

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences biologiques et agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option: Biochimie appliquée

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme de Master en biochimie appliquée

Thème :

**Étude rétrospective des allergies respiratoires
et alimentaires à Tizi-Ouzou et stage pratique
sur l'effet des métaux lourds « Mercure et
Plomb » sur la résistance membranaire des
hématies humaines**

Présenté par:

AIT ABDELMALEK Rahim

AISSANI Malika

ABBAS Melissa

Devant le jury :

Présidente	M ^{me} MESSAOUDI D.	MCB	UMMTO
Promotrice	M ^{me} SENANI-OULARBI N.	MCB	UMMTO
Examinatrice	M ^{me} BEDOUHENE-FENANE S.	MCA	UMMTO

Année: 2021/2022

Remerciements

Nous exprimons notre profonde reconnaissance envers Mme **SENANI- OULARBI. N** Maître de conférences classe B pour nous avoir fait l'honneur de nous encadrer et de nous diriger , merci pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail , vos conseils et remarques nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous présentons nos remerciements à M^{me} **BEDOUHENE-FENANE. S** Maître de conférences classe A, à L'UMMTO, pour sa patience et ses conseils précieux et aussi pour avoir accepté de présider et participer à notre jury.

Nous remercions aussi M^{me} **MESSAOUDI. D** Maître de Conférences classe B à L'UMMTO pour avoir accepté de juger ce travail.

Nos remerciements sont destinés aussi à tous les membres du laboratoire LABAB pour leur gentillesse et leur aide précieuse, ils nous ont permis de mener à bien ce travail.

Merci.

Dédicaces

À mes chers parents, que je remercie énormément pour leur amour sans faille, d'avoir toujours été présents à mes côtés, de m'avoir soutenu et supporté dans les moments difficiles, ce qui m'a permis de réussir mes études, c'est grâce à eux que j'en suis là aujourd'hui.

À mes deux sœurs Mélissa et Célia, que je remercie beaucoup pour leur aide et l'amour qu'elles me portent, merci pour tous les moments qu'on a pu partager ensemble, ainsi que pour leur soutien lorsque j'en ai eu besoin.

À ma chère grand-mère pour tout l'amour qu'elle me porte, que Dieu la garde longtemps

À ma cousine Lili avec qui j'ai partagé d'agréables moments, merci pour son soutien et ses encouragements, ainsi que l'amour qu'elle m'a toujours porté.

À mes meilleurs amis, Selim et Lydia, je les remercie énormément pour tous leurs encouragements, pour les bons moments qu'on a pu partager, ainsi que les souvenirs inoubliables qui resteront gravés dans ma mémoire.

À mes collègues, Zina, Saadia, Dassine et Mélissa, avec qui j'ai partagé de merveilleux moments le long de la réalisation de ce travail. À mes collègues, Djamila (djimie), Mélissa et Louisa, avec qui j'ai partagé d'agréables moments, le long de toutes ces années d'études, je vous aime.

À mon binôme Malika, avec qui j'ai partagé que des bons souvenirs, pendant ces cinq ans d'études à l'université, qui a su me supporter dans toutes les situations, merci beaucoup, je ne t'oublierai jamais.

À mes amis Ramzi, Younes et Karim, merci pour l'amour et la présence qu'ils m'ont porté durant toutes ces années d'études, pour tous les bons moments et les souvenirs que l'on s'est créés.

Je vous dédie ce modeste travail

RAHM

Dédicaces

Je dédie ce travail

*A la mémoire de mon père qui aurait souhaité vivre pour longtemps
juste pour voir ce que nous serions devenus.*

*A la femme qui m'a transmis la vie, le courage et l'amour à toi
maman tous mes mots ne suffisent pas de décrire ma reconnaissance et
mon amour hamlaghkam ayemma.*

A mes chers frères : Mohamed et Yanis.

A mes chères sœurs : Dihia et Ouardia.

A toi ma grand-mère que le bon dieu te garde, longue vie.

*A toi RAMDANE merci d'être là quand c'était difficile, merci
pour ton soutien ta patience et ta compréhension.*

A mes collègues Saadia, Zina, Dacine, Melissa, Djimie, Louisa,

*Juba, Yasmine, Sabrina on a passé de bons moments que je
n'oublierais jamais.*

A mes amies Dehvia, Linda, Fadoua.

*A mon binôme Rahim au cours de ces 5ans tu as su me soutenir dans
toutes les situations j'espère notre amitié restera pour toujours.*

*A mon binôme Melissaje n'oublierais jamais nos fous rires et nos tags
sur Facebook.*

A toute ma famille merci d'être là.

ASSAM MALIKA

Table des matières

Liste des abréviations

Index des figures et des tableaux

Résumé

Abstract

	Pages
Introduction générale	01
Partie I: Synthèse des données bibliographiques	
I. Allergies, les hypersensibilités et mécanismes d'action	03
1.1. Les allergies	03
a- Les allergènes et les différents types d'allergènes.....	03
b- la nomenclature des allergènes	03
c- la classification des allergènes et voies de sensibilisation	03
d- Les différents types d'allergènes et leurs caractéristiques	04
e- Les facteurs de risques contribuant à l'apparition des allergies	06
f- Les signes cliniques d'une allergie	07
1.2. Les allergies respiratoires et alimentaires	08
1.2.1. Les allergies respiratoires	08
1.2.1.1. Causes et développement de l'allergie respiratoire.....	08
1.2.1.2. Les différentes formes de l'allergie respiratoire	09
1.2.2. Les allergies alimentaires	10
1.2.2.1. Les caractéristiques des allergies alimentaires	10
1.2.2.2. Les aliments allergènes.....	11
1.3. les allergies aux métaux	13
II. Les hypersensibilités	13
2.1. La classification des hypersensibilités.....	13
III. Les Mécanismes d'action des allergies respiratoires et alimentaires	16
3.1. Les acteurs impliqués dans les allergies.....	16
3.1.1. Les cellules impliquées dans les allergies.....	16
3.1.2. Les immunoglobulines de type E(IgE)	17
3.2. Mécanisme d'action des IgE dans la réaction allergique.....	19
IV. Diagnostic des allergies alimentaires et respiratoires	21
4.1. Test clinique.....	21
4.2. Test cutané	21
4.3 Test biologique.....	23
V. Les traitements des allergies alimentaires et respiratoires	23
5.1. Traitement médicamenteux.....	23

5.2. L'immunothérapie	24
5.3. Autres thérapies.....	24

Partie II : Partie pratique

2.1. Etude rétrospective des allergies alimentaires et respiratoire cas des patients diagnostiqués à l'hôpital ChahidsMahmoudi (Tizi-Ouzou)	26
2.1.1. Matériel et méthodes	26
2.1.1.1. Echantillonnage	26
2.1.1.2. Description du test utilisé pour le diagnostic des patients: Immunoblot pour l'analyse des IgE spécifiques des allergènes alimentaires et respiratoires.....	26
2.1.1.2.1. Matériel biologique utilisé pour la détection des IgE.....	26
2.1.1.2.2. Réactifs utilisés pour le test détection des IgE.....	26
2.1.1.2.3. Appareillage utilisés pour le test détection des IgE.....	27
2.1.1.3. Méthodes de détection.....	27
2.2. Evaluation de l'effet cytotoxique du plomb et du mercure sur l'hémolyse des hématies humaines ainsi que l'effet anti-hémolytique de l'acide caféique	28
2.2.1. Matériel et méthodes	29
2.2.1.1. Matériel.....	29
Matériel biologique	29
Réactifs et produits chimiques utilisés	29
Appareillages utilisés	29
2.2.1.2. Méthodes	29
Préparation du concentré globulaire par lavage des hématies.....	29
Préparation des solutions de métaux lourds	29
Criblage de molécules hémolytiques.....	29

Partie III : Résultats et discussion.....

3.1. Résultats de l'étude rétrospective des allergies alimentaires et respiratoires.....	32
3.1.1. Prévalence des allergies.....	32
3.1.2. Prévalence des différents types d'allergies.....	33
3.1.3. Prévalence des allergies en fonction des années.....	35
3.1.4. Prévalence des allergies en fonction des saisons	34
3.1.5. Les allergies alimentaires	35
3.1.6. Les allergies respiratoires.....	38
3.1.7. Les allergies mixtes.....	40
3.2. Evaluation de l'effet cytotoxique du plomb et du mercure sur l'hémolyse des hématies humaines ainsi que l'effet anti-hémolytique de l'acide caféique.....	42
3.2.1. Criblage des molécules hémolytiques.....	42
3.2.2. Effet cytotoxique des métaux lourds	42

3.2.3. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'acide caféique seul.....	45
3.2.4. Activité anti-hémolytique de l'acide caféique en présence du mercure.....	46
Conclusion	50
Références bibliographiques	52
Annexes	60

Liste des abréviations

Ag	Antigène
ARLT	Antagonistes des récepteurs des leucotriènes
BCIP	Bromo chloro indolyl phosphate
CCD	Déterminants de la réactivité croisée des glucides (Carbohydrate Cross reactive Determinant).
CCL	Ligand Chimiokine CC (CC chemokine ligand)
CCR	Récepteur au Chimiokine CC (CC chemokine receptors)
CD	Cluster de différenciation
CD-L	Cluster de différenciation Ligand
CMH-II	Complexe majeur d'histocompatibilité de classe 2
CXCL	Ligand Chimiokine CXC (CXC chemokine ligand)
CXCR	Récepteur Chimiokine CXC (CXC chemokine receptor)
DC	Cellule dendritique
DCA	Dermatite allergique de contact (ACD : Allergic contact dermatitis)
Der p 1	1er allergène décrit du <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
DRESS	Syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms)
ECP	Protéine cationique des éosinophiles
EDTA	Éthylène diamine tétra acétique
ELISA	Technique d'immunoabsorption par enzyme liée
EMP	Exanthème maculo papuleux (MPE : Maculopapular Exanthema)
Fab	Fragment antigen binding
Fc	Fragment constant
FcεRI	Récepteur de forte affinité pour l'IgE
GM-CSF	Facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages

HAP	Les hydrocarbures aromatiques polycycliques
HGF	Facteur de croissance des hépatocytes
Hg	Mercure
MBP	Protéine basique de la myéline
NBT	Bleu de p-nitro tétrazole
NET	Nécrolyse épidermique toxique (TEN : Toxic Epidermal Necrolysis)
NGF	Facteur de croissance des nerfs
IFNγ	Interféron gamma
Ig	Immunoglobuline
IgE	Immunoglobuline type E
IL	Interleukine
ITAM	Motif d'activation des récepteurs immuns basé sur la tyrosine
Pb	Plombs
PEAG	Pustulose exanthématique aiguë généralisée (AGEP : Acute Generalized Exanthematous Pustulosis)
SCF	Facteur de croissance des cellules souches (Stem cell factor)
TCR	Récepteur des cellules T (T cell receptor)
TH₀	Lymphocytes T helper
TNF-α	Facteur de Nécrose Tumorale alpha (Tumor necrosis factors alpha)
TGF	Facteurs de croissance transformant
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	le mécanisme immunologique des 4 types d'hypersensibilités	15
Figure 02	représentation schématique de l'interaction de l'immunoglobuline E et son récepteur FcεRI	18
Figure 03	Représentation schématique du mécanisme d'action des IgE dans la réaction allergique	21
Figure 04	Image présentatrice de la réalisation d'un Prick-Test	22
Figure 05	Image présentatrice d'un Patch-Test	23
Figure 06	principe de l'immunoblot pour l'analyse des IgE spécifiques d'un allergène dans le sérum humain. Traduite de (MEDIWISS Analytic GmbH)	28
Figure 07	Pourcentage des patients positifs et négatifs au test d'allergie	34
Figure 08	Prévalence des allergies alimentaires, respiratoires et mixtes	35
Figure 09	Pourcentage des allergies en fonction des saisons	37
Figure 10	Prévalence des allergènes alimentaires selon le sexe	38
Figure 11	Prévalence des allergies selon le type d'allergène alimentaire	39
Figure 12	Fréquence des allergies alimentaires en fonction de l'âge	39
Figure 13	prévalence des allergènes respiratoires selon le sexe	40
Figure 14	Prévalence des allergies selon le type d'allergène respiratoire	41
Figure 15	Fréquence des allergies respiratoires en fonction de l'âge	42
Figure 16	Prévalence des allergies mixtes de type alimentaires et respiratoires	43
Figure 17	Taux d'hémolyse avec les différentes molécules hémolytiques	44
Figure 18	Effet cytotoxique du plomb sur les hématies après 2 heures d'incubation	45
Figure 19	Effet cytotoxique du mercure sur les hématies après 2 heures d'incubation	46
Figure 20	Courbe comparative de l'effet cytotoxique du plomb et du mercure sur les hématies	47
Figure 21	Effet de l'acide caféique sur les hématies	48
Figure 22	Photo original de l'hémolyse des hématies en présence de l'acide caféique et du mercure	49
Figure 23	Taux de protection de l'acide caféique en présence de 50µg/ml de mercure	50
Figure 24	Courbes comparatives de taux d'hémolyse induit par le mercure seul et en présence de l'acide caféique	51

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Les différentes voies de sensibilisation des allergènes	4
Tableau II	Les différents types d'allergènes et leurs caractéristiques	5
Tableau III	Les facteurs contribuant à l'apparition des allergies	7
Tableau IV	Les signes cliniques et leurs caractéristiques	8
Tableau V	Classification moderne des réactions d'hypersensibilités selon Gell et Coombs	14
Tableau VI	Les cellules impliquées dans la réaction allergique et leurs caractéristiques	16
Tableau VII	Pourcentage des patients ayant consultés pour une allergie de 2017 à 2022	36

Résumé

La prévalence des maladies allergiques a montré une tendance continue à la hausse de sorte que les allergies respiratoires et alimentaires sont actuellement considérées comme des maladies chroniques courantes dans le monde. Le présent travail composé de deux parties dont la première consiste en une étude rétrospective de la prévalence des allergies respiratoires et alimentaires dans la wilaya de Tizi-Ouzou. L'étude a révélé que la prévalence des allergies respiratoires est plus importante en comparaison avec les allergies alimentaires. L'allergène majeur dans les allergies respiratoire étant l'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus*, qui affecte en particulier les femmes ayant une tranche d'âge allant de 26 à 45 ans. Les allergies alimentaires occupent le second rang et l'allergène majeur est le blanc d'œuf, cette allergie affecte généralement les enfants de 1 à 15 ans de sexe masculin, certains enfants de sexe féminin sont touchés par les deux types d'allergies, appelée allergie mixte. Concernant la deuxième partie, elle consiste à l'évaluation des effets des métaux lourds (plomb et mercure) sur la résistance membranaire des hématies humaines de sujets sains et la détermination de l'activité antihémostatique de l'acide caféique. L'exposition directe à des concentrations croissantes de plomb et de mercure seuls et en présence ou pas de l'acide caféique a montré que le mercure est le métal qui induit le plus d'hémolyse alors que le plomb n'a pas d'effet significatif. L'hémolyse provoquée par le mercure peut être réduite grâce à l'activité antihémostatique de l'acide caféique. Ce polyphénol retrouvé dans le règne végétal aux multiples effets biologiques a un effet protecteur sur les membranes des hématies.

Mots clés : Allergies respiratoires, Allergies Alimentaires, *Dermatophagoides pteronyssinus*, blanc d'œuf, plomb, mercure, résistance membranaire, hémolyse, acide caféique.

Abstract

The prevalence of allergic diseases has shown a continuous upward trend so that respiratory and food allergies are currently considered as common chronic diseases in the world. The present work consists of two parts, the first of which is a retrospective study of the prevalence of respiratory and food allergies in the wilaya of Tizi-Ouzou. The study revealed that the prevalence of respiratory allergies is more important in comparison with food allergies. The major allergen in respiratory allergies is the mite *Dermatophagoides pteronyssinus*, which affects in particular women with an age range of 26 to 45 years. Food allergies rank second and the major allergen is egg white, this allergy generally affects children from 1 to 15 years of age of male, some female children are affected by both types of allergies, called mixed allergy. The second part consists of the evaluation of the effects of heavy metals (lead and mercury) on the membrane resistance of human red blood cells from healthy subjects and the determination of the anti-hemolytic activity of caffeic acid. Direct exposure to increasing concentrations of lead and mercury alone and in the presence or absence of caffeic acid showed that mercury is the metal that induces the most hemolysis while lead has no significant effect. The hemolysis caused by mercury can be reduced thanks to the anti-hemolytic activity of caffeic acid. This polyphenol found in the plant kingdom with multiple biological effects has a protective effect on the membranes of red blood cells.

Key words: Respiratory allergies, Food allergies, *Dermatophagoides pteronyssinus*, egg white, lead, mercury, membrane resistance, hemolysis, caffeic acid.

Introduction

L'allergie est un vaste sujet qui fait référence à la réponse immunitaire de l'organisme à des substances étrangères courantes dans l'environnement, et qui déclenche une réaction de la réponse immunitaire de l'organisme décrite comme une hypersensibilité. L'hypersensibilité est une réponse immunitaire inappropriée à des antigènes communs, généralement inoffensifs, qui se manifeste sous la forme d'un continuum allant de manifestations mineures (dermatite et rhinite atopiques) à des manifestations graves (anaphylaxie et asthme). La forte composante génétique des allergies est connue de longue date. Mais l'augmentation de la fréquence de ces maladies est beaucoup trop rapide pour être expliquée par un changement de notre constitution génétique. Cependant, il est désormais bien établi que l'expression de nos gènes peut être modifiée par l'environnement, via des mécanismes épigénétiques (Klimek *et al.*, 2019). Or, notre environnement subit actuellement des changements majeurs, comme le réchauffement climatique, la pollution atmosphérique, des modifications de l'environnement intérieur, des régimes alimentaires, l'utilisation des médicaments ou encore l'amélioration de l'hygiène pourrait contribuer à l'augmentation de la fréquence des allergies (Demir *et al.*, 2019 ; Klimek *et al.*, 2019). L'allergie est considérée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme la 4^{ème} maladie dans le monde après le cancer, les pathologies cardiovasculaires et le sida. L'OMS estime qu'en 2050, la moitié de la population mondiale sera allergique (WAO, 2013)

Dans ce contexte, cette thématique a pour objectifs d'étudier la prévalence des allergies alimentaire et respiratoires dans la willaya de Tizi-Ouzou.

Pour répondre aux objectifs fixés à ce travail, nous l'avons mené comme suit :

- Une synthèse bibliographique portant sur quelques aspects concernant les différents types d'allergies et leurs classifications, les hypersensibilités ainsi que les mécanismes d'action des allergies respiratoires et alimentaires et en fin leurs diagnostics et leurs traitements.
- Concernant la partie pratique, cette dernière est scindée en deux parties :

-La première partie est consacrée à l'étude de la prévalence des allergies dans la willaya de Tizi-Ouzou en traitant les données statistiques fournis par l'Hôpital privé Chahids Mahmoudi (HCM).

-La deuxième partie expérimentale est consacrée à faire le point sur l'impact des métaux lourds (plomb, mercure) sur la santé humaine notamment sur l'hémolyse des hématies et de tester les propriétés anti hémolytiques de l'acide caféique, ce composé phénolique est

connu pour ses multiples propriétés biologiques. Les métaux sous forme ionisée tels que l'aluminium, le cadmium, le nickel et le strontium peuvent directement agir sur les mastocytes donc ont une influence sur le développement des réactions allergiques (Plé *et al.*, 2013).

Partie I :
Synthèse bibliographique

I. Allergies, hypersensibilités et mécanismes d'action

1.1. Les allergies

Le terme allergie est introduit pour la 1^{ère} fois en 1906 par Clemens Von Pirquet. Le mot allergie est issu du grec *Allos*, qui veut dire autre et *Ergon* qui signifie travail (Kay, 2006). L'allergie se définit comme une réponse immunitaire adaptative anormale dirigée contre des substances environnementales non infectieuses qui sont appelées allergènes, entraînant des troubles allergiques tels que l'anaphylaxie, la rhinite allergique (rhume des foins), l'asthme allergique (Galli *et al.*, 2008).

a) Les allergènes et les différents types d'allergènes

Un allergène est un antigène de l'environnement généralement inoffensif, qui est de diverses origines (pollen, phanères d'animaux, fruit, latex ...etc.), il s'agit de protéines ou glycoprotéines ayant un poids moléculaire allant de 15 à 40 kDa capable de provoquer une réponse immunitaire chez les sujets allergiques, tandis qu'elles sont tolérées par le système immunitaire des sujets normaux (Bessot et Pauli, 2008).

b) Nomenclature des allergènes

La nomenclature des allergènes est assurée par un comité international composé de l'organisation mondiale de la santé (OMS) et de l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS), afin de maintenir une nomenclature unique non ambiguë. Le comité gère une base de données des allergènes approuvés (www.allergen.org). La nomenclature officielle des allergènes est basée sur une nomenclature binominale linnéenne identifiant les genres et les espèces des organismes, les noms des allergènes sont organisés par une abréviation du nom scientifique composé de 3 - 4 lettres du genre suivi de 1 - 2 lettres de l'espèce ainsi d'un chiffre arabe, par exemple **Der p 1** pour le 1^{er} allergène décrit de l'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus* (Radauer *et al.*, 2014).

c) Classification et voies de sensibilisation des allergènes

Par définition, lorsqu'au moins de 50 % des patients allergiques a une source allergénique donnée présentent des IgE contre un de ses allergènes, celui-ci est dit allergène majeur. Inversement, un allergène pour lequel moins de 50 % des patients allergiques présentent des IgE spécifiques est dit allergène mineur (Vitte et Bienvenu, 2012).

Les allergènes peuvent être classés aussi en fonction de leur voie d'entrée dans l'organisme c'est-à-dire un sujet peut être exposé à un allergène par : inhalation (pneumallergène), ingestion (trophallergène), par contact ou piqûre (parentérale) (Pekar, 2018). Le tableau I, résume les différentes voies de sensibilisation des allergènes.

Tableau I : Les différentes voies de sensibilisation des allergènes (Académie Algérienne d'Allergologie, 2015).

Voies de sensibilisation	Groupe d'allergènes	Exemples d'allergènes
Inhalation (pneumallergènes)	-Pollens (graminées, herbacées, arbres) -Moisissures -Poile d'animaux -Plume d'oiseaux -Acariens -Insectes	-Phléole, armoise, olivier -Aspergillus, Ascomycètes -Chat, chien, lapin -Perruche, perroquet, pigeon - <i>D. pteronyssinus</i> , <i>D. farinae</i> -Blattes
Ingestion (trophallergènes)	-Aliments -Médicament	-Crustacés, poisson, arachides, œuf, légumes,... -Pénicillines, sulfamides, carbamazépine
Parentérale	-Insectes -Médicament	-Abeilles, guêpes, moustiques -Produits sanguins, produit de contraste iodé

d- Les différents types d'allergènes et leurs caractéristiques

De nombreuses substances peuvent être la cause d'une sensibilisation de l'organisme chez les sujets prédisposés et entraînés, lors des contacts répétés des manifestations cliniques d'allergie, parmi tous les allergènes possibles certains sont en cause beaucoup plus fréquemment que d'autres (Perrin, 1994). Le tableau II, résume les différents types d'allergènes et leurs caractéristiques.

Tableau II : Les différents types d'allergènes et leurs caractéristiques (Afssa, 2002 ; Demoly et al, 2014 ; Baring et Casset, 2012 ; Demange et al, 2013 ; Burzyńska et Piasecka-Kwiatkowska, 2021).

Les types d'allergènes	Caractéristiques
Pneumallergènes	<ul style="list-style-type: none"> • Allergènes aéroportés (inhalé) ils pénètrent dans l'organisme par voie aérienne et respiratoire ; • Composés d'allergènes domestiques (interne) et d'allergènes environnementaux (externe) (acariens, pollen, les phanères d'animaux, blattes, les moisissures); • Responsables des manifestations allergiques (rhinite), pulmonaires (asthme, alvéolites) et de conjonctivite ; • Sont classés soit : <ul style="list-style-type: none"> - saisonniers les plus fréquents sont les pollens (graminées, d'arbre (bouleau, chêne, olivier), d'herbacés (ambrosies) ; - perannuels les plus fréquents sont les acariens (<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>), phanères d'animaux (chats, chiens), moisissures (<i>Aspergillus</i>).
Trophallergènes	<ul style="list-style-type: none"> • Concerne les allergènes alimentaires, introduits par voie digestive dans l'organisme (ingestion) ; • Les allergènes les plus fréquents sont (œuf, lait de vache, poissons, crustacés, l'arachide, soja et noisettes) ; • Responsables des manifestations cliniques digestives, parfois respiratoires ; • Classés en deux catégories les allergènes d'origines animales (œufs, poissons, lait de vache ...etc.) et les allergènes d'origine végétales (arachides, noix, sésame, soja... etc.) .
Allergènes professionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Allergènes inhalés sur les lieux de travail ; • Tous les secteurs peuvent être concernés (agroalimentaire, métallurgie, bâtiment, secteur médicale...etc.) ; • Il existe plusieurs allergènes de nature différente (métaux, composés chimiques, protéines végétales...etc.) qui se retrouvent dans divers produits (farines, gants, ciment, cosmétique ...etc.).
Venins d'hyménoptère	<ul style="list-style-type: none"> • Ce sont des arthropodes (les abeilles, les guêpes, les fourmis, les frelons, les bourdons) ; • Leur venin contient un mélange complexe de protéines et de peptides toxiques ; • Les manifestations allergiques aux venins peuvent aller d'une simple urticaire à l'anaphylaxie ; • Les symptômes apparaissent rapidement après la piqûre. Les réactions allergiques aux piqûres d'hyménoptères peuvent être mortelles ;
Allergènes médicamenteux	<ul style="list-style-type: none"> • L'allergène peut être la molécule médicamenteuse native ou un de ses métabolites son poids moléculaire doit être supérieur à 1000 Da ; • Les principaux médicaments responsables de manifestation allergique sont les antibiotiques (beta-lactamines), les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antalgiques et les antipyrétiques.

d- Les facteurs de risque contribuant à l'apparition des allergies

Plusieurs facteurs sont impliqués dans le développement des allergies, dont les plus importants sont la composante génétique (héréditaire) et la composante environnementale. En effet la génétique a un rôle majeur comme le montrent les études familiales, qui commencent à permettre de localiser de nombreux gènes de susceptibilité des allergies respiratoires. Le risque pour un enfant de développer une maladie atopique est de 40 % à 60 % si ses deux parents sont atopiques. Ce risque est compris entre 5 et 10 % si aucun des deux parents n'est atopique (Raffard et Partouche, 2008). Concernant les facteurs environnementaux, le risque d'apparition des maladies allergiques est lié suite à la sensibilisation vis-à-vis d'allergènes retrouvés dans l'environnement (acariens, pollens, phanères d'animaux...etc.) et qui dépendent aussi de la zone géographique (habitation, climat et saison) (Bessot et Pauli, 2008). Soit aux différents polluants : gazeux (CO, SO₂, O₃ ...etc.), particulaires (diésel), physiques (chaleur, radio isotopes), chimiques (pesticides, métaux lourds) et biologiques (germes, parasites) ou encore suite à des activités humaines (polluants industriels, sang...etc.) (Plé et *al*, 2013). L'hygiène et le mode de vie contribuent aussi à l'apparition des allergies. En effet, une hygiène trop présente notamment chez le bébé qui est moins sujet au contact avec les agents infectieux induit une immaturité du système immunitaire qui le rendra plus sensible aux allergènes (Ege, 2017). Les principales caractéristiques des facteurs de risques contribuant à l'apparition des allergies sont représentées dans le tableau III).

Tableau III : Les facteurs contribuant à l'apparition des allergies (Bousquet, 2001 ; Plé *et al.*, 2013 ; Malcolm et Blumenthal, 2012).

Les facteurs	Caractéristiques
Héréditaires	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Predisposition génétique qui est transmise et non l'allergie ; ▪ L'allergie peut apparaître en dehors de tout antécédent familial ; ▪ un enfant allergique dont l'un ou les deux parents sont allergiques ne sera pas forcément sensibilisé aux mêmes allergènes que ses parents ; ▪ La composante génétique est polymorphe c'est à dire plusieurs gènes sont impliqués ; ▪ L'ethnie d'un individu peut également être un facteur protecteur ou un facteur de risque de développer une allergie.
Environnementaux	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les polluants gazeux, particulaires, physiques, chimiques et biologiques entraînent une hyperréactivité des muqueuses les rendant plus sensibles aux allergènes, participant ainsi dans l'élévation de la gravité des allergies ; ▪ Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), connus principalement pour leurs effets cancérigènes, sont également immunosuppresseurs, entraînent des actions pro-inflammatoires et augmentent certaines réactions d'hypersensibilité. ont un rôle adjuvant dans la production d'IgE.
Hygiène et Mode de vie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ingestion de produits allergisants (cacaouètes, fruits exotiques, ...etc.) ; ▪ Introduction d'aliments plus variés (plats préparés, aliments transformés,.. etc.).
Antibiothérapie - Vaccination	<ul style="list-style-type: none"> ▪ la prise d'antibiotiques pendant la première année de vie était associée à un risque plus important d'allergie (rhino conjonctivite, asthme, dermatite atopique). Il a également été observé que les enfants ayant été vaccinés contre rougeole-oreillon-rubéole avaient un risque plus important de rhino conjonctivite allergique.
Tabagisme	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Le tabagisme passif est actuellement reconnu comme facteur pouvant être impliqué dans le développement de maladies allergiques respiratoires.

e- Les signes cliniques d'une allergie

La réaction allergique se manifeste de différentes manières, on trouve les manifestations respiratoires, cutanées et digestives ou généralisées lors du choc anaphylactique, dépendent de la diversité des allergènes et leurs voies d'entrée dans l'organisme. Ainsi la quantité mise

en contact et l'ampleur de sensibilisation de l'individu (Larsen *et al.*, 2015). Les signes cliniques d'une allergie sont résumés dans tableau IV.

Tableau IV : Les signes cliniques et leurs caractéristiques (Ancellin *et al.*, 2004)

Les types de manifestations	Signes cliniques	Symptômes
Respiratoires	Rhinite allergique	-Rhinorrhées, éternuements répétés, prurit nasal.
	Asthme	- Toux sèche irritative, serrement de la gorge, oppression thoracique, étouffement, difficulté à parler ou à respirer.
Cutanées	Dermatite atopique	-Lésions au niveau de la peau, grattage, croûtes, sécheresse cutanée.
	Eczéma de contact	-Eruption de plaques rouges, prurit, formation de croûtes.
	Urticaire allergique	- Œdème, présence de papules rouges ; -érythémateuses, démangeaison intense.
	Conjonctivite allergique	-Prurit intermittent, une rougeur de la conjonctive, un œdème palpébral, hypertrophies papillaires de la conjonctive.
Digestives	Divers	-Nausées, vomissements, sensation de malaise, troubles du transit (constipation, diarrhée), douleurs abdominales.

1.2. Les allergies respiratoires et alimentaires

1.2.1. Les allergies respiratoires

L'allergie respiratoire est une réaction immunitaire inappropriée de notre organisme. La réaction allergique se produit lorsque notre système immunitaire réagit de manière excessive contre des substances allergènes, qui ne présentent en réalité aucun réel danger.

1.2.1.1. Causes et développement de l'allergie respiratoire

L'allergie se développe en général chez une personne prédisposée génétiquement. Mais elle apparaît surtout en présence d'un ou plusieurs allergènes. En effet, dans la majorité des cas, la réaction allergique apparaît en présence d'acariens, de pollens ou de poils de chat. Elle s'installe en deux temps: Il y a d'abord une phase de sensibilisation, silencieuse et sans symptôme, lors d'une première rencontre de l'organisme avec l'allergène, le système immunitaire fabrique des anticorps (de type IgE). Puis vient la phase de la réaction allergique proprement dite: lors d'un contact ultérieur avec l'allergène, les anticorps précédemment fabriqués entrent en scène. Ils se fixent sur l'allergène, ce qui déclenche la production et le largage de différents médiateurs chimiques (histamine, leucotriènes, prostaglandines...)

provoquant des éternuements, écoulement nasal et congestion. Puis, plus tardivement, obstruction nasale et inflammation chronique (Chiriac, 2013).

1.2.1.2. Les différentes formes de l'allergie respiratoire

Il peut s'agir d'une rhinite allergique. L'inflammation de la muqueuse nasale la première touchée lors de l'inhalation de l'allergène entraîne sa congestion et la production d'un mucus. Résultat, le nez coule en permanence ou se bouche, il démange. Les larmes ne peuvent plus être évacuées par leur chemin habituel et débordent à l'angle externe des yeux, d'où des larmolements et une conjonctivite. Mais selon l'anatomie des voies respiratoires, les manifestations peuvent aussi prendre d'autres formes. Si le voile du palais est horizontal, le mucus ne pouvant pas être évacué par le nez, il stagne et provoque des otites à répétition chez l'enfant, des sinusites chroniques chez l'adulte, avec un voile du palais orienté vers l'intérieur, le mucus coule dans la gorge. On observe alors des irritations et démangeaisons de la gorge, voire une inflammation des cordes vocales. Si le mucus poursuit son chemin jusqu'aux bronches, les muscles bronchiques se contractent et une toux grasse, puis sèche, se déclenche dans un réflexe de défense. Cela peut se compliquer et se transformer alors en asthme, elle peut entraîner une rhinite au niveau du nez et une réaction asthmatique au niveau des bronches (Chiriac et Demoly, 2013).

Les allergies respiratoires se manifestent principalement par l'apparition d'une rhinite allergique ou d'un épisode d'asthme.

➤ Rhinite allergique

La rhinite allergique est la manifestation la plus courante et la plus constante de l'allergie respiratoire. C'est une inflammation de la muqueuse, très fragile, des fosses nasales. Si elle n'est pas traitée, elle peut s'aggraver et provoquer de l'asthme. En effet, 80 % des asthmatiques adultes souffrent également de rhinites allergiques. Les circonstances de survenue sont souvent caractéristiques : exposition à la poussière, promenade champêtre au printemps, tonte de la pelouse, proximité d'un chat... Les acariens, les pollens de graminées et les chats en sont les trois principales causes. (Lemaire, 2004).

Elle se caractérise par la survenue régulière, en dehors d'épisodes de rhume ou de grippe, d'éternuements en salve, d'écoulement et d'obstruction nasale. Des signes conjonctivaux, d'intensité variable, sont fréquemment associés : rougeur de l'œil, larmolements ainsi que d'autres symptômes (nez bouché, mal de gorge, fièvre légère et fatigue) (Hamladji, 2005).

➤ **L'asthme allergique**

L'asthme est une maladie chronique qui touche les enfants et les adultes et qui se manifeste généralement sous forme de crises. Les crises d'asthme sont provoquées par le rétrécissement transitoire des voies aériennes dans les poumons à cause de l'inflammation et du resserrement des muscles qui entourent les voies respiratoires fines (Hamladji, 2005). Cela provoque les symptômes de l'asthme :

- une toux sèche et sifflement ;
- des difficultés à respirer et une oppression de la cage thoracique ;
- une respiration sifflante et essoufflement et gêne respiratoire ;
- des expectorations de mucus (toux et crachats) ;
- une sensation d'oppression et d'angoisse.

Ces symptômes sont présents de façon intermittente et s'aggravent souvent la nuit ou lorsque la personne fait de l'exercice. D'autres facteurs déclenchant peuvent aggraver les symptômes de l'asthme. Ces facteurs varient d'une personne à l'autre mais il peut s'agir d'infections virales (rhumes), de poussière, de fumées, de changements météorologiques, de pollens de graminées et d'arbres, de poils et de plumes d'animaux, de savons à l'odeur forte ou de parfums (Lemaire, 2004).

1.2.2. Les allergies alimentaires

L'allergie alimentaire est définie comme étant une réaction de sensibilité immédiate provoquée par l'ingestion d'un aliment dit allergène ou trophallergène a une origine animale ou végétale qui est généralement une protéine et qui nécessite la liaison à une autre protéine pour acquérir une propriété immunogénique (Essari *et al.*, 2018).

1.2.2.1. Les caractéristiques des allergies alimentaires

Les aliments sont la source des matières premières et de l'énergie nécessaire à l'organisme et qui ne constituent pas de danger pour ce dernier, dans le cas d'un individu normal l'aliment induit de façon naturelle une tolérance immunitaire, or chez d'autres une réaction immunitaire se met en place après la consommation de quelque aliments bien définis, ce qui engendre l'apparition de plusieurs symptômes cliniques de l'allergie alimentaire.

Les causes d'une allergie alimentaire sont multiples mais les plus dominantes sont la génétique et l'environnement mais aussi d'autres facteurs sont impliqués tels que l'âge de la première exposition à l'aliment, la dose, le type ainsi que la durée d'exposition à cet aliment (Essari *et al.*, 2018).

1.2.2.2. Les aliments allergènes

Il existe plusieurs aliments qui peuvent provoquer des réactions allergiques même certains d'eux sont à l'origine de la majorité des allergies. Les trophallergènes sont classés en deux groupes en fonction de leurs origines : animales ou végétales (Mourin, 2012).

1.2.2.2.1. Les allergies d'origine animale

➤ Le lait de vache

Grace à la composition équilibrée et riche du lait, il est consommé par la plupart de la population que ce soit enfant ou adulte. Il est consommé soit sous forme liquide ou bien sous forme de produits transformés tels que les fromages, les yaourts et le beurre.

L'allergie au lait est la première allergie que l'individu peut rencontrer au cours de sa vie comme le lait est le premier aliment consommé, c'est pourquoi ce type d'allergie est beaucoup fréquent chez les nourrissons et les enfants et les symptômes apparaissent le plus souvent avant l'âge de 12 mois (Benhamou *et al.*, 2009). Le lait se compose de plusieurs protéines et certaines d'eux sont à l'origine de cette allergie à savoir l' α -lactalbumine et la β -lactoglobuline (Morali, 2004).

Cette allergie se manifeste par des rougeurs et des démangeaisons de la peau, ainsi que par des symptômes digestifs tels que les vomissements, constipation, diarrhée ou maux de ventre.

➤ Les œufs

C'est l'allergie la plus fréquente, elle est causée beaucoup plus par le blanc d'œuf que le jaune comme il contient un nombre important de protéines solubles qui sont à l'origine de cette allergie par exemple : les globulines, l'ovalbumine, l'ovomucines et le lysozyme. Parfois la cuisson de l'œuf nous permet d'éviter l'allergie dans le cas où la personne est uniquement allergique à l'ovalbumine comme c'est protéine thermolabile du coup elle se dénature par la haute température de cuisson (Caubet et Wang, 2011).

L'allergie à l'œuf se manifeste par divers symptômes que ce soit cutanés tel que l'eczéma aussi dite dermatite atopique qui se caractérise par des rougeurs mal délimités et par l'apparition de petites vésicules qui évoluent en croûtes, respiratoire le cas de la rhinite allergique et digestif par des vomissements, nausées, douleurs abdominales qui peuvent être immédiates ou retardées.

➤ **Les poissons**

L'allergie aux poissons peut se manifester au cours de l'enfance comme elle peut avoir lieu à l'âge adulte et développer une tolérance est rare donc le patient souffre de cette allergie le long de sa vie (Sharp et Lopata, 2014). La réaction allergique est dirigée contre la β -parvalbumine qui est l'allergène majeur qui cause plus de 90 % des cas d'allergie (Ruethers *et al.*, 2018). Cette protéine est exprimée par les poissons osseux (saumon, morue, thon, maquereau...). La β -parvalbumine est une protéine soluble, caractérisée par la stabilité, la haute résistance à la chaleur et à la dégradation enzymatique et chimique d'où son fort pouvoir allergénique (Matricardi *et al.*, 2016).

Cette allergie se manifeste par divers symptômes qui apparaissent 1 minute à 1 heure suivant la consommation du poisson : des symptômes cutanés (prurit et urticaire), digestifs (douleurs abdominales, nausées, vomissements et diarrhée) et des symptômes respiratoires (angioœdème) (Chafen *et al.*, 2010).

1.2.2.2.2. Allergie d'origine végétale

➤ **l'arachide**

L'arachide est un élément très riche en protéine notamment l'arachine et la conarachine avec leurs sous unités Ara H I et Ara H II qui sont extrêmement allergéniques. Ces protéines sont présentes uniquement dans la graine et non dans les autres parties de la plante (Burks *et al.*, 1991) ; (Burks *et al.*, 1992). Ara H I et Ara H II sont thermostables et résistent à l'hydrolyse enzymatique même lors de la digestion. En effet, il a été montré que le fait de griller les arachides pouvait augmenter leurs propriétés allergéniques à savoir leurs capacités de liaison aux IgE spécifiques comparant aux arachides crues (Maleki *et al.*, 2000). Contrairement aux autres types d'allergie alimentaire notamment celles aux œufs et au lait qui guérissent spontanément, l'allergie aux arachides persiste et ne se guérit pas

I.3. Les allergies aux métaux

Les métaux sont des composants importants associés aux maladies allergiques. Dans des modèles animaux, les particules riches en métaux augmentent les réponses allergiques en réponse à l'ovalbumine (OVA) ou aux acariens, à savoir la production de cytokines de type Th2, la réponse IgE, le recrutement d'éosinophiles et l'hyperréactivité bronchique. De plus, les métaux sous forme ionisée tels que l'aluminium, le cadmium, le nickel et le strontium peuvent directement agir sur les mastocytes en augmentant leur dégranulation et la production d'IL-4. L'ensemble de ces études suggère que la partie soluble métallique des particules a une influence sur le développement des réactions allergiques (Plé *et al.*, 2013). L'exposition à ces métaux peut être externe (pollution, produit cosmétiques, fumée de cigarette qui contient de nombreux métaux comme le mercure, le cadmium, le plomb, l'arsenic et le nickel, ...etc) ou interne (aliment, vaccin, ...etc) (Stejskal, 2015).

II. Les hypersensibilités

L'hypersensibilité est un terme général qui correspond à toutes sortes de réactions inattendues de la peau et des muqueuses. Les symptômes ou les signes cliniques sont objectivement reproductibles, initiés par une exposition à un stimulus défini, à une dose tolérée par des sujets normaux. L'allergie est une réaction d'hypersensibilité initiée par des mécanismes immunologiques. Elle peut être à médiation humorale ou cellulaire. L'atopie est une tendance personnelle ou familiale à produire des anticorps IgE, en réponse à de faibles doses d'allergènes, généralement des protéines, et à développer des symptômes typiques comme l'asthme, la rhino conjonctivite ou l'eczéma. Une nouvelle nomenclature proposée par un groupe international d'experts précise, aux vues des données immunologiques récentes, les définitions des termes d'hypersensibilité, d'allergie et d'atopie (Raffard et Partouche, 2008).

2.1. La classification des hypersensibilités

En 1963, Gell et Coombs, ont créé une fondation afin de classer les réactions d'hypersensibilités en les divisant en quatre groupes distincts et selon les mécanismes de lésions tissulaires : type I (immédiate ou médiée par l'immunoglobuline E (IgE)), type II (cytotoxique ou médiée par les IgG/IgM), type III (médiée par les complexes immuns), et type IV (retardée ou médiée par les cellules T). Ce système de classification a depuis été étendu pour inclure des sous-types de types II et IV, dans l'intention de mieux refléter

l'immunopathologie des maladies (Melanie et Dispenza, 2019). Les différents types hypersensibilités sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Classification moderne des réactions d'hypersensibilités selon Gell et Coombs (Melanie et Dispenza, 2019).

Type	Sous-type	Mécanisme immunologique	Symptômes
I	Aucun	Réaction médiée par les mastocytes IgE dépendante.	Anaphylaxie, œdème de quincke, urticaire, asthme.
II	IIa	Réactions cytotoxiques médiées par les anticorps (IgG/IgM), complément souvent impliqué.	Cytopénies immunitaires.
	IIb	Réactions de stimulation cellulaire médiées par les anticorps.	urticaire (spontanée).
III	Aucun	Médiée par les complexes immuns et activation du complément.	les réactions de malaise sérique causées par divers médicaments, vascularite.
IV	IVa	Médiée par les cellules Th1, qui activent les macrophages.	Diabète de type 1, dermatite de contact, réactions au test tuberculinique.
	IVb	Impliquent la production d'IL-4, IL-5 et IL-13 par les cellules Th2 pour induire une inflammation éosinophile et la production d'IgE à partir des cellules B	Asthme persistant, rhinite allergique
	IVc	Médiée par les cellules T CD8 cytotoxiques, qui tuent directement les cellules ciblées en utilisant un certain nombre de médiateurs.	syndrome de Stevens-Johnson et la nécrolyse épidermique toxique.
	IVd	T – IL8, CXCL8 (inflammation neutrophilique)	Pustulose exanthématique aiguë.

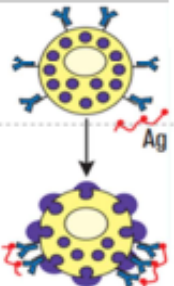
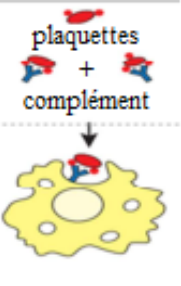
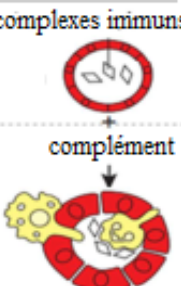
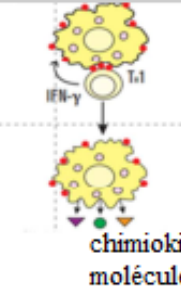
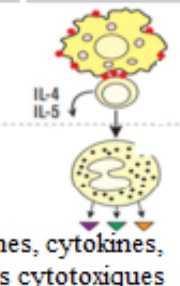
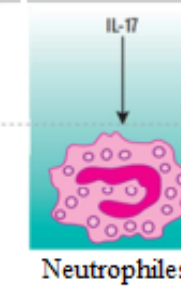
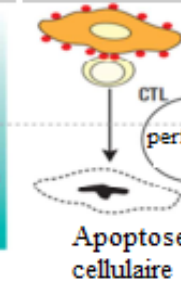
Réaction d'hypersensibilité							
Type	Type I	Type II	Type III	Type IV			
Médiation	IgE	IgG	IgG	CD4 Th1	CD4 Th2	CD4 Th17	CD8 – Tc1
Cellules	Mastocyte	Complément, NK, macrophages	complément, macrophages	Macrophages	Eosinophiles	Neutrophiles	Cytotoxicité
Mécanismes effecteurs							
Maladies de la peau	Urticaire de contact	Pemphigus, pemphigoïde bulleuse	Vasculite	Psoriasis, DCA	Dermatite atopique	Psoriasis	DCA
Allergie aux médicaments	Anaphylaxie	Cytopénie médicamenteuse	Vasculite induite par médicaments	EMP, DRESS	DRESS	PEAG	NET

Figure 01: Mécanismes immunologiques des 4 types d'hypersensibilités (Villani *et al* ; 2018)

DCA : Dermatite Allergique de Contact (**ACD** : Allergic contact dermatitis) ; **EMP** : Exanthème Maculo Papuleux (**MPE** : Maculopapular Exanthema) ; **DRESS** : syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms) ; **PEAG** : Pustulose Exanthématique Aiguë Généralisée (**AGEP** : Acute Generalized Exanthematous Pustulosis) ; **NET** : Nécrolyse Epidermique Toxique (**TEN** : Toxic Epidermal Necrolysis)

III. Le Mécanisme d'action des allergies respiratoires et alimentaires

3.1. Les acteurs impliqués dans les allergies

3.1.1. Les cellules impliquées dans les allergies

Les cellules impliquées dans les allergies respiratoires et alimentaires et leurs caractéristiques sont représentées dans le tableau VI

Tableau VI : Les cellules impliquées dans la réaction allergique et leurs caractéristiques (Ravin et Michael, 2015 ; Serrano *et al.*, 2020)

Caractéristiques	Basophiles	Mastocytes	Eosinophiles
Origine	Cellule hématopoïétique CD 34+	Cellule hématopoïétique CD 34+	Cellule hématopoïétique CD 34+
Site de maturation	Moelle osseuse	Moelle osseuse et/ou tissu	Moelle osseuse
Localisation	sang	tissu	Sang/tissu
Taille	5-7 μm	5-10 μm	15 μm
Durée de vie	3 à 4 jours	mois	Sang : 18 h Tissu : 2 semaines
Noyau	segmenté	rond	Segmentée en deux lobes
Médiateurs chimiques	-Amines biogènes/ Protéoglycane : (histamine, chondroïtine sulfate). -Interleukines : (IL-3, IL-4, IL-6, IL-25, IL-13). -Facteurs de croissance : (HGF). -Cytokines : (TNF- α). -Chimiokines : (CCL-5, CXCL-8, CCR-1, -2, -3, -5, -7, CXCR-1, -4, -8).	-Amines biogènes/ Protéoglycane : (histamine, chondroïtine sulfate) -Interleukines : (IL-3, IL-4, IL-6, IL-25, IL-13). -Facteurs de croissance : (VEGF-B, -C et -D, GM-CSF, NGF, PDGF, SCF). -Cytokines : (TNF- α , TGF- β , IFN- α , - β , - γ) Chimiokines : (CCL-1, -2, CXCL-8, -1).	-Protéines toxiques : (MBP, ECP, EDN) -Interleukines : (IL-4, -6, -8, -10) -Facteurs de croissance : (NGF, SCF, VEGF) -Cytokines : ((TNF- α , - β , GM-CSF, IFN- γ , TGF- α) -Chimiokines : (CCL-2, -3, -5, -6, -7, -11)
Rôles	-Reconnaissance des pathogènes (bactéries, virus, champignon) Sécrétion des molécules inflammatoires (histamine, tryptase) -Impliquées dans les réactions allergiques suite à leurs capacités de reconnaître et lier les IgE -Impliquées dans les leucémies et les cancers (appartiennent aux cellules immunes)		-Défense contre les infections parasitaires -Défense contre certaines bactéries intracellulaires -Modulation des réactions d'hypersensibilité immédiate

3.1.2. Les immunoglobulines de type E

L'immunoglobuline E ou IgE est connue essentiellement pour son rôle dans la genèse des pathologies allergiques. Cette activité est due à son interaction avec un récepteur de la membrane des mastocytes et des polynucléaires basophiles. Cette fixation permet, lors d'un deuxième contact avec l'allergène, la libération par les cellules des médiateurs qui provoquent les manifestations cliniques : rhinites, asthme, choc anaphylactique... Les IgE peuvent aussi se fixer sur d'autres cellules : lymphocytes B et T, macrophages, polynucléaires éosinophiles, plaquettes, cellules de Langerhans. La liaison aux macrophages, aux éosinophiles et aux plaquettes est responsable de la défense contre les infections parasitaires (Moneret-Vautrin *et al.*, 2006). L'IgE est la dernière classe d'anti corps humain découvert qui partage la même structure avec les 4 autres isotopes (IgD, IgA, IgG, IgM), cette dernière est composée de 4 chaînes polypeptidiques homologues 2 à 2 : deux chaînes lourdes(H) et deux chaînes légères (L) (figure 02). Les chaînes lourdes sont unies entre elles par des ponts disulfures. Les chaînes légères sont unies aux chaînes lourdes par des ponts disulfures très proches de leur extrémité constante carboxy c- terminal (Carcelain *et al.*, 2018). La particularité de ce type d'immunoglobuline est sa capacité à se lier aux cellules notamment les mastocytes et les basophiles qui expriment à leurs surface le récepteur FcεRI (Sutton et Davies, 2015).

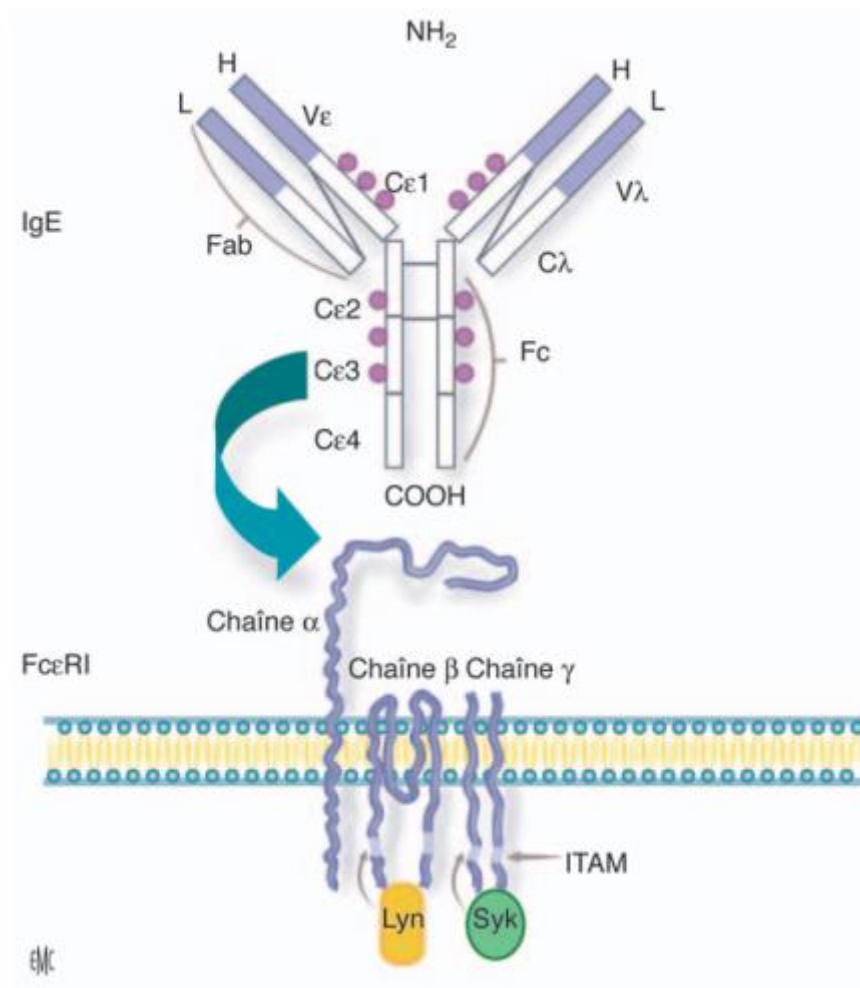


Figure 02 : Représentation schématique de l'interaction de l'immunoglobuline E et son récepteur FcεRI (Girodet *et al.*, 2007).

ITAM : immunoreceptor tyrosine-based activation motif ; Tyrosines kinases Lyn et Syk ; Fab : fragment variable (fragment antigenbinding) ; Fc : fragment constant ; IgE : Immunoglobuline E

➤ Caractéristique biochimique des IgE

Les IgE plasmatiques sont des monomères de masse relative de 190 kDa. Ces immunoglobulines sont thermolabiles ; elles perdent leur pouvoir homocytotrope après chauffage de 30 minutes à 56 °C. Les IgE persistent durant de longues périodes sur les mastocytes des tissus, mais dans le plasma leur demi-vie plasmatique est courte (2 à 4 jours). Ils ne traversent pas la barrière placentaire (Moneret-Vautrin *et al.*, 2006).

➤ **Production des IgE**

La production d'IgE est sous la dépendance des cellules T, et plus particulièrement des cellules TH2, qui sont stimulées en présence de petites doses d'allergènes. Les lymphocytes TH2 produisent différentes cytokines, dont l'IL4, IL5, IL13, qui stimulent la croissance des cellules TH2 et induisent une expression du gène de l'IgE. Au contraire, une forte dose d'antigène (infection virale, bactérienne...) active les TH1 qui produisent de l'IL2 et de l'IFN γ ; qui diminuent significativement la synthèse de l'IgE (Moneret-Vautrin *et al.*, 2006).

3.2. Mécanisme d'action de la réaction allergique IgE dépendante

La réaction d'hypersensibilité IgE dépendante (type I) se déroule en deux phases successives : une première phase dite de sensibilisation qui est asymptomatique et une deuxième phase dite effectrice, comprenant deux étapes (une étape précoce et une étape tardive). Cette phase se caractérise par l'apparition des symptômes (Carcelain *et al.*, 2018).

3.2.1. Phase de sensibilisation

Intervient lors du premier contact avec l'allergène, qui est capturé par la cellule dendritique, cette dernière va subir une maturation et une migration vers les ganglions lymphatiques, où elle active les lymphocytes T vers une réponse Th2 excessive liée à un environnement particulier en cytokines riche en IL-4, IL-5, IL-13, ce qui induit la production préférentielle d'IgE par les plasmocytes B. Ces anticorps produits sont présents dans le sang circulant pendant quelques jours et fixés à la surface des mastocytes et basophiles par leur fragment Fc à la sous-unité α du récepteur de forte affinité pour les IgE Fc ϵ RI présent à la surface des cellules. L'ensemble de processus décrit jusqu'ici correspond à la phase de sensibilisation qui est asymptomatique (Carcelain *et al.*, 2018).

3.2.2. Phase effectrice

C'est la phase clinique de la réaction allergique, ayant lieu lors d'un deuxième contact avec l'allergène qui comprend néanmoins une phase précoce et une phase retardée. Responsable d'apparition des symptômes.

3.2.2.1. Étape précoce

Elle se manifeste quelques minutes après une deuxième exposition avec l'allergène. Suite à sa reconnaissance par les IgE portés à la surface des mastocytes conduisant à l'activation d'une cascade de réactions biochimiques, qui nécessite que l'allergène soit multivalent ou divalent permettant de relier entre deux IgE, ce phénomène est appelé agrégation des IgE par l'allergène ou pontage. Puis, la transduction du signal par les motifs ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) couplés aux tyrosines kinases Lyn et Syk exprimés par le récepteur Fc ϵ RI, ce signal provoque la libération des médiateurs de

l'allergie et de l'inflammation notamment l'histamine, prostaglandines, leucotriènes ...etc (Carcelain *et al.*, 2018).

3.2.2.1.1. L'histamine

Le médiateur essentiel de la phase effectrice. La stimulation de ses récepteurs spécifiques H1, induit une vasodilatation, un œdème, une augmentation des sécrétions de mucus, elle entraîne aussi la production des prostaglandines et les leucotriènes qui agissent de façon retardée par rapport à l'histamine, mais avec des effets plus puissants, ils favorisent à leur tour l'œdème, les sécrétions, et ainsi l'obstruction et la rhinorrhée. Enfin, les granules des mastocytes libèrent des cytokines, permettant une accélération des phénomènes inflammatoires de la phase tardive (Perrin, 1994)

3.2.2.2. Étape tardive

Correspond à une aggravation des symptômes et lésions tissulaires étendues médiées par des cytokines, Il s'agit notamment de l'IL-4 et du TNF- α , mais aussi de l'IL-5 (figure 03) et de cytokines chimiotactiques (Chimiokines) qui sont produites au lieu de l'inflammation par les mastocytes et les cellules endothéliales et épithéliales induisant ainsi un afflux de polynucléaires éosinophiles suite à la réponse aux Chimiokines en se déplaçant le long d'un gradient de concentration croissante de ces molécules jusqu'à rejoindre le lieu de la réaction inflammatoire. Les éosinophiles sont des cellules toxiques, notamment pour les épithéliums. Cette toxicité est médiée par la production de protéines basiques (Carcelain *et al.*, 2018).

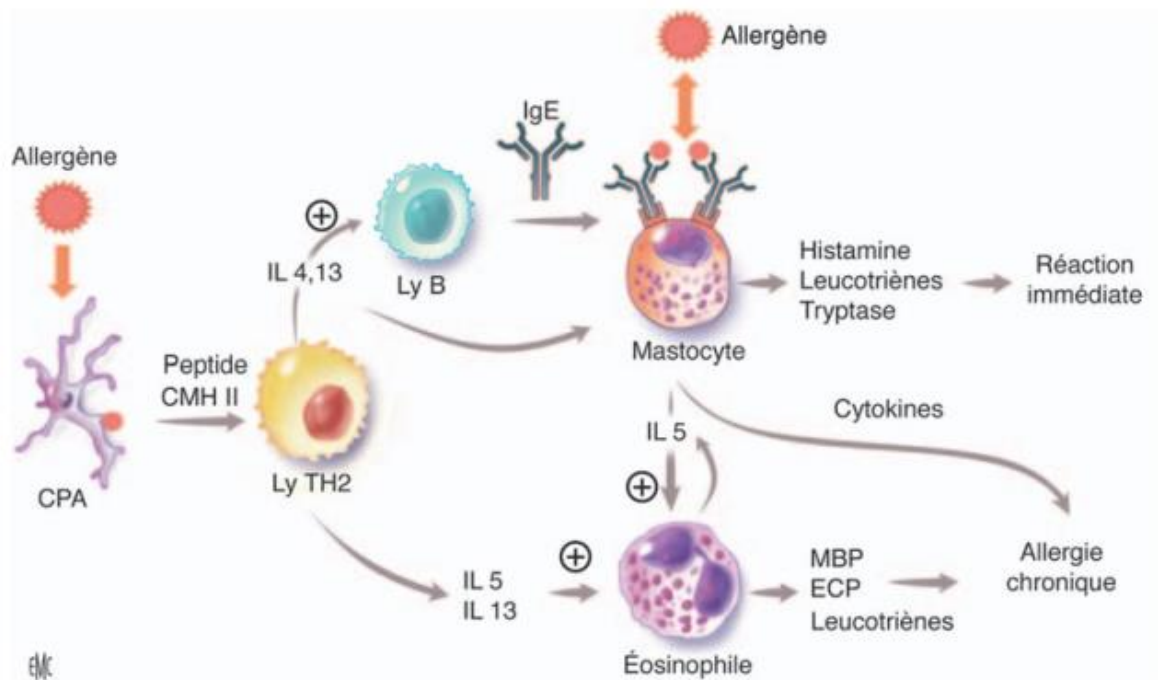


Figure 03 : Représentation schématique du mécanisme d'action des IgE dans la réaction allergique (Girodet *et al.*, 2007).

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; **CPA** : cellule présentatrice d'antigène ; **MBP** : protéine basique majeure (major basic protein) ; **ECP** : protéine cationique de l'éosinophile (eosinophil cationic protein)

IV. Diagnostic des allergies

4.1. Test clinique

L'examen clinique vise à rechercher les signes cliniques témoignant de pathologie allergique (eczéma, urticaire, conjonctivite ...) ainsi que éliminer toutes les réactions non allergiques présentant ses symptômes (Nhungrtran et bonfils, 2015).

4.2. Test cutané

Les tests cutanés permettent de reproduire localement la réponse à IgE et mettent en jeu les IgE fixées sur les cellules dont on distingue deux types les prick-test et les pach-test (Girodet *et al.*, 2007).

a- Prick-Test

Les prick-tests représentent la technique la plus utilisée en pratique courante : fiables et reproductibles, ils permettent d'obtenir des résultats sensibles et spécifiques. Ces tests cutanés consistent en l'application d'une goutte de solution d'extraits allergéniques à la surface de la

peau, suivie d'une piqûre à l'aiguille fine. La lecture de la réaction cutanée (induration, érythème) s'effectue à 15-20 minutes. D'une manière générale, on considère que le test est positif à la 15^{ème} minute, lorsque le diamètre de la papule est supérieur à 3 mm et supérieur à 50 % du témoin positif (Girodet *et al.*, 2007).



Figure 04 : Image présentatrice de la réalisation d'un Prick-Test (Sebatigita, 2013)

b- Patch- Test

Les patchs-tests explorent les manifestations cutanées, comme l'eczéma ou l'urticaire, et certaines conjonctivites dues à une réaction de contact (par exemple, lentilles, décontaminant, collyre...). Les substances suspectes sont appliquées sur la peau du dos et couvertes d'un pansement et irradiées aux ultras violets (UV). Les lectures doivent être enregistrées immédiatement après irradiation et après deux jours (Allergy patch test, 2019)

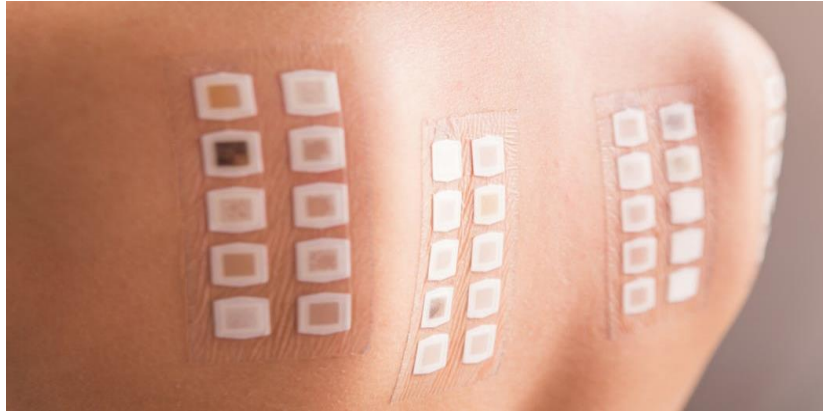


Figure 05 : Image présentatrice d'un Patch-Test (Allergy patch test, 2019)

4.3. Les tests biologiques

a- Dosage des IgE spécifiques sériques

Le dosage des IgE spécifiques effectué avec les extraits allergéniques classiques permet de doser les réactivités entre les IgE du patient et les différentes protéines allergéniques de l'extrait. Ils permettent de détecter des allergies associées entre les pneumallergènes et les allergènes alimentaires (par exemple l'allergène recombinant B et v 1 pour le syndrome pomme-bouleau qui associe des manifestations ORL et respiratoires à un syndrome oral aux pommes) (Meurice *et al.*, 2007). Les techniques actuelles de dosage des IgE sont des techniques d'immuno-analyse de type extraction-saturation (sandwich) ou immunoprécipitation (particules de latex recouvertes d'anticorps) (Girodet *et al.*, 2007).

b- Dosage des médiateurs chimiques

L'histamine représente le principal médiateur de la phase précoce de l'hypersensibilité immédiate, étant donné que sa durée de vie est très courte, il est dosé dans les minutes qui suivent la réaction allergique, par les techniques radio-immunologiques : RAI (Radio Immuno Assay) et ELISA (EnzymeLinked Immuno Sorbent Assay). Actuellement le dosage de tryptase est mieux connu que celui de l'histamine, comme elle est libérée en même temps que l'histamine de même possède une meilleure sensibilité et spécificité par rapport à ce dernier , un seul test est disponible pour le dosage de la tryptase sérique l'immuno CAP Tryptase (Rouzaire et Evrard, 2016).

V. Traitements des allergies

Il existe plusieurs traitements pour les allergies. Exemples :

5.1. Traitement médicamenteux

Les antihistaminiques comme leur nom indique agissent en bloquant l'action de l'histamine libérée dans le sang pendant la réaction allergique. Il existe plusieurs types d'antihistaminiques sur le marché soit par vente libre ou sur ordonnance à différents dosages et sous diverses formes : comprimés, sirop, vaporisateurs nasaux...etc. certains d'entre eux peuvent causer la somnolence. Certains produits reposent sur l'association d'un décongestionnant et d'un antihistaminique et procurent un soulagement rapide des symptômes

5.2. L'immunothérapie

Par analogie avec la vaccination, la désensibilisation, ou immunothérapie spécifique, consiste en l'administration d'extraits allergéniques à posologie croissante, par voie sous cutanée ou sublinguale. Les mécanismes impliqués dans l'induction de cette réaction immunologique de tolérance demeurent encore largement inconnus. Néanmoins, il a été démontré qu'il existe, pendant la désensibilisation, une réorientation des lymphocytes T auxiliaires vers une réponse Th1. La diminution de la production d'IgE spécifiques et l'augmentation de la production d'IgG4 contribuent également à expliquer l'évolution de la réponse à IgE au cours de l'immunothérapie spécifique. Ce concept de théorie humorale repose sur des travaux expérimentaux, montrant que l'activation des cellules cibles des manifestations aiguës de l'allergie, telles que les mastocytes et les basophiles, est régulée négativement par le récepteur de faible affinité pour les IgG, FcγRIIb. La modification de la balance IgE/IgG4 pourrait être à l'origine d'une moindre dégranulation des mastocytes, la diminution de concentration des IgE à la surface membranaire diminuant la probabilité de coagrégation des FcεRI, et donc de dégranulation (Girodet et Tunon de Lara, 2007).

5.3. Autres thérapies

5.3.1. Antagonistes des récepteurs des leucotriènes

Les Antagonistes des récepteurs des leucotriènes (ARLT) sont des médicaments qui bloquent certaines substances chimiques intervenant dans la réaction allergique. Leur principal effet est de détendre les muscles respiratoires qui se resserrent pendant une réaction allergique. C'est pourquoi ces agents peuvent être particulièrement utiles pour les personnes atteintes d'asthme causé par des réactions allergiques, de même ces médicaments servent aussi à traiter la rhinite allergique (FPAGC, 2016).

5.3.2. Stabilisateurs des mastocytes

Ce type de médicaments cible une autre partie de la réaction allergique dans le but de réduire l'inflammation et soulager les symptômes. Ils peuvent être utilisés pour soulager la rhinite allergique (congestion nasale et respiration sifflante) qui s'accompagne d'une conjonctivite allergique (larmolement/démangeaison oculaire) (FPAGC, 2016).

5.3.3. L'épinéphrine

L'adrénaline (épinéphrine) est le seul traitement du choc anaphylactique avant l'hospitalisation. Pour une diffusion meilleure et plus rapide, l'injection se fait par voie intramusculaire

Présentation de quelques exemples :

- Adrenaline Aguetant® et Renaudin® : 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml, 1 mg/ml.
- Seringue préremplie Anahelp® 1 mg/ml (0,25 ml par ailette cassée).
- Stylo Anapen® (0,15 mg/0,3 ml ou 0,3 mg/0,3 ml) (auto-médication en cas d'anaphylaxie alimentaire et aux hyménoptères) (Raffard et Partouche, 2008)

5.3.4. Les corticostéroïdes :

Les corticostéroïdes sont des médicaments qui peuvent avoir un effet puissant d'atténuation de l'inflammation dans divers foyers de l'organisme. Ils sont l'un des principaux agents de traitement à long terme de l'asthme (FPAGC, 2016).

Partie II :

Partie pratique

Cette partie comporte deux études distinctes. Une étude rétrospective des allergies alimentaires et respiratoires cas des patients diagnostiqués à l'hôpital Chahids Mahmoudi (Tizi-Ouzou) et une étude expérimentale sur la résistance des membranes d'hématies humaines à l'effet de deux métaux lourds « le plomb et le mercure ».

2.1. Etude rétrospective des allergies alimentaires et respiratoire cas des patients diagnostiqués à l'hôpital Chahid Mahmoudi (Tizi-Ouzou)

2.1.1. Matériel et méthodes

2.1.1.1. Echantillonnage

L'Etude rétrospective a été effectuée sur une cohorte de 173 patients ayant consultés au laboratoire d'analyses Biochimiques et immunologiques de l'hôpital Chahids Mahmoudi (HCM) de la région de Tizi-Ouzou pendant la période allant de 2017 à 2022. Les résultats des tests d'allergies concernent des patients homme et femme de tranches d'âge comprises entre 1 an à 80 ans. Tous les patients qui ont consulté présentaient des symptômes d'allergies, de type : écoulement du nez, éternuements, démangeaisons, troubles cutanés (eczéma, urticaire etc.), toux persistante, difficultés respiratoires, yeux qui piquent et larmoient.

2.1.1.2. Description du test utilisé pour le diagnostic des patients: Immunoblot pour l'analyse des IgE spécifiques des allergènes alimentaires et respiratoires

2.1.1.2.1. Matériel biologique utilisé pour la détection des IgE

Des échantillons de sang sont prélevés par ponction veineuse sans ajout d'anticoagulants, 30 min après coagulation sang, le sérum est séparé par centrifugation à 4000g pendant 10 min. L'échantillon peut être conservé pendant deux semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C.

2.1.1.2.2. Réactifs utilisés pour le test détection des IgE

Tampon tris contenant de tween qui est un tampon de lavage concentré (25x) avec un pH de (7,4-7,6); Anticorps de détection (anticorps biotinylé anti-IgE humaines dissous dans du TBS contenant 1 % de sérumalbumine bovine); streptavidine conjuguée à de la phosphatase alcaline, solution de coloration (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate (BCIP), chlorure de bleu de *p*-nitro-tétrazole (NBT)); solution de blocage des CCD (trois glycoprotéine différentes (bromélaïne, peroxydase de raifort, ascorbate-oxydase)(AllergyScreen-instruction-for-use, 2019) (Voir annexe 02).

2.1.1.2.3. Appareillages utilisés pour le test détection des IgE

Bandelettes de test (Extrait naturels d'allergènes bruts sur membrane (dissous dans du tampon TBS) (MEDIWISS AnalyticGmbH) ; Agitateur à bascule (MEDIWISS AnalyticGmbH) ; Scanner improvio c (MEDIWISS AnalyticGmbH) ; peigne de lavage et boîte d'incubation (MEDIWISS AnalyticGmbH) ; Vortex (AllergyScreen-instruction-for-use, 2019)(voir annexe 02).

2.1.1.3. Méthodes de détection**2.1.1.3.1. Principe de la technique de détection par Immunoblot des IgE spécifiques des allergènes alimentaires et respiratoires**

Le test est un immunoblot basé sur une immuno-détection, il permet une détermination semi-quantitative des immunoglobulines E (IgE) circulants spécifiques d'un allergène dans le sérum humain.

Le test est réalisé sur des bandelettes prêtes à l'emploi, constituées à la surface d'une membrane de nitrocellulose contenant des extraits naturels d'allergènes. La bandelette est placée dans une cuvette pour la réaction avec le sérum du patient. Ce dernier non dilué est ajouté dans la cuvette à un volume approprié (signalé dans le Kit du réactif), incubé à température ambiante (20-22 °C). Au cours de cette incubation les IgE spécifiques présents dans le sérum du patient réagissent avec l'allergène correspondant et se lient à la membrane de nitrocellulose, les anticorps non liés sont éliminés par lavage, par la suite des anticorps de détection sont rajoutés et incubés à la même température, ils vont se lier sur les IgE déjà fixés, ainsi qu'au contrôle de la procédure. Après lavage, de la streptavidine conjuguée à de la phosphatase alcaline est ajoutée pour la visualisation de la réaction et incubée à température ambiante suivie d'un lavage, et enfin la coloration aboutissant à une réaction enzymatique colorée spécifique de la phosphatase alcaline correspondant à un précipité sur la bandelette du test. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration des IgE spécifiques de l'échantillon de sérum. La lecture du résultat se fait directement au moyen d'un scanner (improvio c) après séchage complet de la bandelette (AllergyScreen-instruction-for-use, 2019). La figure 06 résume les différentes étapes de la réaction.

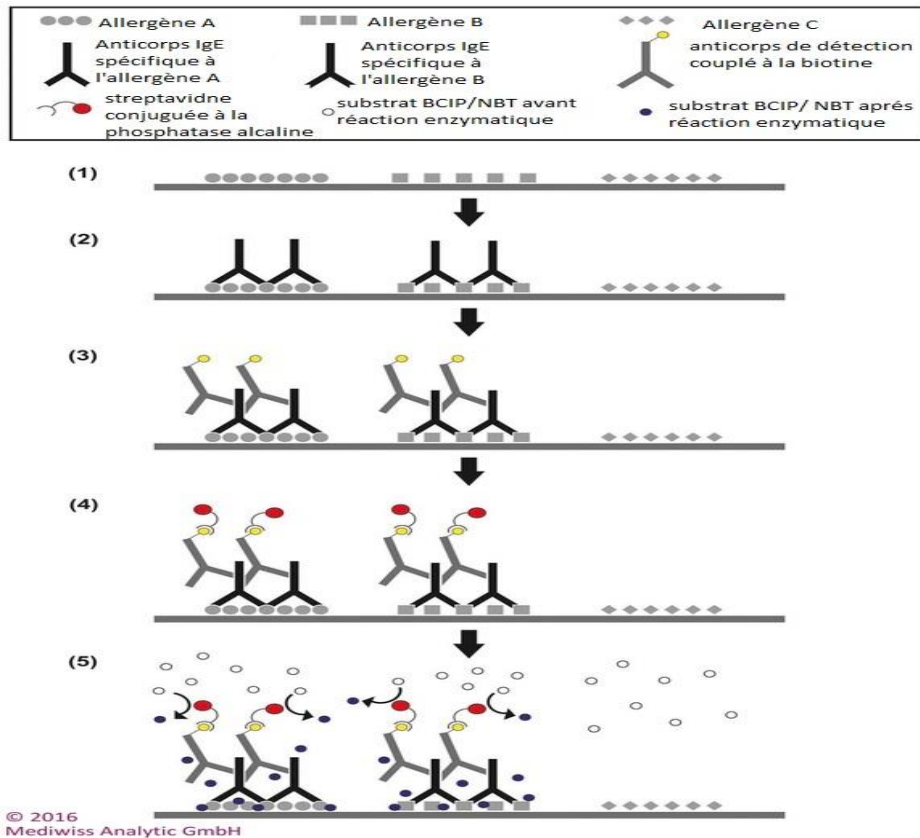


Figure 06 : principe de l'immunoblot pour l'analyse des IgE spécifiques d'un allergène dans le sérum humain. Traduite de (MEDIWISS AnalyticGmbH).

2.2. Evaluation de l'effet cytotoxique du plomb et du mercure sur l'hémolyse des hématies humaines ainsi que l'effet anti-hémolytique de l'acide caféique :

La partie expérimentale de cette étude a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de Biochimie et du Laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB) de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Le thème du stage s'est porté sur l'évaluation de l'effet cytotoxique (hémolytique) du plomb et du mercure sur les hématies humaines en présence ou pas de l'acide caféique. Des contrôles négatifs solution de NaCl (0,9%) et ces contrôles positifs ou d'hémolyse totale induite par des détergents et une solution hypotonique sont prévus pour la comparaison.

2.2.1. Matériel et méthodes

2.2.1.1. Matériel :

➤ **Matériel biologique :**

Sang humain collecté par prélèvement sur tube EDTA.

➤ **Réactifs et produits chimiques utilisés :**

NaCl 0,9 %, NaCl 0,2 %, Saponine 0,2 % (Sigma diagnostics), Buffer (tampon d'hémolyse), Acétate de plomb ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), acétate de mercure ($\text{C}_4\text{H}_6\text{HgO}_4$), Ethanol pur ; Ethanol 70 % ; acide caféique (Sigma).

➤ **Appareillages utilisés :**

Centrifugeuse (sigma), balance de précision (scout pro), vortex (HumanLab), spectrophotomètre UV (Thermo scientific /HELIOS EPSILON).

2.2.1.2. Méthodes :

➤ **Préparation du concentré globulaire par lavage des hématies :**

Le lavage des hématies a été effectué avec du NaCl 0,9 %. 2 ml du NaCl 0,9 % ont été rajouté à 3ml du sang prélevé sur tube EDTA puis centrifugé à 600 g pendant 5 min. Le culot a été récupéré après élimination du surnageant à l'aide d'une pipette poire. Le lavage des hématies a été répété 3 fois dans les mêmes conditions.

➤ **Préparation des solutions de métaux lourds :**

Les solutions mères de métaux lourds (mercure/plomb) ont été préparées en pesant 5 mg de chaque produit. Les quantités pesées ont été dissoutes dans 5 ml du NaCl 0,9 % puis homogénéisées à l'aide d'un vortex

➤ **Criblage de molécules hémolytiques :**

Avant de passer au test de résistance membranaire des globules rouges plusieurs molécules on était testées comme contrôles positifs :

- Saponine 2 % (Sigma diagnostics) : Glucoside extrait de diverses plantes (saponaire, bois de Panama, nielle des blés, feuille de lierre, etc.), dont la solution aqueuse mousse par simple agitation, qui est dotée de propriétés émulsionnantes et possède une action hémolytique.
- H_2O : solution hypotonique vis-à-vis d'érythrocyte, celui-ci passe dans un état de turgescence (gonflement) puis cette cellule éclate sous l'effet de la pression.

- Tampon de lyse : solution prête à l'emploi utilisée pour la lyse des cellules pour des expériences en biologie.
- NaCl 0,2 % : solution hypotonique vis-à-vis d'érythrocyte, celui-ci passe dans un état de turgescence (gonflement) puis cette cellule éclate sous l'effet de la pression.

Une seule molécule est utilisée comme contrôle négatif : le NaCl 0,9 % qui permet de reproduire les conditions physiologiques donc il n'y'aura pas d'hémolyse.

➤ **Préparation des tubes pour le test hémolyse en présence du Mercure et du plomb**

Six séries de tubes ont été préparées, dont chacune comporte 6 tubes, un volume de 40 µl d'hématies purifiées est utilisé dans tous les tests d'hémolyse et les conditions de l'expérience sont les suivantes :

Ctrl+ : contrôle positif hémolyse totale (NaCl 0,2 %)

Ctrl- : contrôle négatif pas d'hémolyse (NaCl (0,9 %))

Les concentrations en métaux lourds Plomb et Mercure utilisées pour notre étude sont **10, 25, 50 et 100 (µg/ml)**, toutes les dilutions ont été préparées dans du NaCl (0,9 %).

Les différentes séries ont été incubées à température ambiante pendant 2 heures, une centrifugation à 600 g pendant 10 min a été effectuée, et les surnageants ont été récupérés. La lecture des densités optiques pour toutes les conditions ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm.

Les résultats de cette étude sont exprimés en Ratio (%) et qui est calculé par la formule suivante :

$$\text{Ratio } (\%) = (M_1/M_0) \times 100$$

M₁ : la densité optique des traités ;

M₀ : la densité optique du control positif

➤ **Préparation de l'acide caféique**

2 mg d'acide caféique ont été pesée et dissous dans 200µl d'éthanol pur, le mélange a été homogénéisé jusqu'à la solubilisation complète de ce dernier. 800 µl du NaCl 0,9 % ont été ajouté pour avoir un volume final de 1 ml.

➤ **Préparation du test d'hémolyse en présence d'acide caféique**

Six séries de tubes ont été préparés, dont chaque série comporte 7 tubes, un volume de 40 µl d'hématies purifiées est utilisé dans tous les tests d'hémolyse et les conditions de l'expérience sont les suivantes :

Ctrl+ : contrôle positif hémolyse totale (NaCl 0,2%)

Ctrl- : contrôle négatif pas d'hémolyse (NaCl (0,9 %))

Les concentrations en acide caféique choisies pour notre étude sont **10, 20, 40, 80 et 100 (µg/ml)**, toutes les dilutions ont été préparées dans du NaCl (0,9 %)

Les différentes séries ont été incubées à température ambiante pendant 2 heures, une centrifugation à 600g pendant 10min a été effectuée, et les surnageants ont été récupérés dans les cuves de lecture. La lecture des densités optiques ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 540 nm.

➤ **Evaluation de l'effet de l'acide caféique en présence du mercure**

Six séries de tubes, dont chacune comporte 7 tubes. Un volume de 40 µl d'hématies purifiées auquel on a ajoutés des volumes de NaCl 0,9 %, d'acide caféique sus citées et du mercure à 50 µg/ml. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, une centrifugation des tubes est faite à 600g pendant 10 min.

Le surnageant est récupéré, l'hémolyse est quantifiée par la lecture de la densité optique à 540nm. Cette Do est relative aux taux d'hémoglobine libéré.

Les résultats de cette exposition, sont exprimés en Ratio qui est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = [(DOc - DOa) / DOC] \times 100$$

DO a: Densité optique en présence de l'acide caféique.

DO c : Densité optique du contrôle positif.

Partie III :

Résultats et discussions

III. Résultats et discussion

3.1. Résultats de l'étude rétrospective des allergies alimentaires et respiratoires

3.1.1. Prévalence des allergies

L'étude rétrospective effectuée sur une cohorte de 173 patients ayant consultés à l'hôpital Chahid MAHMOUDI(HCM), a révélé la présence de 51,44% cas positifs ce qui correspond à 89 cas allergiques aux différentes allergies du panel utilisé et 48,55% sont négatifs ce qui correspond à 84 cas non allergiques au même panel sachant que ces derniers présentaient des symptômes d'allergie qui sont de type : écoulement du nez, éternuements, démangeaisons, troubles cutanés (eczéma, urticaire...etc.), toux persistante, difficultés respiratoires, yeux qui piquent et pleurent. Les résultats obtenues peuvent être expliqués par l'absence de l'allergène ou des allergènes en question au niveau du panel utilisé ce dernier est composé de 30 allergènes voir annexe numéro 01.

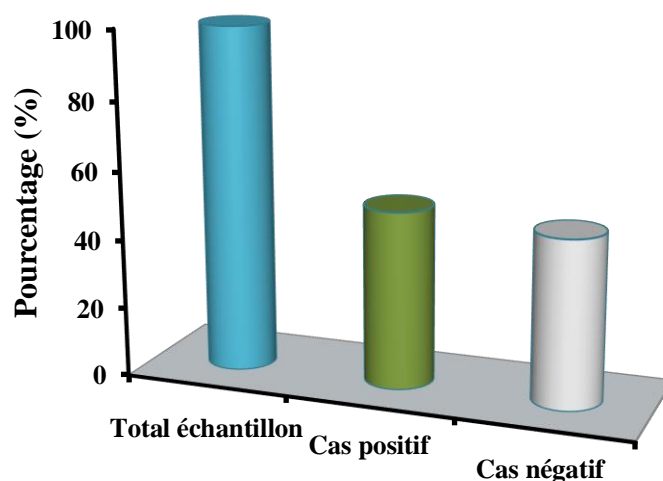


Figure 07 : Pourcentage des patients positifs et négatifs au test d'allergie

3.1.2. Prévalence des différents types d'allergies

L'histogramme obtenu en figure 08 représente le taux des 3 types d'allergies retrouvées chez les patients positifs. On retrouve parmi les cas positifs des patients qui présentent une positivité à des allergènes alimentaires, d'autres aux allergènes respiratoires et enfin des patients qui présentent une positivité avec les deux types d'allergènes alimentaires et

respiratoires ces derniers ont été diagnostiqués par le panel mixte qui contient un mélange des deux types d'allergènes (voir annexe 01). L'étude a révélé que la fréquence des allergies respiratoires est plus importante que les deux autres types d'allergies. Cela peut être expliqué par le fait que les allergènes respiratoires sont de provenances diverses. En effet, nous sommes de plus en plus exposés aux allergènes permanents comme les acariens, les moisissures et les phanères d'animaux ainsi que les allergènes saisonniers, comme le pollen (Barnig et Casset, 2012).

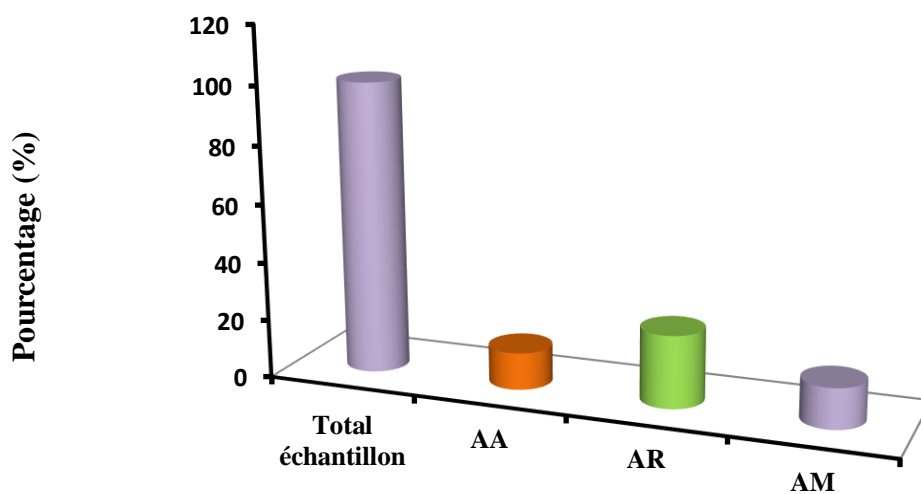


Figure 08 : Prévalence des allergies alimentaires, respiratoires et mixtes

AA : Allergies alimentaires ; AR : Allergies respiratoires ; AM : Allergies mixtes

3.1.3. Prévalence des allergies en fonction des années

L'étude rétrospective en fonction des années effectuée sur une cohorte de 173 patients a révélé que en 2017 le taux d'allergie était très faible soit 4,44 %, soit 4 patients qui ont consulté pour une allergie, suivi par une très forte augmentation du taux soit 24,44% en 2018, la prévalence des allergies s'est stabilisée en 2019 à 2022. Cette augmentation peut être expliquée par la survenue de la covid-19 ou les personnes consultaient plus pour leurs allergies à l'hôpital par peur d'une éventuelle contamination. Certains des symptômes d'allergie ressemblaient à ceux du coronavirus comme la toux, que ce soit chez l'adulte comme chez l'enfant. En revanche, la perte partielle ou totale de l'odorat et/ou goût

est un symptôme très spécifique à la covid-19, et n'a pas de lien avec une allergie. Le coronavirus peut notamment provoquer des réactions cutanées comme des démangeaisons sur les mains ou le corps (urticaire) qui rappellent une allergie. Les yeux irrités sont une autre manifestation possible de la covid-19, tout comme les allergies. Au début de la pandémie, certains patients ont présenté un érythème sur le visage et ont cru qu'il s'agissait d'une allergie alors qu'ils étaient atteints de covid-19. Par ailleurs, les réactions cutanées peuvent être un symptôme psychosomatique du stress ou de l'anxiété qui peuvent être exacerbés en période de Covid-19 ou de confinement (Shaker *et al.*, 2020).

Tableau VII : Pourcentage des patients ayant consultés pour une allergie de 2017 à 2022

Année	Nombre de cas Positif	Pourcentage (%)
2017-2018	4	4,44 %
2018-2019	22	24,44 %
2019-2020	21	23,33 %
2020-2021	21	23,33 %
2021-2022	21	23,33 %
Total des patients allergiques	89	100 (%)

3.1.4. Prévalence des allergies en fonction des saisons

L'histogramme de la figure 09 représente le pourcentage des patients allergiques en fonction des saisons. Les résultats de cette étude ont démontré que les cas d'allergies survenaient majoritairement au printemps avec (32,58 %), suivi par l'hiver avec (25,84 %) puis un faible taux d'allergies en été avec (17,89 %). Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que le printemps est la saison de floraison et de la propagation du pollen. En effet, le pollen est responsable de 50 à 90 % des allergies saisonnières. On parle alors de rhinite allergique saisonnière (Demers, 2013).

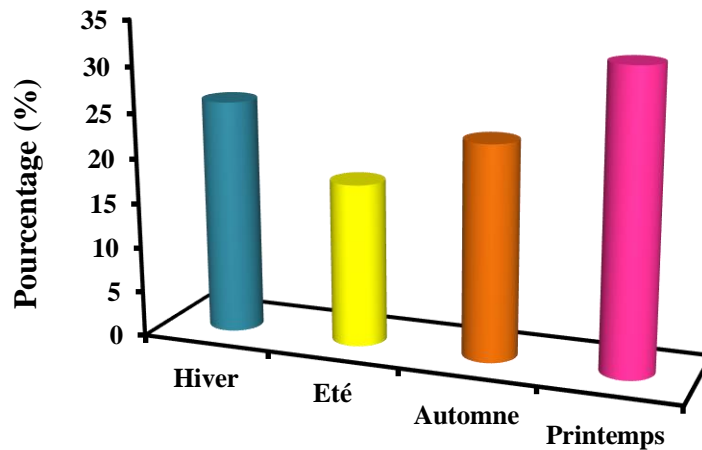


Figure 09 : Pourcentage des allergies en fonction des saisons

3.1.5. Les allergies alimentaires

3.1.5. 1. Prévalence des allergies alimentaires en fonction du sexe

Les cylindres représentés en figure 10 montrent que les allergies alimentaires sont beaucoup plus fréquentes chez le sexe masculin que chez le sexe féminin, diverses études ont montré qu'avant la puberté, les garçons sont les plus touchés par les allergies alimentaires par rapport aux filles contrairement à l'âge adulte où les femmes sont les plus touchées par ce type d'allergie. Cette différence serait probablement liée aux hormones sexuelles (Shah, 2012).

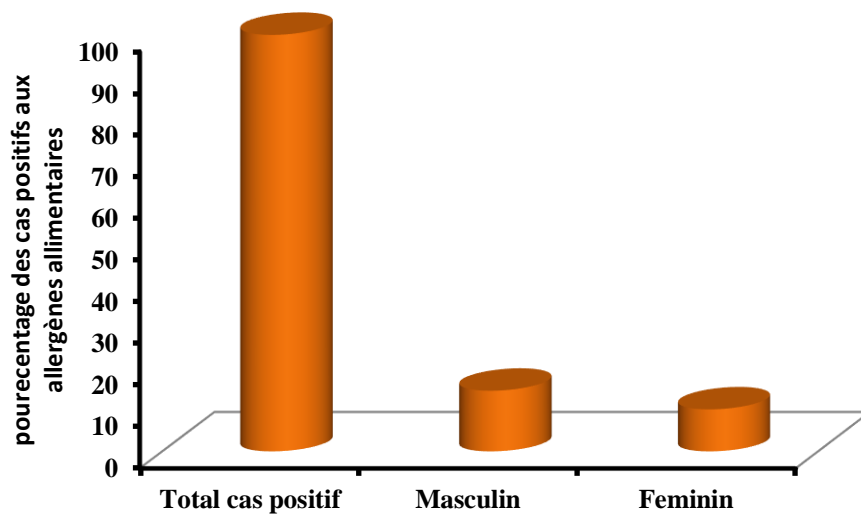


Figure 10 : Prévalence des allergènes alimentaires selon le sexe

3.1.5. 2. Prévalence des allergènes alimentaires

La figure 11 montre que le trophallergène le plus répondu pour la population étudiée est le blanc d'œuf avec un pourcentage de 36,36% suivi en second rang par le lait de vache avec un pourcentage de 22,73%. Le blanc d'œuf contient les principaux éléments allergéniques : ovalbumine (58% du blanc d'œuf), ovomucoïde (11%), conalbumine (14%), lysozyme (3,4%). Les jeunes enfants sont les populations à fort risque (Bentenni, 2013).

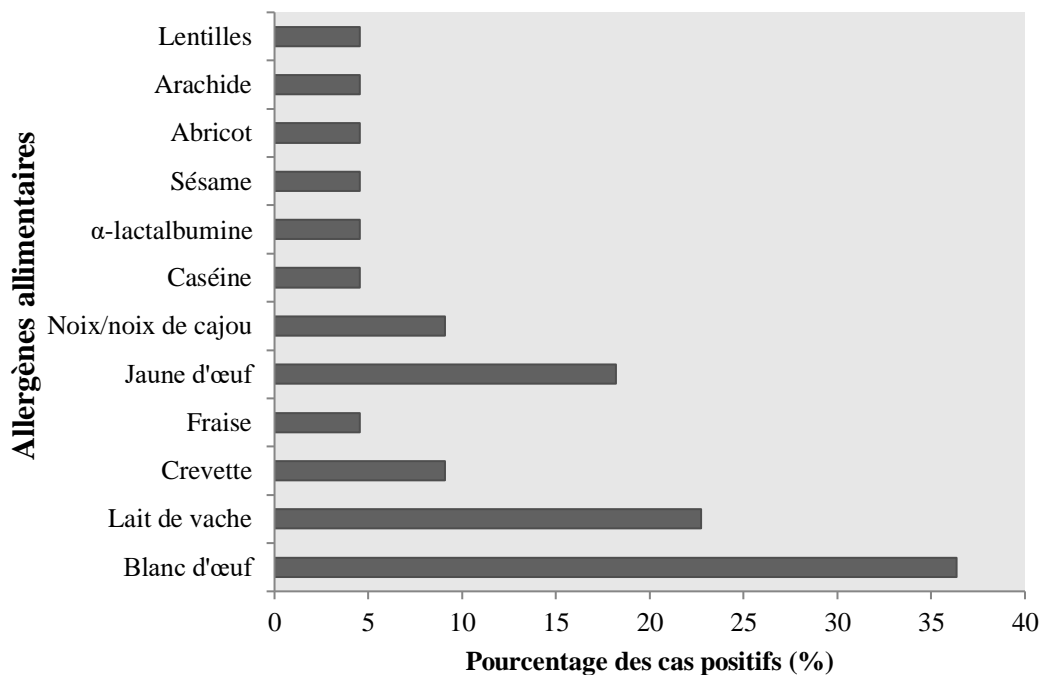


Figure11 : Prévalence des allergies selon le type d'allergène alimentaire

2.1.5.3. L'âge et les allergies alimentaires

La tranche d'âge la plus touchée par les allergies alimentaires est de une année à 15 ans, suivie par la tranche d'âge de 26 à 45 ans tandis que les groupes d'âges de 16 à 25 ans et de 46 à 65 ans sont pratiquement similaires, enfin le groupe d'âge de 66 à 80 ans n'est pas touché par les allergies alimentaires. Ce qui peut être expliqué par le fait que la prévalence des maladies allergiques est plus élevée chez les jeunes patients par rapport aux sujets âgés (Larsen et *al.*, 2016).

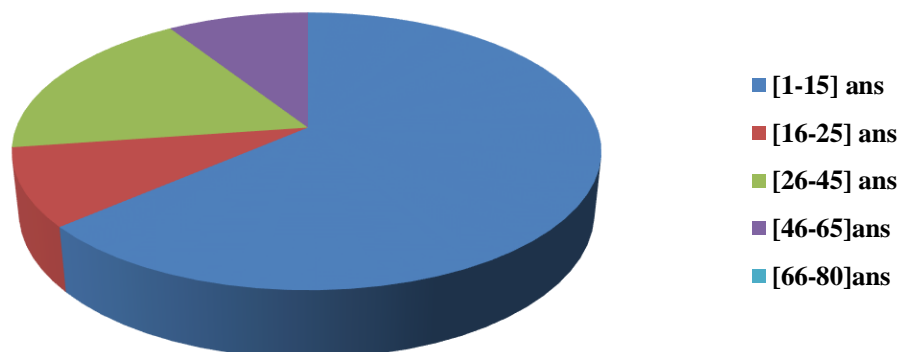


Figure 12 : Fréquence des allergies alimentaires en fonction d'âge

3.1.6. Les allergies respiratoires

3.1.6.1. Prévalence des allergies respiratoires en fonction du sexe

Sur un échantillon de 173 patients diagnostiqués, on trouve 43 sujets positifs aux allergies respiratoires soit environ 24,86% dont 10,4% sont des hommes tandis que 14,45% sont des femmes donc ses dernières sont plus exposées aux allergies respiratoires. Comparant nos résultats aux résultats trouvés par Lahiani et *al.*(2020) parmi les 1461 personnes diagnostiqués, 622 hommes étaient positifs soit 42,57 % et 839 femmes étaient positives soit 57,42 % ; ce qui confirme nos résultats.

Une hypothèse à été mise en place, disant que les hormones sexuelles mâles, les androgènes, agissent sur les cellules immunitaire récemment mise en cause dans l'asthme allergique en bloquant leur développement et leur multiplication (Laffont *et al.*,2018).

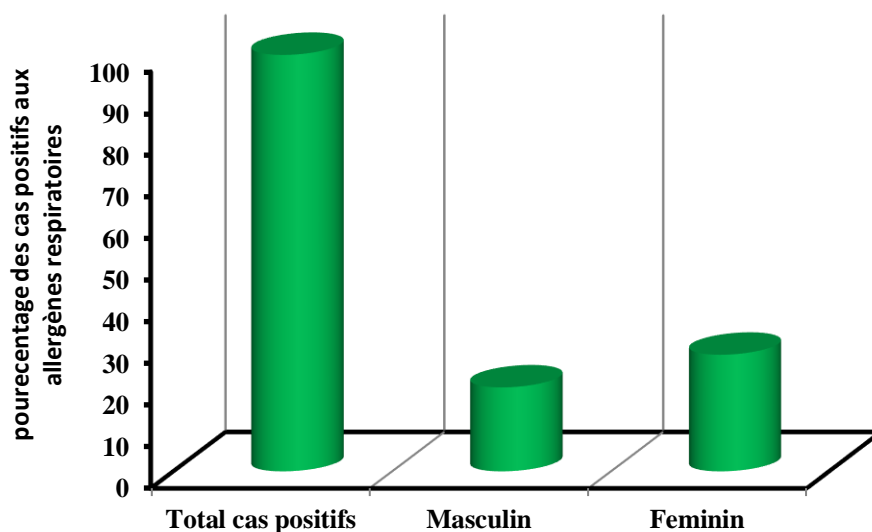


Figure 13 :prévalence des allergènes respiratoires selon le sexe

3.1.6.2. La prévalence des allergènes respiratoire

Ce résultat présenté en figure 14 montre que le pneumallergène le plus présent dans la population étudiée est le *Dermpteronysinus* avec un pourcentage de 40,91% suivi d'*Alternariaalternata*avec un pourcentage de 34,09%, puis le *Derm farinae* avec 29,55% ce qui montre que les pneumallergènes les plus répondus sont les acariens (*Dermpteronysinus/Derm farinae*). L'étude établie par Lahianiet *al.*(2020)a confirmé que les

acariens (*Dermpteronysinus/Derm farinae*) sont les plus réponsus avec des pourcentages de 29,22 % et 25,05 % respectivement cela peut être expliqué par le degré d'exposition aux allergènes sachant que les acariens sont perannuels présents dans la poussière des maisons (Baring et Casset, 2012).

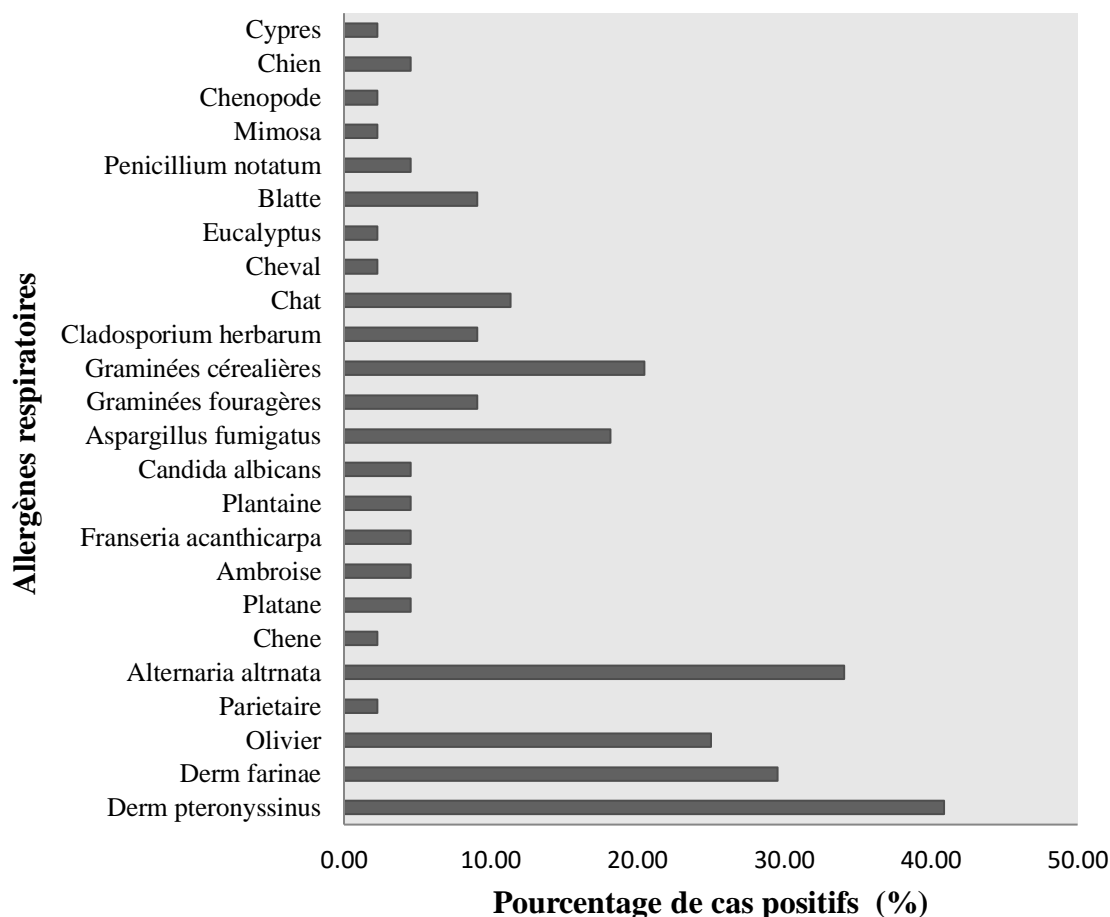


Figure14 : Prévalence des allergies selon le type d'allergène respiratoire

3.1.6.3. La Prévalence des allergies respiratoires en fonction de l'âge

Les résultats de la prévalence des allergies respiratoires en fonction de l'âge est représentée en figure 15démontrent que la tranche d'âge allant de 26 à 45 ans est le plus exposée aux allergies respiratoires, et que les tranches d'âges allant de 1à15 ans ; 16 à 25 ans et 46 à 65 ans sont touchés de la même fréquence, tandis que la tranche d'âge allant de 66 à 80ans est la moins exposée aux allergies respiratoires. Selon l'étude de Lahiani et *al.* (2020), il a été constaté que les jeunes adultes (<16 ans et 16 à 40 ans) étaient les plus sensibilisées

queles groupes d'âge > 40 ans. Ceci est probablement dû au fait que la marche atopique, désigne le développement progressive des maladies qui sont associées aux allergies, est la principale raison de l'écart entre la prévalence de la sensibilisation allergique des enfants que celle des adultes.

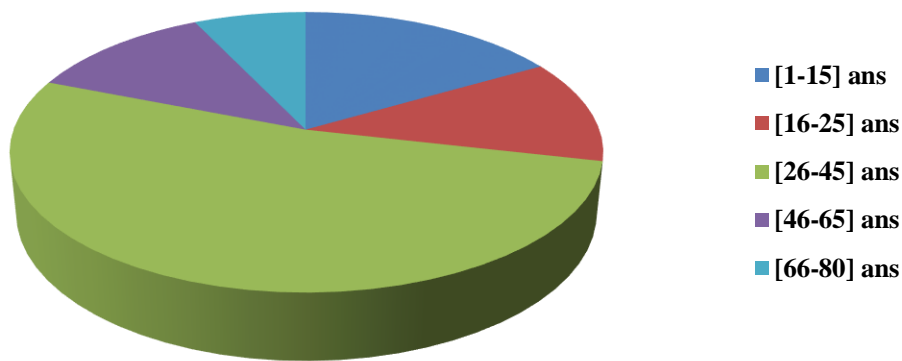


Figure15 : Fréquence des allergies respiratoires en fonction d'âge

3.1.2.7. Les allergies mixtes :

Concernant les allergies mixtes, la figure 16, montre que l'allergène le plus présent dans la population étudiée est le *Dermpteronysinus* avec un pourcentage de 52,17% suivi du blanc d'œuf et l'arachide avec un pourcentage de 34,43%, puis le *Derm farinae*, graminées céréalières, α -lactalbumine avec 30,43% ensuite on retrouve les caséines, l'olivier, *Alternariaalternata* et *Aspergillus fumigatus* avec 21,74%. La présence d'une allergie alimentaire et d'une allergie respiratoire au même temps peut être expliquée par une similarité moléculaire entre les allergènes majeurs ce qui induit une réactivité croisée entre les deux allergènes citant par exemple le syndrome pollen-fruit (Kanny, 2020).

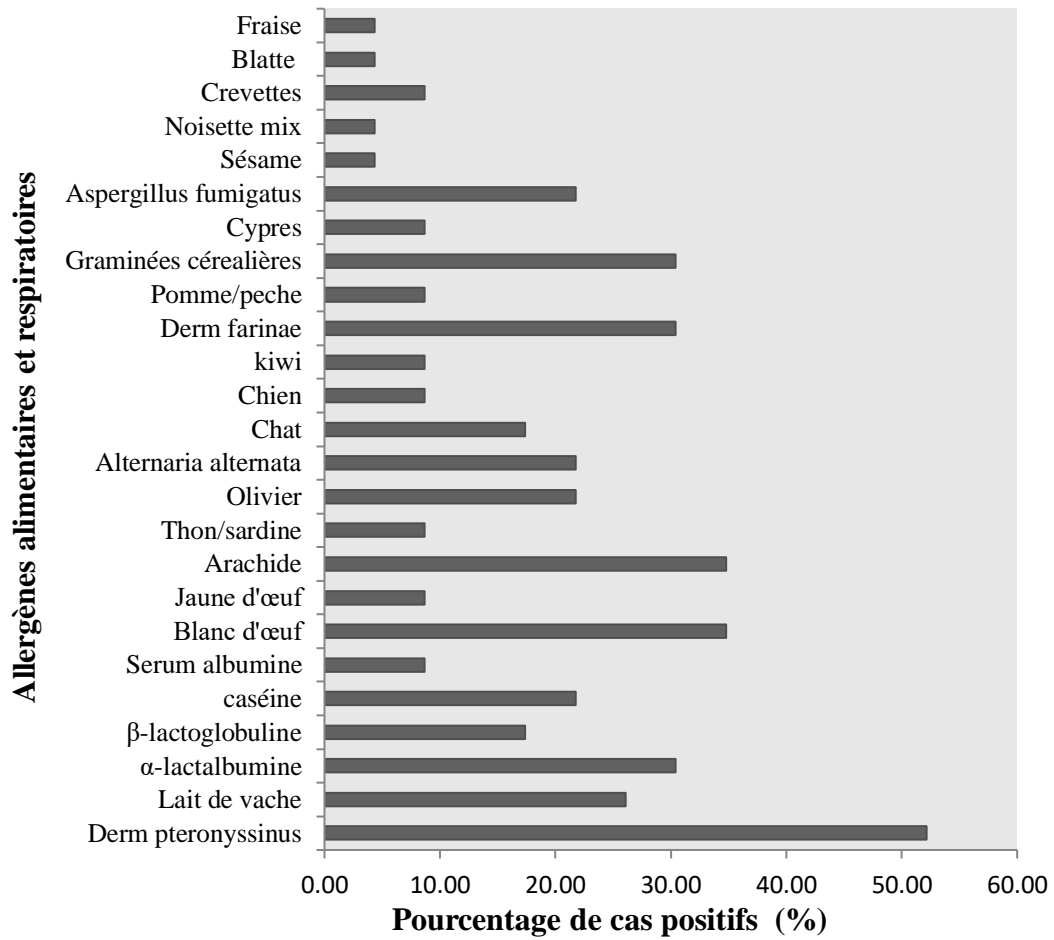


Figure 16 : Prévalence des allergies mixtes de type alimentaires et respiratoires

3.2. Evaluation de l'effet cytotoxique du plomb et du mercure sur la résistance membranaire des hématies humaines ainsi que l'effet anti-hémolytique de l'acide caféique.

3.2.1. Criblage des molécules hémolytiques

Avant d'étudier l'effet cytotoxique des deux métaux lourds, quelques molécules hémolytiques ont été testées afin de choisir la meilleure pour les utiliser comme control positif. Selon l'histogramme obtenu la meilleure molécule hémolytique est le NaCl 0,2 % car on a eu avec cette dernière le taux d'hémolyse le plus important comparé aux autres.

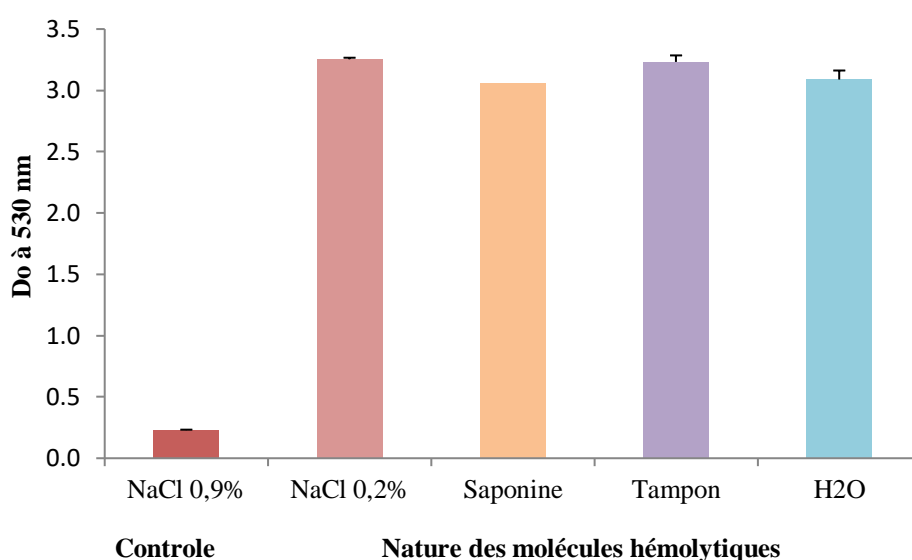


Figure 17 : Taux d'hémolyse avec les différentes molécules hémolytiques.

3.2.2. Effet cytotoxique des métaux lourds

Afin d'évaluer l'effet du plomb et du mercure sur les hématies, ces dernières ont été exposées à des concentrations croissantes de l'acétate du plomb et de l'acétate du mercure. Les résultats de cette exposition des érythrocytes au Pb et Hg sont représentés dans des histogrammes, ils sont exprimés en Ratio dont la formule est mentionnée dans la partie matériel et méthodes.

3.2.2.1. Effet cytotoxique du plomb

Selon l'histogramme obtenu après exposition des cellules au Pb, il a été remarqué que ce dernier ne semble pas induire l'hémolyse des hématies même à des concentrations élevées (100µg/ml), en effet à forte concentration (100µg/ml), le taux d'hémolyse est inférieur à 15 %.

Ce résultat peut être expliqué par le fait que 90% de la concentration utilisée du plomb est fixée sur les hématies sous forme non diffusible (Danel, 1997).

La toxicité hématologique n'apparaît que pour des expositions très élevées en plomb. L'intoxication par le plomb entraîne des perturbations hématologiques, portant préférentiellement sur la lignée érythrocytaire. L'anémie, définie comme la baisse du taux d'hémoglobine, apparaît pour une valeur de la plombémie supérieure à 400 µg/L. Au cours du saturnisme aigu, on observe une anémie hémolytique, alors que le saturnisme chronique entraîne une anémie microcytaire, avec un déficit en fer souvent associé (Chanel et *al.*, 1999).

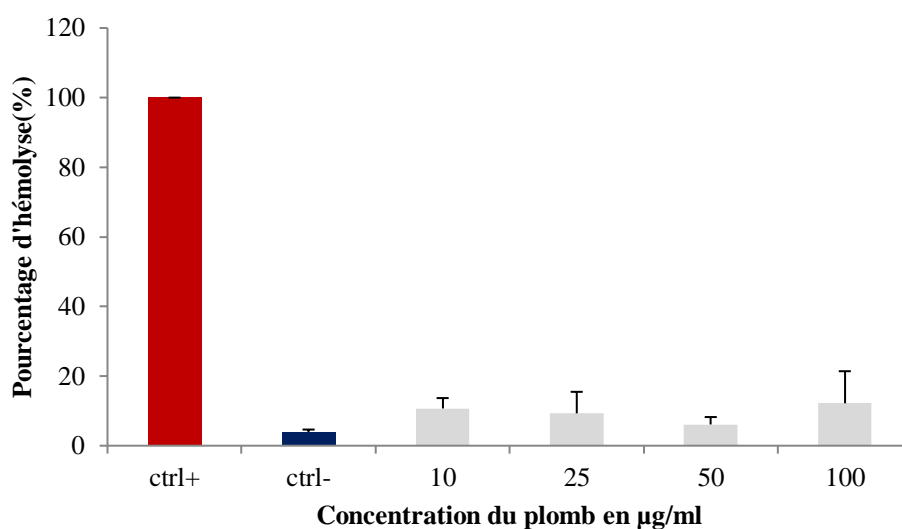


Figure 18 : Effet cytotoxique du plomb sur les hématies après 2 heures d'incubation ; ctrl+ : Hémolyse totale avec NaCl 0,2 % ; ctrl- : pas d'hémolyse avec NaCl 0,9 % ; 10, 25, 50, 100 µg/ml : concentrations testées de plomb.

3.2.2.2. Effet cytotoxique du mercure

L'histogramme obtenu après exposition des cellules au mercure figure (20) indique que l'hémolyse des hématies en présence de mercure est dose dépendante, en effet, à 100µg/ml le taux d'hémolyse est d'environ 70 %. Ce résultat peut être expliqué par le fait que les risques de toxicité commenceraient à partir de 10 à 20 µg/l et que la toxicité apparaît à 50µg du mercure (Miquel, 2001). Le mercure interagit avec la surface de la cellule ce qui augmente la perméabilité aux cations, l'inactivation des enzymes des membranes et au fur et à mesure que le métal pénètre dans la cellule, d'autres effets se produisent tels que l'inactivation des enzymes protégeant l'érythrocyte des dommages oxydatifs, diminution de la

teneur en glutathion, augmentation de l'activité pro-oxydante de l'hémoglobine. Tous ces évènements se résument à trois effets finaux : augmentation de la pression osmotique à l'intérieur de la cellule, diminution de l'activité anti oxydante des membranes et augmentation de l'activité pro oxydante du cytosol conduisant à la destruction de la membrane des hématies qui est combinée à l'augmentation de la pression osmotique, provoquant la rupture des membranes et la libération d'hémoglobine, c'est-à-dire hémolyse (Ribarovet *al.*, 1983).

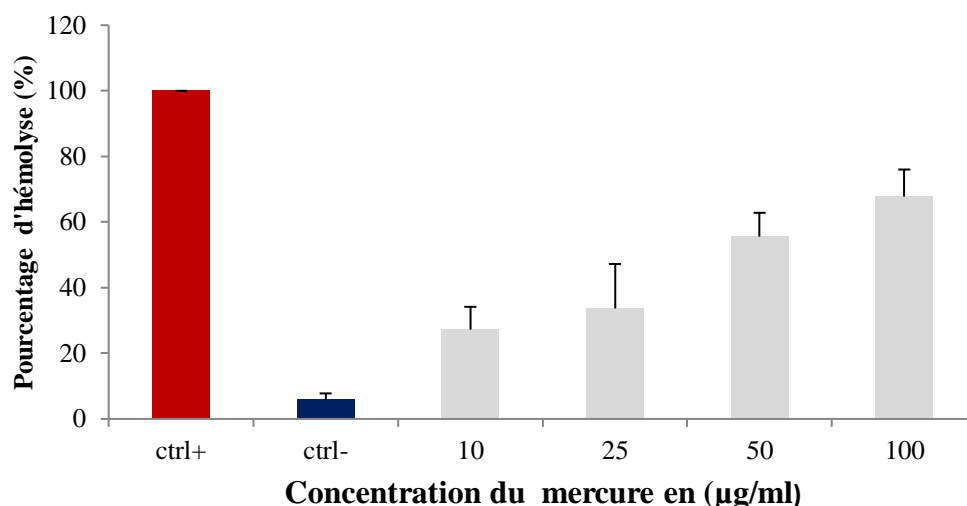


Figure 19 : Effet cytotoxique du mercure sur les hématies après 2 heures d'incubation ; ctrl+ : Hémolyse totale avec NaCl 0,2% ; ctrl- : pas d'hémolyse avec NaCl 0,9 % ; 10, 25, 50, 100 µg/ml : concentrations testées du mercure.

3.2.2.3. Comparaison de la toxicité du Pb et de l'Hg sur les hématies :

Afin de mesurer le degré de toxicité de chacun des métaux lourds étudiés, une courbe dose réponse est tracée pour chaque métal (figure 21).

La figure 21 représente le taux d'hémolyse (%) en fonction des concentrations croissantes des deux métaux lourds Pb et Hg. Les courbes indiquent que l'Hg est plus hémolytique pour les hématies que le Pb, car à 50 µg/ml on a environ 40 % d'hémolyse pour le mercure, contrairement au plomb où on a obtenu que 9 % d'hémolyse, ce qui indique que les hématies sont plus sensibles au mercure. Il s'avère donc que l'Hg est le métal le plus toxique pour les hématies comparé au Pb.

En effet, la toxicité d'un élément est directement liée à sa forme chimique ainsi que la solubilité de l'élément en question (Pichard, 2000). Le mercure grâce à sa lipophilie traverse mieux les bicouches lipidiques (Gutknecht, 1981) et induit un effet rapide et plus toxique que celui de plomb qui nécessite parfois des transporteurs (Schechter, 2004).

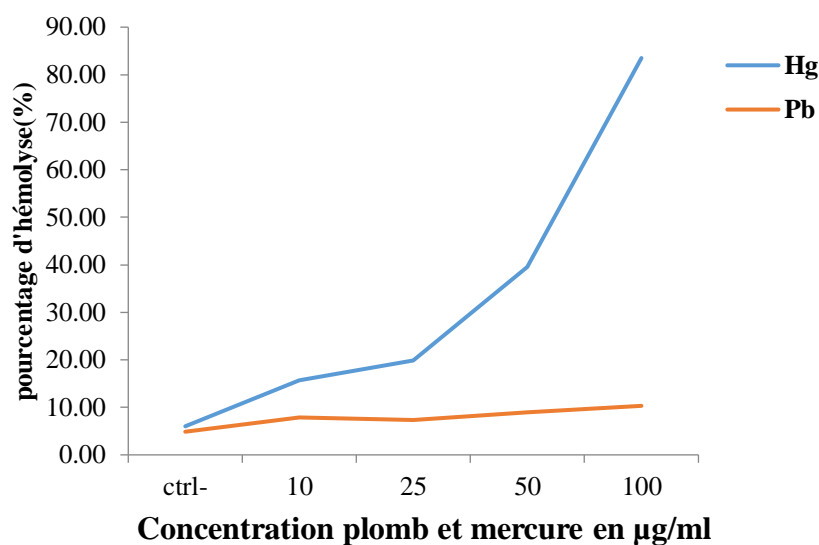


Figure 20 : Courbe comparative de l'effet cytotoxique du plomb et du mercure sur les hématies ; ctrl- : pas d'hémolyse avec NaCl 0,9% ; 10, 25, 50, 100 µg/ml : concentrations testées du mercure et de plomb.

3.2.3. Evaluation de l'activité anti-hémolytique de l'acide caféique seul

L'acide caféique ou acide hydroxy cinnamique fait partie des polyphénols. Les graines de cafés sont la source principale de cet acide mais on peut aussi le trouver dans diverses plantes telles que : les fruits secs, menthe verte, origan, cannelle, noix de muscade et les olives noires. L'acide caféique comme tous les autres polyphénols, possède des propriétés anti-oxydantes qui peuvent ralentir le stress oxydatif dans le corps et combattre les radicaux libres, de plus l'acide caféique est reconnu aussi par ses propriétés anti cancéreuses (Manzaretal., 2022). De même ce polyphénol possède aussi des propriétés anti-inflammatoires (supprimer les enzymes inflammatoire) (Armutcu *et al.*, 2015) , agit sur le diabète en augmentant le taux d'insuline dans le sang, il abaisse la glycémie et réduit le risque de caillot sanguin dangereux et diminue les taux des triglycérides qui sont associées aux artères obstruées et aux maladies cardio- vasculaires (Manzar *et al.*,2022).

Les résultats du traitement des hématies avec des concentrations croissantes d'acide caféique sont représentés dans la figure 21.

Comparant le control négatif qui ne contient pas d'acide caféique avec les autres concentrations (10 ; 20 ; 40 ; 80 ; 100 μ g/ml) le taux d'hémolyse est le même que ce soit pour le control négatif ou pour les autres concentrations qui est inférieur à 5%. Cela peut être expliqué par le fait que l'acide caféique est un polyphénol comportant des propriétés anti oxydantes (Teixiera *et al.*, 2013).

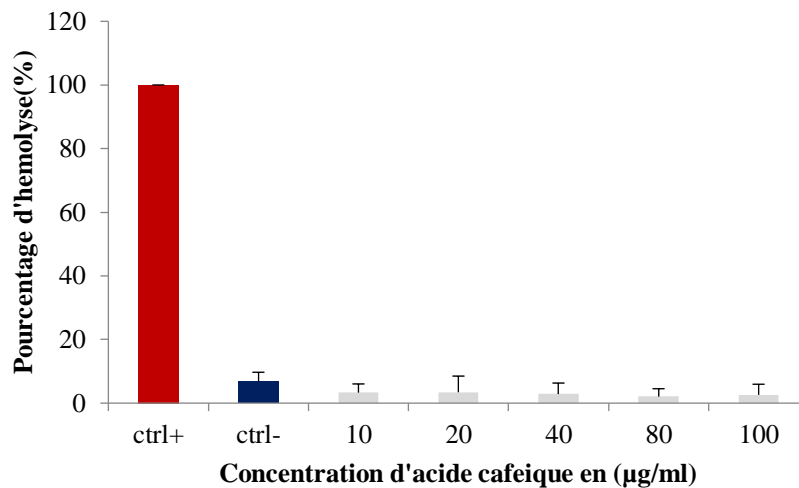
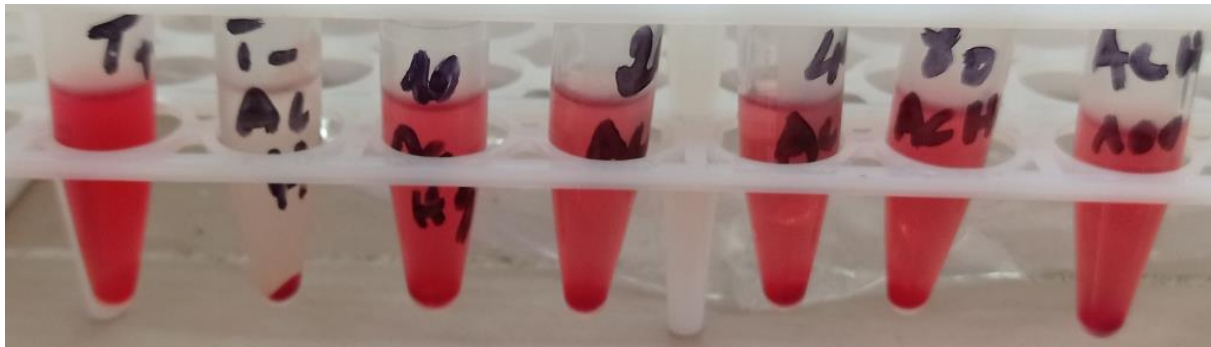


Figure 21 : Effet de l'acide caféique sur les hématies ; ctrl+ : hémolyse totale avec NaCl 0,2 % ; ctrl- : pas d'hémolyse avec NaCl 0,9 % ; 10, 20, 40, 80, 100 μ g/ml : concentrations d'acide caféique testées.

3.2.4. Activité anti-hémolytique de l'acide caféique en présence du mercure

A) observation à l'œil nu

Une observation directe des résultats est faite à l'œil nu, le surnageant du control positif dont les hématies sont traitées par le NaCl 0,2 % est de couleur rouge c'est-à-dire l'hémolyse est à 100 %, par contre au niveau du control négatif ou les hématies sont traitées avec du NaCl 0,9 %, il y a eu apparition d'un culot et le surnageant est transparent. Comparant les tubes traités avec les différentes concentrations d'acide caféique (10, 20, 40, 80, 100 μ g/ml) en présence de 50 μ g/ml de mercure, on constate un culot au fond des tubes ce qui explique la présence de quelques hématies encore vivantes ainsi un surnageant moins dense que le control positif cela veut dire que l'hémolyse est moins forte.



Control+ Control - 10 µg/ml 20 µg/ml 40 µg/ml 80 µg/ml 100 µg/ml

Figure 22 : Photo originale de l'hémolyse des hématies en présence de l'acide caféique et du mercure ; Control+ : hémolyse total avec NaCl 0,2 % ; Control - : pas d'hémolyse avec NaCl 0,9 % ; 10, 20, 40, 80, 100 µg/ml : concentrations d'acide caféique testées.

B) Traitement des résultats

Afin d'évaluer l'effet anti-hémolytique de l'acide caféique, les hématies ont été exposées à des concentrations croissantes d'acide caféique en présence de 50 µg/ml de mercure. Les résultats de cette exposition sont représentés dans la figure 23, ils sont exprimés en Ratio dont la formule est mentionnée dans la partie matériel et méthodes.

La figure 23 représente le taux de protection de l'acide caféique contre l'hémolyse induite par 50 µg de mercure, dont on remarque que le taux de protection est significatif avec les concentrations de l'acide caféique, plus la concentration augmente plus le taux de protection augmente, par exemple, avec 100 µg d'acide caféique le taux de protection est d'environ 80 %.

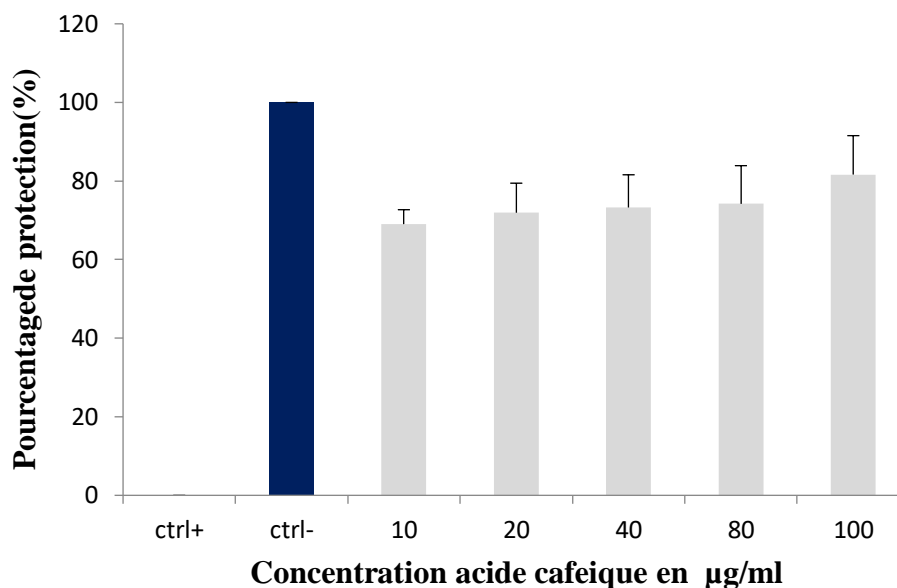


Figure 23 : Taux de protection de l'acide caféique en présence de 50µg/ml de mercure ; ctrl- : pas d'hémolyse avec NaCl 0,9% ; 10, 20, 40, 80, 100 µg/ml : concentration d'acide caféique.

Pour mieux observer l'effet protecteur de l'acide caféique nous avons établi une courbe comparative (Figure 24) entre le taux d'hémolyse induit par le mercure en présence d'acide caféique et le taux d'hémolyse induit par le mercure seul. Le résultat de la comparaison montre une diminution du taux d'hémolyse d'environ 20 % par l'acide caféique. Cette diminution est due au fait que l'acide caféique possède un rôle protecteur et la capacité de stabiliser la membrane du globule rouge contre la lyse osmotique. Cette activité est due à la répartition des composés phénoliques dans les membranes cellulaires ce qui induit la diminution de la fluidité membranaire des érythrocytes gênant ainsi la diffusion des radicaux libres en diminuant la cinétique des réactions radicalaires (Suwalsky *et al.*, 2007).

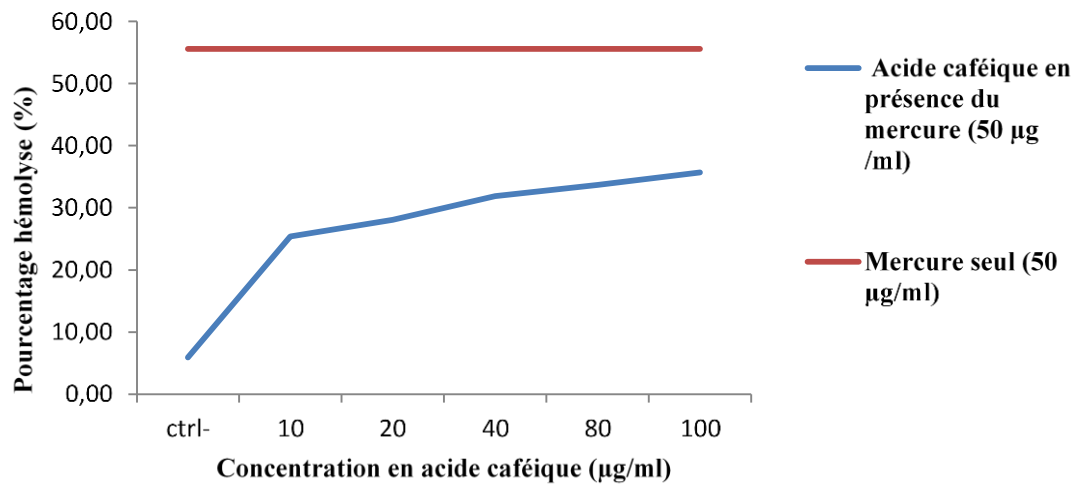


Figure 24: Courbes comparatives de taux d'hémolyse induit par le mercure seul et en présence de l'acide caféique ; ctrl- : absence d'hémolyse avec NaCl 0,9 % ; 10, 20, 40, 80, 100 µg/ml : concentrations d'acide caféique testées.

Conclusion :

Dans ce travail nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'étude rétrospective sur la prévalence des allergies dans la wilaya de Tizi-Ouzou. L'étude a révélé que la prévalence des allergies respiratoires est plus importante en comparaison avec les autres types d'allergies. L'allergène majeur dans les allergies respiratoire étant le *Dermatophagoides pteronyssinus*, qui est une espèce d'acarien invisible à l'œil nu la plus fréquemment rencontrée dans la poussière de la maison (70 à 80 %). Cet acarien prolifère dans les milieux chauds (20 à 30 °C) et humides et se nourrit de débris organiques (poils, cheveux, déchets alimentaires, moisissures...). Il affecte la tranche d'âge allant de 26 à 45 ans et qui touche le sexe féminin en particulier. Les allergies alimentaires, viennent en second rang après les allergies respiratoires. L'allergène majeur dans ce type d'allergie est le blanc d'œuf, il affecte généralement les enfants du sexe masculin âgés entre une année et 15 ans et qui touche le sexe masculin en particulier. Quant aux allergies mixtes, elles sont répondues spécialement chez les enfants d'un an à 15 ans de sexe féminin.

En conclusion les allergènes les plus répondues dans la région de Tizi-Ouzou peuvent être classés comme suit :

Pour les allergies alimentaires on retrouve : le blanc d'œuf (36,36 %) > le lait de vache (22,72 %) > le jaune d'œuf (18,18 %) > la noix / noix de cajou (9,09 %) ;

Pour les allergies respiratoires on retrouve : *Dermatophagoides pteronyssinus* (40,91 %) > *Alternaria Alternata* (34,09 %) > *Dermatophagoides farinae* (29,55 %) > Olivier (25 %).

En ce qui concerne la deuxième partie, on s'est intéressé à l'étude des effets des métaux lourds (plomb et mercure) sur les hématies humaines et la détermination de l'activité anti hémolytique de l'acide caféique. Le passage au laboratoire nous a permis dans un premier temps d'établir un protocole d'isolement des hématies de sujets sains et leur exposition directe à des concentrations croissantes de plomb et de mercure seuls et en présence de l'acide caféique afin de déterminer l'activité protectrice de ce dernier vis-à-vis de l'hémolyse provoqué par ces métaux lourds.

Les résultats de ce test ont démontré que le mercure est le métal qui possède le pouvoir hémolytique le plus important. En effet l'hémolyse des hématies augmente de façon proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de ce dernier, contrairement au plomb qui ne présente pas d'effet hémolytique significatif. À travers cette étude nous avons

également démontré l'effet anti hémolytique de l'acide caféique car il a exercé un effet protecteur très intéressant sur les membranes des hématies.

Nous pouvons conclure par cette étude que l'activité hémolytique provoquée par les métaux lourds notamment le mercure peut être réduite grâce à l'activité de l'acide caféique. Ce polyphénol retrouvé dans le règne végétal (ail, menthe, café, olive...) est utilisé aussi pour des applications thérapeutiques et préventives de plusieurs types de maladies.

Ce travail peut être considéré comme un point de départ pour d'autres travaux de recherche qui explore les différentes propriétés intéressantes de biomolécules pures comme celle de l'acide caféique. Il serait intéressant dans le futur d'approfondir cette étude avec des techniques plus poussées et de réaliser :

- Une détermination des mécanismes réels de ces activités ;
- Une étude des autres propriétés biologique de ce polyphénol à savoir l'activité anti bactérienne, anti virale et l'activité anti inflammatoire et anti tumorale ;
- Etude *in vivo* sur des modèles murins afin de déterminer les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

A.

Alain V., et Alain B. (2005). Toxicologie. 2^{ème} édition. *La Voisier*. Paris, 1000p.

Alam M., Ahmed S., Elsbali AM., Adnan M., Alam S., Hassan MI., et Pasupuleti VR. (2022). Therapeutic implications of caffeic acid in cancer and neurological diseases. *Frontiers in oncology*. 12(860508). Doi: 10.3389/fonc.2022.860508.

Ancellin R., Berta J.L., Dubuisson C., La Vieille S., et Martin A. (2004). Allergies alimentaires : Connaissances, clinique et prévention. *AFSSA*. disponible sur <https://docplayer.fr/8823387-Allergies-alimentaires-connaissances-clinique-et-prevention.html>.

Armatcu F., Akyol S., Ustunsoy S., et Turan F.F. (2015). Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. *2 Experimental and therapeutic medicine*, 9(5), 1582-1588. Doi: 10.3892/etm.2015.2346.

B.

Barnig C., et Casset A. (2012). Facteurs déclenchant : allergènes respiratoires (usuels et professionnels). *Revue des Maladies Respiratoires*, 29, 810-819. Doi : 10.1016/2012.04.004.

Benhamou A.H., SchäppiTempia M.G., Belli D.C., et Eigenmann F.A. (2009). An overview of cow's milk allergy in children. *Swiss Medical Weekly*, 139(21-22), 300-307.

Bessot J., et Pauli G. (2008). Allergènes rares de l'environnement intérieur Rare allergens in the indoor environment. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 48, 95-101. doi:10.1016/j.allerg.2007.11.00.

Bousquet J. (2001). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) in collaboration with the World Health Organization (WHO). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*(108), 147-336. doi:10.1067/mai.2001.118891.

Burks A.W., Williams L.V., Connaughton C., Cockrell G., Timothy J., et Helm R.M. (1991). Identification of a major peanut allergen, Ara h I, in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenges. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 95(2), 172-179.

Burks, A.W., Williams, L.V., Connaughton, C., Cockrell G., Timothy J., et Helm R.M. (1992). Identification and characterization of a second major peanut allergen, Am h II, with use of the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 90(6 pt 1), 963-969.

Burzyńska M. et Piasecka-Kwiatkowska D. (2021). A Review of Honeybee Venom Allergens and Allergenicity. *International journal of Molecular Sciences*. Doi: 10.3390/ijms22168371

C.

Caubet J.C., et Wang J. (2011). Current understanding of egg allergy. *Pediatric Clinics of North America*, 58 (2), 427–443. Doi:10.1016/j.pcl.2011.02.014.

Carcelain G., Chevailler A., Fournel S., Gubler B., Lelièvre J.D., Seillès E., et al. (2018). Immunologie fondamentale et immunopathologie. *Immunologie fondamentale et immunopathologie*, 2e édition, de l'ASSIM : Collège des Enseignants d'Immunologie. France.

Chanel O., Dollfus C., Haguenoer J.M., Hartemann P., Huel G., Larroque B. (1999). Plomb dans l'environnement : quels risques pour la santé ? *Les Éditions INSERM*. 451 p. disponible sur : <https://hal-lara.archives-ouvertes.fr/hal-01571950/document>.

Chiriac A.M., et Demoly P. (2013). *La Presse Médicale*, 42(4), 395-404. Doi:10.1016/j.lpm.2012.06.005.

D.

Danel V. (1997). Intoxication par le plomb physiopathologie, épidémiologie, diagnostic. *La Revue du Praticien*, 1991, 41, 1509-1512.

Demange V., Simon X., Keller F.X., Gagnaire F. et Hédlain G. (2013). Les allergies professionnelles. *Référence en santé au travail*, N° 135, 115-124. Disponible sur <https://www.inrs.fr/media.html?refINRS=TD%20202>.

Demers I. (2013). Etat de connaissances sur le pollen et les allergies. *Institut national de santé publique Québec*, 111p, ISBN : 978-2-550-68403-9. Disponible sur internet : https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/1678_EtatConnPollenAllergies_AssisesGestionEfficace.pdf.

Demir S., Erdenen F., Gelincik A., Unal D., Olgac M., Coskun R., Colakoglu B. et Buyukozturk S. (2019).Evaluation of the Potential Risk Factors for Drug-Induced Anaphylaxis in Adult Patients. *International Archives of Allergy and Immunology*,178(2), 167-176.

Demoly P., Adkinson N.F., Brockow K., Castells M., Chiriac A.M., Greenberger P.A., Khan D.A., Lang D.M., Park H-S., Pichler W., Sanchez-Borges M., Shiohara T. et Thong B Y-H. (2014). International Consensus on drug allergy. *Allergy*, (69), 420-437.Doi: 10.1111/all.12350.

Djidjik R. (2015).Mécanismes immunologiques des allergies IgE dépendantes. *Académie algérienne d'allergologie*. ISSN : 2543-3555disponible sur https://www.academie-allergologie.dz/images/revue/REVUE_AAA_NUMERO1.pdf.

Dubuisson C., La vielle S., et Martin A. (2002). Allergies alimentaires : Etat des lieux et propositions d'orientations. *AFSSA Derns*.Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/239592313_ALLERGIES_ALIMENTAIRES_Etat_des_lieux_et_propositions_d'orientations.

E.

Essari L.A., Khayat N., Rancé F., et Blay F. (2018).Allergies alimentaires chez l'enfant et l'adulte. *Elsevier Masson SAS*, chap(25), 261-268.

F.

Fırat F.,Özgül M., TürközUluerE.,etInan S.(2019) .Effets de l'ester phénéthylque de l'acide caféique (CAPE) sur l'angiogenèse, l'apoptose et le stress oxydatif dans diverses lignées cellulaires cancéreuses.*Biotechnic & Histochemie*, 94 (7), 491-497. DOI : 10.1080/10520295.2019.1589574.

Franke C., et Lorgue G. (1992). Toxicologie : données générales, procédure d'évaluation, organe cible, évaluation des risques. *C Masson*. Paris.

G.

GalliS.J.,Tsai M., et Piliponsky A.M. (2008).The development of allergic inflammation. *Nature*, Vol 454. Doi:10.1038/nature0720.

Genaro-Mattos T.C., Mauricio Â.Q., Rettori D., Alonso A., et Hermes-Lima M. (2015). Antioxidant activity of caffeic acid against iron-induced free radical generation— A chemical approach. *PLOS ONE*, 10(6). Disponible sur : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129963>.

Giovaninni, L.B., Noormohamed, M.T., Albertini, M., et Boutté, P. (2004). L'allergie aux Rosacées chez l'enfant : à propos de vingt-deux cas. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 44(8), 625-633.

Girodet P.O., et Tunon de Lara J.M. (2007). Immunoglobulines E et asthme. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) pneumologie*, 6-039-A-44.

H.

Hamladji R.M. (2005). *Précis de sémiologie*, n°2584 ; ISBN · 978.9961.0.0242.163-79.

Huss M.J., (2011). Les risques sanitaires des métaux lourds et d'autres métaux. Rapport sur la commission des questions sociales, de la santé et de la famille, de l'assemblée parlementaire de l'union européenne, Doc. 12613.

J.

Jennifer J., Chafen S., Newberry S.J., Riedl M.A., Bravata M., Maglione M., Marika J., Suttorp., Sundaram V., Paige N.M., Towfigh A., Benjamin J., Hulley., Paul G., Shekelle (2010). Diagnosing and managing common food allergies. *American medical association*, 303(18), 1848-1856. doi : 10.1001/jama.2010.582.

K.

Kanny G., Kiefer S., Gravelier C. et Lefèvre S. (2020). Induction de tolérance aux fruits par diminution progressive des temps de cuisson. *Revue française d'allergologie*, 60 (2020) 611–613. Doi:10.1016/j.reval.2020.07.006.

Kay A.B. (2006). 100 years of 'Allergy': can von Pirquet's word be rescued?. *Clinical and Experimental Allergy*, 36, 555–559.

L.

Laffont S., Blanquart E. et Guéry J.C. (2018). Sex-bias in allergic asthma: androgens and group 2 innatelymphoid cells. *Médecine/sciences (Paris)*, 34 (3), 509-510. Doi : 10.1051/medsci/20183403013.

Lahiani S., Djenouhat K., Benaissa F., Bitam I., Sadi-Guettaf H. (2020).Sensitization to aeroallergens in an atopic population of Algiers (Algeria).*Springer Nature B.V*, Doi :DOI:10.1007/s10453-020-09652-w.

Larsen J.N., Broge L., et Jacobi H. (2016).Allergy immunotherapy: The future of allergy treatment. *Drug DiscoveryToday (2015)*. Doi:10.1016/j.drudis.2015.07.010.

Lemaire V. (2004). Dictionnaire scientifique:*Larousse Médical*, 1200p.France

Lippi G., Avanzini P., Pavesi F., Bardi M., Ippolito L., Aloe R. et Favaloro E.J. (2011).Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens. *Biochemiamedica*, 21(3), 297-305.Doi: 10.11613/bm.2011.040

M.

Maleki S.J., Chung S.Y., Champagne E.T. et Raufman, J.P. (2000).The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins.*Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(4).Doi:10.067/mai.2000.109620.

Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H.G., Valenta R., Hilger C., Hofmaier S., et al. (2016).EAACI MolecularAllergologyUser's Guide. *PediatricAllergy and Immunology*, 25(23), 1-250. doi:10.1111/pai.12563.

Miquel M.G., et Revol H. (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé : Rapport d'information n° 261, *SENAT*. Session Ordinaire (2000-2001). Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Commission des affaires européennes du Sénat. Disponible sur : https://www.senat.fr/rap/100-261/100-261_mono.html.

Moneret-Vautrin D.A., Morisset M., Lemerdy Ph., Hatahet R., Frenz P. et Cuny J.M. (2002). Épidémiologie de l'allergie alimentaire et prévalence relative des trophallergènes. *AllergyClinicalImmunology*, 2006 (38/9), 307-309.

Moïse Michel M., Serrano E., Vitte, J. et Mezouar S. (2020). Dossier scientifique : La biologie de l'allergie. *Revue francophone des laboratoires*. n° 521.Disponible sur :<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02990486/document>.

Morali A. (2004).Allergies aux protéines du lait de vache en pédiatrie. *Revue française des laboratoires*, 363, 47-55.

Morin S. (2012). Influence de la présence et de la composition du microbiote intestinal sur le développement et la prévention des allergies alimentaires disponible sur :<https://core.ac.uk/download/52685981.pdf>.

O.

Oršolić N., Sirovina D., Odeh D., Gajski G., Balta V., Šver L., et Jazvinščak Jembrek M. (2021). Efficacy of Caffeic Acid on Diabetes and Its Complications in the Mouse. *Molecules*, 28, 26(11), 3262. Doi: 10.3390/molecules26113262.

P.

Pekar J., Reta D., et Untersmayra E. (2018). Stability of allergens. *Molecular Immunology*. 100, 14-20. Doi:10.1016/j.molimm.2018.03.017.

Perrin L.F., Perrot H., Moneret-Vautrin D.A., Caron R., et Bonnet I. (1994). *Allergologie pratique*, 2e édition, Masson, France. ISBN : 2-225-84227-2.

Plé C., Chang Y., Wallaert B., et Tsicopoulos A. (2013). Pollution environnementale et allergie : mécanismes immunologiques. *Revue de pneumologie clinique* 69, 18-25. Doi :10.1016/j.pneumo.2012.11.007.

R.

Radauer C., Nandy A., Ferreira F., Goodman R.E., Larsen J.N., Lidholm J., Pomés A., Raulf-Heimsoth M., Rozynek P., WR Thomas W.R., et Breiteneder H. (2014). Update of the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Database based on analysis of allergen sequences. *Allergy*, 69, 413–419. Doi:10.1111/all.12348.

Raffard M., et Partouche H. (2008). *Allergologie en pratique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris)*, Traité de médecine Akos, 2-0093.

Rajendra Prasad N., Karthikeyan A., Karthikeyan S., et Reddy B.V. (2011). Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 349(1-2), 11-9. Doi: 10.1007/s11010-010-0655-7.

Ravin K.A., et Loy M. (2015). The Eosinophil in Infection. *Clinical reviews in allergy and immunology*, 50, 214-227. Doi: 10.1007/s12016-015-8525-4.

Ruethers T., Takia A.C., Elecia B., Nugrahaa J.R., Kalic T., Thomas R. (2018). Seafood allergy: A comprehensive review of fish and shellfish allergens. *MolecularImmunology*. 100, 28-57. Doi : 10.1016/j.molimm.2018.04.008.

S.

Shaker M.S., Oppenheimer J., et Grayson M. (2020). COVID-19: Pandemic Contingency Planning for the Allergy and Immunology Clinic. *Journal of AllergyandClinicalImmunology in Practice*, 8(5), 1477-1488.e5. Doi : 10.1016/j.jaip.2020.03.012.

Sharp M.F., et LopataA.L. (2013). Fish Allergy. *ClinicalReviews in Allergy and Immunology*, (2014) 46, 258–271. Doi: 10.1007/s12016-013-8363-1.

Shah S. (2012). Hormonal Link to Autoimmune Allergies. *International ScholarlyResearch Network ISRN Allergy* Volume 2012. Doi:10.5402/2012/910437.

Shechter E. (2004). Biochimie et biophysique des membranes. Dunod, 2^{ème} édition. Paris.

T.

Teixeira J., Gaspar A., Garrido E.M., Garrido J., et Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *BiomedicalResearch*. Int. 2013, 251754.

Thimydunghyuhn. (2009). Impact des métaux lourds sur l'interaction plante terre de terre/ microflore tellurique. Disponible sur https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers11-03/010047897.pdf.

V.

Valerie V. (2008). Rubrique « art de vivre » *echobio n° 10*. Disponible sur <http://sophieethugues.eklablog.com/produits-toxiques-ou-suspects-c96319>.

Vitte J., et Bienvenu F. (2012). Allergènes moléculaires. *EMC - Biologie médicale*. 7(3), 1-8,90-30-0001-A. Doi:10.1016/S2211-9698(12)57796-4.

Venkata N., Ramesh T., Sudhakar P., Sandeep B., et Divakart. (2016). Evaluation of Anti hemolytic activity, antibacterial activity and phytochemical investigation of *Acalypha* indicamethanolic leaf extract. p18. Disponible

Références bibliographiques

sur :<https://www.semanticscholar.org/paper/Evaluation-of-Anti-hemolytic-activity%2C-activity-and-Kadali-Ramesh/7cec77a82014ee2eefdb70cbb3d93b64e23b5bf1>.

W.

WAO (2013).White book on allergy update. *World allergyorganization*. Disponiblesur <http://www.worldallergy.org>. Consultée le 05/07/22.

Annexe n° 01 : PANEL ALLERGIE

Panel 30 Food MAG	Panel 30 Mix MAG	Panel 30 Resp MAG
— Contrôle (Ctrl)	Contrôle (Ctrl)	Contrôle (Ctrl)
— Lait de vache (f2)	Derm. pteronyssinus (d1)	Derm. pteronyssinus (d1)
— Blanc d'oeuf (f1)	Derm. farinae (d2)	Derm. farinae (d2)
— Jaune d'oeuf (f75)	Lait de vache (f2)	Cypres (t23)
— Arachide (f13)	α -Lactalbumine (f76)	Olivier (t9)
— Sésame (f10)	β -Lactoglobuline (f77)	Mimosa (t19)
— Noisette (f17)	Caséine (f78)	Eucalyptus (t18)
— Amande (f20)	Serum-albumine (e204)	Dattier (t214)
— Noix/ Noix de cajou (f256_f202)	Blanc d'oeuf (f1)	Frêne (t15)
— Cacao (f93)	Jaune d'oeuf (f75)	Chêne (t17)
— Soja (f14)	Soja (f14)	Platane (t11)
— Mélange d'agrumes (fx10)	Cacao (f93)	Graminées fourragères (gx7)
— Fraise (f44)	Noisette mix CHN2 (fnutCHN2)	Graminées céréalières (gcerTUN)
— Tomate (f25)	Arachide (f13)	Pariétaire (w21)
— Pomme (f49)	Kiwi (f84)	Armoise (w6)
— Pêche (f95)	Thon, Sardine, Maquereau, Cabillaud (ffishTUN2)	Ambroisie (w1)
— Céleri (f85)	Sésame (f10)	Franseria acanthicarpa (w3)
— Pommes de terre (f35)	Crevette (f24)	Plantain (w9)
— Lentille (f235)	Fraise (f44)	Chonopode (w10)
— Oignon (f48)	Pomme, Pêche (f49_f95)	Marguerite (w7)
— Thon, Sardine, Maquereau (ffishTUN)	Graminées fourragères (gx7)	Aspergillus fumigatus (m3)
— Morue (Cabillaud) (f3)	Graminées céréalières (gcerTUN)	Alternaria alternata (m6)
— Banane (f92)	Cypres (t23)	Cladosporium herbarum (m2)
— Kiwi (f84)	Olivier (t9)	Candida albicans (m5)
— Poire (f94)	Aspergillus fumigatus (m3)	Penicillium notatum (m1)
— Avocat (f96)	Alternaria alternata (m6)	Chat (e1)
— Ail (f47)	Chat (e1)	Chien (e5)
— Pignon (f253)	Chien (e5)	Cheval (e3)
— Crevette (f24)	Blatte (i6)	Latex (k82)
— Moule (f37)	Latex (k82)	Blatte (i6)
— Mélange de CCD (codx)	Mélange de CCD (codx)	Mélange de CCD (codx)

Disposition des extraits d'allergènes bruts sur les bandelettes de test.

Annexe n° 02 : MATERIEL IMMUNOBLOT

☆ Réactifs :



Tampon de lavage concentré (25 x)

Anticorps de détection

Streptavidine conjuguée à de la phosphatase

Solution de coloration

Solution de blocage des CCD

☆ Appareils :



Scanner improvio



Bandelette de teste



Agitateur à bascule

Annexe n° 03 : SOLUTION DE BLOCAGE DES CCD



Mode d'emploi



Solution de blocage des CCD

REF 0992



Supplément pour tests *in vitro*, dispositif médical selon la directive 98/79/CE, Annexe III relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*

⚠ Avant la procédure de test, lire les modes d'emploi de la solution de blocage des CCD et du test *in vitro* appliqué. Respecter scrupuleusement le mode d'emploi !

1. Généralités

La solution de blocage des CCD est un réactif contenant un mélange de protéines possédant des déterminants antigéniques glucidiques destiné à compléter les tests d'allergie *in vitro*.

2. Introduction

Les déterminants antigéniques glucidiques (CCD) sont des portions glucidiques de glycoprotéines qui induisent la production d'IgE spécifiques présentant une forte réaction croisée (IgE anti-CCD). Un grand nombre d'allergènes sont des glycoprotéines contenant des portions glucidiques appelées N-glycanes ou O-glycanes. On a constaté la présence de déterminants antigéniques glucidiques dans de nombreux types d'allergènes d'origine végétale tels que les pollens d'arbres, d'herbe ou de graminées, les légumes, les fruits, les graines et le latex. Des déterminants antigéniques glucidiques sont également présents dans les venins d'insectes. La présence d'IgE anti-CCD dans le sérum est dépourvue de signification clinique. La plupart de ces allergènes sont généralement bien tolérés par les patients qui possèdent des IgE spécifiques dirigées contre les déterminants antigéniques glucidiques ; on n'observe pas de résultats positifs au test cutané ni de symptômes cliniques. Les IgE anti-CCD ont tendance à présenter de fortes réactions croisées, de sorte qu'un sérum contenant ces anticorps réagira positivement dans des tests *in vitro* portant sur une grande variété d'allergènes. Il existe par conséquent un risque de diagnostic erroné d'allergie alimentaire, d'allergie au latex ou d'allergie aux venins d'insectes, en particulier chez les patients allergiques au pollen. Une pré-incubation du sérum à analyser avec une solution de blocage des CCD contenant un mélange de trois glycoprotéines présentant des déterminants antigéniques glucidiques différents (bromélaïne, peroxydase de raifort et ascorbate-oxydase) améliore le diagnostic d'allergie *in vitro* en bloquant les IgE anti-CCD dans le sérum du patient. Il devient ainsi possible d'établir une distinction entre les véritables sensibilisations et les sensibilisations cliniquement non significatives vis-à-vis de déterminants antigéniques glucidiques.

3. Indications

La solution de blocage des CCD s'utilise pour inhiber les IgE anti-CCD dans les échantillons de sérum humain testés en vue de rechercher la sensibilisation d'un patient vis-à-vis d'allergènes spécifiques au moyen de tests d'allergie *in vitro* mais ne constitue pas un outil de diagnostic *in vitro* pour l'accompagnement du traitement. L'apparition d'IgE anti-CCD dans le sérum humain conduit souvent à des résultats faussement positifs pour n'importe quel test d'allergie *in vitro* car les IgE dirigées contre ces portions d'une protéine ne sont généralement pas responsables de réactions allergiques. Par conséquent, un prétraitement des échantillons de sérum humain avec la solution de blocage des CCD diminue l'occurrence de résultats faussement positifs pour de nombreux allergènes dans les tests d'allergie *in vitro*.

4. Contenu de l'emballage

Contenu	Application	Substance(s) active(s)	Conservateur	Statut
Solution de blocage des CCD (600 µl/flacon)	Une pré-incubation des échantillons de sérum avec la solution de blocage des CCD bloque les IgE anti-CCD dans le sérum analysé	Trois glycoprotéines différentes (bromélaïne, peroxydase de raifort, ascorbate-oxydase) avec une quantité différente de portion glucidique dissoutes dans un tampon TBS	0,09% d'azide de sodium	Prêt à l'emploi
Mode d'emploi	-	-	-	-

5. Accessoires

Tubes de réaction appropriés pour mélanger le sérum à la solution de blocage des déterminants antigéniques, mélangeur de type vortex, pipette, chronomètre de laboratoire

⚠ 6. Mise en garde et précautions (voir également INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES DE SÉCURITÉ)

- La solution de blocage des CCD doit être manipulée exclusivement par des professionnels qualifiés et formés et n'est pas destinée à des autotests.
- Le présent produit s'utilise pour la pré-incubation d'échantillons de patients devant être ultérieurement testés pour rechercher la sensibilisation d'un patient vis-à-vis d'allergènes spécifiques au moyen de tests d'allergie *in vitro*. Pour cette raison, les échantillons en provenance de patients doivent être traités comme potentiellement infectieux et les précautions de sécurité appropriées doivent être respectées.
- La solution de blocage des CCD contient de l'azide de sodium (0,09 %) en tant que conservateur. Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses.
- Après usage, l'utilisateur est personnellement responsable de l'élimination adéquate du produit.

Tous les réactifs et matériaux ayant été en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être considérés comme potentiellement infectieux et être traités ou éliminés de manière appropriée.

7. Conservation et stabilité

La solution de blocage des CCD doit être conservée dans son emballage, à une température comprise entre 2 et 8°C. La stabilité de la solution de blocage des CCD après ouverture est identique à la date de péremption figurant sur l'étiquette du flacon. Toute contamination microbienne doit être évitée. La qualité n'est plus garantie au-delà de la date de péremption. Le mélange de la solution de blocage des CCD et du sérum doit être utilisé le jour de sa préparation. Toute contamination de la solution de blocage des CCD par du sérum ou d'autres réactifs doit être évitée.

8. Procédure

8.1 Pré-incubation du sérum avec la solution de blocage des CCD :

Avant utilisation, la solution de blocage des CCD et les échantillons de sérum doivent être réchauffés à température ambiante (20-22°C). La solution de blocage des CCD et les échantillons de sérum doivent être soigneusement agités avant utilisation. On doit utiliser un tube de réaction distinct pour chaque sérum. Ajouter 10 % de solution de blocage des CCD au sérum et mélanger soigneusement sur un mélangeur de type vortex (par exemple AlleisaScreen®) : 270 µl de sérum (90 %) + 30 µl de solution de blocage des CCD (10 %).

Incuber à température ambiante (20-22°C) pendant 30 minutes, vortexer le mélange de temps à autre durant l'incubation, puis débiter la procédure de test usuelle. Les résultats dépendent dans une grande mesure de la précision du pipetage et du respect de la température et des temps d'incubation.

8.2 Procédure de test

Lire le mode d'emploi du système de test *in vitro* utilisé avant de commencer. Procéder au test *in vitro* avec le sérum prétraité de la manière habituelle.

9. Analyse et documentation

Consulter le mode d'emploi du système de test *in vitro* utilisé.

6. Accessoires et matériaux
Eau distillée ou déionisée à pH neutre, cylindre gradué (500 ml), pissette (500 ml), pipette, agitateur à bascule (C-20-22 allers-retours/min) (par ex. ScreenShaker, disponible auprès de MEDWISS Analytic GmbH), scanner Improvivo avec logiciel B4C (appareil de mesure, disponible auprès de MEDWISS Analytic GmbH, producteur : BMSQtec GmbH, Francfort, Allemagne) et une carte de configuration spécifique du panel, chronomètre de laboratoire, **peigne de lavage** pouvant recevoir 10 cuvettes et **boîte d'incubation** pour incubation à l'obscurité (le système comprenant le peigne de lavage et la boîte d'incubation est disponible auprès de MEDWISS Analytic GmbH), sèche-cheveux.
Il est recommandé d'utiliser le système constitué du peigne de lavage et de la boîte d'incubation et de la boîte d'incubation et de la ScreenShaker pour une manipulation aisée et précise.

7. Mise en garde et précautions (voir également INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES SUR LA SÉCURITÉ)
Le test AllergyScreen[®]/AlleisaScreen[®] doit être utilisé exclusivement par des professionnels formés et qualifiés et ne convient pas pour un auto-test.
Le kit de test contient des tests de dosage des anticorps IgE spécifiques dans le sérum humain. Pour cette raison, les échantillons en provenance de patients doivent être traités comme potentiellement infectieux et les précautions de sécurité appropriées doivent être prises.

- Les anticorps de détection et le tampon de lavage concentré (25x) contiennent de l'azide de sodium en tant que conservateur (0,09 %). Éviter tout contact avec le peau ou les muqueuses.
- La streptavidine conjuguée contient en tant que conservateurs de la méthylisothiazolinone et du bromonitrotoxane à des concentrations non toxiques. La méthylisothiazolinone peut provoquer des réactions allergiques cutanées.
- Un échange ou une combinaison entre des composants de kits de test portant des numéros de lot différents n'est pas possible.
- Après usage, l'utilisateur est personnellement responsable de l'élimination adéquate de tous les composants du kit de test.

Tous les réactifs et matériaux ayant été en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être considérés comme potentiellement infectieux et être traités ou éliminés de manière appropriée.

8. Réactifs et conservation
Le kit de test doit être conservé dans leur emballage d'origine, à une température comprise entre 2 et 8°C. La stabilité du kit de test après ouverture est identique à la date de péremption figurant sur l'étiquette du kit de test. Toute contamination microbienne doit être évitée. La qualité n'est plus garantie au-delà de la date de péremption. Le tampon de lavage dilué peut être conservé à température ambiante et utilisé pendant une durée maximale de 6 semaines après dilution. Toute contamination de la solution de coloration par la solution de streptavidine conjuguée doit impérativement être évitée car cela entraînerait un changement de couleur de la solution de coloration. De même, la solution de coloration doit être protégée du rayonnement solaire direct pour éviter une décomposition ou un changement de couleur par auto-oxydation. En cas de coloration normale de la solution de coloration, cette dernière ne peut plus être utilisée. Éviter également toute contamination d'une solution par une autre.

9. Signes de détérioration des réactifs
Un aspect trouble ou une coloration violette de la solution de coloration avant son ajout dans les cuvettes de réaction indiquent une détérioration du réactif. Une éventuelle précipitation de sérumalbumine bovine dans la solution d'anticorps de détection n'indique PAS une détérioration de ce réactif et n'altère PAS la qualité du test.

10. Prélèvement et conservation des échantillons
Le test AllergyScreen[®]/AlleisaScreen[®] a été développé pour l'analyse d'échantillons de sérum humain non dilué. Les échantillons de sang doivent être prélevés par ponction veineuse sans ajout d'anticoagulants et, après coagulation (30 à 40 minutes), le sérum doit être séparé par centrifugation à 4000 x g pendant 10 minutes. Si l'analyse n'est pas réalisée immédiatement, l'échantillon peut être conservé à une température comprise entre 2 et 8°C pendant un maximum de deux semaines. Les échantillons peuvent être conservés pendant de plus longues périodes à une température inférieure ou égale à -20°C. Il est impératif d'éviter des cycles répétés de congélation et décongélation des échantillons, ainsi que toute contamination microbienne de ceux-ci.

11. Procédure de test

11.1. Informations générales
Avant usage, tous les réactifs, ainsi que les bandelettes de test, doivent être réchauffés à température ambiante (20-22°C). Les réactifs doivent être soigneusement agités au moins pendant 30 secondes avant utilisation. Les bandelettes de test doivent être conservées dans leur emballage d'origine à l'obscurité et à une température comprise entre 2 et 8°C. Les bandelettes de test doivent être conservées dans leur emballage d'origine à l'obscurité et à une température comprise entre 2 et 8°C. Les bandelettes de test doivent être conservées dans leur emballage d'origine à l'obscurité et à une température comprise entre 2 et 8°C. Il est conseillé d'utiliser la boîte d'incubation afin d'éviter les pertes par évaporation. Les cuvettes doivent être manipulées soigneusement par la poignée. Éviter tout contact avec la surface des membranes de nitrocellulose. Les données du patient (par exemple numéro de dossier de laboratoire) peuvent être inscrites sur la poignée des cuvettes à l'aide d'un marqueur indélébile à pointe fine.

Tout écart par rapport aux durées d'incubation et aux températures spécifiées peut entraîner des résultats inexacts concernant les sérum des patients.

L'incubation avec la solution de coloration (développement de la coloration, quatrième incubation, voir section 11.9), doit se faire à l'obscurité.

L'exposition au rayonnement solaire direct doit être évitée lors de la réalisation du test.

11.2. Préparation du tampon de lavage
Verser le contenu de chaque façon de tampon de lavage concentré (25x) dans un cylindre gradué de 500 ml, l'amener à un volume final de 500 ml avec de l'eau distillée, mélanger, puis le transférer dans une pissette. Une eau acide ou alcaline compromet la réaction et peut entraîner un dysfonctionnement total du test AllergyScreen[®]/AlleisaScreen[®].

11.3. Première incubation
Sortir de l'emballage le nombre de bandelettes de test nécessaire à la réalisation des tests et les disposer sur le peigne de lavage (si disponible). Rincer brièvement les bandelettes de test pendant quelques secondes avec le tampon de lavage dilué (pissette) au-dessus de l'évier, les rincer délicatement sur un papier filtre pour éliminer l'excédent de tampon de lavage et les remplir avec 250 µl (AllergyScreen[®]) ou 300 µl (AlleisaScreen[®]) de sérum de patients à l'aide d'une pipette. Utiliser un embout neutre pour chaque sérum à incuber ensuite les bandelettes de test pendant 45 minutes à température ambiante sur un agitateur à bascule (C-20-22 allers-retours/min) (par ex. ScreenShaker) dans la boîte d'incubation (si disponible).

11.4. Lavage
Rincer brièvement les bandelettes de test (environ 5 s) avec le tampon de lavage dilué (pissette) au-dessus de l'évier ou d'un contenant pour déchets, en les maintenant inclinées vers le bas. Faire passer le jet de tampon de lavage sur les bandelettes de test à plusieurs reprises. Remplir ensuite les cuvettes de tampon de lavage, les maintenir horizontalement et les agiter délicatement afin de répartir le tampon de lavage de manière homogène à la surface de la membrane de nitrocellulose. **Une exposition répétée au tampon de lavage (6 à 7 fois) pendant 10 à 15 s environ et l'agitation en position horizontale sont importantes pour la qualité de l'étape de lavage.** Tapoter ensuite délicatement les cuvettes sur du papier filtre pour éliminer les résidus de tampon de lavage.

11.5. Seconde incubation
Pipeter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen[®]) ou 300 µl (AlleisaScreen[®]) d'anticorps de détection sur chaque bandelette de test et incuber à température ambiante sur un agitateur à bascule (par ex. ScreenShaker) pendant 45 minutes.

11.6. Lavage
Laver comme décrit à la section 11.4.

11.7. Troisième incubation
Pipeter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen[®]) ou 300 µl (AlleisaScreen[®]) de streptavidine conjuguée sur chaque bandelette de test et incuber à température ambiante sur un agitateur à bascule (par ex. ScreenShaker) pendant 20 minutes.

11.8. Lavage
Laver comme décrit à la section 11.4. **Particularités : à cette étape, l'exposition au tampon de lavage doit être répétée 9 à 10 fois.**



AllergyScreen[®]/AlleisaScreen[®]

immunoblot pour l'analyse des IgE spécifiques d'un allergène dans le sérum humain



Test in vitro, dispositif médical selon la directive 98/79/CE, Annexe III relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro

Avant la procédure de test, lire attentivement le mode d'emploi et les spécifications du kit de test. Respecter scrupuleusement le mode d'emploi du test !

1. Généralités
Le test AllergyScreen[®]/AlleisaScreen[®] est un immunoblot pour la détermination semi-quantitative des immunoglobulines E (IgE), circulantes spécifiques d'un allergène dans le sérum humain.

2. Introduction
Les immunoglobulines de classe E ont été identifiées pour la première fois en 1964 et jouent un rôle important dans le déclenchement des réactions allergiques de type I. Après transformation en un type de cellules appelé plasmocytes, les lymphocytes B sécrètent des anticorps de différentes classes qui circulent dans le sang et sont responsables de l'immunité humorale. La conversion des lymphocytes B en plasmocytes sécrétant des anticorps est régulée par des lymphocytes auxiliaires et supresseurs (deux sous-classes de lymphocytes T). En cas de dysfonctionnement de cette régulation, un lymphocyte B peut également être transformé par un antigène normalement inoffensif. Le plasmocyte qui en résulte produira alors préférentiellement des anticorps de la classe des immunoglobulines E. Ces immunoglobulines migrent via le courant circulatoire vers les granulocytes basophiles et les mastocytes, à la surface desquels ils se lient à des récepteurs spécifiques par le biais de leur région Fc. En cas de contact ultérieur de l'organisme avec l'allergène spécifique, ce dernier migre directement vers les anticorps IgE fixés à la surface des cellules et, avec ses épitopes, lie deux molécules voisines par leur région de liaison aux antigènes Fab. La formation de cette passerelle provoque la libération par les mastocytes de diverses amines vasoactives, en particulier de l'histamine, qui, en association avec d'autres médiateurs fortement actifs, peut faire apparaître les symptômes typiques d'une réaction allergique de type I, tels que formation de papules oedémateuses, urticaire, dermatite, rhinite (inflammation de la muqueuse nasale), rhume des foins, asthme et choc anaphylactique.

3. Indications
AllergyScreen[®]/AlleisaScreen[®] est un test diagnostique *in vitro* pour la détermination semi-quantitative de la concentration en IgE spécifiques d'un allergène dans le sérum humain mais ne constitue pas un outil diagnostique *in vitro* de suivi du traitement. Ce test fournit une indication de la sensibilité d'un patient vis-à-vis d'allergènes spécifiques. Il ne peut être utilisé, qu'en association avec d'autres observations cliniques, anamnestiques et diagnostiques pour le diagnostic des pathologies allergiques à médiation par les IgE. Le test convient à tous les groupes de personnes sans limite d'âge.

4. Principe du test
Lors de la préparation, des extraits naturels d'allergènes bruts sont fixés à la surface d'une membrane de nitrocellulose placée dans une cuvette. L'application du kit de test se fait manuellement. Du sérum du patient est pipeté dans la cuvette et incubé à température ambiante. Au cours de cette incubation, les anticorps IgE spécifiques de l'allergène présents dans le sérum réagissent avec l'allergène correspondant et se lient à la membrane de nitrocellulose par l'intermédiaire de l'allergène. Le matériel non lié est éliminé par lavage. On ajoute ensuite des anticorps anti-IgÉ humains couplés à de la biotine (anticorps de détection) et on incubé à température ambiante. Ces anticorps se lient aux IgE spécifiques présentes de la première incubation, ainsi qu'au contrôle de la procédure. L'anticorps de détection non lié est éliminé par lavage. On ajoute alors de la streptavidine conjuguée à de la phosphatase alcaline et on incubé à température ambiante. Ce réactif se lie à la biotine couplée à l'anticorps de détection. La streptavidine conjuguée non liée est éliminée par lavage. Après ajout de la solution colorante et incubation à l'obscurité à température ambiante, il se produit une réaction enzymatique colorée spécifique de la phosphatase alcaline qui aboutit à la formation de précipités bleus des bandelettes de test. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en IgE spécifiques de l'allergène de sérum du patient. On fait au moyen du scanner Improvivo (automatiquement) directement après séchage complet de la bandelette de test, qui réalise une photographie de la bandelette de test. Le logiciel du scanner (incl. une carte de configuration spécifique du panel) analyse les intensités de coloration et, en se basant sur une échelle standard, calcule la concentration en IgE spécifiques dans l'échantillon correspondant. Les valeurs sont réparties en classes, ce qui permet d'établir une relation directe avec la concentration en IgE spécifiques de l'échantillon.

Contenu	Application	Substance(s) active(s)	Conservateur	Statut
Bandelettes de test	Les IgE spécifiques d'un allergène présentes dans le sérum du patient se lient aux allergènes spécifiques fixés sur les membranes au fond des cuvettes.	Extraits naturels d'allergènes bruts sur la membrane (dissous dans du tampon TBS)		Prêt à l'emploi
Anticorps de détection	Un anticorps de détection couplé à de la biotine se lie aux IgE spécifiques de l'allergène provenant du sérum du patient fixées sur la membrane.	Anticorps biotinylés anti-IgE humains dissous dans du tampon TBS contenant 1 % de sérumalbumine	0,09 % d'azide de sodium	Prêt à l'emploi
Streptavidine conjuguée	La streptavidine conjuguée à de la phosphatase alcaline se lie à la biotine des anticorps de détection.	Streptavidine conjuguée à la phosphatase alcaline dissoute dans du Stabilizyme [®] AP Conjugate stabilizer.	0,02 % de méthylisothiazolinone 0,02 % de bromonitrotoxane	Prêt à l'emploi
Solution de coloration	L'ajout de la solution de coloration produit une réaction enzymatique de la phosphatase alcaline qui se traduit par la formation d'un précipité bleu sur la membrane.	5-bromo-4-chloro-3-indolylo-phosphate (BCIP), chlorure de bleu de p-nitro-tétrazole (NBT)	≤ 1 % de 2-méthyl-2-amino-1-propanol ≤ 0,4 % d'acide maléique	Prêt à l'emploi
Tampon de lavage concentré (25x) pH 7,4/7,6	Les réactifs non liés sont éliminés de la membrane par un lavage soigneux avec le tampon de lavage.	Tampon tris contenant du Tween [®] 20	0,09 % d'azide de sodium	Amener 20 ml de tampon de lavage concentré (25x) (le contenu d'un flacon) à un volume final de 500 ml avec de l'eau distillée dans une pissette.
Mode d'emploi				
Spécifications du kit de test.				

Pour les quantités des différents composants et la configuration des bandelettes de test, se reporter aux spécifications du kit de test.

Annexe n° 05 : MODE D'EMPLOI

Mode d'emploi

11.9. Quatrième incubation

Pipeter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen®) ou 300 µl (AlleisaScreen®) de solution de coloration sur chaque bandelette de test et incubez les bandelettes de test à température ambiante et à l'obscurité sur un agitateur à bascule (par ex. ScreenShaker) pendant 20 minutes. Après la fin de l'incubation, arrêter la réaction de coloration en rinçant brièvement les bandelettes de test sous l'eau courante. Sécher ensuite les bandelettes de test à l'air ou à l'aide d'un sèche-cheveux pour accélérer la procédure de séchage. La coloration de fond bleu-violet disparaît lors du séchage des bandelettes de test. Ne procéder à l'évaluation que lorsque les membranes de nitrocellulose se trouvant dans le fond des cuvettes sont parfaitement sèches. L'évaluation au moyen du scanner Improvio se fait immédiatement après séchage complet de la bandelette de test au moyen.

Résumé de la procédure de test

- Laisser réchauffer les réactifs et les bandelettes de test à **température ambiante (20-22°C)** et agiter les réactifs avant utilisation.
- Diluer le tampon de lavage concentré (25x) à 1/25 avec de l'eau distillée (à pH neutre).
- Humidifier les membranes de test se trouvant dans les cuvettes avec du tampon de lavage. Ajouter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen®) ou 300 µl (AlleisaScreen®) de chaque **échantillon de sérum** sur la bandelette de test correspondante. Incuber à température ambiante sur un agitateur à bascule pendant **45 minutes**.
- Pour le lavage, orienter plusieurs fois le jet de tampon de lavage de la pissette sur les bandelettes de test tout en maintenant les bandelettes de test inclinées vers le bas. Remplir plusieurs fois les cuvettes de tampon de lavage et les agiter à plusieurs reprises d'avant en arrière (6 à 7 fois).
- Ajouter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen®) ou 300 µl (AlleisaScreen®) d'**anticorps de détection** ; incuber à température ambiante sur un agitateur à bascule pendant **45 minutes**.
- Laver comme décrit à D.
- Ajouter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen®) ou 300 µl (AlleisaScreen®) de **streptavidine conjuguée** ; incuber à température ambiante sur un agitateur à bascule pendant **20 minutes**.
- Laver comme décrit à D.
- Ajouter 6 gouttes ou 250 µl (AllergyScreen®) ou 300 µl (AlleisaScreen®) de **solution de coloration** ; incuber à température ambiante et à l'obscurité sur un agitateur à bascule pendant **20 minutes**. Arrêter la réaction en rinçant brièvement sous l'eau courante.
- Sécher parfaitement les bandelettes de test et procéder à l'évaluation avec le scanner Improvio.

12. Analyse

12.1 Étalonage

L'étalonnage des tests AllergyScreen®/AlleisaScreen® est basé sur la réactivité d'un mélange de pollens de graminées sur les bandelettes de test AllergyScreen®/AlleisaScreen® et sur les résultats d'un système de référence adéquat, lui-même étalonné par rapport à la préparation d'IgE totales 75/502 de l'OMS. La fonction dose-réponse logistique utilisée : $Y = A_1 + A_2 - A_1 / (1 + 10^{(\log x - x) \cdot p})$ et ses paramètres mathématiques ont été utilisés pour générer une courbe standard interne fixe à utiliser avec les cartes de configuration spécifiques du panel pour évaluation par le logiciel B4C logiciel des scanners BioSciTec avec un système de notation semi-quantitatif.

12.2 Configuration des bandelettes de test

Voir spécifications du kit de test.

12.3 Interprétation des résultats

L'intensité de la coloration qui se développe après le traitement est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps IgE spécifiques de l'allergène correspondant dans le sérum du patient. Une analyse semi-quantitative est effectuée en utilisant une carte de configuration spécifique du panel avec un scanner Improvio (BioSciTec, Francfort). Les classes décimales de 0 à 6 ont été analysées avec les UI/ml calculées par une courbe standard systémique fixe.

Pour cela, on place la bandelette de test dans le tiroir du scanner Improvio et on mesure les intensités de coloration sur la bandelette de test (voir aussi le mode d'emploi du scanner Improvio ; BioSciTec).

Plage	Classe	Concentration en IgE spécifique de l'allergène
< 0,35 UI/ml	0	Absence ou traces
0,35 – 0,69 UI/ml	1	Faible
0,7 – 3,4 UI/ml	2	Augmenté
3,5 – 17,4 UI/ml	3	Significativement augmenté
17,5 – 49,9 UI/ml	4	Élevé
50 – 100 UI/ml	5	Très élevé
> 100 UI/ml	6	Extrêmement élevé

Pour tenir compte des variations de la teneur en IgE au sein d'une classe, les classes 1 à 5 sont subdivisées en 10 classes décimales. Les valeurs > 100 UI/ml ne sont pas subdivisées et sont groupées dans la classe 6.

12.4 Contrôle de qualité

Un contrôle positif destiné à servir de contrôle de la procédure qualitatif occupe la première position de chaque bandelette de test. Il permet de garantir la réalisation correcte du test. Si une coloration n'apparaît pas en position de test du contrôle de la procédure, le test est non valide et doit être répété avec une nouvelle bandelette de test. Le contrôle de la procédure doit fournir une valeur de classe $\geq 2,5$.

Si ce n'est pas le cas, contrôler les points suivants :

- Dates de péremption des composants du kit de test
- Contamination des composants du kit de test
- Solution de coloration (coloration anormalement intense)
- Procédure de test et température correctes
- Position horizontale de la boîte d'incubation sur le agitateur à bascule (par ex. ScreenShaker)
- Utilisation de la carte de configuration spécifique du panel adéquate
- Positionnement correct de la bandelette de test dans le scanner Improvio (la ligne de contrôle doit être correctement identifiée par le logiciel)

1ère position



Des contrôles de qualité interne et externe ne sont pas disponibles auprès de MEDIWISS Analytic GmbH. Des contrôles de qualité internes sont par exemple disponibles auprès de DiaMex GmbH, Heidelberg (Optitrol Multiallergy).

12.5 Documentation

Les données de mesure sont également enregistrées pour chaque patient dans la base de données du logiciel d'analyse B4C du scanner Improvio et peuvent être récupérées.

Les résultats obtenus avec le scanner Improvio dépendent de la qualité de la procédure de test réalisée par le laboratoire.

Le logiciel est susceptible d'interpréter à tort les traînées, points ou peluches sur la membrane de nitrocellulose comme des résultats faussement positifs dans la mesure où ces artefacts, au même titre qu'une ligne d'allergène, génèrent un contraste par rapport au fond. Il incombe à l'utilisateur de contrôler la conformité de la mesure.

- Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage (P280). Se laver les mains soigneusement après manipulation (P284).
- Les fiches de données de sécurité sont disponibles sur demande.
- Les déchets contenant du sérum doivent être collectés dans des conteneurs spéciaux contenant un désinfectant approprié à une concentration suffisante. Les déchets doivent être traités conformément aux directives ou réglementations nationales relatives aux risques biologiques et à la sécurité.
- Se séparer aux réglementations européennes relatives aux dispositifs médicaux en rapport avec les kits de tests diagnostiques *in vitro*.
- Remarque : Tout incident grave associé au produit doit être notifié au fabricant et aux autorités compétentes de l'Etat membre où résident l'utilisateur et/ou le patient.

EXPLICATION DES SYMBOLES

	LOT				
Daté limite d'utilisation	Numéro de lot	Exclusivement à usage diagnostique <i>in vitro</i>	Consulter le mode d'emploi	Limites de température	Conformité aux directives européennes
Numéro de catalogue	Ne pas réutiliser	Attention			

MEDWISS Analytic GmbH
 Uerdinger Straße 3
 47441 Meerz, Allemagne
 Tél. : +49 (0)2841-890470
 Télécopie : +49 (0)2841-890472
 e-mail : info@medwiss-analytic.de

- 13. Données statistiques : variations, sensibilité, spécificité et précision (basées sur les classes décimales) - tous les groupes d'allergènes sont pris en compte**
- Variabilité intra-test : valeur moyenne 3,1 % (AllergyScreen®) et 3,3 % (AlleisaScreen®)
 Variabilité entre tests : valeur moyenne 4,5 % (AllergyScreen®) et 3,5 % (AlleisaScreen®)
 Variabilité entre lots : valeur moyenne 8,07 % (AllergyScreen®/AlleisaScreen®)

Pour déterminer la sensibilité et la spécificité de la méthode, on a réalisé dans le cadre d'une étude clinique 737 comparaisons entre test cutané et AllergyScreen® :

Sensibilité : valeur moyenne 95,1 %
 Précision : valeur moyenne 80,2 %
 On a en outre procédé à 881 (AllergyScreen®/900 (AlleisaScreen®)) comparaisons individuelles entre un système de référence ELISA et AllergyScreen®/AlleisaScreen® :
 valeur moyenne 84,3 % AllergyScreen® - respiratoire) et 86,32 % (AlleisaScreen® - respiratoire + alimentaire)
 valeur moyenne 95,0 % AllergyScreen® - respiratoire) et 86,73 % (AlleisaScreen® - respiratoire + alimentaire)
 valeur moyenne 90,6 % AllergyScreen® - respiratoire) et 86,66 % (AlleisaScreen® - respiratoire + alimentaire)

Une étude d'interférence n'a par ailleurs fourni aucune indication d'une influence significative de différents constituants du sang (bilirubine, hémoglobine, lipides) sur les résultats des tests AllergyScreen®/AlleisaScreen®. Seul un taux très élevé d'IgE dans le sérum du patient peut entraîner une réduction mineure à modérée des valeurs mesurées dans certains cas en raison de l'effet de crochets. Mais cela n'aboutit pas à des résultats faussement négatifs. Les patients traités avec Omalizumab ne peuvent pas être analysés avec ce système (Mizuma et al. 2015).

14. Limites de la signification clinique de la détermination des IgE spécifiques

Les concentrations en IgE déterminées dans les sérums de patients au moyen du système de test AllergyScreen®/AlleisaScreen® fournissent une indication du degré de sensibilité des patients vis-à-vis des allergènes individuels testés. Sur la base des seuls résultats des tests AllergyScreen®/AlleisaScreen® il n'est pas possible de tirer des conclusions quant aux symptômes cliniques, à l'existence éventuelle d'une allergie ou à sa gravité. Le diagnostic d'allergie ne repose pas uniquement sur les résultats d'un test de laboratoire. Les résultats doivent seulement être évalués en association avec d'autres observations cliniques et diagnostiques (résultats de différents tests *in vivo* et *in vitro*) et avec les antécédents médicaux du patient.

La détermination de la présence d'anticorps spécifiques constitue un complément important et précieux aux méthodes *in vivo* (par exemple test cutané). En outre, un test *in vitro* est souvent la seule manière possible d'identifier une sensibilité de type I spécifique vis-à-vis d'un allergène.

15. Références :

Aberer, W. et al. (2014): Inhibition of cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) enhances the accuracy of *in vitro* allergy diagnosis. *Allergologie* 37(2):45-53
 Dolen, W.K. (2003): IgE antibody in the serum - detection and diagnostic significance. *Allergy* 58(8):717-723
 Hamilton, R.G. (2014): Allergic sensitization is a key risk factor but not synonymous with allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 134(2):360-361
 Herzum et al. (2005): Diagnostic and analytical performance of a screening panel for allergy. *Clin Chem Lab Med* 43(9):963-966
 Jiang, X.-D., et al. (2011): Correlation analysis of two serum-specific immunoglobulin E test systems and skin-prick test in allergic rhinitis patients from northeast China. *Am J Rhinol Allergy* 25(2):116-119
 *Kerster, W. (2002): Vergleich des AllergyScreen (MEDWISS Analytic, Moers) mit dem Hauttest (H-AL, Düsseldorf -in-vivo) und dem CAP-System (Pharmacia, Freiburg -in-vitro). - *Allergologie* 25(4):203-208
 Koch, L. and Aberer W. (2014): Comparability and quality of IgE-based *in vitro* allergy diagnosis: 25 years of external quality assessment. *Wien Klin Wochenschr* 126(19-20):634-641
 Men Li, C. et al. (2013): Analysis of Allergens in 5473 Patients with Allergic Diseases in Harbin, China. *Biomed Environ Sci* 26(11):896-899
 Mizuma, H. et al. (2015): Influence of Omalizumab on Allergen-Specific IgE in Patients with Adult Asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 166:85-92
 Rodriguez-Capote, K. et al. (2016): Stability of specific IgE antibodies to common food and inhaled allergens. *Clin Biochem.* 48(16):1387-1389
 Schierlicke, J. et al. (2012): Interferences in immunoassays. *Advances in Immunology Technology*. Norman H. L. Chiu and Theodore K. Christopoulos, DOI: 10.5772/357397. Disponible à l'adresse : <https://www.intechopen.com/books/advances-in-immunology-technology/interference-in-immunoassays>
 Soderstrom, L. et al. (2003): A further evaluation of the clinical use of specific IgE antibody testing in allergic diseases. *Allergy* 58(9):921-928
 Tate, J. and Ward, G. (2004): Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev.* 25(2):105-120
 Wojciszewicz, M. et al. (2017): Six years of INSTAND e.v. S-IgE proficiency testing: an evaluation of *in-vitro* diagnostics. *Allergo J Int.* 26(2):43-52

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES SUR LA SÉCURITÉ

- Conformément à l'article 1, paragraphe 2b de la directive européenne 98/79/CE : Utilisation de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* est prévue par le fabricant pour assurer l'adéquation, la précision, la fiabilité, la sécurité et la sécurité du produit. Les objectifs prévus spécifiés par le fabricant doivent par conséquent être respectés par les utilisateurs autorisés. Permettre au kit de test d'être utilisé exclusivement dans le but spécifié dans la section « Indications » (page 1). Le test doit être réalisé conformément à ces instructions, qui regroupent toutes les informations, précautions et mises en garde nécessaires. Lorsque le kit est utilisé avec d'autres équipements de diagnostic, la méthode de test doit également être validée par l'utilisateur. Toute modification de la conception ou de la procédure de test de même que toute utilisation en association avec d'autres produits non approuvés par le fabricant n'est pas autorisée. L'utilisateur est seul responsable de toutes les modifications. Dans cette éventualité, le fabricant ne pourra pas être tenu pour responsable en cas de résultats erronés ou de tout autre incident, ni des résultats obtenus par analyse visuelle d'échantillons de patients.
- Le produit doit être utilisé exclusivement par des professionnels formés et qualifiés.
- L'équipement utilisé doit être entretenu régulièrement, conformément aux instructions du fabricant, et son bon fonctionnement doit être testé avant utilisation.
- Les bandelettes de test et les réactifs sont prévus pour un usage diagnostique *in vitro* uniquement et les bandelettes de test sont à usage unique. Les réactifs dont la date de péremption est dépassée ne doivent pas être utilisés. La stabilité du kit de test après ouverture est identique à la date de péremption figurant sur l'étiquette du kit de test. Ne pas associer à ce kit de test des réactifs d'autres fournisseurs ou des composants de kit provenant de lots différents.
- Ne pas utiliser les composants du kit de test si leur emballage est endommagé. Inspecter visuellement toutes les solutions pour l'absence de contamination microbienne avant usage. Retirer les flacons immédiatement après usage pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne. Le kit de test a été validé pour utilisation à température ambiante (20-22 °C). Des températures plus élevées ou plus basses sont susceptibles d'entraîner des résultats divergents ne répondant pas aux critères de contrôle de qualité.
- La procédure de lavage revêt une extrême importance. Un lavage incomplet engendrera des résultats erronés.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement positifs, il est conseillé de réaliser toutes les étapes de pipetage avec le plus grand soin. Utiliser uniquement des embouts de pipettes, des distributeurs et de la vaisselle de laboratoire propres.
- Certains composants du kit de test contiennent de la sérumalbumine bovine qui, selon le fabricant, ne possède pas de potentiel infectieux connu. En raison de la présence possible d'agents infectieux indétectables, nous recommandons de traiter tout produit d'origine animale comme potentiellement infectieux.
- Les règles de sécurité suivantes doivent être respectées avec tous les réactifs :
 - Éviter tout contact avec les yeux, la peau ou les vêtements (P282). Ne pas respirer les vapeurs/aérosols (P280).
 - EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche. NE PAS faire vomir (P301/330/331).
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/souder doucher (P303/361/353).
 - EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer (P304/340).
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer (P305/351/338).
 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. (P270).