

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : contrôle de qualité et sécurité alimentaire

Département: biologie

---

### Thème :

**Contribution à l'étude de certaines protéines allergènes des  
aliments fréquemment consommés : cas du blé, blanc d'œuf et du  
lait de vache**

---

Présenté par :

Dolo Dénèm Désiré

Bazoum Idriss

Saleh Agada Hassan

Devant le jury composé de :

Président: Mr Aissaoui R

Université de Guelma

Examineur : Mme Zidi S

Université de Guelma

Encadreur : Pr Souiki

Université de Guelma

**Juin 2018**

## Résumé

L'allergie alimentaire est une réaction du système immunitaire envers une substance présente dans un aliment impliquant généralement un mécanisme IgE dépendant ou indépendant.

Parmi les aliments allergènes on trouve le blé, le lait de vache et l'œuf de poule. Pour étudier leurs protéines allergènes, nous avons procédé à l'extraction des gliadines du blé, l'ovomucoïde et l'ovalbumine du blanc d'œuf, la  $\beta$  lactoglobuline et l' $\alpha$  lactalbumine du lait de vache par des techniques basées sur la solubilisation, la centrifugation et la dialyse.

En plus la détermination de pH isoélectrique obtenue par pH précipitation. De plus nous avons déterminé le taux des protéines par méthode photométrique et puis la méthode de Sorensen.

D'après nos résultats, il s'avère que les extraits obtenus après leur caractérisation ont des pHi acides avec des moyennes de 3.40 pour les gliadines du blé, 4.35 et 4.16 pour l'ovomucoïde et l'ovalbumine du blanc d'œuf, 3.97 et 3.95 pour la  $\beta$  lactoglobuline et  $\alpha$  lactalbumines du lait de vache.

Les moyennes de ces pHi sont l'un des facteurs qui caractérise les protéines allergènes incriminés dans l'allergie alimentaire.

**MOTS CLES** : Allergie Alimentaire- lait -œuf- protéines-blé.

## **Abstract**

Food allergy is a reaction of the immune system to a substance in a food usually involving a dependent or independent IgE mechanism. Among the allergenic foods are wheat, cow's milk and chicken egg. To study their allergenic proteins, we extracted wheat gliadins, ovomucoid and ovalbumin from egg white,  $\beta$  lactoglobulin and  $\alpha$  lactalbumin from cow's milk by solubilization techniques, centrifugation and dialysis.

In addition the determination of isoelectric pH obtained by pH precipitation. We determined the protein level by photo-spectrometric method and then the Sorensen method.

From our results, it appears that the extracts obtained after their characterization have pHi acids with averages of 3.40 for wheat gliadins, 4.35 and 4.16 for ovomucoid and ovalbumin of egg white, 3.97 and 3.95 for  $\beta$  lactoglobulin and  $\alpha$  lactalbumin from cow's milk. The averages of this pHi are one of the factors that characterize the allergenic proteins incriminated in food allergy.

**KEY WORDS:** Food Allergy- milk-egg- protein-wheat.

## ملخص

حساسية الطعام هو رد فعل من نظام المناعة إلى مادة في الغذاء عادة ما تتضمن آلية IgE مستقلة أو مستقلة. من بين الأطعمة المثيرة للحساسية القمح وحليب البقر وبيض الدجاج. لدراسة البروتينات المسببة للحساسية، قمنا باستخلاص غليادن القمح، ovomucoid و ovalbumin من بياض البيض،  $\beta$  لاكتوغلوبولين و  $\alpha$  lactalbumin من حليب البقر بواسطة تقنيات الإذابة. الطرد المركزي وغسيل الكلى. بالإضافة إلى ذلك، يتم تحديد درجة الحموضة الكهروحرارية التي يتم الحصول عليها عن طريق ترسيب درجة الحموضة. بالإضافة إلى ذلك حددنا مستوى البروتين بواسطة طريقة قياس طيف الصورة ومن ثم طريقة سورنسن. من النتائج التي توصلنا إليها، يبدو أن المقطعات التي تم الحصول عليها بعد توصيفها تحتوي على أحماض pHi بمتوسط يبلغ 3.40 غليادن القمح، 4.35 و 4.16 ovomucoid و ovalbumin من بياض البيض، 3.97 و 3.95 ل  $\beta$  لاكتوغلوبولين و  $\alpha$  لاكتالبومين من حليب البقر. متوسطات هذه pHi هي واحدة من العوامل التي تميز البروتينات المسببة للحساسية التي تم تجريبيها في حساسية الطعام. **كلمات مفتاحية:** الحساسية الغذائية - الحليب - البيض - البروتين - القمح.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Figure 1</b> : mécanisme de l'allergie alimentaire	<b>6</b>
<b>Figure 2</b> : Illustration de prick test	<b>8</b>
<b>Figure 3</b> : les différents types d'épitopes	<b>15</b>
<b>Figure 4</b> : Structure de l' $\alpha$ -lactalbumine	<b>17</b>
<b>Figure 5</b> : Structure du $\beta$ -lactoglobuline	<b>18</b>
<b>Figure 6</b> : Distribution des caséines du lait	<b>21</b>
<b>Figure 7</b> : Structure de base d'immunoglobuline	<b>21</b>
<b>Figure 8</b> : Structure de l'ovalbumine	<b>23</b>
<b>Figure 9</b> : Structure tridimensionnelle de la viciline d'arachide Ara h 1	<b>26</b>
<b>Figure 10</b> : Localisation des acides aminés hydrophobes dans la structure tertiaire de la viciline Ara h 1	<b>27</b>
<b>Figure 11</b> : Schéma de fractionnement des protéines du blé	<b>30</b>
<b>Figure 12</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines	<b>34</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Tableau 1.</b> Allergie croisée entre pollen et aliments végétaux	<b>15</b>
<b>Tableau 2 :</b> Concentrations des solutions de sérum d'albumine bovine (BSA).	<b>33</b>
<b>Tableau 3 :</b> les valeurs moyennes de pH du milieu et du pHi des différentes protéines allergènes extraites	<b>38</b>
<b>Tableau 4 :</b> valeurs moyennes de la teneur en protéines des protéines allergènes d'origine animale extraites	<b>40</b>



## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**APLV** : Allergie aux Protéines du Lait de Vache

**CPA** : Cellule Présentatrice d'Antigène

**CK**: Créatine Kinase

**CMP** : Cytidine Monophosphate

**CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

**EAACI** : Europeens Academy of Allergy and Clinical Immunology

**ECP** : Eosinophile Cationique Protéine

**Groupements SH** : Groupements Sulfhydryl

**IFN- $\gamma$**  : Interféron Gamma

**IgE** : immunoglobulines E

**IgG** : Immunoglobulines G

**IgM**: Immunoglobulines M

**KDa**: Kilo Dalton

**LMW**: Low Molecular Weight

**LT**: Lymphocytes Thymus

**LTc**: Lymphocytes Thymus Cytotoxiques

**LTh** : Lymphocytes Thymus Helpers

**OVA** : Ovalbumine

**OVM** : Ovomucoïde

**PAF** : Facteurs d'Activation Plaquettaires

**PGD2**: Prostaglandines D2

**TAB** : Test d'Activation des Basophiles

**TPO** : Test de Provocation Oral



## INTRODUCTION

L'allergie est une réaction inappropriée ou exagérée du système immunitaire à des substances qui ne causent aucune réaction chez la plupart des sujets. Les allergies s'observent notamment en réponse à des antigènes présents dans l'environnement, appelés « allergènes » (Merzouk, 2012). L'allergie alimentaire constitue une préoccupation importante en allergologie du fait de l'augmentation de son incidence cette dernière décennie et des nombreuses controverses nées de la confusion entre une allergie vraie et une intolérance alimentaire (Nancey et al, 2013).

Les allergies alimentaires représentent un problème de santé publique en émergence dans les pays industrialisés. En effet, la prévalence de cette pathologie potentiellement mortelle semble être en constante progression, altérant la qualité de vie d'un nombre grandissant de patients et entraînant par le fait même des conséquences socio-économiques importantes (Association québécoise des allergies alimentaires, 2007).

A l'heure actuelle, il est difficile de déterminer ce qui conduit une protéine apparemment inoffensive pour la majorité de la population à devenir un allergène pour certaines personnes prédisposées (1).

D'après les études épidémiologiques 20% des individus présenteraient une maladie allergique dont l'expression clinique est variable allant de signes discrets et épisodiques à la maladie grave de pronostic pouvant être fatal. Les recherches indiquent que le nombre d'admissions dans les hôpitaux pour cause de réaction allergique grave chez les enfants a septuplé au cours des 10 dernières années. Il est donc nécessaire de renforcer la prise de conscience en matière d'allergie alimentaire. C'est ce que l'Académie européenne d'allergie et d'immunologie clinique (EAACI) s'est efforcée de promouvoir en 2012 et 2013. L'EAACI souligne que les études de caractérisation approfondies des allergènes alimentaires et de leurs cofacteurs sont nécessaires pour comprendre comment l'intolérance immunitaire envers les antigènes alimentaires est perturbée et comment la sensibilisation aux allergies commence.

La plupart des déclencheurs d'une réaction allergique sont des protéines végétales ou animales, comme dans l'œuf de poule, le poisson, le lait de vache ou encore le blé.

Dans notre étude nous allons définir l'allergie alimentaire, la classer, voir ses causes, comment la diagnostiquer et traiter tout en caractérisant certains de ses allergènes responsables

# **I. Généralités**

## 1. Allergie

L'allergie est une réaction exagérée de notre organisme contre des substances étrangères (des antigènes). En soi, ces substances étrangères ne représentent pas un danger, contrairement aux microbes ou aux virus. Mais, pour des raisons complexes, notre système immunitaire les considère à tort comme des ennemies. Dans ce cas, les antigènes sont appelés des allergènes.

Cela peut arriver avec n'importe quel antigène capable d'entrer dans notre corps (**Teissier et Madet, 2004**).

## 2. La classification de Gell et Coombs

Il est possible de classer les réactions allergiques en 4 grands types en utilisant la classification de Gell et Coombs (1963). Ces différentes réactions allergiques se distinguent par le temps d'apparition de leurs symptômes et par la nature des principaux éléments immunitaires en jeu, soit les anticorps ou les lymphocytes :

- **Hypersensibilité de type I** : Les allergies de ce type commencent à se faire sentir presque immédiatement après le contact avec l'allergène. Les effets de l'allergie disparaissent habituellement environ une demi-heure après l'exposition à l'allergène. L'allergie est déclenchée lorsque les molécules de l'allergène se fixent aux anticorps IgE attachés à la membrane des mastocytes et des basophiles ce qui libère un flot d'histamine et de sérotonine qui provoque une réaction inflammatoire locale ou généralisée. L'anaphylaxie et l'atopie (sensibilité aux pollens des plantes, à la poussière de maison, aux acariens, aux animaux, aux médicaments, etc.) appartiennent au type I d'hypersensibilité. Un choc anaphylactique est la manifestation la plus violente d'une allergie survenant quelques instants après l'entrée dans le corps d'un allergène auquel le corps a été sensibilisé. Les premiers symptômes sont : un teint pâle, des sueurs froides et un pouls rapide ; ensuite, difficultés respiratoires, pouls très rapide ; finalement, le visage bleuit et c'est la perte de connaissance. Le rhume des foins est une réaction allergique au pollen des plantes caractérisée par un nez bouché ou coulant, des éternuements, des yeux qui brûlent et qui coulent, de la fatigue et des maux de tête. Le rhume des foins peut dégénérer en rhinite chronique ou en asthme allergique. L'urticaire est une réaction allergique due aux aliments (poissons, œufs, fraises...), aux médicaments, aux cosmétiques, dont les symptômes (taches rougeâtres en relief et démangeaisons) apparaissent immédiatement après le contact avec l'allergène. Ils disparaissent après quelques heures. Si l'urticaire se généralise, il y a un risque

de choc anaphylactique. Les allergies alimentaires sont des hypersensibilités de type I (**Pascal, 2005**)

- **Hypersensibilité de type II** : Appelé aussi hypersensibilité cytotoxique est subdivisé en deux selon si l'anticorps (ici IgG ou IgM) se fixe à un antigène exogène présent sur la surface cellulaire ou bien directement sur un récepteur cellulaire reconnu comme antigène. La réaction engendrée, qui peut être ou non complément-dépendante, aboutit à une cytotoxicité. Ce mécanisme se produit lors des phénomènes d'allo-immunisation mais aussi dans certaines maladies auto-immunes. Dans ce cas, le traitement devra contenir anti-inflammatoires et immunosuppresseurs (**Zappa, 2016**).

- **Hypersensibilité de type III** : Dans ce type d'hypersensibilité, appelée aussi hypersensibilité semi-retardée ou à complexes immuns, de grandes quantités de complexes antigène-anticorps sont formés et ne peuvent pas être éliminés d'une région précise. Il se produit alors une réaction inflammatoire intense provoquant de graves lésions aux tissus. La maladie du poumon du fermier (le foin moisi est inhalé par la personne), maladie des éleveurs d'oiseaux (les plumes et les protéines des déjections desséchées des oiseaux se décomposent en poussières qui sont inhalées), la maladie des champignonnistes, maladies rénales (glomérulonéphrites) et des affections auto-immunes (lupus érythémateux disséminé où le malade fabrique des anticorps contre ses propres tissus). Ces complexes immuns solubles et circulants sont normalement éliminés par l'organisme. S'ils sont en quantité trop importante, l'élimination est insuffisante et ces complexes se déposent dans les parois des vaisseaux et dans les glomérules du rein. Il peut ainsi y avoir une vascularite ou une glomérulonéphrite. Certains médicaments (comme la pénicilline) sont capable d'induire une telle réaction de type III (**Pascal, 2005**).

- **Hypersensibilité de type IV** : L'hypersensibilité de type IV ou « hypersensibilité retardée » ne met pas en jeu les immunoglobulines comme les types précédents, mais les lymphocytes T (LT). La médiation est donc cellulaire. La première phase, dite phase de sensibilisation, débute par la reconnaissance d'un antigène par une cellule présentatrice d'antigène (CPA), souvent une cellule dendritique. Elle associe un peptide issu de la digestion de l'antigène à des molécules du complexe majeur d' d'histocompatibilité (CMH) et se dirige vers le nœud lymphatique proximal pour le présenter à un LT naïf et générer une réponse adaptative de type Th1. Les LT effecteurs formés sont les lymphocytes cytotoxiques (LTc), lymphocytes helpers (LTh) et lymphocytes mémoires. Au deuxième contact avec l'antigène, plusieurs cellules sont capables de présenter l'antigène grâce aux molécules du CMH (macrophages, mastocytes, kératinocytes, cellules endothéliales). Leur activation conduit au recrutement des effecteurs

formés pendant la phase de sensibilisation grâce aux CK (surtout l'IFN- $\gamma$ ) et chimiokines. Les LTc détruisent les cellules présentant l'antigène conformationnels et les LTh entretiennent l'inflammation. Les macrophages sont également attirés sur le site, entraînant une réaction inflammatoire locale. Le recrutement de ces cellules prend 24 à 48h. Les manifestations rencontrées sont de type cutané (érythème, œdème, prurit) et apparaissent en 2 à 4 jours (**Vanessa, 2014**).

### 3. Allergie alimentaire

#### 3.1 Définition

L'allergie alimentaire « vraie », par opposition aux fausses allergies alimentaires, correspond à des manifestations cliniques apparaissant après l'ingestion d'un allergène alimentaire (appelé trophallergène) impliquant un mécanisme IgE dépendant. Dans ce groupe des allergies alimentaires, d'autres types de mécanismes immunologiques peuvent cependant être impliqués. (**Carine et al, 2002**). Aujourd'hui encore le vocable de l'allergie alimentaire est souvent utilisé de façon inadaptée pour désigner une série de réactions secondaires à l'ingestion de l'aliment. Grace à la nomenclature actuelle, dénommée classification de l'ombrelle, une nouvelle dimension est apportée à la classification de l'allergie. (**Latreche, 2009**).

#### 3.2. Mécanisme

L'hypersensibilité immédiate se déroule en deux phases, une première phase qui correspond au premier contact de l'organisme avec l'antigène et une deuxième phase liée au second contact du même allergène avec cet organisme.

##### 3.2.1 La sensibilisation :

Elle a lieu lors d'un contact préalable du sujet avec l'allergène, et se caractérise par la synthèse d'anticorps IgE. Celles-ci se fixent au mastocytes et granulocytes et sont capables de se lier à certaines parties de l'allergène appelé épitopes, cette première phase est asymptomatique ; Les manifestations allergiques proprement dites ne se déclenchent que lors du contact suivant, même si celui-ci intervient après un intervalle de temps très long (voir fig.1) (**Bentenni, 2013**).

### 3.2.2 Phase de déclenchement :

Au cours de cette phase, la réaction allergique est déclenchée lors du deuxième contact avec le même allergène ou avec d'autres allergènes qui partagent avec lui des structures immunoréactives communes ou voisines. Deux épitopes de l'allergène se lient avec deux IgE fixés sur les mastocytes. Cette liaison induit un influx calcique entraînant la libération des médiateurs préformés (histamine, protéases) et des médiateurs néoformés (prostaglandines D2, leucotriène C4 et les facteurs d'activation des plaquettes) responsables d'une manifestation immédiate des symptômes cliniques (dilatation des vaisseaux, œdème muqueux, contraction du muscle lisse bronchique) (**Mahroug, 2010**). Cette fixation induit le pontage des IgE à la surface des cellules, les récepteurs aux IgE vont alors se rapprocher, s'agréger, entraînant une désorganisation de la membrane cellulaire et l'exocytose des granules contenant des médiateurs chimiques dont le principal est l'histamine ainsi que d'autres médiateurs (PGD2, leucotriènes, PAF) et des cytokines pro-inflammatoires (voir fig. 1). Outre leurs effets directs concernant la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire, ces médiateurs attirent d'autres cellules (granulocytes éosinophiles) dans le tissu lésé et favorisent les réponses allergiques. C'est au cours de ce deuxième contact avec l'allergène que le sujet déclenche une manifestation clinique de nature allergique plus ou moins grave en fonction de chaque individu (**Lifrani, 2006**).

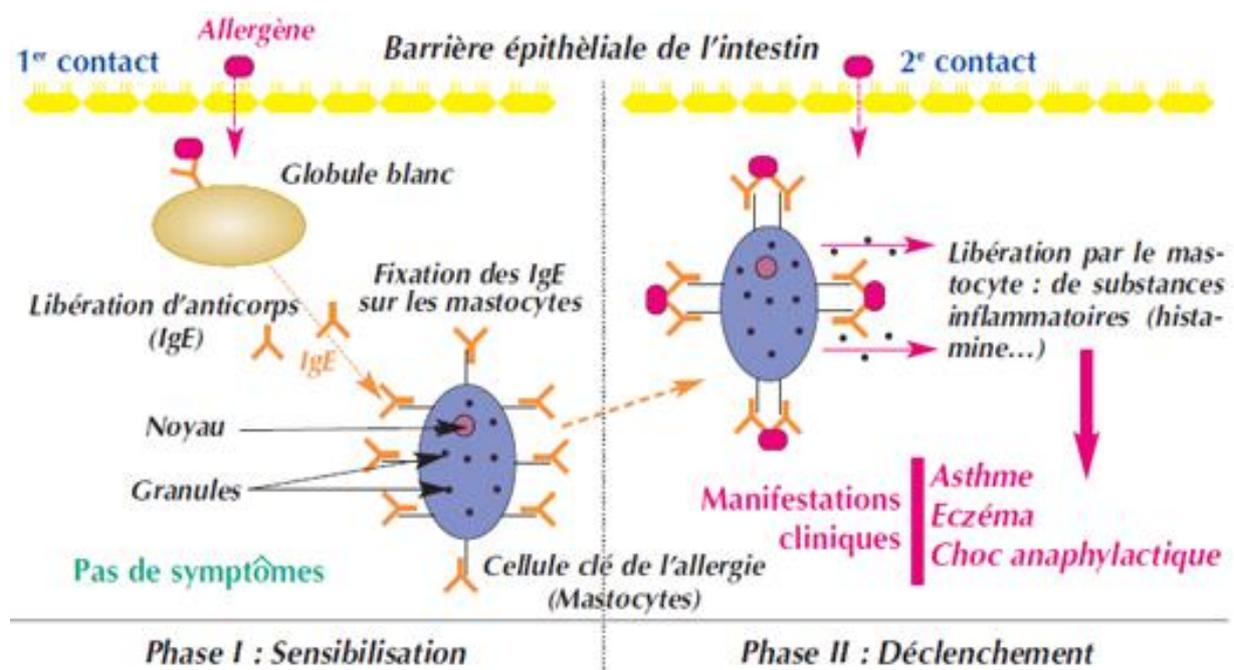


Figure 1 : mécanisme de l'allergie alimentaire (2)

### 3.3. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de l'allergie alimentaire sont diverses :

#### -Manifestations 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. **(Mahroug, 2010).**

#### -Manifestations 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. **(Mahroug, 2010).**

#### -Manifestations cutanées

La dermatite atopique est la principale manifestation cutanée chez l'enfant. Elle peut s'aggraver par l'ingestion des aliments riches en histamine ou histaminolibérateurs (poissons, œufs, chocolat...). D'autres signes sont moins fréquents comme l'urticaire, l'angio-oedème localisés surtout au niveau du visage, sur les lèvres et sur les paupières. **(Mahroug, 2010)**

#### - Anaphylaxies généralisées

Les formes graves d'allergie sont l'anaphylaxie (atteinte simultanée de plusieurs «Allergènes alimentaires prioritaires : organes cibles »), le choc anaphylactique (symptômes précédents associés à une chute de la pression sanguine, sensation de mort imminente, troubles neurologiques), les menaces de mort subite et les décès soudains. De nombreux rapports sur les cas d'anaphylaxies, survenues suite à une ingestion alimentaire, montrent l'amplitude du problème **(Mondoulet, 2005).**

### 3.4. Diagnostic

L'établissement du diagnostic de l'allergie et l'implication d'un allergène précis étant difficiles, la démarche diagnostique doit comporter différentes étapes afin de déterminer l'origine allergique des symptômes d'un patient et d'identifier le ou les allergènes en cause. L'étape clinique comprend tout d'abord un interrogatoire, un examen clinique voire une enquête alimentaire. 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 cliniques. Il s'agit de l'étape biologique qui inclut des tests *in vivo* et des tests *in vitro* (Teste, 2011).

### 3.4.1 Les tests *in vivo* :

L'étude clinique peut ainsi être enrichie par des tests *in vivo* tels que les tests cutanés avec une batterie d'allergènes, ou les tests de provocation ouverte, en simple ou en double aveugle (Mondoulet, 2005).

- **Les tests cutanés**

Les tests cutanés, aussi appelés prick test (voir figure 2), visent à mettre l'allergène au contact de la peau afin de déceler les IgE tissulaires. Ils sont réalisés avec des extraits purifiés d'allergènes, on fait pénétrer l'allergène à l'aide d'une lancette dans l'épiderme. Le médecin va marquer la peau à l'aide d'un stylo, effectuer un contrôle positif (produit auquel tout le monde réagit) et un contrôle négatif (diluant seul pour vérifier que le patient ne réagit pas au diluant seul de l'allergène). Ensuite, des gouttes d'allergènes sont disposées sur la peau puis un peu pénétrées avec la lancette. Après 20 minutes on peut lire la réaction : une sensibilisation existe s'il y a une petite papule. La réaction disparaît dans l'heure qui suit. Avant d'effectuer ce test le patient doit bien évidemment avoir arrêté au préalable tout traitement antihistaminique (Averty, 2017).

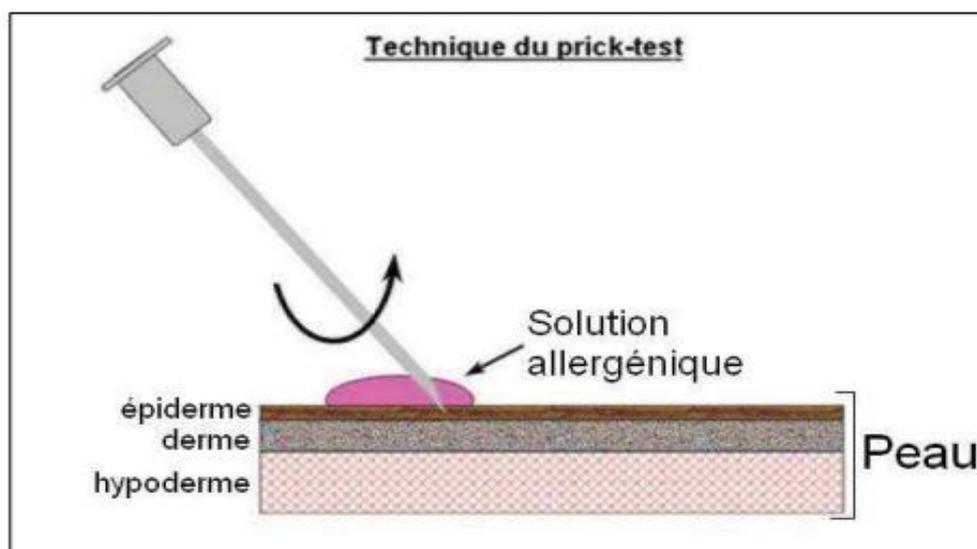


Figure 2: Illustration de prick test (Averty, 2017).

- **Test de provocation par voie orale**

En cas de doute sur la réalité d'une allergie alimentaire, ce test est incontournable. C'est l'examen de référence pour authentifier une allergie alimentaire. En effet, si la sensibilisation à un aliment est établie par les tests cutanés et le dosage des IgE spécifiques, seuls les TPO permettent de différencier ce qui est sensibilisation simple (pas de manifestation clinique d'allergie à cet aliment) de ce qui est allergie alimentaire (aliment responsable des manifestations cliniques). La technique est très simple, l'aliment doit être ingéré avec des quantités croissantes à intervalles réguliers pendant une période moyenne de trois heures jusqu'à la dose habituellement consommée. Les doses sont progressivement croissantes toutes les 20 minutes en l'absence de manifestation. Il est recommandé de tester l'aliment sous la forme habituellement consommée par le patient afin de refléter la situation réelle. Il peut être inclus dans un véhicule inerte (non allergénique). L'aliment testé doit faire l'objet d'une éviction du régime alimentaire de l'enfant. Chez l'enfant allaité, on demandera à la mère une éviction de l'aliment à tester chez l'enfant (**Rommel, 2012**).

### 3.4.2 Les tests *in vitro* :

L'étude clinique peut être confortée par des tests *in vitro* qui tentent de traduire objectivement, par la mesure d'un paramètre sur un échantillon biologique humain, l'état allergique du patient. Ces tests biologiques, sans risque pour le patient, permettent d'incriminer un allergène particulier au sein d'un aliment (**Mondoulet, 2005**).

Différents tests biologiques sont utilisés :

- Le dosage d'IgE spécifique permet de déceler une réaction allergique IgE-dépendante ou immédiate. Ce sont des tests sériques où l'on met le sérum du patient en présence d'extrait allergique ou d'allergène précis. S'il existe une réactivité entre le sérum du patient et l'allergène le test est considéré comme positif. De plus, il existe dorénavant un TAB (test d'activation des basophiles) qui se base sur l'isolement de basophile et de mise en contact avec des IgE spécifiques des allergènes mais cette technique coûteuse et peu développée reste limitée pour l'instant à un test avant TPO (test de provocation oral). Mais dans l'avenir ce test pourrait être le seul test biologique et non invasif qui permettrait de faire la différence entre une sensibilisation et une allergie vraie et ainsi de différencier réellement les patients tolérants des patients allergiques (**Averty, 2017**).
- dosage de la tryptase, protéine sécrétée par les mastocytes pouvant être retrouvée dans le sérum dans les heures qui suivent une réaction anaphylactique.

-Le dosage de l'ECP (Eosinophil Cationic Protein) est parfois proposé dans le suivi de certaines réactions inflammatoires (**Carine et al.2002**).

### **3.5 Traitement**

Il existe dans le cas des allergies alimentaires deux types de traitement :

Le traitement préventif reposant sur le régime d'éviction et le traitement du choc anaphylactique.

#### **3.5.1 Traitement préventif**

Le régime d'éviction de l'allergène est la première étape de la prise en charge de l'allergie alimentaire. Ce traitement consiste à éliminer les aliments responsables des réactions. Il est indispensable en raison du risque de réaction anaphylactique pouvant survenir lors d'une ingestion. Il peut aussi être instauré de manière préventive chez la femme enceinte ou allaitante ainsi que chez le nourrisson. Les traitements médicamenteux ont pour objectif de limiter certaines manifestations cliniques mais ne doivent pas se substituer au régime d'éviction. Par exemple, les antihistaminiques s'opposent aux effets de l'histamine et autres médiateurs et les corticoïdes sont destinés à lutter contre les inflammations (**Sellate, 2015**).

#### **3.5.2 Traitement du choc anaphylactique**

L'efficacité du traitement repose sur la reconnaissance rapide de la symptomatologie et sur une prise en charge thérapeutique immédiate. Elle est basée sur l'administration rapide d'adrénaline afin de s'opposer à la dégranulation des mastocytes et des basophiles. En cas d'ingestion accidentelle, une réaction bénigne de symptôme exclusivement cutané, nécessite un traitement antihistaminique par voie orale. En revanche, une réaction plus sévère avec une symptomatologie respiratoire associée ou non à des manifestations cardiovasculaires et/ou une perte de connaissance, justifie une injection immédiate d'adrénaline. La rapidité d'administration de l'adrénaline influence directement le pronostic. Le bon usage de l'adrénaline recommande la voie intramusculaire, dans la cuisse, à l'aide d'un auto-injecteur à usage unique, à la posologie de 0,15 à 0,25 mg chez l'enfant et 0,3 à 1 mg chez l'adulte, à répéter en fonction de la sévérité et de l'évolution des signes de menace vitale (bronchospasme et collapsus vasculaire). La voie intramusculaire 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 en raison de l'hypovolémie du au choc anaphylactique. D'autres médicaments sont associés ; corticoïdes et antihistaminiques par voie injectable ou per os (**Lifrani, 2006**).

#### 4. L'intolérance alimentaire

C'est une réaction qui survient après l'ingestion d'un aliment, sans intervenir de mécanismes immuno-allergiques. L'exemple classique est l'intolérance au lactose par déficit enzymatique en lactase. Il s'agit de la traduction clinique de la disparition physiologique de la capacité à digérer le lactose, principal sucre du lait. Elle se traduit par des douleurs abdominales, de la diarrhée et des gaz dans les heures suivant l'ingestion de lait. Cette pathologie est de mieux en mieux reconnue et une amélioration des symptômes est constatée avec l'utilisation de lait fermenté (yaourt) qui apporte sa propre enzyme lactase (3). Cette pathologie, largement répandue dans la plupart des populations adultes du monde, est à différencier de « l'allergie aux protéines du lait de vache » qui appartient à la catégorie des allergies alimentaires vraies (**Carine et al, 2002**).

#### 5. La fausse allergie alimentaire

Les symptômes de ce type de réaction apparaissent aussi peu de temps après l'ingestion de l'aliment. Les manifestations cliniques sont très proches de l'allergie alimentaire vraie mais il n'y a pas de mécanisme immuno-allergique si l'on se place du côté physiopathologique. Les effets observés sont liés à la prise d'aliments riches en histamine (ou autres amines telles que la tyramine) ou à des aliments contenant des substances histamino-libératrices activant les mastocytes par un mécanisme non allergique (**Teissier et Madet, 2004**).

#### 6. Réactions croisées

La réactivité croisée correspond à la possibilité que les IgE spécifiques d'un allergène de reconnaître des allergènes d'autre origine présentant une structure antigénique similaire. Ainsi, il existe des communautés de structure entre certains fruits et légumes et certains pollens. Des réactivités croisées préférentielles ont été décrites : pollens de bétulacées (bouleau, noisetier, aulne, charme) et rosacées (pomme, noisette, cerise, abricot, pêche, etc.), pollens de composées (armoïse) et ombellifères (céleri, fenouil, carotte, persil, coriandre). L'allergie croisée est possible dans une même famille botanique comme dans le groupe des légumineuses (arachide, petit pois, soja, lentille, pois chiche, lupin, etc.). Il existe une réactivité croisée entre certains allergènes professionnels comme le latex (personnel soignant) et certains fruits (kiwi, avocat, châtaigne, banane, etc.). D'autres réactivités croisées sont décrites pour les allergènes animaux : acariens et crustacés ou mollusques, syndrome œuf-oiseau qui correspond à une sensibilisation aux protéines de plumes d'oiseau associée à une allergie à l'œuf ; syndrome porc-chat qui correspond à une sensibilisation aux allergènes de chat associée à une allergie alimentaire à la viande de porc (**Dano, 2015**).

## 7. L 'épidémiologie de l'allergie alimentaire

L'épidémiologie de l'allergie alimentaire représente un grand intérêt, elle fournit les éléments nécessaires pour une meilleure compréhension des mécanismes pathologiques et permet de connaître les facteurs de risque associés. Elle contribue à l'élaboration d'actions préventives.

En dépit des différentes méthodologies utilisées dans les différentes études épidémiologiques réalisées dans le monde par différents auteurs, la prévalence de l'allergie alimentaire varie en fonction de plusieurs facteurs à savoir : l'âge, les mécanismes (immédiat ou retardé), les allergènes, les habitudes alimentaires, l'atopie (histoire familiale) et les signes cliniques. Il est à noter que les manifestations cliniques diffèrent entre les pays industrialisés et les pays en voie de développement (**Latreche, 2009**).

- **Epidémiologie spécifique :**

Il faut aussi envisager les données épidémiologiques en fonction de l'âge, des symptômes d'atopie et des allergènes alimentaires en cause.

- L'âge :

L'expérience médicale montre que l'allergie alimentaire est beaucoup plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte. Il est généralement admis qu'il faut compter 3 enfants atteints d'allergie alimentaire pour 1 adulte. L'incidence des allergies alimentaires est estimée entre 4 et 8,5 % chez les enfants de moins de 8 ans (**Rance et Guy, 2007**).

-L'allergène :

La fréquence des allergènes alimentaires incriminés est d'appréciation délicate en raison des disparités (variabilité, divergence) considérables selon les publications. Bien sûr, la fréquence des allergènes retrouvés va dépendre des habitudes alimentaires des patients et donc de leur situation géographique. Par exemple, en Italie, la farine de blé, de maïs, la tomate et la pêche sont les principaux trophallergènes ; en Scandinavie, le premier allergène est le poisson... alors qu'aux Etats-Unis et en Angleterre, le premier allergène en cause est l'arachide et les fruits à coque.

-Le terrain atopique : L'apparition d'une allergie alimentaire est fortement influencée par la génétique. La majorité des patients atteints d'une allergie alimentaire sévère sont atopiques et 10 % d'entre eux ont d'autres symptômes d'atopie. (**Latreche, 2009**).

## 8. Etude épidémiologique en Algérie

Selon une enquête épidémiologique transversale menée par LATRECHE Asma en 2008 auprès des cabinets de spécialistes (Constantine, Skikda) a permis de réunir une population de

103 patients dont 39 sont présumés allergiques aux aliments. Tout âge confondu, l'âge moyen est de 39 ans, l'atopie est révélée chez les patients dans 65 %. Les résultats des tests allergologiques réalisés « prick-tests et tests IgE spécifiques » font état de 13% d'hypersensibilité alimentaire IgE médiée et 39 % d'hypersensibilité non allergique conformément à la nomenclature de « l'EAACI ». L'aliment le plus représenté est l'œuf concerne 10 % des cas. A Alger : une étude transversale réalisée par Abdelaziz R et al en 2014 dans 63 établissements scolaires, une prévalence à 4,6% d'allergie alimentaire a été estimée. Les allergènes en cause étaient: les légumineuses 22%, le lait 15%, le poisson 12,5%, les fruits de mer 12,5%, les œufs 8% et les rosacées 8% (**Boudraa, 2015**).

## 9. Caractéristiques des allergènes alimentaires

En dépit de l'immense diversité de l'alimentation humaine, relativement peu d'aliments sont responsables de la majorité des allergies alimentaires. Les aliments allergéniques sont des aliments sains, de bonne valeur nutritionnelle couramment consommés par l'ensemble de la population sans entraîner le moindre effet secondaire. Un allergène est défini comme toute substance capable de sensibiliser l'organisme de certains individus et de déterminer, lors de sa réintroduction, des manifestations pathologiques. Tout allergène est caractérisé par son allergénicité et immunogénicité. Ce sont deux notions différentes, les protéines immunogènes peuvent induire une production d'anticorps et/ou une réponse immunitaire cellulaire, alors que les protéines allergènes peuvent induire la production d'IgE et, après réexposition, provoquer une réaction allergique. L'immunogénicité fait donc partie des caractéristiques qui, a priori, augmentent la probabilité qu'une protéine soit allergénique (**Mondoulet, 2005**).

### 9.1. Types d'allergènes

**Allergène majeur :** c'est un antigène purifié contre lequel au moins 50% des patients testés présentent des IgE spécifiques et qui donne des tests cutanés immédiatement positifs, à une concentration très faible, chez au moins 90% des sujets ayant la maladie allergique en relation avec cet allergène. Ainsi l'arachide contient, sur 7 allergènes identifiés, 3 allergènes majeurs et un quatrième à la limite.

**Allergène mineur :** c'est quand l'antigène n'intéresse que 10% des sujets.

**L'allergène intermédiaire :** se situe entre ces deux chiffres.

Un isoallergène désigne un allergène de masse moléculaire et de fonction biologique identiques à un autre allergène ayant une homologie de séquence d'acides aminés d'au moins 67%. En effet, la modification de groupements carboxyles ou amino-terminaux transforme ainsi la charge électrique donc le point isoélectrique. Ces isoallergènes sont associés en groupe car

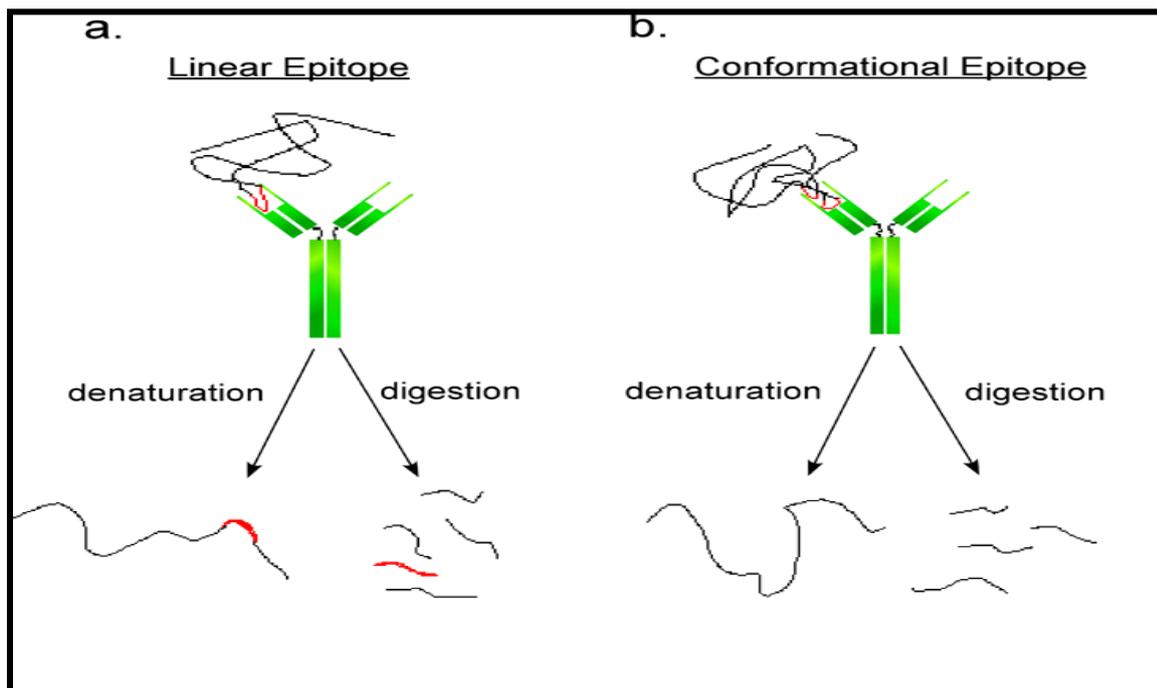
toujours reconnus ensemble (**Mondoulet, 2005**). Ils se différencient donc par le point isoélectrique, qui dépend des charges positives et négatives des acides aminés (**Carine et al, 2002**).

## 9.2. Structure et fonction des allergènes

Les allergènes de poids moléculaire de 3 à 90 kDa ont des propriétés différentes et des fonctions différentes. Leur structure est de mieux en mieux connue, ce qui permet de décrire des homologies de séquences protéiques et de comprendre leur activité biochimique (**Raffard, 2009**).

Il n'est pas connu de caractéristiques biochimiques ou immunochimiques uniques propres aux allergènes alimentaires. Cependant quelques caractéristiques biochimiques distinctes peuvent être associées aux protéines reconnues comme étant allergéniques, à savoir que les allergènes alimentaires peuvent être solubles dans l'eau (albumines) ou dans les solutions salines (globulines). En dehors de la masse moléculaire suffisante pour assurer une bonne immunogénéicité et une absorption muqueuse, l'allergénicité d'une protéine dépend également du nombre et des propriétés des épitopes.

Les épitopes sont les portions de la molécule protéique (antigénique) qui se lient à l'anticorps spécifique et qui sont donc responsables de l'immunoréactivité. On distingue les épitopes séquentiels ou linéaires dépendant de l'enchaînement des acides aminés (structure primaire), des épitopes conformationnels dépendant de la structure tertiaire ou quaternaire de l'allergène (fig.3). Ces épitopes conformationnels sont continus s'ils correspondent à un enchaînement d'acides aminés, ou discontinus s'il s'agit d'un rapprochement spatial de séquences non contiguës (**Mondoulet, 2005**).



**Figure 3:** les différents types d'épitopes(3)

### 9.3 Allergènes croisant

Les allergènes sont appelés croisant lorsqu'ils ont une homologie fonctionnelle ou une homologie de structure très proche, qui est reconnue par les IgE de l'allergique. Les premiers allergènes croisant ont été décrits en Europe pour les allergies aux pollens d'arbres ou d'herbes croisant avec des allergies à des fruits ou des légumes (Tab.1). La sensibilisation au pollen est primaire et induit une sensibilisation secondaire aux aliments. Ces allergènes croisant appartiennent à une même famille moléculaire dont la structure moléculaire est très proche ; profiline, protéines de défense (pollen de bouleau/pommes) (**Raffard, 2009**).

**Tableau 1.** Allergie croisée entre pollen et aliments végétaux (**Raffard, 2009**).

POLLENS	ALIMENTS	AUTEUR	1 <sup>ère</sup> Publication
Ambroisie	Melon	Glaser	1970
Bouleau	Pomme	Lahti	1977
Armoise	Céleri	Kremser	1983

#### 9.4. Les allergènes majeurs d'origine animale

D'après la liste des ingrédients allergènes potentiels à mentionner dans l'étiquetage et considérés comme majeur selon la Directive 13/2000/CE du JO L109 du 6 mai 2000, nous retrouvons ceux d'origine animale, à savoir :

- Lait et produits à base de lait (y compris le lactose)
- Œufs et produits à base d'œufs
- Poissons et produits à base de poissons

##### 9.4.1 L'allergie au lait de vache.

C'est l'allergie du nourrisson la plus fréquente mais elle peut s'observer à tout âge. Elle débute en général au 3ème mois, lors de l'arrêt de l'allaitement maternel. Elle peut provoquer de simples troubles digestifs, mais aussi de l'eczéma, de l'urticaire chronique, voir un grand choc anaphylactique. L'allergène majeur du lait de vache est la  $\beta$ -lactoglobuline (ci-contre) mais la caséine et l'albumine sont aussi des protéines lactées potentiellement allergisantes. En cas d'allergie, toute protéine lactée bovine doit être exclue de l'alimentation. En raison des allergies croisées, on supprime également les aliments à base de soja. Une alimentation hypoallergénique avec des hydrolysats protéiques permet l'arrêt des symptômes et favorise une auto-guérison spontanée dans 90 % des cas entre 9 et 12 mois (**Teissier et Madet, 2004**).

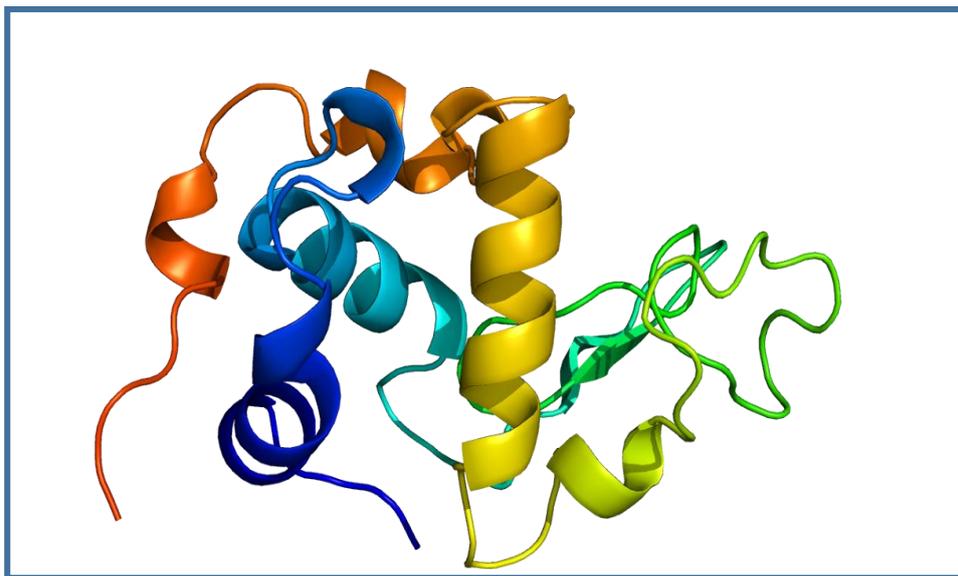
- **Les protéines allergènes du lait de vache**

Le lait de vache contient quantitativement 30 à 35 g/l de protéines et qualitativement une trentaine de protéines, toutes potentiellement allergisantes. Parmi les protéines responsables de l'allergie aux protéines de lait de vache (APLV), les trois allergènes principaux sont l' $\alpha$ -lactalbumine, la  $\beta$ -lactoglobuline et la caséine. Environ 85% des personnes atteintes d'APLV réagissent à une de ces trois protéines<sup>39</sup> et 75% sont allergiques à plusieurs protéines à la fois. Chimiquement, la composition protéique du lait de vache se répartit en deux fractions : 80% de caillé constitué de caséine et 20% de lactosérum contenant entre autre la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine. La caséine résulte de l'association de quatre chaînes protéiques codées par des gènes différents ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  et  $\kappa$ ), et représentent 80% des PLV (**Diabi et Diboun, 2013**).

- **Protéines du lactosérum**

- **- L' $\alpha$ -lactalbumine**

L' $\alpha$ -lactalbumine représente 2 à 3 % des protéines du lactosérum soit de l'ordre de 0,6 à 1,7g par litre de lait. C'est une protéine qui renferme 123 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire de 14,2 kDa. La molécule renferme 4 ponts disulfures situés entre les cystéines 6 et 120, cystéine 28 et 111, cystéine 61 et 77, cystéine 73 et 91. Elle présente 50% d'homologie avec le lysozyme et possède une activité de lyse des parois vis-à-vis des bactéries à Gram+. La protéine native est dénaturée vers 65°C mais si le milieu est refroidi, il y a renaturation de 80 à 90% de la protéine. (Bouquelet, 2016). Pour l' $\alpha$ -Lg, la réponse IgE est très hétérogène et la prévalence rapportée dans la littérature est très variable allant de 6% à 100%. Plusieurs études ont exploré la présence d'épitopes majeurs reconnus par les IgE humaines de patients allergiques. Les études menées par Jarvinen et al. (2001) ont démontré la présence de quatre épitopes majeurs de l' $\alpha$ -lactalbumine liant les IgE : Glu1-Sys16, Lys12-Trp26, Ser47-Lys58 et Lys93-Asp102 (El mecherfi).

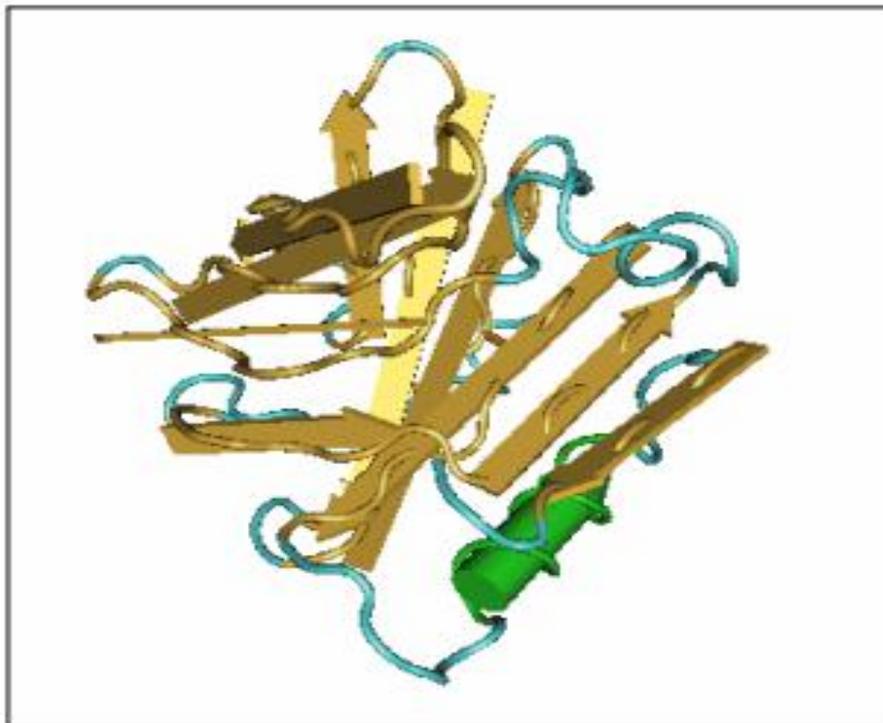


**Figure 4:** Structure de l' $\alpha$ -lactalbumine(4)

- **-La  $\beta$  –lactoglobuline**

Elle représente la principale protéine du lactosérum allergisante du lait bovin et est absente du lait maternel. Présente sous forme d'un dimère de 36 KDa, chaque sous unité correspondant à une chaîne polypeptidique de 162 résidus d'acide aminés (Negaoui-belarbi).

La  $\beta$ -lactoglobuline est la protéine allergénique majeure du lait de vache, elle déclenche une réaction de sensibilité chez 80% des patients allergiques du lait. La structure tridimensionnelle du  $\beta$ -Lg comprend trois épitopes majoritaires qui sont disposés à la surface de la molécule ce qui explique la forte allergénicité de la  $\beta$ -Lg à l'état natif. Bien que leur caractère d'allergénicité soit nettement inférieur à celui de la  $\beta$ -Lg, il est maintenant admis que l' $\alpha$ -lactalbumine et la sérumalbumine présentent aussi un certain caractère d'allergénicité (Redouane, 2008).



**Figure 5:** Structure du  $\beta$ -lactoglobuline (Teissier et Madet, 2004).

- **La caseine**

Les caséines représentent 80% des protéines du lait de vache. Elles sont très hétérogènes et comportent de nombreuses variétés. Elles sont insolubles et assez thermolabiles (Abdellaoui, 2010). Les caséines sont les allergènes en cause dans la majorité des APLV persistantes. Des travaux récents ont montré un taux significativement plus élevé d'IgE spécifiques des épitopes linéaires de l' $\alpha$ -caséine et de la  $\beta$ -caséine chez les patients présentant une forme persistante d'APLV. Les caséines se trouvent dans le lait sous forme d'un complexe des diverses caséines liées à du phosphate de calcium colloïdal (Metioui, 2016). Ceci résulte vraisemblablement d'une co-sensibilisation aux  $\alpha$ S1-,  $\alpha$ S2-, et  $\beta$ -caséines isolées après

rupture et dégradation des micelles lors de la digestion puis exposition du système immunitaire à chacune d'entre elles. Cependant cette poly-sensibilisation est également due à un mécanisme de sensibilisation croisée qui fait intervenir les seules petites régions conservées à fortes homologues de séquence des différentes caséines, à savoir les sites majeurs de phosphorylation qui contiennent les agrégats de sérines phosphorylées. De plus il est à rappeler que certains des épitopes immunodominants caractérisés sur les  $\alpha$ -caséines sont des épitopes linéaires qui ont été localisés dans des régions très hydrophobes de la molécule où ils ne sont pas directement accessibles aux anticorps et ne le deviennent qu'après que la caséine ait été dénaturée ou dégradée, comme par exemple lors des processus digestifs (Wal, 2011).

Parmi les caséines, on retrouve 5 protéines différentes : les  $\alpha$ -caséines (divisées en  $\alpha$ S1 et  $\alpha$ S2), la  $\beta$ -caséine, la  $\kappa$ -caséine et la  $\gamma$ -caséine.

#### **-La caséine $\alpha$ S1**

C'est une molécule qui représente entre 34 et 40% des caséines soit entre 10 et 13g par litre de lait. Elle renferme 199 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire de 23kDa. L'étude de la séquence primaire montre qu'il est possible de caractériser, en fonction de la nature des acides aminés, plusieurs zones au niveau de cette molécule. Une zone N-terminal des acides aminés 1 à 41 qui présentent un fort caractère hydrophobe ainsi que les zones délimitées par les acides aminés 80 à 113 et 132 à 199. Une zone hydrophile est définie entre les acides aminés 41 à 80. Dans cette partie on met en évidence 7 résidus de sérine sous forme phosphorylée (5). Sur la caséine  $\alpha$ S1, on a identifié une région qui était reconnue par les IgE de 100% des patients présentant une allergie persistante au lait et par aucun des patients susceptibles de guérir de l'allergie. Par ailleurs, les anticorps spécifiques de ces épitopes sont présents très tôt, permettant un diagnostic précoce de l'allergie persistante au lait de vache (Abdellaoui, 2010).

#### **-La caséine $\alpha$ S2**

C'est une molécule qui représente entre 12 et 16% des caséines soit entre 4 et 5g par litre de lait. Elle renferme 207 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire de 25 kDa. Comme dans le cas de la caséine  $\alpha$  S1 il est possible, en observant la séquence primaire de la molécule de mettre en évidence plusieurs zones. (6). La caséine  $\alpha$ S2 contient également deux séquences similaires avec des résidus phosphosérines, les peptides 7-12

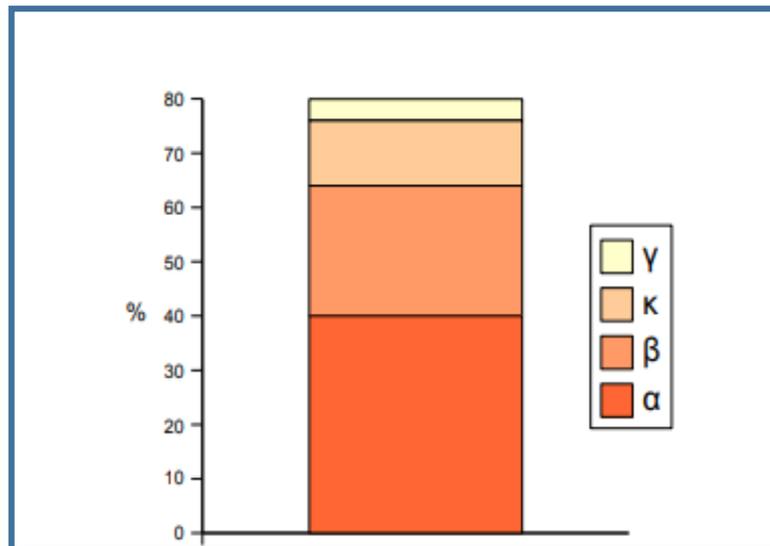
et 55-60. Il a été remarqué que la région possédant le site majeur de phosphorylation est conservée dans les caséines bovines  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\beta$ , comme dans les caséines des autres espèces. Ainsi, cette séquence joue un rôle important dans la réactivité croisée, d'autant plus qu'elle a déjà été décrite comme étant immunoréactive, et résistante à la dégradation digestive (**Lafitedupont, 2011**).

#### ➤ La caséine bêta

La  $\beta$ -caséine représente entre 37 et 42% des caséines soit entre 9 et 11 g par litre de lait. C'est une molécule qui est constituée de 209 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire de 24 kDa. (7). De manière surprenante la  $\beta$ -caséine bovine induit une forte réponse IgE bien qu'elle soit également présente dans le lait humain et malgré le fait que  $\beta$ -caséines humaine et bovine présentent de fortes homologues de séquence (de l'ordre de 80%). Nous avons montré que les épitopes allergéniques de la caséine  $\beta$  bovine sont en fait localisés dans les régions les plus conservées, celles où les homologues de séquence avec la caséine  $\beta$ -humaine sont les plus élevées et qu'ils peuvent donner lieu à des cas de réactivité croisée entre  $\beta$ -caséines bovine et humaine (**Wal, 2011**). Il faut souligner le fait que ces épitopes allergisants des caséines peuvent être retrouvés dans le lactosérum. En effet, l'hydrolyse naturelle de la  $\beta$ -caséine, par les enzymes endogènes du lait (plasmine), donne lieu à la formation de  $\gamma$ -caséine ou à des protéoses peptones. De même, l'hydrolyse de la  $\kappa$ -caséine permet la formation du CMP. Ces peptides de dégradation des caséines sont solubles dans le lactosérum et responsables de réactions allergiques également. Ainsi, des réactions après ingestion de protéines du lactosérum ont pu être observées, chez des enfants ayant un test aux IgE sériques spécifiques positif à la caséine mais pourtant négatif aux protéines du lactosérum (**Lafitedupont, 2011**). .

#### ➤ La caséine kappa

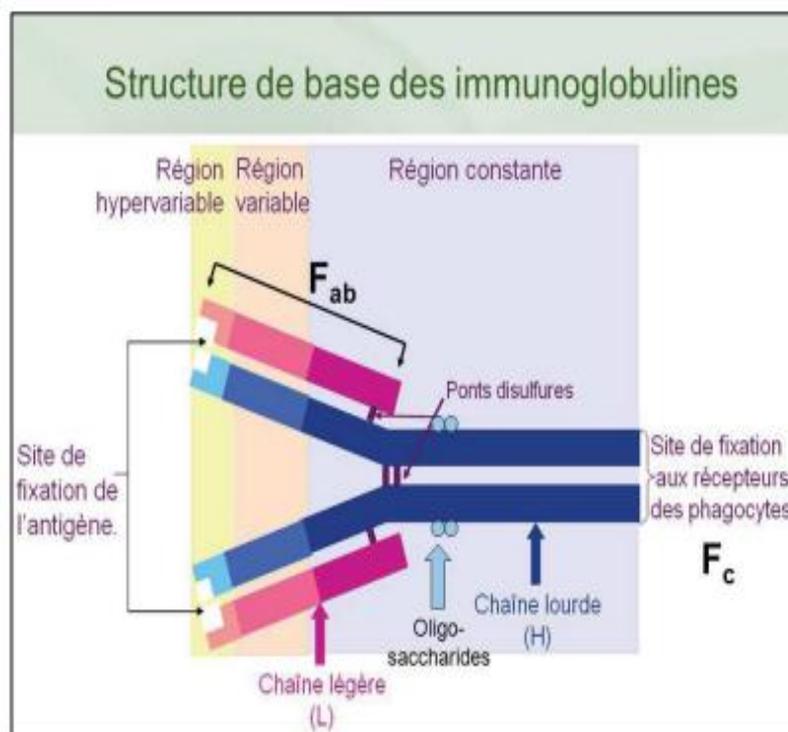
Elle représente 8 à 15% des caséines soit 3 à 4g par litre de lait. Elle est constituée de 169 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire voisine de 19 kDa. Comme dans le cas des autres caséines il est possible de définir plusieurs zones. La partie N-terminal est hydrophobe, la partie C-terminal est hydrophile. L'hydrophobie moyenne d'un résidu d'acide aminé est de 5,12 kJ/mole. On caractérise dans la partie N-terminal : 15 résidus de proline et de nombreux résidus d'acides aminés hydrophobes ainsi que deux résidus de cystéine qui donneront la possibilité de contracter des ponts disulfure. (8)



**Figure 6:** Distribution des caséines du lait (Anais, 2016)

### -Les immunoglobulines

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines : IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Ghaoues, 2010).



**Figure 7:** Structure de base d'immunoglobuline (Bergeron, 2016).

## - Le sérum-albumine

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (Ghaoues, 2010).

### 9.4.2 L'allergie à l'œuf de poule

L'allergie à l'œuf apparaît généralement tôt, dès les premiers mois ; la sensibilisation de l'enfant pouvant se produire pendant la grossesse ou par l'intermédiaire de l'allaitement, par consommation d'œuf par la mère (54). Les vaccins contre les oreillons, la grippe, la fièvre jaune, - 38 - fabriqués sur des souches d'œufs, sont contre-indiqués chez ces enfants, bien que certains auteurs reviennent aujourd'hui sur ces recommandations. Les enfants guérissent généralement vers l'âge de quatre-cinq ans ; dans certains cas, cependant, on peut conserver cette allergie toute la vie. L'allergie précoce à l'œuf, plus spécialement quand elle est associée à un eczéma, augmente les symptômes d'allergies respiratoires et la sensibilisation aux pneumallergènes dans la petite enfance (Carine et al 2002).

- **Les protéines allergènes du blanc d'œuf**

Les allergènes majeurs de l'œuf sont l'albumine (protéine thermolabile détruite par la chaleur) et l'ovomucoïde (protéine thermostable résistante à la chaleur). Dans ce dernier cas, la cuisson de l'œuf ne protège pas contre l'allergie. L'allergie à l'œuf peut être aussi brutale et aussi grave que l'allergie au lait. Certaines personnes très sensibles sont mêmes mortes de choc anaphylactique ou d'œdème du larynx, pour avoir seulement ingéré des particules résiduelles, provenant d'une minime trace d'œuf cuit, encore présente sur un ustensile de cuisine insuffisamment lavé. L'allergie à l'œuf n'est heureusement pas toujours aussi grave. Elle se contente de provoquer en général de l'urticaire ou de l'eczéma. Le diagnostic de l'allergie à l'œuf est comparable à celui de l'allergie au lait. L'éviction prolongée de l'œuf permet dans 50 % des cas la réinstallation d'une tolérance à l'œuf (Teissier et Madet, 2004).

- **L'ovalbumine**

L'OVA, protéine la plus abondante du blanc d'œuf (environ 54%) appartient à la superfamille des serpins, identifiée comme une famille d'allergènes d'origines animale et végétale. Cette protéine globulaire est un allergène dominant dans l'allergie à l'œuf. Cette phosphoglycoprotéine constituée de 385 acides aminés correspond à un poids moléculaire d'environ 45 kDa. Son point isoélectrique est de 4,5. L'OVA contient six résidus cystéine, dont deux forment un pont disulfure. Elle présente donc quatre groupements SH libres permettant la formation de ponts disulfures intermoléculaires lors des traitements thermiques (Claude, 2016).



Figure 8: Structure de l'ovalbumine(9)

- **Ovomucoïde**

L'OVM représente 11% des protéines du blanc d'œuf dont le poids moléculaire est d'environ 28 KD. Cette glycoprotéine appartient à la famille des inhibiteurs des sérines protéases et est un inhibiteur de la trypsine et de l'élastase. Elle est fortement résistante au chauffage et à la digestion par les protéases. L'OVM peut être chauffé à 100°C en conditions acides pendant de longues périodes sans aucune modification apparente de ses propriétés physiques ou chimiques et ne s'agrège pas lors du chauffage du blanc d'œuf. Il s'agit d'un allergène immunodominant dans l'œuf de poule. L'OVM est impliqué dans l'allergie au blanc d'œuf fortement chauffé. En effet, la plupart des patients allergiques à l'œuf cuit sont capables de consommer du blanc d'œuf chauffé s'il ne contient pas d'OVM. Cependant, aucune valeur seuil de concentration en IgE spécifiques de l'OVM ne peut être utilisée pour prédire une tolérance à l'œuf cuit (**Claude, 2016**).

Des études réalisées sur des échantillons de sérum avec des taux élevés d'IgE dirigées contre l'ovomucoïde ont montrés qu'il s'agit d'une protéine hautement glycosylée présentant 5 sites de fixations des IgE dans 3 domaines .Les épitopes sont plus conformationnels que séquentiels, et les patients sont peu impliqués, voire pas du tout, dans l'allergénicité de cette protéine (**Jonathan et Bruno, 2005**).

### 9.4.3 L'allergie au poisson

De nombreuses espèces de poissons sont mises en cause dans les allergies : morue, thon, saumon, sardine, anchois, poissons d'eau douce, sole, colin... Certaines personnes ne réagissent qu'à une seule espèce, d'autres à plusieurs. Les allergènes des poissons sont des protéines musculaires dont la plus étudiée est le Gad c I de la morue, protéine très stable dont l'allergénicité semble davantage liée à sa séquence d'acides aminés qu'à sa configuration. La cuisson et le fumage réduirait l'allergénicité de ces protéines. De plus, la stabilité des protéines de poisson paraît évolutive ; ainsi certains résultats intéressants ont été rapportés, comme la création de nouveaux épitopes allergéniques lors de la dénaturation thermique de la morue (augmentation des protéines allergènes lors de la conservation) (**Carine et al, 2002**).

- **Les protéines allergènes du poisson**

L'allergène M de la morue est l'allergène majeur, reconnu chez la plupart des patients sensibles au poisson et entraînant des réactions très positives dans les tests de sensibilisation de type RAST. Cet allergène est stable à la chaleur, résistant à la protéolyse et à la dénaturation. Il est reconnu également par les IgG, mais cette reconnaissance n'est pas spécifique et couvre d'autres protéines que l'allergène majeur. De plus certaines IgG reconnaissent les mêmes régions de la protéine que l'IgE, mais d'autre pas. L'allergène M fait partie de la famille des protéines musculaires des vertébrés liant le calcium et les parvalbumines appartenant au groupe des calmodulines (**Wal, 1996**). Le poisson est également un aliment à fort potentiel allergisant, en particulier les poissons de mer. Il existe souvent une allergénicité croisée entre les différentes familles. L'activité allergénique siège dans les constituants sarcoplasmiques qui représentent 20 à 30% du tissu musculaire. Elle est retrouvée dans les molécules volatiles (allergènes aéroportés) : odeur de poisson ou vapeur de cuisson. Elle résiste totalement au chauffage. Par ailleurs, certains poissons comme le thon sont riches en histamine et peuvent provoquer ce qu'on appelle une fausse allergie (**Lifrani, 2006**).

## 9.5. Les allergènes majeurs d'origine végétale

### 9.5.1 L'allergie au blé

Le blé constitue un composant essentiel du régime alimentaire de nombreux pays, en premier lieu comme source de glucides et de calories. Certaines protéines de ces céréales sont responsables de l'allergie alimentaire, les plus souvent mises en cause sont les inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase ou de la trypsine (blé, orge, riz, avoine) ou les protéines de transfert de lipides (maïs). Malgré les grandes ressemblances de ces molécules entre diverses espèces céréalières,

on observe rarement des cas d'allergies croisées alors que l'on aurait pu s'attendre à l'effet inverse étant donné la multitude de végétaux qui synthétisent ces protéines. En cas de pathologie avérée, on assistera à des symptômes tels que ceux de type cutané (dermatite) ou respiratoire (asthme) (**Teissier et Madet, 2004**).

La teneur en protéines des graines est comprise entre 10 à 15%, selon la variété. Ces protéines sont riches particulièrement en acide glutamique, en leucine et en proline mais pauvres en lysine. Ces protéines sont divisées en deux grands groupes :

-Protéines de structure et de fonction : les albumines et les globulines.

-Protéines de réserves : les protéines du gluten (gliadines et gluténines).

Chaque groupe de protéines renferme un certain nombre de protéines allergènes qui sont responsables des différentes formes d'allergies. Ces dernières dépendent de la voie d'exposition et des mécanismes immunologiques engendrés (**Battais et al. 2007**).

- **Les protéines allergènes du blé**

Le grain de blé contient 10 à 15 % de protéines, dont on distingue 4 groupes : les albumines, les globulines, les gliadines et les gluténines. Les allergènes majeurs sont principalement les gliadines, qui sont, avec les gluténines, regroupées sous le terme de gluten. Les différentes classes de gliadines et les sous-unités gluténines ont été identifiées comme allergènes dans de nombreuses études sur l'allergie au grain de blé. Les  $\alpha$  - et  $\omega$ 5-gliadines sont également impliquées dans l'asthme professionnel du boulanger (AB) (**Battais et al. 2007**).

### 9.5.2 L'allergie à l'arachide

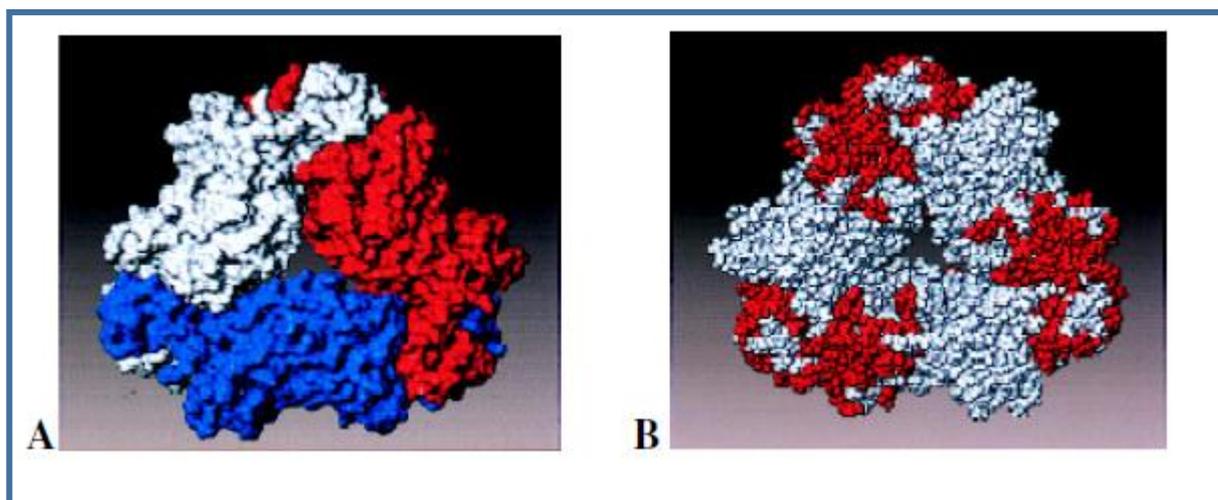
L'allergie à l'arachide est une allergie de type I caractérisée par deux phases, une précoce et une tardive, cette dernière pouvant avoir lieu plusieurs heures après la première. Cette allergie survient plus fréquemment chez les enfants, bien qu'elle existe également chez l'adulte. Les conséquences sont d'ailleurs plus sévères chez l'adulte que chez l'enfant. Il s'agit d'une allergie persistante : seuls 20% des enfants développent une tolérance en grandissant. Onze allergènes ont été identifiés, parmi lesquels 4 sont considérés comme des allergènes majeurs. Il s'agit des allergènes Ara h 1, 2, 3 et 6. En ce qui concerne la sensibilisation à l'allergène via l'alimentation de la mère (grossesse et allaitement), aucune étude n'a jusqu'à présent pu prouver scientifiquement une relation avec la prévalence de l'allergie à l'arachide (**10**).

- **Les protéines allergènes d'arachide**

Les deux principaux allergènes de l'arachide sont la viciline (Ara h 1) et l'albumine 2S conglutine (Ara h 2).

**-La viciline Ara h 1 :**

La viciline de l'arachide est responsable de la majorité des cas d'anaphylaxie fatale. Il s'agit d'une glycoprotéine qui possède un seul site de N-glycosylation. Elle a une masse moléculaire comprise entre 63.5 à 65 kDa et un pH isoélectrique de 4.55. Elle représente 12 à 16 % des protéines totales de l'arachide. Elle a une structure tridimensionnelle stable qui joue un rôle primordial dans la protection des épitopes contre la dégradation. Les vingt-trois épitopes de la viciline détectés sont distribués le long de la molécule soit au niveau de la partie protéique ou glycanique. L'analyse de la séquence de la viciline (Ara h 1) montre qu'elle présente une forte homologie avec les autres protéines de réserve de la même famille des globulines 7S. Cet allergène protéique possède un seul résidu de cystéine dans toute la molécule (Mahroug, 2009).

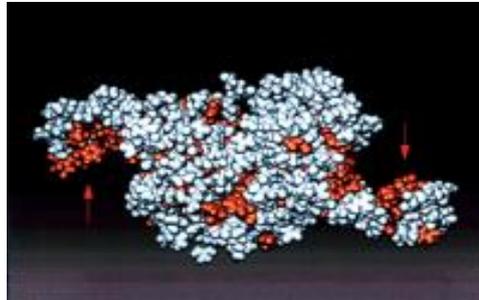


**Figure 9 : Structure tridimensionnelle de la viciline d'arachide Ara h 1 (MALEKI et al. 2000).**

**A** / les hélices alpha sont localisés au niveau des extrémités de chaque monomère. Les trois monomères sont présentés par différentes couleurs. **B**/ la plupart des épitopes, colorés en rouge, sont localisés dans la région de contact entre deux monomères.

La structure tertiaire a quatre domaines : une pelote d'hélice alpha dans une extrémité, deux groupes de feuillet  $\beta$  antiparallèles opposés et une pelote d'hélice alpha dans l'autre extrémité.

opposée. Les interactions hydrophobes sont responsables de la formation de cette structure. Les acides aminés hydrophobes (alanine, isoleucine, leucine, méthionine, phénylalanine, proline, tryptophane, valine) se condensent au niveau des extrémités moléculaires.



**Figure 10:** Localisation des acides aminés hydrophobes dans la structure tertiaire de lacticine Ara h 1 : (Maleki *et al*, 2000).

#### **-Ara h 2**

L'Ara h2 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 kDa. C'est un inhibiteur de la trypsine. Il se compose de deux isoformes Ara h2.0101 et Ara h 2.0201 (Mahroug, 2009).

#### **-Ara h 3**

L'Ara h3 est un allergène majeur. C'est une glycinine de 60 kDa et de pH isoélectrique égal à 5.5. Elle peut être un inhibiteur de la trypsine. Elle se compose de plusieurs polypeptides de 14 à 45 kDa qui sont classés en sous unités acides et basiques. Le caractère allergénique de l'Ara h 3 est dû aux sous unités basiques. Elle possède deux sites de Nglycolysation (Mahroug, 2009).

#### **-Ara h 6**

L'Ara h 6 sont des albumines 2S dont les masses moléculaire sont respectivement 14.5 kDa et 15.8 kDa. Elles sont résistantes à la protéolyse digestive et aux températures supérieures à 100°C (Mahroug, 2009).

## **II. Matériel et méthode**

---

## 1. Matériel

### ✓ **Matières premières**

Les matières premières regroupent : l'œuf de poule, le lait de vache qui provient de la ferme d'El-fedjouj à Guelma et enfin le blé (Hadba) qui est une variété locale de la région de Guelma.

## 2. Méthodes d'analyses

Dans nos analyses, nous avons procédé à trois essais pour l'extraction de chacune de nos protéines.

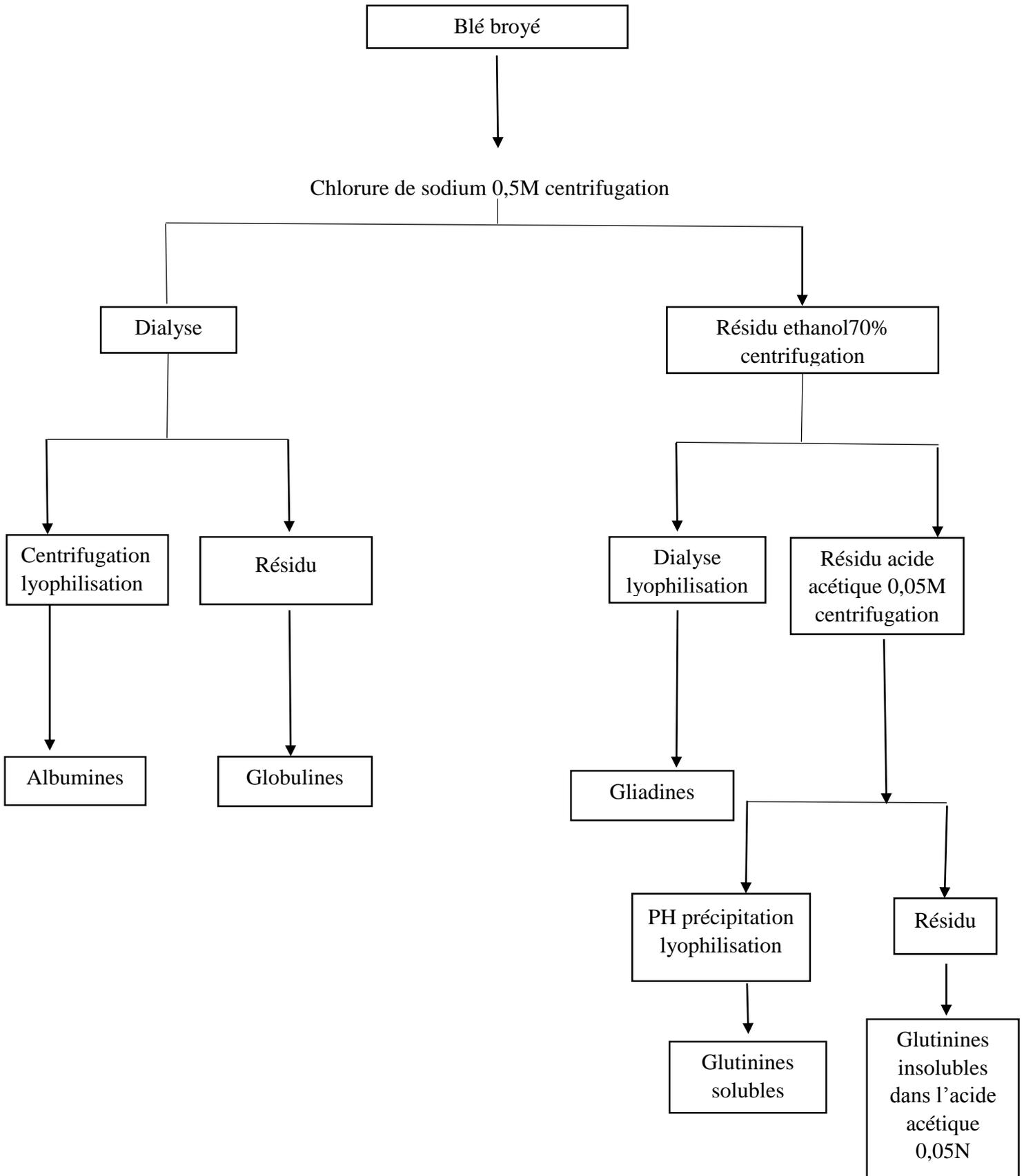
### 2.1. Extraction des protéines allergènes alimentaires

#### 2.1.1 Extraction de la protéine d'origine végétale

##### ➤ **Extraction des protéines du blé**

Notre travail sur l'extraction des gliadines du blé a été réalisé à partir du schéma de fractionnement proposé par Chein et Buschuk, 1970.

50g de blé broyé sont ajoutés à 500ml de Na Cl 0,5 N. la solution est agitée 2 heures et centrifugée à 3000 tours par minute pendant une demi-heure. Ensuite 250ml de Na Cl 0,5N sont ajoutés au culot recueilli. Cette solution est agitée pendant 1 heure et centrifugée à 3000 tours/minute pendant 30 minutes. Au résidu contenant les gliadines sont ajoutés les 150 ml d'éthanol à 70% puis la solution agitée 2 heures et centrifugée à 3000 tours /minute pendant 15 minutes. Le surnageant doit contenir les gliadines solubles. Une dialyse contre l'eau distillée à froid pendant 24 heures permet la récupération des gliadines (voir fig11) (**Souiki, 2000**).



**Figure 11:** Schéma de fractionnement des protéines du blé (Souiki, 2000).

## 2.1.2 Extraction des protéines d'origine animale

### A. Extraction des protéines du blanc d'œuf

#### ➤ L'ovalbumine

250 ml de blanc d'œufs sont dilués dans le même volume d'eau distillée. Puis on agite pendant 10 minutes, ensuite vient la filtration.

100g de sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) sont ajoutés au filtrat. La solution est agitée pendant 1 heure 15 minutes puis centrifugée à 2000 tours/ minute pendant 15 minutes. Le surnageant renferme l'ovalbumine qui est récupéré par chauffage à  $70^\circ \text{C}$ . Une nouvelle centrifugation est effectuée à 2000tours/ minute pendant 15 minutes. L'ovalbumine reste soluble dans le surnageant (Souiki, 2000).

#### ➤ L'ovomucoïde

40 ml du blanc d'œuf sont ajoutés à 240 ml d'eau distillée bouillante légèrement acidifiée avec l'acide acétique préparé à 0,1% ensuite filtrée avec le papier Wattman. Le filtrat renferme l'ovomucoïde qui est récupéré par centrifugation à 2000 tours/minute pendant 15 minutes (Souiki, 2000).

### B. Extraction des protéines du lait de vache

#### ➤ $\beta$ lactoglobuline et $\alpha$ lactalbumine

A 250ml de lait de vache frais chauffé à  $40^\circ \text{C}$  sont ajoutés 50 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Après dissolution du sel et lorsque la température descend à  $25^\circ \text{C}$ , la solution est filtrée. Le filtrat contient des lactalbumines. A 150ml du filtrat, nous ajoutons 1,5ml de l'acide chlorhydrique concentré en agitant énergiquement. A pH voisin de 2,  $\alpha$  lactalbumine forme un précipité renfermant d'autres protéines. Le  $\beta$  lactoglobuline reste en solution. Le précipité et le  $\beta$  lactoglobuline sont séparés par centrifugation à 2000tours /minute pendant 15 minutes. Le précipité contenant l' $\alpha$  lactalbumine et les diverses protéines dont la sérum albumine peu de  $\beta$  lactoglobuline est dissout dans 15 ml d'ammoniac dilué. Le volume final doit être égal au 1/10 du filtrat. Le pH de la solution est ramené à 3.5 avec de l'acide chlorhydrique 0,1N. La  $\beta$  lactoglobuline restant en solution est récupérée par centrifugation à 2000tours/ minute pendant 15 minutes. Le précipité est dissout dans un volume d'ammoniac dilué égal au quart du volume précédent. Le pH de la solution est ramené à 4 avec l'acide chlorhydrique 0,1N. Placer pendant une nuit dans le réfrigérateur l' $\alpha$  lactalbumine sédimenté seul en formant le culot, celui-ci est récupéré par centrifugation à 2000tours/minute pendant 20 minutes (Souiki, 2000).

## 2.2-Détermination du pH isoélectrique des protéines allergènes

### 2.2.1- Détermination du pH isoélectrique des protéines d'origine animale

Le pH isoélectrique des protéines solubles ( $\beta$  lactoglobuline,  $\alpha$  lactalbumine, l'ovalbumine, l'ovomucoïde) a été déterminé par titrage avec l'acide chlorhydrique 0,5N ou L'hydroxyde de sodium 0.5N.

### 2.2.2-Détermination du pH isoélectrique des protéines d'origine végétale

Le pH isoélectrique des protéines solubles (gliadines) a été déterminé par titrage avec l'acide chlorhydrique 0,5N.

## 2.3-Dosage des protéines totales des aliments

### 2.3.1-Dosage des protéines totales du lait de vache et du blanc d'œuf par la méthode de SORENSEN

Elle est basée sur le dosage des protéines par titrage à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N.

### 2.3.2-Dosage protéique du lait

#### ➤ Dosage de la $\beta$ lactoglobuline, $\alpha$ lactalbumine

Pour le dosage du lait, il a été réalisé par la méthode de SORENSEN. La prise d'essai des solutions protéiques est de 5ml.

1ml de phénol phtaléine 0,1% est ajouté à 0,4ml d'oxalate de potassium et à 5ml de l'échantillon à analyser .la solution est laissée au repos pendant 10 minutes.

Ensuite titrer avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une coloration rose claire. Ajouter 2ml de formol au mélange et la coloration rose disparaît et le milieu devient acide.

Titre à nouveau avec l'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'au retour de la coloration rose. La quantité de NaOH 0,1N est notée N. une expérience témoin est réalisée en même temps avec l'eau distillée ou N'est la quantité de NaOH.

Nous avons obtenu le taux de protéines à travers la formule  $P = (N - N') \cdot 1,14$  dans laquelle P représente le pourcentage de taux de protéines, N la quantité de NaOH et N' la quantité de NaOH dans l'expérience témoin.

$$P\% = |N - N^0| \cdot 1.14$$

### 2.3.3-Dosage protéique des œufs

Nous avons utilisé la même méthode que celle du lait de vache.

## 2.4- Dosage des protéines totales du blé

### 2.4.1- Dosage des gliadines par la méthode de Bradford

Les protéines sont dosées selon la méthode de Bradford.

La méthode de Bradford est une méthode d'analyse spectroscopique utilisée pour mesurer la concentration des protéines en solution. La méthode utilise la liaison Bradford du bleu de Coomassie G 250 aux protéines. Lorsque cette teinture se lie aux acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés, la forme rouge est convertie à la forme bleue et le maximum d'absorption du colorant passe de 465 nm à 595 nm. La liaison est très rapide et reproductible.

### 2.4.2 -Préparation du réactif de Bradford

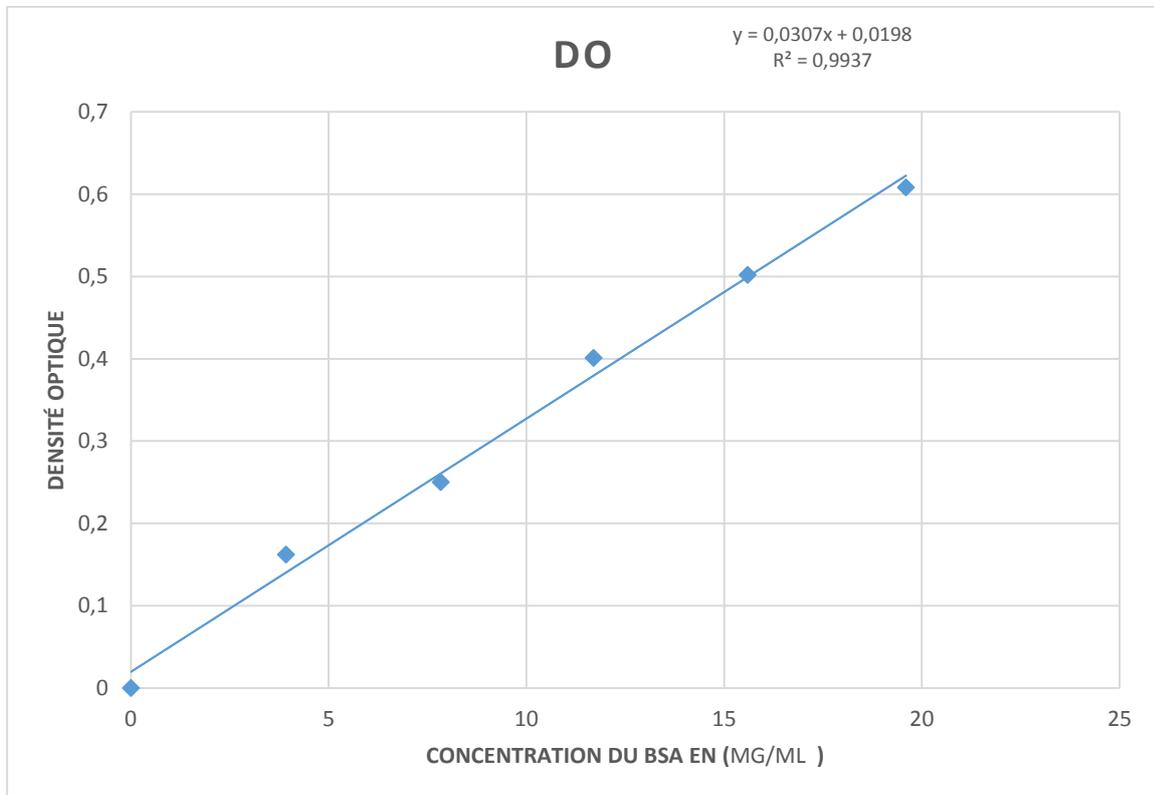
100 mg de bleu de Coomassie G-250 sont ajoutés à 50 ml d'éthanol à 95%. 100ml d'acide ortho phosphorique concentré à 85% sont ajoutés après 2 heures d'agitation magnétique et le volume est ajusté à 1l avec l'eau distillée. La solution est filtrée par filtration sous vide et conservée à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

## 1- Réalisation de la courbe d'étalonnage

Une solution mère de sérum bovine albumine de 1mg/ml est préparée au préalable. À partir de cette solution sont aussi préparées des solutions croissantes : 0 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1mg/ml. 50µl de chacune de ces solutions sont ajoutées à 2,5ml du réactif de Bradford. La densité optique est lue à  $\lambda = 595\text{nm}$  après 5 minutes de réaction.

**Tableau 2 :** Concentrations des solutions de sérum d'albumine bovine (BSA).

Concentration du BSA en ( $\mu\text{g/ml}$ )	0	3.92	7.84	11.7	15.6	19.6
Densité optique	0	0,162	0,25	0,40	0,50	0,608



**Figure 12:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

La figure 12 représente la courbe d'étalonnage du dosage des protéines par spectrométrie. L'équation sur la courbe  $y = 0,0307x + 0,0198$  nous permet de déterminer la teneur en protéine. Cette teneur est exprimée en  $\mu\text{g/ml}$ .

Le taux de protéines par rapport au poids sec, est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux de protéines (\%)} = \frac{V \times 2.55 \times C}{0.05 \times (100 - H\%) \times M} \times 100$$

**V** : volume de la solution de la protéine allergène (ml)

**2,55** : volume final dans la cuve (ml)

**C** : concentration de l'essai ( $\mu\text{g/ml}$ )

**0,05** : volume prélevé de la solution protéique

**H%** : teneur en eau de la protéine allergène (%)

**M** : masse de la protéine allergène solubilisée dans le volume ( $\mu\text{g}$ )

### **III-Résultats et discussion**

---

## Résultats et discussion

---

Les résultats obtenus sont représentés respectivement dans le tableau N° 1. Il représente les valeurs moyennes du pH et du pHi des différentes protéines allergènes.

Pour les gliadines du blé, les valeurs de pH de la solution extraite sont comprises dans l'intervalle [6,45 à 10,31] avec une moyenne de 8,76 et celles du pHi dans l'intervalle [3,29 ; 3,55] avec une moyenne de 3,40. Cette valeur moyenne de pHi des gliadines du blé se traduit par l'implication de la dominance des radicaux acides de certains acides aminés dans la molécule de la gliadine tels que l'acide glutamique et l'acide aspartique.

Dans le cas de l'ovomucoïde, les valeurs de pH de la solution extraite se trouvent dans l'intervalle [8,56 ; 8,74] de moyenne égale à 8,66 et celles du pHi dans l'intervalle [3,78 ; 5,09] pour une moyenne de 4,35. La valeur du pHi est conforme aux résultats publiés par Claudia, (2006) qui révèle que le pHi de l'ovomucoïde varie entre 3,9 et 4,3.

Par rapport à l'ovalbumine, les valeurs de pH de la solution extraite se trouvent dans l'intervalle [8,5 ; 9,38] dont la moyenne est de 9,02 et celles du pHi dans l'intervalle de [3,90 ; 4,42] de moyenne 4,16. D'après Nisbet et *al* (1981), l'ovalbumine est un monomère, une phosphoglycoprotéine globulaire de point isoélectrique de 4,5. Dans notre cas les valeurs de pHi se situent entre 3,90 et 4,42 ce qui n'est pas conforme avec les données de Nisbet et *al*, (1981). Cela peut être dû par l'impureté de notre extrait.

Les valeurs du pH de la solution extraite pour la  $\beta$  lactoglobuline se situent dans l'intervalle [2,06 ; 3,45] pour une moyenne de 2,94. Le pHi est compris dans l'intervalle [3,87 ; 4,05] pour une moyenne de 3,97. Ces résultats sont conformes avec les travaux réalisés par Bouchair et *al*, (2007).

Dans le cas de l' $\alpha$  lactalbumines, les valeurs du pH de la solution extraite se trouvent dans l'intervalle [3,55 ; 3,62] pour une moyenne de 3,58. Les valeurs pour le pHi se trouvent dans l'intervalle [3,88 ; 4] pour une moyenne de 3,95 (voir tab 1). Par ailleurs DAUFIN et *al* (2000) dans leurs travaux situent la précipitation sélective de l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -LA) à un pH autour de 4.2 quand elle est sous traitement thermique. Nos résultats diffèrent des leurs ce qui peut s'expliquer par le fait de deux protocoles de précipitation différents.

D'autre part les protéines allergènes du lait de vache ( $\alpha$  lactalbumines,  $\beta$  lactoglobuline) sont caractérisées par une valeur moyenne de pHi de 3.96 situé entre le pHi de la gliadine du blé et celui des protéines du blanc d'œuf ce qui nous permet de déduire qu'il y a présence de séquences peptidiques communes entre ces protéines.

Toutes les protéines ont un pHi acide inférieur à 5. Elles ont la même forme d'ionisation. Cette dernière s'explique par la structure protéique. Selon MAHROUG (2010), lorsque le taux de protéines est important la fraction glucidique est faible et le pHi de la protéine est acide. Dans notre cas les protéines allergènes étudiées présentent une moyenne de PHi de 3.9, cette valeur acide peut traduire la résistance des protéines allergènes après ingestion.

**Tableau 3 :** les valeurs moyennes de pH du milieu et du pHi des différentes protéines allergènes extraites

Protéines allergènes	pH du milieu	pHi
<b>Gliadines</b>	<b>8,76 ± 2,04</b>	<b>3,40 ± 0,1332</b>
<b>Ovomucoïde</b>	<b>8,66 ± 0,0945</b>	<b>4,35 ± 0,671</b>
<b>ovalbumine</b>	<b>9,02 ± 0,463</b>	<b>4,16 ± 0,260</b>
<b><math>\beta</math> lactoglobuline</b>	<b>2,94 ± 0,770</b>	<b>3,97 ± 0,0945</b>
<b><math>\alpha</math> lactalbumine</b>	<b>3,58 ± 0,0351</b>	<b>3,95 ± 0,0624</b>

Les teneurs en protéines dans le blé se situent dans l'intervalle [15,6 ; 16,91] pour une moyenne de 16,48 $\mu$ g/ml, il n'y a pas de résultats en concentration car la plupart des résultats sont en pourcentage ce qui a rendu difficile la comparaison de notre travail avec des recherches précédentes. Le calcul de l'humidité n'a pas pu être effectué à cause du manque de matériel c'est pour cela qu'on n'a pas pu trouver le taux de protéines.

Les teneurs en protéines des différents allergènes d'origine animale sont représentées dans le tableau 2.

Les valeurs de la teneur en protéine se trouvent dans l'intervalle [0,34 ; 0,79] avec une moyenne de 0,60 pour l'ovomucoïde du blanc d'œuf

Pour l'ovalbumine ; les valeurs protéiques des trois essais sont comprises dans l'intervalle [0,68 ; 1,368] de moyenne égale à 0,98 (voir tab 2). Dans nos résultats du dosage protéique de l'ovomucoïde et de l'ovalbumine de l'œuf, les valeurs moyennes du taux protéique sont respectivement égales à 0,60% et 0,98%, nous remarquons un plus grand taux chez l'ovalbumine que chez l'ovomucoïde. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que le blanc d'œuf contient plus d'ovalbumine que d'ovomucoïde.

Par rapport à la  $\beta$  lactoglobuline, les valeurs protéiques des trois essais se trouvent dans l'intervalle [6,98 ; 7,37] dont la valeur moyenne est de **7,15**.

Dans le cas de l' $\alpha$  lactalbumine, les taux protéiques se situent dans l'intervalle [1,8 ; 2,4] pour la valeur moyenne de 2,25.

Pour le dosage des protéines du lait, la valeur moyenne obtenue pour la  $\beta$  lactoglobuline est de 7.15% et pour l' $\alpha$  lactalbumine est de 2,25%, ces résultats sont dus à la dominance de la  $\beta$  lactoglobuline par rapport à l' $\alpha$  lactalbumine dans le lait de vache. Selon BRUNNER, (1981) cité par POUGHEON, (2001) dans la classification des protéines la composition moyenne en protéine de la  $\beta$  lactoglobuline varie entre 7 à 12% et l' $\alpha$  lactalbumine se situe de 2 à 5%. En comparant leurs résultats avec les nôtres, nous constatons qu'ils sont en accord.

**Tableau 4** : valeurs moyennes de la teneur en protéines des protéines allergènes d'origine animale extraites

<b>Protéines allergènes</b>	<b>Teneur en protéines (en P%)</b>
Ovomucoïde	$0,60 \pm 0,235$
Ovalbumine	$0,98 \pm 0,350$
$\beta$ lactoglobuline	$7,15 \pm 0,199$
$\alpha$ lactalbumine	$2,25 \pm 0,397$

## CONCLUSION

Le blé, le lait de vache et l'œuf de poule font partie des aliments les plus incriminés en allergie alimentaire. Leurs protéines sont responsables des réactions d'hypersensibilité.

Les gliadines du blé ; l'ovomucoïde et l'ovalbumine du blanc d'œuf ; la  $\beta$  lactoglobuline et l' $\alpha$  lactalbumine du lait de vache ont été extraites. Ensuite leur pH isoélectrique a été déterminé, les valeurs obtenues ont été respectivement de : 3.40-3.35-4.16-3.97-3.95.

On a remarqué que les protéines allergènes possèdent en générale un point isoélectrique acide. Le pHi acide est l'un des facteurs qui caractérise les protéines allergènes incriminés dans l'allergie alimentaire.

Les extraits obtenus révèlent des valeurs protéiques différentes à savoir 16.48 $\mu$ g/ml pour les gliadines, 0.60% pour l'ovomucoïde, 0.98% pour l'ovalbumine, 7.15% pour  $\beta$  lactoglobuline et 2.25% pour  $\alpha$  lactalbumine.

L'étude des protéines allergènes et leur caractérisation permet une meilleure compréhension de leurs propriétés physico chimiques. Le travail sur cette thématique ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la biochimie appliquée, la nutrition, la santé et l'industrie alimentaire.

Le travail sur ces protéines ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la biochimie et de la sécurité alimentaire.

## Références bibliographiques

**Abdellaoui k**, l'Allergie aux protéines du lait de vache chez le nourrisson, Fès, université sidi Mohammed ben Abdellah, thèse doctorat, 2010, 24-25p .

**Averty E**, Allergies alimentaires chez l'enfant : Fiches conseils destinées au pharmacien d'officine, Nantes, université de Nantes, thèse doctorat, 2017,50-51p.

**Amel M**, étude d'une formule infantile a baes des protéines hydrolysées du riz, mémoire, Oran, université Oran Es sénia, 2012, 1-2p.

**Ana Cláudia C.A**, albumen protein and functional properties, sp - brasil, 2006.

**Bouchair M, djagout L et Mebarki M**, Caractérisation de certaines protéines allergènes alimentaires (gliadines du blé, hordéines de l'orge, ovalbumine et ovomucoïde du blanc d'œuf,  $\beta$  lactoglobuline du lait de vache et la protéine M de poisson), Guelma, Université 08 Mai 1945 de GUELMA, 2007.

**Bergeron D**, les anticorps et leur fonction-structure de base d'une immunoglobuline, Ottawa, université d'Ottawa, 2016,3p.

**Baixes A**, l'allergie aux protéines de lait de vache chez le nourrisson, Nantes, université de Nantes, thèse, 2016,31p.

**Bentenni, A.**, Allergie : caractérisation, détection et aspects législatifs dans le cadre alimentaire, Mostaganem, 2013, 02-03p.

**Boudraa G**, Allergie chez l'enfant XIIème congres de pediatrie.SPO, 2015.

**Bouquelet S**, Protéines alimentaires, Lille, Université des Sciences et Technologies de Lille, cours, 2016.

**Bradford, M.M.** "A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Dye Binding." Analytical Biochemistry. 1976, 72, 248–254p.

**Brunner J.**, (1981) Cow milk proteins twenty-five years of progress. J dairy Sci, 1981,64: 1038-1054. In **Pougheon S.**, Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et

ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France ; 31 102p .

**Carine d, Sebastien L.V, Ambroise M.** Allergie alimentaire : état de lieu et proposition d'orientation. AFSSA. 2002,8-18-22p.

**Claude M,** Agrégation thermique de l'ovalbumine et modulation de l'allergénicité, Université Bretagne Loire, mémoire doctorat, 2016,35p.

**Dano D,** Contribution à la diététique diagnostique et thérapeutique de l'allergie alimentaire, Lorraine, université de Lorraine, 2015,17p

**Diabi F.Z, Diboun K,** allergie aux protéines de lait de vache Tlemcen, université Abou Bekr Belkaid, thèse doctorat, 2013,8p .

**Daufin G, Bramaud C, Aïmar P,** Whey protein fractionation: Isoelectric precipitation of  $\alpha$ -lactalbumin under gentle heat treatment, National Institute for Agronomic Research, Dairy Research Laboratory, France,2000.

**El Mecherfi K,** Evaluation de l'immunoréactivité et de l'allergénicité des lactoprotéines bovines après hydrolyse enzymatique combinée à un traitement micro-ondes. Intérêt des biopuces a allergènes dans la multi-détection des réponses IgE spécifiques chez des enfants poly sensibilisés aux protéines du lait de vache, Oran, université d'Oran, 22p.

**Battais f, Richard C, Leduc V.,** Les allergènes du grain de blé, France, Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique, 2007,171-174p.

**Ghaoues S,** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien, Constantine, Université MENTOURI – Constantine, mémoire, 08p.

**Jonathan A, Bruno J,** les allergies alimentaires : exemple de l'allergie à l'œuf, Créteil, université Créteil, mémoire, 2005, 21p .

**Lafitedupont A,** les protéines du lait de vache : Aspect nutritionnel et allergie alimentaire, Limoges, université de Limoges, thèse, 2011,80- 81-83p.

**Lifrani A**, Etude du risque allergique à différentes protéines alimentaires : mise au point de modèle de souris allergiques à l'arachide, à l'albumine à la caséine et à la colle de poisson, Institut National Agronomique, Paris-Grignon ; 2006. 48-123 P

**Latreche A**. L'approche diagnostic de l'allergie alimentaire dans l'Est Algérien, Constantine, Université Mentouri, Constantine. 2009. 17-32-33-94p

**Lazar L**, Effet de l'alimentation de la vache sur la qualité du lait, Tlemcen, Université de Tlemcen, mémoire, 2013,05p

**Mondoulet L**, Diversité de la réponse IgE dans l'allergie a l'arachide. Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermique et des processus digestifs .Thèse de doctorat .Toulouse : INSA Toulouse. 2005 ; 11-12-18-24p.

**Mahroug H**, contribution à l'étude de certaines protéines allergènes d'origine végétale et détermination de relations entre différents paramètres physicochimiques, Constantine, université Mentouri Constantine, mémoire magistère, 2010,4-5-33-34p

**Metioui S**, Allergie aux protéines lait de vache, Tlemcen, université Abou Bekr Belkaid, thèse doctorat, 2016,31-31p

**Maleki S.J. ,Kopper R.A. ,David S.D.S. ,Park C.W. ,Compadre C.M. ,Sampson H. , Burks A.W. ,Bannon G.A. ;** Structure of the Major Peanut Allergen Ara h 1 May Protect IgE Binding Epitopes from Degradation .Journal.Immunol, 2000 ,5847p.

**Mizrahi S, S. Beaufils, G. Briand, Q. Amosse, G. Paboeuf**, Multicouches interfaciales de solutions de protéines révélatrices des interactions attractives en bulk, 2006,4p

**Negaoui-Belarbi H**, Etude de pouvoir allergisant de la lactoferrine chez les souris Balb /c, Oran, université d'Oran, thèse doctorat

**Nancey S, Gilles B, Bernard F**, Allergie et intolérance alimentaire chez l'adulte, 2013,165p  
Nisbet, A.D.; Saundry, R.H.; Moir, A.J.; Fothergill, L.A.; Fothergill, J.E, the complete amino-acid sequence of hen ovalbumin, European Journal of Biochemistry, v.115, p.335-345, 1981

**Pascal E**, Allergies et intolérances en implantologie de l'Attestation d'Etude et de Recherche Approfondies en Implantologie Orale, Bordeaux, université de bordeaux II, 2005,4-5p

**Rance F, Guy D** ; Épidémiologie des allergies alimentaires, 2007,15p

**Rommel S**, Hypersensibilité alimentaire allergique chez l'enfant : Diagnostique, traitement et conseils du pharmacien, Limoges, université de limoges, thèse doctorat, 2012,42-62p

**Raffard M**, Allergènes, Paris, Centre Médical de l'Institut Pasteur, 2009,63p

**Redouane D**, Hydrolyse trypsique et chymotrypsique du lait de chamelle. Réponse de souris Balb/c sensibilisé par voie orale au lait de vache après provocation orale par le lait de chamelle, Oran, université d'Oran Es sénia, 2008,6-7p

**Sellate Y**, Contribution à l'étude des allergènes alimentaires à travers l'analyse de la littérature de récente, thèse doctorat, Rabat, UNIVERSITE MOHAMMED DE RABAT, 2015,91-92p

**Souiki L**, Contribution à l'extraction et à la caractérisation de certaines protéines allergènes d'origine alimentaire, thèse magister, Annaba, université Badji Mokhtar, 2000, 70p

**Schweizer U; Schomburg L**; Savaskan, the Neurobiology of Selenium: Lessons from Transgenic Mice

**Teste B**, Développement d'un microsystème bioanalytique intégrant des nanoparticules magnétiques dédié au diagnostic de l'allergie, paris, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 2011,29-30p

**Teissier T, Madet N**, les allergies alimentaires : cas d'allergie aux céréales, paris, université de paris Val de marne, mémoire maitrise, 2004,16-6p.

**Vanessa C**, Préparations allergologiques pour intradermoréaction au CHU de Nancy Détermination du coût direct lié à la fabrication par la pharmacie à usage intérieur, thèse doctorat, Lorraine, Université de lorraine, 2014, 22-23p

**Wal Jean M**, Structures des protéines impliquées dans les allergies alimentaires, France, cahiers agricultures, laboratoire d'immunoallergie alimentaire, INRA –CEA de pharmacologie d'immunologie, 1996,405p

**Wal J.-M**, Allergénicité des protéines laitières, Laboratoire d'Immuno-Allergie Alimentaire, INRA-CEA Service de Pharmacologie et d'Immunologie, CEA de Saclay, 2011,32p

**Yamina K**, Evaluation de l'immunoréactivité des lactoprotéines bovines après hydrolyse enzymatique trypsique, chytropsique et pepsique, combinée à un traitement micro-ondes par test ELISA compétitif, Oran, Université Oran, 2012,7p

**Zappa M**, le traitement de l'allergie par immunothérapie spécifique, Limoges, université de Limoges ,14p.

### Webographie

[1], Qu'est-ce que c'est qu'une allergie alimentaire, Olivier Aubrun (30 novembre 2017) [online].

<https://oaformation.com/quest-cest-quune-allergie-faite/>(Consultation le 25/02/2018).

[2] Traitement naturel des allergies par les plantes médicinales [online].

<https://www.phyto-soins.com/content/12-allergie>(Consultation le 03/03/2018).

[3] ANTIGEN [online]

<https://steemkr.com/biology/@geeboy/antigen>(Consultation le 22/03/2018).

[4] Alpha-lactalbumine (25 octobre 2016) [online]

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Alpha-lactalbumine> (Consultation le 24/03/2018).

[5] Protéines alimentaires : la caséine alpha S1 [online]

[http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4\\_II\\_a.html](http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4_II_a.html)(Consultation le 06/04/2018).

[6] Protéines alimentaires : la caséine alpha S2 [online].

[http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4\\_II\\_b.html](http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4_II_b.html)(Consultation le 07 /04/2018).

[7] Protéines alimentaires : la caséine beta [online].

[http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4\\_II\\_c.html](http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4_II_c.html)(Consultation le 15/04/2018).

[8] Protéines alimentaires : la caséine kappa [online].

[http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4\\_II\\_d.html](http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4_II_d.html)(Consultation le 26/04/2018).

[9] Ovalbumine (23 avril 2017) [online].

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Ovalbumine>(consultation le 03/06/2018).

[10] Allergie a l'arachide (18 juin 2018) [online].

<http://www.cirha.org/index.php/allergies-et-intolerances/l-allergie-a-l-arachide> (consultation le 04 /06/2018).

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>I. Généralités</b> .....	<b>2</b>
<b>1. Allergie</b> .....	<b>3</b>
<b>2. La classification de Gell et Coombs</b> .....	<b>3</b>
<b>3. Allergie alimentaire</b> .....	<b>5</b>
<b>3.1 Définition</b> .....	<b>5</b>
<b>3.2. Mécanisme</b> .....	<b>5</b>
<b>3.2.1 La sensibilisation</b> : .....	<b>5</b>
<b>3.2.2 Phase de déclenchement</b> : .....	<b>6</b>
<b>3.3. Manifestations cliniques</b> .....	<b>7</b>
<b>3.4. Diagnostic</b> .....	<b>7</b>
<b>3.4.1 Les tests <i>in vivo</i></b> : .....	<b>8</b>
<b>3.4.2 Les tests <i>in vitro</i></b> : .....	<b>9</b>
<b>3.5.1 Traitement préventif</b> .....	<b>10</b>
<b>3.5.2 Traitement du choc anaphylactique</b> .....	<b>10</b>
<b>4. L'intolérance alimentaire</b> .....	<b>11</b>
<b>5. La fausse allergie alimentaire</b> .....	<b>11</b>
<b>6. Réactions croisées</b> .....	<b>11</b>
<b>8. Etude épidémiologique en Algérie</b> .....	<b>12</b>
<b>9. Caractéristiques des allergènes alimentaires</b> .....	<b>13</b>
<b>9.1. Types d'allergènes</b> .....	<b>13</b>
<b>9.2. Structure et fonction des allergènes</b> .....	<b>14</b>
<b>9.3 Allergènes croisant</b> .....	<b>15</b>
<b>9.4. Les allergènes majeurs d'origine animale</b> .....	<b>16</b>
<b>9.4.1 L'allergie au lait de vache</b> .....	<b>16</b>
<b>9.4.2 L'allergie à l'œuf de poule</b> .....	<b>22</b>
<b>9.4.3 L'allergie au poisson</b> .....	<b>24</b>
<b>9.5. Les allergènes majeurs d'origine végétale</b> .....	<b>24</b>
<b>9.5.1 L'allergie au blé</b> .....	<b>24</b>
<b>9.5.2 L'allergie à l'arachide</b> .....	<b>25</b>

<b>II. Matériel et méthode .....</b>	<b>28</b>
<b>1. Matériel.....</b>	<b>29</b>
<b>2. Méthodes d'analyses .....</b>	<b>29</b>
2.1. Extraction des protéines allergènes alimentaires .....	29
2.1.1 Extraction de la protéine d'origine végétale .....	29
2.1.2 Extraction des protéines d'origine animale.....	31
2.2-Détermination du pH isoélectrique des protéines allergènes .....	32
2.2.1- Détermination du pH isoélectrique des protéines d'origine animale .....	32
2.2.2-Détermination du pH isoélectrique des protéines d'origine végétale .....	32
2.3-Dosage des protéines totales des aliments .....	32
2.3.1-Dosage des protéines totales du lait de vache et du blanc d'œuf par la méthode de SORENSEN .....	32
2.3.2-Dosage protéique du lait .....	32
➤ Dosage de la $\beta$ lactoglobuline, $\alpha$ lactalbumine .....	32
2.3.3-Dosage protéique des œufs .....	33
2.4- Dosage des protéines totales du blé.....	33
2.4.1- Dosage des gliadines par la méthode de Bradford .....	33
2.4.2 -Préparation du réactif de Bradford.....	33
1- Réalisation de la courbe d'étalonnage.....	33
<b>III-Résultats et discussion.....</b>	<b>36</b>
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>42</b>





