



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



Fait clinique

Anaphylaxie alimentaire au pitaya ou « fruit du dragon » croisée avec pignon de pin et noix de cajou, allergènes en cause

Food anaphylaxis to red pitaya (“dragon fruit”) crossed with pine nut and cashew nut, allergens involved

P. Beaumont^{a,*,b}, B. Hilselberger^c, S. Jacquenet^{a,c}

^a Réseau d'Allergo-Vigilance®, 15, rue du Bois-de-la-Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

^b Cabinet d'allergologie, 14, avenue Gambetta, 94100 Saint-Maur-des-Fossés, France

^c Laboratoire GENCLIS, 15, rue du Bois-de-la-Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 17 juin 2021

Accepté le 7 octobre 2021

Disponible sur Internet le xxx

Mots clés :

Anaphylaxie alimentaire

Allergie alimentaire

Pitaya

Fruit du dragon

Pignon de pin

Noix de cajou

Légumine

LTP

Réactivité croisée

Keywords:

Food anaphylaxis

Food allergy

Pitaya

Dragon fruit

Pine nut

Cashew nut

Legumin

LTP

Cross reactivity

RÉSUMÉ

Nous rapportons un cas d'anaphylaxie sévère au pitaya (fruit du dragon) chez un enfant de 10 ans, allergique connu au pignon de pin et à la noix de cajou. L'étude de son sérum par immunoblot et immunoblot-inhibition, révélant une réactivité IgE contre des protéines du pitaya de 50 et 23 kDa ayant une forte homologie avec la légumine Ana o 2 de la noix de cajou, et de 11 kDa ayant une forte homologie avec la LTP Pru p 3, confirme l'allergie croisée entre ces trois aliments, de familles botaniques pourtant différentes. Le risque allergénique du pitaya est donc désormais à prendre en compte chez les patients allergiques au pignon de pin, allergène émergent, et chez ceux, de plus en plus nombreux, qui sont allergiques à la noix de cajou et autres anacardiées.

© 2021 Publié par Elsevier Masson SAS.

ABSTRACT

We report a case of severe anaphylaxis to pitaya (Dragon fruit) in a 10-year-old child, with a history of anaphylaxis to pine nut and cashew nut. Performing immunoblot and immunoblot inhibition test, we showed IgE reactivity of the patient's serum towards pitaya proteins of 50, 23 and 11 kDa molecular weight. The high homology between the proteins of 50 and 23 kDa and the cashew nut legumin Ana o 2, and between the 11 kDa protein and the LTP Pru p 3, confirms cross-reactivity of these three food allergens, though they belong to different botanical families. Allergenic risk of pitaya is now to consider in patients allergic to pine nut, an emergent allergen, and in the more and more frequent allergic patients to cashew nut and other anacardiaceous species.

© 2021 Published by Elsevier Masson SAS.

1. Introduction

Nous rapportons un cas d'anaphylaxie sévère au pitaya rouge, encore appelé fruit du dragon, chez un garçon de 10 ans qui en consomme pour la première fois mais est un allergique connu au pignon de pin, à la noix de cajou, à la pistache et à un moindre degré

à la caroube. Nous avons souhaité savoir quels étaient les allergènes en cause.

2. Botanique

Le pitaya, ou pithaya, ou pitahaya, est le fruit d'un cactus hémipiphyte (*Hylocereus*) qui pousse en Amérique du Sud et en Asie du Sud-Est. Il est également cultivé à La Réunion.

* Auteur correspondant.

Ce fruit, introduit par les colons français en Indochine à la fin du XIX^e siècle, a été baptisé par les Vietnamiens « *thanh long* » qui signifie « fruit du dragon » car sa plante grimpe en s'enroulant sur les troncs d'arbre, évoquant la forme d'un dragon.

La plante fleurit seulement quelques heures, la nuit. Ses grosses fleurs blanches, très odorantes, également comestibles, sont utilisées pour faire du thé.

La pollinisation est effectuée par les papillons et les chauves-souris dans les forêts tropicales, mais la plante est également cultivée par bouturage. Elle nécessite peu d'eau. Les fruits sont mûrs environ un mois après la floraison.

Le pitaya rouge est un gros fruit à l'épiderme rose vif, comestible, recouvert d'écailles, qui pèse environ 400 g. Sa chair est parsemée de très nombreuses petites graines noires.

Dans le genre *Hylocereus* il existe plusieurs espèces de pitaya : Le pitaya rouge (*Hylocereus purpurii*), qui est le plus recherché pour son goût, mais aussi des pitaya à chair blanche (*Hylocereus undatus*) ou jaune.

C'est un fruit riche en antioxydants, en vitamines et en fibres [1].

3. Cas clinique

3.1. Histoire de la maladie

Amaury est âgé de 10 ans lorsqu'il mange pour la première fois un pitaya rouge.

Quinze minutes plus tard, il présente une dyspnée laryngée, des douleurs abdominales puis un angioedème des paupières. La maman reconnaît immédiatement les symptômes de l'anaphylaxie car l'enfant est déjà poly allergique alimentaire et possède une trousse d'urgence contenant un auto-injecteur d'adrénaline. Toutefois, elle n'injecte pas l'adrénaline, lui donne un comprimé d'antihistaminique qui suffit à calmer les symptômes en moins d'une heure.

3.2. Antécédents

Cet enfant a débuté son histoire allergique alimentaire à l'âge de deux ans et demi. Après avoir mis à la bouche un seul pignon de pin, immédiatement recraché, il souffre de douleurs abdominales, est extrêmement pâle et somnolent ; 20 min plus tard il se gratte les paumes, vomit en jet et est couvert d'urticaire. Il est transféré en service d'accueil des urgences seulement 40 min plus tard, et y reçoit uniquement un corticoïde per os.

À l'âge de 7 ans, il mange une noix de cajou et ressent immédiatement un goût désagréable et une dysphagie.

Peu de temps après, même réaction en mangeant des rillettes de thon contenant de la caroube.

À l'âge de 8 ans, il mange par inadvertance l'équivalent d'une demi-pistache (éclats sur une tartelette) et ressent un prurit pharyngé pendant 10 min.

Il souffre par ailleurs d'allergie respiratoire (acariens, chat, pollen de bouleau) avec rhinite et asthme léger, et bénéficie avec succès d'une immunothérapie allergénique aux acariens entre 7 et 10 ans.

3.3. Bilan allergologique

Les prick-tests, négatifs pour l'arachide et la caroube, sont positifs pour : pulpe du pitaya rouge 5 mm, pignon de pin 20 mm, noix de cajou 8 mm, pistache 5 mm, noix de pécan 6 mm. Le témoin positif histamine est à 3 mm.

Les IgE spécifiques (réactifs Thermo Fisher Scientific ImmunoCAP®) sont positives pour le pignon de pin (16,5 kU/L), la noix de cajou (0,49 kU/L), la pistache (1,20 kU/L), la noix de pécan (0,81 kU/L), la caroube (1,51 kU/L), le soja (1,30 kU/L), les



Fig. 1. Pitaya rouge utilisé pour l'exploration allergénique.

recombinants Gly m 4 (8,23 kU/L), Bet v 1 (25,6 kU/L), Pru p 3 (10,40 kU/L).

Il n'y a pas d'IgE spécifiques vis-à-vis des recombinants Gly m 5 et Gly m 6 du soja.

3.4. Diagnostic

Il s'agit donc d'une anaphylaxie de grade 2 selon Ring [2] au pitaya rouge, chez un enfant de 10 ans ayant déjà fait une anaphylaxie sévère au pignon de pin, et des réactions plus modérées à la noix de cajou, à la pistache et à la caroube.

Biologiquement, outre les IgE spécifiques d'aliments positives, on note un profil de sensibilisation aux protéines PR-10 et aux LTP.

On note que l'enfant mange et tolère le tofu, la sauce de soja. Il signale un discret prurit pharyngé à la pomme mais boit du lait d'amande sans problème. Enfin il tolère parfaitement la pêche.

Le fruit du dragon a été rajouté à la liste d'évictions alimentaires de l'enfant, le suivi est poursuivi avec renouvellement régulier de la trousse d'urgence avec auto injecteur d'adrénaline, et du PAI avec plan d'action en urgence.

Ce cas a fait l'objet d'une déclaration au Réseau d'Allergovigilance®.

4. Explorations allergéniques complémentaires

4.1. Matériel et méthodes

4.1.1. Sérums utilisés

En dehors du sérum du patient dont nous rapportons le cas ici, nous avons utilisé le sérum d'un patient allergique à la noix de cajou sans IgE spécifiques d'Ana o 1 mais avec des IgE spécifiques d'Ana o 2 (25,2 kU/L) et d'Ana o 3 (77 kU/L).

4.1.2. Préparation des allergènes

Des extraits protéiques de pitaya, pignon de pin et noix de cajou ont été préparés. Pour cela, 5 g de pulpe de pitaya rouge contenant les pépins (Fig. 1) ou 5 g de graines (pignon de pin et noix de cajou non grillés) ont été broyés à l'aide d'un homogénéisateur *Precellys Evolution* (Bertin Technologies) dans du PBS pH7.4, laissés en contact pendant 1 h sous agitation rotative à température ambiante puis centrifugés à 16 000 g pendant 30 min à +4 °C. La concentration

protéique dans les surnageants de centrifugation a été mesurée par dosage par la méthode de Bradford (*Thermo Fisher Scientific*).

Les allergènes recombinants de noix de cajou Ana o 1 (numéro d'accèsion Swissprot Q8L5L5) et Ana o 2 (numéro d'accèsion Swissprot Q8GZP6) ont été produits dans *Pichia pastoris*. Les deux protéines portent un tag Histidine à leur extrémité C-terminale pour permettre leur purification par chromatographie d'affinité sur colonne de nickel comme décrit précédemment [3]. La qualité et l'immunoréactivité des protéines purifiées a été vérifiée par chromatographie d'exclusion, SDS-PAGE, immunoblot avec un anticorps anti-tag histidine et un sérum de patient allergique à la noix de cajou (résultats non montrés).

4.1.3. SDS-PAGE, immunoblots et immunoblot-inhibitions

Les extraits protéiques ont été séparés par électrophorèse en conditions dénaturantes. Les échantillons ont été mélangés à du tampon de dépôt contenant 5 % de 2-mercaptoéthanol pour obtenir des conditions réductrices ou sans 2-mercaptoéthanol pour être dans des conditions non réductrices. Dans les deux cas, les échantillons ont été chauffés 5 min à 95 °C avant dépôt. La migration a été faite à 120 V.

Après électrophorèse, les protéines ont été transférées sur une membrane de PVDF qui a ensuite été incubée en tampon de blocage (PBS-Tween 0,5 %-Lait 5 %) pendant 2 h à température ambiante. Le sérum du patient dilué au 1/50 ou au 1/100 dans le tampon de blocage a été appliqué sur la membrane bloquée durant une nuit à +4 °C. Après lavages, la membrane a été mise en contact pendant 1 h à température ambiante avec un anticorps secondaire anti-IgE humaines couplé à la *Horse-Radish Peroxidase* (dilution 1/6000 ; KPL) puis les IgE fixées sur les protéines ont été révélées par chimioluminescence (*ECL Prime*, *GE Healthcare*).

Les immunoblot-inhibitions ont été réalisés de la même façon mais le sérum du patient dilué au 1/50 a été préalablement incubé sous agitation pendant 4 h à +4 °C avec l'inhibiteur à la concentration de 60 µg/mL (pour les protéines recombinantes Ana o 1 et Ana o 2) ou de 125 µg/mL (pour les extraits de pitaya, pignon de pin et noix de cajou).

L'inhibition par Pru p 3 a été réalisée en incubant 80 µL de sérum pur sur un ImmunoCAP® f420 (*Thermo Fisher Scientific*). Après 1 h à 37 °C et 2 min de centrifugation à 16 000 g, le sérum a été récupéré et mis en contact avec un second ImmunoCAP® f420 pour 1 h supplémentaire. Après centrifugation, le sérum épuisé a été récolté et utilisé à la dilution 1/50 pour réaliser un immunoblot dans les conditions décrites plus haut. Le sérum non inhibé a été préparé de la même façon en utilisant deux ImmunoCAP® sans protéine immobilisée (ImmunoCAP® Dummy).

4.1.4. Bioinformatique

Nous avons recherché, sur le génome de *H. undatus* (numéro d'accèsion GenBank GCA.017589665), des séquences similaires aux allergènes Ana o 1 (Uniprot2, Q8L5L5), Ana o 2 (Q8GZP6) et Pru p 3 (P81402) en utilisant la méthode de recherche tblastn qui analyse le génome dans les six phases de lecture potentielles [4]. Grâce à cela, nous avons identifié plusieurs régions d'intérêt sur le génome à partir desquelles nous avons extrait les séquences de plus forte similarité avec chaque allergène. Nous avons utilisé ces séquences pour rechercher leurs homologues les plus proches dans les bases de données protéiques (nr) NCBI. Nous avons ainsi identifié deux protéines prédites de *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* (XP.010679084.1, XP.010671027.1) et une protéine prédite de *Chenopodium quinoa* (XP.021723222.1). Ces trois protéines ont ensuite été alignées contre le génome de *H. undatus* grâce à l'outil de comparaison de séquences Exonerate qui permet de prédire l'existence d'un codon start, d'introns et d'exons, de sites donneurs et accepteurs d'épissage et d'un codon stop et donc de gènes potentiels [5]. Nous avons ensuite téléchargé trois séquences ARN

(Illumina HiSeq 2500) disponibles sur la base de données SRA NCBI (SRR13775183, SRR13775203, SRR13775204) et réalisé à partir d'ARN extraits de la chair du fruit du pitaya à un stade de développement de 32 jours. Les reads issus des trois séquençages ont été alignés contre le génome de *H. undatus* grâce à l'outil d'alignement bwa [6] et le nombre de paires de reads alignées sur chacun des trois loci a été calculé par le programme htseq-count [7].

4.2. Résultats

4.2.1. Étude de la sensibilisation au pitaya, au pignon de pin et à la noix de cajou

Les extraits de pitaya, pignon de pin et noix de cajou (10 µg de protéines totales/puits) ont été soumis à une séparation par électrophorèse en conditions dénaturantes et réductrices suivie d'une coloration au bleu de Coomassie. La Fig. 2A montre que les trois aliments contiennent de nombreuses protéines de tailles variées de moins de 10 kDa à plus de 100, dont certaines plus abondantes, comme par exemple à 23 kDa dans le pitaya ou à 23 et 30 kDa dans le pignon.

Un immunoblot réalisé sur ces extraits avec le sérum du patient dilué au 1/50 montre des protéines IgE-réactives dans les trois aliments (Fig. 2B). Dans le pitaya, quatre allergènes sont détectés, deux fortement à 11 kDa et 23 kDa, un troisième plus légèrement à 50 kDa et un dernier plus discret à 60 kDa (Fig. 2B). Le pignon de pin présente, lui, au moins 12 allergènes dont 6 particulièrement réactifs (23, 29, 47, 54, 60 et 100 kDa). La noix de cajou, quant à elle, renferme un allergène principal de faible poids moléculaire (< 10 kDa) et trois allergènes moins réactifs à 21, 50 et 57 kDa (Fig. 2B).

4.2.2. Étude de réactivité croisée

Nous avons ensuite cherché à savoir si l'allergie aux trois aliments était la traduction d'une sensibilisation unique ou s'il s'agissait de trois sensibilisations indépendantes. Pour cela, nous avons réalisé des immunoblot-inhibitions. Nous avons tout d'abord étudié la réactivité croisée vis-à-vis du pignon de pin. Comme attendu, la pré-incubation du sérum avec le pignon réduit considérablement le nombre des bandes IgE-réactives sur lui-même (Fig. 2C, immunoblot de gauche). Une atténuation de la bande IgE-réactive de 50 kDa et la disparition de la bande < 10 kDa dans la noix de cajou sont également visibles dans ces conditions. Enfin, les protéines du pitaya de 23 et 11 kDa voient leur intensité diminuer et les protéines de 50 et 60 kDa sont devenues indétectables.

La pré-incubation du sérum avec la noix de cajou conduit à un profil d'IgE-réactivité du pitaya semblable à celui obtenu lors de l'inhibition avec le pignon de pin et l'intensité des bandes de pignon et de noix de cajou sont réduites (Fig. 2C, immunoblot central).

Enfin, l'inhibition par l'extrait de pitaya fait disparaître les bandes IgE-réactives de pitaya de 60, 50 et 11 kDa et diminuer l'intensité de la bande à 23 kDa (Fig. 2C, immunoblot de droite). Les allergènes de pignon sont peu impactés par pré-incubation du sérum avec le pitaya et la réactivité vis-à-vis de la noix de cajou, principalement l'allergène de faible poids moléculaire, est fortement réduite.

4.2.3. Étude des allergènes potentiellement en cause

Pour essayer d'aller plus loin dans l'identification des allergènes en cause, nous avons utilisé deux protéines recombinantes de noix de cajou d'une taille d'environ 50 kDa, la viciline Ana o 1 de 55 kDa et la légumine Ana o 2 de 50 kDa, que nous avons produites au laboratoire (Fig. 3A.) Après avoir vérifié par immunoblot, dans les conditions utilisées plus haut pour les extraits de pitaya, pignon de pin et noix de cajou, que le patient était bien sensibilisé aux protéines Ana o 1 et Ana o 2 (Fig. 3B), nous avons testé ces allergènes en immunoblot-inhibition. La pré-incubation du sérum du patient

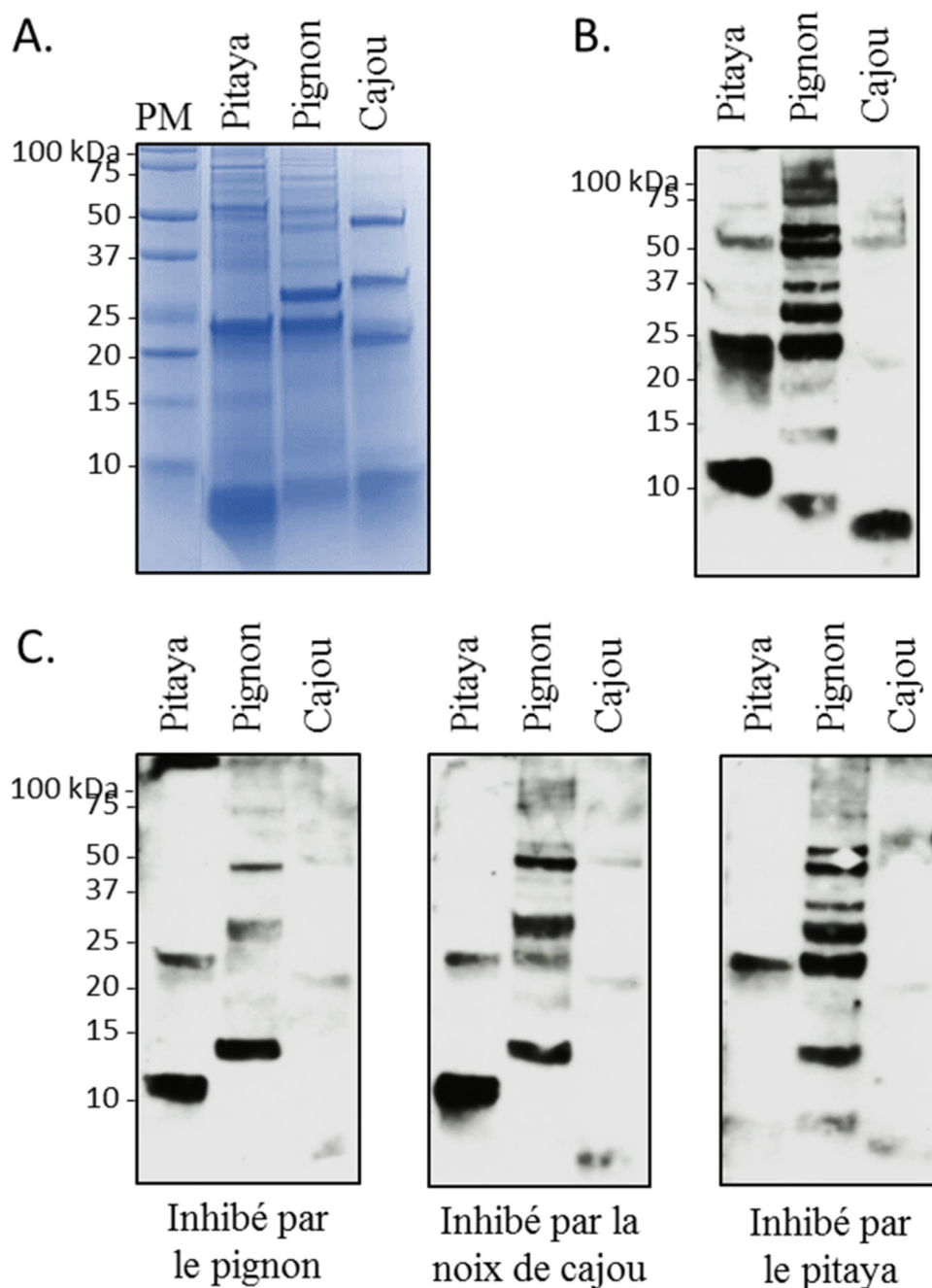


Fig. 2. (A). SDS-PAGE des extraits protéiques de pitaya rouge, pignon de pin et noix de cajou (10 µg/puits). PM : marqueur de poids moléculaires. (B). Immunoblot-IgE des extraits de pitaya, pignon de pin et noix de cajou réalisé avec le sérum du patient dilué au 1/50. (C). Immunoblot-inhibition des extraits de pitaya, pignon de pin et noix de cajou réalisé avec le sérum du patient dilué au 1/50 pré-incubé avec du pignon de pin (immunoblot de gauche), ou de la noix de cajou (immunoblot central) ou du pitaya (immunoblot de droite) à la concentration de 125 µg/mL.

avec Ana o 2 fait disparaître pratiquement totalement la réactivité IgE des protéines de pitaya de 60 et 50 kDa et atténue celle des protéines de 23 et 11 kDa, alors que l'inhibition par Ana o 1 est sans effet (Fig. 3C). Pour vérifier la spécificité de l'inhibition par la protéine Ana o 2, nous avons réalisé un immunoblot sur le pitaya avec le sérum d'un patient allergique à la noix de cajou, sensibilisé à Ana o 2 mais pas à Ana o 1. L'immunoblot montre deux bandes IgE-réactives à 50 et 23 kDa et aucune à 60 et 11 kDa (Fig. 3D).

Sur la base de sa taille et puisque le patient est sensibilisé à Pru p 3, nous avons cherché à savoir si la protéine IgE-réactive de 11 kDa pouvait être une LTP. Pour cela, nous avons épuisé le sérum du patient sur ImmunoCAP® rPru p 3 puis nous avons testé le sérum épuisé en immunoblot. Le passage sur ImmunoCAP®

supprime totalement la réactivité de la bande à 11 kDa, sans modifier l'intensité de la bande de 23 kDa (Fig. 4A). Enfin, la protéine de 11 kDa n'est reconnue par les IgE du sérum que lorsqu'elle est placée en conditions réductrices (Fig. 4B et C).

4.2.4. Étude bioinformatique

À notre connaissance, le génome d'une seule espèce du genre *Hylocereus* a été séquencé et ceci très récemment [8]. Il s'agit de celui de *H. undatus*, qui, bien que largement séquencé, ne l'est qu'incomplètement. Le génome n'ayant pas été annoté pour les protéines qui nous intéressaient, nous avons cherché, grâce à la méthodologie exposée dans la partie Matériel et méthodes (section 4.1), s'il pouvait exister sur celui-ci des séquences capables

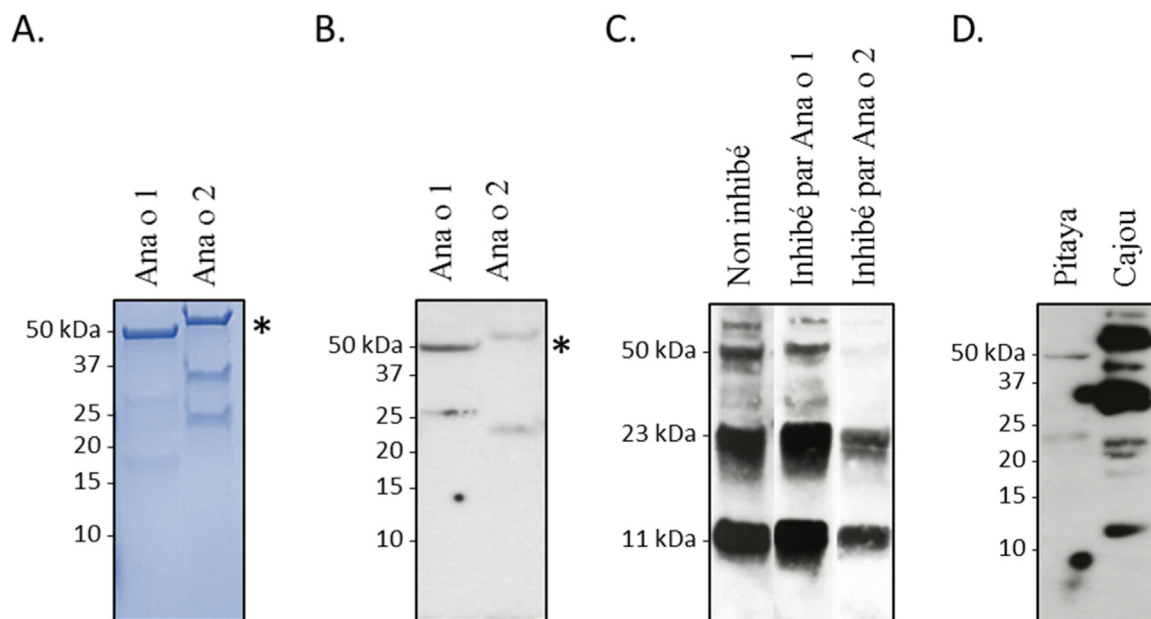


Fig. 3. (A). SDS-PAGE des protéines recombinantes Ana o 1 et Ana o 2 (5 µg/puits). La taille des marqueurs de poids moléculaires est indiquée. L'astérisque montre les bandes correspondant au monomère de chaque protéine, les bandes plus basses étant des produits de dégradation des monomères. (B). Immunoblot-IgE des protéines Ana o 1 et Ana o 2 réalisé avec le sérum du patient dilué au 1/50. (C). Immunoblot-inhibition de l'extrait de pitaya réalisé avec le sérum du patient dilué au 1/50 pré-incubé sans inhibiteur (piste « Non inhibé ») et avec Ana o 1 (piste « Inhibé par Ana o 1 ») ou Ana o 2 (piste « Inhibé par Ana o 2 ») à la concentration de 60 µg/mL. (D). Immunoblot-IgE de l'extrait de pitaya réalisé avec le sérum d'un patient allergique à la noix de cajou et sensibilisé à Ana o 2 dilué au 1/50.

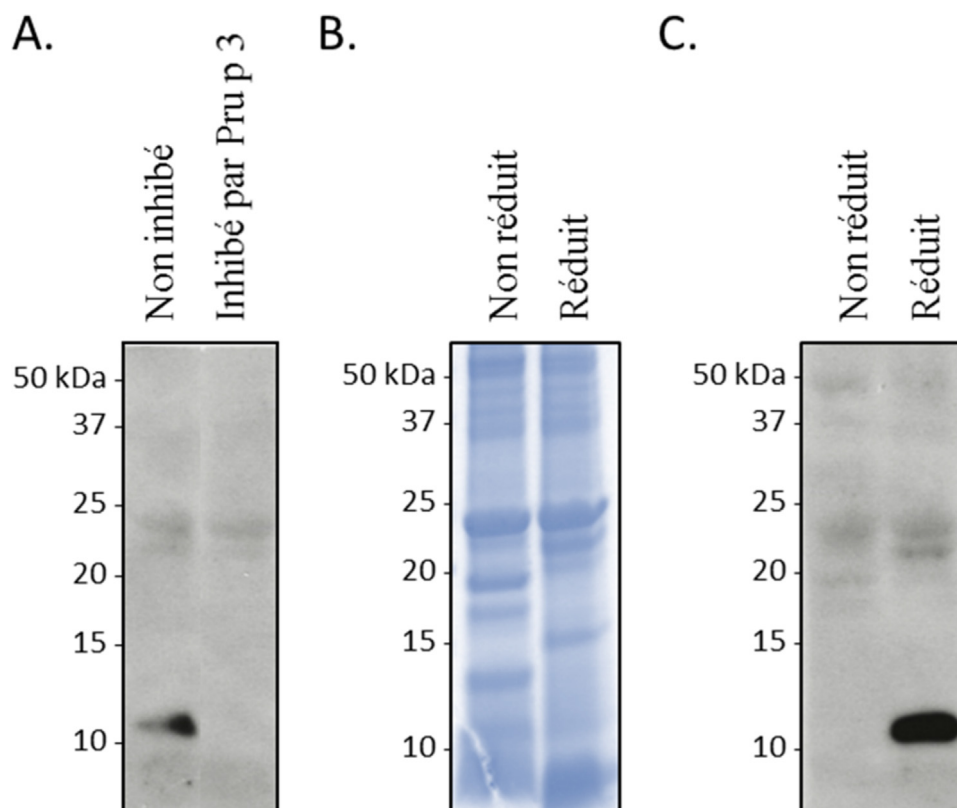


Fig. 4. (A). Immunoblot-IgE de l'extrait de pitaya réalisé avec le sérum du patient dilué au 1/50 après épuisement du sérum sur ImmunoCAP® Dummy (piste « Non inhibé ») ou ImmunoCAP® Pru p 3 (piste « Inhibé par Pru p 3 »). (B). SDS-PAGE de l'extrait de pitaya en conditions non réduites et réduites. (C). Immunoblot-IgE de l'extrait de pitaya en conditions non réduites et réduites réalisé avec le sérum du patient dilué au 1/100.

de coder des protéines homologues à Ana o 1, Ana o 2 et Pru p 3. Deux gènes candidats pouvant coder des protéines homologues à Ana o 2 et Pru p 3 ont été identifiés, respectivement, entre les positions 1 336 955 et 1 334 832 sur la séquence

génomique JACYFF010019584.1 et entre les positions 15 886 340 et 15 885 983 sur la séquence génomique JACYFF010031952.1. Aucun modèle de gène complet n'a pu être prédit pour l'homologue d'Ana o 1.

Nous avons ensuite cherché, dans les quelques séquençages réalisés sur les ARN du fruit et disponibles publiquement, s'il existait des transcrits pouvant correspondre aux gènes prédits. De tels ARN ont pu être mis en évidence pour les deux gènes candidats sans pour autant pouvoir déterminer leur niveau d'expression, faute d'avoir annoté tous les gènes.

Les protéines potentielles qui seraient codées par ces deux transcrits sont présentées Fig. 5. La légumine de pitaya aurait 46 % d'identité et 68 % d'homologie avec Ana o 2 (Fig. 5A), alors que la LTP de pitaya aurait 57 % et 76 % d'identité avec Pru p 3 (Fig. 5B). Les épitopes linéaires identifiés pour ces deux allergènes [9,10] se trouvent la plupart du temps dans des zones de moindre homologie.

5. Discussion

Peu de cas d'anaphylaxie au Pitaya sont rapportés dans la littérature, et à notre connaissance il s'agit ici du quatrième cas.

La première description, faite par Damiani et al. en 2008, rapportait un cas chez une jeune femme de 19 ans, sans antécédents allergiques, ayant développé urticaire et angioedème après consommation d'un pitaya rouge. Le prick-test (PT) pitaya était positif. Le bilan (PT et IgE spécifiques) était négatif pour kiwi, orange, raisin et melon d'eau. L'immunoblot révélait une réactivité IgE vis-à-vis d'une protéine du pitaya de 10 kDa [11].

Le second cas, rapporté par Kleinheinz et al. en 2009, est celui d'une jeune femme de 19 ans ayant fait une anaphylaxie de grade 2 (selon Ring) après avoir bu un jus de fruit contenant du pitaya. PT positif uniquement pour le pitaya, et négatifs pour tous les autres fruits du mélange. Les auteurs mettaient en évidence une LTP, sans réactivité croisée avec la LTP Pru p 3 de la pêche. Ceci était en accord avec l'histoire clinique de la patiente, qui tolérait les pêches [12].

En 2014, Rodriguez-Jimenez et al. rapportent le cas d'une fillette de 7 ans ayant présenté une urticaire après ingestion d'une moitié de pitaya jaune. Le PT était négatif mais un test de provocation orale déclencha l'urticaire 10 minutes après ingestion d'un demi pitaya. En immunoblot, le sérum de la patiente reconnaissait des protéines de pitaya de différentes masses moléculaires. La bande la plus intense correspondait à des protéines de haut PM, entre 75 et 100 kDa [13].

Chez Amaury, notre jeune patient aux antécédents d'anaphylaxie sévère au pignon de pin, puis syndrome oral à la noix de cajou et à la pistache, les protéines allergisantes du pitaya mises en évidence sont majoritairement différentes des protéines précédemment citées.

Nous avons pu montrer que les réactions allergiques du patient sont la conséquence d'une réactivité croisée entre le pignon de pin, la noix de cajou et le pitaya (Fig. 2C) et que la sensibilisation au pitaya s'explique par l'existence de quatre allergènes de 60, 50, 23 et 11 kDa (Fig. 2B).

La réactivité IgE des allergènes de 50 et 23 kDa est inhibable par Ana o 2 (Fig. 3C), elle est également détectable en utilisant le sérum d'un autre patient allergique à la noix de cajou avec IgE spécifiques d'Ana o 2 (Fig. 3D) et un gène codant une légumine présentant 68 % d'homologie avec Ana o 2 (Fig. 5A) a pu être prédit sur le génome de *H. undatus* et il est transcrit. Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que l'allergène de pitaya de 50 kDa pourrait être une légumine homologue d'Ana o 2. L'allergène de 23 kDa, plus petit que la plupart des légumine, pourrait être une protéine d'une autre famille mais présentant néanmoins une homologie suffisante avec elle pour expliquer l'inhibition observée ou un produit de dégradation ou clivage de la protéine entière. Toutefois, on ne peut exclure qu'il s'agisse tout de même d'une légumine mais de taille atypique,

le pitaya appartenant à une famille botanique très différente du pignon de pin ou de la noix de cajou.

Concernant l'allergène de 11 kDa, sa taille, la sensibilisation du patient à Pru p 3, le fait de pouvoir inhiber sa réactivité IgE avec Pru p 3 (Fig. 4A) et de prédire un gène codant une protéine homologue à Pru p 3 à 76 % (Fig. 5B) qui est transcrit suggèrent qu'il pourrait s'agir d'une LTP. Il est intéressant de noter que cette réactivité n'est pas inhibable par le pignon de pin, ni par la noix de cajou (Fig. 2C), indiquant qu'il n'existe pas dans ces aliments de protéines (suffisamment) homologues ou qu'elles sont présentes en trop faible quantité pour conduire à une inhibition. De plus, la réactivité de cette protéine n'est révélée que dans des conditions réductrices (Fig. 4C), indiquant que les épitopes fixés par les IgE de notre patient sont linéaires et/ou masqués quand la protéine est repliée et/ou renferment des cystéines qui ne doivent pas être impliquées dans des ponts disulfures pour être reconnues. Dans le cas d'allergie au pitaya jaune rapporté par Kleinheinz et al., les auteurs avaient montré que la réactivité de la LTP qu'ils avaient mise en évidence ne pouvait pas être inhibée par Pru p 3 ni par la LTP de blé, Tri a 14, mais l'était par la LTP de maïs, Zea m 14 [12]. La séquence N-terminale de la LTP rapportée par ces auteurs n'existe pas dans la LTP prédite ici. Ceci suggère qu'il pourrait exister plusieurs LTP dans le pitaya.

Enfin, le fait que la réactivité IgE de l'allergène de 60 kDa soit inhibable par Ana o 2 mais non détectable en utilisant le sérum d'un patient allergique à la noix de cajou avec IgE spécifiques d'Ana o 2 suggère que l'inhibition par Ana o 2 pourrait être en partie non spécifique ou que les épitopes reconnus par les deux patients seraient différents. Nous avons également montré que cette réactivité n'était pas inhibable par Ana o 1, indiquant que l'allergène de 60 kDa ne présente pas suffisamment d'homologies avec Ana o 1 ou n'est pas une viciline.

Le pignon de pin est un allergène émergent [14–16]. Les allergènes du pignon de pin identifiés à ce jour sont une viciline de 50 kDa, une protéine de 17 kDa dont la fonction est inconnue, et une protéine de 6 kDa, l'albumine pin p 1 [17,18].

La réactivité croisée du pignon de pin vis-à-vis de la légumine de 50 kDa du pitaya, ainsi que vis-à-vis de la légumine Ana o 2 de la noix de cajou, apporte ici un élément nouveau à la connaissance des allergènes du pignon de pin.

L'anaphylaxie à la noix de cajou est en constante augmentation ces dernières années, en particulier chez les enfants. Elle donne des réactions sévères, pour des doses ingérées souvent très faibles. Selon les données du Réseau d'Allergo-Vigilance® [19], de l'étude HealthNuts [20], de l'étude Pronuts dans sa cohorte de Genève [21], la noix de cajou est le fruit à coque le plus incriminé dans les anaphylaxies sévères du jeune enfant, se positionnant juste derrière l'arachide en termes de prévalence.

L'allergie croisée entre la noix de cajou et le pignon de pin semble assez peu fréquente. Bastiaan-Net et al. en 2019, dans une étude de 56 sera de patients allergiques à la noix de cajou, retrouvent seulement 4 patients sensibilisés au pignon de pin. Il est à noter que ces 4 patients sont sensibilisés à toutes les anacardiées (cajou, pistache, mangue, poivre rose et sumac), alors que les patients sensibilisés à la noix de cajou mais non sensibilisés au pignon de pin s'avèrent sensibilisés seulement à certaines anacardiées [22].

Enfin nous tenons à mentionner un second cas d'anaphylaxie au pitaya déclaré également au Réseau d'Allergo-Vigilance® en 2020. Nous n'avons malheureusement pas pu obtenir le sérum de ce patient pour l'explorer. Il s'agissait d'un homme de 35 ans ayant un prick-test positif pour le pitaya, et pour la grenade. Son profil protéique aurait peut-être été différent de celui d'Amaury.

A.

Légumine_pitaya	MARSSSLTVLSLALTLVLSPGSLA--QSWWPFREPRRLERGOALNECNLHRLSATEPT
Ana o 2	-----LSVCFLILFHGCLASRQEW-----QQQDECQIDRLDALEPD
	:: :: * * * * * :*: : * * * *
Légumine_pitaya	IRYQWEAGVAELWDPNQEFQCTGVTVLRSVIEPRGILLPHYVNAPHAFYVVGNGLLGV
Ana o 2	NRVEYEAGTVEAWDPNHEQFRCAGVALVRHTIQPNGLLPQYSNAPQLIYVVGEGMTGI
	* :*** * *****: * :*: : * :* *****: * : :*****: * :
Légumine_pitaya	TFPGCPETFESGSGSASFSEEGIRGSEMRQDKHQVRRLRHGDVIAVPAGVNNWVYNDGQ
Ana o 2	SYPGCPETYQAPQQGRQQGSG-----RFQDRHQKIRFRRGDI IAI PAGVAHWCYNEGN
	:*****:: : * * :* * :*: * :*: * :* :* :* :* :* :* :
Légumine_pitaya	EPLVFVAFFDTNSVHNQLDRTLRFKFFLAGNPEQSEGREGRHHMREGQEA VSMGNI FKGF D
Ana o 2	SPVVTVTLLDVSQNQLDRTPRKFHLAGNPKDVFQQQQHQHQRG-----RNLFSGFD
	*: * *::* :***** * * *****: : * : * * : * *
Légumine_pitaya	EQLLADSFQVDRDTIQRLQGQEFQGRGGIIRVERD-LQVVC-----EDEEE
Ana o 2	TELLAEAFQVDERLIKQLKSED--NRGGIVKVKDELVRVIRPSRQSERGSESEEESEDE
	:***: * * * : * : : : *****: * * * : * * : * *
Légumine_pitaya	RHHGGRYTMNGLEETFC SARLGGNLDSPHKADIYNREGGRLTFLNRNKIPILGLLDMSVD
Ana o 2	KRRWQQRD-NGIEETICTMRLENINDPARADIYTPEVGRITLNSLNLPIKWLQLSVE
	: * * :*:***: * * * : * : * :***** * * * * * :*: * :*: :
Légumine_pitaya	KGHLYQNAIMSPHWGLNSHRIHYTRGRGRVQVTCERGQLVFDGEVREGQLLVIPQNFVA
Ana o 2	KGVLYKNALVLP HWNLNSHSIIYGCKGKGQVQVDNFGNRVFDGEVREGQMLVVPQNFVA
	** * :*: : * * * * * * :*: * * * : * : *****: * : * *
Légumine_pitaya	VKQAGQEGLEWVVFNTHSE SMLGTLAGRLSALRALPEEVVMNSYGVSRDARRLKFSREE
Ana o 2	VKRAREERFEWISFKTNDRAMTSPLAGRTSVLGGMPPEVLANAFQISREDARKIKFNNQQ
	** * : * :*: * :*: : * * * * * * :*: * : :*****: * : :
Légumine_pitaya	THFFQPSSASLHIRQVVEEDVKA
Ana o 2	TT-LTSGESSHMRD-----DA
	* : : * * : * *

B.

LTP_pitaya	MASSALFKVTCVFLCMVVVAPHAEAAITCGLVAKSIAPCMNYLKSGGTPPPACCAGVKQ
Pru p 3	-----ITCGQVSSALAPCIPYVRGGGAVPPACCNGIRN
	**** * : :*: * : * : * * * * * : :
LTP_pitaya	LVGLAATAPDRQAACGCLKQAAGSVPLNYANAGALPGKCGADVPPISPSTDCSKYD
Pru p 3	VNNLARTTPDRQAACNCLKQLSASVPGVNPNNAAALPGKCGVHIPYKISASTNCATVK
	: * * * :***** * * * : * : * * * * * : * * * * : * :

Fig. 5. (A). Alignement des séquences protéiques de la légumine de pitaya prédite et Ana o 2. (B). Alignement des séquences protéiques de la LTP de pitaya prédite et Pru p 3. Les acides aminés identiques entre les deux séquences sont indiqués par un astérisque et les acides aminés homologues par deux points. Les séquences surlignées en gris correspondent aux épitopes linéaires les plus fréquents et/ou les plus réactifs identifiés précédemment [9,10].

6. Conclusion

Le pitaya est donc un fruit riche en protéines allergisantes, de différentes familles et poids moléculaires. La mise en évidence, à partir de ce cas clinique, de protéines du pitaya croisant avec le pignon de pin et avec la noix de cajou, ayant une forte homologie avec la légumine Ana o 2 de la noix de cajou, doit désormais inciter à mettre en garde les patients allergiques à la noix de cajou (et autres anacardiées), ainsi qu'au pignon de pin, en rajoutant le pitaya à leur liste d'éviction alimentaire.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Remerciements

Au Docteur C. Chatain, déclarant au RAV® du deuxième cas d'anaphylaxie au pitaya mentionné dans cet article.

À mon petit patient qui a courageusement accepté ce nouveau prélèvement pour l'envoi du sérum, et à ses parents.

Au laboratoire Bauduret F. et Vanheste I.

À Madame Sélima Tscheiller, assistante administrative analyste du Réseau d'Allergo-Vigilance®.

Références

- [1] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Pitaya>.
- [2] Ring J, Behrendt H, de Weck A. History and classification of anaphylaxis. *Chem Immunol Allergy* 2010;95:1–11.
- [3] Codreanu F, Collignon O, Roitel O, Thouvenot B, Sauvage C, Vilain AC, et al. A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154:216–26.
- [4] Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990;215:403–10.
- [5] Slater GS, Birney E. Automated generation of heuristics for biological sequence comparison. *BMC Bioinformatics* 2005;6:31 <https://www.ebi.ac.uk/about/vertebrate-genomics/software/exonerate>.
- [6] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics* 2009;25:1754–60.
- [7] Anders S, Pyl PT, Huber W. HTSeq — A Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 2015;31(2):166–9.
- [8] Zheng J, Meinhardt LW, Goenaga R, Zhang D, Yin Y. The chromosome-level genome of dragon fruit reveals whole-genome duplication and chromosomal co-localization of betacyanin biosynthetic genes. *Horticult Res* 2021;8:63–79.
- [9] Wang F, Robotham JM, Teuber SS, Sathe SK, Roux KH. Ana o 2, a major cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut allergen of the legumin family. *Int Arch Allergy Immunol* 2003;131(1):27–39.
- [10] Garcia-Casado G, Pacios LF, Diaz-Perales A, Sanchez-Monge R, Lombardero M, Garcia-Selles FJ, et al. Identification of IgE-binding epitopes of the major peach allergen Pru p 3. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(3):599–605.
- [11] Damiani E, Aloia AM, Priore MG, Delle Donne P, Nettis E, Ferrannini A. Allergy to red pitaya. *Allergy* 2008;63:1252–3.
- [12] Kleinheinz A, Lepp U, Hausen BM, Petersen A, Becker W-M. Anaphylactic reaction to (mixed) fruit juice containing dragon fruit. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(4):841–2.
- [13] Rodriguez-Jimenez B, Dominguez-Ortega J, Ledesma A, Cava-Sumner B, Kindelan-Recarte C. Generalized urticaria due to yellow pitaya. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2014;24(2):124–5.
- [14] Dutau G. Is pine nut an emerging allergen? Clinical case and literature review. *Rev Fr Allergol* 2020;60:158–61.
- [15] Dutau G, Lavaud F. Le pignon de pin : allergène nouveau ? Allergène émergent ? *Rev Fr Allergol* 2014;54(2):41–3.
- [16] Pralong P, Moneret-Vautrin DA, Pirson F, et al. Anaphylaxie au pignon de pin : à propos de vingt cas déclarés au Réseau d'Allergo-Vigilance. *Rev Fr Allergol* 2014;54(2):61–5.
- [17] Cabanillas B, Cheng H, Grimm CC, et al. Pine nut allergy: clinical features and major allergens characterization. *Mol Nutr Food Res* 2012;56(12):1884–93.
- [18] <http://www.allergome.org/>.
- [19] Wintrebert G, Bradatan E, Liabeuf V, Beaumont P, Van der Brempt X, Dumond P, et al. Anaphylaxie à l'arachide et/ou aux fruits à coque du jeune enfant : des données du Réseau d'Allergo-Vigilance® à la prévention primaire de l'allergie alimentaire. *Rev Fr Allergol* 2021;61:68–74.
- [20] Mc William V, Peters R, Tang MLK, Dharmage S, Ponsonby AL, Gurrin L, et al. Patterns of tree nut sensitization and allergy in the first 6 years of life in a population-based cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143, 644–50.e5.
- [21] Brough HA, Caubet JC, et al. Defining challenge-proven coexistent nut and sesame seed allergy: a prospective multicenter European study. *J Allergy Clin Immunol* 2020;145(4):1231–9.
- [22] Bastiaan S, Reitsma M, Cordewener JHG, Van der Valk JPM, America THP, Dubois AEJ, et al. IgE cross-reactivity of cashew nut allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2019;178(1):19–32.