a une forte RC avec les nsLTP de pêche, noisette, armoise, et que cet allergène a bien une activité biologique, lorsqu'il est testé chez des sujets allergiques à Pru p 3 [61].

## 7. Conclusions

À côté des avancées qu'a apporté le test d'activation des basophiles, le test ISAC offre un espoir certain d'approfondissement. Toutefois, étant donné la multiplicité des informations et la nécessité des connaissances sur les allergènes spécifiques et les allergènes croisés, le test ISAC ne saurait être un test de dépistage, ni même de première intention [62–64].

Le test ISAC se positionne comme la biologie d'avenir en allergologie. Dès lors il devra tenir compte des attentes des cliniciens. En matière de diagnostic, le problème est aigu pour l'allergie alimentaire. Les résultats attendus sont la limitation des moyens invasifs de diagnostic, encore actuellement indispensables, que sont les tests d'introductions réalistes en double insu. Les autres exigences des cliniciens sont de disposer de modèles probabilistiques de prédiction de la persistance d'une allergie, comme de sa sévérité. Le problème a été abordé par le diamètre des prick-tests et le taux des IgE spécifiques à la source allergénique. Des valeurs prédictives intéressantes d'allergie ont été établies, mais elles sont variables selon les populations [65–67].

Ces problèmes ne pourront trouver une solution satisfaisante que par la constitution d'un système expert d'informations qui sera la véritable aide au diagnostic du futur [68,69].

Ce système expert sera construit sur la prise en compte des multiples données du test ISAC : combinaisons des allergènes d'une source et intensités de fluorescence. Mais ces données biologiques n'auront de sens qu'appariées à des données cliniques très précises concernant la pathologie allergique, sa persistance, le risque de sévérité d'après la gravité de la maladie chronique ou celle d'une réaction aiguë antérieure. Les données biologiques devraient être analysées selon un score d'imputabilité clinique qu'il serait nécessaire de déterminer par un

consensus. Cette association stricte des données biologiques et cliniques n'est pas encore abordée. Le traitement de ces données appariées, par des moyens mathématiques complexes aboutissant à des systèmes experts d'information, justifiera l'expansion, et dirigera l'avenir des micro-assays comme ISAC [69,70].

## Remerciements

Nous remercions le laboratoire Phadia France pour l'aide apporté à la réalisation des tests ISAC au laboratoire Genclis (B. Bihain).

## Références

- [1] Jenkins JA, Griffiths-Jones S, Shewry PR, Breiteneder H, Mills EN. Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an in silico analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:163–70.
- [2] Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:286–95.
- [3] Malandain H, Giroux F, Cano Y. The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2007;39:216–20.
- [4] Hemmer W, Focke M, Kolarich D, Wilson IB, Altmann F, Wöhrl S, et al. Antibody binding to venom carbohydrates is a frequent cause for double positivity to honeybee and yellow jacket venom in patients with stinging-insect allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:1045–52.
- [5] 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;100:327–34.
- [6] Heiss S, Mahler V, Steiner R, Spitzauer S, Schweiger C, Kraft D, et al. Component-Resolved diagnosis (CRD) of type I allergy with recombinant grass and tree pollen allergens by skin testing. *J Invest Dermatol* 1999;113:830–7.
- [7] Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CDR and CRIT). *Clin Exp Allergy* 1999;29:896–904.
- [8] Casquete-Roman E, Rosado-Gil T, Postigo I, Pérez-Vicente R, Fernandez M, Torres HE, et al. Contribution of molecular diagnosis of allergy the management of pediatric patients with allergy to pollen. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2009;19:439–45.
- [9] 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;34:597–603.
- [10] Movérare R, Werstritschnig K, Svensson M, Hayek B, Bende M, Pauli G, et al. Different IgE reactivity profiles in birch pollen-sensitive patients from six European populations revealed by recombinant allergens: an imprint of local sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:325–35.
- [11] Gamboa PM, Sanz ML, Lombardero M, Barder D, Sanchez-Monje R, Goikoetxea MJ, et al. Component-resolved in vitro diagnosis in peach-allergic patients. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2009;19:13–20.
- [12] Hansen KS, Ballmer-Weber BK, Sastre J, Lidholm J, Andersson K, Oberhofer H, et al. Component-resolved in vitro diagnosis of hazelnut allergy in Europe. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:1134–41.
- [13] Wiltshire S, O'Malley S, Lambert J, Kukanskis K, Edgar D, Kingsmore SF, et al. Detection of multiple allergen-specific IgEs on microarrays by immunoassay with rolling circle amplification. *Clin Chem* 2000;46:1990–3.
- [14] Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt WM, Twardosz A, et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J* 2002;16:414–6.
- [15] Jahn-Schmid B, Harwanegg C, Hiller R, Bohle B, Schneiner O, et al. Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1443–9.
- [16] Hochwallner H, Schulmeister U, Swoboda I, Balic N, Geller B, Nystrand M, et al. Microarray and allergic activity assessment of milk allergens. *Clin Exp Allergy* 2010. doi: 10.1111/j.1365-2222.2010.03602.x.
- [17] Lucas JM. Microarrays: molecular allergology and nanotechnology for personalised medicine. *Allergol Immunopathol* 2010;38:153–61.
- [18] Ott H, Baron JM, Heise R, Ocklenburg C, Stanzel S, Merk HF, et al. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy* 2008;63:1521–8.
- [19] Wöhrl S, Vigl K, Zehetmayer S, Hiller R, Jarish R, Prinz M, et al. The performance of component-based allergen-microarray in clinical practice. *Allergy* 2006;61:633–9.
- [20] Ott H, Schröder CM, Stanzel S, Merk HF, Baron JM. Microarray-based IgE detection in capillary blood samples of patients with atopy. *Allergy* 2010;61:1146–7.
- [21] Valenta R. Diagnosis tests based on recombinant allergens: assistants for the selection of allergy therapies. *New Horizons* 2002;1:1–6.
- [22] Moneret-Vautrin DA. Idiopathic anaphylaxis. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2004;36:13–9.
- [23] Greenberger PA. Idiopathic anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007;27:273–93.
- [24] Alvarez-Twose I, González de Olano D, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Esteban-López MI, Vega A, et al. Clinical, biological, and molecular characteristics of clonal mast cell disorders presenting with systemic mast cell activation symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2010;12:1269e2–78e2.
- [25] Moneret-Vautrin A. Letter to the editor regarding the article entitled: "idiopathic capillary leak syndrome". *Rev Med Interne* 2010;31:180.
- [26] Sonin L, Grammer LC, Greenberger PA, Patterson R. Idiopathic anaphylaxis: a clinical summary. *Ann Intern Med* 1983;99:634–5.
- [27] Bork K, Wulff K, Hardt J, Witzke G, Staubach P. Hereditary angioedema caused by missense mutations in the factor XII gene: clinical features, trigger factors, and therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:129–34.
- [28] Drouet C, Désormeaux A, Robillard J, Ponard D, Bouillet L, Martin L, et al. Metallopeptidase activities in hereditary angioedema: effect of androgen prophylaxis on plasma aminopeptidase P. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:429–33.
- [29] Commins SP, Satinover SM, Hosen J, Mozena J, Borish L, Lewis BD, et al. Delayed anaphylaxis, angioedema, or urticaria after consumption of red meat in patients with IgE antibodies specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:426–33.
- [30] Jacquenet S, Moneret-Vautrin DA, Bihain BE. Mammalian meat-induced anaphylaxis: clinical relevance of anti-galactose-alpha-1,3-galactose IgE confirmed by means of skin tests to cetuximab. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:603–5.
- [31] Nakamura Y, Takagi S, Suzuki M, Ito H, Murakami S, Ohta N. Survival of memory T cells specific for Japanese cypress pollen allergen is maintained by cross-stimulation of putative pectate lyases from other plants. *Allergy* 2001;56:385–92.
- [32] Pauli G, Chivato T. Allergologie moléculaire en pratique : à propos d'un patient polysensibilisé présentant plusieurs allergies alimentaires sévères. *Rev Fr All* 2010;50:513–5.
- [33] Ott H, Fölster-Holst R, Merk HF, Baron JM. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatol* 2010;20:54–61.
- [34] Erwin EA, James HR, Gutekunst HM, Russo JM, Kelleher KJ, Platts-Mills TAE. Serum IgE measurement and detection of food allergy in pediatric patients with eosinophilic esophagitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;104:496–502.
- [35] Kelly KJ, Lazenby AJ, Rowe PC, Yardley JH, Perman JA, Sampson HA. Eosinophilic esophagitis attributed to gastroesophageal reflux: improvement with an amino acid-based formula. *Gastroenterology* 1995;109:1503–12.

- [36] Spergel JM, Brown-Whitehorn TF, Beausoleil JL, Franciosi J, Shuker M, Verma R, et al. 14 years of eosinophilic esophagitis: clinical features and prognosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;48:30–6.
- [37] Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Sans O. Troubles des conduites alimentaires et allergies alimentaires. *Rev Fr All* 2008;48:498–501.
- [38] Valenta R, Twaroch T, Swoboda I. Component-resolved diagnosis to optimize allergen-specific immunotherapy in the Mediterranean area. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007;17:88–92.
- [39] Hemmer W, Focke M, Wantke F, Götz M, Jarisch R, Jäger S, et al. Ash (*Fraxinus excelsior*)-pollen allergy in central Europe: specific role of pollen panallergens and the major allergen of ash pollen Fra e 1. *Allergy* 2000;55:923–30.
- [40] Ebo DG, Bridts CH, Verweij MM, De Knop KJ, Hagendorens MM, De Clerck LS, et al. Sensitization profiles in birch pollen-allergic patients with and without oral syndrome to apple: lessons from multiplexed component-resolved allergy diagnosis. *Clin Exp Allergy* 2010;40:339–47.
- [41] Villalta D, Asero R. Is the detection of IgE to multiple Bet v 1-homologous food allergens by means of allergen microarray clinically useful? *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1158–61.
- [42] Bublin M, Pfister M, Radauer C, Oberhuber C, Bulley S, DeWitt AM, et al. Component-resolved diagnosis of kiwifruit allergy with purified natural and recombinant kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:687–94.
- [43] Ott H, Schröder C, Raulf-Heimsoth M, Mahler V, Ocklenburg C, Merk HF, et al. Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: a novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:129–38.
- [44] Ebo DG, Hagendorens MM, De Knop KJ, Verweij MM, Bridts CH, et al. Component-resolved diagnosis from latex allergy by microarray. *Clin Exp Allergy* 2009;40:348–58.
- [45] Ballmer-Weber BK, Wangorsch A, Bohle B, Kaul S, Kündig T, Fötisch K, et al. Component-resolved in vitro diagnosis in carrot allergy: does the use of recombinant carrot allergens improve the reliability of the diagnostic procedure? *Clin Exp Allergy* 2005;35:970–8.
- [46] Bauermeister K, Ballmer-Weber BK, Bublin M, Fritsche P, Hanschmann KMO, Hoffmann-Sommergruber K, et al. Assessment of component-resolved in vitro diagnosis of celeriac allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1273–81.
- [47] 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;118:250–6.
- [48] Asarjov A, Movérare R, Ostblom E, Poorafshar M, Lilja G, Hedlin G, et al. IgE to peanut allergen components: relation to peanut symptoms and pollen sensitization in 8-year-olds. *Allergy* 2010;65:1189–95.
- [49] Nicolaou N, Poorafshar M, Murray C, Simpson A, Winell H, Kerry G, et al. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:191–197e1–13.
- [50] Codreanu F, Collignon O, Roitel O, Thouvenot B, Sauvage C, Vilain AC, et al. A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:216–26.
- [51] Krause S, Reese G, Radow S, Zennaro D, Quarantino D, Palazzo P, et al. Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:771–8.
- [52] Vereda A, Van Hage M, Ahlstedt S, Ibanez MD, Cuesta-Herranz J, Van Odijk J et al. Peanut allergy: clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J Allergy Clin Immunol* 2010. doi:10.1016/j.jaci.2010.09.010.
- [53] Battais F, Courcoux P, Popineau Y, Kanny G, Moneret-Vautrin DA, Denary-papini S. Food allergy to wheat: differences in immunoglobulin E-Binding proteins as a function of age symptoms. *J Cereal Sci* 2005;42:109–17.
- [54] Pastorello EA, Farioli L, Conti A, Pravettoni V, Bonomi S, Iametti S, et al. Wheat IgE-mediated food allergy in European patients: alpha-amylase inhibitors, lipid transfer proteins and low-molecular-weight glutenin-allergenic molecules recognized by double-blind, placebo-controlled food challenge. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;144:10–22.
- [55] Palacin A, Bartra J, Muñoz R, Diaz-Perales A, Valero A, Salcedo G. Anaphylaxis to wheat flour derived foodstuffs and the lipid transfer protein syndrome: a potential role of wheat lipid transfer protein n Tri a 14. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152:178–83.
- [56] Palacin A, Varela J, Quirce S, Del Pozo V, Tordesillas L, Barranco P, et al. Recombinant lipid transfer protein Tri a 14: a novel heat and proteolytic resistant tool for the diagnosis of baker's asthma. *Clin Exp Allergy* 2009;39:1267–76.
- [57] Tatham AS, Shewry PR. Allergens to wheat and related cereals. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1712–26.
- [58] Yu CJ, Lin YF, Chiang BL, Chow LP. Proteomics and immunological analysis of novel shrimp allergen Pen m 2. *J Immunol* 2003;170:445–53.
- [59] Salamanca G, Rodríguez R, Quiralte J, Moreno C, Pascual CY, Barber D, et al. Pectin methylesterases of pollen tissues, a major allergen in olive tree. *The FEBS Journal* 2010;277:2729–39.
- [60] Scala E, Alessandri C, Bernardi ML, Ferrara R, Palazzo P, Pomponi D, et al. Cross-sectional survey on immunoglobulin E reactivity in 23,077 subjects using an allergenic molecule-based microarray detection system. *Clin Exp Allergy* 2010;40:911–21.
- [61] Ciardiello MA, Palazzo P, Bernardi ML, Carratore V, Giangrieco I, Longo V, et al. Biochemical, immunological and clinical characterization of a cross-reactive non-specific lipid transfer protein I from mulberry. *Allergy* 2010;65:597–605.
- [62] De Knop KJ, Bridts CH, Verweij MM, Hagendorens MM, De Clerck LS, Stevens WJ, et al. Component-resolved allergy diagnosis by microarray: potential, pitfalls and prospects. *Adv Clin Chem* 2010;50:87–101.
- [63] Knol EF, Knulst AC. Application of multiplexed immunoglobulin E determination on a chip in component-resolved diagnostics in allergy. *Clin Exp Allergy* 2010;40:190–2.
- [64] Salcedo G, Diaz-Perales A. Component-resolved diagnosis of allergy: more is better? *Clin Exp Allergy* 2010;40:836–8.
- [65] Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:891–6.
- [66] Hill DJ, Heine RG, Hosking CS. The diagnostic value of skin prick testing in children with food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:435–41.
- [67] Celik-Bilgili S, Mehl A, Verstege A, Staden U, Nocon M, Beyer K, et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral food challenges. *Clin Exp Allergy* 2005;35:268–73.
- [68] Harwanegg C, Laffer S, Hiller R, Mueller MW, Kraft D, Spitzauer S, et al. Microarrayed recombinant allergens for diagnosis of allergy. *Clin Exp Allergy* 2003;33:7–13.
- [69] Collignon O, Monnez JM, Vallois P, Codreanu F, Renaudin JM, Kanny G et al. Discriminant analyses of peanut allergy severity scores. *J Appl Stat* 2010. doi:10.1080.
- [70] Krogh A. What are artificial neural networks? *Nature Biotechnology* 2008;26:195–7.