

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Biologie moléculaire des procaryotes

### Thème

---

## Contribution à l'étude des protéines allergènes d'origine végétale (*Pisum sativum* L)

---

**Présenté par :**

**Brinis Siham  
Chaabna Nawal  
Mehamdia Assia  
Souahlia Nawal**

**Devant le jury composé de :**

**Président : Melle Zidi Sorour (M.A.B)  
Examinateur : Melle Merabet Rym (M.A.B)  
Encadreur : Mme Ayed Hayette (M.A.B)**

- Juin 2011 -

**Juin 2011**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA**  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## **Mémoire de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biologie**

**Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Immunologie Approfondie**

### **Thème**

---

**Evaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologique  
des Eaux Potables: Cas de la Station d'Épuration  
de Hammam Debagh - Guelma**

---

**Présenté par : Ramzi CHAKIRI**

**Devant le jury composé de :**

Président : M. DJAKOUN Mohamed (M.A)  
Examineur : M. HOUHAMDJ Moussa (Pr.)  
Encadreur : M. BOUCHELAGHEM ELHadi (M.A)

**Juin 2011**

## Résumé

Les protéines sont des éléments très importants dans la nutrition, ces substances peuvent être d'origine animale ou végétale. Certaines protéines sont impliquées dans l'allergie alimentaire qui se manifeste par une réponse anormale du système immunitaire contre une substance antigénique qualifiée de trophallergène.

Notre travail a porté sur la détermination des protéines allergènes d'origine végétale de pois vert (*Pisum sativum* L), l'étude de ces molécules de grandes importance, il a été procédé à :

\*L'extraction des albumines, des globulines, des prolamines et des glutenines.

\*La détermination des différents paramètres physico-chimiques tels que : le taux d'humidité, le taux de cendres, la température de dénaturation, pH isoélectrique et le dosage de ces protéines allergènes.

Il a été montré que ces protéines sont de nature glycoprotéique et possèdent des pH isoélectrique acides ou proches de la neutralité variant de 3,80 à 5,68. Elles sont résistantes à la chaleur et ont une grande capacité à retenir de l'eau.

### Mots clés :

Allergie – allergie alimentaire – allergène végétale – *Pisum sativum* L – paramètres physicochimiques – fractionnement d'Osborn.

## Conclusion

Le pois vert est parmi les aliments d'origine végétale les plus incriminés dans l'allergie alimentaire. Leurs protéines allergènes sont responsables de réaction d'hypersensibilité.

L'extraction de ces protéines allergènes qui sont : les albumines, les globulines, les prolamines et les glutenines a permis l'exploitation de ces derniers en quantité suffisantes par des techniques basées sur la solubilisation, la centrifugation et la dialyse.

Le pH isoélectrique a été obtenu par pH précipitation. La teneur en eau a été déterminée par différence de pesée et la température de dénaturation par augmentation de la température jusqu'à la précipitation.

Il a été montré que toutes ces protéines allergènes étudiées sont de nature glycoprotéique. Elles ont des pH isoélectriques acides ou proche de la neutralité variant de 3,8 à 5,68.elles sont caractérisées par une grande teneur en eau et une résistance à la chaleur.

## Introduction

Les protéines sont des éléments importants dans la nutrition humaine. Elles entrent dans la constitution de la matière vivante et peuvent être d'origine végétale ou animal.

L'intérêt porté à ces composés concerne la valeur nutritionnelle, l'effet sur l'organisme et la toxicité susceptible d'être engendrée. En effet, le manque ou l'insuffisance de ces macromolécules dans la ration alimentaire est à l'origine de déséquilibres physiologiques pouvant entraîner la mort de l'individu. L'ingestion de certains peptides faisant partie de la composition d'un aliment donné, par des individus présentant des prédispositions génétiques à l'allergie au produit consommé engendre des réactions d'hypersensibilité.

Les trophallergènes ; sont des glycoprotéines de poids moléculaire de 10 à 70 KDa, pH isoélectrique acide, susceptibles de se lier aux IgE spécifiques et ils ont la capacité de résister à la protéolyse et à la dénaturation thermique, ils peuvent avoir une origine végétal ou animal.

Le pois vert (*Pisum sativum* L) est une légumineuse qui appartient à la famille des papilionacées, grâce à la connaissance des allergènes, il est possible d'extraire sélectivement, les albumines, les globulines, les prolamines et les gluténines et de déterminer leurs paramètres physicochimique (le taux d'humidité, le taux des cendres, la température de dénaturation, le pH isoélectrique et la détermination de la concentration de ces protéines allergènes).ce manuscrit comporte 2 parties ; la première partie concerne l'étude bibliographie dans la quelle le chapitre un traite l'allergie et leur types, le chapitre deux l'allergie alimentaire, chapitre trois les protéines allergènes d'origine végétales. La deuxième partie concerne l'étude expérimentale dont les objectifs étaient :

\*L'extraction des quartes familles d'allergènes par le fractionnement d'Osborne (albumines, globulines, prolamines et gluténines).

\*La détermination des principaux paramètres physico-chimiques caractérisant ces protéines d'allergènes.

## **Les perspectives**

- Elargir la caractérisation aux trophallergènes d'origine végétale.
- La détermination des poids moléculaires des protéines allergènes extraites.
- S'orienter vers les études biotechnologiques en relation avec les allergènes alimentaire.
- Etude des séquences des sous unités peptidiques incriminées dans les allergies alimentaires et la détermination des gènes qui codent pour leur synthèse.

\* Liste des figures

\* Liste des tableaux

\* Liste des abréviations

# Sommaire

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction.....1

### **Chapitre I : L'allergie**

I.1. Historique.....2

I.2. Définition.....3

I.3. Les types d'allergie.....3

I.3.1. L'allergie atopique (type I) .....3

I.3.2. L'allergie cytotoxique (type II).....3

I.3.3. L'allergie semi-retardée (type III).....3

I.3.4. L'allergie retardée (type VI).....4

I.4. Les allergènes.....5

I.5. Nomenclature des allergènes.....5

I.6. La classification des allergènes .....5

I.6.1. Les pneumallergène.....5

I.6.2. Les trophallergènes.....6

I.6.3. Les allergènes de contact.....6

I.6.4. Les allergènes professionnel.....6

I.6.5. Les allergènes médicamenteux.....6

### **Chapitre II : L'allergie alimentaire**

II.1. Définition.....	8
II.2. Réactions d'allergies alimentaires.....	8
II.2.1. Réactions immédiates.....	8
II.2.2. Réactions tardives.....	8
II.3. Mécanisme de l'allergie.....	8
II.3.1. Phase de sensibilisation.....	8
II.3.2. Phase de déclenchement (réaction allergique).....	9
II.4. Manifestation cliniques.....	10
II.4.1. Manifestation cutanées.....	10
II.4.2. Manifestation respiratoires.....	10
II.4.3. Manifestation digestives.....	10
II.5. Diagnostique .....	11
II.6. Traitement.....	12

### **Chapitre III : Protéines allergènes d'origine végétales**

III.1. Caractéristiques générales.....	14
III.2. Classification.....	15
III.2.1. La superfamille de cupines.....	15
III.2.2. La superfamille des prolamines.....	16
III.2.3. La superfamille de papaïne de protéinases cystéines.....	18
III.3. Les protéines allergènes du blé.....	19
III.3.1. Les gliadines.....	19
III.3.2. Les gluténines.....	20
III.4. Les protéines allergènes de l'arachide.....	20
III.4.1. La viciline (Arah 1).....	21

III.4.2. Albumine S2 conglutine (Arah 2).....	21
III.5. Les protéines allergènes de pois vert (Pisum sativum).....	21
III.5.1. Albumines.....	23
III.5.1.1. Les albumines majeure.....	23
III.5.1.2. Les lectines.....	24
III.5.1.3. Les inhibiteurs trypsiques.....	24
III.5.2. Les globulines.....	24
III.5.2.1. La légumine 11S.....	24
III.5.2.2. La viciline 7S.....	25
III.5.2.3. La convicine.....	25
III.5.3. Les prolamines.....	26
III.5.4. Les gluténines.....	26

## PARTIE PRATIQUE

1. Matériels et méthodes d'analyse.....	29
1.1. Matériel.....	29
*Matière première.....	29
1.2. Méthode d'analyse.....	29
1.2.1. Extraction des allergènes de pois vert.....	29
1.2.1.1. Extraction des albumines et globuline.....	29
1.2.1.2. Extraction des prolamines.....	29
1.2.1.3. Extraction des gluténines.....	29
1.2.2. Détermination de certains paramètres physico-chimiques.....	31
1.2.2.1. Le taux d'humidité.....	31
1.2.2.2. Le taux de cendres.....	31
1.2.2.3. La température de dénaturation.....	32

1.2.2.4. pH isoélectrique des allergènes.....32

2. Résultats et discussion .....33

Conclusion.....36

Les perspectives

Résumés

Références bibliographique

## ملخص

البروتينات مواد مهمة جدا في التغذية، هذه المواد قد تكون حيوانية أو نباتية. البعض منها يسبب الحساسية الغذائية و التي تترجم باستجابة مناعية غير طبيعية للجهاز المناعي ضد المادة المستضدة. يعتمد عملنا على :

\* استخراج البروتينات المستضدة المسببة للحساسية ذات الأصل النباتي من البازلاء الخضراء ( sativum LPisum )

والمتمثلة في الالبومينات الغلوبولينات البرولامينات و الغلوتينينات.

\* تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية المختلفة مثل محتوى الرطوبة، الرماد، درجة حرارة التثوية ، ودرجة الحموضة ومعايرة هذه البروتينات المستضدة.

قد تبين أن هذه البروتينات ذات طبيعة غليكوبروتينية و تملك درجات حموضة حمضية أو قربية من التعادل متغيرة بين 3.80 و 5.68. فهي مقاومة للحرارة ولها قدرة كبيرة على الاحتفاظ بالماء.

## كلمات المفتاح

الحساسية - حساسية الغذائية - البروتينات المستضدة النباتية - m sativum LPisu - الخصائص الفيزيوكيميائية - تجزئة.

## Summary

Proteins are very important in nutrition, these substances may be animal or plant. Some proteins are involved in food allergy that is manifested by an abnormal immune response against an antigenic substance classified as food allergens.

Our work focused on identifying the allergenic proteins of plant origin of green pea (*Pisum sativum* L), the study of large molecules such importance, it was taken:

- \* Extraction of albumins, globulins, prolamins and glutenins.

- \* The determination of different physicochemical parameters such as moisture content, the ash, the temperature of denaturation, isoelectric pH and determination of these protein allergens.

It was shown that these proteins are glycoprotein in nature and have acidic isoelectric pH close to neutral varying from 3,80 to 5,68. They are heat resistant and have a great capacity to retain water.

### **Key words**

Allergy - food allergy – protein allergens plant - *Pisum sativum* L - physicochemical parameters.

## **Résumé**

Les protéines sont des éléments très importants dans la nutrition, ces substances peuvent être d'origine animale ou végétale. Certaines protéines sont impliquées dans l'allergie alimentaire qui se manifeste par une réponse anormale du système immunitaire contre une substance antigénique qualifiée de trophallergène.

Notre travail a porté sur la détermination des protéines allergènes d'origine végétale de pois vert (*Pisum sativum* L), l'étude de ces molécules de grandes importance, il a été procédé à :

\*L'extraction des albumines, des globulines, des prolamines et des glutenines.

\*La détermination des différents paramètres physico-chimiques tels que : le taux d'humidité, le taux de cendres, la température de dénaturation, pH isoélectrique et le dosage de ces protéines allergènes.

Il a été montré que ces protéines sont de nature glycoprotéique et possèdent des pH isoélectrique acides ou proches de la neutralité variant de 3,80 à 5,68. Elles sont résistantes à la chaleur et ont une grande capacité à retenir de l'eau.

## **Mots clés**

Allergie – allergie alimentaire – allergène végétale – *Pisum sativum* L – paramètres physicochimiques.

## **Remerciement**

*Avant tout nous remercions Dieu qui nous éclairés notre chemin et donnas a la force, le courage pour terminer ce travail.*

*Toute gratitude a notre promoteur **Mme Ayed** à son encadrement, pour les efforts, les conseils, la patience et les heures qu'elle a sacrifié pour nous et nous tenons à la remercier infiniment.*

*Nous voudrons également remercier les membres de jury:*

*Mlle **Zidi Sorour** maitre assistante dans le departement de biologie d'avoir accepté de présider le jury.*

*Mlle **Merabet Rym**, maitre assistante dans le département de biologie d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions chaleureusement tous les enseignants de département de biologie à l'université de 08 Mai 1945 de Guelma de nous avoir transmis leurs savoirs le long de notre cycle universitaire.*

*Un grand remerciement vent également au Mme Hamdikhane à tous sa patience également à Monsieur Hemissi Ahmed.*

*Enfin, nous sincères gratitudes à tous nous collègues et amis de la promotion de biologie moléculaire des procaryotes et des autres promotions de biologie.*

2010-2011

*Et tous ceux qui nous aidé du pré au de loin.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

**AA** : Acide aminé

**Ag** : Antigène

**Arah1** : Arachide type 1

**Arah2** : Arachide type 2

**Ige** : Immunoglobuline type E

**Igg** : Immunoglobuline type G

**Kda** : kilo dalton

**Ms** : Matière sèche

**Nsltp** : Protéines de transfert de lipides non spécifiques

**Pa1** : Protéine albumine type 1

**Pa2** : Protéine albumine type 1

**Rast** : Technique radio-immunologique de dépistage des IgE spécifiques d'un allergène

**S** : Coefficient de sédimentation

## LISTE DES FIGURES

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>pages</b>
Figure (II.1)	Mécanisme d'allergie alimentaire	09
Figure (III.1)	Epitopes séquentiels et conformationels d'un allergène	14
Figure (III.2)	Structure des protéines de la superfamille des cupines	17
Figure (III.3)	Structure secondaire des allergènes de la superfamille de prolamine	19
Figure (III.4)	Structure de gliadine	21
Figure (III.5)	Structure de protéines Arah1	23
Figure (III.6)	Structure de l'albumine	24
Figure(III.7)	Structure de lectine	24
Figure (III.8)	La structure de légumine, viciline et convicine	25
Figure (III.9)	Structure de gluténine	26
Figure (III.10)	La classification des protéines de pois vert	27
Figure (IV.1)	Extraction des protéines de pois vert par le fractionnement d'Osborn	30
Figure (IV.2)	Histogramme des températures de dénaturation des protéines allergènes du pois vert ( <i>Pisum sativum</i> L).	35
Figure (IV.3)	Histogramme des pH isoélectriques des protéines allergènes du pois vert ( <i>Pisum sativum</i> L).	35

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau (I.1)	Différents types d'allergie	4
Tableau (III.1)	Proportions des différentes classes de protéines dans le blé	19
Tableau (III.2)	Différents composants d'arachide	20
Tableau (III.3)	Différents composants de pois vert	21
Tableau (III.4)	Composition en acides aminés des protéines de pois vert exprimés en gramme	22
Tableau (IV.1)	Valeurs du taux d'humidité et du taux de cendres du pois vert	33

# **Introduction**

**Partie**  
**Bibliographique**

**Chapitre I**

**L'allergie**

**Chapitre II**  
**L'allergie alimentaire**

## **Chapitre III**

**Les protéines allergènes**

**D'origine végétale**

# **Partie expérimentale**

# Conclusion

# Références bibliographiques

# Résumés

### I.1. Historique :

La découverte de l'allergie remonte avant Jésus-Christ quand Hippocrate et Galen ont découvert que la consommation du lait de vache ou de chèvre peut provoquer des troubles digestifs et de l'urticaire. En 1483 Richard III avait des boutons rouges après quelques heures de l'ingestion de fraises, c'était une urticaire. En 1586, Marcello Donati décrivit le cas d'un jeune comte qui développait un angioedème chaque fois qu'il consommait les œufs (Dutau et Rancé, 2005).

En 1902, les français Richet et Portier décrivaient l'induction expérimentale d'une allergie fatale chez le chien. Ils ont injectés a un chien des doses successives non toxiques de venin d'anémones de mer. Quelques semaines après, ils ont réinjecté les mêmes doses de poison au chien qui réagissait violement et meurt. Pour ce phénomène reproductible, ils ont proposé le terme d'anaphylaxie, dérivé de mots grecs **ana** : contraire, **phylaxie** : protection (Mondoulet, 2005).

En 1905, le premier cas d'anaphylaxie au lait de vache est rapporté (Bodinie, 2007). En 1906, Von Pirquet a proposé le terme d'allergie, dérivé de mots grecs **allos** : autre, **ergon** : action, comme une réaction différente de celle attendue vis-à-vis d'une substance étrangère (Roumier et al, 2002).

La découverte des IgE spécifiques en 1967 conduit Peppys à redéfinir ce terme dans les années 1970 : il s'agit de l'anormale facilité à synthétiser des IgE spécifique vis-à-vis d'allergènes naturels par des vois naturelles (Kanny et Jacquenet, 2006).

L'allergie constitue l'une des classes de réponses immunitaires appelées réactions d'hypersensibilité. Ce sont des réponses immunitaires néfastes qui induisent des lésions tissulaires et peuvent causer des graves maladies (Mondoulet, 2005).

## **I.2. Définition :**

L'allergie, est composée de deux mots d'origine grecque « allos » pour « autre » et « ergon » pour « réaction ». Il définit une « autre façon de réagir » et correspond à toutes les modifications de l'organisme provoquées par le contact avec une substance capable de se comporter comme un antigène (Epepe, 2006). Elle correspond à un état anormal de sensibilisation de l'organisme vis-à-vis de substances biologiques ou chimiques étrangères, généralement bien tolérées. Cet état apparaît sur un terrain prédisposé après l'introduction, prolongée ou répétée dans l'organisme, ou sur la peau et les muqueuses, surtout respiratoires d'une substance appelée **allergène** [1].

## **I.3. Les différents types d'allergie :**

Les réactions allergiques sont groupées de manière conventionnelle en quatre types suivant les mécanismes effecteurs qui les produisent. Il est à noter qu'un antigène donné peut entraîner plusieurs réactions d'hypersensibilité de type différent selon les circonstances dans lesquelles il a été rencontré.

### **I.3.1. L'allergie atopique (type I) :**

Résultent de la fixation de l'antigène à des anticorps spécifiques (IgE), attachés à leurs récepteurs, principalement ceux des mastocytes, cette interaction entraîne la dégranulation de ces dernières et la libération des médiateurs inflammatoires. Les réactions de type I sont généralement provoquées par l'inhalation de particules antigéniques comme les pollens des plantes.

### **I.3.2. L'allergie cytotoxique (type II) :**

Sont causées par de petites molécules qui s'attachent de manière covalente à certains composants de la surface des cellules humaines, en formant ainsi des structures modifiées qui sont aperçues comme étrangères par le système immunitaire.

La réponse des cellules B à ces nouveaux épitopes produit des anticorps IgG, qui une fois fixés à cellules modifiées entraînent leur destruction par activation du complément et phagocytose.

### **I.3.3. L'allergie semi-retardée (type III) :**

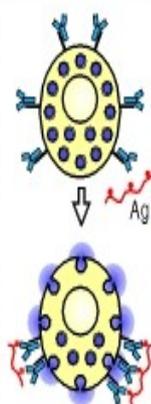
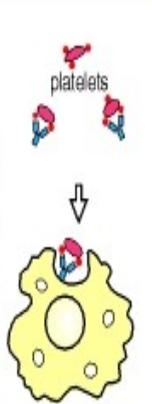
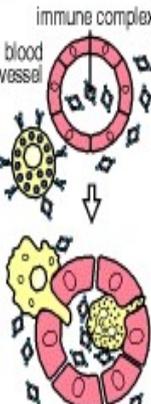
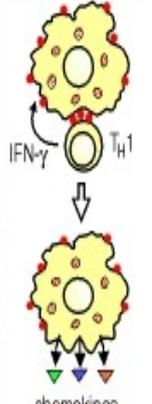
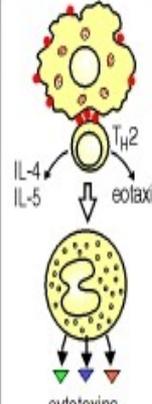
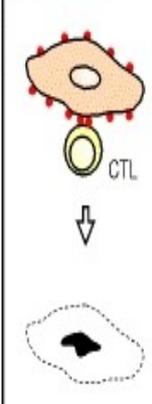
Sont dues à de petits complexes immuns solubles formés par la fixation d'antigène protéiques solubles à des anticorps IgG spécifiques. Certains de ces complexes immuns se déposent sur les parois de petits vaisseaux sanguins ou les alvéoles pulmonaires. Ces complexes activent le complément et déclenchent une réaction inflammatoire qui endommage les tissus et empêche ainsi son fonctionnement normal (Parham, 2003).

**I.3.4. L'allergie retardée (type IV) :**

Les réactions impliquent une interaction entre un antigène et les lymphocytes T sensibilisés à cet antigène ; il en résulte la libération de médiateurs solubles (lymphokines).

Le contact cutané avec des constituants alimentaires de faible masse molaire peut entraîner de telles réactions (Cheftel, 1985).

**Tableau (I.1) :** Différents types d'allergie [2].

	Type I	Type II	Type III	Type IV		
<b>Immune reactant</b>	IgE	IgG	IgG	T <sub>H</sub> 1 cells	T <sub>H</sub> 2 cells	CTL
<b>Antigen</b>	Soluble antigen	Cell- or matrix-associated antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Cell-associated antigen
<b>Effector mechanism</b>	Mast-cell activation	FcR <sup>+</sup> cells (phagocytes, NK cells)	FcR <sup>+</sup> cells Complement	Macrophage activation	Eosinophil activation	Cytotoxicity
						
<b>Example of hypersensitivity reaction</b>	Allergic rhinitis, asthma, systemic anaphylaxis	Some drug allergies (e.g., penicillin)	Serum sickness, Arthus reaction	Contact dermatitis, tuberculin reaction	Chronic asthma, chronic allergic rhinitis	Contact dermatitis

### **I.3. Les allergènes :**

Un allergène est une substance biologique ou chimique de nature protéique le plus souvent, capable de sensibiliser un sujet et de provoquer chez lui des symptômes allergiques.

Quand elles ont été purifiées, la plupart se sont avérées être de nature protéique avec des poids Moléculaires allant de 10 à 40 KDa. Ces protéines, qui sont toutes solubles dans l'eau exercent beaucoup de fonctions biologiques différentes, entre autres des activités d'enzymes digestives, de protéines porteuses et de calycines (Roitt et al, 2002).

Quel que soit le type d'allergène, le premier contact chez un patient atopique peut provoquer une réaction qui est généralement reproductible à chaque contact ultérieur (Quevauvilliers et al, 2009).

### **I.4. Nomenclature des allergènes :**

Les allergènes, substances glyco-protéiques naturelles, ce sont des antigènes stimulant une hypersensibilité à mécanisme immunologique qui réagissent avec des anticorps IgE ou IgG.

La dénomination binomiale de chaque allergène est bien codifiée et correspond aux lettres de l'appellation taxonomique c'est-à-dire scientifique et universelle de la plante. Ce nom scientifique comprend toujours deux termes, le premier terme est le nom de genre et prend une majuscule, le second est le nom d'espèce. Les composants allergéniques utilisent les 3 ères lettres de nom de genre, et la 1ère lettre du nom de l'espèce, suivi d'un chiffre : 1 pour l'allergène majeur, puis 2, 3, 4,5...pour les autres allergènes.

Les allergènes majeurs sont reconnus par les IgE sériques spécifiques d'au moins 50% des allergiques et les mineurs reconnus par moins de 50% [3].

### **I.5. La classification des allergènes :**

Tout allergène peut être classé en fonction de son origine, de la voie d'exposition et de la nature de la protéine en cause. Les allergènes sont classés d'abord selon les voies qu'ils empruntent pour pénétrer dans l'organisme car ces derniers déterminent le mode de présentation de l'antigène au système immunitaire .On distingue :

#### **I.5.1. Les pneumallergènes :**

Qui pénètrent à l'intérieure de l'organisme par l'intermédiaire de l'appareil respiratoire. Les plus connus sont les acariens de la poussière de maison, les poils d'animaux, les squames, les plumes d'animaux, Les pollens, les moisissures et certains polluants de l'industrie chimique. Plus précisément le pneumallergène est une substance allergique (corps étranger à l'organisme) ayant la capacité de déclencher, lorsqu'elle pénétré dans les poumons (elle est inhalée) des réactions allergiques (que les spécialistes en immunologie appellent réaction anaphylactique au niveau de l'appareil respiratoire.

**I.5.2. Les trophallergènes :**

Dont la pénétration se fait par voie digestive et que l'on rencontre dans les produits laitiers, les viandes les poissons, les œufs et même certains fruits et légumes .le terme trophallergène (grec trophê : nourriture et allergène) désigne l'Ag qui absorbé par le tractus digestif (l'appareil digestif) et qui possède la capacité de déclencher une réaction immunologique [4].

Au contraire des pneumallergènes, les trophallergènes sont consommés en grandes quantités (jusqu'à 10-100g/jour), mais seule une fraction mineure est absorbée. Par contre, de petites peptides peuvent être résorbés librement, et être reconnus par les cellules T et même, chez une minorité d'individus, par les anticorps IgE (Roitt et al, 2002).

**I.5.3. Les allergènes de contact :**

Provoquent une réaction quand ils sont en contact avec la peau : parfum, cosmétique, métaux des bijoux (cobalt, zinc, cuivre), latex, certains produits chimiques (colle, vernis).

**I.5.4. Les allergènes professionnels :**

L'exposition est liée à la profession : farine de blé (boulangier), latex (laborantin) isocyanates (peintres), colophane (sondeur), persulfates (coiffeuses), poussière de bois (menuiserie).

**I.5.5. Les allergènes médicamenteux :**

Sont contenus dans les médicaments, utilisés en application locale, absorbés par la bouche (certains antibiotiques) ou injectés (iode) [5].

# Introduction

Les protéines sont des éléments importants dans la nutrition humaine. Elles entrent dans la constitution de la matière vivante et peuvent être d'origine végétale ou animal.

L'intérêt porté à ces composés concerne la valeur nutritionnelle, l'effet sur l'organisme et la toxicité susceptible d'être engendrée. En effet, le manque ou l'insuffisance de ces macromolécules dans la ration alimentaire est à l'origine de déséquilibres physiologiques pouvant entraîner la mort de l'individu. L'ingestion de certains peptides faisant partie de la composition d'un aliment donné, par des individus présentant des prédispositions génétiques à l'allergie au produit consommé engendre des réactions d'hypersensibilité.

Les trophallergènes ; sont des glycoprotéines de poids moléculaire de 10 à 70 KDa, pH isoélectrique acide, susceptibles de se lier aux IgE spécifiques et ils ont la capacité de résister à la protéolyse et à la dénaturation thermique, ils peuvent avoir une origine végétal ou animal.

Le pois vert (*Pisum sativum* L) est une légumineuse qui appartient à la famille des papilionacées, grâce à la connaissance des allergènes, il est possible d'extraire sélectivement, les albumines, les globulines, les prolamines et les gluténines et de déterminer leurs paramètres physicochimique (le taux d'humidité, le taux des cendres, la température de dénaturation, le pH isoélectrique et la détermination de la concentration de ces protéines allergènes).ce manuscrit comporte 2 parties ; la première partie concerne l'étude bibliographie dans la quelle le chapitre un traite l'allergie et leur types, le chapitre deux l'allergie alimentaire, chapitre trois les protéines allergènes d'origine végétales. La deuxième partie concerne l'étude expérimentale dont les objectifs étaient :

\*L'extraction des quartes familles d'allergènes par le fractionnement d'Osborne (albumines, globulines, prolamines et gluténines).

\*La détermination des principaux paramètres physico-chimiques caractérisant ces protéines d'allergènes.

## **II.1. Définition :**

L'allergie alimentaire est une manifestation chimique et physiologique de réactions immunologiques entre constituants alimentaires antigéniques et anticorps spécifiques ou lymphocytes T sensibilisés aux antigènes. (Cheftel et al, 1985). Ce sont des allergies qui agissent essentiellement au niveau de la muqueuse intestinale, mais parfois leur retentissement est général (Quevauvilliers et al, 2009).

L'immunogénicité d'un allergène est la propriété d'induire une réponse immunitaire caractérisée par la synthèse d'IgE spécifiques. Cela est le fait de portions limitées de la protéine, les déterminants antigéniques ou épitopes. Pour être immunogène, la molécule doit contenir des épitopes vis-à-vis des lymphocytes B et des épitopes vis-à-vis de lymphocytes T (Moneret-Vautrin, 1997).

## **II.2. Réaction d'allergies alimentaires :**

### **II.2.1. Réactions immédiates :**

Le développement d'une hypersensibilité de type I à des antigènes alimentaires ne fait aucun doute. Cela se produit en générale quelques minutes à une heure après l'ingestion. Il y a apparition des symptômes tels que l'érythème périoral, le gonflement des lèvres et l'irritation buccale. Les types d'aliments fréquemment impliqués sont : les œufs, le lait de vache...etc. Il est conseillé d'éviter ces produits durant de nombreuses années en cas de maladie.

### **II.2.2. Réactions tardives :**

Elles sont plus controversées même si quelques unes, telle que celles de la maladie cœliaque et de la dermatite herpétiforme, sont généralement admises. Au contraire des réactions de type I, les réactions retardées nécessitent de grandes quantités d'aliments. Elles peuvent prendre des heures, des jours et même des semaines avant de se manifester. Le diagnostic d'une sensibilité alimentaire repose uniquement sur la suppression de nutriments bien défini suivie d'un essai de réintroduction spécifique (Cheftel et al, 1985).

## **II.3. Mécanisme de l'allergie :**

### **II.3.1. Phase de sensibilisation :**

Le premier contact de l'allergène avec le système immunitaire entraîne une sensibilisation des lymphocytes T et une production d'IgE. Celle-ci se fixe sur des cellules de la peau et des muqueuses, les mastocytes et les basophiles qui possèdent des récepteurs des IgE. Cette phase est totalement asymptomatique (Branger et al, 2007).

### II.3.2. Phase de déclenchement (Réaction allergique) :

Après une phase de latence (variable de 15 à 21 jours selon l'espèce) pendant laquelle les IgE sont synthétisées, la réaction allergique peut être déclenchée lors de l'ingestion de même allergène, même à dose infime. L'allergène se fixe aux IgE présents sur les cellules effectrices qui libèrent des médiateurs chimiques responsables de la vasodilatation des vaisseaux et de la contraction des fibres musculaires lisses. Tels que : l'histamine, prostaglandine, la leucotriène et les cytokines (Branger et al, 2007).

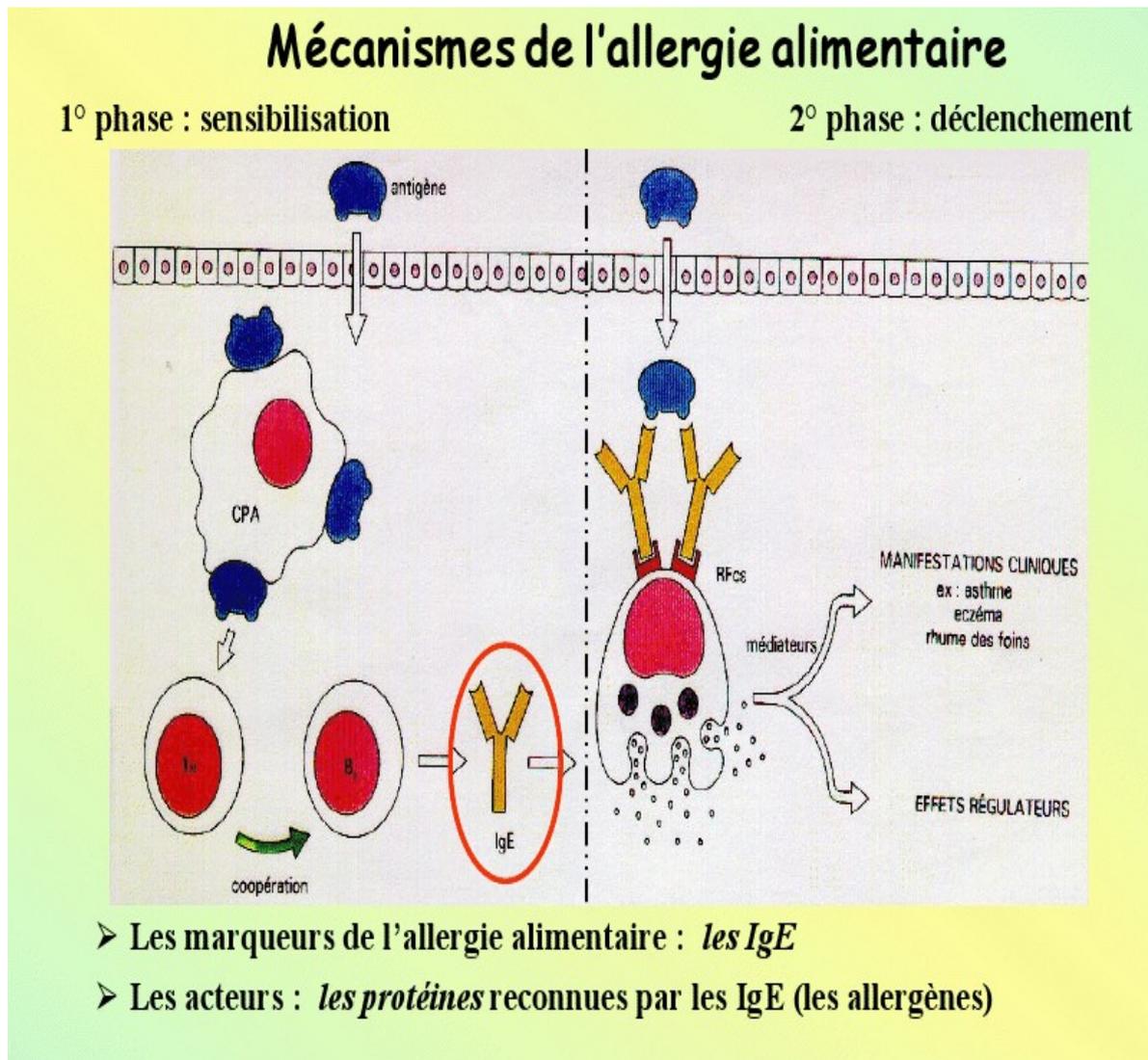


Figure (II.1) : Mécanisme d'allergie alimentaire [6].

#### **II.4. Manifestation cliniques :**

Les signes surviennent en général dans les minutes qui suivent l'ingestion ou le contact buccal de l'aliment (Bégon-Bagdassarian, 1998). Parmi les manifestations d'allergie alimentaire, on note :

##### **II.4.1. Manifestation cutanées :**

L'apparition de dermatite atopique (eczéma), urticaire, muqueuses : œdème de Quincke, muqueuses nasales : rhinite, muqueuses buccales : tuméfactions buccales, œdème et prurit (Branger et al, 2007).

##### **II.4.2. Manifestation respiratoires :**

Elles sont multiples, l'asthme est le mode d'expression d'une allergie alimentaire le plus fréquent chez l'adulte et représente un facteur de risque qui peut conduire à la mort. La rhino-conjonctivite bronchites et otites peuvent aussi se manifester (Fattorusso, Ritter O, 2004).

##### **II.4.3. Manifestation digestives :**

Les nausées, les vomissements, les diarrhées et les douleurs abdominales sont les symptômes les plus fréquents. Le syndrome oral à l'ingestion des fruits ou des légumes est localisé à la sphère oropharyngée et comprend un picotement vélo palatin, œdème des lèvres et une dysphagie. La constipation et le dégoût sont aussi remarqués chez l'enfant allergique (Bidat, 2006).

#### **NB :**

L'apparition d'une allergie est favorisée par des facteurs génétiques (on parle d'atopie pour désigner la prédisposition génétique à développer des allergies par production d'IgE, et également par des facteurs environnementaux, comme les polluants atmosphériques qui sont considérés comme des facteurs favorisant le développement de l'allergie (Branger et al, 2007).

## II.5. Diagnostique :

L'étape clinique comprend tout d'abord un interrogatoire et un examen clinique. Les manifestations, et notamment une anaphylaxie aiguë, consécutives à l'ingestion isolée d'un aliment sont particulièrement évocatrices. Toutefois, dans la majorité des cas, les incertitudes liées aux manifestations et à la rencontre avec l'aliment rendent nécessaires l'utilisation de tests complémentaires aux premières investigations. Il s'agit de l'étape biologique.

### \*Test cutanés :

La sensibilité est évaluée normalement sur la réponse à l'injection intradermique de l'antigène. La libération d'histamine et d'autres médiateurs produit rapidement une réaction locale papuleuse et érythémateuse, maximale dans les 30 minutes, puis régressant. Cette réaction immédiate peut être suivie par la réaction de la phase tardive, qui dure parfois 24 heures, caractérisée par une infiltration dense d'éosinophiles et de cellules T, et qui est plus œdémateuse que la réaction précoce (Etan et al, 2004).

### \*Le patch test :

L'infiltration cellulaire cutanée qui survient dans les 24 heures après application de l'allergène peut être étudiée de diverses manières : par injection intradermique locale ; ou par application sur la peau pendant 2 jours d'un tampon de gaze imprégné d'allergène ; ou par l'application d'une chambre contenant l'allergène sur une partie dénudée de la peau. La chambre cutanée permet un échantillonnage répété, alors que les deux autres techniques acquièrent des biopsies cutanées. Dans le patch test, 10µg d'allergène sont appliqués sur un morceau de gaze de 2,5cm<sup>2</sup>, et la biopsie est effectuée après 24 ou 48 heures. Une réponse positive se manifeste par un eczéma, c'est-à-dire un aspect spongieux de l'épiderme (réaction eczémateuse typique) et un infiltrat cellulaire dans le derme. L'infiltrat cellulaire comprend des éosinophiles, de basophiles et des lymphocytes. Suite à la persistance locale de l'allergène (6 jours), les éosinophiles locaux dégranulent. La biopsie du site du patch test a montré également que des cellules T spécifiques d'allergène, certains groupes ont réussi à cloner les cellules T spécifiques de l'allergène à partir de la peau des patients eczémateux. Ce qui n'est jamais possible chez des individus normaux ou chez des patients allergiques sans eczéma. Les biopsies dans les sites de patch test ont aussi montré que les cellules de langerhans dans la peau des patients avec eczéma expriment le FcεI. Ainsi, ces cellules présentatrices d'antigène utilisant les anticorps IgE pour capter les allergènes et augmenter l'efficacité de la présentation antigénique (Roitt et al, 2002).

**\*La technique RAST :**

La technique RAST est une méthode radio-immunologique qui permet de dépister les IgE spécifiques d'un allergène donné. Elle consiste à mettre en contact un échantillon de sérum avec divers allergènes radiomarqués. Si des anticorps sont présents, ils se combineront avec les allergènes. Après centrifugation, on décèle par essai radio-immunologique les IgE combinés. On compare ensuite les résultats obtenus avec les valeurs témoins. Outre qu'elle permet de dépister les allergènes, la technique RAST indique quelle est la quantité d'allergène nécessaire pour provoquer une réaction allergique. On note les résultats sur une échelle de 0 à 5. Tout résultat égal ou supérieur à 2 est considéré comme significatif. Par rapport aux autres épreuves, la technique RAST offre surtout les avantages suivants : réduction de risque de réaction généralisée, stabilité des antigènes et absence d'interaction médicamenteuse.

Elle comporte toute fois des inconvénients ; le choix des allergènes est limité, sa sensibilité est moins grande que celle des tests cutanés intradermiques, les résultats ne sont pas connus immédiatement et le technique est couteuse (Smeltzer et Bare, 2010).

**II.6. Traitement :**

Il existe dans le cadre des allergies alimentaires, deux grands types de traitement : Le traitement préventif reposant sur le régime d'éviction et le traitement du choc anaphylactique.

**\*Le traitement préventif :**

Est fondamental, L'identification du ou des aliments responsables puis leur éviction du régime alimentaire sont, dans tous les cas, indispensables. Cependant, certains facteurs de risques doivent également être pris en compte : antécédents de réactions anaphylactiques, antécédents d'asthme instable ou mal contrôlé. Allergie à l'arachide, aux noix et noisettes. Ces éléments constituent, surtout chez l'enfant, des facteurs de gravité qui doivent être connus du patient pour éviter de développer un choc anaphylactique.

**\*Traitement du choc anaphylactique :**

Est une urgence médicale, l'efficacité du traitement repose sur la reconnaissance rapide de la symptomologie et sur une prise en charge thérapeutique immédiate.

L'adrénaline constitue le traitement de choix et est administrée par voie intramusculaire à des doses de 0,3 à 0,5 mg répéter en fonction de sévérité et de l'évolution des signes de menace vitale. La voie intramusculaire chez l'enfant est supérieure à la voie sous-cutanée en raison d'un meilleur profil cinétique. Une prise en charge en milieu hospitalier est nécessaire puisqu'un remplissage vasculaire est indispensable pour pouvoir lutter contre le choc cardiovasculaire [7].

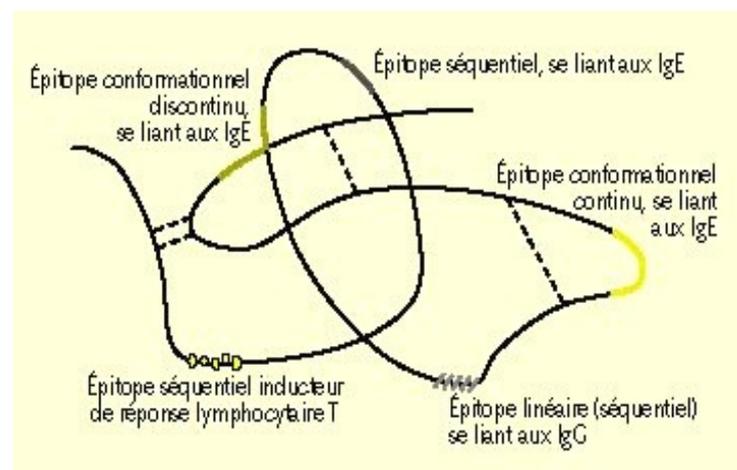
### III.1. Caractéristiques générales :

La plupart des protéines allergènes alimentaires sont des glycoprotéines hydrosolubles ou solubles dans les solutions salines diluées et rarement solubles dans l'alcool. Se sont des oligomères, dont le poids moléculaire est compris entre 10-70 KDa (Dubuisson et al, 2002 ; Peltre, 2002 ; Parent-Massin, 2005). Ces protéines sont souvent résistantes à la température, à la protéolyse et aux conditions modérément acides (Branger et al, 2007). Elles présentent une immunoréactivité par la synthèse d'IgE spécifique. Cette propriété est due à la présence des portions limitées de la protéine allergène dites épitopes ou déterminants antigéniques situés généralement à la surface de la molécule dans des zones de forte flexibilité et de forte hydrophilie et peuvent se répartir tout le long de la molécule et se localiser dans une zone particulière (Monert –Vautrin, 1997). Du point de vue réactionnel, ceux qui réagissent avec les lymphocytes T sont appelés des épitopes T et ceux qui réagissent avec les lymphocytes B sont des épitopes B.

\* L'épitope T est un peptide de 8 à 9 AA.

\* L'épitope B est un peptide de 8 à 16 AA

Il existe par ailleurs des épitopes (séquentiels) qui dépendent de l'enchaînement des acides aminés (structure primaire) et des épitopes (conformationnels) qui tiennent compte de la structure tridimensionnelle de cet enchaînement (structure tertiaire et quaternaire) (Peltre, 2002).



**Figure (III.1) :** Epitopes séquentiels et conformationnels d'un allergène

(Peltre, 2002).

### III.2. Classification :

Les protéines allergènes alimentaires d'origine végétale appartiennent à un petit nombre de familles et de superfamilles de protéines par rapport au grand nombre de familles de protéines végétales. Cette classification est basée sur la structure et la fonction biologique.

#### III.2.1. La superfamille des cupines :

Les cupines incluent des protéines, de diverses fonctions, caractérisées par deux courts motifs conservés et forment deux tonneaux  $\beta$  cylindrique d'où le nom de cupines (en latin *cupa* signifie tonneau, cylindre) (Dunwell, 1998). Chaque tonneau comprend plusieurs feuillet antiparallèle suivis d'un certains nombres d'hélices. Les cupines contiennent un seul domaine  $\beta$  et les bicupines, comme leur nom indique, renferment deux domaines  $\beta$ . Les globulines, solubles dans les solutions salines, appartiennent à ces derniers et sont elles mêmes subdivisées en deux groupes, selon leurs coefficients de sédimentation en globulines 7S (les vicilines) et globulines 11S (les légumine). Toutes les globulines sont riches en lysine et en arginine mais sont pauvres en tryptophane et en acide aminés amidés (asparagine et glutamine) (Maleki et al, 2000).

A coté de ces deux superfamilles, se classe la famille des protéases à cystéine C1, caractérisée par leur site catalytique (cystéines). La famille C1 est identifiée par un site actif conservé avec des résidus Gln, Cys, His et Asn et comprend beaucoup de peptidases à activités exo-et endopeptidases (Mondoulet, 2005).

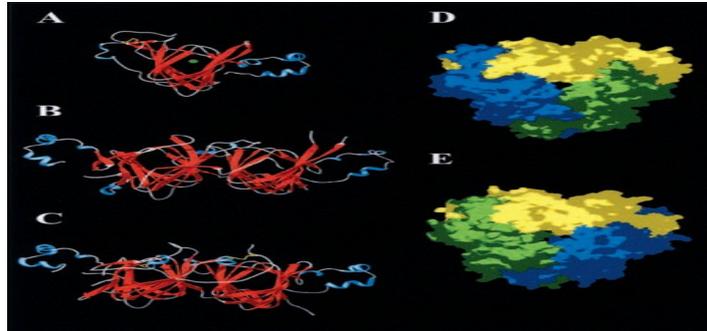


Figure (III.2) : Structure des protéines de la superfamille des cupines

(Breiteneder et Radauer, 2004).

**\*Les vicilines :**

Les globulines 7S matures sont des protéines homotrimériques de 150 à 190 KDa, généralement glycolysées, mais elles peuvent subir une agrégation réversible en un hexamère (sa dépend la force ionique du milieu). Les masses moléculaires des sous unités sont comprises entre 40 et 80 KDa et sont pauvres en cystéines c'est la raison pour laquelle elles ne contiennent pas de ponts disulfures. La majorité des épitopes IgE dépendants sont localisés dans la région de contact entre deux sous unités. Ces régions sont protégées contre la protéolyse (Maleki et al, 2000).

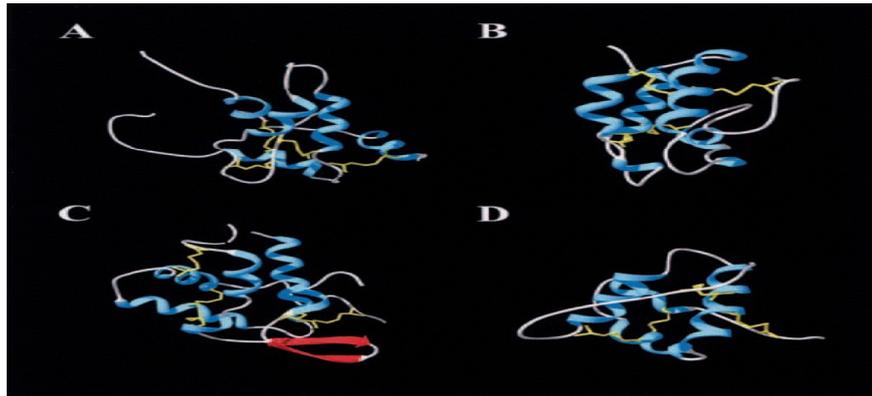
**\*Les légumineuses :**

Les globulines 11S matures sont des protéines, rarement glycolysées, hexamériques de 360 KDa. Elles sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique rugueux où elles sont assemblées sous forme des trimères intermédiaires avant d'être transformées, à travers le système sécrétoire, vers la vacuole (Shewry et al, 1995). Au niveau vacuolaire, chaque sous unité va subir un clivage par des protéases pour donner deux polypeptides liés par des ponts disulfures (un polypeptide acide de 30 à 40 KDa de pH isoélectrique 5 et l'autre basique de pH isoélectrique 8,2 de 20 KDa. La région C terminale de la chaîne de légumineuses est liée à la région C terminale des vicilines (Breiteneder, 2006).

**III.2.2. La superfamille des prolamines :**

Les prolamines sont caractérisées par leurs solubilités dans les mélanges alcool-eau (Jacquenot et Monert-Vautrin, 2007). Elles sont riches en proline et en glutamine d'où le nom de prolamine et possèdent un squelette conservé composé de huit résidus de cystéines. Ces derniers sont organisés en quatre ponts disulfures assurent aux prolamines une structure tridimensionnelle très compacte contenant 3 à 4 hélice  $\alpha$ . Cette structure spatiale les rend très résistantes à la chaleur et à la digestion (Mondoulet, 2005).

La superfamille des prolamines regroupent six familles de protéines : les protéines de transfert de lipides (nsLTP), les inhibiteurs tryptiques et d' $\alpha$ -amylases, les albumines 2S, les puuroindolines et les prolamines de céréales. Ces familles ont été décrites comme des protéines de faible poids moléculaire riches en cystéine et possèdent une structure tridimensionnelle semblable riche en hélice  $\alpha$ . Elles sont aussi des protéines de défense contre les agents pathogènes et contre la peste (Breiteneder, 2006).



**Figure (III.3) :** Structure secondaire des allergènes de la superfamille de prolamine (Breiteneder et Radauer, 2004).

**\*Les albumines 2S :**

Sont des protéines solubles dans l'eau et représentent entre 20 et 60 des protéines de réserve. Elles sont formées de deux sous unités issues d'un précurseur protéique unique et reliées entre elles par quatre ponts disulfures. Une caractéristique de plus grand intérêt est leur teneur en acides aminés soufrés, la cystéine, la méthionine et en hélice  $\alpha$ . Les albumines 2S sont stables à la protéolyse et peuvent être liées aux lipides. En plus de leur rôle principal, d'assurer le développement de la graine elles jouent un rôle de défense contre les champignons (Mondoulet, 2005).

**\*Les protéines de transfert de lipides non spécifiques : nsLTPs**

nsLTPs sont des protéines monomériques de faible poids moléculaires, de point isoélectrique basique. Elles sont composées de quatre ballots d'hélice  $\alpha$  et forment un tunnel hydrophobe pouvant accueillir des lipides (Van Ree, 2002). Généralement, elles s'accumulent dans la couche externe de l'épiderme des organes végétaux ce qui explique la grande allergénicité de l'écorce par rapport à la pulpe des fruits des Rosacées. Leurs caractéristiques structurales communes sont à la base d'une réactivité croisée. Les nsLTPs sont résistantes à la protéolyse, aux pH modérés et aux traitements thermiques, c'est ce qui les rends des allergènes alimentaires puissants (Asero et al, 2002).

**\*Les inhibiteurs de l'alpha- amylases et de trypsine de céréales :**

Les inhibiteurs de cette famille sont présents dans le blé, l'orge, le riz et le maïs. Les sous unités composants ont un poids moléculaire compris entre 12 et 16 KDa contenant quatre ponts disulfures existant sous forme monomérique ou dimériques ou trimériques. Le rôle principal de ces inhibiteurs est l'inhibition de la trypsine et de différents types d'alpha amylase d'insectes et de champignons. Ces inhibiteurs sont extraits par des mélanges chloroforme/méthanol.

**\*Les prolamines de céréales :**

Les prolamines de céréales solubles dans l'éthanol sont les gliadines de blé, les sécalines de seigle et les hordéines de l'orge. Elles présentent les protéines majeures de réserve et sont localisées au niveau de l'endosperme. Les allergènes les plus puissants, de cette famille, sont les gluténines de faible poids moléculaire suivies par l'alpha gliadine et gamma gliadine (Breiteneder et Radauer, 2004).

**III.2.3. La superfamille de papaine de protéinases cystéines :**

Cette superfamille est composée de trois groupes de protéinases de cystéines : le groupe de papaine, le groupe de bléomycine hydrolase et le groupe de calpaine (Berti et Storer, 1995). Ces protéases possèdent des résidus de cystéines nucléophiliques dans leur site actif qui ont pour rôle de couper les liaisons entre les peptides. Ces enzymes sont synthétisées comme des proenzymes et sont localisées au niveau des lysosomes (Siezen et Leunissen, 1997).

### III.3. Protéines allergènes d'origine végétales :

#### III.3.1. Les protéines allergènes du blé :

Le grain de blé possède un complexe unique de protéines de réserve viscoélastiques et insolubles dans l'eau connues sous le nom du gluten (Brink et Belay, 2006). Le gluten est constitué de protéines (80%), de lipides (8%) et de sel minéraux et de glucides. Les protéines du gluten sont un mélange en proportions variables deux types de protéines : les gliadines (40 à 45%) et les gluténines (55 à 60%) (Boudreau et Ménard, 1992).

**Tableau (III.1) :** Proportions des différentes classes de protéines dans le blé (Cheftel, 1985).

Type de protéine	Albumine	Globuline	Prolamine	Gluténine	Gliadine
Proportions (%)	9	5	40	56	43

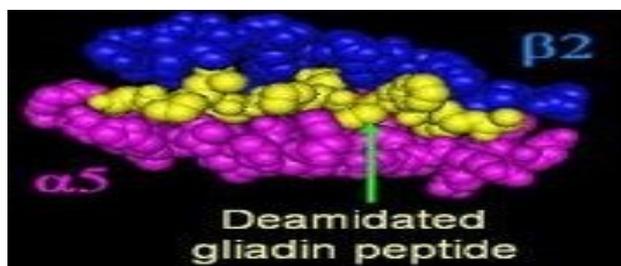
##### III.3.1.1. Les gliadines :

Les gliadines présentent une structure repliée et sont formées d'unités moléculaires variant de 35 à 44 KDa, la stabilité de chaque unité est assurée par des liaisons disulfures intramoléculaires. L'hydratation de la gliadine à l'état natif donne une masse visqueuse, extensible et de faible élasticité (Boudreau et Ménard, 1992). Le fractionnement par électrophorèse des gliadines sur le gel à PH acide en fonction de leur charge permet de les classer en 4 groupes (Gallais et Bannerot, 1992).

\*Les gliadines  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  dont la masse molaire varie de 30 à 45 KDa.

\*Les gliadines  $\omega$  de masse molaire comprise entre 60 et 80 KDa (Cheftel, 1985).

La structure tertiaire dans 3 gliadines ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) est démontrée par les ponts disulfures intramoléculaires mais pas dans la 4<sup>ème</sup> gliadine ( $\omega$ ). Elles ont une teneur élevée en acide glutamique (37%), proline (17% des acides aminés totaux) et pauvre en lysine (Demeester, 1974). Toutefois, la composition en acides aminés des quatre groupes des gliadines diffère (Alais et al, 1991).



**Figure (III.4):** Structure de gliadine [8].

### III.3.1.2. Les gluténines :

Les gluténines sont formées d'unités moléculaires 16 à 149 KDa assemblées par des liaisons disulfures, leur poids moléculaire peuvent atteindre 20 millions de daltons (Cheftel, 1985). La gluténine hydratée et cohésive, plus tenace et plus élastique que la gliadine (Boudreau et Ménard, 1992). Après rupture des ponts disulfure intermoléculaires à l'aide d'un agent réducteur, 3 sous unités apparaissent :

#### \*Sous unités de type A :

Insolubles dans l'éthanol, de masses molaires faibles 10 à 70 KDa, riches en acides aminés basiques.

#### \*Sous unités de type B :

De masses molaires élevées 60 à 140 KDa insolubles dans l'éthanol, riches en glycine, proline et glutamine, pauvres en cystéine, et qui présentent une structure nettement asymétrique, avec une faible proportion de zones en hélices  $\alpha$  (10 à 15 seulement).

#### \*Sous unités de type C :

De masses molaires comprises entre 35 et 45 KDa, solubles dans l'éthanol, qui semblent proches de certaines gliadines (Cheftel, 1985).

### III.3.2. Les protéines allergènes d'arachide :

L'arachide (*Arachis hypogea*) est une légumineuse annuelle de la famille des papilionacées. Elle est de la même famille que le pois et le soja (Mondoulet, 2005). Elle contient 40 à 45% de lipides, 25 à 30% de protéines et cellulose 1,5 à 3%. Les protéines de l'arachide sont classées en albumines et en globulines, ces dernières sont subdivisées en deux fractions l'arachine (globuline 11S) et la conarachine. Les deux principaux allergènes de l'arachide sont : la viciline (Arah1) et l'albumine 2S conglutine (Arah2) (Bruks et al, 1991).

**Tableau (III.2) :** Différents composants d'arachide (Cheftel, 1985).

Composition	Protéines	Lipides	Glucides
Pour 100g	25	50	20

### III.3.2.1. La viciline Arah1 :

Elle présente 12 à 16% des protéines totales de l'arachide avec une masse moléculaire comprise entre 63,5 à 65 KDa et un pH isoélectrique de 4,55. Elle a une structure tridimensionnelle stable qui joue un rôle primordial dans la protection des épitopes contre la dégradation (Bruks et al, 1991).

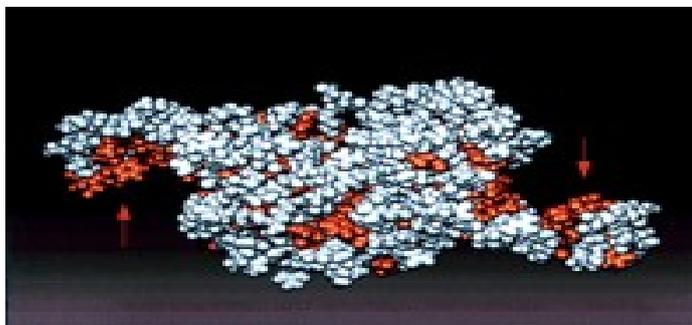


Figure (III.5) : Structure de protéine Arah1(Maleki et al, 2000).

### III.3.2.2. Albumine 2S conglutine (Arah 2) :

Est un allergène majeur de l'arachide, il appartient à la famille d'albumines 2S, il a un pH isoélectrique acide égal à 5,2 et un faible poids moléculaire de 17 KD. C'est un inhibiteur de trypsine. Il se compose de deux isoformes Arah 2.0101 et Arah 2.0201 (Restani et al, 2005).

### III.4. Les protéines allergènes du pois vert (*Pisum sativum* L) :

Le pois vert (*Pisum sativum* L) est une légumineuse appartient à la famille des papilionacées, leur principale composante est l'amidon, qui représente jusqu'à 50% de la matière de sèche. Les protéines et les fibres alimentaires totales comptent pour environ 24% et 20% (MS) respectivement. Les lipides sont présents dans des quantités plus faibles (2,5% de MS) (Cheftel, 1985).

Tableau (III.3) : Différents composants du pois vert (Cheftel, 1985).

Composition	Protéines	Lipides	Glucides
Pour 100g	23	2	70

Les protéines du pois vert se classent en deux grandes familles, selon les critères de solubilité. Les globulines solubles dans les tonpons salins et les albumines solubles dans l'eau. Il existe aussi 10 à 15% des protéines insolubles.

Les globulines représentent 55 % à 65% des protéines totale du pois vert, deux protéines forment cette famille : la légumine et la viciline. Elles appartiennent respectivement aux types de protéines (11S) et (7S) très largement répandus chez les plantes dicotylédones, et dont la structure et la séquence sont largement conservées entre espèces. La seconde famille est constituée par les albumines, représentant de 20 à 30 % des protéines totales. Leur composition est beaucoup plus hétérogène que celle des globulines, mais il existe néanmoins deux albumines majeures appelées PA1 et PA2. La composition en acides aminés des protéines de pois vert (Tableau 04). Montre que celles-ci sont globalement pauvres en acides aminés soufrés et en tryptophane. Les globulines ont des teneurs très élevées en acides aspartique, glutamique et leurs amides. Les albumines sont plus riches en acides aminés soufrés et en lysine [9].

**Tableau (III.4) :** Composition en acides aminés des protéines de pois vert exprimés en gramme (Perrot, 1995).

Acide aminé	Farine de pois vert	Fraction albumine	Fraction globuline
Asp	12,5	1,90	12,99
Thr	3,65	5,66	3,34
Ser	4,75	5,03	5,30
Glx	17,41	14,95	8,66
Pro	3,91	4,46	4,36
Gly	4,29	5,97	3,89
Ala	4,06	5,85	3,97
Cys	1,39	3,15	0,80
Val	4,69	4,41	4,73
Met	0,99	1,34	0,70
Ile	4,23	3,86	4,59
Leu	7,20	4,87	8,23
Tyr	3,19	4,71	3,37
Phe	4,75	4,52	5,40
Trp	0,75	1,47	0,67
Lys	6,92	9,34	6,41
His	2,30	2,63	2,55
Arg	8,28	5,65	8,00

### III.4.1. Albumines :

Cette famille des protéines est très hétérogène car on y regroupe souvent l'ensemble des protéines de faible poids moléculaire (Vallery- Masson, Vermeersch, 1996). La fraction d'albumines représente 21% des protéines totales. Le pH isoélectrique est de 6. Elle contient plus de tryptophane, de lysine, de thréonine, de cystéine et de méthionine que la fraction de globulines. Elle se compose de :

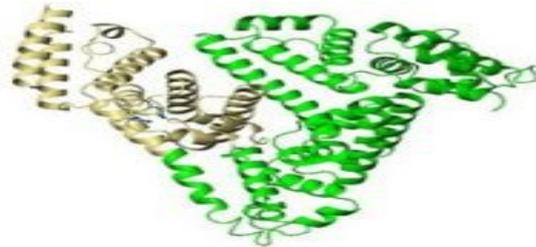


Figure (III.6) : Structure de l'albumine [10].

#### III.4.1.1. Les albumines majeures :

\*L'albumine à haut poids moléculaire, PA2 est un dimère de sous-unités de 25 kDa. Chaque sous-unité est constituée d'une chaîne polypeptidique unique et possède trois résidus de cystéine dont deux forment un pont disulfure. Cette protéine a une structure compacte, riche en feuillets  $\beta$  (Gruen et al, 1987).

\*L'albumine de bas poids moléculaire, PA1 est un dimère de 11 kDa, elle est constituée de deux polypeptides PA1a de 6 kDa et PA1b de 4 kDa, non associés par liaisons disulfures. PA1 est respectivement riche en acides aminés soufrés. PA1a et PA1b contiennent respectivement 7,5 et 16,2 % de cystéines [11].

#### III.4.1.2. Les lectines :

Le terme lectine vient de latin «legere» qui signifie «choisir». En effet, ces protéines très largement présentes dans le règne végétale, se lient de manière spécifique à certains résidus glucidiques. La spécificité de liaison varie en fonction de l'espèce végétale. Les lectines sont des protéines tétramériques de 50 KDa environ, composées de deux chaînes polypeptidiques légères de 7 KDa  $\alpha$  et de deux chaînes lourdes  $\beta$  de 17 KDa. Elles ne contiennent pas d'acides aminés soufrés et leur structure secondaire contient une proportion élevée de feuillets  $\beta$  [9].

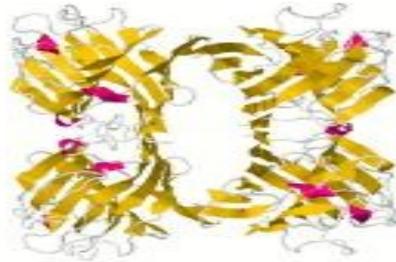


Figure (III.7) : Structure de lectine [10].

#### III.4.1.3. Les inhibiteurs trypsiniques :

Les inhibiteurs trypsiniques de pois représentent moins de 2% des protéines totales de la graine. Ce sont des protéines monomériques de faible masse moléculaire inférieur à 10 kDa, capables de se lier de manière irréversible aux sites actifs de la trypsine et de la chymotrypsine deux sites indépendants dont chaque polypeptide contient sept ponts disulfures (Birk et Smimoff, 1992).

#### III.4.2. Les globulines :

La globuline est une protéine de réserve, elle représente 55% à 65% des protéines totales des pois. Trois types de protéines forment cette famille :

##### III.4.2.1. La légumine 11S :

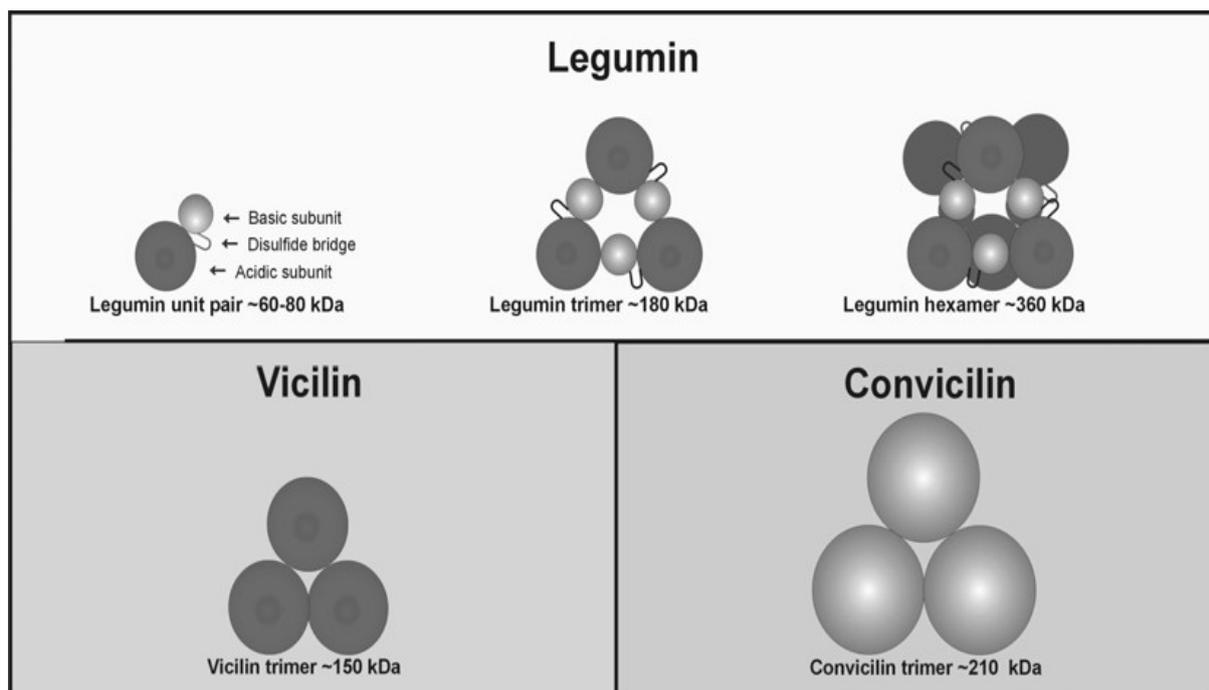
C'est une protéine polymérique comportant six sous-unités  $\alpha$   $\beta$ . Chacune d'elle est constituée d'un polypeptide acide  $\alpha$ , d'une masse moléculaire d'environ 40 KDa et d'un polypeptide basique  $\beta$ , d'environ 21 KDa, tous deux reliés par un pont disulfure. Les masses moléculaires globales des légumine de pois vert s'échelonnent de 380 à 410 KDa. Différentes études convergent pour montrer qu'il s'agit d'une protéine très compacte, la forme globulaire, où les polypeptides de type  $\alpha$  plus hydrophiles sont situés à l'extérieur et où les polypeptides  $\beta$  constituent le cœur hydrophobe de la protéine.

### III.4.2.2. La viciline 7S :

Elle s'agit d'une protéine trimérique dont la masse moléculaire varie de 150 à 190 KDa. Elle ne contient pas de cystéine et donc aucune liaison de sulfure ne peut être établie entre ces polypeptides constitutifs. La structure trimérique n'est donc stabilisée que par des liaisons de faible énergie. Les vicilines de pois vert sont très complexes en termes de composition polypeptidique jusqu'à huit classes de polypeptides de masse moléculaire distinctes, s'échelonnant de 12 à 50 KDa, ont été identifiées. Ces diverses sous-unités semblent issues de protéolyse variées de précurseurs d'environ 50 KDa. Ces précurseurs se divisent en trois groupes suivant les clivages protéolytiques qui les affectent [11].

### III.4.2.3. La conviciline :

Elle présente également une structure trimérique et leurs polypeptides constitutifs ont une masse d'environ 71 KDa. Ces derniers contiennent quelques acides aminés soufrés. La forme finale de la protéine affiche un poids moléculaire d'environ 280 KDa [11]. Le long de la base de ces protéines, et encore marquée par la présence d'une forte charge, la région hydrophile extension N-terminal constitue de 122 ou 166 résidus (Mondoulet, 2005).



**Figure (III.8) :** Structure de légumine, viciline et conviciline (Lambert et Yarwood, 1992).

### III.4.3. Les prolamines :

Sont des protéines solubles dans les solutions étendues d'éthanol (65-75%), ce sont des molécules monomériques qui présentent un polymorphisme génétique important. Deux groupes de prolamine ont été caractérisés ; les prolamines riches en soufre de hauts poids moléculaires entre 30 KDa et 55 KDa et les prolamines riches en soufre de faible poids moléculaires. Elles sont caractérisées par une forte teneur en acide glutamique (37 à 56%) et en proline (15 à 30%) mais une faible teneur en acide aminé basiques (0,1 à 0,7%).

### III.4.4. Les gluténines :

Les gluténines sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solutions acides ou basiques. Elles possèdent une forme allongée ( $5000\text{Å} \times 17,5\text{Å}$ ) et une composition qui diffère de celle des prolamines. Ces molécules polymériques sont caractérisées par des masses moléculaires importantes 500 KDa à 10 000 KDa [8].

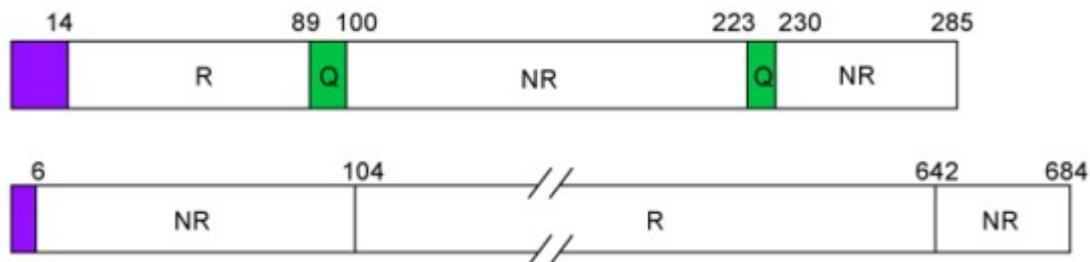
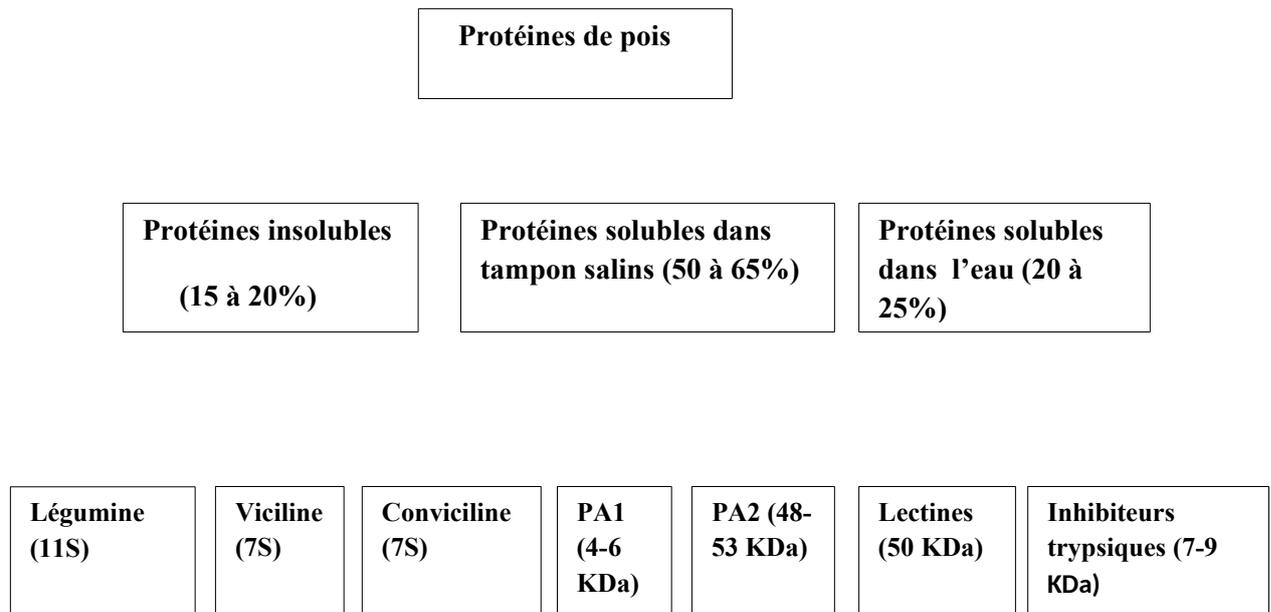


Figure (III.9) : Structure de gluténine [8].



**Figure (III.10) :** Classification des protéines de pois vert (Perrot, 1995).

La partie expérimentale de ce mémoire a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie « Département de biologie » de l'université 08 Mai 1945 de Guelma.

### **1.1. Matière première**

La matière première utilisée est le pois vert achetée du marché de Guelma.

### **1.2. Méthode d'analyse :**

L'extraction séquentielle des protéines a été réalisée selon la méthode de Mendel et Osborne (1924). Elle est basée sur la solubilité des protéines dans différents solvants. Les albumines solubles dans l'eau, Les globulines solubles dans les solutions salines, les gluténines solubles dans l'alcool et les prolamines solubles dans les solutions alcalines [12].

#### **1.2.1. Extraction des protéines allergènes de pois vert**

##### **1.2.1.1. Extraction des albumines et des globulines :**

50gde pois vert broyé sont ajoutés à 500 ml de Nacl 0,5N la solution est agitée pendant 2h et centrifuger à 3000T /min pendant une demi –heur. 250ml de Na cl 0,5N sont ajoutés au culot recueilli, la solution est agitée pendant 2h et centrifugée à 3000 T/min pendant 30 min. Le volume du surnagent 1 et surnagent 2 est à peu près 150ml de solution contenant les albumines et globulines. Cette solution a été dialysée contre l'eau distillée à froid (4C°) pendant 48h afin de séparer les albumines des globulines.

##### **1.2.1.2. Extraction des prolamines :**

150ml d'éthanol à (70%) sont ajoutées au résidu récupéré de la première centrifugation. La solution est agité pendant 2h et centrifuger à 3000t/min pendant 30 min. Le surnagent résultant est dialysé contre l'eau distillé à froid (4C°) pendant 48h.

##### **1.2.1.3. Extraction des gluténines :**

160ml d'acide acétique 0,01M sont ajoutées au culot recueilli, la solution est agitée pendant 2 heures et centrifuger à 3000T/min pendant 30 min. Le surnagent est ensuite dialysé contre l'eau distillée à froid (4C°) pendant 48h.

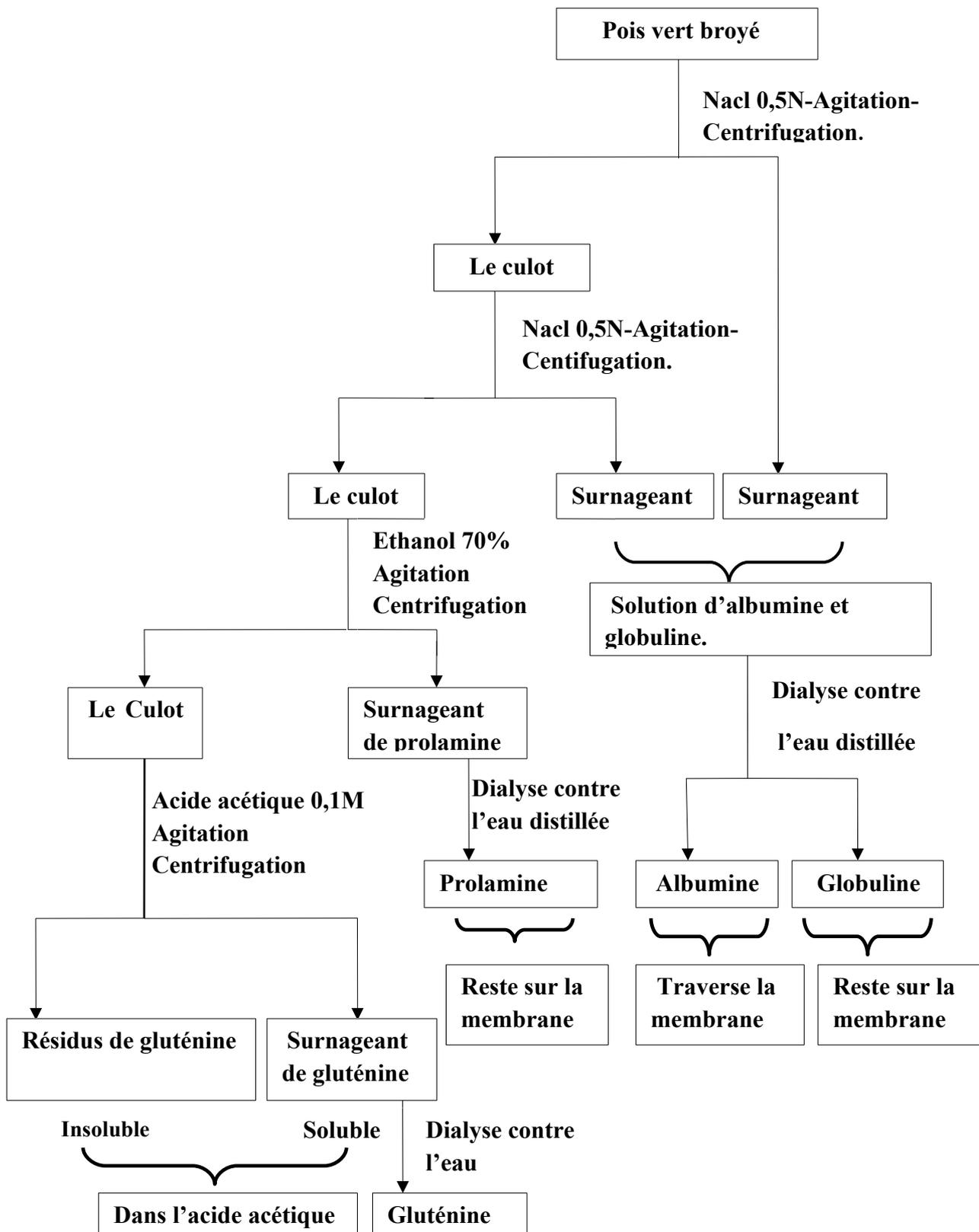


Figure (IV.1) : Extraction des protéines de pois vert par le fractionnement d'osborn.

### 1.3. Détermination de certains paramètres physico-chimiques :

#### 1.3.1. Le taux d'humidité :

La teneur en eau est la quantité d'eau perdu par un produit lors qu'il est chauffé. La technique consiste en un étuvage dans un four pasteur de 5 g de la farine de pois vert à 80 C° pendant 24h dans une petite capsule en verres propre et sèche .après ce temps la capsule est tirée de four pasteur , ensuite , une deuxième pesée est réalisée.

Le taux d'humidité est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité \%} = (P0 - P1) \times 100/P0$$

Où :

$$\left\{ \begin{array}{l} P0 : \text{Masse de poudre avant l'étuvage.} \\ P1 : \text{Masse de poudre après l'étuvage.} \end{array} \right.$$

#### 1.3.2. Le taux de cendres :

3g de poudre de pois vert sont chauffées sur plaque chauffante pendant 30min et incinérer à 530C° jusqu'à minéralisation totale pendant 5 heures.

\*Le taux de cendres est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Cendres \%} = (M1 \times 100) / (M0 / (100 - W))$$

Où :

$$\left\{ \begin{array}{l} M1 : \text{masse, en grammes de la capsule avec les cendres.} \\ M0 : \text{masse en grammes de la capsule et de poudre.} \\ W : \text{taux d'humidité (\%).} \end{array} \right.$$

### **1.3.3. La température de dénaturation des fractions protéiques du pois vert :**

Les tubes à essais contenant les protéines allergènes en solutions sont placés dans un bain maré réglé à 30C°. la température est augmentée progressivement de 1C° chaque 3 minutes jusqu' à la précipitation de la protéine.

### **1.3.4. pH-isoélectrique des protéines allergènes du pois vert :**

Aux solutions des protéines allergènes sont ajoutés attentivement et progressivement de l'acide acétique CH<sub>3</sub>COOH à 0,1M ou de la soude NaOH à 0,1N jusqu'à la précipitation de la protéine. La valeur de pHi est indiquée sur le PH-mètre préalablement étalonné.



## Conclusion

Le pois vert est parmi les aliments d'origine végétale les plus incriminés dans l'allergie alimentaire. Leurs protéines allergènes sont responsables de réaction d'hypersensibilité.

L'extraction de ces protéines allergènes qui sont : les albumines, les globulines, les prolamines et les glutenines a permis l'exploitation de ces derniers en quantité suffisantes par des techniques basées sur la solubilisation, la centrifugation et la dialyse.

Le pH isoélectrique a été obtenu par pH précipitation. La teneur en eau a été déterminée par différence de pesée et la température de dénaturation par augmentation de la température jusqu'à la précipitation.

Il a été montré que toutes ces protéines allergènes étudiées sont de nature glycoprotéique. Elles ont des pH isoélectriques acides ou proche de la neutralité variant de 3,8 à 5,68.elles sont caractérisées par une grande teneur en eau et une résistance à la chaleur.

## 2. Résultats et discussion :

### 2.1. Détermination des paramètres physicochimiques du pois vert :

#### 2.1.1. Le taux d'humidité et de cendre :

**Tableau (IV.1) :** Valeurs du taux d'humidité et du taux de cendre du pois vert

<b>Matériel</b>	<b>Pois vert</b>
<b>Paramètres %</b>	
Taux d'humidité (%)	14
Taux de cendre (%)	0,0436

Le tableau N° (IV.1), illustre les résultats concernant le taux d'humidité et le taux des cendres du pois vert, le taux d'humidité du pois est de 14% alors que le taux des cendres est de 0,0436%. Cette légumineuse présente une capacité de retenir l'eau. Ces protéines allergènes peuvent être riche en acides aminés hydrophiles ce qui permet de passage des molécules dans la vapeur de cuisson par conséquent elle favorise la sensibilisation des muqueuses respiratoires donc la possibilité d'un asthme par allergie alimentaire (Mounert et Vautrin, 1997). Les résultats obtenus concordent avec ceux obtenus par Mahroug, 2010.

Le taux des cendres est un indice de degré de pureté [12]. Mais ne peut être considéré comme facteur permettant de spécifier les protéines allergènes (Souiki, 2000).

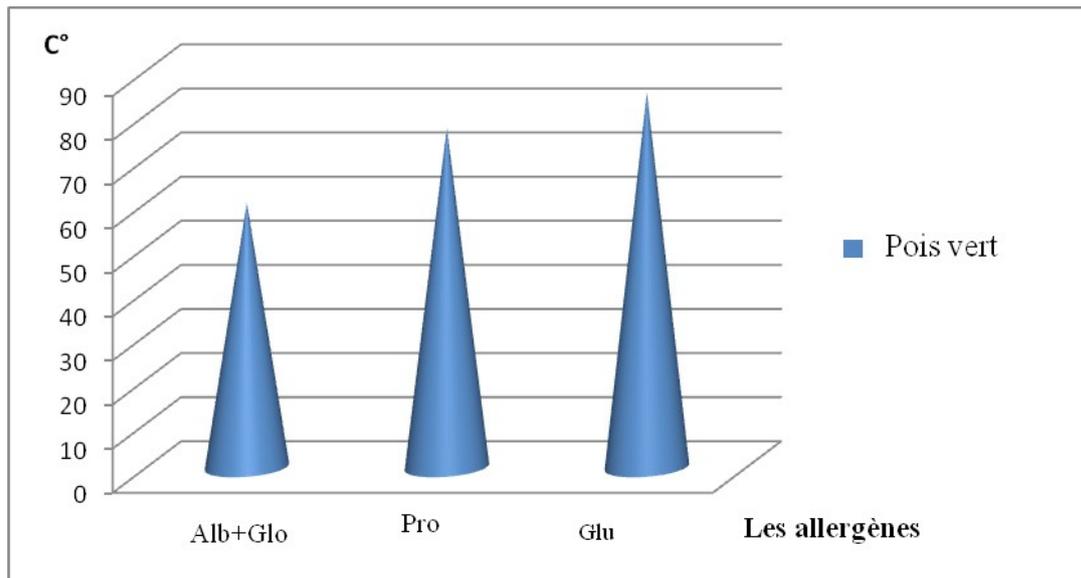
#### 2.1.2. La température de dénaturation et le pH-isoélectrique :

Les figures N° (IV.1) et (IV.2) montrent les résultats obtenus pour la température de dénaturation et le pH-isoélectrique des fractions protéiques du pois vert.

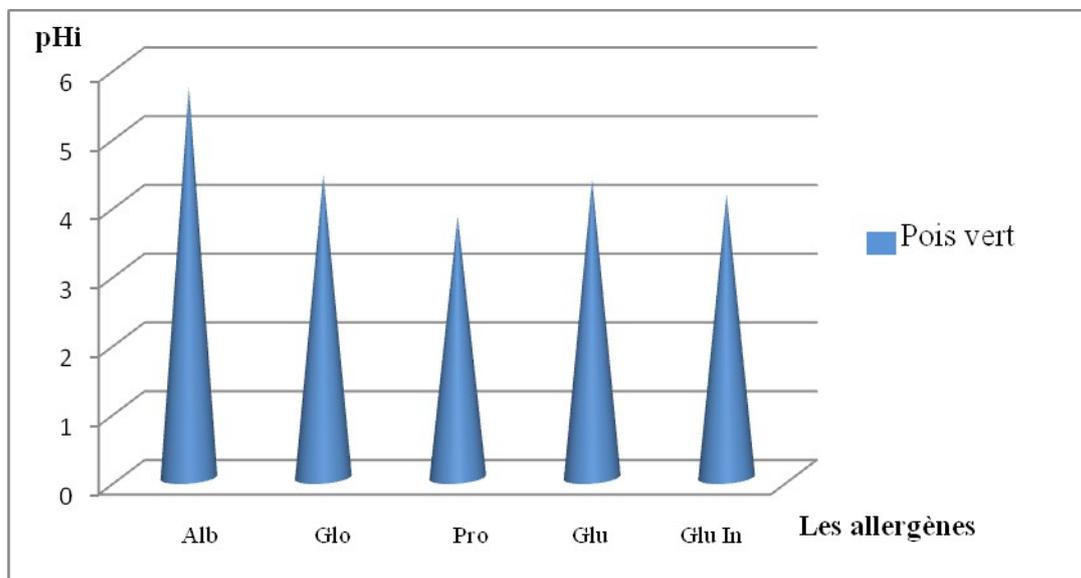
Les températures de dénaturation de l'albumine et des globulines, des prolamines et des gluténines sont respectivement : 60 C°, 77 C°, 85 C°. Ces résultats révèlent que ces fractions obtenus sont caractérisées par une résistance à la chaleur ce ci s'explique par le taux des protéines. Lorsque le taux des protéines augmente la température de dénaturation augmente. La température de dénaturation provoque un changement conformationnelle se traduisant par la perte de la structure secondaire et tertiaire (Sanchez et Frémant, 2003). Les résultats concordent avec ceux obtenus par Mahroug 2010.

Les pH-isoélectriques de l'albumine, de la globuline, les prolamines, les gluténines solubles et insolubles dans l'acide acétique sont respectivement 5,68. 4,40. 3,80. 4,33 et 4,12. La fraction d'albumine présente un pH-isoélectrique proche à la neutralité, alors que les autres se caractérisent par un pH-isoélectrique acide ; ce ci est interprété par le taux des glucides et le taux des protéines. Les travaux de Hubry, et al, 2000 ont montré que lorsque le taux du glucide augmente, le pH-isoélectrique vers l'alcalinité et lorsqu'il diminue, il tend vers l'acidité.

D'autres travaux suggèrent que lorsque le taux des protéines augmente le pH-isoélectrique tend vers l'alcalinité et lorsque ce taux diminue, le pH-isoélectrique tend vers l'alcalinité (Mahroug, 2010). Il a été difficile d'établir une corrélation entre le pH-isoélectrique et le taux des glucides et des protéines. Vû que ces dernières n'ont pas été dosées par manque de moyens.



**Figure (IV.2) :** Histogramme des températures de dénaturation des protéines allergènes du pois vert (*Pisum sativum* L.).



**Figure (IV.3) :** Histogramme des pH isoélectriques des protéines allergènes du pois vert (*Pisum sativum* L.).



## Références bibliographiques

**Alais C, Linden G et Micol L. (1997)** : Biochimie alimentaire. 4<sup>ème</sup> édition de Masson, Paris, **248p.**

**Asero R, Mistrello G, Ronacarlo D, Amato S, Caldironi G, Barocci F, Van pee R. (2002)** : immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant derived foods : a chemical study. *Allergy*, 57(10), **900-906p.**

**Bégon-Bagdassarian I. (1998)** : Allergies de l'adulte et de l'enfant. Editions Estem, **73p.**

**Berti p J, storer A.C. (1995)** : Alignment /phytogeny of the papain superfamily of cysteine proteases, *Journl. Mol .biol*, 246(2), **273-283p.**

**Bidat E. (2006)** : Allergie alimentaire de l'enfant .*Arch .pèdat*, 13,1349-**1353p.**

**Birk Y, Smimoff P.(1992)** : protein protzase inhibitor from le gume seeds and their significance in nutrition, pest control and medicine .première conférence européenne sur les protéagineux, Anger, France , **391-392p.**

**Bodinier M. (2007)** : les allergies alimentaires. INBA, **37p.**

**Boissieu D. (2002)** : Allergie à l'arachide. Elsevier SAS Ed .journal. pédiatr. Puériculture, 15,17-**20p.**

**Boudreau A, Ménard G. (1992)** : Le blé : éléments fondamentaux et transformation. Edition, les presses de l'université Laval, Canada, **439p.**

**Branger A, Richer, Roustel S. (2007)** : Alimentation, Sécurité et contrôles microbiologiques. Edition educagri, Dijon, **203p.**

**Breiteneder H. (2006)** : Classifying food allergens in Detecting allergens in food, 2006. Stef J, Koppelman, Sue L.Hefle Ed, **21-61p.**

**Breiteneder H, Radauer C. (2004)** : Classification of plant food allergens. *Journal. Allergy. Clin. Immunol.* shearer W, Rosenwassr L. J. Bochner B. SED, **821-830p.**

**Brink M, Belay G. (2006)** : Céréales et légumes secs. Edition prota, Pays-Bas, **372p.**

**Bruks A.W, Williams L.W, Helm R.M, Cannanghton C, Cockrell G, O'Brein T.J. (1991)** : Identification of a major peanut allergen. Arah I. in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenges. *journal.Allergy. Clin.Immunol*, 88,172-**179p.**

**Cheftel J-C, Louis CVQJ, Lorient D. (1985)** : Protéines alimentaire : Biochimie, propriétés fonctionnelles, valeur nutritionnelle, modification chimique. Edition, Lavoisier, Paris, **370p.**

**Demeester A. (1974)** : Extraction et utilisation des gliadines et gluténines. Bulletin des anciens élevés de l'ENSMIC, 262, **200-642p.**

**Dubuisson C, La vielle S. Martin. (2002)** : Allergies alimentaire. Etat des lieux et propositions d'orientations. Rapport. Nutrition humaine. AFSSA Derns, **104p.**

**Dunwell J.M. (1998)** : Cupins : Anew superfamily of functionally diverse proteins that include germins and plant storage proteins. Rev. Bio tech. Genet. Eng, 15, **1-32p.**

**Dutau G, Rancé F. (2005)** : Historique de l'allergie alimentaire : Des précurseurs a l'histoire contemporaine. Rev. Fr. Allergy. Immunol. Clin, 46, **312-323p.**

**Eppe E. (2006)** : Les allergies et intolérances. Mémoire de fin d'étude en implantologie et biomatériaux. Université de Bordeaux II, France, **72p.**

**Etance, Richard P, Ricardo A, Sheldon L. (2004)** : Allergie en pratique. Alain Didier. ELSEVIER, **269p.**

**Fattorusso V, Ritter O. (2004)** : Vademecum clinique : du diagnostic au traitement. Masson Ed, 17ème Edition, **1981p.**

**Gallais A, Bannerot H. (1992)** : Amélioration des espèces végétales cultivée : Objectifs et critères de sélection. Edition, Institut national de la recherche agronomique (I.N.R.A), paris, **198p.**

**Gruen L.C, Gnthrie R.E, Blagrove R.J. (1987)** : Structure of a major pea seed albumin. Implication of a free sulphhydryl group. Journal. Sci. Food Agric, 41, **167-178p.**

**Huby .R.D.J Dearman. R.J.Kimber I. (2000)** : Why are some proteins allergens. Toxi.Sci. 55, **235-246p.**

**Jacquenets S, Monert-Vautrin D.A. (2007)** : Les allergènes de l'arachide et de fruits à coque. Rev. Fr. allergol. Immunol. Clin, 47, **487-497p.**

**Kanny G, Jacquenet S. (2006)** : Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le traitement des allergies. In : médecine interne.54500 Vandœuvre-lès-Nancy. France : Elsevier SAS, **S66-S69 p.**

**Lacheb T. (2003)** : Contribution à l'étude de certaines protéines allergènes alimentaires d'origine animale et détermination de relation entre différents paramètres physico-chimiques. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de magister en biochimie appliquée. Université Baji-Mokhtar, Annaba, Algérie, **58p.**

**Lambert N, Yarwood J.N. (1992) :** Engineering legume seed storage proteins. In : Shewry, Guteridge (eds) plant protein engineering. Cambridge. University press, London, **167-187p.**

**Loza C, Brastoff J. (1995) :** Peanut allergy. Clin. Exp. Allergy, 25 (6), **493-502p.**

**Mahroug H. (2010) :** Contribution à l'étude de certaines protéines allergènes alimentaires d'origine végétale et détermination de relations entre différents paramètres physico-chimique. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri, Constantine, Algérie, **69p.**

**Maleki S.J, Kopper R.A, Dawid S.D.S, park C.W, comadre C.M, Sampson H, Burks A.W, Bunnon G.A. (2000) :** Structure of the Major Peanut Allergen Arah1 Major protect IgE-Binding Epitopes from Degradation. Journal. Immunol, 164 ,**5844-5849p.**

**Mondoulet L. (2005) :** Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide. Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermiques et des processus digestifs. Thèse de doctorat, Institut des sciences écologiques vétérinaires agronomiques et bio ingénieries, Toulouse, **150p.**

**Monert-Vautrin D.A, Kanny G, Morisset M. (2006) :** Les allergies alimentaires de l'enfant et l'adulte. Masson Ed, **155p.**

**Monert-Vautrin D.A, Kanny G, Rancé F, Lemerdry P. (1997) :** Les allergènes végétaux alimentaires : allergie associées et réactions croisées. REV. fr. Allegol, 37 (3), **316-324p.**

**Paraham P. (2003) :** Le système immunitaire. Edition : Boeck, paris, **407p.**

**Peltre G. (2002) :** Identifying and eliminatig allergens. Journal. Fr.Olc, **112-114p.**

**Perrot C. (1995) :** Les protéines de pois : de leurs fonctions dans la graine à leur utilisation en alimentation animal. I.N.R.A. Prod. Amer, 8(3), **151-164p.**

**Quevauvilliers J, Perlemuter L et Perlemuter G. (2009).** Dictionnaire médicale de l'infirmière. 8eme édition de Masson, paris, **1148p.**

**Restani P, Ballabio C, Corsini E, Fiochi A, Isoardi P, Magnic C, Poiesi C, Terracciano L, Duranti M. (2005) :** Identification of the basic subunit of Arah3 as the major allergen in group of children allergic to peanuts. Ann. Allergy. Athma. Immunol, 94(2), **262-266p.**

**Roitt I, Brostoff J et Male D. (2002) :** Immunologie. 3ème édition de Boeck, paris, **496p.**

**Roumier A.S, Marin V, groupe Hypersensibilité de la SFI. (2002) :** Exploration biologique de l'hypersensibilité immédiate. Rev.fr. labo, 341, **73-83p.**

**Rueff D, Weber B et Amzallag W. (2007) :** Immunonutrition. Edition libraire (O.E.I.L), Paris, **256p.**

**Sanchez C, Frémont S. (2003) :** Conséquences des traitements thermiques et de la formulation sur la structure et l'allergénicité des protéines alimentaires. Rev. Fr. Allergol Immunol. Clin, 43, **13-20p.**

**Shewry P.R, Napies J.A, Tatham A.S. (1995) :** Seed storage proteines : structures and biosynthesis. Plant. Celle, 7, **945-956p.**

**Siezen R.J, Leunisson J.A. (1997) :** Subtilase : The superfamilly of subtilisin. Like serine proteases. Protein. sci, 6, **501-523p.**

**Smeltzer S, Bare B. (2006) :** Soins infirmiers en médecine et en chirurgie.4ème Edition de Boeck, paris, **392p.**

**Souiki L, (2000).** Contribution à l'extraction et à la caractérisation de certaines protéines allergènes d'origine alimentaire. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de magister en biochimie appliquée. Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie, **58p.**

**Vallery D, Masson G & Vermeer SCH. (1996) :** Collection techniques agroalimentaire. 2ème édition. B.GODON, coordonateur, **504p.**

**Vander Veen M, Van Ree R, Aalberse R, Akkerdaas J. Koppelman S, Jansen H, Vander Zee J. (1997) :** Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydratr determinats of glycoproteins. Journal. Allergy. Clin. Immunol, 100 (3), **327-334p.**

**Van Ree R. (2002) :** Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. Biochen. Soc-trans, 30, **910-913p.**

**Weckber G, Cory J.C. (1988) :** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathion depleted mousse lenkemia L 1210 Cells in vitro, 40, **257-264p.**

## Sites web

[1] : Les allergies, 2005.

<http://www.lacitoyennete.net/sciencesetmedecine/allergies.php>. (Consulté le 06.03.2011).

[2] : Les types d'allergie.

[http://www.google.fr/imgres?imgurl=http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10756/bin/CH12F2.jpg&imgrefurl=http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10756/&usg=\\_\\_lhm4e-3iznuLTLIFJb0UKUcUziY=&h=464&w=701&sz=205&hl=fr&start=9&zoom=1&tbnid=bGdbTmaRP7VvDM:&tbnh=93&tbnw=140&ei=HA\\_VTdSzOcOKhQeE1c35Cw&prev=/search%3Fq%3Dallergie%2Btype%2B1%26hl%3Dfr%26biw%3D1360%26bih%3D575%26gbv%3D2%26tbnid%3Disch&itbs=1](http://www.google.fr/imgres?imgurl=http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10756/bin/CH12F2.jpg&imgrefurl=http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10756/&usg=__lhm4e-3iznuLTLIFJb0UKUcUziY=&h=464&w=701&sz=205&hl=fr&start=9&zoom=1&tbnid=bGdbTmaRP7VvDM:&tbnh=93&tbnw=140&ei=HA_VTdSzOcOKhQeE1c35Cw&prev=/search%3Fq%3Dallergie%2Btype%2B1%26hl%3Dfr%26biw%3D1360%26bih%3D575%26gbv%3D2%26tbnid%3Disch&itbs=1). (Consulté le 19.05.2011).

[3] : Les protéines alimentaires.

<http://www.aFvp.info/veitnamien/galleryUpload/914-Livre%20allergo-Franco-viet-04.pdf>. (Consulté le 24.04.2011).

[4] : Les allergènes.

<http://www.vularis-médical.com/encyclopedie/allergene-337/classification.html>. (consulté le 19.05.2011).

[5] : Assurances prévention santé.

<http://www.santépratique.fr/annexes/allergies.pdf>. (Consulté le 12.03.2011).

[6] : Allergie-mécanisme.

[http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:wkhKf41nm5kJ:w3.jouy.inra.fr/asij/colloque/LucieMondoulet.ppt+les+prot%C3%A9ines+de+l%27arachide&hl=fr&gl=dz&pid=bl&srcid=ADGEESiPwIO\\_NdBDNCkgSOp8ciUN0kgJ2dXQ\\_X8T1hEYEvAYg1E68Ae35ejsdbBnqcWqKNWahNYMH8bbivrJIRdl9IBHDHTRCDFI2f48BaFvbiMyO8ImYHNNRFk2JeOqDhWcT36pK&sig=AHIEtbRnJqVfLhfe\\_FE9zMUofxUHIGSHPA](http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:wkhKf41nm5kJ:w3.jouy.inra.fr/asij/colloque/LucieMondoulet.ppt+les+prot%C3%A9ines+de+l%27arachide&hl=fr&gl=dz&pid=bl&srcid=ADGEESiPwIO_NdBDNCkgSOp8ciUN0kgJ2dXQ_X8T1hEYEvAYg1E68Ae35ejsdbBnqcWqKNWahNYMH8bbivrJIRdl9IBHDHTRCDFI2f48BaFvbiMyO8ImYHNNRFk2JeOqDhWcT36pK&sig=AHIEtbRnJqVfLhfe_FE9zMUofxUHIGSHPA). (Consulté le 18.05.2011).

[7] : Diagnostique et traitement.

<http://allergisent.com/traitement-conseils-allergie.html>. (Consulté le 14.04.2011)

[8] : Les allergènes du blé.

<http://biochim-agro.univ-lille.fr/protéines/co/ch3//.b.html>.(Consulté le 18.05.2011).

**[9]** : Les allergènes- Pisum sativum L.

<http://granit.jouy.inra.fr/productions-animales/1995/Prod-Anim-1995-8-3-01.pdf>. (Consulté le 30.04.2011).

**[10]** : Albumine-structure.

<http://www.tradew.com/chinasupp-liens/seed111113/offers-detail-18°313/Albumine.html>.

(Consulté le 16.05.2011).

**[11]** : La graine d'arachide-allergènes.

<http://www.john-libbey-enrotext.fr/en/revues/agrobiotech/ocl/edocs/00/03/35/05/article.phtml>

(Consulté le 07.05.2011).