



## (12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 34983 B1** (51) Cl. internationale : **G01N 33/50**

(43) Date de publication :  
**03.04.2014**

---

(21) N° Dépôt :  
**33470**

(22) Date de Dépôt :  
**29.12.2010**

(71) Demandeur(s) :  
**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH, Route d'Imouzzer BP2626 30000 FES (MA)**

(72) Inventeur(s) :  
**LOTFI AARAB ; OUAHIDI IBTISSAM**

(74) Mandataire :  
**IBTISSAM OUAHIDI**

---

(54) Titre : **TROUSSE DE QUANTIFICATION DES IgE HUMAINS ANTI-UN COCKTAIL DE PROTEINS D'ARACHIDES**

(57) Abrégé : Ce brevet décrit une trousse analytique de révélation chez l'Homme de la présence d'anticorps de type IgE anti-un cocktail de protéines d'arachide d'origine marocaine. C'est une trousse quantitative pour le dosage des IgE spécifiques anti-arachides au profit des allergiques à l'arachide. Il s'agit d'un test immunoenzymatique rapide (durée 2h) dont l'utilisation permet de confirmer la sensibilité des patients à l'arachide. Le test est basé sur une réaction anticorps-antigène. Les arachides sont fixées aux puits. Ces protéines vont être reconnues par les sérums humains. Ces complexes «Protéines-Anticorps» sont révélés par des anticorps anti-IgE humains marqués à la peroxydase. La révélation est réalisée par l'addition de l'OPD (O-Phenylenediamine) qui donne une coloration dont l'intensité est proportionnelle à la fixation des anticorps.

## **6- Expression des résultats**

Les valeurs d'absorbances des étalons doivent être présentées sur un graphe en fonction de la concentration des IgE (en UI/ml).

La concentration des IgE Humaines anti-arachides présente dans les sérums est déduite à partir du graphe.

## **Abrégé**

Ce brevet décrit une trousse analytique de révélation chez l'Homme de la présence d'anticorps de type IgE anti-un cocktail de protéines d'arachide d'origine marocaine. C'est une trousse quantitative pour le dosage des IgE spécifiques anti-arachides au profit des allergiques à l'arachide. Il s'agit d'un test immunoenzymatique rapide (durée 2h) dont l'utilisation permet de confirmer la sensibilité des patients à l'arachide.

Le test est basé sur une réaction anticorps-antigène. Les arachides sont fixées aux puits. Ces protéines vont être reconnues par les sérums humains. Ces complexes « Protéines-Anticorps » sont révélés par des anticorps anti-IgE humains marqués à la peroxydase. La révélation est réalisée par l'addition de l'OPD (O-Phénylenediamine) qui donne une coloration dont l'intensité est proportionnelle à la fixation des anticorps.

01 AVR 2014

34583

N° de dépôt du dossier : 33470

# Trousse de quantification des IgE humaines anti-un cocktail de protéines d'arachides

## Description

### 1-Introduction

L'arachide est l'un des allergènes majeurs causant une allergie alimentaire chez les enfants et les adultes. La prévalence de l'allergie à l'arachide varie selon les pays. Ceci peut être expliqué par les différentes habitudes de consommation des arachides dans les populations concernées.

Les allergènes alimentaires d'origine animale prédominent (53%) chez l'enfant jusqu'à 8 ans (Moneret-Vautrin et al., 1998), alors que ceux d'origine végétale demeurent majoritaires chez l'adolescent et chez l'adulte. Après 3 ans, l'arachide devient le principal allergène responsable d'allergie alimentaire ; il se situe à la seconde place après l'œuf (Moneret-Vautrin, 2001).

La prévalence de l'allergie à l'arachide chez les enfants au Maroc a été estimée, en se basant sur des tests cutanés, à 3% de la région de Marrakech (Ghadi et al., 2007) et à 2,7% dans la région de Fès-Meknès en se basant sur les mesures des IgE spécifiques (Ouahidi et al., 2010).

Le Maroc a connu une augmentation de la consommation de l'arachide passant de 233 tonnes en 2000 à 7117 tonnes en 2009 (Ministère du Commerce Extérieur).

L'arachide est la cause majeure des décès et de mort subite suite à une allergie alimentaire. Dutau et al. (1994) remarquent que sur 70 cas d'anaphylaxie alimentaire, 28 sont dus à l'arachide, ce qui représente 40% des allergies alimentaires. D'après Sicherer (2002), l'allergie à l'arachide serait responsable de 23% à 47% des réactions anaphylactiques causées par les aliments. Dans une autre étude, un patient sur dix est

hospitalisé d'urgence sur 662 cas allergiques à l'arachide ; les symptômes s'avèrent plus grave chez l'adulte (Hourihane et al., 1997).

Les symptômes de l'allergie à l'arachide sont immédiats et se manifestent par des troubles digestifs, respiratoires, cutanés, qu'on peut observer après ingestion de l'allergène et aussi par inhalation ou au contact cutané.

Notre invention consiste à réaliser une trousse analytique pour le dosage des IgE humaines anti-un cocktail d'arachide d'origine marocaine incluant plusieurs variétés d'espèce d'arachide consommées au marché marocain.

## **2- Présentation du Kit**

Il s'agit d'un test immunoenzymatique pour la quantification des anticorps de type IgE humaines spécifiques anti-un cocktail de protéines d'arachide. Tous les réactifs nécessaires pour la réalisation du test sont contenus dans le Kit. Le test suffit pour 48 essais.

Temps de révélation : Test .....approx. 2 h

## **3 Matériel et réactifs utiles**

Dans chaque trousse sont fournies :

- 1 Plaque de Microtitration avec 96 puits pre-coated avec les protéines d'arachide.
- 5 x Etalons d'IgE (A0 à A5) 3 ml 0, 1, 5, 10, 50 UI/ml
- Solution1« Conjugate » contenant les anti-IgE humain conjugués à la peroxydase 15 ml
- Solution2 « Substrat » de la peroxydase 15 ml
- Solution3 « arrêt » 15 ml
- Solution4 « lavage » 300 ml
- Solution5 « dilution » des sérums

**4- Méthode**

Les sérums humains sont déposés après dilution (dans la solution 5, au minimum 1/3) dans la plaque. Ces sérums sont mis en contact avec les allergènes immobilisés pendant une 45 min à 37°C (100 µl par puits).

En parallèle, il faudra réaliser la gamme d'étalonnage en se référant aux étalons (A0-A5). Après le lavage de la plaque (trois lavages avec solution de lavage), l'anticorps monoclonal anti-IgE humain marqué à la peroxydase est incubé (100 µl par puits de la solution 1) pendant une 45 min à 37°C. Un autre lavage est effectué avant d'ajouter le substrat (solution 2, OPD, 100 µl).

La réaction se développe à l'abri de la lumière à 37°C pendant 10 à 20 minutes. Elle est arrêtée par l'ajout de 50 µl de la solution d'arrêt (solution 3).

**5- Réalisation du test**

|                                     |        |
|-------------------------------------|--------|
| <b>Sérum à tester</b>               | 100 µl |
| <b>Incubation à 37°C, 45 min</b>    |        |
| <b>Lavage</b>                       |        |
| <b>Solution1</b>                    | 100 µl |
| <b>Incubation à 37°C, 45 min</b>    |        |
| <b>Lavage</b>                       |        |
| <b>Solution2</b>                    | 100 µl |
| <b>Incubation à 37°C, 10-15 min</b> |        |
| <b>Solution3</b>                    | 50 µl  |

## Revendications

- 1- La trousse analytique permet de détecter les IgE des patients anti-un cocktail de protéines d'arachide.
- 2- Les protéines d'arachide utilisées correspondent à des protéines de variétés d'espèces d'arachide (*Arachis hypogaea*) couramment et spécifiquement consommées par les Marocains.
- 3- Le principe de détection de la trousse repose sur une réaction immunoenzymatique médiée par la peroxydase.
- 4- La trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle permet la réalisation de plusieurs tests sur plusieurs personnes
- 5- La trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle permet la réalisation de test sur une seule personne et son suivi
- 6- La trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle permet la réalisation du test chez l'Homme.
- 7- La trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle utilise un cocktail de protéines provenant de plusieurs variétés d'arachides pour la détection d'IgE humains spécifiques des protéines d'arachides.
- 8- La trousse analytique Selon (2) est caractérisée par ce que le test détecte la sensibilité aux protéines d'arachide.
- 9- La trousse analytique Selon (4, 5, 6) est définit en ce que le test soit utilisé pour l'analyse quantitative des IgE spécifiques anti-arachides
- 10- La trousse analytique Selon (4, 5, 6) est définit selon que le test soit utilisé pour le suivi de l'évolution des allergies à l'arachide
- 11- La trousse analytique Selon (2, 3, 4) est définit selon que le test soit utilisé pour l'évaluation de l'efficacité des traitements.