



Pôle de Biologie Pathologie Génétique

Biologie Spécialisée CHRU de Lille

//

4 juillet 2012

JUILLET-AOÛT 2012

En raison des fériés des **samedi 14 juillet et mercredi 15 août 2012**, nous vous rappelons de ne pas prélever ni transmettre d'échantillons les **vendredi 13 juillet et mardi 14 août 2012**, pour les analyses suivantes :

- Culture virale
- G6PD
- Pyruvate kinase
- Immunophénotypage lymphocytaire

juillet 2012

l	m	m	j	v	s	d
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31					

août 2012

l	m	m	j	v	s	d
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		

PRE-ANALYTIQUE

Rappel : Le dosage des **métaux** est à effectuer impérativement sur des **tubes à prélèvements GREINER BIO-ONE Référence 456080**. Ils sont **disponibles sur demande par fax auprès du secrétariat médical**.

ANALYSES :

**Fièvre Méditerranéenne Familiale ou Maladie Périodique (FMF),
Cryopyrinopathie, Muckle Wells Syndrome (CAPS) :**

Prélever **2 tubes de 5ml de sang EDTA**, à transmettre à **4°C**

Cotation : FMF : 124 €, CAPS : 315 €

Délai : FMF : 15 jours , CAPS : 30 jours

Les documents suivants doivent être joints impérativement aux prélèvements :

- le formulaire de demande d'analyse génétique : Prescription avec nom, coordonnées complètes et signature du médecin demandeur
- la fiche de renseignements cliniques remplie par le médecin demandeur
- le consentement éclairé (ou une attestation) signé par le patient ou son représentant légal (téléchargeable sur le site internet).
- L'arbre généalogique du patient mentionnant les membres de la famille éventuellement atteints, la consanguinité si elle existe, et les origines géographiques/ethniques des deux parents

NOUVELLE ANALYSE

Séquençage du virus de l'hépatite C pour rechercher des mutations de résistance aux antiprotéases. Cette analyse est réservée aux patients infectés par VHC de génotype I traités par télaprévir, bocéprévir.

Prélèvement : 2 ml de plasma EDTA décanté stérilement et congelé.

Cotation : BHN690 (NI41)

ACTUALITE MEDICALE

Vous trouverez en annexe la fiche: **"NOUVELLE AIDE AU DIAGNOSTIC : ImmunoCAP® ISAC I 12"**



NOUVELLE AIDE AU DIAGNOSTIC :

ImmunoCAP® ISAC I12

Institut d'Immunologie

Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille



Centre Hospitalier Régional
Universitaire de Lille

La prévalence et la gravité des allergies sont en constante augmentation, notamment chez l'enfant ; L'identification des patients présentant un risque élevé de réactions systémiques est une question clinique fondamentale en matière d'allergie alimentaire. Devant une suspicion clinique d'allergie alimentaire, à l'issue du bilan allergologique standard comportant des tests cutanés et/ou la recherche et le dosage des IgE spécifiques, 10 à 25% des patients restent sans confirmation diagnostique (Sicherer SH, Sampson HA. *Food allergy. J Allergy Clin Immunol* 2010 ;125 :S116-25) (Vandenplas Y, Brueton M, Dupont C, Hill D et al. *Arch Dis Child* 2007 ;92 :902-8).

La complexité intrinsèque des allergènes et les différences de profil des spécificités des IgE d'un patient à l'autre compliquent l'établissement de relations entre les résultats des tests basés sur des extraits et certains phénomènes cliniques tels que les réactions croisées. Les techniques de biologie moléculaire ont permis d'améliorer nos connaissances et la compréhension de la pertinence clinique des réponses IgE vis-à-vis des différents composants des extraits allergéniques tels que ceux des pollens et des aliments d'origine végétale.

Aux côtés du dosage des immunoglobulines E spécifiques sériques qui gardent leur place d'examen de référence et s'enrichissent avec les protéines moléculaires individuelles, sont proposées désormais des micropuces à allergènes. La technique micro-array a permis de fixer des microquantités de peptides allergéniques sur un support de verre (Hiller R, Laffer et al., *FASEB* 2002). Les biopuces à IgE développées initialement par VBC Genomics le sont actuellement par Phadia « ImmunoCAP® ISAC » (Immuno Solid-Phase-Allergen Chip).

Chaque lame est une plateforme d'immunodosage miniaturisé où sont effectuées des détections d'IgE spécifiques pour trois patients (1 cm² par patient). 51 sources allergéniques sont testées en une seule fois, elles correspondent à **112 composants allergéniques purifiés ou recombinants**. Chaque dosage est effectué trois fois.

Seuls **30µl de sérum** sont nécessaires, une lecture est réalisée par laser. Les résultats obtenus sont semi-quantitatifs exprimés en unités arbitraires nommées ISU (Isac Standard Units) avec une sensibilité analytique à 0,30 ISU.

LA BIOPUCE ISAC®

Apporte un plus grand nombre de détections d'IgE spécifiques à des allergènes, et permet d'avoir une vue d'ensemble très détaillée des sensibilisations primaires et croisant. Ce test permet d'obtenir des spectrotypes par famille de protéines (végétales le plus souvent : famille PR10, LTP, profilines). Plusieurs sources sont représentées par plusieurs allergènes.

L'interprétation de ce test reste complexe et la **prescription** doit être bien définie :

- Patient polysensibilisé dont le substrat moléculaire reste flou malgré une exploration préalable orientée.
- Profil moléculaire non accessible à l'exploration unitaire et dont l'élucidation est importante pour la prise en charge clinique.
- Chocs d'allure anaphylactique répétés, non élucidés par une enquête minutieuse et des tests orientés.
- Lorsque les symptômes et l'histoire clinique sont contradictoires.
- Patient polysensibilisé ne répondant pas de façon satisfaisante au traitement.

Le risque d'apparition d'un asthme dépend de la diversité des spécificités des IgE dans le profil de sensibilisation du patient allergique. De plus, un patient polysensibilisé présente un risque accru d'activation des cellules effectrices en cas d'exposition à plusieurs allergènes du fait de l'accroissement du nombre de pontages des IgE à la surface des cellules. D'où l'importance de connaître **le profil de sensibilisation du patient**, et de l'analyser en rapport avec l'exposition réelle aux allergènes puisque chaque spécificité d'IgE accroît le processus d'activation des cellules si l'antigène est présent.

La biopuce est également un **outil épidémiologique** remarquable : permettant d'établir des profils de sensibilisation propres à des régions différentes n'ayant pas le même environnement allergénique. Un exemple bien connu est celui des sensibilisations polliniques dans les régions méditerranéennes, tel que le cyprès et l'olivier, et des sensibilisations aux LTP, en fort contraste avec les sensibilisations polliniques et alimentaires rencontrées dans le nord de l'Europe. A partir de ces données, il devient également possible d'évaluer la prévalence des sensibilisations de certains composants moléculaires en fonction de l'âge, du sexe...

Ci-après un tableau des principales familles moléculaires décrites et accessibles par le diagnostic *in vitro* : L'intérêt de leur recherche et leur implication en pathologie

PRINCIPALES FAMILLES D'ALLERGENES MOLECULAIRES :

Famille de protéines	Sensibilité à la chaleur et aux protéases	Exemples de source allergéniques	Expression clinique
Protéines de stockage (albumine 2S, globulines 7S/I IS)	stables*	Amandes/noix/grains : par ex arachide/soja, fruits à coque, graines, céréales	Réactions systémiques courantes
nsLTP (non-specific Lipid Transfer Protein)	stables*	<i>Bétulacées</i> : hazelnut <i>Rosacées</i> : pomme, cerise, pêche, ... Autres : maïs, arachide, orge, raisin, chou	Réactions systémiques courantes
PROTEINES PR-10 (homologues de Bet v I) :	sensibles**	<i>Bétulacées</i> : noisette <i>Rosacées</i> : pomme, cerise, pêche, etc... <i>Apiacées</i> : carotte, céleri, fenouil, persil <i>Fabacés</i> : arachide, soja, haricot mungo	Principalement syndrome oral
PROFILINES	sensibles	Largement répandues dans les plantes, typiquement : agrumes, melon, bananes, tomates	Principalement syndrome oral
TROPOMYOSINES	stables*	Protéine des fibres musculaires, marqueurs de réactivité croisée entre crustacés, acariens et blattes	Réactions systémiques courantes
PARVALBUMINES	stables*	Allergènes majeurs du poisson et marqueurs de réactivité croisée entre différentes espèces de poissons et amphibiens	Réactions systémiques courantes
ALBUMINES SERIQUES	sensibles	Protéines présentes dans différents fluides et solides biologiques chez tous les animaux, comme lait de vache, le sang, la viande de bœuf et l'épithélium	Réactivité croisée entre albumines de différentes espèces de mammifères (chat-chien ; chat-porc...), syndrome oral
CCD (Cross-reactive Carbohydrate Determinants)		Provoquant rarement des réactions allergiques mais peuvent donner des tests in vitro positifs pour des allergènes de pollens, aliments d'origine végétale (céleri, tomate, courgette), insectes et venins contenant des CCD	

Légende : * Stable à la chaleur et à la digestion : réaction aux aliments cuits, réactions systémiques

** dégradé par les enzymes de digestion et la chaleur donc consommation possible des aliments cuits. Néanmoins, des homologues de Bet v I de la noisette, du céleri, de l'arachide et du soja se sont avérés partiellement stables à la chaleur et peuvent déclencher des réactions systémiques.

RESTRICTIONS A L'INTERPRETATION D'UN TEST ISAC

ISAC est exclusivement composé de protéines individuelles : certaines sources allergéniques sont absentes (nombreux fruits à coques, légumineuses, laits autre que de vache...) et celles qui sont représentées le sont de manière fragmentaire : une protéine du sésame, deux kiwi etc. L'interprétation doit donc prendre en compte **l'adéquation du spectre de protéines explorées avec la présentation clinique du patient** ; inversement, la négativité d'une micropuce par exemple aux composants du blé, de la noisette ou du sésame n'exclut en aucun cas la sensibilisation vis-à-vis de sources allergéniques correspondantes. Donc, bien que la biopuce ISAC® contienne les allergènes les plus pertinents (marqueurs d'aéroallergènes fréquents, panallergènes), des composants moléculaires utiles restent manquant. Ainsi, dans l'allergie au latex, Hev b2, allergène responsable de l'allergie au latex chez les enfants multi-opérés en raison de spina bifida n'est pas présent. De même, dans l'allergie aux acariens, Der p 4 peut entraîner 70% de sensibilisation et ne figure pas parmi les acariens domestiques et il n'y a aucun composant allergénique des acariens de stockage.

Il n'est pas possible de comparer les unités ISU et les KU/L des Cap System.

CONCLUSIONS

La biopuce ISAC combine la technique miniaturisée de la biopuce et l'allergie moléculaire. Sur un plan pratique, elle nécessite un très petit volume d'échantillon sanguin. Elle permet la détection de 21 nouveaux composants moléculaires ; notons que certains ont un intérêt relatif car non présents dans l'environnement régional ou fortement croisants (exemple : Der f 2 et Der p 2) Sur le plan clinique cette technique permet de prédire la sévérité de certaines atteintes cliniques grâce au **profil des composants allergéniques** identifiés. Des résultats faussement négatifs peuvent être observés si des allergènes mineurs ou d'autres allergènes rares ne sont pas présents sur la biopuce, ce qui met en exergue la nécessité d'une **confrontation étroite avec la clinique** tout en ayant à l'esprit que sensibilisation ne veut pas dire allergie clinique.

Pour tout renseignement :

Centre de Biologie Pathologie du CHRU de Lille - Institut d'Immunologie (poste 46954)
Biopuce ISAC 100 µl de sérum 1 / mois 216€ (HN)