

DR. VALÉRIE SIROUX (Orcid ID : 0000-0001-7329-7237)
PROF. JEAN BOUSQUET (Orcid ID : 0000-0002-4061-4766)
DR. JOCELYNE JUST (Orcid ID : 0000-0002-5646-2429)
PROF. RUDOLF VALENTA (Orcid ID : 0000-0001-5944-3365)

Article type : Original Article: Epidemiology and Genetics

Trajectories of IgE sensitization to allergen molecules from childhood to adulthood and respiratory health in the EGEA cohort

Manuscript Acceptance Date: 15-Jun-2021

Short running title: Allergen-specific IgE patterns and respiratory health

Valérie Siroux¹, Anne Boudier¹, Jean Bousquet², Orianne Dumas³, Jocelyne Just⁴, Nicole Le Moual³, Rachel Nadif³, Raphaëlle Varraso³, Rudolf Valenta^{5,6,7,8}, Isabelle Pin^{1,9}

¹ Univ. Grenoble Alpes, Inserm, CNRS, Team of environmental epidemiology applied to Reproduction and Respiratory health, IAB, 38000 Grenoble, France

² MACVIA-France, Montpellier, France.

³ Université Paris-Saclay, UVSQ, Univ. Paris-Sud, Inserm, Équipe d'Épidémiologie respiratoire intégrative, CESP, 94807, Villejuif, France

⁴ Department of Allergology, Sorbonne Université Paris, France, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, APHP, 26 avenue du Dr Netter, 75012 Paris, France

⁵ Division of Immunopathology, Dept. of Pathophysiology and Allergy Research, Center for Pathophysiology, Infectiology and Immunology, Medical University of Vienna, Austria

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the [Version of Record](#). Please cite this article as [doi: 10.1111/ALL.14987](https://doi.org/10.1111/ALL.14987)

This article is protected by copyright. All rights reserved

⁶ NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow, Russia; Laboratory for Immunopathology, Department of Clinical Immunology and Allergy, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia.

⁷ Laboratory for Immunopathology, Department of Clinical Immunology and Allergy, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia.

⁸ Karl Landsteiner University of Health Sciences, Krems, Austria.

⁹ Pediatric Department, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

Corresponding author:

Valérie Siroux

Institut pour l'Avancée des Biosciences

Equipe d'épidémiologie environnementale appliquée au développement et à la santé respiratoire

Centre de Recherche UGA / Inserm U 1209 / CNRS UMR 5309

Site Santé – Allée des Alpes

38700 La Tronche

Tel: +33 4 76 54 95 56

Email: valerie.siroux@univ-grenoble-alpes.fr

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all those who participated in the setting of the EGEA study and on the examinations of the individuals. The authors are grateful to the 3 CIC-Inserm of Necker, Grenoble and Marseille who supported the EGEA study and in which participants were examined. They are indebted to all the individuals who participated to the EGEA study without whom the study would not have been possible.

The authors acknowledge the EGEA study group:

Coordination: V Siroux (epidemiology, PI since 2013); F Demenais (genetics); I Pin (clinical aspects); R Nadif (biology); F Kauffmann (PI 1992-2012).

Respiratory epidemiology: *Inserm ex-U 700, Paris:* M Korobaeff (Egea1), F Neukirch (Egea1); *Inserm ex-U 707, Paris:* I Annesi-Maesano (Egea1-2); *Inserm U 1018, Villejuif:* O Dumas, F Kauffmann, N Le Moual, R Nadif, MP Oryszczyn (Egea1-2), R Varraso; *Inserm U 1209 Grenoble:* J Lepeule, V Siroux.

Genetics: *Inserm ex-U 393, Paris:* J Feingold; *Inserm UMR 1124, Paris:* E Bouzigon, MH Dizier, F Demenais; *CNG, Evry:* I Gut (now CNAG, Barcelona, Spain), M Lathrop (now Univ McGill, Montreal, Canada).

Clinical centers: *Grenoble:* I Pin, C Pison; *Lyon:* D Ecochard (Egea1), F Gormand, Y Pacheco; *Marseille:* D Charpin (Egea1), D Vervloet (Egea1-2); *Montpellier:* J Bousquet; *Paris Cochin:* A Lockhart (Egea1), R Matran (now in Lille); *Paris Necker:* E Paty (Egea1-2), P Scheinmann (Egea1-2); *Paris-Trousseau:* A Grimfeld (Egea1-2), J Just.

Data management and quality: *Inserm ex-U155, Paris:* J Hochez (Egea1); *Inserm U 1018, Villejuif:* N Le Moual, L Orsi; *Inserm ex-U780, Villejuif:* C Ravault (Egea1-2); *Inserm ex-U794, Evry:* N Chateigner (Egea1-2); *Inserm UMR 1124, Paris:* H Mohamdi; *Inserm U1209, Grenoble:* A Boudier, J Quentin (Egea1-2).

Fundings

The study was supported in part by ANR-19-CE36-0005-01 NIRVANA, Inserm Aviesan Itmo santé publique, the Scientific committee “AGIR for chronic diseases”, grant F4605 of the Austrian Science Fund (FWF), grant from the Country of Lower Austria and by the Megagrant of the Government of the Russian Federation, grant number 14.W03.31.0024 to Rudolf Valenta and by the European Commission’s Seventh Framework Program MeDALL under grant agreement no. 261357.

Authors contribution

V Siroux was involved in the conception, hypotheses delineation and design of the analysis; V Siroux, J Bousquet, J Just, N Le Moual, R Nadif, R Valenta, R Varraso and I Pin participated in the acquisition of the data; V Siroux and A Boudier designed and conducted the statistical analysis

and interpretation; V Siroux wrote the article; All authors reviewed the manuscript and revised it critically. All authors approved the final version of the manuscript.

Conflict of Interest Statement

I. Pin reports personal fees for presentation from GSK, personal fees from AGIRàdom and travel support from SANOFI, outside the submitted work. R. Valenta reports grants and personal fees from Viravaxx, Vienna, Austria, grants and personal fees from Worg Pharmaceuticals, Hangzhou, China, grants from HVD Biotech, Vienna, Austria, outside the submitted work. J. Bousquet reports personal fees from Chiesi, Cipla, Hikma, Menarini, Mundipharma, Mylan, Novartis, Sanofi-Aventis, Takeda, Teva, Uriach, other from KYomed-Innov, outside the submitted work. J. Just reports personal fees from Novartis grants from Astra zeneca, personal fees from Thermofischer, outside the submitted work. The rest of the authors declare that they have no relevant conflicts of interest.

ABSTRACT

Background: Longitudinal studies assessing the association of profiles of allergen-specific IgE (sIgE) sensitization to a large range of allergen molecules and respiratory health are rare. We aimed to assess trajectories of molecular sIgE sensitization profiles from childhood to adulthood and their associations with respiratory health.

Methods: IgE reactivity to microarrayed allergen molecules were measured in childhood (EGEA1) and 12-years later in adult life (EGEA2) among 291 EGEA participants (152 with asthma). At each time point, sIgE sensitization profiles were identified by latent class analysis (LCA) by considering IgE-reactivity to the 38 most prevalent respiratory allergens. The LCA-defined profiles were then studied in association with respiratory health.

Results: At baseline, the mean (min-max) age of the population was 11 (4.5-16) years. The LCA identified four sIgE sensitization profiles which were very similar at both time points (% at EGEA1 and EGEA2); A: "no/few allergen(s)" (48%, 39%), B: "pollen/animal allergens" (18%, 21%), C: "most prevalent house dust mite allergens" (22%, 27%) and D: "many allergens" (12%, 13%). Overall, 73% of the participants remained in the same profile from childhood to adulthood. The profiles were associated with asthma and rhinitis phenotypes. Participants of profiles C and D had lower FEV₁% and FEF₂₅₋₇₅% as compared to profile A. Similar patterns of associations were observed for participants with asthma. There was no association with change in lung function.

Conclusion: Using high resolution sIgE longitudinal data, the LCA identified four molecular sensitization profiles, mainly stable from childhood to adulthood, that were associated with respiratory health.

KEY WORDS

IgE, asthma, epidemiology

Abbreviations

BIC: Bayesian Information Criterion

EGEA: Epidemiological Study on the Genetics and Environment of Asthma

FEV₁: Forced Expiratory Volume in 1 second

FEF₂₅₋₇₅: Forced Expiratory Flow at 25-75% of forced vital capacity

FVC: Forced Vital Capacity

HDM: House Dust Mite

IgE: Immunoglobulin E

ISU: ISAC standardized units

LCA: Latent Class Analysis

MeDALL: Mechanisms of the Development of ALLergy

sIgE: allergen-specific Immunoglobulin E

INTRODUCTION

Asthma and sensitization often manifest concomitantly.¹ The causative role of IgE in the development of asthma was discussed,^{1–3} but in the last decade an important role of sensitization was found in the development of asthma and in asthma severity.^{4,5} In addition, the concept of polysensitization was introduced as a risk factor for respiratory allergy.^{6–8} Studies based on a testing IgE reactivity to a limited number of common allergen extracts showed specific cross-sectional association with age for each allergen extract⁹ and indicated a possible association between sensitization to specific allergen extracts and asthma or allergic phenotypes.¹⁰

More recently, advances in allergen-microarrays technology detecting IgE reactivities towards a large set of allergen molecules rather than whole extracts, allowed detailed information on the individual sensitization profile in large scale studies.¹¹ Epidemiological studies conducted in children and adults showed that sensitization to house dust mites and animal allergens was predominantly associated with asthma and sensitization to pollens predominantly associated with rhinitis.^{12,13} These first studies were still limited because profiles of sensitization were *a posteriori* characterized from multiple analyses considering each allergen-specific IgE (sIgE) response independently of the others.

More comprehensive approaches, relying on cluster-based or machine learning methods, allow the joint analyze of sIgE responses to a wide spectrum of allergen molecules and could provide a broader view on the sIgE sensitization profiles and their association with allergic diseases.^{12,14–17} In the MAAS (Manchester Asthma and Allergy Study) cohort, statistical clustering methods identified specific response profiles among children, each comprising different families of proteins, that were associated with different allergic phenotypes.^{14,16} Based on data from the same cohort, an unsupervised machine learning technique identified 18 pairs of sIgE responses associated with asthma and concluded that the relationship between sensitization and asthma is complex and cannot be reduced to a few isolated allergen molecules.¹⁵ More recently, a study from the U-BIOPRED asthma cohort identified independently in school-age children and in adults four sensitization clusters, that showed similarities with those identified in MAAS; however these profiles were not associated with asthma severity.¹⁷ To our knowledge, such comprehensive cluster-based approaches have never been applied on longitudinal data from childhood to adult life, to address the stability of the sIgE sensitization profiles at this critical period of time, and the

association of these sIgE sensitization profiles with respiratory health, including objective lung function parameters.

The aim of this longitudinal study was first to address the transition, from childhood to late adolescence/early adulthood, of the sIgE sensitization profiles based on IgE reactivity to a large range of respiratory allergen molecules. Secondly, we aimed to assess the clinical interest of the identified sIgE sensitization profiles by investigating their association with respiratory health outcomes, including phenotypes of asthma and rhinitis, asthma symptoms score, asthma severity and lung function.

METHODS

(Additional details are provided in the online supporting information)

Study design, setting and participants

The Epidemiological Study on the Genetics and Environment of Asthma (EGEA) is a French cohort including participants with asthma recruited in chest clinics, their first-degree relatives and control participants (from electoral rolls for adults and recruited in surgery department for children). In total, 1,443 adults and 604 children were recruited from 1991 to 1995 (EGEA1) through self-completed questionnaires and had a complete examination including pulmonary function tests and blood sample.¹⁸ Approximately 12 years later, this population was invited for a follow-up (EGEA2) and 1,601 participants (77.1% of the original cohort + 58 new family members) participated in another complete examination.¹⁹ Ethical approval was obtained for both surveys from the local ethics committees (Cochin Royal Hospital, Paris for EGEA1 and Necker-Enfants Malades Hospital, Paris for EGEA2).

Allergen-specific IgE (sIgE) to micro-arrayed allergen molecules were measured in 291 randomly selected participants, including 152 with asthma and 139 without asthma for whom sera had been collected at EGEA1 and EGEA2 (FIGURE S1). The selection of sera was independent of allergen-specific IgE reactivity, respiratory symptoms and lung function levels, limiting any risk for a selection bias.¹³

Allergen specific IgE (sIgE) measurements

IgE reactivity to microarrayed allergen molecules was quantitatively determined in anonymized samples with the MeDALL-chip by a blinded operator. IgE data were discretized using a binary threshold (positive >0.30 ISU).^{11,13} For computational and classification performance *a priori* selecting most relevant variables in clustering analysis is desirable. Thus, the present study focuses on sIgE to 38 *a priori* most relevant allergens selected from the 162 allergens tested as follow: 1) only the most relevant allergens for respiratory diseases were selected (n=75); 2) respiratory allergens recognized by IgE from at least 10 (3.5%) participants both at EGEA1 and EGEA2 were selected (n=43) to avoid poorly informative variables; 3) 5 redundant respiratory allergens (i.e., allergens which cross-react with other allergens, Aln g 1, Phl p 4, Cyn d 1, Der f 1 and Der f 2) were omitted as they would convey similar cluster information in Latent Class Analysis (LCA) (TABLE S1). For each participant, we further calculated the sIgE reactivity level to respiratory

allergens by calculating the mean level of sIgE (in ISU) reactivity among positive allergens (i.e. when reactivity was > 0.30 ISU).

Asthma, asthma symptoms score, asthma severity, eczema and allergic rhinitis definitions

Asthma, rhinitis and eczema were defined at EGEA1 and EGEA2 by validated questionnaires. Asthma was defined by positive answer to the question “Have you ever had attacks of breathlessness at rest with wheezing?” or “Have you ever had asthma attacks?”, or being recruited as an asthma case in chest clinics at EGEA1. Allergic rhinitis ever was defined by a positive answer to “Have you ever had allergic rhinitis?” or “Have you ever had hay fever?”. Eczema was defined by a positive answer to “Have you ever had eczema?”. The asthma symptoms score was calculated at EGEA2 from questionnaire data as previously described.²⁰ Ranging from 0 to 5, the score is based on the number of respiratory symptoms occurring in the past 12 months (see online supporting information), and therefore provides more power to detect risk factors for asthma prevalence and asthma control.^{20,21} Current asthma was defined by ≥ 1 asthma attacks or use of asthma treatment for respiratory problems in the past 12 months. Asthma severity was defined following the principle of the Global Initiative for Asthma (GINA) 2002 guideline. Subjects were identified with “moderate–severe asthma” if they reported at least one asthma attack in the past 12 months and either 1) ICS treatment use in the past 12 months; 2) an asthma score ≥ 3 ; or 3) an asthma score =2 and use of asthma treatment other than ICS. The other subjects were classified as “past or mild” asthma. This asthma severity classification has already been used.²²

Lung function measurement

Lung function tests were performed by trained technicians using a standardized protocol with regularly calibrated spirometers. Percent predicted values were computed from the Global Lung Initiative equations, hereafter referred to as FEV₁%, FVC%, FEF₂₅₋₇₅% and FEV₁/FVC %, respectively²³ and analyzed as continuous variables to maximize the statistical power in association studies.²⁴

Statistical methods

To identify sIgE sensitization profiles, LCA, a data-driven approach, was applied on IgE-reactivity to the 38 relevant respiratory allergen molecules, separately at EGEA1 and EGEA2. Each participant was assigned to the latent cluster (here defined as sIgE sensitization profile) for which he/she had the highest membership probability. The structures of the sIgE sensitization profiles

identified in childhood and in adulthood were compared by displaying the IgE-reactivity probability to individual respiratory allergen molecules for each profile using a radar chart. Then the stability at the individual level was estimated by crossing the sIgE sensitization profiles obtained at EGEA1 with those obtained at EGEA2.

Cross-sectional associations between sIgE sensitization profiles and different respiratory outcomes (asthma and rhinitis phenotypes, asthma symptoms score and lung function parameters) as well as with eosinophil counts were assessed using mixed-effect models for continuous dependent variables and generalized estimating equations with a negative binomial link function for the asthma symptoms score. Models were adjusted on age, sex, asthma, passive and active smoking to assess the associations independently of these 4 factors, and weighted on the probability of belonging to the profiles (to account for clustering uncertainty estimated by the LCA).²⁵

The association between sIgE sensitization profiles at EGEA1 and change in lung function over time was estimated using a weighted linear model adjusted on age, sex, asthma, and passive smoking at EGEA1 and the mean lung function value in the study period to avoid the interference of regression toward the mean.

In addition, because the study population was by design enriched with participants with asthma, the cross-sectional and longitudinal association analyses between sIgE sensitization profiles and respiratory outcomes were further conducted in the population restricted to participants with asthma.

RESULTS

Population description

The study included 291 children (mean (min-max) age at baseline = 11.1 (4.5-16.0); 44% girls), with a mean $\pm$ SD follow-up of 11.7 $\pm$ 1.0 years (TABLE 1). About half of the children ever had asthma (52.2%) and among those with asthma 29.3% had moderate-severe asthma at EGEA1. At EGEA1, 36.4% of children reported allergic rhinitis and 38.1% reported eczema. Mean $\pm$ SD of FEV₁%, FEF₂₅₋₇₅% and FVC% were 97.1 $\pm$ 12.6, 97.0 $\pm$ 25.6 and 96.9 $\pm$ 10.6, respectively. Children with asthma were more often boys, had a lower BMI, had significantly more often allergic-related phenotypes (sensitization, high total IgE, allergic rhinitis and eczema), lower FEF₂₅₋₇₅%, lower FEV₁/FVC% and higher eosinophil counts than those without asthma (TABLE 1).

Identification of cluster-based sIgE sensitization profiles and their evolution over time

The best fitting LCA models, performed separately at EGEA1 and EGEA2, identified four latent classes, which constituted four IgE reactivity profiles that show strong similarities at both time points (FIGURE 1). The mean $\pm$ SD of the maximum posterior probabilities of belonging to the assigned profile was high at EGEA1 (0.98 $\pm$ 0.07) and EGEA2 (0.98 $\pm$ 0.05) and did not vary across the 4 clusters, indicating a high accuracy in the membership for each profile. The sIgE sensitization profiles identified were characterized as follows:

- Profile A (frequencies of 48.5% at EGEA1 and 38.8% at EGEA2), labelled “Few allergen molecules” was mostly composed of participants with no sIgE sensitizations to respiratory allergens (65% at EGEA1 and 58% at EGEA2) or with very few sIgE sensitizations, mainly to highly prevalent respiratory allergens (Phl p 1, Der p 23 and Der p 2).
- Profile B (frequencies of 17.9% at EGEA1 and 21.3% at EGEA2), labelled “Pollen/animals allergen molecules” was mainly composed of participants with positive sIgE to timothy grass, tree allergens, cat, dog and horse allergens.
- Profile C (frequencies of 22.0% at EGEA1 and 27.2% at EGEA2), labelled “Most prevalent HDM allergen molecules” was composed of participants with sIgE to some prevalent house dust mite (HDM) allergens (Der p 1, Der p 2, Der p 4, Der p 5, Der p 7, Der p 10, Der p 21, and Der p 23).
- Profile D (frequencies of 11.7% at EGEA1 and 12.7% at EGEA2), labelled “Many allergen molecules” was composed of participants with a higher rate of sIgE sensitization to various

respiratory allergens, including pollens, animals, latex and HDM, including the least prevalent HDM allergens (Der p 14, Der p 15 and Der p 18).

Overall, 73% of the participants belonged to the same sIgE sensitization profile at EGEA1 and EGEA2 (TABLE 2). The concordance was the lowest for profile D (56%) and similar for the three other profiles (73%-77%). Among participants assigned to profile D at EGEA1, those who moved to profile C (41%) had a lower number of positive sIgE at EGEA1 as compared to those who remained in profile D (median[25-75 percentiles] were 16[13-17] vs. 18[16-20], $p=0.02$) but no significant difference was observed for the levels of sIgE reactivity (median[25-75 percentiles] were 18.0[9.2-25.2] vs. 18.7[9.4-31.4], $p=0.44$).

Characterization of sIgE sensitization profiles

The mean age was similar in the four profiles A-D. There were significantly more girls in profile A and fewer in profile C (55.3% vs. 20.6% and 57.5% vs. 29.7% at EGEA1 and EGEA2, respectively). In the whole population, the sIgE sensitization profiles significantly differed regarding total IgE levels, numbers of molecules with positive sIgE and mean levels of sIgE reactivity, both at EGEA1 and EGEA2. Overall, profile A showed the lowest values and profile D showed the highest values for each of the latter parameters (TABLE S2). The analysis among participants with asthma showed similar results as the whole population (TABLE S2) and no differences on asthma severity.

Association between cluster-based sIgE sensitization profiles, respiratory outcomes, and eosinophil counts

The profiles were significantly associated with asthma and rhinitis phenotypes ($p<0.0001$) at each time point (FIGURE 2). At EGEA1, participants with no asthma and no rhinitis were predominantly in profile A (87%), while those with no asthma but rhinitis were predominantly in profile B (63%), those with asthma but no rhinitis were predominantly in profiles A (32%) and C (37%) and those with both asthma and rhinitis were predominantly in profiles C (37%) and D (28%). Among participants of profile D, all except one had asthma and 71% had asthma and rhinitis. A similar pattern of association was observed at EGEA2 (FIGURE 2).

Regarding the asthma symptoms score, both in the whole population and in the restricted analysis to participants with asthma, a significant association was observed, with a higher score in profiles B, C and D as compared to profile A (TABLE 3). No association was observed between profiles

B, C and D. Asthma severity was not associated with the sIgE sensitization profiles. The eosinophils count gradually increased from profiles A, B, C and D (TABLE 3).

FEV₁% and FEF₂₅₋₇₅% levels were significantly lower in profile D as compared to profile A. Lower FEV₁% and FEF₂₅₋₇₅% levels in profile C as compared to profile A were also found with borderline significance (p=0.08 and p=0.07, respectively) (FIGURE 3). No association was observed for profile B compared to profile A or for FVC% or FEV₁/FVC% for each of the profiles. Similar patterns of associations were observed in individuals with asthma although only the association between profile D and FEF₂₅₋₇₅% remained statistically significant (p=0.04), partly because of the low sample size (FIGURE 3).

The cluster-based sIgE sensitization profiles at EGEA1 were not associated with the 12-year change in lung function, whatever lung function parameter (FIGURE S2). Similarly, no association was observed in the analysis of participants with asthma.

DISCUSSION

This study is the first to characterize the sensitization to a large number of respiratory allergen molecules assessed on two occasions in the same population, first in childhood and then in late adolescence/early adulthood, and to investigate the associations between the identified sIgE molecular sensitization profiles with several defined respiratory outcomes. LCA identified four sIgE sensitization profiles to respiratory allergen molecules. Interestingly, they showed similar structure in childhood and almost 12 years later in adulthood, and were characterized as follows: Profile A: “few allergen molecules”, profile B: “pollen or animals allergen molecules”, profile C: “most prevalent HDM allergen molecules” and profile D: “many allergen molecules”. The identified profiles were strongly associated with asthma and rhinitis phenotypes. Individuals belonging to one of the two following sIgE sensitization profiles C and D had lower FEV₁ and FEF₂₅₋₇₅ levels as compared to those belonging to profile A. Interestingly, the sIgE sensitization profiles were not associated with the evolution of lung function, or with an indicator of asthma severity.

The four profiles identified accord strongly with sensitization profiles identified in 11-year old children from the population-based birth cohort MAAS,¹⁵ or in 238 school-age children and in 491 adults with asthma from U-BIOPRED,¹⁷ or in 125 6-12 year-old children with asthma in France.²⁶ Importantly, we extended these findings with longitudinal data showing similarity of the structure of the molecular sensitization profiles in childhood and in young adult life in the same population, suggesting a genetic component. A strong stability of the sIgE profiles at the individual level was found, since nearly three-quarter of the participants remained in the same profile 12 years later. Nevertheless, profile D showed the strongest transition rate: 41% of children initially assigned to profile D in childhood were assigned to profile C in adulthood and those children recognized a lower number of allergen molecules with sIgE but exhibited similar levels of sIgE as compared to those that remained in profile D.

This unsupervised cluster-based analysis reinforced results from previous studies conducted in children and adults, indicating that asthma and rhinitis exhibit different sIgE sensitization patterns, with asthma characterized by a predominant HDM sensitization, rhinitis characterized by a predominant sensitization to pollen/animal allergens and the asthma-rhinitis multimorbidity characterized by sIgE to many allergens from multiple molecular families and sources.^{13,15,27} This is in line with the genomic approach of MeDALL where patients allergic to pollens alone had

rhinitis and a TLR signature whereas those with multimorbidity had an IL-5/IL-25 signature with eosinophilia and polysensitization.²⁸ In addition, in agreement with a previous study,¹⁷ our study identified sIgE sensitization profiles as biomarkers for clinical phenotypes but not biomarkers for grading asthma severity.

Previous studies already identified a specific phenotype, labelled “allergy multimorbid IgE-polysensitized” characterized by patients with both polysensitization and allergic multimorbidity, and showed that this phenotype was associated with asthma and rhinitis severity.^{5,30–32} A causal network concluded that allergen sensitization might impact asthma severity through several pathways, including rhinitis severity and pulmonary physiology, both being linked to allergic inflammation. Results from our analysis among participants with asthma extend the allergen sensitization – pulmonary physiology association in asthma, by indicating that the sensitization profile is important. Indeed, while two sIgE profiles, C “major HDM allergen” and to a greater extent D “many allergens” profiles were associated with lower FEF₂₅₋₇₅ levels, the profile characterized by “pollen/animals allergens” was not associated with lower lung function. It is important to note that stronger associations were observed with FEF₂₅₋₇₅ - a spirometric parameter considered to be more associated with small airway caliber as compared to FEV₁,³³ and to have prognostic values for asthma persistence and poor asthma outcomes.³⁴ Noteworthy, by showing that there was no association between the sIgE sensitization profiles with the evolution of lung function, our findings might indicate that the “major HDM allergen” and “many allergens” profiles C and D are associated with the persistent low lung function trajectory from early life, a trajectory associated with increased risk of developing COPD later in life.³⁵ Overall, these findings have direct clinical implications, as they reinforce the need for increased vigilance, including measuring of lung function, in children presenting these two sensitization profiles. Further analysis with longer follow-up, up to mid-adulthood, would be required to assess whether identified sIgE sensitization profiles are associated with the risk of lung function decline in adulthood.

One of the main strengths of this study relies on the longitudinal data collected in the EGEA study, with deep phenotypic characterizations, including carefully and standardized lung function measurements as well as sIgE sensitization to a large range of respiratory allergen molecules by the validated MeDALL allergen micro-array.^{11,36} In addition, by investigating the sIgE sensitization profiles in the same population approximately 12 years apart, our study provides a unique opportunity to address the evolution of the profiles at the individual level. A further asset

lies in the analytical approach consisting in jointly analyzing IgE-reactivity to a large set of allergen components. When it comes to the association study, by summarizing sIgE sensitization within few profiles, our approach has the advantage to avoid issues related to multiple testing and to account for potential additive or multiplicative effects of IgE-reactivity to allergen components.

Our study has also weaknesses. Our study population, that includes half of the individuals with asthma, is not representative of the general population. However, given the low prevalence of IgE-reactivity to many respiratory allergen components in the general population, our study based on a population enriched with individuals with asthma and who are therefore at risk for sensitization, was efficient to address sIgE sensitization profiles in almost 300 individuals. In the association analysis with lung function, regression models in the whole study population were adjusted on asthma and additional analyses were conducted among participants with asthma to account for this specific study design. Indeed, results from these different analytical approaches led to similar estimates suggesting the robustness of our findings. Nevertheless, a selection bias cannot be completely dismissed due to conditioning on asthma, a potential collider in the association between sensitization profiles and lung function.³⁷ This would be valid if one assumes that impaired lung function is a risk factor for asthma, which remains debated since individuals with asthma may have a loss in lung function due to early remodeling of the airways.³⁸ Finally, the cluster-based approach used generates hypothesis and thus complements a clinical approach in an iterative and multidisciplinary process aimed to provide a better understanding of the sIgE sensitization patterns.³⁹ This approach is still exploratory in nature but demonstrates that it may be possible to define sIgE sensitization profiles in childhood as predictive biomarkers for clinical phenotypes.

Conclusion

Our findings suggest that IgE-reactivity towards a large set of respiratory allergen molecules can be summarized by four sIgE sensitization profiles, which are persistent over time at the individual level and are associated with respiratory health, including lung function level. This study indicates that individuals with asthma sensitized to most prevalent HDM allergens and to a greater extent those sensitized to many allergens, including both perennial and pollen allergens, should benefit from reinforced attention to preserve their respiratory health.

REFERENCES

1. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med* 1989;320(5):271–277.
2. Sherrill DL, Stein R, Halonen M, Holberg CJ, Wright A, Martinez FD. Total serum IgE and its association with asthma symptoms and allergic sensitization among children. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104(1):28–36.
3. Illi S, Mutius E von, Lau S, et al. The pattern of atopic sensitization is associated with the development of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5):709–714.
4. Del Giacco SR, Bakirtas A, Bel E, et al. Allergy in severe asthma. *Allergy* 2017;72(2):207–220.
5. Liu AH, Babineau DC, Krouse RZ, et al. Pathways through which asthma risk factors contribute to asthma severity in inner-city children. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(4):1042–1050.
6. Simpson A, Tan VY, Winn J, et al. Beyond atopy: multiple patterns of sensitization in relation to asthma in a birth cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181(11):1200–6.
7. Hose AJ, Depner M, Illi S, et al. Latent class analysis reveals clinically relevant atopy phenotypes in 2 birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(6):1935–1945.
8. Jong AB de, Dikkeschei LD, Brand PLP. Sensitization patterns to food and inhalant allergens in childhood: a comparison of non-sensitized, monosensitized, and polysensitized children. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22(2):166–171.
9. De Amici M, Ciprandi G. The Age Impact on Serum Total and Allergen-Specific IgE. *Allergy Asthma Immunol Res* 2013;5(3):170–174.
10. Stoltz DJ, Jackson DJ, Evans MD, et al. Specific patterns of allergic sensitization in early childhood and asthma & rhinitis risk. *Clin Exp Allergy* 2013;43(2):233–41.
11. Lupinek C, Wollmann E, Baar A, et al. Advances in allergen-microarray technology for diagnosis and monitoring of allergy: the MeDALL allergen-chip. *Methods* 2014;66(1):106–19.
12. Prosperi MCF, Belgrave D, Buchan I, Simpson A, Custovic A. Challenges in interpreting allergen microarrays in relation to clinical symptoms: a machine learning approach. *Pediatr Allergy Immunol* 2014;25(1):71–79.
13. Siroux V, Ballardini N, Soler M, et al. The asthma-rhinitis multimorbidity is associated with IgE polysensitization in adolescents and adults. *Allergy* 2018;73(7):1447–1458.

14. Simpson A, Lazic N, Belgrave DCM, et al. Patterns of IgE responses to multiple allergen components and clinical symptoms at age 11 years. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1224–1231.
15. Fontanella S, Frainay C, Murray CS, Simpson A, Custovic A. Machine learning to identify pairwise interactions between specific IgE antibodies and their association with asthma: A cross-sectional analysis within a population-based birth cohort. *PLoS Med* 2018;15(11):e1002691.
16. Howard R, Belgrave D, Papastamoulis P, Simpson A, Rattray M, Custovic A. Evolution of IgE responses to multiple allergen components throughout childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142(4):1322–1330.
17. Roberts G, Fontanella S, Selby A, et al. Connectivity patterns between multiple allergen specific IgE antibodies and their association with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146(4):821–830.
18. Kauffmann F, Dizier MH, Annesi-Maesano I, et al. EGEA (Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma, bronchial hyperresponsiveness and atopy)-- descriptive characteristics. *Clin Exp Allergy* 1999;29 Suppl 4:17–21.
19. Siroux V, Boudier A, Bousquet J, et al. Phenotypic determinants of uncontrolled asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(4):681–687.
20. Pekkanen J, Sunyer J, Anto JM, Burney P. Operational definitions of asthma in studies on its aetiology. *Eur Respir J* 2005;26(1):28–35.
21. Sunyer J, Pekkanen J, Garcia-Esteban R, et al. Asthma score: predictive ability and risk factors. *Allergy* 2007;62(2):142–148.
22. Sintobin I, Siroux V, Holtappels G, et al. Sensitisation to staphylococcal enterotoxins and asthma severity: a longitudinal study in the EGEA cohort. *European Respiratory Journal* 2019;in press.
23. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J* 2012;40(6):1324–43.
24. Altman DG, Royston P. The cost of dichotomising continuous variables. *BMJ* 2006;332(7549):1080.
25. Chanoine S, Sanchez M, Pin I, et al. Multimorbidity medications and poor asthma prognosis. *Eur Respir J* 2018;51(4):1702114.
26. Just J, Saint-Pierre P, Gouvis-Echraghi R, et al. Childhood allergic asthma is not a single

phenotype. *J Pediatr* 2014;164(4):815–20.

27. Schmidt F, Hose AJ, Mueller-Rompa S, et al. Development of atopic sensitization in Finnish and Estonian children: A latent class analysis in a multicenter cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143(5):1904-1913.e9.
28. Lemonnier N, Melén E, Jiang Y, et al. A novel whole blood gene expression signature for asthma, dermatitis, and rhinitis multimorbidity in children and adolescents. *Allergy* 2020;75(12):3248–3260.
29. Illi S, Mutius E von, Lau S, et al. Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet* 2006;368(9537):763–770.
30. Zoratti EM, Krouse RZ, Babineau DC, et al. Asthma phenotypes in inner-city children. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(4):1016–1029.
31. Pongracic JA, Krouse RZ, Babineau DC, et al. Distinguishing characteristics of difficult-to-control asthma in inner-city children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(4):1030–1041.
32. Blöndal V, Sundbom F, Borres MP, et al. Study of atopic multimorbidity in subjects with rhinitis using multiplex allergen component analysis. *Clin Transl Allergy* [Internet] 2020 [cited 2020 Oct 16];10(6). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13601-020-0311-6>
33. McFadden ER Jr, Linden DA. A reduction in maximum mid-expiratory flow rate. A spirographic manifestation of small airway disease. *Am J Med* 1972;52(6):725–37.
34. Siroux V, Boudier A, Dolgopolofov M, et al. Forced midexpiratory flow between 25% and 75% of forced vital capacity is associated with long-term persistence of asthma and poor asthma outcomes. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(6):1709–16.
35. Bui DS, Lodge CJ, Burgess JA, et al. Childhood predictors of lung function trajectories and future COPD risk: a prospective cohort study from the first to the sixth decade of life. *Lancet Respir Med* 2018;6(7):535–544.
36. Siroux V, Lupinek C, Resch Y, et al. Specific IgE and IgG measured by the MeDALL allergen-chip depend on allergen and route of exposure: The EGEA study. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(2):643–654.
37. Cole SR, Platt RW, Schisterman EF, et al. Illustrating bias due to conditioning on a collider. *Int J Epidemiol* 2010;39(2):417–420.
38. Sánchez-Solís M. Early Lung Function and Future Asthma. *Front Pediatr* 2019;7:253.
39. Belgrave D, Simpson A, Custovic A. Challenges in interpreting wheeze phenotypes: the

clinical implications of statistical learning techniques. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;189(2):121–123.

TABLE 1. Description of the study population at baseline

	All (n=291)		Participants without asthma (n=139)		Participants with asthma (n=152)		p value
	n	statistic	n	statistic	n	statistic	
Age, mean $\pm$ sd	291	11.1 $\pm$ 2.7	139	11.4 $\pm$ 2.9	152	10.9 $\pm$ 2.5	0.20
Sex, % girls	129	44.3	72	51.8	57	37.5	0.01
BMI, mean $\pm$ sd	283	17.7 $\pm$ 2.8	133	18.1 $\pm$ 2.8	150	17.4 $\pm$ 2.8	0.03
Exposure to passive smoking, %	112	41.5	57	44.5	55	38.7	0.33
Asthma symptom score, mean $\pm$ sd	266	1.59 $\pm$ 1.81	130	0.11 $\pm$ 0.36	136	3.01 $\pm$ 1.48	<0.0001
*Current asthma, %	--	--	--	--	139	91.4	--
Asthma severity, %	--	--	--	--	140		--
Past-mild asthma					99	70.7	
Moderate-severe asthma					41	29.3	
Allergic sensitization (≥ 1 positive skin prick test), %	190	66.4	59	43.1	131	87.9	<0.0001
Total IgE, ≥ 100 IU/ml, %	183	62.9	53	38.1	130	85.5	<0.0001
Allergic rhinitis, %	106	36.4	19	13.7	87	57.2	<0.0001
Eczema, %	110	38.1	37	26.8	73	48.3	0.0002
FEV ₁ % predicted, mean $\pm$ sd	282	97.1 $\pm$ 12.6	132	97.8 $\pm$ 11.3	150	95.9 $\pm$ 13.5	0.18
FEF ₂₅₋₇₅ % predicted, mean $\pm$ sd	273	97.0 $\pm$ 25.6	126	103.9 $\pm$ 23.3	147	91.1 $\pm$ 26.1	<0.0001
FVC % predicted, mean $\pm$ sd	279	96.9 $\pm$ 10.6	130	96.2 $\pm$ 9.9	149	97.6 $\pm$ 11.1	0.28

FEV ₁ /FVC % predicted, mean $\pm$ sd	279	99.7 $\pm$ 7.5	130	101.5 $\pm$ 6.4	149	98.1 $\pm$ 8.0	<0.0001
Eosinophils count (nb/mm ³), GM (95% CI)	284	309.0 (50.8; 1879.3)	134	218.8 (43.1; 1110.7)	150	426.6 (76.8; 2370.3)	<0.001

*Asthma attacks or treatment for respiratory problems in the past 12 months

BMI: Body Mass Index; FEV₁ : Forced expiratory volume in one second; FVC: Forced vital capacity; FEF₂₅₋₇₅: Forced Expiratory Flow at 25-75% of forced vital capacity; GM: Geometric mean

TABLE 2. Association between cluster-based sIgE sensitization profiles assessed in childhood at EGEA1 and in adulthood at EGEA2.

sIgE sensitization profiles identified in childhood at EGEA1	sIgE sensitization profiles identified in adulthood at EGEA2			
	A Few allergens (n=113)	B Pollen/animal allergens (n=62)	C Most prevalent HDM allergens (n=79)	D Many allergens (n=37)
A_ Few allergens (n=141), n (%)	106 (75.2%)*	19 (13.5%)	13 (9.2%)	3 (2.1%)
B_ Pollen/animals allergens (n=52), n (%)	5 (9.6%)	38 (73.1%)	3 (5.8%)	6 (11.5%)
C_ Most prevalent HDM allergens (n=64), n (%)	2 (3.1%)	4 (6.2%)	49 (76.6%)	9 (14.1%)
D_ Many allergens (n=34), n (%)	0 (0%)	1 (2.9%)	14 (41.2%)	19 (55.9%)

*Values in bold, in the diagonal, shows the number (frequency) of participants belonging the same sIgE sensitization profiles at both time points

sIgE: allergen-specific IgE; HDM: house dust mite; EGEA1: first phase (recruitment) of the Epidemiological study of the Genetics and Environment of asthma; EGEA2: first follow-up of the EGEA study

TABLE 3. Adjusted cross-sectional associations* of cluster-based sIgE sensitization profiles with asthma symptoms score and eosinophils count

	Profile A Few allergens (ref.)	Profile B Pollen/animals allergens	Profile C Most prevalent HDM allergens	Profile D Many allergens	P value	P value considering only profiles B, C and D
In all	241	112	139	67		
Asthma symptoms score, relative change** (95% CI)	1	1.56 (1.19; 2.05)	1.49 (1.17; 1.89)	1.63 (1.25; 2.13)	0.001	0.54
Eosinophil counts ($\log_{10}$ nb/mm ³), beta (95% CI)	0	0.10 (0.00; 0.20)	0.19 (0.09; 0.31)	0.25 (0.13; 0.37)	0.0004	0.02
In participants with asthma	55	64	122	65		
Asthma symptoms score, relative change** (95% CI)	1	1.58 (1.19; 2.10)	1.50 (1.16; 1.94)	1.62 (1.22; 2.14)	0.002	0.64
Eosinophils count ($\log_{10}$ nb/mm ³), beta (95% CI)	0	0.002 (-0.14; 0.15)	0.13 (0.001; 0.27)	0.19 (0.04; 0.34)	0.02	0.05
Moderate-severe vs. past-mild asthma, OR (95% CI)	1	2.10 (0.80; 5.49)	1.96 (0.79; 4.87)	1.67 (0.58; 4.81)	0.38	0.86

*Regression models for repeated data (mixed linear regression model for eosinophils count; generalized estimating equation with a binomial negative link function for the asthma symptoms score and logit function for asthma severity) were adjusted for age, sex, smoking (except for asthma severity for which the model was not adjusted for smoking for model convergence issue) and for the analysis in the whole study population analyses were further adjusted on asthma. Models were weighted on the probability of belonging to the cluster.

** The negative binomial regression models the ratio of the mean number of the asthma score (and its 95% confidence interval) in profiles B, C and D as compared to profile A.

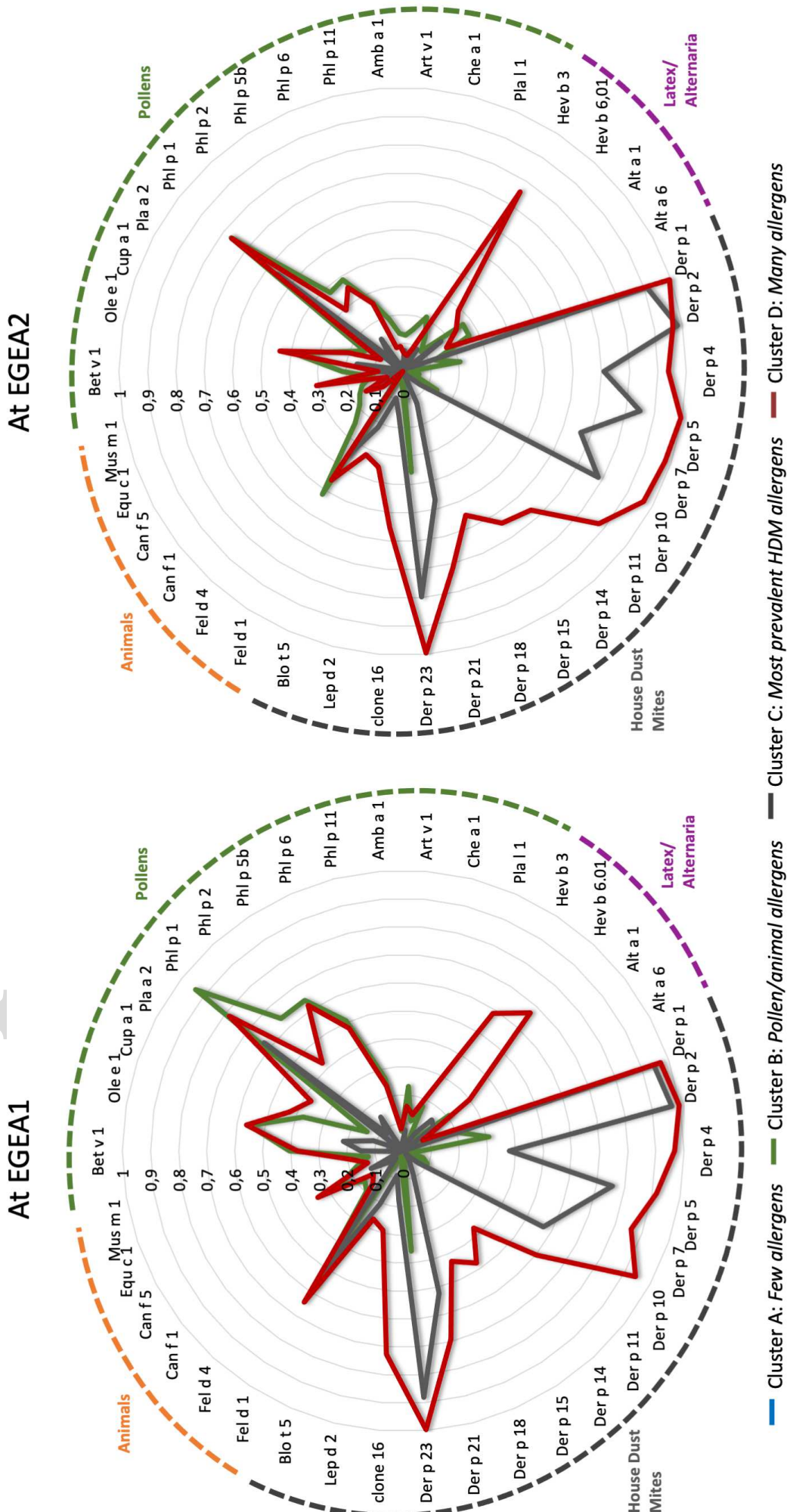
FIGURE LEGENDS

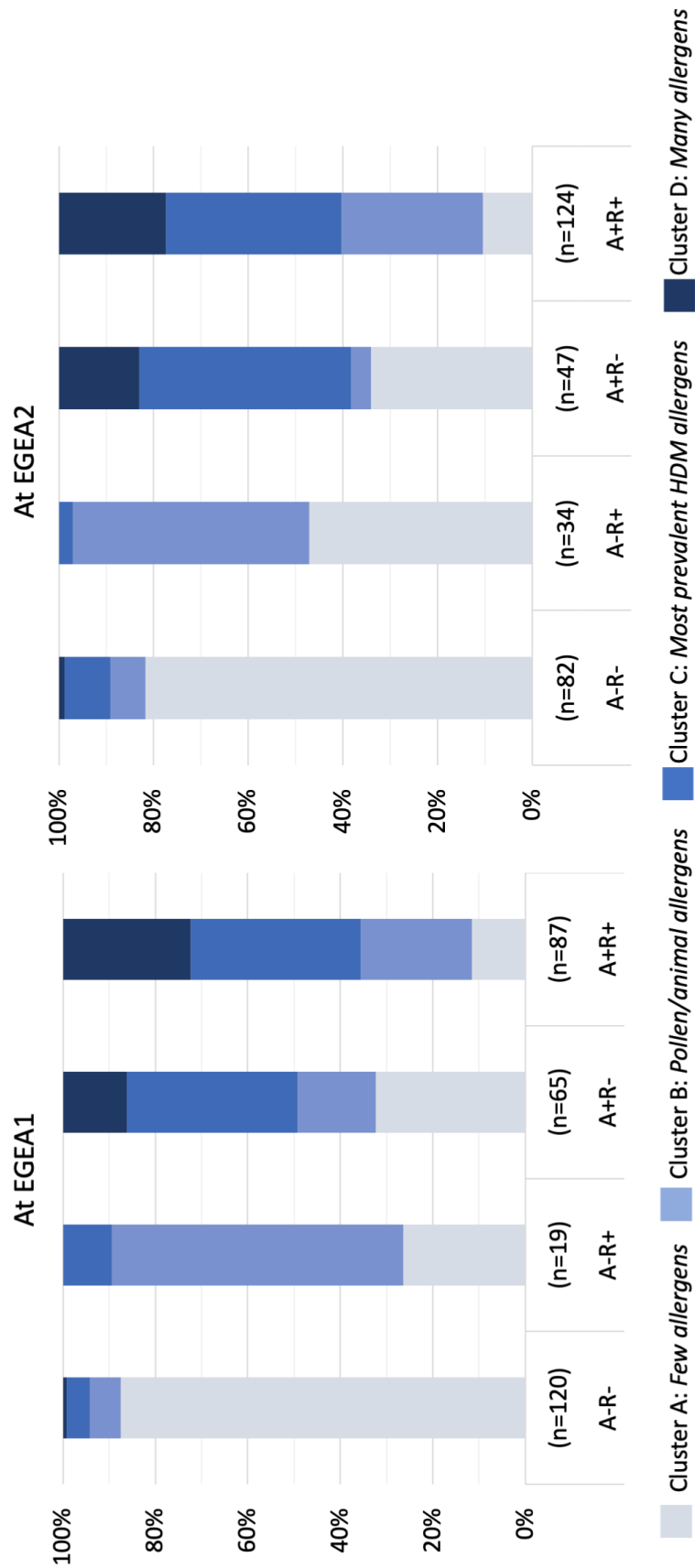
FIGURE 1. Radar chart showing IgE-reactivity probabilities to individual respiratory allergen molecules for each sensitization profile identified by the latent class analysis at EGEA1 and EGEA2

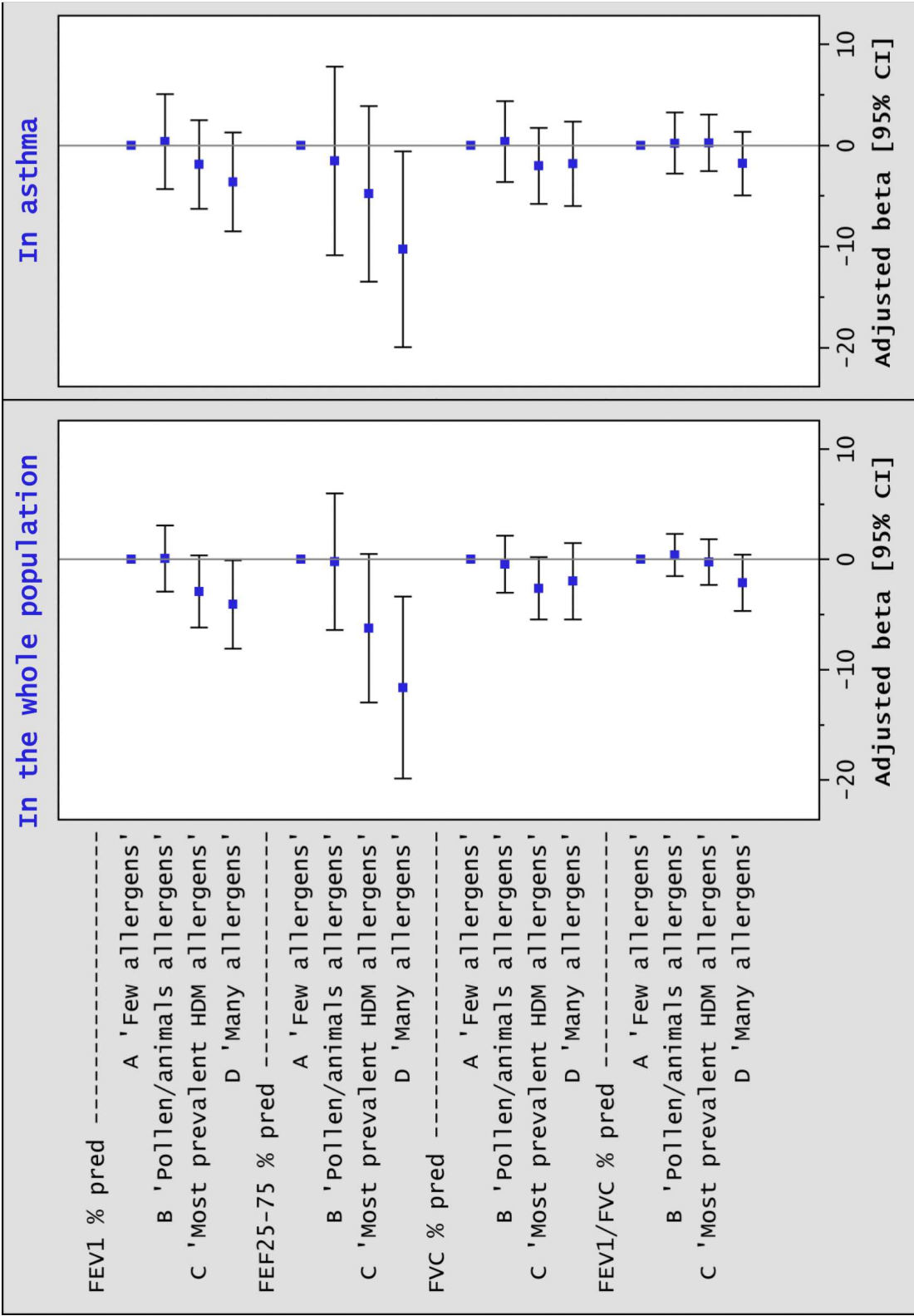
FIGURE 2. Associations between the cluster-based sIgE sensitization profiles and the asthma (A)-rhinitis (R) status at EGEA1 and EGEA2

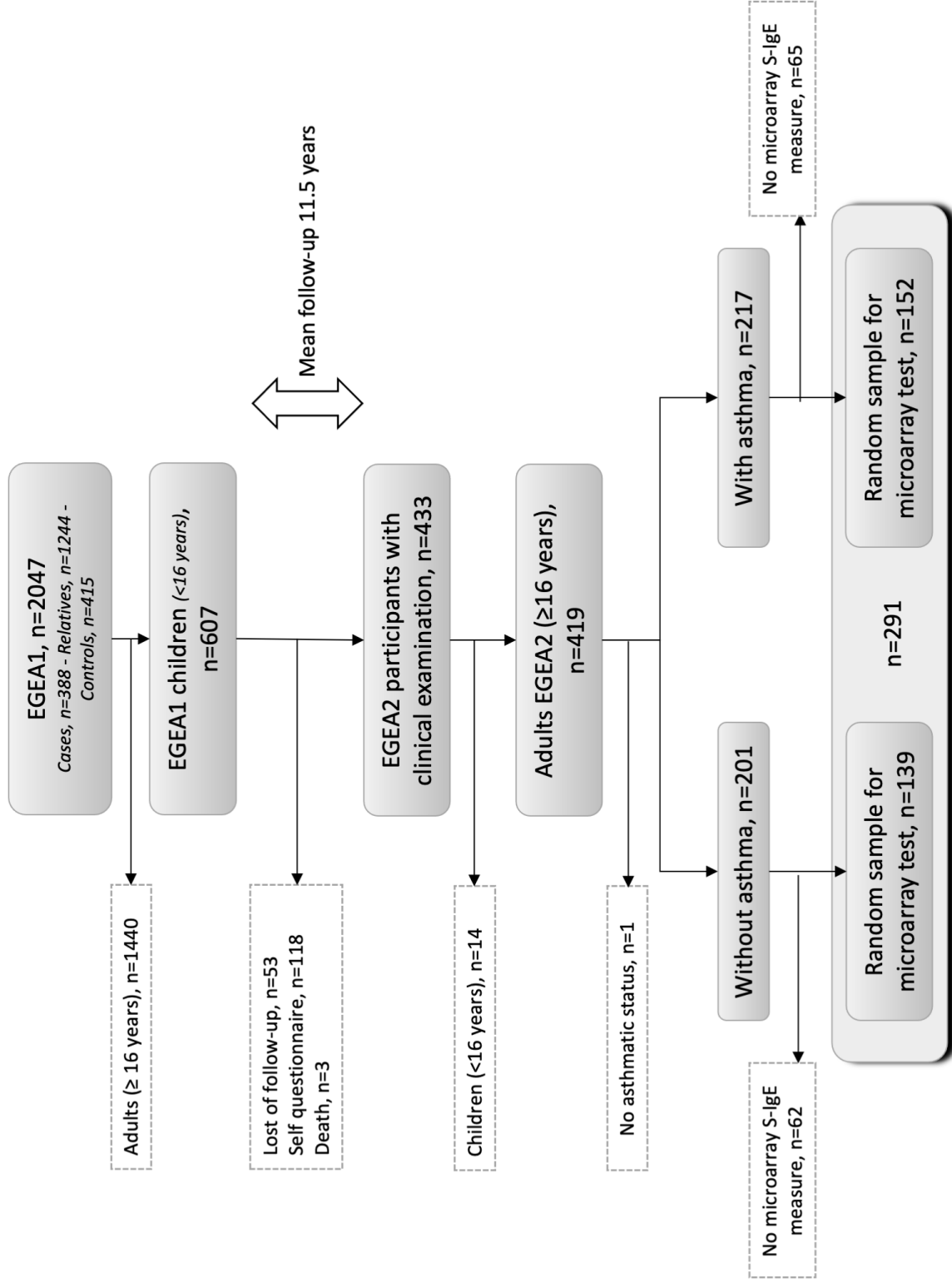
FIGURE 3. Cross-sectional associations between cluster-based sIgE sensitization profiles and lung function parameters (per one increase of % predicted value)

Mixed linear regression models were applied to account for repeated data. Models were adjusted for age, sex, smoking and for the analysis in the whole study population models were further adjusted on asthma. Models were weighted on the probability of belonging to the cluster.

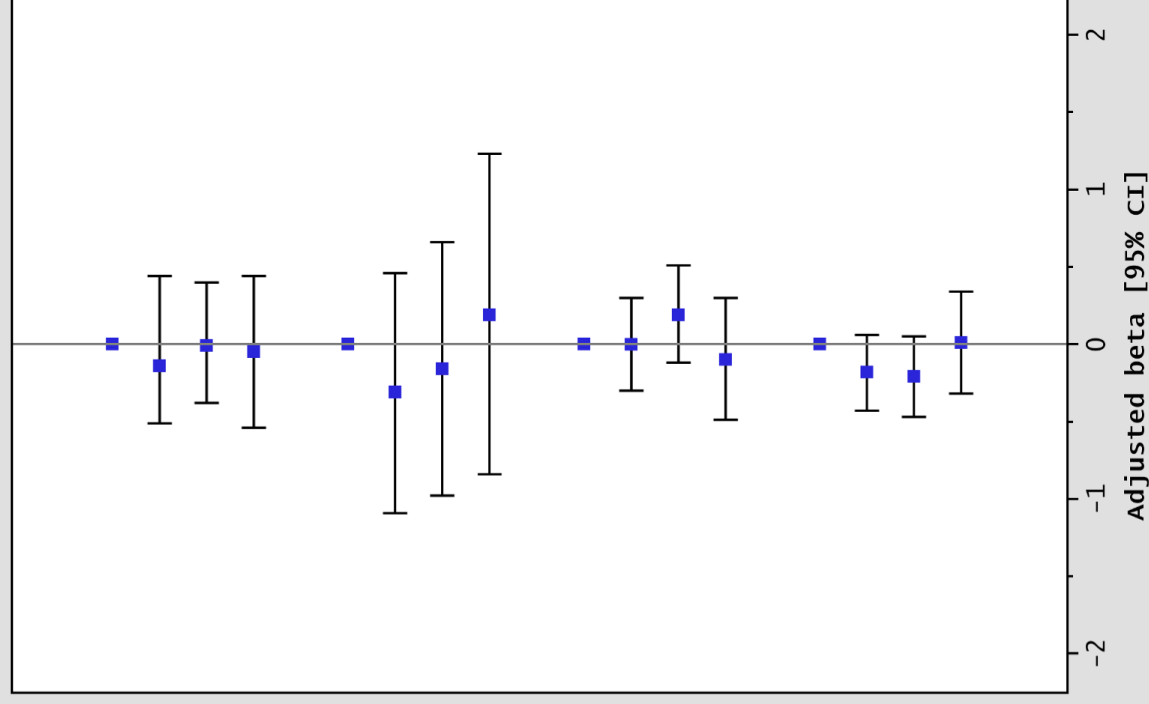




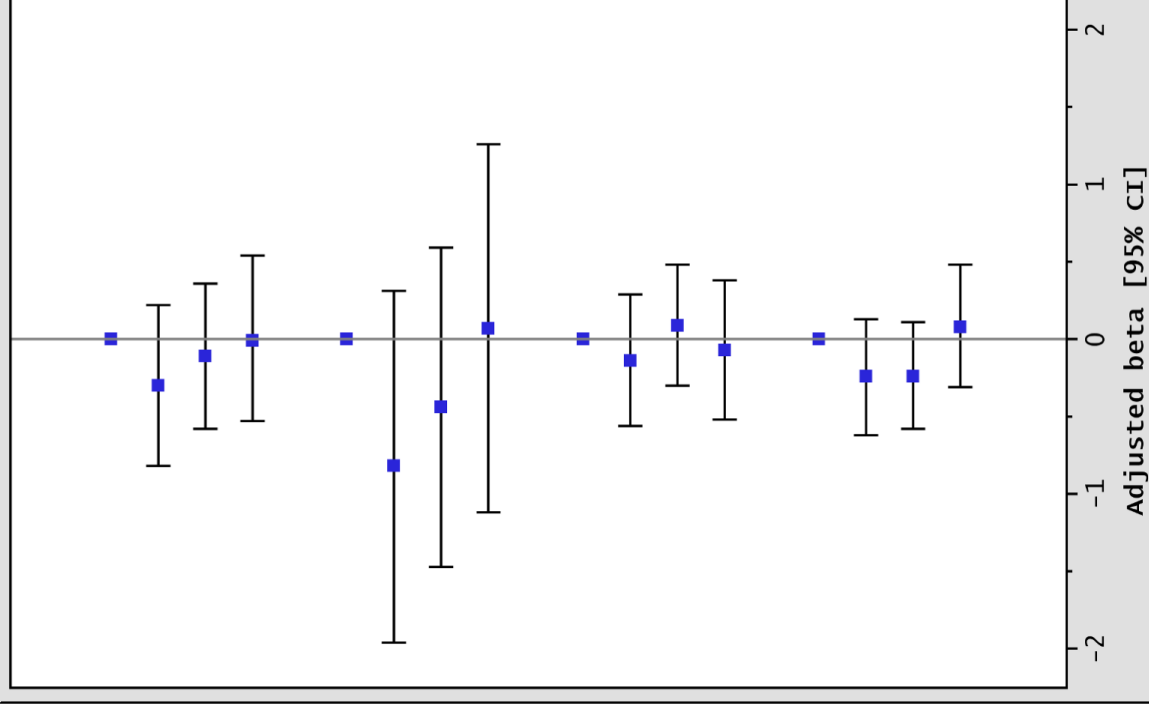




In the whole Population



In Asthma



ONLINE SUPPORTING INFORMATION

Trajectories of IgE sensitization to allergen molecules from childhood to adulthood and respiratory health in the EGEA cohort

Valérie Siroux¹, Anne Boudier¹, Jean Bousquet², Oriane Dumas³, Jocelyne Just⁴, Nicole Le Moual³, Rachel Nadif³, Raphaëlle Varraso³, Rudolf Valenta^{5,6,7,8}, Isabelle Pin^{1,9}

METHODS

Asthma symptoms score definition

The asthma symptoms score was calculated at EGEA2 from questionnaire data as previously described.⁽¹⁾ Ranging from 0 to 5, the score is based on the number of respiratory symptoms occurring in the past 12 months: i) breathless while wheezing, ii) woken up with chest tightness, iii) attack of shortness of breath at rest, iv) attack of shortness of breath after exercise, and v) woken by attack of shortness of breath. Because the questionnaire for children at EGEA1 differed from the one for adults, we adapted the asthma symptoms score for children at EGEA1 by considering the 5 following symptoms: i) breathless while wheezing, ii) woken up with chest tightness, iii) woken by attack of shortness of breath, iv) attack of wheeze during or after exercise, and v) wheezing or whistling in the chest.

Asthma severity definition

Asthma severity was defined with the data collected in the EGEA study, following the principle of the Global Initiative for Asthma (GINA) 2002 guidelines, by combining 1) the report of at least one asthma attack in the past 12 months, 2) a clinical score ranging from 0 to 7 defined on the basis of

asthma attack frequency (from 0 to 3), the level of symptoms between asthma attacks (from 0 to 3), and hospitalization for asthma over the past 12 months (yes/no); and 3) the type of asthma treatment used in the past 12 months (none, treatment not including inhaled corticosteroids (ICS), treatment including ICS). Subjects were identified with “moderate–severe asthma” if they reported at least one asthma attack in the past 12 months and either 1) use of ICS treatment in the past 12 months (whatever the asthma score); 2) an asthma score ≥ 3 (whatever the asthma treatment); or 3) an asthma score ≥ 2 and use of asthma treatment other than ICS. The other subjects were classified as “past or mild” asthma. This asthma severity classification has been used previously. (2–4)

Lung function

Lung function tests were performed by trained technicians using a standardized protocol with regularly calibrated spirometers (Biomedin Srl, Padua, Italy; Spirometer Masterscreen, Jaeger at EGEA1 and SpiroDyn'R, Dyn'R at EGEA2).(5) The best of 5 forced expirations was selected. Pre-bronchodilator spirometric data were considered in this analysis. The coefficients of variation for the best 2 loops were 2.1%, 2.4%, and 5.8% at EGEA1, respectively for FEV₁, FVC, and FEF₂₅₋₇₅, and 1.5%, 2.0%, and 6.2% at EGEA2, respectively for FEV₁, FVC, and FEF₂₅₋₇₅. Percent predicted values were computed from the Global Lung Initiative equations, hereafter referred to as FEV₁% FVC%, FEF₂₅₋₇₅% and FEV₁/FVC %, respectively(6) and analyzed as continuous variables to maximize the statistical power in association studies.(7)

Statistical methods

Descriptive characteristics are provided as means (Standard Deviation) or medians (25-75 percentiles) for continuous variables and frequencies (%) for categorical variables. Differences between groups were compared by using chi² for categorial variables and student test or kruskal-Wallis test for continuous variables.

To identify sIgE sensitization profiles, Latent Class Analysis (LCA), a data-driven approach, was applied on IgE-reactivity to the 38 relevant respiratory allergen molecules, separately at EGEA1 and EGEA2. By using LCA, a statistical-based approach, the choice of criterion to assign individuals to cluster is less arbitrary as compared to other clustering approaches. The number of latent classes was determined using the Bayesian information criterion (BIC) and the model with the lowest BIC was selected. Each participant was assigned to the latent cluster (here defined as sIgE sensitization profile) for which he/she had the highest membership probability.

The cross-sectional associations between sIgE sensitization profiles and different respiratory outcomes (asthma and rhinitis phenotypes, asthma symptoms score and lung function parameters) as well as with eosinophil counts were assessed. We fitted linear mixed-effect models for the continuous dependent variables ($\log_{10}$ -transformed eosinophils count, FEV₁%, FEF₂₅₋₇₅% and FVC%) and generalized estimating equations with a negative binomial link function for the asthma symptoms score, to account for repeated data (EGEA1, EGEA2). Models were adjusted on age, sex, asthma, passive and active smoking to assess the associations independently of these 4 factors. In addition, models were weighted on the probability of belonging to the profiles allowing to account for clustering uncertainty estimated by the LCA.(8)

To estimate the association between sIgE sensitization profiles at EGEA1 and change in lung function over time (calculated as follows for FEV₁: $\text{FEV}_{1_EGEA2\%} - \text{FEV}_{1_EGEA1\%} / \text{nb years}$ between EGEA2 and EGEA1 visits), a weighted linear model adjusted on age, sex, asthma, and passive smoking at EGEA1 and the mean lung function value in the study period (calculated as follows for FEV₁: $(\text{FEV}_{1_EGEA2\%} + \text{FEV}_{1_EGEA1\%})/2$) to avoid the interference of regression toward the mean, was applied for each lung function parameter.

In addition, because the study population was by design enriched with participants with asthma, the cross-sectional and longitudinal association analyses between sIgE sensitization profiles and lung

function, eosinophils count and asthma symptoms score were further conducted in the population restricted to participants with asthma.

All analyses were performed with the SAS 9.4 statistical software.

References

1. Pekkanen J, Sunyer J, Anto JM, Burney P. Operational definitions of asthma in studies on its aetiology. *Eur Respir J* 2005;**26**:28–35.
2. Le Moual N, Siroux V, Pin I, Kauffmann F, Kennedy SM. Asthma severity and exposure to occupational asthmogens. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;**172**:440–445.
3. Varraso R, Siroux V, Maccario J, Pin I, Kauffmann F. Asthma severity is associated with body mass index and early menarche in women. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;**171**:334–339.
4. Sintobin I, Siroux V, Holtappels G, Pison C, Nadif R, Bousquet J et al. Sensitisation to staphylococcal enterotoxins and asthma severity: a longitudinal study in the EGEA cohort. *Eur Respir J* 2019;**in press**.
5. Siroux V, Boudier A, Dolgoploff M, Chanoine S, Bousquet J, Gormand F et al. Forced midexpiratory flow between 25% and 75% of forced vital capacity is associated with long-term persistence of asthma and poor asthma outcomes. *J Allergy Clin Immunol* 2016;**137**:1709–1716.
6. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J* 2012;**40**:1324–1343.
7. Altman DG, Royston P. The cost of dichotomising continuous variables. *BMJ* 2006;**332**:1080.
8. Chanoine S, Sanchez M, Pin I, Temam S, Le Moual N, Fournier A et al. Multimorbidity medications and poor asthma prognosis. *Eur Respir J* 2018;**51**:1702114.

TABLE S1. IgE-reactivity to 75 respiratory allergen molecules in the study population, at baseline and follow-up

Species	Allergen	Molecular Group	Prevalence at EGEA1		Prevalence at EGEA2	
			%	n	%	n
Birch	Bet v 1	PR-10	8.9	26	19.2	56
	Bet v 2	<i>Profilin</i>	1.4	4	3.1	9
	Bet v 4	<i>Polcalcin</i>	1.4	4	3.1	9
Alder	Aln g 1*	<i>PR-10</i>	4.1	12	13.7	40
Olive	Ole e 1	Ole e 1-related protein	15.8	46	27.1	79
	Ole e 7	<i>nsLTP, type 1</i>	1.0	3	1.4	4
	Ole e 9	<i>Glucanase1</i>	2.4	7	1.7	5
Japanese cedar	Cry j 1	<i>Pectate lyase</i>	3.1	9	10.0	29
Cypress	Cup a 1	<i>Pectate lyase</i>	7.6	22	17.9	52
Plane tree	Pla a 1	<i>Invertase Inhibitor</i>	0.3	1	2.1	6
	Pla a 2	Polygalacturonases	3.8	11	8.6	25
	Pla a 3	<i>nsLTP, type 1</i>	0.7	2	0	0
Timothy grass	Phl p 1	Grass group 1 (Beta-Expansin)	43.3	126	54.6	159
	Phl p 2	Grass group 2/3	12.0	35	21.6	63
	Phl p 4*	Grass group 4	16.5	48	26.1	76
	Phl p 5b	Grass group 5	15.8	46	25.8	75
	Phl p 6	Grass group 5/6	8.6	25	17.2	50
	Phl p 7	<i>Calcium-binding proteins (Polcalcin)</i>	1.0	3	3.8	11
	Phl p 11	Ole e 1-related protein	5.2	15	9.6	28
	Phl p 12	<i>Profilin</i>	1.0	3	3.4	10
Bermuda grass	Cyn d 1*	<i>Grass group 1 (Beta-Expansin)</i>	30.6	89	46	134
Ragweed	Amb a 1	<i>Pectate lyase</i>	3.8	11	4.1	12
Mugwort	Art v 1	Defensin-like protein	5.2	15	10.7	31
	Art v 3	<i>nsLTP, type 1</i>	1.4	4	1.0	3
Goosefoot	Che a 1	Ole e 1-related protein	3.4	10	4.1	12
Annual mercury	Mer a 1	<i>Profilin</i>	1.7	5	4.5	13
Plantain	Pla l 1	Ole e 1-related protein	5.8	17	7.6	22
Wall pellitory	Par j 2	<i>LTP, type 2</i>	0.7	2	1.4	4
Saltwort	Sal k 1	<i>Pectin methylesterase</i>	0.7	2	1.4	4
Latex	Hev b 1	<i>Rubber elongation factor</i>	12.0	35	3.1	9
	Hev b 3	Small rubber particle protein	15.8	46	10.7	31
	Hev b 5	<i>Acidic protein</i>	2.7	8	2.1	6
	Hev b 6.01	Hevein (Prohevein)	5.2	15	13.7	40
	Hev b 8	<i>Profilin</i>	2.7	8	11.7	34
Alternaria	Alt a 1	Acidic glycoprotein	13.7	40	13.7	40
	Alt a 6	Enolase	8.2	24	3.8	11
Aspergillus	Asp f 1	<i>Mitogillin family (Ribonuclease)</i>	0.3	1	0.3	1
	Asp f 3	<i>Peroxisomal protein</i>	0	0	2.4	7
	Asp f 6	<i>Mn superoxide dismutase</i>	0	0	0.7	2
Cladosporium	Cla h 8	<i>Mannitol dehydrogenase</i>	1.0	3	1.0	3
House dust mite	Der p 1	Group 1 mite allergens (Cysteine protease)	35.1	102	43.3	126
	Der f 1*	<i>Group 1 mite allergens (Cysteine protease)</i>	34.4	100	43	125
	Der p 2	Group 2 mite allergens (NPC2 family)	40.5	118	46.7	136
	Der f 2*	<i>Group 2 mite allergens (NPC2 family)</i>	39.9	116	47.8	139
	Der p 4	Group 4 mite allergens (Alpha-amylase)	27.1	79	24.1	70
	Der p 5	Group 5/21 mite allergens	32.0	93	33.1	95
	Der p 7	Group 7 mite allergens	27.1	79	30.2	88
	Der p 10	Group 10 mite allergens (Tropomyosin)	31.3	91	29.6	86
	Der p 11	Group 11 mite allergens (Paramyosin)	12.0	35	9.6	28

	Der p 14	Vitellogenin (Apolipoporphorins)	8.2	24	5.2	15
	Der p 15	Chitin-binding domain	7.6	22	7.6	22
	Der p 18	Chitin-binding domain	9.3	27	7.9	23
	Der p 21	Group 5/21 mite allergens	19.6	57	23.0	67
	Der p 23	Chitin-binding domain	40.9	119	46.7	136
	clone 16	Chitin-binding domain	10.7	31	15.5	45
Storage mite	Lep d 2	Group 2 mite allergens (NPC2 family)	6.5	19	6.5	19
<i>Blomia tropicalis</i>	Blo t 5	Group 5/21 mite allergens	9.3	27	9.3	27
Cockroach	Bla g 1	Cockroach group 1	0	0	0.3	1
	Bla g 2	Aspartic protease	0.3	1	0.3	1
	Bla g 5	Glutathione S-transferase	0	0	0.3	1
	Bla g 7	Tropomyosin	0.3	1	1.4	4
Anisakis	Ani s 1	Serine protease inhibitor	0	0	1.0	3
	Ani s 3	Tropomyosin	0.3	1	1.7	5
Cat	Fel d 1	Uteroglobin	23.4	68	37.5	109
	Fel d 2	Serum Albumin	1.4	4	4.8	14
	Fel d 4	Lipocalin	4.8	14	7.6	22
Dog	Can f 1	Lipocalin	4.5	13	7.9	23
	Can f 2	Lipocalin	1.7	5	2.4	7
	can f 3	Serum Albumin	1.4	4	2.7	8
	Can f 4	Lipocalin (Odorant-binding protein)	2.7	8	3.1	9
	Can f 5	Arginine Esterase (Trypsin-like serine protease)	6.9	20	14.4	42
	Can f 6	Lipocalin	1.7	5	2.7	8
Horse	Equ c 1	Lipocalin	4.1	12	6.2	18
	Equ c 3	Serum Albumin	1.7	5	0.7	2
Mouse	Mus m 1	Lipocalin	6.2	18	5.5	16

* redundant respiratory allergens (i.e., allergens which cross-react with each other) that were omitted (Aln g 1, which cross-reacts with Bet v 1 (PR-10 family); Phl p 4 because IgE to Phl p 4 is mainly CCD-specific and grass pollen allergy is captured best with major grass pollen allergens (Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 and Phl p 6). Cyn d 1, which cross-reacts with Phl p 1; Der f 1 and Der f 2, which cross-react with Der p 1 and Der p 2, respectively).

TABLE S2. Description of the cluster-based sIgE sensitization profiles at EGEA1 and EGEA2

	Profile A Few allergens	Profile B Pollen/animals allergens	Profile C Most prevalent HDM allergens	Profile D Many allergens	P value
In all					
EGEA1, n	141	52	64	34	
Age, mean $\pm$ sd	10.9 $\pm$ 2.9	11.6 $\pm$ 2.7	11.3 $\pm$ 2.3	11.2 $\pm$ 2.1	0.62
Sex, girls, n (%)	78 (55.3)	21 (40.4)	23 (35.9)	7 (20.6)	0.0008
Total IgE (IU/ml), median (25-75 percentiles)	51 (24-132)	403 (185-1053)	332 (198-478)	964 (518-2574)	<0.0001
Number of positive sIgE, median (25-75 percentiles)	0 (0-1)	6 (5-8)	9 (7-11)	17 (14-19)	<0.0001
Levels of sIgE* (ISU), median (25-75 percentiles)	1.2 (0.58-4.86)	9.5 (5.24-19.0)	9.1 (6.23-12.78)	17.9 (9.37-28.74)	<0.0001
EGEA2, n	113	62	79	37	
Age, mean $\pm$ sd	22.9 $\pm$ 3.0	23.0 $\pm$ 3.2	22.9 $\pm$ 2.9	22.5 $\pm$ 2.4	0.83
Sex, girls, n (%)	65 (57.5)	28 (45.2)	25 (31.6)	11 (29.7)	0.0010
Total IgE (IU/ml), median (25-75 percentiles)	42.5 (15.4-115)	202 (108-705)	150 (78.0-275)	541 (300-1570)	<0.0001
Number of positive sIgE, median (25-75 percentiles)	0 (0-1)	8 (5-10)	9 (7-11)	18 (16-20)	<0.0001
Levels of sIgE* (ISU), median (25-75 percentiles)	2.45 (0.63-5.3)	10.8 (6.8-17.9)	6.0 (3.29-9.18)	12.28 (7.9-20.7)	<0.0001
In participants with asthma					
EGEA1, n	31	32	56	33	
Age, mean $\pm$ sd	9.8 $\pm$ 2.8	11.2 $\pm$ 2.5	11.2 $\pm$ 2.4	11.3 $\pm$ 2.1	0.09
Sex, girls, n (%)	16 (51.6)	15 (46.9)	19 (33.9)	7 (21.2)	0.05
Total IgE (IU/ml), median (25-75 percentiles)	85 (43-172)	493.5 (193-1160)	332 (205-478)	907 (518-2574)	<0.0001
Number of positive sIgE, median (25-75 percentiles)	0 (0-2)	6 (5-9)	9 (7-11)	17 (14-19)	<0.0001
Levels of sIgE* (ISU), median (25-75 percentiles)	2.4 (1.1-5.6)	11.8 (7.4-21.1)	9.1 (6.5-12.8)	17.9 (9.4-28.7)	<0.0001
Moderate-severe asthma, n (%)	5 (21.7)	12 (37.5)	17 (32.0)	7 (21.9)	
EGEA2, n	27	33	69	36	
Age, mean $\pm$ sd	22.0 $\pm$ 3.1	22.7 $\pm$ 2.7	22.9 $\pm$ 2.9	22.7 $\pm$ 2.3	0.73
Sex, girls, n (%)	16 (59.3)	19 (57.6)	20 (29.0)	11 (30.6)	0.004
Total IgE (IU/ml), median (25-75 percentiles)	58.3 (21.8-195)	438 (146-941)	140 (78.0-264)	538 (273-1385)	<0.0001
Number of positive sIgE, median (25-75 percentiles)	1 (0-2)	9 (5-10)	9 (7-11)	18.5 (16.5-20)	<0.0001
Levels of sIgE* (ISU), median (25-75 percentiles)	2.4 (1.3-5.7)	10.3 (7.4-18.0)	6.0 (3.5-8.5)	12.1 (7.8-20.9)	<0.0001
Moderate-severe asthma, n (%)	2 (8.6)	3 (9.7)	6 (9.2)	4 (11.8)	

* among positive allergens; EGEA1: first phase (recruitment) of the Epidemiological study of the Genetics and Environment of asthma; EGEA2: first follow-up of the EGEA study

FIGURE S 1. Flow chart of the study

FIGURE S2. Longitudinal associations between cluster-based sIgE sensitization profiles identified at EGEA1 and change in lung function parameters between EGEA1 and EGEA2

Change in lung function over time was calculated as follows for FEV₁: $\text{FEV}_{1_EGEA2}\% - \text{FEV}_{1_EGEA1}\% / \text{nb years between EGEA2 and EGEA1 visits}$. Associations were estimated using a weighted linear model adjusted on age, sex, passive smoking at EGEA1, the mean lung function value in the study period (calculated as follows for FEV₁: $(\text{FEV}_{1_EGEA2}\% + \text{FEV}_{1_EGEA1}\%)/2$); to avoid the interference of regression toward the mean) and for the analysis in the whole study population models were further adjusted on asthma.

Etude de la santé respiratoire - Suivi à 10 ans (1991-2001)**FICHE D'INFORMATION**

Les maladies respiratoires comme l'asthme, la bronchite chronique et l'emphysème touchent un grand nombre de personnes. Vous avez participé en 1991-1995 à une étude sur la santé respiratoire qui a fourni des informations très intéressantes sur les facteurs environnementaux et génétiques pouvant causer, protéger ou modifier l'évolution des maladies respiratoires et allergiques. Cette étude a aussi soulevé des hypothèses qui ne peuvent être vérifiées que par un nouvel examen des participants. Il est raisonnable de penser que ce programme de recherche scientifique devrait permettre d'améliorer la prévention et le traitement des maladies respiratoires. Toutes les personnes ayant participé à la première étude sont invitées à participer à cette étude de suivi. Celle-ci a pour buts de connaître la survenue et l'évolution des symptômes respiratoires et allergiques, l'évolution de la fonction respiratoire et les modifications éventuelles de votre environnement. Pour que les résultats de cette étude scientifique soient interprétables, il est nécessaire, comme dans un sondage que le plus grand nombre de personnes sollicitées soient examinées. Cette étude est réalisée à Grenoble, Lyon, Marseille, Montpellier et Paris.

Le protocole de l'étude est très voisin de celui de la première étude. La durée totale de l'examen est d'environ 2h 30. Votre participation est bien évidemment facultative et votre refus (que vous n'avez pas à justifier) n'aurait aucune conséquence sur vos soins médicaux. Si vous le désirez, vous pouvez demander à arrêter l'examen à tout moment. Tous les examens sont sans danger et sont faits couramment dans les services hospitaliers et dans d'autres études de ce type. Les examens pratiqués pour cette étude sont les suivants :

- 1) un questionnaire sur la santé (symptômes et maladies, médicaments utilisés), l'environnement domestique (présence d'allergènes ou mode de chauffage), le travail (expositions professionnelles). Les questions vous seront posées par un enquêteur spécialement formé qui vous expliquera tout cela en détail.
- 2) des tests allergiques cutanés qui consistent en de petites scarifications effectuées sur l'avant bras au travers de liquides contenant des substances capables de révéler une allergie. Ces tests peuvent causer localement une rougeur et un gonflement comparables à ce que cause une piqûre d'ortie.
- 3) une prise de sang banale de 40 ml pour réaliser des dosages biologiques, notamment des anticorps (appelés immunoglobulines E) pour détecter une allergie et la numération formule sanguine pour étudier l'inflammation, et pour faire des études génétiques à partir de l'ADN des cellules. L'ADN, le serum et le plasma seront conservés dans une banque biologique anonyme.
- 4) des tests respiratoires réalisés de la façon suivante : d'abord on vous demandera de souffler plusieurs fois dans un appareil pour mesurer l'air contenu dans vos poumons et on recueillera un peu de l'air que vous expirez pour analyser les gaz expirés. Ensuite, 1) si les résultats des examens de votre souffle sont normaux, on mesurera la réponse des bronches à l'inhalation d'une substance appelée méthacholine à laquelle les asthmatiques sont plus sensibles que les autres personnes. Ces examens peuvent entraîner quelques effets désagréables, comme une toux ou des sifflements dans la poitrine, mais sont sans aucun danger et sont faits couramment dans le service par du personnel très qualifié et avec un ou plusieurs médecins spécialisés à proximité. A la fin de l'examen il est possible que vous vous sentiez légèrement essoufflé(e). Ceci disparaît en quelques minutes spontanément ou après avoir respiré un médicament pour dilater les bronches (salbutamol) couramment employé par

les asthmatiques. 2) Si les résultats de ces examens sont anormaux, au lieu de vous faire le test à la méthacholine, on vous donnera directement du salbutamol pour voir si cela vous permet de mieux respirer.

5) un prélèvement de cellules à partir des sécrétions des bronches sera réalisé pour certains d'entre vous à l'occasion d'une autre visite qui vous serait proposée. On vous fera inhaler du sérum salé qui vous fera cracher et permettra le recueil des sécrétions bronchiques par la toux. Comme pour le test précédent, cet examen est fait par du personnel très qualifié avec une surveillance répétée de votre fonction respiratoire. Si vous avez des difficultés de respiration, on vous donnera du salbutamol en inhalation pour faire disparaître cette gêne.

Ces tests ont un intérêt pour vous. En particulier, la comparaison des résultats de l'exploration fonctionnelle respiratoire avec ceux obtenus 10 ans auparavant peut permettre de mettre en évidence une obstruction débutante de vos bronches pour laquelle des mesures de prévention peuvent être indiquées. Nous pourrions transmettre les résultats à vous-mêmes et/ou, si vous le souhaitez à votre médecin traitant.

La recherche a été approuvée par le Comité de protection des personnes participant à la recherche biomédicale (CCPRB) de Paris-Necker le 31 mars 2003 . Pour participer à cette étude sans bénéfice individuel direct, dont le promoteur est l'Institut National de la Santé et de la recherche Médicale (INSERM), vous devez être inscrit à un régime de sécurité sociale. Vous pourrez être remboursé de vos frais de transport. Vous ne pourrez participer à une autre étude de ce type le même jour ou le lendemain de l'examen, correspondant à la période d'exclusion, et serez à cette fin inscrit au fichier national des personnes se prêtant à la recherche géré par le ministère chargé de la santé.

Toutes les informations recueillies, dans le strict respect du secret médical, seront transcrites dans un dossier codé strictement confidentiel qui servira à constituer un fichier sur ordinateur, en vue d'analyses statistiques anonymes, avec l'accord de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL). Les échantillons biologiques ne seront utilisés qu'à des fins scientifiques et stockés sans limite de durée pour des recherches dans le contexte de ce programme. Les recherches pourront être menées en collaboration avec des partenaires publics ou privés pour permettre une recherche plus rapide ou plus performante. Dans ce contexte, les échantillons biologiques anonymisés pourront être échangés entre laboratoires sous le contrôle du Dr Francine Kauffmann, investigateur principal de l'étude. Les analyses porteront sur l'ensemble des personnes de l'étude et non pas sur des cas individuels. Vous ne pourrez prétendre à aucun droit ou bénéfice financier dans le cas où un partenaire privé pourrait développer à partir de cette recherche une nouvelle méthode diagnostique ou une nouvelle thérapie. Les données seront toujours traitées de façon anonyme et aucune publication ne mentionnera l'identité des personnes. Vous pourrez avoir accès aux informations vous concernant et vous avez le droit de vous retirer à tout moment de l'étude et à demander que toutes les données ou prélèvements biologiques vous concernant soient détruits en vous adressant au Docteur Francine Kauffmann, Epidémiologie en pneumologie et immuno-allergologie, INSERM Unité 472, 16 avenue Paul Vaillant Couturier 94807 Villejuif cedex.

Etude de la santé respiratoire - Suivi à 10 ans (1991-2001)**FICHE D'INFORMATION (enfant mineur)**

Les maladies respiratoires comme l'asthme, la bronchite chronique et l'emphysème touchent un grand nombre de personnes. Votre enfant a participé en 1991-1995 à une étude sur la santé respiratoire qui a fourni des informations très intéressantes sur les facteurs environnementaux et génétiques pouvant causer, protéger ou modifier l'évolution des maladies respiratoires et allergiques. Cette étude a aussi soulevé des hypothèses qui ne peuvent être vérifiées que par un nouvel examen des participants. Il est raisonnable de penser que ce programme de recherche scientifique devrait permettre d'améliorer la prévention et le traitement des maladies respiratoires. Toutes les personnes ayant participé à la première étude sont invitées à participer à cette étude de suivi. Celle-ci a pour buts de connaître la survenue et l'évolution des symptômes respiratoires et allergiques, l'évolution de la fonction respiratoire et les modifications éventuelles de votre environnement. Pour que les résultats de cette étude scientifique soient interprétables, il est nécessaire, comme dans un sondage que le plus grand nombre de personnes sollicitées soient examinées. Cette étude est réalisée à Grenoble, Lyon, Marseille, Montpellier et Paris.

Le protocole de l'étude est très voisin de celui de la première étude. La durée totale de l'examen est d'environ 2h 30. La participation de votre enfant est bien évidemment facultative et votre refus (que vous n'avez pas à justifier) n'aurait aucune conséquence sur ses soins médicaux. Si vous le désirez, vous pouvez demander à arrêter l'examen à tout moment. Tous les examens sont sans danger et sont faits couramment dans les services hospitaliers et dans d'autres études de ce type. Les examens pratiqués pour cette étude sont les suivants :

- 1) un questionnaire sur la santé (symptômes et maladies, médicaments utilisés), l'environnement domestique (présence d'allergènes ou mode de chauffage). Les questions vous seront posées par un enquêteur spécialement formé qui vous expliquera tout cela en détail.
- 2) des tests allergiques cutanés qui consistent en de petites scarifications effectuées sur l'avant bras au travers de liquides contenant des substances capables de révéler une allergie. Ces tests peuvent causer localement une rougeur et un gonflement comparables à ce que cause une piqûre d'ortie.
- 3) une prise de sang banale de 40 ml (20 ml avant 16 ans) pour réaliser des dosages biologiques, notamment des anticorps (appelés immunoglobulines E) pour détecter une allergie et la numération formule sanguine pour étudier l'inflammation, et pour faire des études génétiques à partir de l'ADN des cellules. L'ADN, le serum et le plasma seront conservés dans une banque biologique anonyme.
- 4) des tests respiratoires réalisés de la façon suivante : d'abord on lui demandera de souffler plusieurs fois dans un appareil pour mesurer l'air contenu dans ses poumons et on recueillera un peu de l'air que votre enfant expire pour analyser les gaz expirés. Ensuite, 1) si les résultats des examens de son souffle sont normaux, on mesurera la réponse de ses bronches à l'inhalation d'une substance appelée méthacholine à laquelle les asthmatiques sont plus sensibles que les autres personnes. Ces examens peuvent entraîner quelques effets désagréables, comme une toux ou des sifflements dans la poitrine, mais sont sans aucun danger et sont faits couramment dans le service par du personnel très qualifié et avec un ou plusieurs médecins spécialisés à proximité. A la fin de l'examen il est possible que votre enfant se sente légèrement essoufflé(e). Ceci disparaît en quelques minutes spontanément ou après avoir respiré un médicament pour dilater les bronches (salbutamol) couramment employé

par les asthmatiques. 2) Si les résultats de ces examens sont anormaux, au lieu de lui faire le test à la méthacholine, on lui donnera directement du salbutamol pour voir si cela lui permet de mieux respirer.

5) un prélèvement de cellules à partir des sécrétions des bronches sera réalisé pour certains enfants à l'occasion d'une autre visite qui lui serait proposée. On lui fera inhaler du sérum salé qui le fera cracher et permettra le recueil des sécrétions bronchiques par la toux. Comme pour le test précédent, cet examen est fait par du personnel très qualifié avec une surveillance répétée de votre fonction respiratoire. Si votre enfant a des difficultés de respiration, on lui donnera du salbutamol en inhalation pour faire disparaître cette gêne.

Ces tests ont un intérêt pour votre enfant. En particulier, la comparaison des résultats de l'exploration fonctionnelle respiratoire avec ceux obtenus 10 ans auparavant peut permettre de mettre en évidence une obstruction débutante de ses bronches pour laquelle des mesures de prévention peuvent être indiquées. Nous pourrions transmettre les résultats à vous-mêmes et/ou, si vous le souhaitez à votre médecin traitant.

La recherche a été approuvée par le Comité de protection des personnes participant à la recherche biomédicale (CCPRB) de Paris-Necker le 31 mars 2003. Pour participer à cette étude sans bénéfice individuel direct, dont le promoteur est l'Institut National de la Santé et de la recherche Médicale (INSERM), votre enfant doit être inscrit à un régime de sécurité sociale. Vous pourrez être remboursé de vos frais de transport. Votre enfant ne pourra participer à une autre étude de ce type le même jour ou le lendemain de l'examen, correspondant à la période d'exclusion, et sera à cette fin inscrit au fichier national des personnes se prêtant à la recherche géré par le ministère chargé de la santé.

Toutes les informations recueillies, dans le strict respect du secret médical, seront transcrites dans un dossier codé strictement confidentiel qui servira à constituer un fichier sur ordinateur, en vue d'analyses statistiques anonymes, avec l'accord de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL). Les échantillons biologiques ne seront utilisés qu'à des fins scientifiques et stockés sans limite de durée pour des recherches dans le contexte de ce programme. Les recherches pourront être menées en collaboration avec des partenaires publics ou privés pour permettre une recherche plus rapide ou plus performante. Dans ce contexte, les échantillons biologiques anonymisés pourront être échangés entre laboratoires sous le contrôle du Dr Francine Kauffmann, investigateur principal de l'étude. Les analyses porteront sur l'ensemble des personnes de l'étude et non pas sur des cas individuels. Vous ne pourrez prétendre à aucun droit ou bénéfice financier dans le cas où un partenaire privé pourrait développer à partir de cette recherche une nouvelle méthode diagnostique ou une nouvelle thérapie. Les données seront toujours traitées de façon anonyme et aucune publication ne mentionnera l'identité des personnes. Vous pourrez avoir accès aux informations concernant votre enfant et vous avez le droit de vous retirer à tout moment de l'étude et à demander que toutes les données ou prélèvements biologiques vous concernant soient détruits en vous adressant au Docteur Francine Kauffmann, Epidémiologie en pneumologie et immuno-allergologie, INSERM Unité 472, 16 avenue Paul Vaillant Couturier 94807 Villejuif cedex.

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION

de M..... (nom, prénom) né (e) le

adresse.....

Titre identifiant la recherche : Etude de la santé respiratoire - Suivi à 10 ans (1991-2001)

Le Dr (nom du médecin investigateur, exemple pour le centre de Grenoble) Isabelle Pin m'a proposé de participer à une recherche organisée par l'INSERM sur les facteurs de risque de la survenue et de l'évolution des symptômes respiratoires et allergiques.

Elle m'a précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser.

J'ai reçu et bien compris les informations suivantes :

L'étude à laquelle il m'est demandé de participer fait suite à celle à laquelle j'ai déjà participé en 1991-1995. Le protocole de l'étude prévoit des examens similaires à ceux de 1991/95, avec pour certaines personnes une étude des crachats qui n'avait pas été faite la première fois :

- 1) un questionnaire sur la santé, l'environnement domestique et professionnel.
- 2) une prise de sang banale, faite par du personnel très entraîné pour rechercher une allergie, mesurer l'inflammation et faire des études génétiques à partir de l'ADN des cellules.
- 3) des tests respiratoires. Si le premier résultat est normal, on me fera inhaler une substance appelée méthacholine à laquelle les asthmatiques sont plus sensibles que les autres personnes. Si j'ai une réaction, on me fera immédiatement inhaler un médicament qui dilate les bronches (salbutamol) qui fera disparaître les symptômes en 5 minutes. Si le premier résultat est anormal, on me donnera directement du salbutamol pour voir si cela me permet de mieux respirer.
- 4) afin de pouvoir examiner mes crachats, on me fera inhaler du sérum salé qui me fera cracher, en surveillant comme précédemment ma fonction respiratoire.
- 5) une recherche d'allergie en faisant des scarifications sur l'avant bras à travers des liquides contenant des allergènes.

La durée totale de l'examen est d'environ 2h à 2h30. Tous les examens sont sans danger, et sont faits couramment dans les services hospitaliers, et dans d'autres études de ce type.

Les résultats seront transmis à moi-même et/ou à mon médecin traitant. La recherche a été approuvée par le Comité de protection des personnes participant à la recherche biomédicale (CCPRB) de Paris-Necker le 31 mars 2003

J'ACCEPTE DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE DANS LES CONDITIONS PRECISEES CI-DESSUS

Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités. Je conserve tous mes droits garantis par la loi. Si je le désire, je serai libre à tout moment d'arrêter ma participation.

Je comprends que les analyses génétiques effectuées à partir de mon prélèvement de sang ne concernent que la recherche et ne me seront pas communiquées. L'ensemble des données sera traité de façon anonyme et aucune publication scientifique résultant de cette étude ne mentionnera mon identité. Je comprend également que je ne peux prétendre à réclamer aucun bénéfice financier d'une quelconque découverte faite au cours de cette recherche. Je n'autorise la consultation des données me concernant que par des personnes qui collaborent à la recherche désignées par l'organisateur, le Dr Francine Kauffmann et, éventuellement, un représentant des Autorités de santé.

Je pourrai à tout moment demander toute information complémentaire au Dr Isabelle Pin, Tél 04 76 76 54 69

Signature de l'investigateur
ou du médecin qui le représente

Fait à, le
Signature

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION (enfant mineur)

de M..... et M.....(nom, prénom)
adresse.....

Titre identifiant la recherche : Etude de la santé respiratoire - Suivi à 10 ans (1991-2001)

Le Dr (nom du médecin investigateur, exemple pour le centre de Grenoble) Isabelle Pin nous a proposé que (nom, prénom du mineur) né(e) le..... participe à une recherche organisée par l'INSERM sur les facteurs de risque de la survenue et de l'évolution des symptômes respiratoires et allergiques. Elle nous a précisé que nous sommes libres d'accepter ou de refuser.

Nous avons reçu et bien compris les informations suivantes :

L'étude à laquelle il est demandé à notre enfant de participer fait suite à celle à laquelle notre enfant a déjà participé en 1991-1995. Le protocole de l'étude prévoit des examens similaires à ceux de 1991/95, avec pour certaines personnes une étude des crachats qui n'avait pas été faite la première fois :

- 1) un questionnaire sur la santé et l'environnement.
- 2) une prise de sang banale, faite par du personnel très entraîné pour rechercher une allergie, mesurer l'inflammation et faire des études génétiques à partir de l'ADN des cellules.
- 3) des tests respiratoires. Si le premier résultat est normal, on lui fera inhaler une substance appelée méthacholine à laquelle les asthmatiques sont plus sensibles que les autres personnes. S'il a une réaction, on lui fera immédiatement inhaler un médicament qui dilate les bronches (salbutamol) qui fera disparaître les symptômes en 5 minutes. Si le premier résultat est anormal, on lui donnera directement du salbutamol pour voir si cela lui permet de mieux respirer.
- 4) afin de pouvoir examiner ses crachats, on lui fera inhaler du sérum salé qui le fera cracher, en surveillant comme précédemment sa fonction respiratoire.
- 5) une recherche d'allergie en faisant des scarifications sur l'avant bras à travers des liquides contenant des allergènes.

La durée totale de l'examen est d'environ 2h à 2h30. Tous les examens sont sans danger, et sont faits couramment dans les services hospitaliers, et dans d'autres études de ce type.

Les résultats seront transmis à nous-mêmes et/ou à son médecin traitant. La recherche est approuvée par le Comité de protection des personnes participant à la recherche biomédicale (CCPRB) de Paris-Necker le 31 mars 2003 ..

AVEC SON CONSENTEMENT, nous acceptons que notre enfant participe à cette recherche dans les conditions précisées ci-dessus

Notre consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités. Nous conservons tous nos droits garantis par la loi. Si nous le désirons, nous serons libres à tout moment d'arrêter cette participation.

Nous comprenons que les analyses génétiques effectuées à partir du prélèvement de sang de notre enfant ne concernent que la recherche et ne nous seront pas communiquées. L'ensemble des données sera traité de façon anonyme et aucune publication scientifique résultant de cette étude ne mentionnera son identité. Nous comprenons également que nous ne pouvons prétendre à réclamer aucun bénéfice financier d'une quelconque découverte faite au cours de cette recherche. Nous n'autorisons la consultation des données concernant notre enfant que par des personnes qui collaborent à la recherche désignées par l'organisateur, le Dr Francine Kauffmann et, éventuellement, un représentant des Autorités de santé.

Je pourrai à tout moment demander toute information complémentaire au Dr Isabelle Pin, Tél 04 76 76 54 69

Signature de l'investigateur
ou du médecin qui le représente

Fait à, le
Signature des titulaires de l'autorité parentale

Fiche d'information

Les maladies respiratoires comme l'asthme, la bronchite chronique et l'emphysème touchent un grand nombre de personnes. Certaines de ces maladies ont un caractère familial. Il y a encore beaucoup d'inconnues concernant ces maladies.

L'étude à laquelle il vous est demandé de participer a pour but de répondre à plusieurs questions. Premièrement, préciser l'état de vos poumons et de vos bronches. Deuxièmement, quelles sont les relations entre les maladies respiratoires et l'allergie ? Troisièmement, quel est le rôle respectif de l'environnement et de facteurs héréditaires dans ces maladies ?

Il est raisonnable de penser que la réponse à ces questions devrait permettre d'améliorer la prévention et le traitement des maladies respiratoires même si dans un premier temps vous ne tirez pas personnellement bénéfice de votre participation à l'étude envisagée.

Cette étude est faite chez des personnes ayant ou non des maladies respiratoires, dans plusieurs villes de France. Pour que les résultats de cette étude scientifique soient interprétables, il est nécessaire, comme dans un sondage, que le plus grand nombre de personnes sollicitées soient examinées. C'est pourquoi nous vous demandons si vous voulez bien participer à l'étude. Votre participation est bien évidemment facultative et votre refus (que vous n'avez pas à justifier) n'aurait bien sûr aucune conséquence sur vos soins médicaux. Les examens pratiqués pour cette étude sont les suivants : 1) un examen clinique effectué par un enquêteur spécialement entraîné et utilisant un questionnaire ; ceci dure environ 30 minutes, 2) une prise de sang, 3) des tests cutanés consistant en piqûres avec une minuscule aiguille à travers des liquides contenant des substances capables de révéler une allergie, 4) la mesure de la réponse des bronches à l'inhalation d'une substance, à laquelle les asthmatiques sont plus sensibles que certains sujets. Ces examens peuvent entraîner quelques effets désagréables mais sans aucun danger et sont faits couramment dans le service par du personnel très qualifié et avec un ou plusieurs médecins spécialisés à proximité. Les tests cutanés peuvent causer localement une rougeur et un gonflement comparables à ce que cause une piqûre d'ortie. Pour que nous puissions mesurer la réponse de vos bronches il vous sera demandé de souffler le plus fort possible dans un appareil, à plusieurs reprises à quelques minutes d'intervalle. A la fin de l'examen il est possible que vous vous sentiez légèrement essoufflé(e). Ceci disparaît très vite spontanément ou après avoir respiré un médicament couramment employé par les asthmatiques.

Les réponses au questionnaire et le résultat des examens seront consignés sur un cahier qui restera dans le service hospitalier où les examens ont été faits. Toutefois les mêmes informations sont retranscrites dans un dossier codé strictement confidentiel qui servira à constituer un fichier sur ordinateur de tous les sujets examinés à l'occasion de l'étude. La constitution d'un tel fichier a été soumise à l'approbation de la Commission Nationale Informatique et Liberté.

Enfin l'étude à laquelle il vous est demandé de participer a été approuvée par le Comité d'Ethique Médical du groupe hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul-Sainte Anne. Ce comité a pu vérifier que l'étude sera conduite conformément à la loi de décembre 1988.

Feuille de consentement

Je soussigné(e),

déclare accepter de participer volontairement à l'étude sur la fréquence et les causes des maladies respiratoires. Cette étude est organisée dans six hôpitaux : Cochin, Necker-Enfants Malades, Bichat, Lyon, Marseille et Montpellier sous l'égide des Universités correspondantes et de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.

Les différentes modalités de l'étude (objectifs, méthodes, examens cliniques et biologiques) m'ont été clairement expliquées.

J'ai eu la possibilité de consulter la fiche d'information préparée à cet effet et de poser à son sujet toutes les questions complémentaires (en particulier concernant les modalités et les conséquences des tests de mesure de la réactivité bronchique) et j'ai obtenu des réponses claires qui m'ont satisfait(e).

Je suis assujetti(e) à la sécurité sociale.

Je suis libre d'arrêter l'étude à tout moment si je le désire. Ma décision n'affectera en aucune façon les soins médicaux que je recevrai.

Mention manuscrite "Lu et approuvé" :

à Paris le :

Nom :

Prénom :

Signature :

Feuille de consentement particulière pour les enfants mineurs

Je soussigné(e),

déclare accepter de participer volontairement que mon enfant,.....
âgé(e) de..... participe à l'étude sur la fréquence et les causes des maladies respira-
toires. Cette étude est organisée dans six hôpitaux : Cochin, Necker- Enfants Malades, Bichat,
Lyon, Marseille et Montpellier sous l'égide des Universités correspondantes et de l'Institut Na-
tional de la Santé et de la Recherche Médicale.

Les différentes modalités de l'étude (objectifs, méthodes, examens cliniques et biologiques)
m'ont été clairement expliquées.

J'ai eu la possibilité de consulter la fiche d'information préparée à cet effet et de poser à son sujet
toutes les questions complémentaires (en particulier concernant les modalités et les consé-
quences des tests de mesure de la réactivité bronchique) et j'ai obtenu des réponses claires qui
m'ont satisfait(e).

Je suis assujetti(e) à la sécurité sociale.

Je suis libre d'arrêter l'étude à tout moment si je le désire. Ma décision n'affectera en aucune façon
les soins médicaux de mon enfant.

Mention manuscrite "Lu et approuvé" :

à Paris le :

Nom :

Prénom :

Signature :