

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE SPECIALITÉ BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement
par

Yolla SAKR

Le 19 OCTOBRE 2021

**COMPARAISON DES PROFILS DE SENSIBILISATION À IgE ET À IgG₁ ET LEUR CORRÉLATION
AVEC LA SÉVÉRITÉ DES SYMPTOMES D'ALLERGIE RESPIRATOIRE OU ALIMENTAIRE**

Directeur de thèse : Dr Pol André APOIL

JURY :

Monsieur le Professeur Laurent GUILLEMINAULT

Président

Madame le Docteur Audrey MARTIN BLONDEL

Assesseur

Madame le Docteur Bénédicte PUISSANT

Assesseur

Monsieur le Docteur Pol André APOIL

Directeur

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : D. CARRIE

P.U. - P.H.

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1ère classe

2ème classe

M. AMAR Jacques	Thérapeutique
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie
M. AVET-LOISEAU Hervé	Hématologie, transfusion
Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine Interne
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie
M. BLANCHER Antoine (C.E)	Immunologie (option Biologique)
M. BOSSAVY Jean-Pierre (C.E)	Chirurgie Vasculaire
M. BRASSAT David	Neurologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique
M. BUREAU Christophe	Hépat-Gastro-Entérologie
M. CALVAS Patrick (C.E)	Génétique
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie
Mme CHARPENTIER Sandrine	Médecine d'urgence
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie
M. GAME Xavier	Urologie
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'Urgence
M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale
M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie
M. MALAVALD Bernard	Urologie
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique
M. MARCHOU Bruno	Maladies Infectieuses
M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. MAZIERES Julien	Pneumologie
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie
Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie
Mme NOURHASHEMI Falemeh (C.E)	Gériatrie
M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie
M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique
M. PARIENTE Jérémie	Neurologie
M. PARINAUD Jean (C.E)	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.
M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie
M. PAYOUX Pierre	Biophysique
M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie
M. PERON Jean-Marie	Hépat-Gastro-Entérologie
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie
M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie
M. RECHER Christian (C.E)	Hématologie
M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile
M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie
M. SANS Nicolas	Radiologie
Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire
M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépat-Gastro-Entérologie

P.U. Médecine générale

M. OUSTRIC Stéphane (C.E)

Professeur Associé de Médecine Générale

Mme IRI-DELAHAYE Motoko

Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. CAVAINAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. LOPEZ Raphaël	Anatomie
M. MARTIN-BONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
Mme PASQUET Marlène	Pédiatrie
M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
Mme SAVAGNER Frédéricque	Biochimie et biologie moléculaire
M. SIZUN Jacques	Pédiatrie
Mme TREMOLLIERES Florence	Biologie du développement
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie

P.U. Médecine générale

M. MESTHÉ Pierre

Professeur Associé Médecine générale

M. ABITTEBOUL Yves

M. POUTRAIN Jean-Christophe

Professeur Associé en Bactériologie-Hygiène

Mme MALAVALD Sandra

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL

133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE Cedex

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1ère classe

M. ACAR Philippe	Pédiatrie
M. ACCADBLED Franck	Chirurgie Infantile
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie
M. ARNAL Jean-François	Physiologie
M. BERRY Antoine	Parasitologie
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie
M. BUJAN Louis (C. E)	Urologie-Andrologie
Mme BURAS-RIVIERE Alessandra	Médecine Vasculaire
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépatogastro-Entérologie
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire
M. CHAYNES Patrick	Anatomie
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie
M. COURBON Frédéric	Biophysique
Mme COURTADE SAIDI Monique	Histologie Embryologie
M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
M. DELABESSE Eric	Hématologie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses
M. DELORD Jean-Pierre (C.E)	Cancérologie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie
M. HUYGHE Eric	Urologie
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie
M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. MALECAZE François (C.E)	Ophthalmologie
M. MARQUE Philippe (C.E)	Médecine Physique et Réadaptation
M. MAURY Jean-Philippe	Cardiologie
Mme MAZEREUW Juliette	Dermatologie
M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation
M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie infantile
M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition
M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie
M. SAILLER Laurent (C.E)	Médecine Interne
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie
M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie
M. SERRANO Elle (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme URO-COSTE Emmanuelle (C.E)	Anatomie Pathologique
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie

Professeur Associé de Médecine Générale

M. STILLMUNKES André

Doyen : E. SERRANO

P.U. - P.H.

2ème classe

M. ABBO Olivier	Chirurgie infantile
M. AUSSEIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire
M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique et des brûlés
Mme DALENC Florence	Cancérologie
M. DE BONNECAZE Guillaume	Oto-rhino-laryngologie
M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. FAGUER Stanielas	Néphrologie
Mme FARUCH BILFELD Marie	Radiologie et imagerie médicale
M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. GARRIDO-STOWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
Mme LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. PUGNET Grégory	Médecine interne
M. REINA Nicolás	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
M. SOMMET Agnès	Pharmacologie
Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. TACK Ivan	Physiologie
M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. YSEBAERT Loïc	Hématologie

P.U. Médecine générale

Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

Professeur Associé de Médecine Générale

M. BOYER Pierre

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN
37, allées Jules Guesde – 31062 Toulouse Cedex

M.C.U. - P.H.

M. APOIL Pol André	Immunologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie
Mme BELLIERES-FABRE Julie	Néphrologie
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion
M. BIETH Eric	Génétique
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie
M. CONGY Nicolas	Immunologie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie
M. CUROT Jonathan	Neurologie
Mme DAMASE Christina	Pharmacologie
Mme de GLISEZENSKY Isabella	Physiologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie
M. GANTET Pierre	Biophysique
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
M. HAMDJ Safouane	Biochimie
Mme HITZEL Anne	Biophysique
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme MASSIP Clémence	Bactériologie-virologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
Mme MOREAU Marion	Physiologie
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire
Mme PERRROT Aurore	Hématologie
M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique
M. TREINER Emmanuel	Immunologie

M.C.U. Médecine générale

M. BRILLAC Thierry
Mme DUPOUY Julie

M.C.A. Médecine Générale

Mme FREYENS Anne
M. CHICOUCAA Bruno
Mme PUECH Marielle

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE- RANGUEIL
133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE cedex

M.C.U. - P.H

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
Mme BREHIN Camille	Pneumologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
M. CAMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
M. CHASSAING Nicolas	Génétique
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme CORRE Jill	Hématologie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
M. GASQ David	Physiologie
M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
M. GUERBY Paul	Gynécologie-Obstétrique
M. GUBERT Nicolas	Pneumologie
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
Mme NASR Nathalie	Neurologie
Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et médecine nucléaire
M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
Mme SIEGFRIED Aurore	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme VALLET Marion	Physiologie
M. VERGEZ François	Hématologie
Mme VIJA Lavinia	Biophysique et médecine nucléaire
M. YRONDI Antoine	Psychiatrie d'adultes

M.C.U. Médecine générale

M. BISMUTH Michel
M. ESCOURROU Emile

M.C.A. Médecine Générale

M. BIREBENT Jordan
Mme BOURGEOIS Odile
Mme BOUSSIER Nathalie
Mme LATROUS Leila

Remerciements

Remerciements à mon jury

A mon président du jury,

Monsieur le Professeur **Laurent GUILLEMINAULT**,

Professeur des Universités,

Praticien Hospitalier en Pneumologie,

Je vous remercie d'avoir accepté de présider cette Thèse et d'avoir accepté de juger mon travail. Soyez assuré de toute ma reconnaissance et de tout mon respect.

A mon directeur de thèse,

Monsieur le Docteur **Pol André APOIL**,

Maitre de Conférence des Universités,

Praticien Hospitalier en Immunologie

Je vous suis reconnaissante d'avoir accepté de diriger ma Thèse. Je vous remercie d'avoir toujours pris le temps pour me guider et me conseiller tout au long de ce travail et surtout pendant les longues après-midis de correction, à faire et refaire une « nième analyse ». Soyez assuré de trouver dans ce travail le témoignage de ma gratitude et de mon plus profond respect.

A mon jury de Thèse

Madame le Docteur **Bénédicte PUISSANT**,

Maitre de Conférence des Universités,

Praticien Hospitalier en Immunologie

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Merci pour vos enseignements, votre pédagogie et votre gentillesse durant mon semestre en immunologie.

Madame le Docteur **Audrey MARTIN BLONDEL**,

Praticien Hospitalier en Pneumologie et Allergologie,

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à ce jury et de l'intérêt que vous portez à mon travail. Soyez assurée de ma gratitude.

Je remercie également tous les biologistes, techniciens et internes qui ont participé à ma formation, avec une pensée particulière à **l'équipe d'hématologie** et à **l'équipe de l'EFS** qui ont contribué à mon coup de cœur pour la discipline et la spécialité qu'est la biologie médicale.

A ma famille et mes amis,

Table des matières

Remerciements	7
Liste des abréviations	11
Liste des figures	13
Liste des tableaux	14
I- Introduction :	15
1- Épidémiologie :	15
2- Allergies	16
2-1 Physiopathologie de l'allergie	16
2-2 Rôle des IgE et la défense antiparasitaire :	17
2-3 Le lymphocyte B dans les réactions allergiques.....	18
2-4 Hypermutation somatique :	20
2-5 Commutation de classes vers les IgE :	23
2-6 Mécanismes effecteurs dans les réactions allergiques.....	24
2-7 Relation entre IgG et IgE : données de séquençage massif	26
2-8 Implication des IgGs dans les allergies.....	28
2-9 Mémoire immunitaire à IgE	30
3- Contribution de la biologie médicale dans le diagnostic et suivi des allergies	30
4- Problématique :	32
II- Matériels, méthodes et protocole d'étude :	33
1- Aspects éthiques et consentement :	33
2- Population étudiée :	33
3- La biopuce ISAC.....	34
4- Étude des IgE spécifiques au moyen de l'ISAC :	35

5-	Étude des IgG ₁ spécifiques par l'ISAC :.....	38
6-	Fréquence de détection des allotypes G _{1m}	39
7-	Recueil et codage des données :.....	40
8-	Analyses statistiques :.....	40
III-	Résultats	41
1-	Définition des groupes de patients :.....	41
2-	Comparaison des profils de sensibilisation à IgE et IgG ₁ :.....	45
2.1-	Analyse des fréquences de sensibilisation à IgE et d'immunisation à IgG ₁	45
2.2-	Des IgE sont plus souvent présentes en l'absence d' IgG ₁ de même(s) spécificité(s) chez les sujets d'âge > 19 ans.	52
3-	Corrélation des profils de sensibilisation avec les tableaux cliniques.....	53
IV-	Discussion	58
V-	Conclusion.....	63
	Références bibliographiques :	64

Liste des abréviations

- AID: *Activation Induced cytidine Deaminase* (cytidine désaminase induite par activation)
- AM : Allergène Moléculaire
- ARIA : Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma
- BCR : B Cell Receptor
- CDR: Complementarity Determining Region
- CG : Centre Germinal
- DZ : Dark Zone (zone sombre du centre germinal)
- EAACI: *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*
- EGEA : Etude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie
- Fab : *Fragment antigen-binding*
- GINA : Global Initiative for Asthma
- IC : Immune complexes (complexes immuns)
- IFB : Institut Fédératif de Biologie
- IgA : Immunoglobuline A
- IgE : Immunoglobuline E
- IgG : Immunoglobuline G
- IGH: *Immunoglobulin Heavy Chain* (chaîne lourde des immunoglobulines)
- ISU-E : ISAC Specific Units IgE
- ISU-G: ISAC Specific Units IgG
- ITO : Induction de Tolérance Orale
- ITS : Immunothérapie spécifique
- LTPs : *Lipid Transfer Proteins*
- LZ : *Light Zone* (zone claire du centre germinal)
- MIA : *Microarray Image Analysis*
- MIA : Phadia Microarray Image Analysis
- NGS : *Next-Generation Sequencing* ou séquençage de nouvelle génération

- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PNB : Polynucléaires basophiles
- PNN : Polynucléaires neutrophiles
- PR-10 : *Pathogenesis-Related class 10* ou protéine liée à la pathogénèse 10
- Se IgE : Fréquence de sensibilisation à IgE
- Se IgG₁: Fréquence de sensibilisation à IgG₁
- SHM: *Somatic hypermutation* (Hypermutation somatique)
- T_{FH} : *T follicular helper*
- TNF- α : *Tumor Necrosis Factor* (facteur de nécrose tumorale)

Liste des figures

Figure 1 : Épidémiologie de l'allergie en France	16
Figure 2: Représentation schématique d'un follicule avec centre germinatif (Immunobiologie de Janeway)	19
Figure 3: Représentation du locus de la chaîne lourde et du processus de la recombinaison des segments V (D) J	20
Figure 4: L'hypermutation somatique des régions variables (V) réarrangées des immunoglobulines augmente leur affinité pour l'antigène.	22
Figure 5: Les locus de la chaîne lourde des immunoglobulines	23
Figure 6 : Schéma représentatif de la fréquence des switch vers les IgE (Looney et al.) (25)	27
Figure 7: ImmunoCAP™ ISAC 112/e112 (ThermoFisher)	36
Figure 8: Schéma d'un dosage des IgE sur biopuce ISAC	37
Figure 9: Réincubation des biopuces avec un anti-IgG1	38
Figure 10: Séquence protéique de la chaîne lourde et de la région hinge des immunoglobulines (IMGT, the international ImMunoGeneTics information system®) (80) ..	39
Figure 11: Représentation des allotypes G1m3 et G1m17 sur l' IgG ₁ (schéma repris de Jefferis et Lefranc) (81).....	39
Figure 12 : Exemples de profils de sensibilisation à IgE et à IgG1.....	46
Figure 13: Représentation des profils d'IgE et d'IgG ₁ dirigés contre les allergènes alimentaires dans les 2 groupes d'âge	47
Figure 14: Représentation des profils d'IgE et d'IgG ₁ dirigés contre les allergènes respiratoires dans les 2 groupes d'âge	47
Figure 15: Représentation des profils d'IgE et d'IgG ₁ dirigés contre les allergènes responsables de réactivité croisée dans les 2 groupes d'âge	48
Figure 16 : Répartition des patients dans les 4 groupes selon leurs scores de symptômes. ..	55
Figure 17 : Comparaison des fréquences d'IgE sans IgG ₁ entre les 4 groupes A, B, C et D.	57

Liste des tableaux

Tableau 1: Présentation de l'échantillon de patients sélectionnés dans notre étude.....	34
Tableau 2 : caractéristiques démographiques des deux groupes d'âge.	41
Tableau 3: Les allergènes d'origine alimentaire présents sur la puce ISAC, les allergènes moléculaires correspondants et leurs origines.	42
Tableau 4: Les allergènes respiratoires présents sur la puce ISAC, les allergènes moléculaires correspondants et leurs origines.	43
Tableau 5: Les allergènes responsables de réactions croisées présents sur la puce ISAC, les allergènes moléculaires correspondants et leurs origines.	44
Tableau 6: comparaison des profils de sensibilisation à IgE et IgG ₁ chez les patients du groupe « ≤ 19 ans » * Fq de Se: fréquence de sensibilisation.....	49
Tableau 7: Comparaison des profils de sensibilisation à IgE et IgG ₁ chez les patients du groupe " > 19 ans ".....	49
Tableau 8: Comparaison des fréquences de sensibilisations aux IgG et IgE entre les 2 groupes d'âge.	51
Tableau 9: Fréquences comparées de la présence d'IgE en l'absence d'IgG ₁ de même spécificité.....	52
Tableau 10: Comparaison de la fréquence de production d'IgE sans IgG en fonction du sexe des patients.	53
Tableau 11: Caractéristiques des groupes A, B, C et D	55
Tableau 12: Comparaison des immunoglobulines entre les 4 groupes A, B, C et D	56

I- Introduction :

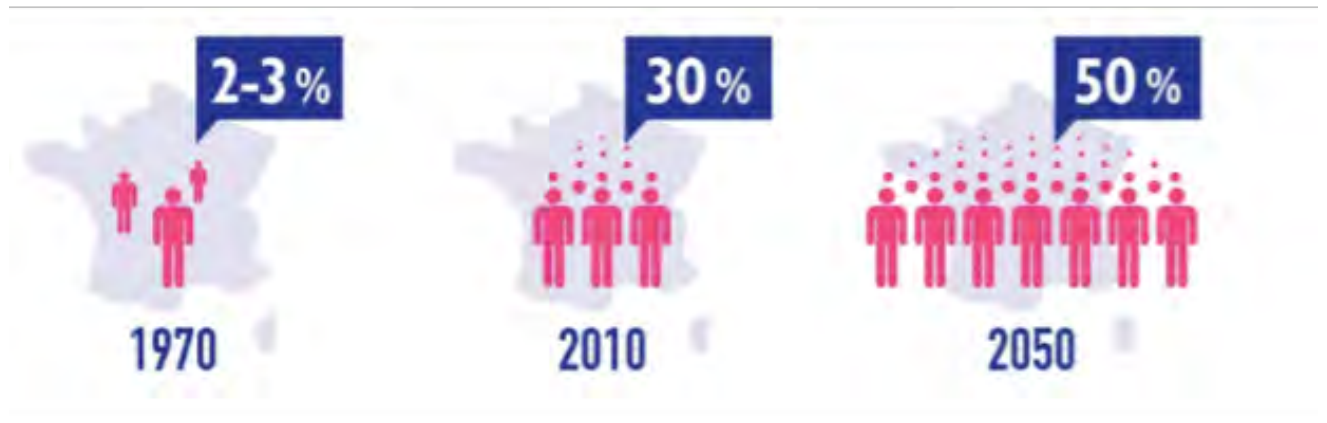
1- Épidémiologie :

L'allergie constitue un problème de santé publique à l'échelle mondiale. D'après *l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)* elle occupe le quatrième rang au niveau mondial en termes de fréquence après le cancer, les pathologies cardiovasculaires et le SIDA. Elle touche en France environ 30% de la population (1).

Depuis 45 ans nous observons une hausse constante des allergies en France , avec une augmentation qualifiée « d'épidémique » par l'EAACI (*European Academy of Allergy and Clinical Immunology*) (2). La prévalence des maladies allergiques augmente dans les régions économiquement avancées, ce qui est probablement dû à l'impact du changement de certains facteurs environnementaux chez des sujets ayant une prédisposition génétique à l'atopie. Les formes les plus courantes de réponse allergiques dans les pays développés sont dirigées contre les allergènes aériens, provoquant des conjonctivites, des symptômes des voies respiratoires supérieures (rhinite allergique), ou inférieures (asthme)(3).

Un accroissement des allergies est également observé dans les pays en développement d'Afrique et du Moyen Orient, pays qui semblaient être relativement épargnés jusqu'à la dernière décennie. Cette évolution est probablement la conséquence de l'adoption du style de vie « occidental » (changement dans le régime alimentaire, l'exposition aux allergènes, la pollution atmosphérique et la fumée du tabac...), ou bien plus simplement à l'urbanisation (2–5). L'hypothèse hygiéniste propose que la diminution de l'exposition dans l'enfance à des pathogènes et commensaux microbiens (suite à l'urbanisation de notre environnement), entraîne des altérations du microbiote intestinal et diminue la production de lymphocytes T régulateurs (LTreg) augmentant ainsi le risque de réactions allergiques à un antigène environnemental commun (5,6).

L'OMS estime qu'en 2050 la moitié de la population mondiale sera affectée par au moins une maladie allergique, de même que l'EAACI estime que la prévalence des maladies allergiques devra atteindre jusqu'à 4 milliards de personnes (7).



14ème Journée Française de l'Allergie: Mars 2020

Figure 1 : Épidémiologie de l'allergie en France

2- Allergies

2-1 Physiopathologie de l'allergie

Le terme « allergie » a été introduit par Clemens Von Pirquet, un pédiatre viennois, en 1906, afin de désigner la tendance inhabituelle de certains individus à développer des signes et symptômes de réactivité ou des réactions « d'hypersensibilité », suite à leur exposition à certaines substances (8).

Le système immunitaire adaptatif est indispensable pour défendre notre organisme vis-à-vis des agents infectieux, ainsi que pour effectuer une veille immunitaire vis-à-vis de l'apparition de cellules tumorales (9). Dans le cas des réactions immunitaires d'hypersensibilité, des antigènes sans relation avec un agent infectieux, inoffensifs (tel que les pollens, aliments ou médicaments) vont susciter des réactions immunitaires excessives chez les individus prédisposés, lesquelles peuvent entraîner des pathologies sévères (5).

Historiquement, ces réactions d'hypersensibilité ont été classées par Gell et Coombs en quatre types généraux (10). Les réactions d'hypersensibilité de type I ou « hypersensibilité immédiate » représentent des réactions allergiques de type immédiate médiés par les IgE.

Ces hypersensibilités de type I sont provoquées par l'activation de cellules effectrices que sont les mastocytes tissulaires et les polynucléaires basophiles. Ces cellules expriment le récepteur de haute affinité pour les IgE (FcεR I), et le pontage d'un nombre suffisant d'IgE par un antigène (ici, un allergène) multivalent entraîne leur activation. L'activation de ces cellules via le FcεR I entraîne leur dégranulation et la libération, en générale rapide et complète, du contenu de leurs abondants granules cytoplasmiques (11).

À noter que d'autres modes d'activation des mastocytes, indépendants des IgE, ont été décrits, et seraient capables de causer une dégranulation « parcellaire » (*piecemeal degranulation*), de signification clinique inconnue (12).

2-2 Rôle des IgE et la défense antiparasitaire :

Les IgE jouent un rôle primordial dans la défense de notre organisme contre les parasites extracellulaire, en particulier les helminthes et les protozoaires (13,14) . Les études épidémiologiques ont démontré une corrélation positive entre les taux élevés d'IgE spécifiques d'un parasite dans le sérum et la résistance de l'individu à des infections parasitaires (15).

Ces défenses antiparasitaires se trouvent principalement sur les sites d'entrée des parasites (peau, muqueuse des voies aériennes et intestinales). Les cellules dendritiques ayant capté les antigènes dans ces tissus, migrent vers les ganglions lymphatiques régionaux où ils orientent des lymphocytes T CD4 naïves spécifiques de l'antigène vers le statut de cellules T_{H2} effectrices, capables de sécréter de l'interleukine-4 (IL-4), IL-5, IL-9 et IL-13. Ces interleukines maintiennent un environnement dans lequel une différenciation supplémentaire des cellules T_{H2} est favorisée (5,16).

Les cellules dendritiques des muqueuses qui rencontrent un antigène en l'absence de signaux de dangers ou les PAMPs (signaux provoqués habituellement par des infections bactériennes), induisent généralement la différenciation des lymphocytes CD4 naïves en cellules T régulatrices spécifiques de l'antigène (LT reg). Ces derniers sécrètent de l'IL-10 et TGF-β, ce qui diminue la production d'IgE tout en augmentant la production d'IgG4 et d'IgA

(17). Ceci contribue à un état de tolérance de l'antigène et permet d'éviter les réponses allergiques contre des antigènes environnementaux communs (18).

2-3 Le lymphocyte B dans les réactions allergiques

Le lymphocyte B est généré au niveau de la moelle osseuse. Il s'ensuit alors un stade intermédiaire, le stade B transitionnel. Pendant ce stade, la cellule B subit une sélection périphérique durant laquelle les lymphocytes auto-réactifs sont éliminés et les autres expriment alors une immunoglobuline de surface (IgM ou IgD). Ils se différencient soit en lymphocytes B folliculaires conventionnels spécifiques d'un antigène et seront essentiellement impliqués dans les réponses humorales thymo-dépendantes (dépendantes des lymphocytes T *follicular helper* ; T_{FH}), soit en lymphocytes B de la zone marginale impliqués dans les réponses humorales thymo-indépendantes.

La réponse immunitaire impliquée dans la production des IgE et IgG au cours des allergies est la réponse thymo-dépendante.

L'immunisation du lymphocyte B se fait au niveau du ganglion lymphatique. L'antigène rejoint les ganglions par la circulation lymphatiques, où il peut être présent sous différentes formes (soluble, complexes immuns libres ou lié à une cellule présentatrice de l'antigène tel que les cellules folliculaires dendritiques ou les macrophages du sinus marginal). Les lymphocytes B sont activés après la rencontre d'un antigène pour lequel ils expriment un récepteur spécifique. Ils peuvent alors se différencier en plasmocytes à IgM de courte durée de vie, ou former les centres germinatifs dans lesquels ils se différencient en cellules B mémoire ou en plasmocytes de longue durée de vie (19).

Ces CG apparaissent quelques jours après l'exposition initiale à l'antigène et persistent jusqu'à 3 à 4 semaines, ils sont composés principalement de cellules B en prolifération, mais aussi de lymphocytes T spécifiques des antigènes (10%) (5,19).

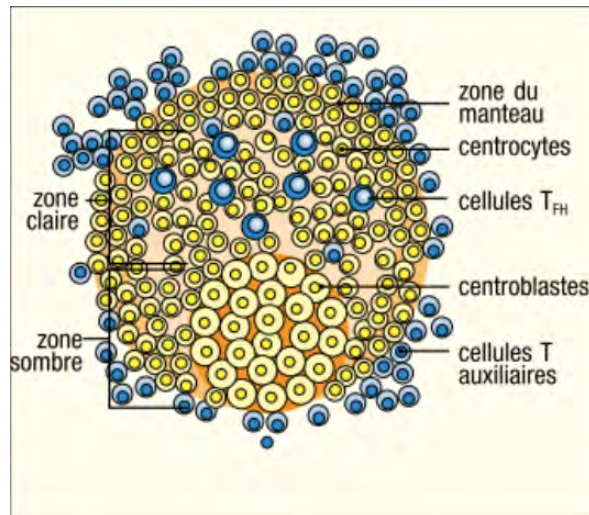


Figure 2: Représentation schématique d'un follicule avec centre germinatif (*Immunobiologie de Janeway*)

Ils sont associées à l'expansion oligoclonale des cellules B spécifiques, durant laquelle les BCR (*B cell receptor*) qu'ils expriment sont diversifiés par 2 processus distincts : les hypermutations somatiques (*Somatic hypermutation ; SMH*) et la commutation de classe (*Class switch recombination ; CSM*) (19).

Avant l'exposition à l'antigène, la génération initiale d'un répertoire d'anticorps diversifié est réalisée au début du développement des lymphocytes B par le réarrangement réussi des segments V(D)J du gène de la région variable de l'immunoglobuline : le segment V (« *Variable* ») qui code pour les 95 premiers acides aminés, D (« *Diversity* ») qui code environ 5 acides aminés et J (« *Joining* ») qui code les 10 à 15 derniers acides aminés. Ce qui permet aux cellules B de produire chacune une immunoglobuline avec une chaîne lourde unique et une région variable de chaînes légères (20).

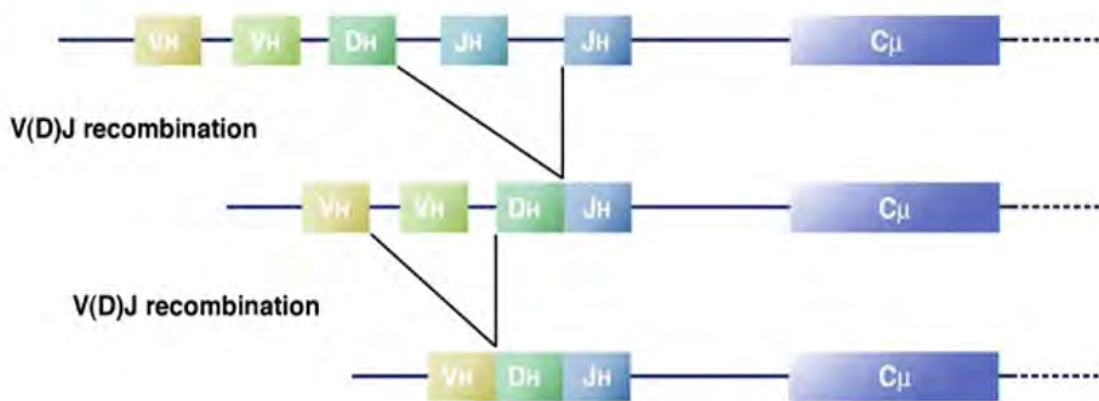


Figure 3: Représentation du locus de la chaîne lourde et du processus de la recombinaison des segments V (D) J

2-4 Hypermutation somatique :

L'hypermutation somatique ou SHM est une étape de prolifération importante qui a lieu dans la zone sombre (*Dark zone* ; DZ) du centre germinatif.

La SHM introduit des mutations dans les régions V des gènes d'immunoglobuline, par l'action de la cytidine désaminase induite par activation, ou AID (*Activation Induced cytidine Deaminase*) ; une enzyme exprimée uniquement par les cellules B dans le CG (21). Ceci se traduit par le remplacement d'un à plusieurs acides aminés dans l'immunoglobuline. Les mutations ponctuelles s'accumulent par étape lorsque les descendants de chaque cellule B prolifèrent dans le CG pour former des clones de cellules B étroitement apparentés qui diffèrent subtilement en termes de spécificité et d'affinité antigénique (5,19). Cela permet au BCR de subir une « maturation d'affinité », laquelle conduit à un accroissement de l'efficacité (rapidité de liaison et lenteur de dissociation) de la réaction antigène et anticorps (22). La maturation d'affinité au sein des centres germinatifs devrait généralement conduire à une accumulation de mutations de remplacement dans les régions déterminant la complémentarité (CDR ; *complementarity determining region*) des gènes des immunoglobulines à la suite de la sélection d'antigènes. (23).

Les cellules portant des mutations délétères perturbant la structure basique de l'immunoglobuline (modification des régions cadre), sont éliminées par apoptose dans un processus de sélection négative.

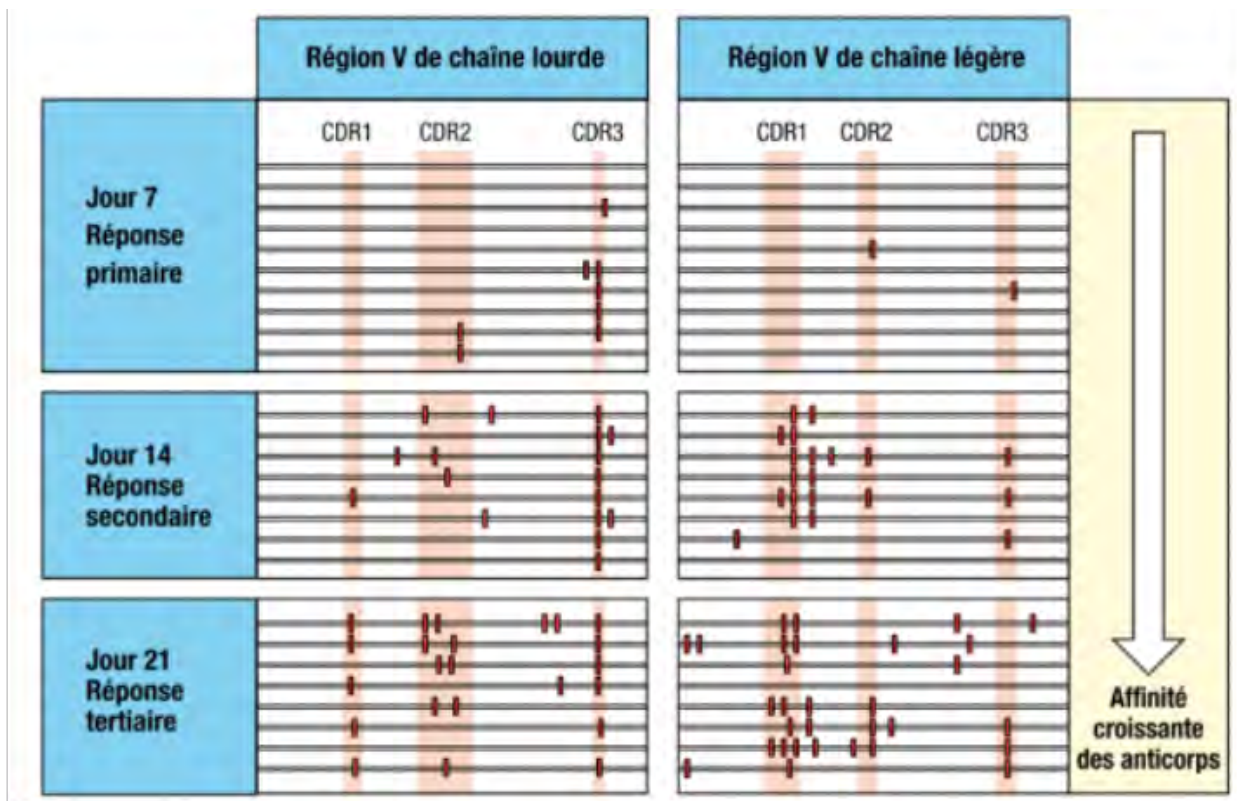


Figure 4: L'hypermutation somatique des régions variables (V) réarrangées des immunoglobulines augmente leur affinité pour l'antigène.

Expérience par J.Jacob et al., figure reprise dans immunobiologie de Janeway.

Dans l'expérience résumée ci-dessus (22), chaque région V séquencée est représentée par une ligne horizontale. Les régions déterminant la complémentarité, CDR1, CDR2 et CDR3 sont ombrées en rose. Les mutations qui modifient la séquence d'acide aminés sont représentées par des barres rouges.

Quelques jours après l'immunisation, un clone répondeur de cellules B montre quelques mutations dans les régions V ; la semaine suivante, leur nombre a nettement augmenté. Les cellules B ayant accumulé des mutations stériles et ne peuvent plus lier l'antigène, disparaissent. Celles dont les mutations des régions V ont augmenté leur affinité pour l'antigène peuvent concurrencer plus efficacement les clones apparentés et recevoir des signaux qui stimulent leur prolifération et leur expansion. Les anticorps qu'ils produisent ont également une plus forte affinité (5).

2-5 Commutation de classes vers les IgE :

Le gène de la chaîne lourde (chaîne H) de l'immunoglobuline est composé des segments V_H, D_H et J ainsi que de 9 exons (C_H) : 1 C_μ (IgM), 1 C_δ (IgD), 4 C_γ (IgG), 1 C_ε (IgE), 2 C_α (IgA) (24).

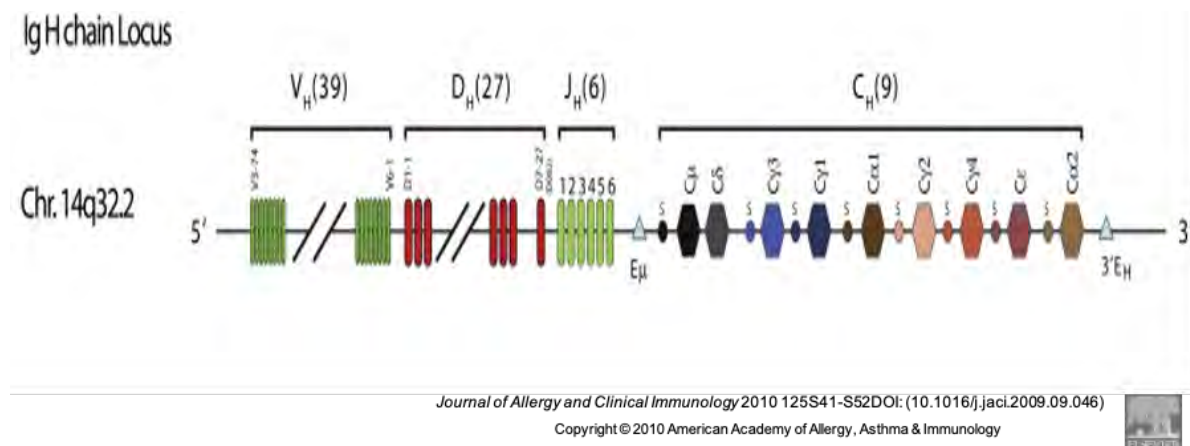


Figure 5: Les locus de la chaîne lourde des immunoglobulines

Le gène V_H généré lors du développement de la cellule B dans la moelle osseuse reste le même chez toute la descendance de cette cellule B activée au cours d'une réponse immunitaire, bien qu'il puisse être modifié lors de l'hypermutation somatique.

En revanche, la descendance de la cellule B peut exprimer plusieurs isotypes différents de la région C au fur et à mesure de la maturation des cellules et de leur prolifération pendant la réponse immunitaire. Ce qui se traduit par le fait que la même région V qui est assemblée et traduite dans les premiers anticorps synthétisés (à savoir les IgM ou IgD) peut être exprimée dans des anticorps IgG, IgA ou IgE. C'est la commutation de classe ou la commutation isotypique, qui se fait toujours de façon unidirectionnelle (25). Elle est stimulée au cours d'une réponse immunitaire par des signaux externes libérés par les cellules Th2 tels que l'interleukine (IL-) 4/ IL-13 et de la ligature du CD40 (26).

2-6 Mécanismes effecteurs dans les réactions allergiques

Il existe deux types de récepteurs qui lient l'IgE. Le premier, FcεRI, exprimé sur les mastocytes, les polynucléaires basophiles et éosinophiles et les plaquettes, est un récepteur de haute affinité de la superfamille des immunoglobulines (27). Ce récepteur peut être exprimé sous deux formes : tétramérique ($\alpha\beta\gamma_2$; mastocytes et basophiles) ou trimérique ($\alpha\gamma_2$; cellules dendritiques/Langerhans, polynucléaires éosinophiles, monocytes, plaquettes). Seule la forme tétramérique, qui comprend la chaîne β , est exprimée à un haut niveau et est capable d'activer de façon intense les mastocytes et les basophiles (28).

Le second récepteur pour les IgE, FcεRII, également appelé CD23, est une lectine de type C et n'est structurellement pas apparentée au FcεRI. Il est présent sur de nombreux types de cellules, y compris les cellules B, les cellules T activées, les monocytes, les éosinophiles, les plaquettes, les cellules dendritiques folliculaires et certaines cellules épithéliales du thymus. Ce récepteur a été jugé crucial pour la régulation du taux d'IgE. Néanmoins, le CD23 semble être impliqué dans l'augmentation de la production d'IgE dans certaines situations (29).

Le CD23 a été initialement considéré comme un récepteur de faible affinité, mais il a ensuite été démontré que suite à une oligomérisation du récepteur, ce dernier se lie avec une affinité semblable à celle du FcεRI (30).

Depuis plusieurs décennies, les mastocytes ont été établis comme les cellules effectrices clés de la réaction inflammatoire allergique (31–34). La liaison du complexe immun IgE-allergène au récepteur FcεRI et l'agrégation du récepteur, par le biais de différentes voies de signalisation, provoque une dégranulation des mastocytes quelques secondes après (35) libérant une série de médiateurs inflammatoires préformés et nouvellement générés. Le contenu des granules comprend l'amine vasoactive à courte durée d'activité, l'histamine des sérines estérases et des protéases telles que la chymase et la tryptase (5).

L'histamine agit sur quatre récepteurs, H1 à H4,(36) chacun étant couplée à une protéine G (37). Le récepteur H1 est présent sur l'endothélium, une fois activé il provoque une vasodilatation, entraînant ainsi une inflammation locale et œdémateuse. L'histamine active

également les récepteurs neuronaux, stimulant ainsi des démangeaisons et des éternuements (5,38). En passant par le récepteur H1 des cellules dendritiques, l'histamine peut augmenter la capacité de présentation de l'antigène et la sensibilisation des cellules TH1.

En plus de la libération de médiateurs préformés, les mastocytes synthétisent *de novo* et libèrent des chimiokines, cytokines et des médiateurs lipidiques dont le facteur d'activation des plaquettes (PAF) et les eicosanoïdes qui comprennent des prostaglandines, des leucotriènes, des thromboxanes. Ils libèrent également du TNF- α (Tumor Necrosis Factor, facteur de nécrose tumorale), dont une partie est stockée dans les granules alors qu'une autre est synthétisée *de novo* (39). Ces molécules, en particulier le TNF- α et les leucotriènes B4 permettent le recrutement des lymphocytes T CD8 au site de l'inflammation (40).

Cette réaction inflammatoire, est essentielle dans la défense antiparasitaire de l'organisme. Cependant, dans un contexte allergique, les conséquences physiopathologiques de l'activation des mastocytes ne sont pas négligeables. Les symptômes de l'anaphylaxie varient d'une urticaire légère à un choc anaphylactique pouvant être fatal.

Enfin, les mastocytes sont des cellules complexes, capables de s'activer par des voies qui ne dépendent pas des IgE et du Fc epsilon RI. En particulier il est proposé que MRGPRX2, récepteur aux substances cationiques et spécifique des mastocytes, soit impliqué dans certaines anaphylaxies chez l'Homme (41). *In vivo*, l'activation des mastocytes via MRGPRX2 peut se faire via la substance P, la morphine, la vancomycine, les quinolones, des réactifs de contraste iodés et des curares (atra/cisatracurium, mivacurium). Par ailleurs, les mastocytes expriment des récepteurs de fractions du complément C3r et C5R, récepteurs des anaphylatoxines C3a et C5a, ainsi que plusieurs types de récepteurs TLR, reconnaissant des composants de micro-organismes pathogènes (42).

La possibilité pour les mastocytes d'être activés *via* différentes voies contribue probablement à moduler l'expression clinique des allergies.

2-7 Relation entre IgG et IgE : données de séquençage massif

Dans le cadre particulier des allergies et de la production des IgE, des études génomiques et de séquençage ont été réalisés sur le gène de la chaîne lourde de l'immunoglobuline (IGH ; *immunoglobulin heavy chain*). Elles montrent que la production d'IgE est le plus souvent secondaire à une production d'une immunoglobuline d'une autre classe.

En comparant les transcrits des différentes classes d'immunoglobulines : les transcrits codant pour les IgE sont les plus étroitement liés dans les lignées clonales aux transcrits codant pour les IgG, en particulier les IgG1. Une fraction plus petite semble arriver directement des cellules B exprimant de l'IgM ou de l'IgD (*Figure 6*).

Dans une étude publiée en 2016 par Looney et al. (25), parmi les différents isotypes d'immunoglobuline, ceux ayant des séquences qui se rapprochent le plus des IgE sont (par ordre décroissant) les : IgG₁ (38%), IgG2 (16%), IgA1 (11%), IgG4 (10%), IgA2 (7%) et IgG3 (6%). D'une façon minoritaire, quelques IgE se rapprochent des séquences des IgM et/ou IgD. Ceci implique la présence de 2 « chemins » pouvant mener à la synthèse des IgE : le *switch* direct, minoritaire, des lymphocytes B naïfs en plasmocytes à IgE par recombinaison du segment μ en ϵ ; et le *switch* indirect, avec le passage par l'étape intermédiaire des IgG avec une recombinaison μ en γ puis en ϵ (43).

Le chemin prédominant pour la synthèse des IgE semble être par *switch* indirect en passant par des IgG1, que ce soit chez les sujets manifestant une allergie clinique, ou les sujet « sains » (25).

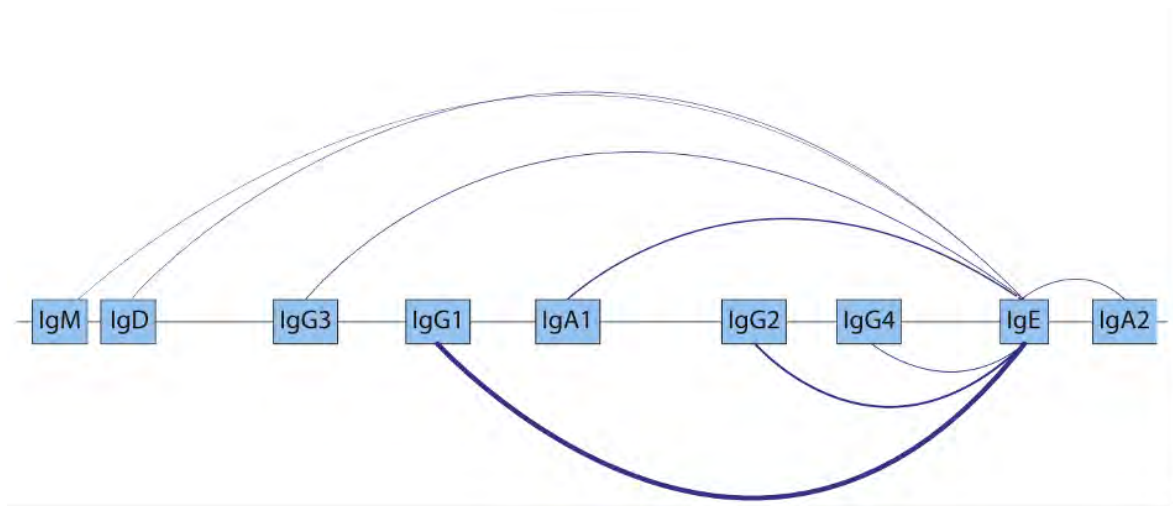


Figure 6 : Schéma représentatif de la fréquence des *switch* vers les IgE (Looney et al.) (25)

L'épaisseur des arcs représente la fréquence observée des switch vers les IgE. Le plus fréquent des switch se fait à partir de lymphocytes B mémoires à IgG1. Un switch direct est possible à partir de lymphocytes B naïfs à IgM/IgD.

Durant ces études génomiques, plusieurs hypothèses ont été établies concernant le lien entre la voie de synthèse des IgE, leur affinité et la potentielle réaction anaphylactique.

Xiong et al. soutiennent que la voie indirecte de synthèse des IgE est la plus pertinente dans les allergies atopiques. Leur argument principal fut que l'affinité des IgE produites par voie directe est trop faible pour être pathogène. Durant leurs expériences, les souris incapables de produire des IgG1, n'ont pas produit des IgE de haute affinité, et cela malgré des immunisations répétées. Les IgE de faible affinité entrent en compétition avec les IgE de haute affinité au niveau des récepteurs et préviennent donc l'anaphylaxie (43).

Quant à Christensen et al., ils affirment dans leurs travaux que la faible affinité des IgE est suffisamment élevée pour déclencher une activation des polynucléaires basophiles. D'après leurs études, le complexe IgE- allergène « flotte » au-dessus de la surface cellulaire et interagit avec d'autres anticorps (44,45).

2-8 Implication des IgGs dans les allergies

De nombreuses études ont démontré la présence de réactions allergiques non IgE médiées. Des études réalisées sur des modèles murins ont démontré que des réactions anaphylactiques peuvent arriver en absence d'IgE (46), du récepteur FcεRI (47), ou de mastocytes (48). Bien que largement caractérisée chez la souris, les preuves concluantes de l'existence de voies alternatives de l'anaphylaxie chez l'homme restent vagues. Ceci est dû en partie à la rareté de ces réactions complexes et à la rareté des biomarqueurs pour les identifier ainsi que des systèmes expérimentaux pour distinguer leur contribution par rapport à la voie classique (IgE-médiée) (49,50).

Selon une étude française, 10 à 20% des patients ayant fait des réactions allergiques aux agents bloquants neuromusculaires (NMBA ; *neuromuscular-blocking agents*) utilisés en anesthésie ne présentent pas de signes biologiques de réaction médiée par les IgE (patch test positif, présence d'IgE spécifiques, élévation de la tryptase) (51). De nombreuses hypothèses estiment que les IgG jouent un rôle essentiel dans ces réactions (52,53). L'activation de cellules effectrices par les IgGs peut être responsables de réactions allergiques, par le biais des complexes immuns (IC ; immune complexes) IgG - allergène, après fixation sur des récepteurs FcγR. Ces derniers sont présents sur les monocytes/macrophages (54), polynucléaires neutrophiles (PNN) (55), polynucléaires basophiles (PNB) (56) et mastocytes.

Les PNN peuvent à eux seuls induire un choc anaphylactique. Leur activation provoque une libération rapide de médiateurs lipidiques et protéiques (57), ainsi que le facteur d'activation plaquettaire (PAF) (58) après stimulation in vitro du récepteur FcγRIIA (59). Le PAF (seul ou associé à la sécrétion d'histamine), sécrété par les PNN mais aussi par les PNB est responsable de réactions anaphylactiques (60,61). Des taux élevés de PAF ont été trouvés dans le sérum de patients, en corrélation avec la sévérité de la réaction anaphylactique (62,63). Au total, il est possible que, chez l'Homme, l'activation de cellules effectrices autres que les mastocytes, en particulier les polynucléaires neutrophiles, joue un rôle additionnel lors de certaines anaphylaxies graves (en particulier d'origine médicamenteuse et lorsque la

substance est reçue par voie parentérale), après initiation de la réponse allergique via le couple IgE-RFcε RI.

D'autre part, certaines études soutiennent l'hypothèse que les IgG jouent un rôle protecteur vis-à-vis des symptômes, en particulier les IgG4. Ces dernières représentent l'isotype d'IgG le moins abondant dans la circulation (moins de 5%) , et sont souvent associés à un état de tolérance immunitaire (64). Les IgG4 circulantes sont considérées comme étant fonctionnellement monovalentes (65) . A la différence des IgG_{1/2/3}, les IgG4 n'activent pas le complément, ce qui signifie que les antigènes fixés par les IgG4 ne se lieront pas aux récepteurs du complément présents sur les cellules immunitaires (macrophages, cellules dendritiques, mastocytes etc...).

Les IgG4 se lient aux récepteurs cellulaires avec une faible affinité par le biais du RFcγI et peut-être le RFcγII. Le rôle principal de ce dernier est de désactiver les signaux initiés par l'activation des récepteurs Fc et du récepteur des cellules B (BCR) (66). Cette co-agrégation du FcγRIIb avec le BCR augmente le seuil d'activation du BCR, et en conséquent la quantité d'antigène nécessaire pour activer le récepteur est augmentée et la production d'immunoglobulines diminuée (67). La stimulation par un complexe immunitaire du récepteur aux IgG RFcγIIb (ou CD32B) inhibe l'activation cellulaire, ce qui peut expliquer le rôle bloquant des IgG4. Ce rôle est supporté par de nombreuses études et données cliniques : certains apiculteurs, fréquemment piqués mais asymptomatiques, ne développent pas d'IgE mais des IgG4 anti-allergènes du venin d'abeille (68). Ceci est retrouvé également dans des infections parasitaires à des filaires ou onchocercose, qui induisent une forte réponse à IgG4, induisant une sorte de tolérance au parasite sans réaction inflammatoire majeure (qui d'ailleurs pourrait permettre son expulsion) (69).

Ce rôle bloquant (par rapport aux autres isotypes d'immunoglobulines) et anti-inflammatoire (qui prévient le dépôt tissulaire de I.C.) est le rôle recherché lors des ITO (induction de tolérance orale) ou des ITS (immunothérapie spécifique), par une administration répétée de l'allergène.

2-9 Mémoire immunitaire à IgE

La formation des lymphocytes B mémoires provient des cellules B engagées des CG qui se différencient en cellules B mémoires au cours des 15 premiers jours de la réponse humorale. Il apparaît ensuite une différenciation en plasmocytes qui peut se poursuivre plusieurs mois.

Par contre, chez l'Homme, les lymphocytes B mémoires exprimant des IgE sont extrêmement rares. Ceci est dû à une différenciation préférentielle directe et précoce vers des plasmocytes à IgE, à partir de 15 jours après l'immunisation. (70–72). Les potentielles cellules B mémoires à IgE meurent par apoptose (73).

En pratique, on peut considérer que la mémoire immunitaire de l'allergie se localise à la fois dans les lymphocytes B mémoires à IgG (surtout IgG₁) et dans les plasmocytes à IgE à longue durée de vie. Ceci joue un rôle primordial dans les ITS. La réponse à l'ITS et la possibilité de produire des IgG protectrices, va dépendre en partie de l'existence de lymphocytes B mémoires capables de se différencier en plasmocytes à IgG.

3- Contribution de la biologie médicale dans le diagnostic et suivi des allergies

Les recommandations européennes (EAACI) actuelles pour la prise en charge des allergies IgE-médiée préconisent une démarche d'abord « descendante » orientée par l'anamnèse et secondairement si nécessaire, une démarche « ascendante » explorant les IgE spécifiques des familles moléculaires à la recherche de réactivités croisées biologiques et cliniques. L'articulation de ces deux démarches doit être adaptée à chaque patient. (74)

Le dosage des IgE spécifique permet d'établir l'existence d'une sensibilisation à IgE chez un patient, mais ne permet pas de « prédire » la présence de signes cliniques d'allergie si le patient est exposé aux allergènes auxquels il est sensibilisé. Ces dosages ont pour but d'identifier le plus précisément possible les allergènes (extrait ou moléculaires) pouvant être associé à ces signes cliniques, en vue d'un traitement par éviction ou ITS.

Plusieurs techniques de dosage des IgE spécifiques existent actuellement :

- Les dosages unitaires d'IgE spécifiques d'extraits allergéniques ou d'allergènes moléculaires (au laboratoire d'immunologie du CHU de Toulouse: ImmunoCAP®, Thermo Fisher Diagnostics et NOVEOS, HYCOR)
- Les biopuces à allergènes (dits *multiplex*) qui comprennent de 112 (ISAC, ThermoFisher) à 299 (ALEX, Macroarray Diagnostics) allergènes, uniquement des allergènes moléculaires (AM) pour l'ISAC, ou bien des AM et des extraits pour l'ALEX. Ces biopuces permettent d'évaluer le profil de sensibilisation d'un patient à partir d'un prélèvement de très faible volume (30-100µL de sérum).

Les biopuces sont moins sensibles et précises que les dosages unitaires d'IgE spécifiques, principalement à cause d'un risque d'interférence des IgG spécifiques. Des discordances sont observées entre les résultats de biopuces et les dosages unitaires avec la présence de résultats de faux négatifs produits par les biopuces (75).

Dans le cas de l'ISAC, il ne s'agit pas d'un « dosage » à proprement parler, car le résultat de la biopuce, exprimé en ISU-E (ISAC Specific Units IgE), ne peut être rapporté à un standard d'IgE établi par l'OMS (actuellement la préparation 11/234). Malgré le fait que le résultat soit numérique, il est exprimé en unités arbitraires non transposables d'un produit allergisant à un autre, ni d'un fabricant de réactif à un autre (76).

Au cours d'une ITS, les IgE spécifiques augmentent initialement puis diminuent de façon significative. Parallèlement à cette diminution, les IgG spécifiques (et particulièrement les IgG₄s) augmentent progressivement chez certains patients (77). Par contre, le dosage des IgG₄ spécifiques ou le calcul du rapport IgG₄/IgE spécifiques n'a pas démontré son intérêt dans l'exploration ou le suivi des patients allergiques, et ne fait donc pas partie actuellement des examens de routine (74).

4- Problématique :

La majorité des études faites portent sur des données de séquençage. Dans cette étude, nous avons voulu étudier la fréquence d'association, d'un point de vue protéique, chez un même individu des IgE et IgG1.

Les données de la littérature, obtenues par séquençage massif des chaînes lourdes d'immunoglobulines (partie variable et partie constante), ont montré précédemment que la plupart des IgE, tant chez des individus non symptomatiques que chez des patients allergiques, dérivent d'IgG1, ou plus rarement d'IgG3 et d'IgA1 (43). Ce point reflète la différenciation préférentielle des plasmocytes producteurs d'IgE à partir de lymphocytes B mémoires, porteurs d'IgG ou d'IgA. La différenciation de plasmocytes à IgE directement à partir de B naïfs, exprimant IgM et IgD est largement minoritaire, tant chez des allergiques que chez des individus asymptomatiques (78,79).

Ces données ont été obtenues à partir de l'analyse des acides nucléiques (ARNm extrait des lymphocytes B et plasmablastes du sang périphérique) (25) et n'ont jamais pu être confrontées à l'analyse des protéines elles-mêmes. Bien que notre travail ne permette pas d'établir un lien de « filiation » non équivoque entre IgE et IgG₁ de mêmes spécificités, il est très probable que les IgE et les IgG₁ spécifiques du même AM de l'ISAC soient le produit d'une d'un switch séquentiel (IgM/IgD → IgG₁ → IgE).

Le fait que les IgE soient majoritairement dérivées d'une étape intermédiaire entraîne une avidité moyenne de ces IgE qui doit être égale ou supérieure à celle des IgG ou IgA, du fait d'un nombre plus élevé de mutations somatiques et donc d'étape(s) supplémentaire(s) de sélection par l'allergène dans les centres germinatifs (43). Par contre, la conséquence de la présence d'IgE différenciées en l'absence de la synthèse d'IgG (et surtout d'IgG1) de même spécificité pourrait en théorie avoir deux conséquences opposées :

- Soit, la présence d'IgE sans IgG signifie que ces IgE sont d'avidités relativement basses, et par voie de conséquence, qu'elles se lieront moins bien aux allergènes, et que les concentrations d'allergène requises pour activer les mastocytes seront élevées. En pratique, les individus concernés seraient peu symptomatiques. De plus,

il est possible que ces IgE de faible avidité entrent en compétition avec celles de haute avidité pour la liaison au FcεRI sur les mastocytes.

- A l'inverse, la présence d'IgG de même spécificité(s) que les IgE est connue pour être associée à une symptomatologie allergique moins sévère, en particulier si ces IgG (plutôt des IgG4) apparaissent au cours d'une immunothérapie spécifique. L'absence d'IgG compétitrices des IgE pour la liaison à l'allergène pourrait donc en théorie entraîner des symptômes plus sévères que si des IgG étaient présentes.

Les résultats présentés dans cette Thèse semblent privilégier la première de ces hypothèses.

II- Matériels, méthodes et protocole d'étude :

1- Aspects éthiques et consentement :

- Étude non-interventionnelle type 3b sur résidus d'analyses (puces ISAC conservées congelées à -40°C).
- Autorisation de prélèvement de l'IFB (déclaration DC20162804), non-opposition du patient, représentant légal ou signature du médecin prescripteur sur les feuilles ISAC de demande d'analyse.

2- Population étudiée :

Nous avons étudié 95 patients (sex-ratio = 0,9) ayant tous bénéficié d'un dosage d'IgE par biopuce ImmunoCAP™ ISAC entre les années 2017 et 2020. Ce dosage avait été réalisé à but diagnostique, afin de déterminer le profil de sensibilisation à IgE, au décours d'une consultation d'allergologie au C.H.U de Toulouse. Les patients ont des âges allant de quelques mois à 82

ans. La moyenne d'âge des patients choisis est de 27 ans et la médiane d'âge est de 19 ans.
(Tableau 1)

Echantillon	
Nombre de patients (n)	95
Hommes (%)	45 (47%)
Femmes (%)	50 (53%)
Sex-ratio	0,9
Âges : Min-Max	0-82
Moyenne d'âges	27
Médiane d'âge	19

Tableau 1: Présentation de l'échantillon de patients sélectionnés dans notre étude

3- La biopuce ISAC

La biopuce immunoCAP™ ISAC (ThermoFisher) est un test multiplex de dosage semi-quantitatif des IgE spécifiques. L'ISAC comporte 112 AM différents, provenant de 48 sources allergéniques. Les allergènes sont déposés sous forme de *spots* (de 200 µm de diamètre environ), chacun en *triplicate*, à la surface d'une lame de verre recouverte d'un polymère activé. Les concentrations estimées des IgE spécifiques sont calculées en unités propriétaires ISU-E par référence à une droite de calibration. Cette droite est déterminée en faisant réagir un sérum de contrôle réactif vis-à-vis de 15 des AM de l'ISAC. L'analyse est faite au moyen du logiciel *Phadia Microarray Image analysis* (MIA). Plusieurs versions successives de l'ISAC ont été successivement commercialisées depuis 2010 ; nous avons utilisé exclusivement la version « ISAC 112i ».

4- Étude des IgE spécifiques au moyen de l'ISAC :

Après incubation avec 30 μ L de sérum, la lame est lavée, puis incubée avec l'anticorps monoclonal anti-IgE humaines (ThermoFisher) couplé à un fluorochrome (Alexafluor 532). Après lavage, la lame est séchée, puis la fluorescence est mesurée pour chaque spot au moyen d'un scanner laser à haute résolution (Luxscan 10K). La moyenne des *triplicates* est convertie en quantité d'IgE spécifiques pour chacun des 112 AM, par référence à la droite de calibration (*Figure 7* et *Figure 8*). Ces analyses ont été réalisées entre 2017 et 2020, dans le laboratoire d'Immunologie de l'institut Fédératif de Biologie (IFB) Purpan, pour des patients suivis par les médecins allergologues du C.H.U. de Toulouse.

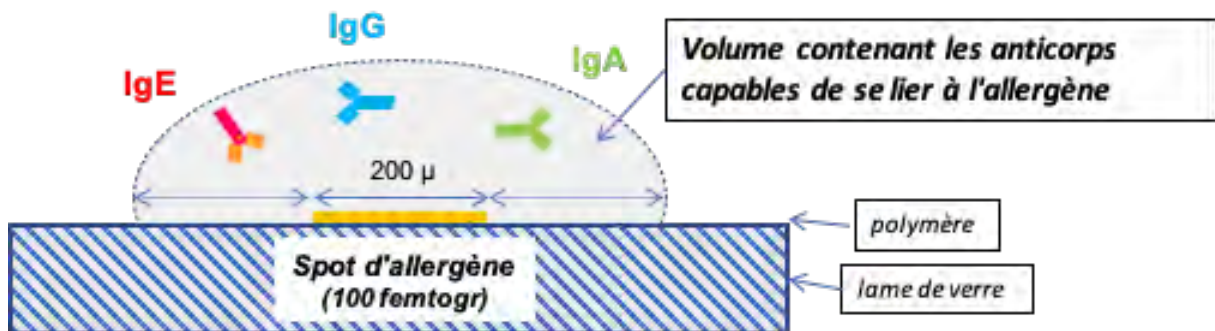


Figure 7: ImmunoCAP™ ISAC 112/e112 (ThermoFisher)

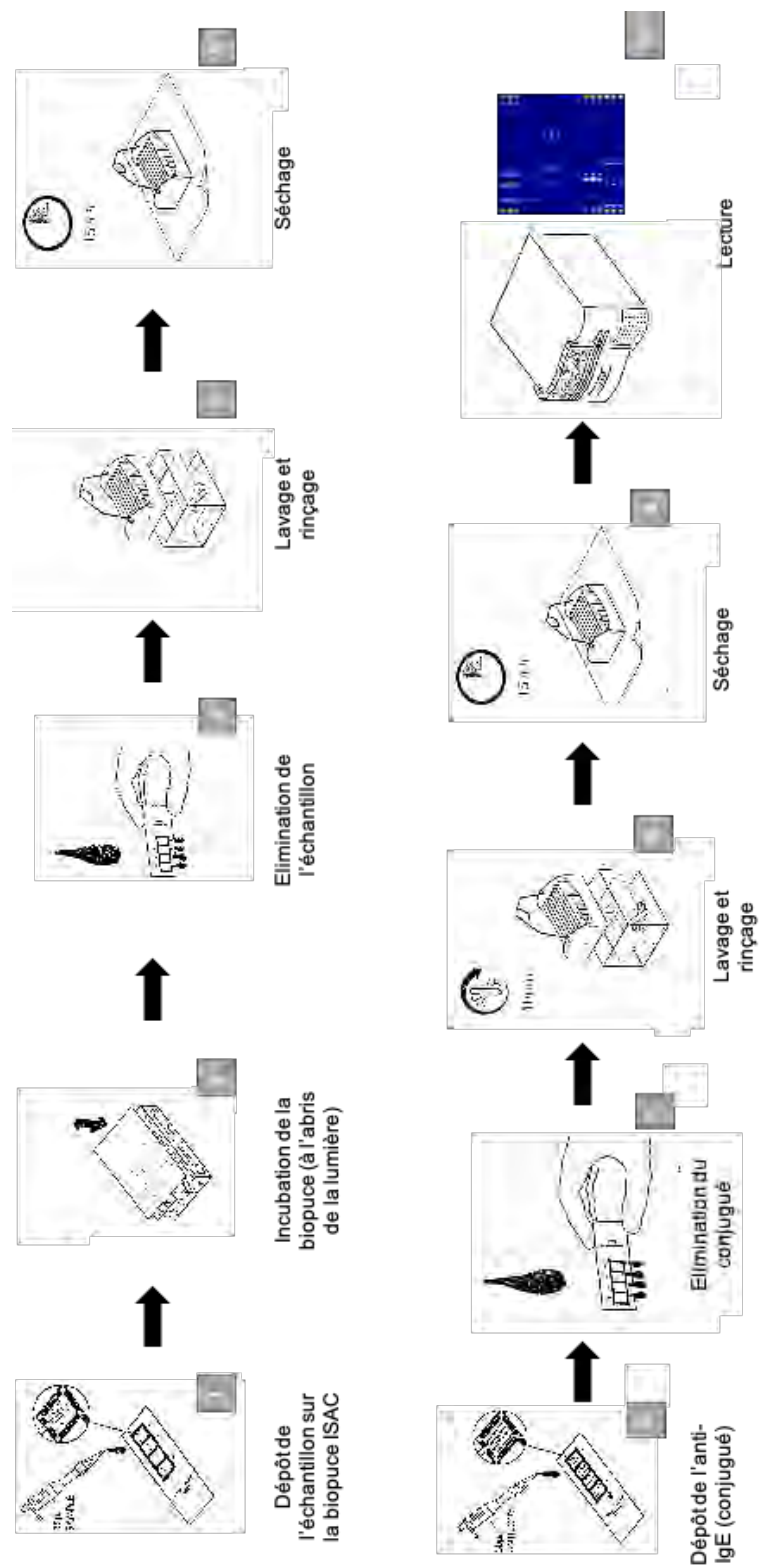


Figure 8: Schéma d'un dosage des IgE sur biopuce ISAC

5- Étude des IgG₁ spécifiques par l'ISAC :

Après leur analyse pour la mesure des IgE spécifiques, les biopuces ISAC ont été conservées à -40°C en récipients scellés dans le laboratoire d'immunologie de l'IFB. Dans le cadre de cette thèse, et afin d'obtenir le profil de sensibilisation aux IgG₁ de ces patients, nous avons incubé ces biopuces une seconde fois avec un anticorps monoclonal murin anti-IgG₁ humaines (Mouse Anti-Human IgG₁ Hinge ; Clone 4E3 ; SouthernBiotech, réf. 9052-31) couplé au fluorochrome Alexafluor 647. Cet anticorps était utilisé après dilution au 1/100 (30µL par biopuce) (*Figure 9*).

Il faut noter que la possibilité de quantifier les IgG₄ était proposée par ThermoFisher sur des versions précédentes de l'ISAC, en utilisant une dilution au 1/50 des sérums. Pour ce travail, l'incubation des biopuces avec un anti-IgG₁ se fait avec des sérums non dilués, ce qui permet une sensibilité élevée de la méthode.

Après incubation avec l'anti-IgG₁, les biopuces ISAC ont été analysées à l'aide du logiciel MIA, en utilisant sa fonction d'analyse « IgG / IgG₄ », laquelle est adaptée au fluorochrome Alexafluor 647. Enfin, les valeurs brutes de fluorescence détectée en IgG₁ ont été converties en « ISU-G1 » en utilisant la même droite de calibration (sérum de calibration KS15) pour toutes les biopuces.

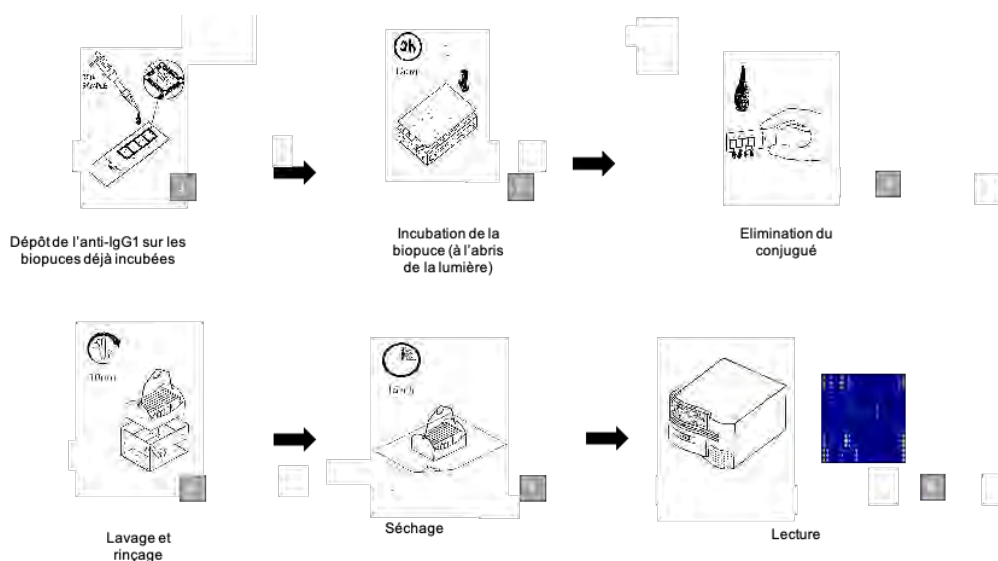


Figure 9: Réincubation des biopuces avec un anti-IgG1

6- Fréquence de détection des allotypes G₁m

Nous avons incubé environ 300 biopuces ISAC avec l'anti- IgG₁ décrit ci-dessus. Cet anticorps n'a permis de révéler les IgG₁ que pour environ 1/3 des patients et ne donnait aucun signal sur les 2/3 des biopuces. Ceci est probablement dû à la position de l'épitope reconnu par le clone 4E3 sur la région charnière (Hinge) des IgG₁ humaines. Il existe en effet un déterminant d'allotype G₁m sur CH1 en lisière du hinge.

Human IgG1 CH1:	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTEFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVK
G1m17 or G1m(z)	K
G1m3 or G1m(f)	R
Human IgG1 hinge:	EPKSCDKTHTCPPCP

Figure 10: Séquence protéique de la chaîne lourde et de la région hinge des immunoglobulines (IMGT, the international ImMunoGeneTics information system®) (80)

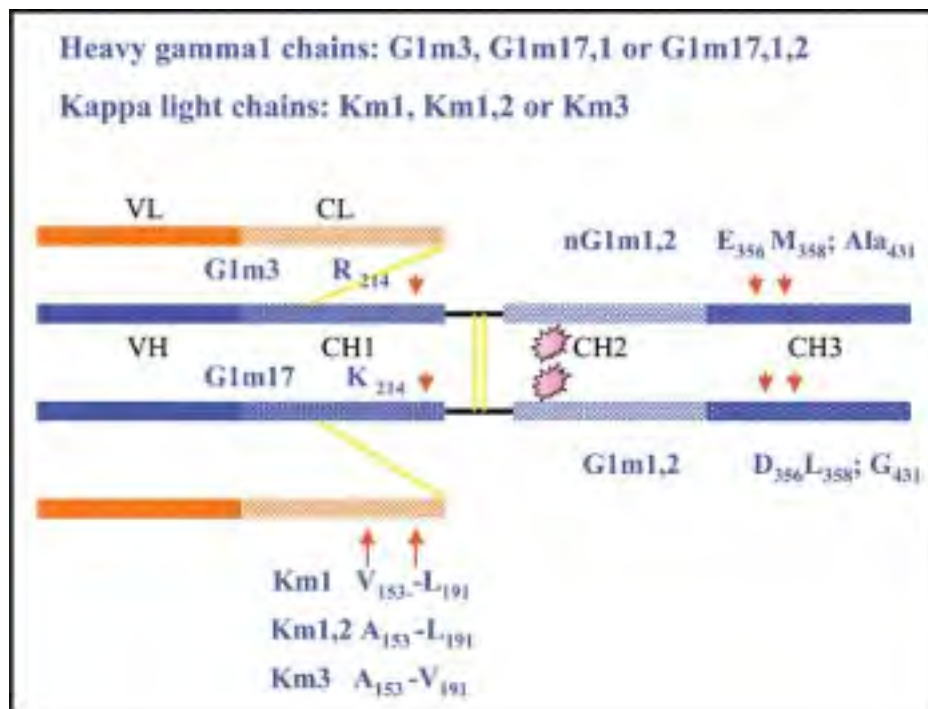


Figure 11: Représentation des allotypes G₁m3 et G₁m17 sur l' IgG₁ (schéma repris de Jefferis et Lefranc) (81)

7- Recueil et codage des données :

La clinique allergologique des patients a été recueillie soit à partir des dossiers de consultation et d'hospitalisation sur le logiciel ORBIS, soit grâce aux renseignements communiqués lors de la demande de test ISAC. Les données cliniques ont été codifiées numériquement dans un tableur Excel de façon à attribuer à chaque patient des scores d'allergies cliniques respiratoire et alimentaire.

La clinique respiratoire a surtout consisté en la présence ou l'absence de conjonctivite, et les scores ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) et GINA (Global Initiative for Asthma).

D'un point de vue alimentaire, le recueil des données cliniques a consisté sur la notion d'une consommation régulière des aliments (blanc d'œuf, arachide, soja, fruits à coques, blé, sésame, sarrasin, crevettes, crustacés, poisson) pour lesquels des AM représentatifs sont présents sur l'ISAC, éventuellement supportée par un test de provocation, ainsi que sur la présence ou l'absence d'un antécédent de syndrome oral et/ou de choc anaphylactique documenté.

8- Analyses statistiques :

Afin de réaliser les analyses statistiques, nous avons utilisé le tableur Excel (recueil et formatage des données), ainsi que le logiciel Prism (Graphpad). Nous avons analysé uniquement les fréquences de sensibilisation (à IgE et à IgG₁) et non les niveaux de sensibilisation. Pour déterminer ces fréquences, nous avons transformé les résultats semi-quantitatifs de l'ISAC (en ISU-E et ISU-G1) en données qualitatives, en fixant un seuil de positivité très bas (0,1 ISU-E ou ISU-G1). L'analyse statistique des fréquences de sensibilisation a été faite selon le test de Fisher, en fixant le seuil de significativité de la *p-value* égal à 0,05.

III- Résultats

1- Définition des groupes de patients :

En premier lieu, nous avons divisé les 95 patients en 2 groupes selon l'âge médian de 19 ans. Le groupe 1 est constitué de patients ayant moins que 19 ans (19 ans inclus), définis comme les patients « jeunes ». Le groupe 2 de ceux ayant plus que 19 ans ou les patients « adultes ». (Tableau 2)

	Groupe 1 ou « ≤ 19 ans »	Groupe 2 ou « > 19 ans »
Nombre de patients	47	48
Hommes	32 (68%)	13 (27%)
Femmes	15 (32%)	35 (73%)
Sex-ratio (H/F)	2,1	0,3
Age moyen (min-max)	10,8 (0-19)	42 (20-82)

Tableau 2 : caractéristiques démographiques des deux groupes d'âge.

Nous avons divisé les allergènes en 3 groupes : alimentaires, respiratoires et responsables de réactivités croisées. Au sein de chaque groupe, les allergènes moléculaires ont été regroupés selon leur source allergénique (l'organisme à partir duquel ils ont été caractérisés). (Tableau 3, Tableau 4, Tableau 5)

Type	Origine	Allergènes moléculaires (nom biochimique)	Espèce	
A L I M E N T A I R E	Œuf	Blanc d'œuf	Gal d 1 (ovomucoid), Gal d 2 (ovalbumin), Gal d 3 (ovotransferrin)	Gallus domesticus
		Jaune d'œuf	Gal d 5 (serum albumin)	Gallus dooesticus
		Lait de vache	Bos d 4 (alpha- lactalbumine), Bos d 5 (béta-lactoglobuline), Bos d 8 (caséine), Bos d lactoferrine	Bos domesticus
	Poisson	Morue	Gad c 1 (béta-parvalbumine)	Gadus callarias
		Parasite : Anisakis	Ani s 1	Anisakis simplex
	Crustacés	Crevettes et crustacés	Pen m 2 (arginine kinase), Pen m 4 (sarcoplasmic calcium binding protein)	Penæus monodon
	Fruits à coque	Noix de cajou	Ana o 2 (legumin-like protein)	Anacardium occidentale
		Noix du Brésil	Ber e 1 (sulfur-rich seed storage albumin), Cor a 9 (seed storage globulin)	Bertholletia excels, Corylus avellana
		Noix	Jug r 1 (2S albumin seed storage protein), Jug r 2 (Vicilin seed storage protein)	Juglans regia
	Arachides	Arachides	Ara h 1 (cupin), Ara h 2 (conglutin), Ara h 3 (cupin), Ara h 6 (conglutin)	Arachis hypogaea
Soja		Gly m 5 (beta-conglycinin), Gly m 6 (glycinin)	Glycine max	
Céréales	Blé	Tri a 14 (non-specific lipid transfer protein 1), Tri a 19 (omega -5 gliadin), Tri aA	Triticum aestivum	
	Sesame	Ses i 1	Sesamum indicum	
	Sarrasin	Fag e 2 (2S albumin)	Fagopyrum esculentum	
Fruits	Kiwi	Act d 1 (cysteine protéase), Act d 5 (kiwellin)	Actinidia deliciosa	

Tableau 3: Les allergènes d'origine alimentaire présents sur la puce ISAC, les allergènes moléculaires correspondants et leurs origines.

Type	Origine	Allergènes moléculaires (nom biochimique)	Espèce	
R E S P I R A T O I R E	Pollens de graminées	Chiendent	Cyn d 1 (beta-expansin)	Cynodon dactylon
		Phléole	Phl p 1 (beta-expansin) , Phl p 2 (grass group II/III) , Phl p 4 (berberine bridge enzyme) , Phl p 5 , Phl p 6 , Phl p 11 (Ole e 1-related protein)	Phleum pratense
	Pollens d'arbres	Aulne	Aln g 1	Alnus glutinosa
		Cèdre	Cry j 1 (pectate lyase)	Cryptomeria japonica
		Cyprès	Cup a 1 (pectate lyase)	Cupressus arizonica
		Olivier	Ole e 1 (common olive group 1) , Ole e 9 (1-3 beta	Olea europaea
		Platane	Pla a 1 (putative invertase inhibitor) , Pla a 2 (plygalacturonase)	Platanus acerifolia
	Pollens d'herbacées	Ambroisie	Amb a 1 (pectate lyase)	Ambrosia artemisiifolia
		Armoise	Art v 1 (defensin-like protein linked to polyproline-rich region)	Artemisia vulgaris
		Chénopode	Che a 1 (Ole e 1 homologue)	Chenopodium album
		Pariétaire	Par j 2 (Non-specific lipid transfer protein type 1)	Parietaria judaica
		Plantain	Pla l 1 (Ole e 1-related protein)	Plantago lanceolata
		Soude	Sal k 1 (Pectin methylesterase)	Salsola kali
	Animaux	Chat	Fel d 1 (uteroglobin) , Fel d 4 (lipocalin)	Felis domesticus
		Chien	Can f 1 (lipocalin) , Can f 2 (lipocalin) , Can f 5	Canis familiaris
		Cheval	Equ c 1 (lipocalin)	Equus caballus
		Souris	Mus m 1 (lipocalin and urinary prealbumin)	Mus musculus
	Microorganismes	Alternaria	Alt a 1 , Alt a 6 (enolase)	Alternaria alternate
		Aspergillus	Asp f 1 (mitogillin family) , Asp f 3 (peroxysomal protein) , Asp f 6 (mn superoxide dismutase)	Aspergillus fumigatus
		Cladosporium	Cla h 8 (mannitol dehydrogenase)	<i>C. herbarum</i>
Acarie domestiques	D. farinae	Der f 1 (cysteine protease) , Der f 2 (NPC2 family)	<i>D. farinae</i>	
	D. pteronyssinus	Der p 1 (cysteine protease) , Der p 2 (NPC2 family)	<i>D. pteronyssinus</i>	
Acarie de stockage	Lepidoglyphus destructor	Lep d 2 (NPC2 family)	Lepidoglyphus destructor	
	Blomia tropicalis	Blo t 5 (alpha-amylase)	Blomia tropicalis	
Insectes	Blatte	Bla g 1 (nitrile specifier) , Bla g 2 (inactive aspartic protease) , Bla g 5 (glutathione S-transferase)	Blatella germanica	
Polcalcine	Bouleau et Phléole	Bet v 4 , Phl p 7	Betula verrucosa, Phleum pratense	

Tableau 4: Les allergènes respiratoires présents sur la puce ISAC, les allergènes moléculaires correspondants et leurs origines.

Type	Origine	Allergènes moléculaires		
		(nom biochimique)	Espèce	
C R O I S É	Tropomyosines	Anisakis	Ani s 3	Anisakis simplex
		Blatte	Bla g 7	Blattella germanica
		Acariens	Der p 10	D. pteronyssinus
		Crevette	Pen m 1	Penaeus monodon
	Albumines	Vache	Bos d 6	Bos domesticus
		Chien	Can f 3	Canis familiaris
		Cheval	Equ c 3	Equus caballus
		Chat	Fel d 2	Felis domesticus
	LTPs (lipid transfer proteins)	Cacahuète	Ara h 9	Arachis hypogaea
		Noisette	Cor a 8	Corylus avellana
		Noix	Jug r 3	Juglans regia
		Pêche	Pru p 3	Prunus persica
		Armoise	Art v 3	Artemisia vulgaris
		Pollen d'olivier	Ole e 7	Olea europaea
		Platane	Pla a 3	Platanus acerifolia
PR-10 (pathogen- related proteins #10)	Kiwi	Act d 2	Actinidia deliciosa	
	Bouleau	Bet v 1	Betula verrucosa	
	Noisetier	Cor a 1.010	Corylus avellana	
	Noisette	Cor a 1.040	Corylus avellana	
	Pomme	Mal d 1	Malus domestica	
	Pêche	Pru p 1	Prunus persica	
	Graines de soja	Gly m 4	Glycine max	
	Cacahuète	Ara h 8	Arachis hypogaea	
	Kiwi	Act d 8	Actinidia deliciosa	
	Céleri	Api g 1	Apium graveolens	
Profilines	Bouleau	Bet v 2	Betula verrucosa	
	Latex	Hev b 8	Hevea brasiliensis	
	Mercure	Mer a 1	Mercurialis annua	
	Phéole	Phl p 12	Phleum pratense	
CCD ⁽¹⁾	Bromélaïne	MUXF3	végétaux & venins	

Tableau 5: Les allergènes responsables de réactions croisées présents sur la puce ISAC, les allergènes moléculaires correspondants et leurs origines.

(1) : CCD = *cross-reactive carbohydrate determinants* ; l'épitope glucidique MUXF3 est l'un des principaux composants glucidiques retrouvés sur un grand nombre de protéines allergéniques d'origine végétale, et aussi sur des composants protéiques des venins d'hyménoptères (source de réactions croisées).

Pour chaque patient, nous avons recueilli son profil de sensibilisation à IgG1, IgE ainsi que les renseignements cliniques correspondant à ses symptômes allergiques.

2- Comparaison des profils de sensibilisation à IgE et IgG₁:

Les biopuces (incubées précédemment avec un anti-IgE) ont été décongelées, lavées et séchées, incubées avec l'anticorps monoclonal anti- IgG₁, puis analysées par scanner et le logiciel MIA. Des exemples d'images de biopuces révélant successivement les IgE, puis les IgG₁ sont présentées dans la *Figure 12*.

2.1- Analyse des fréquences de sensibilisation à IgE et d'immunisation à IgG₁

Nous avons tout d'abord comparé séparément les profils de sensibilisation à IgE et les profils d'immunisation à IgG₁ dans les 2 groupes d'âge.

L'analyse de l'ensemble des 95 patients montre une fréquence de sensibilisation à IgG₁ (« Se IgG₁ ») très significativement supérieure à la fréquence de sensibilisation à IgE (« Se IgE »), pour la majorité des allergènes de la biopuce.

Par contre, certains allergènes notamment des allergènes respiratoires, sont associés à des fréquences de sensibilisation comparables pour les IgG₁ et les IgE, et cela dans les 2 groupes d'âge. Ces allergènes faisant exception sont les AM d'acariens (*p-value*= 0,24 chez les « ≤ 19 ans », *p-value* = 0,06 chez les « > 19 ans »), des polcalcines de pollens de bouleau et phléole (*p-value* = 0,25 chez les « ≤ 19 ans », *p-value* = 1 chez les « > 19 ans ») et le déterminant glucidique MUXF3 (*p-value* = 0,83 chez les « ≤ 19 ans », *p-value* = 0,17 chez les « >19 ans »). Les AM de graminées ne présentaient pas de différence significative entre les fréquences de sensibilisation IgE et IgG₁, chez les ≤ 19 ans (*p-value* = 0,14) mais le devenaient dans le 2^{ème} groupe d'âge (*p-value* = 0,005). (Tableau 6 et Tableau 7)

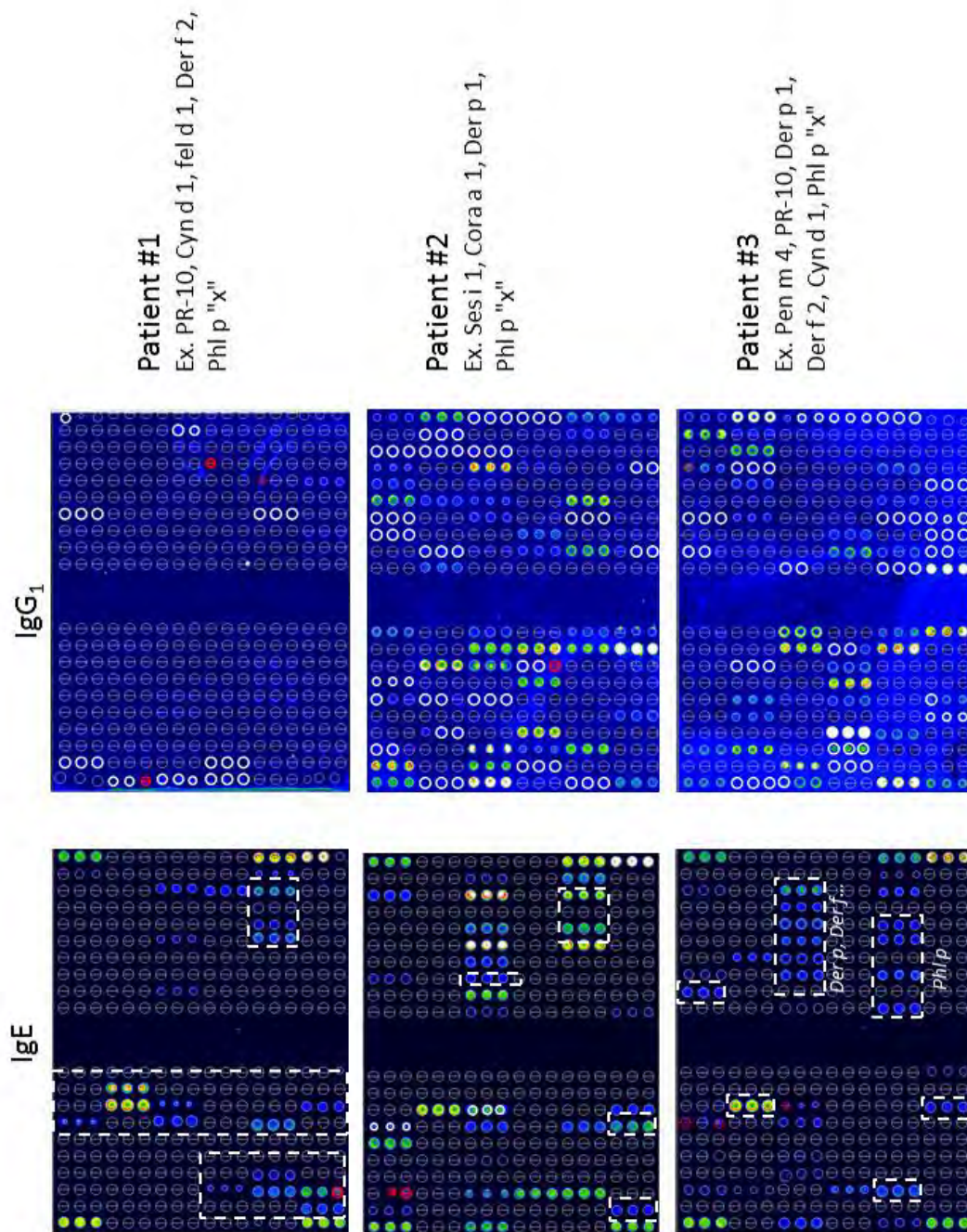


Figure 12 : Exemples de profils de sensibilisation à IgE et à IgG1.

Ces trois patients présentent tous des sensibilisations à IgE non accompagnées d'IgG₁ de même(s) spécificités (cadres blancs). Les images du dessous présentent les biopuces ISAC après incubation avec un anticorps monoclonal anti-IgE (couplé alexafluor 532), tandis que les images du dessus montrent les mêmes biopuces après leur ré-incubation avec un anticorps monoclonal anti-IgG₁ (clone 4E3 couplé à l'AF647). Les principaux allergènes moléculaires qui ne sont reconnus que par des IgE et non par des IgG₁ sont listés.

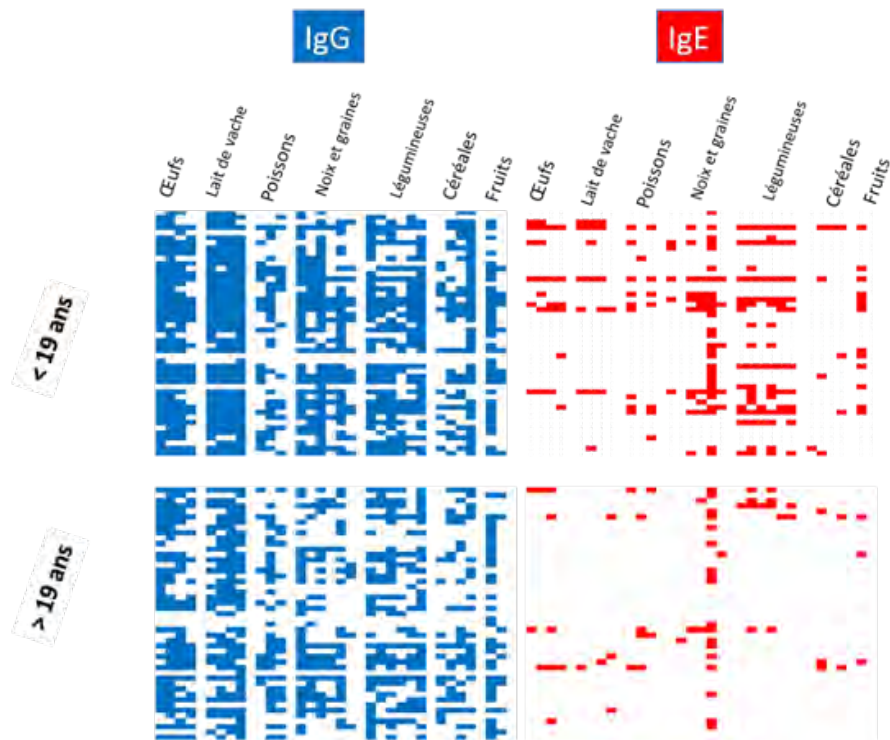


Figure 13: Représentation des profils d'IgE et d'IgG₁ dirigés contre les allergènes alimentaires dans les 2 groupes d'âge

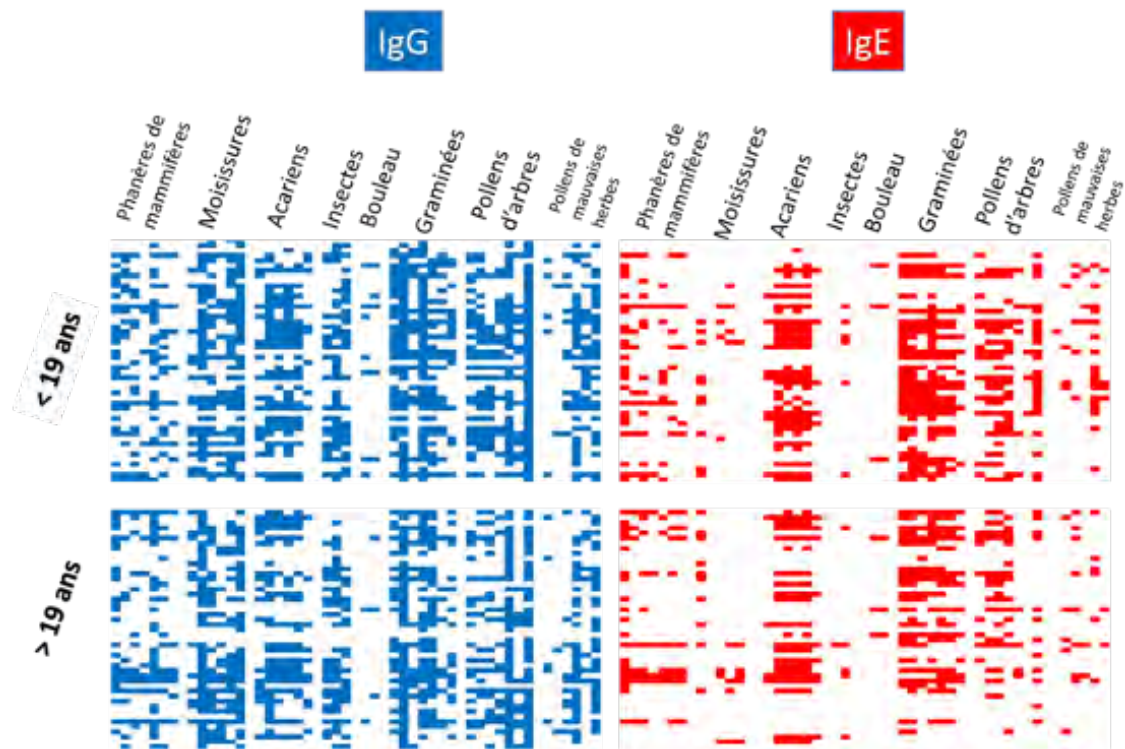


Figure 14: Représentation des profils d'IgE et d'IgG₁ dirigés contre les allergènes respiratoires dans les 2 groupes d'âge

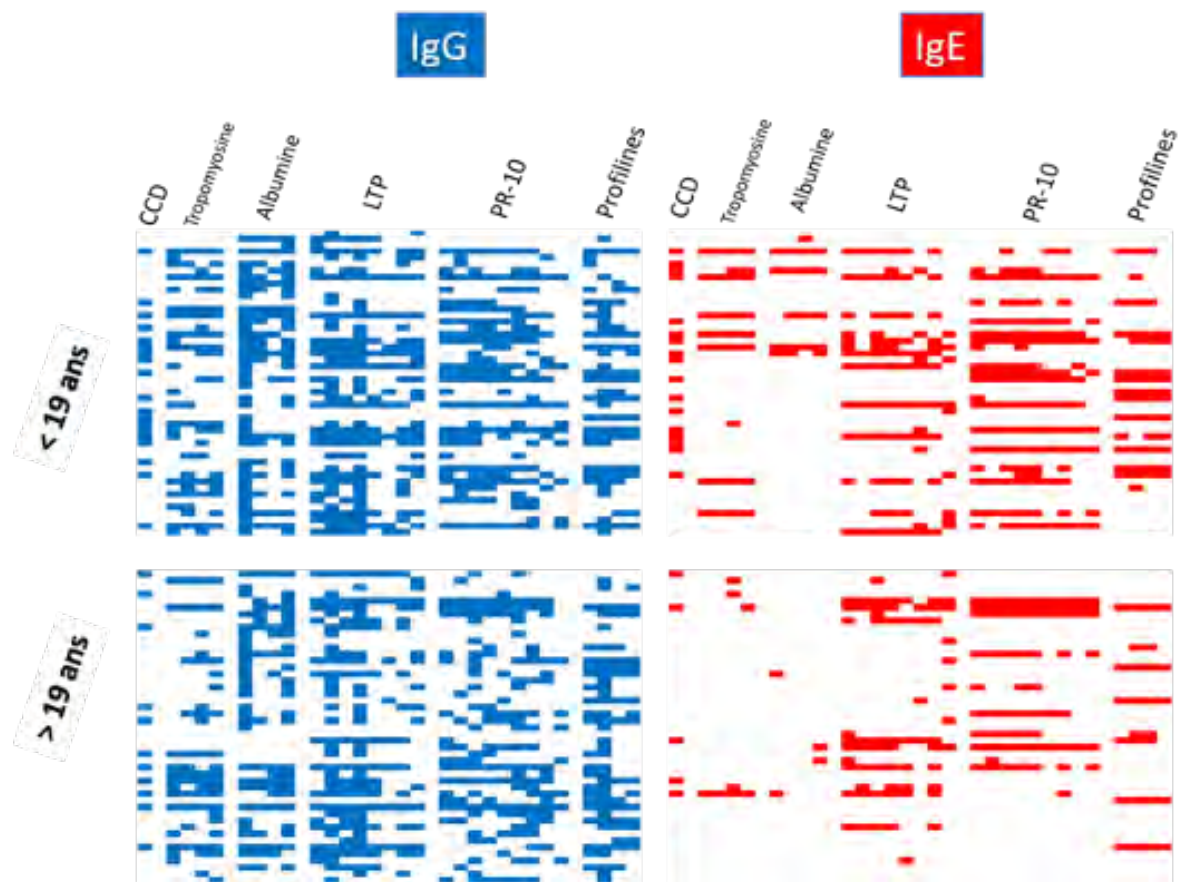


Figure 15: Représentation des profils d'IgE et d'IgG₁ dirigés contre les allergènes responsables de réactivité croisée dans les 2 groupes d'âge

Allergènes	Catégorie	Nb d'allergènes	< 19 ans						
			IgG		IgE		Fq de Se*	Fq de Se*	p-value (Fisher)
			Nb total	Nb positifs	Nb total	Nb positifs	IgG	IgE	
Respiratoire	Phanères de mammifères	7	336	118	336	72	35,12%	21,43%	0,0001
	Moississures	6	288	158	288	19	54,86%	6,60%	<0,0001
	Acariens	6	288	134	288	119	46,53%	41,32%	0,24
	Insectes	3	144	75	144	6	52,08%	4,17%	<0,0001
	Polcalcines de pollen	2	96	12	96	6	12,50%	6,25%	0,25
	Graminées	7	336	193	336	173	57,44%	51,49%	0,14
	Pollens d'arbres	7	336	191	336	112	56,85%	33,33%	<0,0001
	Pollen de mauvaise herbe	6	288	96	288	35	33,33%	12,15%	<0,0001
Alimentaires	Œufs	4	192	143	192	24	74,48%	12,50%	<0,0001
	Lait de vache	4	192	167	192	17	86,98%	8,85%	<0,0001
	Poisson et crevette	3	144	60	144	17	41,67%	11,81%	<0,0001
	Fruits à coque	6	288	173	288	56	60,07%	19,44%	<0,0001
	Legumineuses	6	288	187	288	74	64,93%	25,69%	<0,0001
	Céréales	4	192	94	192	9	48,96%	4,69%	<0,0001
	Fruits	2	96	45	96	13	46,88%	13,54%	<0,0001
Croisée	CCD (MUXF3)	1	48	19	48	17	39,58%	35,42%	0,83
	Tropomyosines	4	192	75	192	31	39,06%	16,15%	<0,0001
	albumines	4	192	103	192	19	53,65%	9,90%	<0,0001
	LTP	8	384	185	384	87	48,18%	22,66%	<0,0001
	PR-10	9	432	174	432	126	40,28%	29,17%	0,0008
	Profilines	4	192	82	192	50	42,71%	26,04%	0,0008

Tableau 6: comparaison des profils de sensibilisation à IgE et IgG₁ chez les patients du groupe « ≤ 19 ans »

* Fq de Se: fréquence de sensibilisation

Allergènes	Catégorie	Nb d'allergènes	> 19 ans						
			IgG		IgE		Fq de Se* IgG	Fq de Se* IgE	p-value (Fisher)
			Nb total	Nb positifs	Nb total	Nb positifs			
Respiratoire	Phanères de mammifères	7	329	110	329	67	33,43%	20,36%	0,0002
	Moississures	6	282	154	282	22	54,61%	7,80%	<0,0001
	Acariens	6	282	117	282	95	41,49%	33,69%	0,068
	Insectes	3	141	69	141	6	48,94%	4,26%	<0,0001
	Polcalcines de pollen	2	94	5	94	6	5,32%	6,38%	1
	Graminées	7	329	170	329	133	51,67%	40,43%	0,005
	Pollens d'arbres	7	329	158	329	68	48,02%	20,67%	<0,0001
	Pollen de mauvaise herbe	6	282	86	282	23	30,50%	8,16%	<0,0001
Alimentaires	Œufs	4	188	117	188	10	62,23%	5,32%	<0,0001
	Lait de vache	4	188	125	188	5	66,49%	2,66%	<0,0001
	Poisson et crevette	3	141	56	141	8	39,72%	5,67%	<0,0001
	Fruits à coque	6	282	109	282	23	38,65%	8,16%	<0,0001
	Legumineuses	6	282	141	282	13	50,00%	4,61%	<0,0001
	Céréales	4	188	65	188	5	34,57%	2,66%	<0,0001
	Fruits	2	94	41	94	3	43,62%	3,19%	<0,0001
Croisée	CCD (MUXF3)	1	47	11	47	5	23,40%	10,64%	0,17
	Tropomyosines	4	188	61	188	8	32,45%	4,26%	<0,0001
	albumines	4	188	85	188	4	45,21%	2,13%	<0,0001
	LTP	8	376	154	376	65	40,96%	17,29%	<0,0001
	PR-10	9	423	153	423	67	36,17%	15,84%	<0,0001
	Profilines	4	188	86	188	27	45,74%	14,36%	<0,0001

Tableau 7: Comparaison des profils de sensibilisation à IgE et IgG₁ chez les patients du groupe " > 19 ans "

Nous avons ensuite comparé les fréquences de sensibilisation à IgE et d'immunisation à IgG₁ entre les 2 groupes d'âge (Tableau 8). Les sujets jeunes étaient plus fréquemment à la fois immunisés (à IgG₁) et également sensibilisés (à IgE) que les sujets de plus de 19 ans, surtout pour des AM d'origine alimentaire qui sont: le lait de vache (*p-value* < 0,001 et = 0,014 respectivement), fruits à coque (*p-value* < 0,0001 pour les IgG₁ et IgE), légumineuses (*p-value* = 0,004 et < 0,001 respectivement). La fréquence de sensibilisation (IgE) aux AM de fruits (kiwi, Act d 1, Act d 5) était significativement supérieures chez les jeunes (*p-value* = 0,016) alors que la fréquence d'immunisation (IgG₁) était comparable entre les 2 groupes d'âge (*p-value* = 0,66). Pour les allergènes respiratoires, une différence significative entre les deux groupes d'âge n'était observée que pour les AM de pollens d'arbres, avec des fréquences plus élevées d'IgE et d'IgG₁ chez les jeunes (*p*= 0,02 pour les IgG₁ ; *p* = 0,0002 pour les IgE).

Par contraste, nous avons retrouvé des sensibilisations à IgE très significativement plus fréquentes chez les jeunes, vis-à-vis des AM impliqués dans des réactivités croisées, à l'exception notable des *lipid-transfer proteins* (LTPs): MUXF3 (*p-value* = 0,007), les tropomyosines (*p-value* = 0,0001), l'albumine (*p-value* = 0,002), les PR-10 (*p-value* < 0,001) et les profilines (*p-value* = 0,005). A l'inverse, les fréquences d'immunisation (IgG₁) envers ces mêmes allergènes ne diffèrent pas entre les deux groupes d'âge (*p-value* = 0,49 pour les LTPs, ce que nous ne considérons pas comme significatif).

Allergènes	Catégorie	< 19 ans		> 19 ans		Comparaison Fréquence IgG < et > 19 ans	Comparaison Fréquence IgE < et > 19 ans
		Fq de Se IgG	Fq de Se IgE	Fq de Se IgG	Fq de Se IgE		
Respiratoire	Phanères de mammifères	35,12%	21,43%	33,43%	20,36%	0,68	0,77
	Moississures	54,86%	6,60%	54,61%	7,80%	1	0,63
	Acariens	46,53%	41,32%	41,49%	33,69%	0,24	0,07
	Insectes	52,08%	4,17%	48,94%	4,26%	0,64	1
	Polcalcines de pollen	12,50%	6,25%	5,32%	6,38%	0,13	1
	Graminées	57,44%	51,49%	51,67%	40,43%	0,14	0,005
	Pollens d'arbres	56,85%	33,33%	48,02%	20,67%	0,02	0,0002
	Pollen de mauvaise herbe	33,33%	12,15%	30,50%	8,16%	0,47	0,13
Alimentaires	Œufs	74,48%	12,50%	62,23%	5,32%	0,011	0,019
	Lait de vache	86,98%	8,85%	66,49%	2,66%	<0,0001	0,014
	Poisson et crevette	41,67%	11,81%	39,72%	5,67%	0,8	0,09
	Fruits à coque	60,07%	19,44%	38,65%	8,16%	<0,0001	<0,0001
	Legumineuses	64,93%	25,69%	50,00%	4,61%	0,0004	<0,0001
	Céréales	48,96%	4,69%	34,57%	2,66%	0,005	0,42
	Fruits	46,88%	13,54%	43,62%	3,19%	0,66	0,016
Croisée	CCD (MUXF3)	39,58%	35,42%	23,40%	10,64%	0,12	0,007
	Tropomyosines	39,06%	16,15%	32,45%	4,26%	0,2	0,0001
	albumines	53,65%	9,90%	45,21%	2,13%	0,1	0,002
	LTP	48,18%	22,66%	40,96%	17,29%	0,049	0,07
	PR-10	40,28%	29,17%	36,17%	15,84%	0,23	<0,0001
	Profilines	42,71%	26,04%	45,74%	14,36%	0,6	0,005

Tableau 8: Comparaison des fréquences de sensibilisations aux IgG et IgE entre les 2 groupes d'âge.

2.2- Des IgE sont plus souvent présentes en l'absence d' IgG₁ de même(s) spécificité(s) chez les sujets d'âge > 19 ans.

Nous avons comparé la fréquence des IgE présentes en l'absence d'IgG₁ de la même spécificité. Par exemple, nous avons dénombré les cas où des IgE (>0,1 ISU-E) spécifiques d'un AM donné étaient présentes chez un individu, et où, chez le même sujet, des IgG₁ de la même spécificité n'étaient pas détectées (<0,1 ISU-G1) (Figure 12). La fréquence d'IgE sans IgG₁ dans notre échantillon d'étude (tous les âges confondus) était de **30%**. Les patients du groupe plus âgé présentaient une fréquence plus importante d'IgE sans IgG₁ que les patients jeunes (*p-value* : 0,004). (Tableau 9)

Groupe	Nombre de sujets	IgE totaux	IgE sans IgG ₁	Fréquence IgE sans IgG ₁	<i>p-value</i>
TOUS	95	1382	412	30%	NA
≤ 19 ans	47	1118	232	21%	0,004
> 19 ans	48	676	180	27%	

Tableau 9: Fréquences comparées de la présence d'IgE en l'absence d'IgG₁ de même spécificité

Devant ce résultat, nous avons voulu vérifier si cette différence liée à l'âge peut en réalité être due à la disparité des sexes des patients entre les deux groupes d'âge. Nous avons donc comparé les fréquences d'IgE produites sans IgG₁ entre les hommes et les femmes dans l'échantillon, mais aussi dans les 2 groupes d'âge « ≤ 19 ans » et « > 19 ans ». Les fréquences étaient comparables entre les 2 sexes dans les peu importe leur âge. (Tableau 10)

Groupe	Sexe	Nombre de sujets	Sex-ratio	IgE totaux	IgE sans IgG1	<i>p-value</i> (Fisher)
TOUS	Masculin	45	0,9	781	225	0,50
	Féminin	50		601	187	
≤ 19 ans	Masculin	32	2,1	841	184	0,12
	Féminin	15		277	48	
> 19 ans	Masculin	13	0,3	165	41	0,61
	Féminin	35		511	139	

Tableau 10: Comparaison de la fréquence de production d'IgE sans IgG en fonction du sexe des patients.

3- Corrélation des profils de sensibilisation avec les tableaux cliniques

Dans une 2^{ème} partie, nous avons voulu étudier l'impact clinique de la présence d'IgE spécifiques d'un AM donné, en absence d'IgG₁ spécifiques de ce même allergène. Pour cela nous avons divisé les patients en 4 groupes (groupe A, B, C et D), tous âges confondus, selon l'intensité de leurs symptômes d'allergie respiratoire et/ou alimentaire et nous avons établi une cotation par grade de la sévérité de leurs symptômes.

Notre cotation de la symptomatologie alimentaire est la suivante :

- 1 point est attribué si le patient consomme régulièrement et/ou considéré tolérant à l'aliment (en l'absence d'induction de tolérance orale ou ITO) ;
- 2 points s'il consomme l'aliment pendant une ITO ou après une ITO ;
- 3 points si le patient a effectué une éviction complète de l'aliment soit spontanée, soit après échec d'une ITO ;
- 4 points en cas d'antécédent de choc anaphylactique ayant eu besoin d'une administration d'adrénaline datant de moins de 6 mois (qu'une ITO ait été débutée ou non).

Les symptômes alimentaires sont considérés comme présents et sévères si le patient a déjà eu une réaction allergique à la consommation d'un des aliments choisis (lait, blanc d'œuf,

arachide, soja, fruits à coque dont cajou, noix, noisette et pistache, blé (ou sésame ou sarrasin) crevettes (ou crustacés) et poisson) et donc si le score est supérieur ou égal à 9.

Quant à la cotation de la symptomatologie respiratoire, elle se base sur les scores ARIA et GINA, tels que renseignés par les cliniciens lors de la consultation aboutissant à la prescription de la biopuce ISAC :

- 1 point est attribué en cas de symptômes « légers » présents de façon intermittente ;
- 2 points en cas de symptômes respiratoires « sévères » présents de façon intermittente ;
- 3 points en cas de symptômes « légers » présents de façon persistante ;
- 4 points en cas de symptômes « sévères » présents de façon persistante.

Les patients sont considérés comme ayant des symptômes allergiques respiratoires sévères s'ils ont un score supérieur ou égal à 3.

Les 4 groupes de patients sont définis de la façon suivante :

- Le groupe A, constitué de patients ayant des symptômes respiratoires sévères (score supérieur ou égal à 3) mais des symptômes alimentaires faibles à modérés (score supérieur ou égal à 9) ;
- Le groupe B, constitué de patients ayant des symptômes sévères sur les 2 plans respiratoire et alimentaire ;
- Le groupe C, constitué de patients ayant des symptômes faibles sur les 2 plans respiratoire et alimentaire ;
- Le groupe D, constitué de patients ayant des symptômes alimentaires sévères mais des symptômes respiratoires faibles à modérés.

Leurs différentes caractéristiques sont résumées dans le Tableau 11 et la Figure 16.

Score	Alimentaire	A	B	C	D
		< 9	> ou = 9	< 9	> ou = 9
	Respiratoire	> ou = 3	> ou = 3	< 3	< 3
Nombre de patients		13	13	33	36
Sex-ratio (H/F)		0,6 (5/8)	1,8 (9/5)	0,9 (16/17)	0,7 (15/21)
Age min - max		7 - 67	11 - 70	5 - 82	<1 - 69
Age médian		37	17	27	14

Tableau 11: Caractéristiques des groupes A, B, C et D

		Score des symptômes respiratoires								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Score des symptômes alimentaires	0	1								
	1									
	2									
	3		C					A		
	4									
	5	1								
	6	1								
	7			1		1				
	8	22	3	4	4	6		1		1
	9	1			1					
	10	4	3		2	1			1	1
	11	5	1			1		1		
	12	4	4	1	1				1	
	13	2		1						
	14	3	1		1					
	15	1					1			
	16	2								
	17			1						
	18	1	D					B		
	19									
	20							1		
	21									
	22	1								

Figure 16 : Répartition des patients dans les 4 groupes selon leurs scores de symptômes.

Le nombre de patients pour chaque type d'association des scores alimentaire et respiratoire est indiqué dans les cases.

Nous avons ensuite comparé la fréquence de sensibilisation et de sécrétion d'IgE et IgG₁ des patients présents dans les différents groupes, ainsi et surtout la fréquence d'IgE présents sans IgG₁ de la même classe d'allergènes.

Pour chacun des 4 groupes, nous avons séparé les IgE qui ciblent des allergènes moléculaires d'origines alimentaires et respiratoires. (Tableau 12). La différence de fréquence entre les IgE présents sans IgG₁ et ceux présents avec IgG₁ chez les patients n'était pas significative pour les groupes A, B ou C (*p-value* 0,14, 0,14 et 0,8 respectivement). En revanche, cette différence était significative pour le groupe D avec une *p-value* à **0,008**. Enfin, une différence de même nature est présente pour tous les AM respiratoires comparés aux AM alimentaires, lorsque l'on considère l'ensemble des 95 individus de la population étudiée (*p-value* =0,0047, Tableau 12).

	Nombre d'occurrences					p (Fisher)	Fréquences	
	IgE (toutes)	IgG (toutes)	IgG (sans IgE)	IgE (sans IgG)	IgE (avec IgG)		% IgE sans IgG	% IgG sans IgE
Groupe A								
Alimentaires	30	247	217	7	23	0,14	23%	88%
Respiratoires	93	306	224	11	82		12%	73%
Groupe B								
Alimentaires	90	369	279	8	82	0,14	9%	76%
Respiratoires	215	435	254	34	181		16%	58%
Groupe C								
Alimentaires	41	323	280	5	36	0,8	12%	87%
Respiratoires	121	388	286	19	102		16%	74%
Groupe D								
Alimentaires	304	801	774	61	243	0,008	20%	97%
Respiratoires	524	877	613	149	375		28%	70%
TOUS								
Alimentaires	579	2363	1891	107	472	0,0047	18%	80%
Respiratoires	1245	2495	1555	305	940		24%	62%

Tableau 12: Comparaison des immunoglobulines entre les 4 groupes A, B, C et D

Nous avons comparé la fréquence d'IgE sans IgG₁ orientés contre des AM d'origine alimentaire d'un côté et respiratoire de l'autre, entre les 4 groupes. (Figure 17)

Le groupe A (n = 13 individus), associant allergies alimentaires peu symptomatiques et allergies respiratoires sévères, présente la fréquence la plus élevée d'IgE sans IgG₁ orientés vers des AM d'origine alimentaire, parmi les 4 groupes (23%). Cette différence n'est pas significative. Le groupe D (n = 36 individus), associant allergies alimentaires sévères et allergies respiratoires peu symptomatiques, présente la fréquence la plus élevée d'IgE sans IgG₁ dirigés contre les AM respiratoires (28%), et cette différence est très significative.

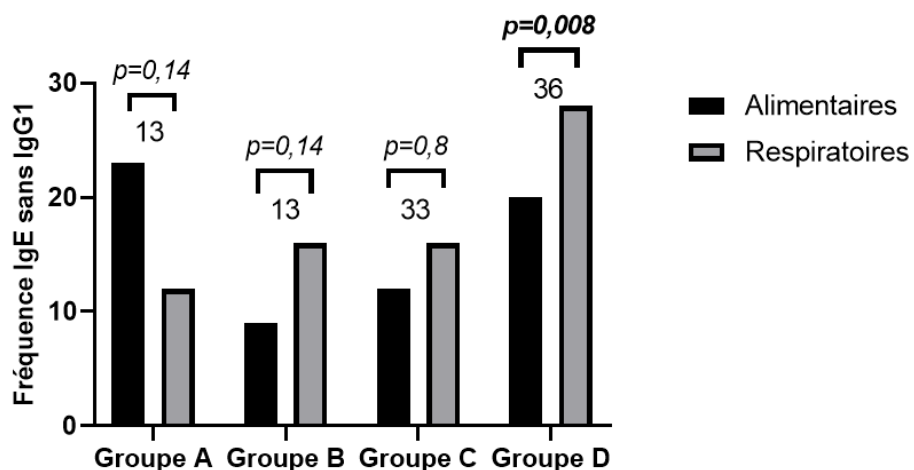


Figure 17 : Comparaison des fréquences d'IgE sans IgG₁ entre les 4 groupes A, B, C et D. Les fréquences ont été comparées selon le test exact de Fisher. Les effectifs de chaque groupe sont indiqués au-dessus des colonnes.

IV- Discussion

La population choisie pour notre étude est composée de patients ayant bénéficié d'une biopuce ISAC, prescrite lors d'une consultation d'allergologie au CHU de Toulouse entre 2017 et 2019. Les patients sont d'âges très variés : de quelques mois à 82 ans. L'âge médian qui est de 19 ans nous a permis de composer 2 groupes d'effectifs comparables : « jeunes » et « adultes ».

En accord avec les données de la littérature, nous avons retrouvé une fréquence élevée d'IgG₁ spécifiques dirigées contre la grande majorité des AM présents sur l'ISAC (Tableau 6, Tableau 7, Tableau 8). La fréquence de ces IgG₁ spécifiques est plus élevée chez les sujets jeunes uniquement pour certains types d'allergènes, qui sont surtout des aliments largement consommés depuis l'enfance : blanc d'œuf, lait de vache, légumineuses, fruits à coques et céréales. Par contre, parmi les AM associés à des réactivités croisées pollens – aliments, les fréquences de sensibilisation sont comparables chez les jeunes et les adultes (à la limite de la significativité pour les LTP, *p-value* = 0,049). Dans la mesure où la présence d'IgG₁ dirigées contre un antigène (ou allergène) reflète le degré d'exposition de l'individu à cet allergène (plus des facteurs intrinsèques, tels que les molécules HLA-II présentes chez cet individu), on peut supposer que l'exposition aux AM de réactivité croisée est la même aux différents âges de la vie, et se fera via des voies multiples : cutanée, aérienne et alimentaire.

Par rapport aux IgG₁, les fréquences de sensibilisation à IgE sont, d'une façon générale, très inférieures (Tableau 6, Tableau 7), sauf pour le déterminant glucidique MUXF3, les AM d'acariens et un composant ubiquitaire des pollens (polcalcines). Dans notre étude, ces sensibilisations sont significativement beaucoup plus fréquentes chez les jeunes (Tableau 8) que chez les plus de 19 ans pour la plupart des AM dérivés d'aliments (œuf, lait, légumineuses, fruits à coques et fruits) et des AM responsables de réactivités croisées (CCD, PR-10, albumines, profilines, tropomyosines) et les pollens d'arbres (expliqué par la sensibilisation fréquente à Bet v 1 du pollen de bouleau).

Les enfants et adolescents qui consultent au C.H.U en allergologie, et qui sont les candidats principaux pour bénéficier d'une biopuce ISAC, sont généralement polyallergiques et

polysensibilisés, et présentent souvent des symptômes d'allergies sévères. Ceci a probablement créé un biais de sélection de notre échantillon de patients vers un excès de patients très sensibilisés et très symptomatiques dans le groupe le plus jeune.

Contrastant par rapport aux allergènes alimentaires et de réactivité croisée, les 2 groupes d'âge étaient comparables pour la majorité des allergènes respiratoires (Tableau 8). En effet, l'exposition aux allergènes respiratoires concerne tous les sujets de la population générale, quel que soit leur âge ou leur terrain génétique. (82)

Sachant que les allergènes responsables de réactions croisées sont présents dans des sources aussi bien alimentaires que respiratoires, la fréquence de sensibilisation importante vis-à-vis de ce type d'AM, qui est retrouvée chez les sujets jeunes, est explicable par les polysensibilisations sévères des sujets de ce groupe.

Une comparaison avec un groupe de contrôle asymptomatique pourrait permettre un résultat plus fiable et plus représentatif. Étant donné que les biopuces que nous avons incubées sont réalisées le plus souvent après une revue de la prescription et après une consultation d'allergologie concomitante avec des symptômes allergiques plus ou moins sévères, nous n'avons pas pu obtenir un échantillon de personnes asymptomatiques pouvant constituer ce groupe contrôle.

Dans notre étude, nous avons trouvé une fréquence de 30% d'IgE sans IgG₁, alors que dans une étude réalisée par NGS sur les ARNm du sang périphérique, 62% des IgE n'était pas associées à des IgG₁ (83). D'après cette étude, 3-5% des IgE se différenciaient par *switch* direct, 38% par *switch* indirect avec une étape intermédiaire à IgG₁, et le pourcentage restant correspondait à des *switch* indirects avec une étape intermédiaire à IgG_{2/3/4} ou à IgA₁. Nous estimons que nos résultats ne sont pas contradictoires de ces données antérieures, car le groupe d'individus étudiés par NGS (33 adultes ; 9 « allergiques » et 24 « non-allergiques ») était très différent du nôtre. D'autre part, nous avons étudié uniquement des IgE (et des IgG₁) dirigées contre des allergènes responsables d'allergies cliniques, alors que dans l'étude citée ci-dessus, c'est l'ensemble des IgE/IgG/IgA qui étaient étudiées, sans notion de spécificité.

Nous avons observé une prédominance de patients de sexe masculin dans le groupe des « ≤19 ans » comparé au groupe « > 19 ans ». Pour les allergies respiratoires, Il est connu que le sexe masculin est un facteur de risque d'asthme allergique dans l'enfance (84). La prévalence des allergies respiratoires est plus élevée chez les jeunes garçons (surtout avant l'âge de 10 ans) que les jeunes filles. Cette tendance s'inverse à la puberté et chez l'adulte où l'asthme allergique est deux fois plus fréquent chez les femmes (85). Concernant les allergies alimentaires, une méta analyse a démontré que chez les enfants, le sex-ratio H/F était de 1,8. Alors que chez les adultes, cette tendance s'inverse avec une prédominance des allergies alimentaires chez les femmes et un sex-ratio de 0,53.(86) Cette prédominance des allergies chez les patients de sexe masculin dans l'enfance explique la différence dans le sex-ratio entre nos 2 groupes.

Les données de la littérature et d'épidémiologie montrent que, comparé aux hommes, les femmes adultes ont une réponse immunologique plus importante et plus intense (87), que ce soit dans la réponse innée, humorale ou cellulaire, contre les infections virale (88) ou dans la réponse post-vaccinale (89,90). Nous nous sommes demandé si une réponse plus intense chez les femmes n'était pas également présente lors de la réponse de type Th2, pro-allergique, entraînant la synthèse d'IgE. D'après nos analyses statistiques dans le *Tableau 8* nous n'avons pas trouvé une différence significative dans les différents groupes d'âge concernant la fréquence de production d'IgE sans IgG₁. La disparité des sexes n'est alors pas suffisante pour permettre un biais dans nos résultats.

L'analyse des 4 groupes de patients, que nous avons définis selon l'intensité de leurs symptômes alimentaires et respiratoires, montre que la présence d'IgE spécifiques en l'absence d'IgG₁ de même spécificité, est significativement associée aux patients présentant des symptômes d'allergie faibles à modérés.

Sur l'ensemble de la population que nous avons étudiée, l'association est très significative (**p-value=0.0047**) entre la présence de symptômes respiratoires modérés, et la fréquence élevée d'IgE dirigées contre des AM respiratoires, ceci en l'absence d'IgG₁ dirigées contre les mêmes AM. Une association du même type est présente dans le groupe D (allergies alimentaires sévères et respiratoires modérées) et est très significative (**p-value=0,008**)

malgré le faible effectif (n = 36). Dans le groupe A, où la gravité des symptômes est l'inverse de celle du groupe D (allergies alimentaires modérées et respiratoires sévères), on observe une tendance similaire (Tableau 12), qui n'atteint pas le seuil de significativité ($p\text{-value}=0,14$) probablement en raison du très faible nombre de patients dans ce groupe (n=13).

Au final, nos résultats sont en faveur d'une moindre pathogénicité des IgE lorsque celles-ci sont produites en l'absence d'IgG₁ de même spécificité. Ceci est probablement dû à une différenciation directe de plasmocytes à IgE à partir de lymphocytes B naïfs, laquelle conduit à des IgE portant peu de mutations somatiques, ayant une avidité faible pour l'allergène. Cette possibilité de maturation directe de plasmocytes IgE+ a été récemment décrite chez l'Homme (91). Dans cet article, les auteurs décrivent la fréquente différenciation locale de plasmocytes IgE+ dans la muqueuse rhino-pharyngée, chez des individus présentant une rhinite allergique sévère, associée à une polypose nasale.

Notre étude comporte plusieurs biais :

- L'effectif étudié est faible (n=95) ;
- Les patients jeunes sont majoritairement très sensibilisés et polyallergiques
- Nous n'avons pas analysé de groupe témoin non allergiques (pour la fréquence des IgG₁)
- Nous n'avons pas recherché la fréquence des IgA associées à des IgE de mêmes spécificités. Cependant, nous avons tenté de rechercher la présence d'IgG_{1/2/3/4} en utilisant un anticorps anti-IgG polyclonal (résultats non montrés), mais cette méthode n'est pas fiable avec la version actuelle des biopuces ISAC. En effet, une réactivité non spécifique, avec une fixation de l'anticorps polyclonal sur l'ensemble de la puce, est observée chez 25-30% des individus (*P.A. Apoil, données personnelles*). Cette méthode était cependant possible jusqu'en 2016 (92).
- En raison de l'utilisation de sérums purs, non dilués au 1/50, le signal de fluorescence est saturé pour certains allergènes (surtout alimentaires) et nous n'avons donc pas fait d'analyse quantitative des IgG₁ (laquelle serait possible avec la cohorte EGEA2 et la biopuce MeDALL ; voir ci-dessous).

- Enfin, nous n'avons pas été à même d'étudier les IgE non associées à des IgG₁ allergène par allergène, en raison de données cliniques insuffisantes, et du fait que les tests cutanés ne sont pas pratiqués avec des AM mais avec des extraits allergéniques (ou des allergènes « natifs »).

Afin de confirmer nos résultats, nous avons fait une demande d'accès aux données de la cohorte EGEA2, laquelle avait été initiée dans le cadre du projet européen MeDALL (*Mechanisms of Development of ALLergy* ; Pr Jean Bousquet, Montpellier). Parmi les travaux réalisés sur les cohortes EGEA (EGEA1/2/3 : individus suivis sur plusieurs années pour leurs symptômes d'allergies), 340 individus (170 sujets asthmatiques et 170 témoins non-asthmatiques) ont été évalués par la biopuce MeDALL, de technologie identique à celle de l'ISAC, mais comprenant 176 AM au lieu de 112. Deux biopuces MeDALL avaient été utilisées pour chacun des 340 individus : l'une révélant les IgE spécifiques et la seconde montrant les IgG (toutes les-classes) spécifiques des mêmes AM.

À partir des données brutes (biopuce MeDALL et renseignements cliniques), nous souhaitons réaliser le même type d'analyse que celle présentée dans cette thèse : la recherche de corrélations entre la présence d'IgE non associées à des IgG_{1/2/3/4}, et la moindre sévérité des symptômes d'allergies alimentaires ou respiratoire

V- Conclusion

Nous avons étudié la fréquence d'association chez un même individu d'IgE et d'IgG₁ de même(s) spécificité(s). Pour cela, nous avons utilisé la capacité des biopuces à allergènes moléculaires (AM) ImmunoCAP™ ISAC à être incubées successivement d'abord avec un anticorps révélant les IgE, puis avec un second anticorps révélant les IgG₁.

Nos résultats, obtenus sur un groupe de 95 patients, confirment les données de la littérature basés sur l'étude génétique du locus des chaînes lourdes d'immunoglobulines, en démontrant l'association très fréquente entre IgG₁ et IgE chez la plupart des patients et pour la plupart des AM présents sur la biopuce ISAC. Par ailleurs, la présence d'IgE en l'absence d'IgG₁ de même(s) spécificité(s) semble être associée à une moins grande sévérité des symptômes d'allergie. Ceci pourrait être expliqué par la différenciation de plasmocytes à IgE directement à partir de lymphocytes B naïfs, et donc, à la synthèse d'IgE présentant une avidité plus faible pour l'allergène. Au contraire, la différenciation de plasmocytes à IgE à partir de cellules B mémoires à IgG₁, ce qui est la situation la plus fréquente, aboutit à la production d'IgE de haute avidité, dont les parties variables sont porteuses de nombreuses mutations somatiques.

Nous projetons de poursuivre notre étude par la ré-analyse des données de la cohorte EGEA2 (Etude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie) (étude MeDALL ; egea.cohorte@inserm.fr), déjà étudiée en 2016 par une approche similaire. Si nos résultats sont confirmés par l'étude de la cohorte EGEA, nous estimons possible que la recherche systématique des IgG couplée à celle des IgE, pourrait avoir un intérêt diagnostique. En particulier, l'identification des IgE associées à des IgG de même spécificité permettrait d'identifier les IgE, et par la même les allergènes, responsables des symptômes les plus sévères, et donc guider l'action thérapeutique, par éviction ou immunothérapie spécifique.

Toulouse, le 30 septembre 2021

Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
de médecine Rangueil
Elie SERRANO

28/09/21

Pr Laurent GUILLEMINAULT
RPPS : 10100216869
Pôle des Voies Respiratoires
CHU Toulouse - Hôpital Larrey
24, chemin de Pourville
TSA 30030 - 31059 TOULOUSE Cedex 9

Références bibliographiques :

1. Flabbée J. Maladies allergiques liées à l'environnement intérieur et extérieur : clinique, diagnostic et traitement. :11.
2. Cezmi A. Akdis, Ioana Agache, éditeurs. Global Atlas on Allergy [Internet]. European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2014 [cité 6 août 2021]. 406 p. Disponible sur: <https://medialibrary.eaaci.org/mediatheque/media.aspx?mediaId=60228&channel=8518>
3. Botha M, Basera W, Facey-Thomas HE, Gaunt B, Gray CL, Ramjith J, et al. Rural and urban food allergy prevalence from the South African Food Allergy (SAFFA) study. *J Allergy Clin Immunol*. févr 2019;143(2):662-668.e2.
4. Platts-Mills TAE. The allergy epidemics: 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol*. juill 2015;136(1):3-13.
5. Charles A Janeway, Kenneth Murphy. Allergie et maladies allergiques. In: *Immunobiologie de Janeway*. 4e édition. 2018.
6. Allergies, infections and the hygiene hypothesis – The epidemiological evidence. *Immunobiology*. 27 juin 2007;212(6):433-9.
7. 14 ème journée Française de l'Allergie [Internet]. 2020 [cité 6 août 2021]. Disponible sur: <https://asthme-allergies.org/images/Dossier-de-presse-JOURNEE-FRANCAISE-ALLERGIE-2020.pdf>
8. Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature*. juill 2008;454(7203):445-54.
9. Nicholson LB. The immune system. *Essays Biochem*. 31 oct 2016;60(3):275-301.
10. Uzzaman A, Cho SH. Chapter 28: Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy Asthma Proc*. juin 2012;33 Suppl 1:96-9.
11. Wurzburg BA, Jardetzky TS. Structural insights into the interactions between human IgE and its high affinity receptor FcεRI. *Mol Immunol*. mai 2002;38(14):1063-72.

12. Hügle T. Beyond allergy: the role of mast cells in fibrosis. *Swiss Med Wkly* [Internet]. 24 août 2014 [cité 25 sept 2021];(35). Disponible sur: <https://smw.ch/article/doi/smw.2014.13999>
13. Cooper PJ, Ayre G, Martin C, Rizzo JA, Ponte EV, Cruz AA. Geohelminth infections: a review of the role of IgE and assessment of potential risks of anti-IgE treatment. *Allergy*. 1 avr 2008;63(4):409-17.
14. Toychiev A, Mirzoeva M, Davis N, Islamova J, Osipova S. Pityriasis alba: Possible associations with intestinal helminths and pathogenic protozoa. *Int J Clin Pract*. 1 févr 2020;74(2):e13441.
15. Hagan P, Blumenthal UJ, Dunn D, Simpson AJ, Wilkins HA. Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature*. 17 janv 1991;349(6306):243-5.
16. Mukai K, Tsai M, Starkl P, Marichal T, Galli SJ. IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol*. sept 2016;38(5):581-603.
17. Meiler F, Klunker S, Zimmermann M, Akdis CA, Akdis M. Distinct regulation of IgE, IgG4 and IgA by T regulatory cells and toll-like receptors. *Allergy*. nov 2008;63(11):1455-63.
18. Akdis M, Blaser K, Akdis CA. T regulatory cells in allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2006;91:159-73.
19. Batteux, Frédéric; Dubucquoi, Sylvain; Garraud, Olivier; Renaudineau, Yves; Vallat, Laurent; Les lymphocytes B : différenciation et activation - Immunologie fondamentale et immunopathologie. In: *Immunologie fondamentale et immunopathologie*. Elsevier Masson SAS. 2018.
20. Li Z, Woo CJ, Iglesias-Ussel MD, Ronai D, Scharff MD. The generation of antibody diversity through somatic hypermutation and class switch recombination. *Genes Dev*. 1 janv 2004;18(1):1-11.
21. Heltzel JMH, Gearhart PJ. What Targets Somatic Hypermutation to the Immunoglobulin Loci? *Viral Immunol*. 1 mai 2020;33(4):277-81.

22. Jacob Joshy, Kelsoe Garnett, Rajewsky Klaus, Weiss Ursula. Intracloonal generation of antibody mutants in germinal centres. *Nature*. 1991;389-92.
23. Dahlke I, Nott D, Ruhno J, Sewell W, Collins A. Antigen selection in the IgE response of allergic and nonallergic individuals. *J Allergy Clin Immunol*. juin 2006;117(6):1477-83.
24. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol*. 1 févr 2010;125(2):S41-52.
25. Looney TJ, Lee J-Y, Roskin KM, Hoh RA, King J, Glanville J, et al. Human B-cell isotype switching origins of IgE. *J Allergy Clin Immunol*. févr 2016;137(2):579-586.e7.
26. Poulsen LK, Hummelshoj L. Triggers of IgE class switching and allergy development. *Ann Med*. 2007;39(6):440-56.
27. Kinet JP. The high-affinity IgE receptor (Fc epsilon RI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:931-72.
28. Donnadieu E, Jouvin MH, Kinet JP. A second amplifier function for the allergy-associated Fc(epsilon)RI-beta subunit. *Immunity*. mai 2000;12(5):515-23.
29. Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med*. 4 mai 2012;18(5):693-704.
30. Liu C, Richard K, Wiggins M, Zhu X, Conrad DH, Song W. CD23 can negatively regulate B-cell receptor signaling. *Sci Rep*. 16 mai 2016;6:25629.
31. Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. juin 2006;117(6):1277-84.
32. Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest*. mars 2004;113(5):651-7.
33. Bischoff S, Crowe SE. Gastrointestinal food allergy: new insights into pathophysiology and clinical perspectives. *Gastroenterology*. avr 2005;128(4):1089-113.
34. Gurish MF, Austen KF. The diverse roles of mast cells. *J Exp Med*. 2 juill 2001;194(1):F1-5.

35. Lee JH, Kim JW, Kim DK, Kim HS, Park HJ, Park DK, et al. The Src family kinase Fgr is critical for activation of mast cells and IgE-mediated anaphylaxis in mice. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 août 2011;187(4):1807-15.
36. Parsons ME, Ganellin CR. Histamine and its receptors. *Br J Pharmacol*. janv 2006;147 Suppl 1:S127-135.
37. Lieberman P. The basics of histamine biology. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. févr 2011;106(2 Suppl):S2-5.
38. Thangam EB, Jemima EA, Singh H, Baig MS, Khan M, Mathias CB, et al. The Role of Histamine and Histamine Receptors in Mast Cell-Mediated Allergy and Inflammation: The Hunt for New Therapeutic Targets. *Front Immunol*. 2018;9:1873.
39. Nakae S, Suto H, Kakurai M, Sedgwick JD, Tsai M, Galli SJ. Mast cells enhance T cell activation: Importance of mast cell-derived TNF. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 3 mai 2005;102(18):6467-72.
40. Ott VL, Cambier JC, Kappler J, Marrack P, Swanson BJ. Mast cell-dependent migration of effector CD8⁺ T cells through production of leukotriene B₄. *Nat Immunol*. oct 2003;4(10):974-81.
41. Gaudenzio N, Sibilano R, Marichal T, Starkl P, Reber LL, Cenac N, et al. Different activation signals induce distinct mast cell degranulation strategies. *J Clin Invest*. 3 oct 2016;126(10):3981-98.
42. Sandig H, Bulfone-Paus S. TLR signaling in mast cells: common and unique features. *Front Immunol*. 2012;3:185.
43. Xiong H, Dolpady J, Wabl M, Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Sequential class switching is required for the generation of high affinity IgE antibodies. *J Exp Med*. 13 févr 2012;209(2):353-64.
44. Christensen LH, Holm J, Lund G, Riise E, Lund K. Several distinct properties of the IgE repertoire determine effector cell degranulation in response to allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol*. août 2008;122(2):298-304.

45. Christensen LH, Riise E, Bang L, Zhang C, Lund K. Isoallergen variations contribute to the overall complexity of effector cell degranulation: effect mediated through differentiated IgE affinity. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 mai 2010;184(9):4966-72.
46. Oettgen HC, Martin TR, Wynshaw-Boris A, Deng C, Drazen JM, Leder P. Active anaphylaxis in IgE-deficient mice. *Nature*. août 1994;370(6488):367-70.
47. Dombrowicz D, Flamand V, Miyajima I, Ravetch JV, Galli SJ, Kinet JP. Absence of Fc epsilonRI alpha chain results in upregulation of Fc gammaRIII-dependent mast cell degranulation and anaphylaxis. Evidence of competition between Fc epsilonRI and Fc gammaRIII for limiting amounts of FcR beta and gamma chains. *J Clin Invest*. 1 mars 1997;99(5):915-25.
48. Choi IH, Shin YM, Park JS, Lee MS, Han EH, Chai OH, et al. Immunoglobulin E-dependent active fatal anaphylaxis in mast cell-deficient mice. *J Exp Med*. 2 nov 1998;188(9):1587-92.
49. Jiménez-Saiz R. Drug-induced IgG-neutrophil-mediated anaphylaxis in humans: Uncovered! *Allergy*. févr 2020;75(2):484-5.
50. Finkelman FD, Khodoun MV, Strait R. Human IgE-independent systemic anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. juin 2016;137(6):1674-80.
51. Jönsson F, de Chaisemartin L, Granger V, Gouel-Chéron A, Gillis CM, Zhu Q, et al. An IgG-induced neutrophil activation pathway contributes to human drug-induced anaphylaxis. *Sci Transl Med*. 10 juill 2019;11(500):eaat1479.
52. Schmidt AP, Taswell HF, Gleich GJ. Anaphylactic transfusion reactions associated with anti-IgA antibody. *N Engl J Med*. 23 janv 1969;280(4):188-93.
53. Hedin H, Richter W, Messmer K, Renck H, Ljungström KG, Laubenthal H. Incidence, pathomechanism and prevention of dextran-induced anaphylactoid / anaphylactic reactions in man. *Dev Biol Stand*. 1980;48:179-89.
54. Jiao D, Liu Y, Lu X, Liu B, Pan Q, Liu Y, et al. Macrophages are the dominant effector cells responsible for IgG-mediated passive systemic anaphylaxis challenged by natural protein antigen in BALB/c and C57BL/6 mice. *Cell Immunol*. juin 2014;289(1-2):97-105.

55. Jönsson F, Mancardi DA, Kita Y, Karasuyama H, Iannascoli B, Van Rooijen N, et al. Mouse and human neutrophils induce anaphylaxis. *J Clin Invest.* avr 2011;121(4):1484-96.
56. Tsujimura Y, Obata K, Mukai K, Shindou H, Yoshida M, Nishikado H, et al. Basophils play a pivotal role in immunoglobulin-G-mediated but not immunoglobulin-E-mediated systemic anaphylaxis. *Immunity.* avr 2008;28(4):581-9.
57. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol.* févr 2018;18(2):134-47.
58. Pałgan K, Bartuzi Z. Platelet activating factor in allergies. *Int J Immunopathol Pharmacol.* déc 2015;28(4):584-9.
59. Jönsson F, Mancardi DA, Zhao W, Kita Y, Iannascoli B, Khun H, et al. Human FcγRIIA induces anaphylactic and allergic reactions. *Blood.* 15 mars 2012;119(11):2533-44.
60. Tsujimura Y, Obata K, Mukai K, Shindou H, Yoshida M, Nishikado H, et al. Basophils play a pivotal role in immunoglobulin-G-mediated but not immunoglobulin-E-mediated systemic anaphylaxis. *Immunity.* avr 2008;28(4):581-9.
61. Arias K, Baig M, Colangelo M, Chu D, Walker T, Goncharova S, et al. Concurrent blockade of platelet-activating factor and histamine prevents life-threatening peanut-induced anaphylactic reactions. *J Allergy Clin Immunol.* août 2009;124(2):307-14, 314.e1-2.
62. Vadas P, Perelman B, Liss G. Platelet-activating factor, histamine, and tryptase levels in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* janv 2013;131(1):144-9.
63. Vadas P, Gold M, Perelman B, Liss GM, Lack G, Blyth T, et al. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *N Engl J Med.* 3 janv 2008;358(1):28-35.
64. James LK, Till SJ. Potential Mechanisms for IgG4 Inhibition of Immediate Hypersensitivity Reactions. *Curr Allergy Asthma Rep.* mars 2016;16(3):23.
65. Konecny I. Update on IgG4-mediated autoimmune diseases: New insights and new family members. *Autoimmun Rev.* oct 2020;19(10):102646.
66. Kanagaratham C, El Ansari YS, Lewis OL, Oettgen HC. IgE and IgG Antibodies as Regulators of Mast Cell and Basophil Functions in Food Allergy. *Front Immunol.* 11 déc

2020;11:603050.

67. Takai T, Ono M, Hikida M, Ohmori H, Ravetch JV. Augmented humoral and anaphylactic responses in Fc gamma RII-deficient mice. *Nature*. 25 janv 1996;379(6563):346-9.
68. Boonpiyathad T, Meyer N, Moniuszko M, Sokolowska M, Eljaszewicz A, Wirz OF, et al. High-dose bee venom exposure induces similar tolerogenic B-cell responses in allergic patients and healthy beekeepers. *Allergy*. mars 2017;72(3):407-15.
69. Adjobimey T, Hoerauf A. Induction of immunoglobulin G4 in human filariasis: an indicator of immunoregulation. *Ann Trop Med Parasitol*. sept 2010;104(6):455-64.
70. Saunders SP, Ma EGM, Aranda CJ, Curotto de Lafaille MA. Non-classical B Cell Memory of Allergic IgE Responses. *Front Immunol*. 2019;10:715.
71. Erazo A, Kutchukhidze N, Leung M, Christ APG, Urban JF, Curotto de Lafaille MA, et al. Unique maturation program of the IgE response in vivo. *Immunity*. févr 2007;26(2):191-203.
72. The distinctive germinal center phase of IgE+ B lymphocytes limits their contribution to the classical memory response - PubMed [Internet]. [cité 25 sept 2021]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/s.docadis.univ-tlse3.fr/24218137/>
73. Aalberse RC, Platts-Mills TA, Rispens T. The Developmental History of IgE and IgG4 Antibodies in Relation to Atopy, Eosinophilic Esophagitis, and the Modified TH2 Response. *Curr Allergy Asthma Rep*. juin 2016;16(6):45.
74. Chabane H, Klingebiel C, Dalampira G, Sarrat A, Lefevre S, Dzviga C, et al. Recommandations pour la prescription et l'interprétation des examens biologiques utilisables dans le cadre du diagnostic ou du suivi des allergies, disponibles en France. Texte court. *Rev Fr Allergol*. avr 2021;S1877032021000348.
75. Sereme Y, Casanovas N, Michel M, Martin-Blondel A, Mankouri F, Pinchemel S, et al. IgG removal significantly enhances detection of microarray allergen-specific IgE reactivity in patients' serum. *Allergy*. janv 2021;76(1):395-8.
76. INDICATIONS DU DOSAGE DES IGE SPÉCIFIQUES DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI

DES MALADIES ALLERGIQUES. 2005;145.

77. Stylianou E, Ueland T, Borchsenius F, Michelsen AE, Øvstebø R, Mollnes TE, et al. Specific allergen immunotherapy: effect on IgE, IgG4 and chemokines in patients with allergic rhinitis. *Scand J Clin Lab Invest*. 2016;76(2):118-27.
78. He J-S, Subramaniam S, Narang V, Srinivasan K, Saunders SP, Carbajo D, et al. IgG1 memory B cells keep the memory of IgE responses. *Nat Commun*. 21 sept 2017;8:641.
79. Hoof I, Schulten V, Layhadi JA, Stranzl T, Christensen LH, Herrera de la Mata S, et al. Allergen-specific IgG+ memory B cells are temporally linked to IgE memory responses. *J Allergy Clin Immunol*. juill 2020;146(1):180-91.
80. IMGT Repertoire (IG and TR) [Internet]. [cité 21 sept 2021]. Disponible sur: http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/allotypes/human/IGH/IGHC/G1m_allotypes.html
81. Jefferis R, Lefranc M-P. Human immunoglobulin allotypes. *mAbs*. 2009;1(4):332-8.
82. Avis de l'Anses. Etat des connaissances sur l'impact sanitaire lié à l'exposition de la population générale aux pollens présents dans l'air ambiant [Internet]. 2014 janv. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/AIR2011sa0151Ra.pdf>
83. Looney TJ, Lee J-Y, Roskin KM, Hoh RA, King J, Glanville J, et al. Human B-cell isotype switching origins of IgE. *J Allergy Clin Immunol*. févr 2016;137(2):579-586.e7.
84. GINA-Main-Report-2021-V2-WMS.pdf.
85. 2017_05_22_CP_Asthme_Androgene.pdf [Internet]. [cité 20 sept 2021]. Disponible sur: https://presse.inserm.fr/wp-content/uploads/2017/05/2017_05_22_CP_Asthme_Androgene.pdf
86. Kelly C, Gangur V. Sex Disparity in Food Allergy: Evidence from the PubMed Database. *J Allergy*. 2009;2009:159845.
87. Sex influences immune responses to viruses, and efficacy of prophylaxis and treatments for viral diseases - PubMed [Internet]. [cité 21 sept 2021]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/s.docadis.univ-tlse3.fr/23012250/>

88. Ruggieri A, Gagliardi MC, Anticoli S. Sex-Dependent Outcome of Hepatitis B and C Viruses Infections: Synergy of Sex Hormones and Immune Responses? *Front Immunol.* 2018;9:2302.
89. Parker AR, Skold M, Harding S, Barton JC, Bertoli LF, Barton JC. Pneumococcal vaccination responses in adults with subnormal IgG subclass concentrations. *BMC Immunol.* 20 août 2019;20(1):29.
90. Klein SL, Marriott I, Fish EN. Sex-based differences in immune function and responses to vaccination. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* janv 2015;109(1):9-15.
91. Corrado A, Ramonell RP, Woodruff MC, Tipton C, Wise S, Levy J, et al. Extrafollicular IgD+ B cells generate IgE antibody secreting cells in the nasal mucosa. *Mucosal Immunol.* sept 2021;14(5):1144-59.
92. Pol André Apoil, Claire Mailhol, Anne Broué-Chabbert, Agnès Juchet, Alain Didier, Elodie Carrer, Thomas Lanot, Antoine Blancher. The IgG sensitization profiles against 112 allergenic components support the absence of a protective role of IgG in allergic individuals, outside of the context of SIT. *ISMA Abstr.*

AUTEUR : SAKR Yolla

DIRECTEUR de THÈSE : Monsieur le Docteur Pol André APOIL

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : Faculté de médecine Toulouse Rangueil, le 19 Octobre 2021

TITRE : COMPARAISON DES PROFILS DE SENSIBILISATION A IgE ET A IgG₁ ET LEUR CORRELATION AVEC LA SÉVERITÉ DES SYMPTOMES D'ALLERGIE RESPIRATOIRE OU ALIMENTAIRE

Des études génomiques ont révélé que la majorité des plasmocytes sécrétant des IgE dérivent des lymphocytes B mémoire IgG₁⁺. Une voie beaucoup moins fréquente est la différenciation des plasmocytes IgE⁺ directement à partir des cellules IgM/IgD⁺ B naïves, *via* une seule étape de changement de classe. Nous avons étudié la fréquence de sensibilisation aux IgE et IgG₁ de spécificités identiques chez 95 patients adultes ou pédiatriques (âge médian : 19 ans) ayant consulté pour des allergies au CHU de Toulouse. Dans un premier temps, des profils de sensibilisation IgE contre 112 allergènes moléculaires ont été déterminés en utilisant la biopuce ImmunoCAP™ ISAC, en utilisant un anticorps monoclonal (mAb) anti-IgE marqué avec le fluorochrome alexafluor 532. Pour déterminer les profils IgG₁, les mêmes lames ISAC ont été incubées une seconde fois avec un mAb anti-IgG₁ humain marqué à l'alexfluor 647. Les données cliniques ont été utilisées pour classer les patients selon la sévérité de leurs symptômes d'allergie respiratoire ou alimentaire. Les profils qualitatifs de sensibilisation IgE et IgG₁ ont ensuite été analysés en fonction de l'état clinique des patients. Nos résultats confirment au niveau protéique la relation entre IgE et IgG₁ chez les personnes allergiques et pour les allergènes les plus courants. De plus, la présence d'IgE combinée à l'absence d'IgG₁ de même spécificité allergénique moléculaire, était associée à des symptômes moins sévères, en particulier pour les allergies respiratoires.

Mots-clés : Allergies respiratoires – Allergies alimentaire - IgG₁ – IgE – Biopuce à allergènes

TITLE: COMPARISON OF IgE AND IgG₁ SENSITIZATION PROFILES AND THE CORRELATION WITH THE SEVERITY OF RESPIRATORY OR FOOD ALLERGY SYMPTOMS

Genomic studies have revealed that the majority of IgE-secreting plasma cells derive from IgG₁⁺ memory B lymphocytes. A much less frequent pathway is the differentiation of IgE⁺ plasma cells directly from naive IgM/IgD⁺ B cells, via a single step of class switching. We studied the frequency of sensitization with IgE and IgG₁ of identical specificities in 95 adult or pediatric patients (median age: 19 y.o.) who consulted for allergies in Toulouse Teaching Hospital. In a first step, IgE sensitization profiles against 112 molecular allergens were determined by using the ImmunoCAP™ ISAC biochip, using an anti-IgE monoclonal antibody (mAb) labeled with the alexafluor 532 fluorochrome. To determine the IgG₁ profiles, the same ISAC slides were incubated a second time with an anti-human IgG₁ mAb labeled with the alexafluor 647. Clinical data was used to classify patients according to the severity of their respiratory or food-induced allergy symptoms. IgE and IgG₁ qualitative sensitization profiles were then analyzed according to patients' clinical status. Our results confirm at the protein level the relationship between IgE and IgG₁ in allergic individuals and for most common allergens. In addition, the presence of IgE combined with the absence of IgG₁ of the same molecular allergen specificity, was associated with less severe symptoms, particularly for respiratory allergies.

Key words: Respiratory allergies - Food allergies - IgG₁ - IgE- Allergen biochip

Discipline administrative: BIOLOGIE MÉDICALE

Faculté de Médecine Rangueil – 133 route de Narbonne – 31062 TOULOUSE Cedex 04 – France