Abstract CFA

**Mise au point d’une nouvelle méthode de diagnostic des allergènes du froment par Western blot 2D**

INTRODUCTION

L’allergie au froment est relativement fréquente et ses manifestations cliniques sont variées selon l’allergène impliqué et la voie d’exposition : l’anaphylaxie alimentaire induite par l’effort (AAIE), l’asthme du boulanger (AB), la dermatite atopique (DA), la réaction croisée aux pollens de graminées et l’urticaire. De nombreux allergènes du froment ont été décrits mais restent méconnus et les techniques traditionnelles de diagnostic permettent d’identifier les sensibilisations à peu d'allergènes moléculaires. Un faible nombre de ces allergènes ont été décrit dans des manifestations cliniques spécifiques de l’allergie au froment comme l’ω5-gliadine qui est responsable de l’AAIE. Notre étude propose d’utiliser le Western blot 2D afin d’aider au meilleur diagnostic de l’allergie au froment.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons sélectionné 169 patients sensibilisés au froment issus de la sérothèque du CHU de Liège. Des extraits protéiques standardisés obtenus à partir de graines de froment ont été séparés en deux dimensions (2D) sur base de leur point isoélectrique et de leur taille. Nous avons analysé les sérums des différents patients par western blot sur ces extraits standardisés séparés en 2D (WB 2D) et comparé leurs profils de sensibilisation.

RESULTATS

L’histoire clinique de ces patients permet de distinguer quatre groupes : AAIE, DA, rhinite pollinique et un groupe reprenant des patients présentant plusieurs manifestations cliniques. La comparaison des profils protéiques allergéniques obtenus en WB 2D au sein de chaque groupe nous a permis d’isoler des zones protéiques spécifiques à chaque groupe de patients. Pour le groupe AAIE, nous avons observé un profil protéique allergénique spécifique aux environs de 37 kDa au pH 6-9 et de 37 à 50 kDa au pH de 5-6. Pour le groupe DA, le profil protéique allergénique observé se trouve aux environs de 50 kDa au pH 9, de 10 kDa au pH 9 et de 20 à 75 kDa au pH3. Pour le groupe rhinite pollinique, le profil protéique allergénique se trouve aux environs de 90 kDa au pH 9. Enfin, pour le groupe de patients présentant plusieurs manifestations cliniques, nous n’avons pas encore observé de profil protéique spécifique.

CONCLUSION

A ce stade de l’expérimentation, les profils obtenus ont permis d’identifier des zones protéiques spécifiques aux différents groupes de patients étudiés. Cependant, la matrice du froment étant trop complexe, il est très difficile de lier un spot (ou une zone de spots) à un allergène précis. Ce lien sera ultérieurement établi par une identification par spectrométrie de masse.

EAACI

Introduction

Wheat allergy is relatively common and its clinical manifestations depend on the involved allergen and the route of exposure: wheat dependent exercise induced anaphylaxis (WDEIA), baker's asthma (AB), dermatitis atopic (DA), the cross reaction to grass pollen and urticaria. Many allergens of wheat have been described but remain unrecognized and traditional diagnostic techniques can identify sensitization to only a few molecular allergens. Our study proposes to use the 2D Western blot to assist in better diagnosis of wheat allergy.

Material and methods

We selected 169 patients sensitized to wheat from the serum bank of the University Hospital of Liege. Standardized protein extracts obtained from wheat seeds were separated into two dimensions (2D) on the basis of their isoelectric point and their size. We analyzed sera of different patients by Western blotting on these standardized extracts separated 2D (WB 2D) and we compared their profiles sensitization.

Results

The clinical history of these patients allows to distinguish four groups: AAIE, DA, pollen rhinitis and a group of patients with multiple clinical manifestations. The comparison of allergenic protein profiles obtained by WB 2D within each group allowed us to isolate specific areas of protein for each patient group. For AAIE group, we observed a specific allergenic protein profile around 37 kDa at pH 6-9 and 37-50 kDa at pH 5-6. For the DA group, the allergenic protein profile observed is around 50 kDa pH 9, 10 kDa pH 9 and 20 to 75 kDa pH3. For the pollen rhinitis group, the allergenic protein profile is around 90 kDa pH 9. Finally, for the group of patients with multiple clinical manifestations, we don’t have yet seen specific protein profile.

Conclusion

At this stage of the experiment, the profiles obtained have identified areas of specific proteins within the patient groups studied. However, the wheat matrix being too complex, it is very difficult to relate a spot (or a spot area) to a specific allergen. This link will be established subsequently by identification by mass spectrometry.