

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

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



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

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

Thème

Contribution à l'étude des protéines allergènes de
l'arachide et détermination des différents
paramètres physicochimiques

Présenté par :

*HASNAOUI Meriem

*SAADEDDINE Meriem

Devant le jury composé de :

Président : M. BENOURETH Djamel Eddine (Pr.)

Examinatrice : M^{me}. BRAIK Assma (M.A.B)

- Encadreur : M^{me}. AYED Hayette (M.A.B)

Juin 2011

Dédicaces

A mes parents

A toute ma famille

Et à tous mes amis

MERIEM

Remerciement

Au nom de dieu clément et

Miséricordieux le plus grand merci lui

Revient de nous avoir aidés tout au long de nos études, et de

Nous avoir aidés a réalisée ce travail

Nous tenons à exprimer notre respectueux remerciement,

Et profonde reconnaissance à notre encadreur Madame

Ayed Hayette ; qui nous a orienté et conseillé tout au long de travail,

Qu'elle soit vivement remerciée

Nous remercierons également les membres de jury

Monsieur Benoureth Djamel Eddine qui nous a inspiré le sujet de ce modeste mémoire

Et Madame Braik Assma qui nous on a fait L'honneur de jurer notre travail.

L'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre

Formation durant ces 05 dernières années.

Et tous qui nous ont aidés de près ou de loin pour réaliser ce travail

Meriem et Meriem

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A MON PERE : qui a consacré tout son existence pour bâtir la mienne, qui a tant consenti de

Sacrifices et de dévouement afin que je puisse embrasser cette carrière

Et qui me soit permis de lui offrir ce modeste travail en

Témoignage de ma gratitude et mon profond amour.

A MA MERE ET MA GRAND MERE : en reconnaissance de leur amour et de leur tendresse

Qu'elles m'ont toujours porté, qu'elles trouvent en cet ouvrage l'expression de

Ma gratitude et de mon affection et que dieu leur procure de santé et bonheur.

AMES ADORABLE FRERES : MOUHAMEDEL AMINE, YAZID

AMES SCEURS : FATIHA, MOUFIDA, NESSMA, et la fleur de ma vie DOUNIA

Les maris de mes sœurs HAIDER, WAHID

A LA CLAIRANCE DE MES YEUX: MOUHAMED TAJ EL DINE, AMIRA

A MON ONCLE : ALL, SA FEMME, SES ENFANTS

AMES TANTES, LEURS MARIS, LEURS ENFANTS

A MES AMIS : KENZA, AFAF, SOUMIA, RAHMA, SOULEF, MERIEM

*A tous les amis et mes camarades de promotion, à toute personne ayant participé de près ou de loin
à la réalisation de ce modeste travail*

Meriem Saadeddine

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1- L'allergie

I-1-1- Historique

I-1-2- Définition et classification

I-1-2-1- Allergie de type I

I-1-2-2- Allergie de type II

I-1-2-3- Allergie de type III

I-1-2-4- Allergie de type IV

I-2- Allergie alimentaire

I-2-1- Définition

I-2-2- Mécanisme

A) Phase de sensibilisation

B) Phase de déclenchement

I-2-3- Symptômes

I-2-4- Traitement

I-2-5- Epidémiologie

I-2-5-1- Epidémiologie des allergies alimentaires

I-2-5-2- Les facteurs de risque

I-2-5-3- Les facteurs liés à l'individu

I-2-5-4- Les facteurs liés à l'environnement

I-3- Biochimie des principales protéines allergènes alimentaires d'origine végétale

I-3-1- Définition et nomenclature

I-3-2- Caractéristiques générales

I-3-3- Classification

I-3-3-1- La superfamille des cupines

I-3-3-2- La superfamille des prolamines

I-3-3-3- La superfamille de papaines de protéinases cystéines

SOMMAIRE

I-3-4- Les protéines allergènes d'arachide

I-3-4-1- l'arachide

I-3-4-2- Les protéines d'arachide

I-3-4-3- Les allergènes identifiés de l'arachide

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODE D'ANALYSE

II-1- Description du matériel biologique

II-2- Préparation du tourteau de l'arachide

II-3- Extraction des protéines allergènes de l'arachide

II-3- 1- Fractionnement d'Osborne

II-4- Détermination des différents paramètres physicochimiques

II-4-1- Détermination du taux d'humidité

II-4-2- Détermination du taux de cendres

II-4-3- Détermination de la température de dénaturation

II-4-4- Détermination de PH isoélectrique

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RESUME

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I-1	Classification de Gell et Coombs (1963) des phénomènes allergiques	05
I-2	Les principales réactions allergiques cliniques	09
I-3	Les allergènes d'origine végétale	15
I-4	Caractéristiques des allergènes de l'arachide	26
III-1	Résultats de taux d'humidité et de cendres des protéines allergènes de l'arachide	33
III-2	Résultats des températures de dénaturation et des PHI des protéines allergènes de l'arachide	33

Produced with Scantopdf

INTRODUCTION

Produced with www.scantopdf.eu

INTRODUCTION

L'allergie est une réaction excessive du corps à une substance habituellement inoffensive.

Les protéines alimentaires d'origine végétale occupent une grande part dans l'alimentation humaine même si elles ont une valeur biologique moins importante que celle des protéines d'origine animale. Cependant, certaines protéines végétales sont capables de provoquer des réactions immunologiques indésirables chez les individus atopiques en produisant les IgE manifestations cliniques dont l'anaphylaxie est la forme la plus grave. Le nombre de ces protéines allergènes est en augmentation ces dernières années. Cela est dû à plusieurs facteurs dont les changements des habitudes alimentaires, l'introduction d'aliments exotiques, l'utilisation intense des protéines comme additifs alimentaires dans les produits manufacturés, les modifications liées au stockage et la création d'aliments transgéniques.

Ces protéines allergènes végétales peuvent être caractérisées par des paramètres physicochimiques tel que le taux de protéines, le taux de glucides, le pH isoélectrique, la teneur en eau et la température de dénaturation. La recherche de relations entre ces paramètres permet de comprendre le rôle de chaque paramètre, son importance et son influence. Elles sont généralement des glycoprotéines de faibles poids moléculaire et possèdent un pH isoélectrique acide. En plus, elles sont caractérisées par la résistance à la chaleur et à la protéolyse. Cela explique leur allergénicité même après cuisson et digestion gastrique, ce qui facilite leur passage, sous la forme native, dans le sang et donc la capacité de se lier aux IgE spécifiques.

La diminution ou la suppression de l'allergénicité des différentes protéines allergènes de l'arachide ou des autres aliments allergiques est possible grâce à la biotechnologie et aux traitements industriels. De nombreuses études ont été réalisées pour créer des aliments hypoallergéniques. Un groupe de chercheurs japonais a réussi de réduire la quantité de la globuline allergénique contenue dans le riz en insérant le DNA antisens de DNA codant pour cet allergène.

INTRODUCTION

L'objectif de ce travail de mémoire était de :

- Extraire les familles des protéines allergènes d'arachides à savoir : les albumines, les globulines ; les prolamines et les gluténines.
- Déterminer le PH isoélectrique et la température de dénaturation de ces fractions.
- Ce manuscrit comporte 2 parties : une partie d'étude bibliographique et la 2^{ème} partie est consacrée pour les procédures expérimentales ainsi que les résultats et les discussions.

Produced with ScanTOPDF

CHAPITRE I

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

Produced with Scantopdf

I-Etude bibliographique:**I-1- Allergie****I-1-1- Historique**

L'allergie constitue un problème de santé à l'échelle mondiale. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) elle occupe le quatrième rang parmi les maladies mondiales [1]. En effet, le premier allergique connu aurait été Mènes, Pharaon de la 1ère dynastie en l'an 2650 avant JC. Allergique au venin d'Hyménoptère, il serait mort à la suite d'une piqûre de guêpe. Des personnages célèbres, tels qu'Hippocrate (cinquième siècle avant Jésus-Christ quand Hippocrate) et Galen (second siècle après JC.) ont reconnu que le lait de vache ou de chèvre pouvait causer des troubles digestifs et de l'urticaire. Le début du 20ème siècle pour que le phénomène d'anaphylaxie soit décrit et que l'allergie soit clairement défini.

En 1902, les Français Richet et Portier ont décrit l'induction expérimentale d'une hypersensibilité fatale chez le chien. Leurs expériences ont porté sur l'administration successive à un chien de doses non toxiques de venin d'anémones de mer dans un but de désensibilisation préventive. Cependant, lors de l'injection d'une faible dose de poison, l'animal a bien supporté l'agression mais quelques semaines plus tard, lors de la réinjection de la même dose de poison et contrairement aux prévisions, l'animal a réagit violemment et était mort. Pour ce phénomène reproductible, ils proposèrent alors le terme d'anaphylaxie, dérivé des mots grecs « ana » pour contraire et « phylaxis » pour protection.

Dès 1906, le terme « allergie » (*allos*, autre, *ergon*, action) a été défini par Von Pirquet comme « une altération de la capacité de l'organisme de réagir à une substance étrangère ». Cette définition est extrêmement large et inclut toutes les réactions immunologiques. [2]

I-1-2-Définition et classification

L'allergie est actuellement définie de manière plus restreinte comme « Une maladie consécutive à une réponse du système immunitaire à un antigène inoffensif ». Il ne faut pas la confondre avec des réactions toxiques, ni avec des réactions non toxiques mais également non immunologiques (intolérances alimentaires dont

(l'exemple est l'intolérance au lactose) d'origine pharmacologique, enzymatique ou psychosomatique

L'allergie constitue une des classes de réponses immunitaires appelées réactions d'hypersensibilité. Ces dernières sont des réponses immunitaires néfastes qui induisent des lésions tissulaires et peuvent causer de graves maladies. [2]

En 1963, Gell et Coombs ont classé les réactions d'hypersensibilité en quatre groupes en fonction de la vitesse de la réaction et du mécanisme impliqué. [2]

I-1-2-1-L'hypersensibilité de type I : immédiate ou anaphylaxie

Elle est dite réaction immédiate ou anaphylaxie, c'est une réaction entre un allergène et des cellules sensibilisées par la liaison des IgE avec leurs récepteurs spécifiques. La Combinaison antigène-anticorps provoque la libération par les cellules basophiles et les Mastocytes d'histamine, de prostaglandines et de substances vasoactives et provoque aussi la dégranulation des mastocytes. En clinique, l'asthme allergique, la rhinite et la conjonctivite allergique, le choc anaphylactique, certaines urticaires, l'œdème de Quincke et l'eczéma atopique sont dus à ce type de réaction. [1]

I.1.2.2- L'hypersensibilité de type II : Cytotoxique

Des anticorps circulants de type IgG ou IgM. Sont dirigés contre des antigènes portés par les cellules d'un individu (cellule cible). Il peut en résulter un phénomène de cytotoxicité par les cellules K ou une activation du complément. [3]

I.1.2.3- L'hypersensibilité de type III : à complexes immuns

C'est une réaction entre l'allergène et l'anticorps circulant qui se lient pour former des complexes immuns circulant (CIC) ; ceux-ci se déposent dans les tissus ou ils provoquent une inflammation. Les anticorps sont des IgG ou IgM de type précipitant. Les manifestations pathologiques apparaissent en quelques heures et la réaction est dite *semiretardée*. Des réactions de ce type jouent un rôle dans les alvéolites allergiques, la maladie sérique, le lupus érythémateux disséminé, certaines glomérulonéphrites et la polyartérite noueuse. Ces trois types d'hypersensibilité sont des réactions à immunité humorale. [4]

I.1.2.4-L'hypersensibilité de type IV : Cellulaire

Celle-ci se différencie des trois autres en ce sens qu'elles ne sont pas produites par des anticorps mais par des cellules immuno-compétentes, les lymphocytes. Ces réactions se caractérisent aussi par le délai de 24 à 72 heures nécessaire à l'apparition des manifestations après la réintroduction de l'antigène : d'où le nom d'hypersensibilité n'est pas transmissible par injection de sérum mais uniquement par injection de cellules vivantes, essentiellement des lymphocytes T. les réactions de type IV entraînent des lésions tissulaires inflammatoires avec inflammatoire peut conduire à des lésions tissulaires irréversibles (Tableau I-1). [5]

Tableau (I-1) : Classification de Gell et Coombs (1963) des phénomènes allergiques. [6]

Type d'hypersensibilité	I	II	III	IV
Type de réactions	Médiée par les IgE	Cytotoxique	Complexes immuns	Cellulaire
Délai de déclenchement	Immédiat	Semi-retardé (1 à 8 heures)	Semi-retardé (quelques heures)	Retardé (1 à 72 h)
Maladies et phénomènes courants	Asthme, rhinite, eczéma atopique, choc anaphylactique	Destruction des cellules sanguines par allergie médicamenteuse	Maladie sérique, pneumopathies à précipités	Dermatites, eczéma de contact, allergie microbienne, rejet de greffes
Effecteurs	IgE, mastocytes, basophiles	IgG ou IgM, cellules K	IgG, IgM	Lymphocytes T macrophages
Médiateurs	Histamine, leucotriènes, Plaquettes Activating Factor (PAF)	Protéines du complément	Anticorps, complément, plaquettes, neutrophiles	Lymphokines

I-2-L'allergie alimentaire

I-2-1-Définition

L'allergie alimentaire est une réaction d'hypersensibilité suite à l'ingestion d'un aliment, elle correspond à l'ensemble des manifestations cliniques liées à une réponse immunologique vis-à-vis d'un allergène alimentaire .Elle est le plus souvent IgE- dépendante. [3]

1-2-2-Mécanisme de l'allergie alimentaire

La réaction allergique est la conséquence d'une réponse anormale et excessive du système immunitaire à la suite d'un contact avec une substance étrangère à l'organisme, l'allergène, considéré à tort comme dangereux par nos cellules.

Il existe différents types d'hypersensibilité, c'est-à-dire de réaction inappropriée de l'organisme, selon les composants du système immunitaire mis en jeu.

L'hypersensibilité la plus fréquente est dite « hypersensibilité immédiate » et se déroule en deux phases :

a) Une phase initiale dite « de sensibilisation »

Lorsque l'allergène entre en contact pour la première fois avec l'organisme (après son ingestion), il est reconnu par un type particulier de cellules du système immunitaire : les macrophages, première ligne de défense de l'organisme, présents en grande quantité au niveau de la peau et des muqueuses.

L'information de ce premier contact va être transmise à d'autres cellules du système immunitaire : les lymphocytes B. Ceux-ci ont la capacité de synthétiser des anticorps est notamment impliquée dans la réaction allergique: les immunoglobulines de type E (IgE), qui reconnaissent spécifiquement un allergène donné. La réponse en cascade du système immunitaire se poursuit. Une fois passées dans la circulation sanguine, les IgE vont se fixer sur deux autres types de cellules du système immunitaire, les mastocytes localisés au niveau de la peau et des muqueuses et les basophiles présents dans la circulation sanguine. Les mastocytes et les basophiles contiennent de nombreuses granulations, petites vésicules riches en substances chimiques et vont capter l'allergène lors de son 2^{ème} contact avec l'organisme.

Cette phase de sensibilisation est cliniquement muette: le sujet ne présente aucun symptôme particulier. Les manifestations allergiques proprement dites ne se déclencheront que lors du contact suivant, même si celui-ci intervient après un intervalle de temps très long (figure I-1).

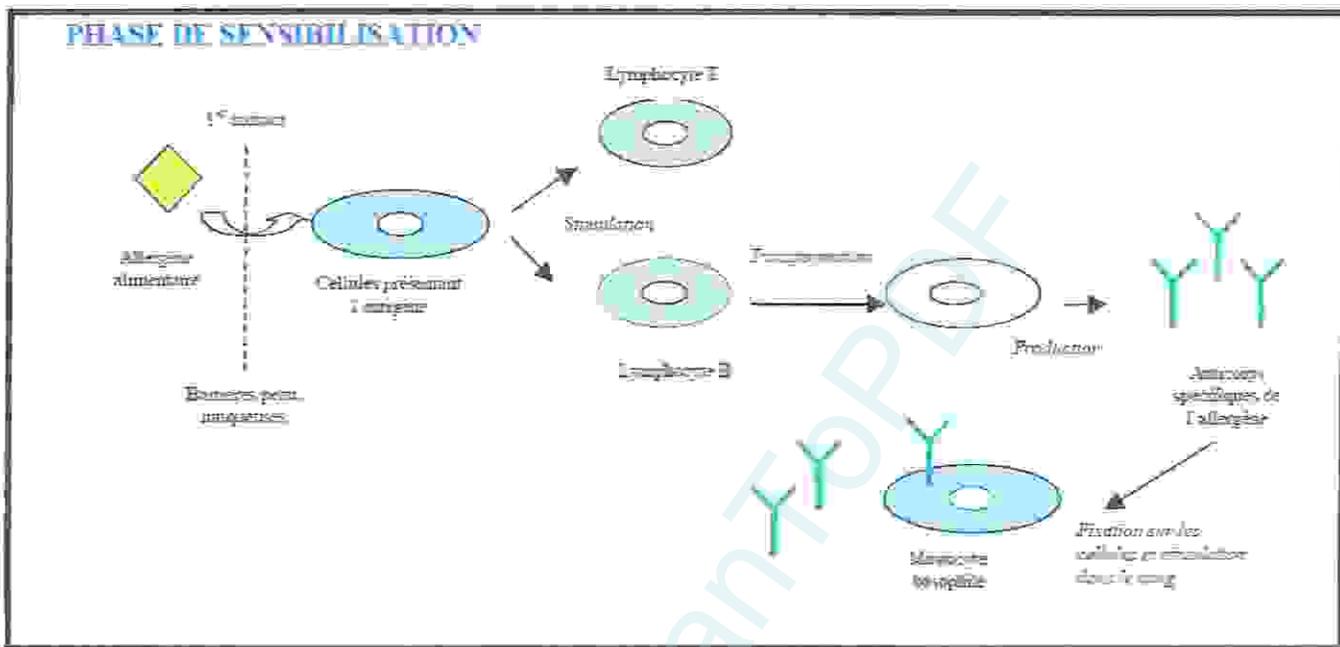


Figure (I-01): Mécanisme de l'allergie alimentaire: phase de sensibilisation [7].

b) Phase de réaction allergique proprement dite ;

Lors du second contact avec l'organisme « sensibilisé », l'allergène est directement capté par les IgE fixées sur les mastocytes et les basophiles, ce qui entraîne leur dégranulation, c'est-à-dire la libération des médiateurs chimiques contenus dans leurs granules. Ces médiateurs chimiques sont responsables des principales manifestations allergiques: le plus connu d'entre eux, l'histamine, a notamment un très puissant effet de contraction des muscles lisses. Son action est complétée par d'autres substances (protéases, leucotriènes, prostaglandines...) qui vont amplifier et propager la réaction allergique dans tout l'organisme (figure I-2).[8]

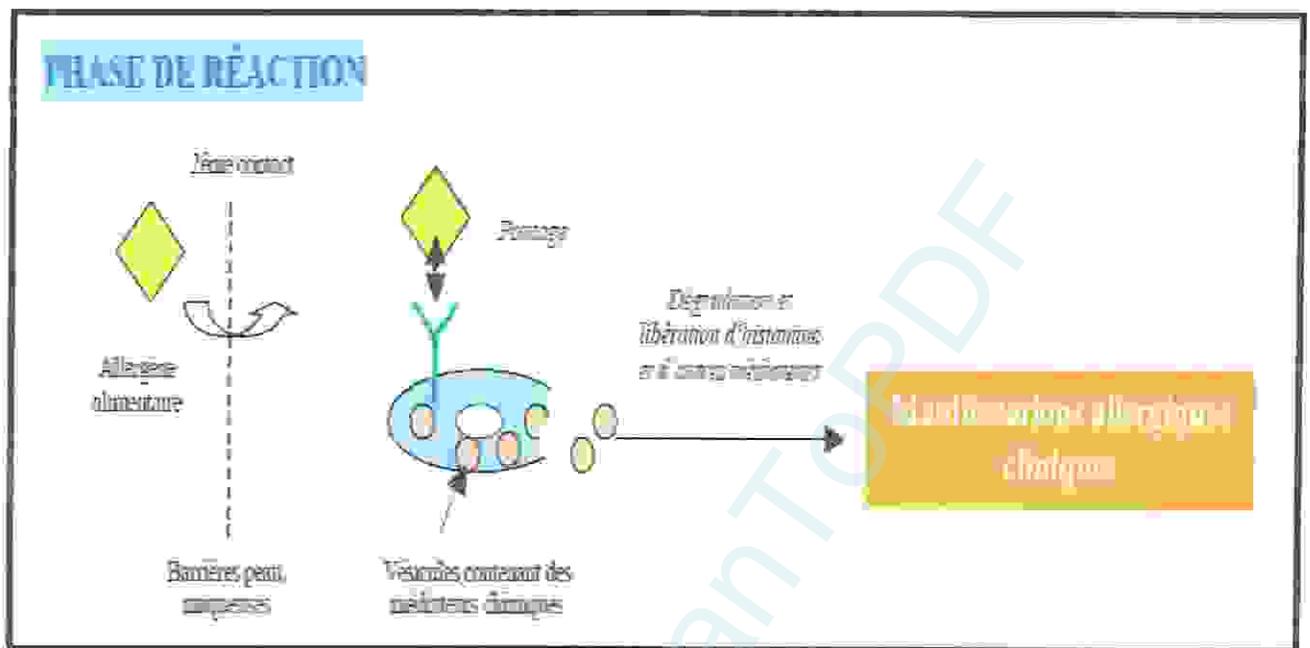


Figure (I-02) : Mécanisme de l'allergie alimentaire : phase de réaction [7].

I-2-3- Les symptômes de l'allergie alimentaire ;

Une réaction fréquente, mais à la fois anodine, est le syndrome allergique oral : le patient ressent des démangeaisons au niveau des lèvres et dans la gorge ou éprouve une sensation pâteuse dans la bouche et au palais immédiatement après la consommation d'un certain aliment. Toutefois, des enflures au niveau des lèvres et de la langue, de même que de la muqueuse bucco-pharyngienne, risquent également d'apparaître. Certaines personnes réagissent par des vomissements, des crampes d'estomac ou de ventre et des diarrhées, d'autres par un eczéma (névrodermite), une urticaire ou par une crise d'asthme. Cependant, une réaction allergique généralisée allant jusqu'au choc menaçant la vie du patient est également possible (Tableau I-2).[7]

Tableau (I-02) : les principales réactions allergiques cliniques. [10]

Type de réaction	Tableau clinique	Organe cible	Symptomatologie
Cutanée	Dermatite atopique	Peau	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions d'eczéma (non limitées, érythémateuses) sur le visage, faces d'exposition, articules, siège, pli de flexion • Prurit
	Urticaire	Peau	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatose érythémateuse due à un œdème dermique secondaire à une vasodilatation et à une augmentation de la perméabilité capillaire • Présence de papules roses, œdémateuses, prurigineuses.
	Œdème de Quincke	Muqueuses	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatose due à un œdème hypodermique pouvant être fatal s'il touche la muqueuse pharyngo-laryngée • Démangeaison dans une zone prurigineuse mais accompagnée d'une sensation de tension
	Syndrôme oral de Lenoir	Muqueuse buccale	<ul style="list-style-type: none"> • Prurit et œdème labial gingival, buccal, voire un œdème de la gorge
	Rhinite	Muqueuse nasale	<ul style="list-style-type: none"> • Obstruction et prurit nasal (inflammation de la muqueuse), toux et éternuement, rhinorrhée
Respiratoires	Asthme	Poumon	<ul style="list-style-type: none"> • Constriction bronchique conduisant à une gêne respiratoire, avec écoulements sibilants due principalement à une libération d'histamine.
Systémiques	Choc anaphylactique		<ul style="list-style-type: none"> • Insuffisance circulatoire grave, provoquée par une vasodilatation générale et périphérique due à la libération massive de médiateurs • Mise en jeu du pronostic vital

I-2-4-Traitement

Le traitement de l'allergie alimentaire repose sur deux grands types de traitements. Le régime d'éviction est le traitement idéal des allergies alimentaires. L'identification des aliments responsables est indispensable. Tout régime d'éviction alimentaire doit être prescrit, contrôlé par un médecin et une diététicienne. Certains facteurs de risques doivent également être pris en compte : antécédents de réactions anaphylactiques, antécédents d'asthme instable ou mal contrôlé, allergie à l'arachide, aux noix et noisettes ainsi qu'aux poissons et crustacés. Ces éléments constituent des facteurs de gravité qui doivent être connus du patient pour éviter de développer un choc anaphylactique. Le traitement symptomatique en cas de manifestations anaphylactiques ou d'œdème de Quincke avec œdème de la glotte repose sur l'injection d'adrénaline en première intention. La voie intramusculaire permet

d'obtenir plus rapidement que la voie sous-cutanée, un pic sérique efficace. La voie intraveineuse étant réservée à la réanimation. Le stylo auto-injecteur (Anapen®) permet au patient de s'auto-administrer 0,15 ou 0,30 mg d'adrénaline. Les antihistaminiques et les corticoïdes ont leur place en deuxième intention, sauf dans le cas de l'urticaire ou de l'angio-oedème non compliqués. [11]

I-2-5-Epidémiologie générale des allergies alimentaires

L'épidémiologie de l'allergie alimentaire est moins connue que celle des autres symptômes de l'atopie, asthme, rhinites allergiques, eczéma qui ont bénéficié de grandes études multicentriques internationales. Elle est délicate en raison de la difficulté du diagnostic des allergies alimentaires et de la lourdeur de la méthodologie à mettre en œuvre pour les études épidémiologiques [12]. Malgré ces raisons et bien que l'on manque de données précises sur l'évolution de ces maladies, des éléments d'appréciation indirects (augmentation de l'atopie, signalement accru des accidents allergiques par les cliniciens) vont dans le sens d'un accroissement probable de cette pathologie dans les pays à haut niveau de vie. [13]

I-2-5-1- L'épidémiologie des allergies alimentaires

Elle varie en fonction des protéines étudiées :

A-L'âge

L'allergie alimentaire moins souvent impliquée chez les adultes que chez les enfants, est beaucoup plus fréquente chez ces derniers où la prévalence cumulée est estimée entre 4 à 8,5% de la naissance à 8 ans. [14]

Elle varie en fonction de l'âge. Elle est estimée à 4,19% de 1 à 3 ans, à 2,79% de 3 à 6 ans, à 2,8% de 7 à 15 ans, à 3,22% de 15 à 30 ans et à 3,97% de 31 à 60 ans. [15]

B- Les allergènes

La fréquence des sensibilisations alimentaires n'est pas identique pour les différents allergènes. Le pouvoir allergisant varie selon les aliments. Ceux-ci sont différemment impliqués en fonction de l'âge, de la localisation géographique, des habitudes alimentaires et des allergies croisées.

C- Le terrain atopique

L'atopie est incriminée dans 33 à 50% des dermatites atopiques de l'enfant, 2 à 8% des asthmes, 1 à 5 % des urticaires récidivantes ou chroniques, et plus de 10% des chocs anaphylactiques [16]. L'enquête de Kanny et al, confirme une prévalence des allergies alimentaires plus forte chez les atopiques que chez les non atopiques (57% versus 17% $P < 0,01$. [17]

I-2-5-2- Les facteurs de risques

Les allergies alimentaires peuvent être graves, voire mortelles. Leur augmentation est patente dans la population adulte et particulièrement chez les enfants. Les facteurs de risques associés au développement des allergies alimentaires sont néanmoins multiples, et peuvent se diviser en facteurs spécifiques à l'individu et en facteurs liés à l'environnement.

I-2-5-3- Les facteurs liés à l'individu**A- Facteur génétique**

Les études de la transmission des parents aux enfants montrent que, pour un enfant, le risque d'être atopique est respectivement de l'ordre de 9 à 18%, 25 à 40%, et 50 à 70% lorsque aucun, un seul ou les deux parents sont allergiques. [18]

B- Sexe

Il semble que les garçons montrent un risque d'atopie plus élevé envers les acariens, le pollen de graminées, l'allergène de l'épithélium du chat, ainsi que pour le développement de l'asthme. L'allergie alimentaire apparaît dans les trois quarts des cas avant l'âge de 15 ans. Elle est plus fréquente chez les garçons, avec un sexe ratio de 1,7/1 garçons/filles, [19]. Proportion également rencontrée pour les autres manifestations allergiques chez l'enfant. L'allergie au lait de vache chez l'enfant semble toucher les deux sexes, et à l'opposé, chez l'adulte, [20], elle concerne essentiellement les femmes (91,2% dans l'étude, Chez l'adulte, des taux plus élevés d'IgE totales et spécifiques de différents allergènes ont été mesurés chez, l'homme.[21]

C-Age

Les allergies alimentaires apparaissent au début de la vie, notamment chez les enfants ayant un terrain atopique. En générale, les taux d'IgE sont très élevés dans l'enfance et diminuent rapidement entre 10 et 30 ans. [22], Ainsi, les allergies alimentaires présentent une prévalence très élevée avant l'âge de deux ans. Dans le cas de l'allergie au lait de vache, l'administration précoce de cet aliment, conduit à une sensibilisation durable et à de forts risques de développement d'une allergie alimentaire chez les enfants atopiques, [23]. Ceci est dû au fait que l'antigène est administré à un enfant dont la barrière intestinale n'est pas mature, et dont le système immunitaire est essentiellement orienté vers une réponse de type Th2. La perméabilité intestinale est à son maximum pendant les 3 à 4 jours après la naissance, puis diminue avec l'âge, aussi bien chez les enfants atopiques que les non atopiques. [24], [25]

I-2-5-4- Les facteurs liés à l'environnement**A-Exposition aux allergènes**

Les enfants exposés très tôt aux allergènes comme c'est le cas pour le lait de vache mais aussi pour la moutarde contenue dans les petits pots et les plats préparés pour les nourrissons et utilisés avant 3 ans ainsi que le poisson et les fruits de mer dans certaines contrées, présentent plus de risques de développer des allergies alimentaires et de l'asthme. [26]

B-Pollution et tabagisme passif

La pollution et le tabagisme passif sont des facteurs aggravant le phénomène allergique. [27], Ils agissent comme des adjuvants de la réponse allergique. La pollution a des effets directs sur les cellules B via les hydrocarbures aromatiques, conduisant à une augmentation de la réponse IgE. Le tabagisme passif quant à lui augmente la prévalence d'une respiration asthmatique chez l'enfant, [28]. Et conduit à une augmentation des concentrations d'IgE totales chez l'adulte.

C-Alimentation

L'alimentation joue un rôle primordial dans le développement correct du système immunitaire. En effet, une alimentation inadaptée, aboutit à une détérioration

du système immunitaire. Le lait maternel apparaît en effet comme l'aliment idéal pour les nourrissons car il est parfaitement adapté à sa physiologie. Il apporte quantitativement et qualitativement tous les nutriments nécessaires pour le développement des nouveau-nés sans risque de carence ni de surcharge, [28] Bien qu'il existe dans le lait maternel des allergènes alimentaires, il contient également des facteurs de croissance qui facilitent la maturation de la muqueuse intestinale et des anticorps IgA sécrétoires qui contribuent à diminuer la présence de ces allergènes dans le lait maternel.

D-Infection

Lors d'une infection virale, le taux des IgE est augmenté chez l'enfant et chez l'adulte. En revanche, les infections bactériennes, peuvent prévenir une sensibilisation allergique. En parallèle, les réactions atopiques sont beaucoup plus fréquentes dans les pays développés que dans les pays en voie de développement où la prévalence des infections bactériennes est plus importante. Différentes observations, tant chez l'homme que chez les modèles animaux, [29]. Semblent montrer que la réduction des infections bactériennes peut contribuer à l'augmentation de la sévérité et de la prévalence des atopies chez l'homme, en modifiant l'équilibre de la balance Th1/Th2.

E-Hygiène

L'amélioration de l'hygiène dans les sociétés des pays développés peut conduire l'évolution du système immunitaire de l'enfant vers un profil de type Th2 associé à des réactions immunitaires IgE dépendantes. Le développement récent des allergies alimentaires pourrait être ainsi lié à la baisse des infections intestinales chez l'enfant qui empêcherait le système immunitaire de s'orienter vers des réponses cellulaires de type Th1, moins impliquées dans les réactions allergiques. [30]

I-3-Biochimie des principales protéines allergènes alimentaires d'origine végétale

I-3-1-Définition et nomenclature

Les allergènes sont des antigènes reconnus par les IgE et capables d'induire une réponse immunitaire dite « allergique » liée à la synthèse d'IgE spécifiques. Les allergènes alimentaires sont appelés trophallergènes par opposition aux allergènes respiratoires, les pneumallergènes. Les trophallergènes représentent un groupe important des allergènes et sont divisés en deux groupes selon Aalberse (1997):

- Capacité à seulement induire des symptômes cliniques chez des individus sensibilisés (allergènes incomplets)
- Capacité à sensibiliser et induire des réactions chez des individus prédisposés (allergènes alimentaires complets). Un allergène est dit majeur s'il fait réagir 50% des sujets à cet élément, c'est-à-dire s'il est reconnu par les IgE spécifiques d'au moins 50% des patients testés et s'il donne des tests cutanés immédiatement positifs, à une concentration très faible, chez au moins 90% des sujets. Un allergène est dit mineur s'il n'intéresse environ 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%. Ils se différencient par leur point isoélectrique. 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. La dénomination de nouveaux allergènes est codifiée par la nomenclature WHO/IUIS, publiée pour la première fois en 1986, [31]. Et remise à jour en 1994 [32]. Ref Type: Internet Communication Ces dernières années, les avancées dans la caractérisation et la détermination de séquence d'allergènes ont été rapides, grâce aux approches de la biologie moléculaire. En accord avec la taxonomie, les allergènes sont désignés comme il suit : les trois premières lettres du genre, un espace, la première lettre de l'espèce, un espace et un chiffre arabe. Les chiffres sont donnés par ordre d'identification. Ainsi le premier allergène de l'arachide (*Arachis Hypogaea*) est Ara h 1. Il peut y avoir des précisions, données lors de l'appellation, pour indiquer le genre ou l'espèce exacte (Tableau I-3).[2]

	ou de la trypsine -les protéines de transfert de lipides		asthme, manifestation s. digestives, anaphylaxie	rare	méthode normalisée de dosage
Fruits et légumes		Adulte : 14 %	Syndrôme de Lessoft, urticaire, Œdème, oro- pharyngé, et plus rarement, vomissement s, diarrhée, asth me bronchique, choc anaphylactiq ue	- Latex	- Les allergènes mis en Cause présentent des, analogies structurales aux allergènes des pollens -Ces allergènes sont thermolabiles
Céleri		Adulte : 9 %			
Moutarde		Enfant : 6 %	Dermatite atopique, urticaire		La moutarde est souvent un ingrédient masqué sous la dénomination " épices "
Sulfites					Concentration seuil : 10mg/kg ou 10mg/litre (exprimées en SO2)

1-3-2- Caractéristiques générales

La connaissance des allergènes alimentaires est en constante progression et constitue la base de la compréhension des phénomènes allergiques et des conditions du risque allergique alimentaire. [34]

Les trophallergènes sont classiquement décrits comme des glycoprotéines de masse moléculaire variant entre 10 et 60 kDa. [35]. Et de points isoélectriques acides. 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 immunogénécité et une absorption muqueuse, l'allergénécité 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. 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. Il est à souligner l'importance des épitopes linéaires dans les phénomènes d'allergie alimentaire puisque le système immunitaire peut les rencontrer même après dénaturation partielle et digestion dans le tractus gastro-intestinal. Les travaux de Vila et *al.* (2001) ont illustré l'importance des épitopes linéaires dans l'allergie alimentaire persistante et dans la valeur prédictive potentielle des épitopes conformationnels.

Bien que la stabilité des allergènes soit démontrée pour un large éventail d'allergies alimentaires, leur capacité de résistance à la dégradation est peu expliquée. La présence de ponts disulfures dans la plupart des allergènes alimentaires laisse supposer que la structure de la protéine est un facteur important dans la capacité de l'allergène à résister à la dénaturation, notamment lors de la digestion gastro-intestinale, [36]. La résistance à la protéolyse est une caractéristique de l'allergie

alimentaire. De même, la résistance à un pH modérément acide caractérise nombre de trophallergènes. Un allergène majeur de l'arachide n'est pas dénaturé à pH 3. [2]

I-3-3- Classification

Les protéines allergènes alimentaires d'origine végétale appartiennent à un petit nombre de familles et de superfamilles de protéines par rapport au grand nombre de familles de protéines végétales. Cette classification est basée sur la structure et la fonction biologique. [1]

1-3-3-1- La superfamille des cupines

La superfamille des cupines est décrite par une structure en double couche de feuillet. [37] Les allergènes les plus étudiés de cette superfamille sont les globulines 7S (vicilines) ou les globulines 11S (glycinines). À côté de ces deux superfamilles, se classe la famille des protéases à cystéine C1, caractérisée par leur site catalytique (cystéines). La famille C1 est identifiée par un site actif conservé avec des résidus Gln, Cys, His et Asn et comprend beaucoup de peptidases, [38], à activités exo- et endopeptidase. [2]

A- La famille des globulines

A-1- Structure générale

Les protéines de réserve des plantes, solubles en solution saline, appelée globulines, font partie des premières protéines à avoir été étudiées et ont été décrites en détail par Osborne (1924). Ces protéines sont séparées selon leur coefficient de sédimentation. Une large fraction est caractérisée par une sédimentation lente, de coefficient 11S. Une autre plus petite fraction présente un coefficient de sédimentation de 7S. Les globulines sont riches en lysine et en arginine mais plus pauvres en tryptophane et en acides aminés amidés (asparagine et glutamine). Les globulines 11S sont des protéines multimériques de masses moléculaires de 300 à 450 kDa. Les globulines 7S sont souvent appelées vicilines car elles sont abondamment présentes dans le groupe de légumineuses Viciae.

Elles se présentent sous forme de protéine trimérique de masse moléculaire de 150 à 190 kDa. Les globulines sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER) avant d'être transportées vers une vacuole où elles sont stockées pour

former des corps protéiques. Dans certaines céréales, les globulines sont stockées dans la graine sous forme d'une matrice protéique.

A-2- Structure tridimensionnelle

La comparaison des séquences des globulines montre un degré d'homologie limité, seulement de 35 à 45%, malgré leur haut degré de similarité structurale. Les structures tridimensionnelles ont été déterminées pour le précurseur de la globuline 11S du soja, la proglycinine, [39]. Du haricot vert, la phaseoline (figure I-3). [2]

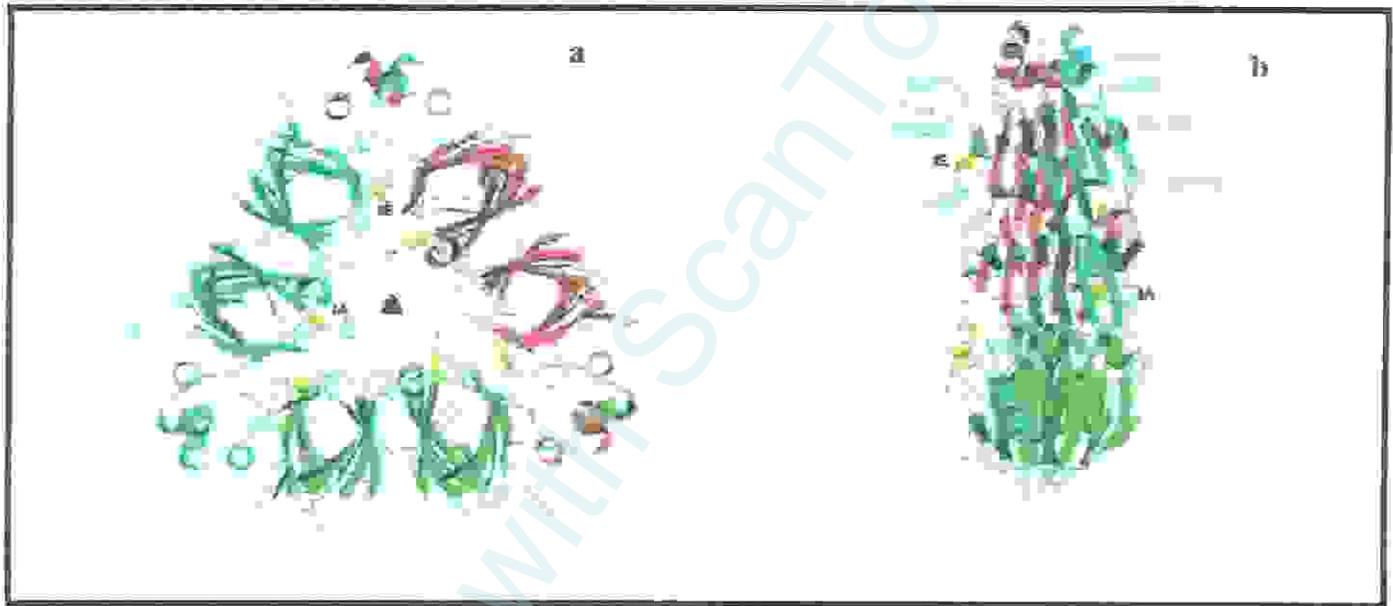


Figure (I-03) : structure tridimensionnelle du trimère de la proglycinine du soja (Adachi et al, 2001). [2]

Trois protomères sont représentées en rouge, cyan et vert. Les ponts disulfures sont représentés par des sphères jaunes avec un angle de 1,2 Å. IA et IE indiquent les ponts disulfures entre les cystéines 12 et 45 et entre les cystéines 88 et 298. N et C indiquent les terminaisons N et C de la séquence. (a) axe de symétrie 3D perpendiculaire au papier, représenté par un triangle. (b) vue après une symétrie de 90° autour de l'axe de symétrie verticale.

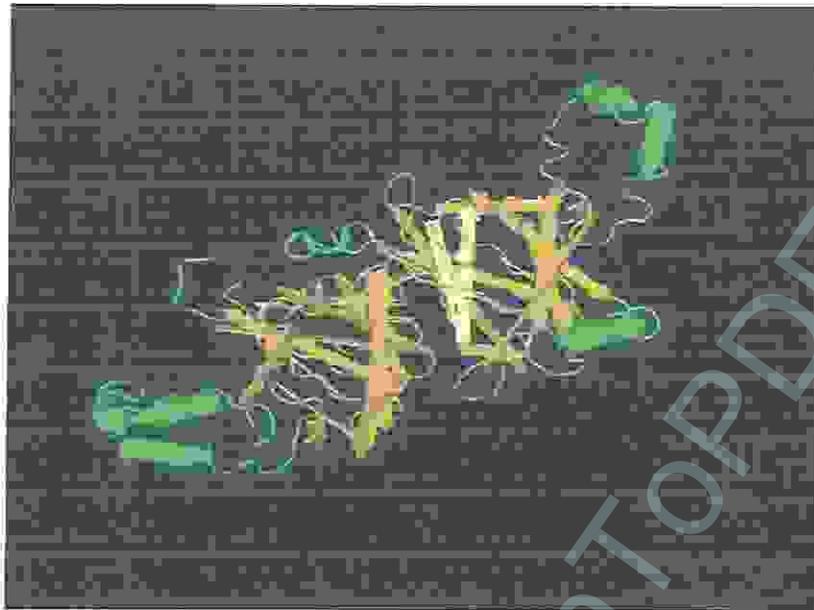


Figure (I-04) : structure tridimensionnelle de la phaseoline).[2]

Chaque domaine comprend un tonneau β composé de plusieurs feuilletés anti-parallèles suivi par un certain nombre d'hélices. structure illustrée en figures 4 et 5 respectivement par le précurseur de la globuline 11S du soja, la proglycinine et la globuline 7S du haricot, la phaseoline.[40]. A l'intérieur de cette structure, environ 30 acides aminés sont conservés ou échangés de manière conservative pour les globulines 7S et 11S. Une majorité de ces résidus conservés est impliquée dans des blocs inter-monomères ou dans des boucles inter-chaînes, où ils sont soumis à des contraintes structurales. Cette similarité structurale entre les globulines 11S et 7S a été identifiée en 1985 et amène à penser qu'elles descendent d'un ancêtre commun. [41] La structure tridimensionnelle de l'allergène Ara h 1, la globuline 7S de l'arachide, a été établie par similitude avec la phaseoline (figure I-4).

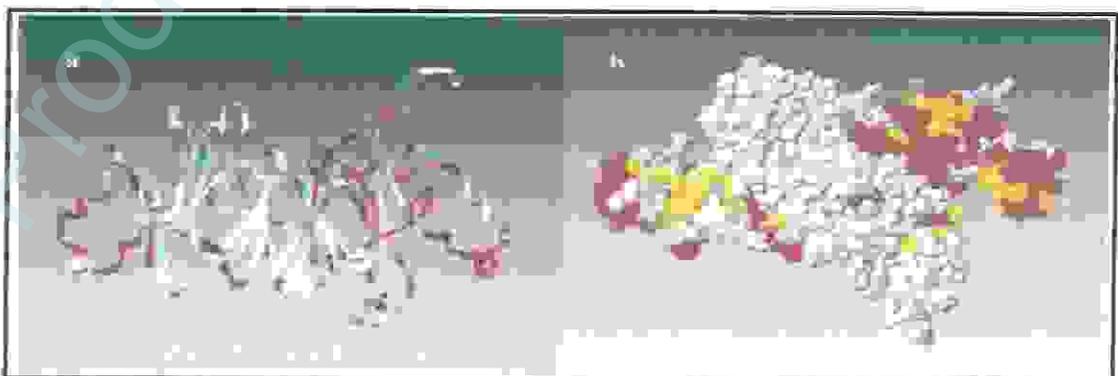


Figure (I-05) : Structure tridimensionnelle d'Ara h 1 établie par homologie avec la phaseoline (Shin et al. 1998). [2]

La majorité des épitopes d'Ara h 1 est localisée dans deux régions de l'allergène. (a) : diagramme ribbon de la structure tridimensionnelle d'Ara h 1. Les aires en rouge sont les épitopes 10-22. Les épitopes 13 et une partie de 14 et 15 se trouvent dans une aire structurale incertaine. (b) structure tertiaire d'Ara h 1. Les aires en rouge représentent les épitopes et les atomes en jaune sont les résidus critiques dans la liaison des IgE (figure I-5).

I-3-3-2- La superfamille des prolamines

Ces protéines se caractérisent par un polymorphisme génétique important. Leur forte teneur en proline et en glutamine (30% à 70%), acides aminés présents sous forme de motifs répétés leur confère des structures secondaires en coudes β et en hélices poly L-Proline II. A l'inverse, les séquences non-répétées ont tendance à former des structures globulaires.

Les cystéines présentes permettent la formation de ponts disulfures intramoléculaires. Leur point isoélectrique est proche de 8 et elles sont faiblement chargées. Leur séquence polypeptidique comprend des séquences conservées A, B et C (certainement issues de la triplication d'un domaine ancestral commun, et parfois délités chez certains groupes) riches en cystéines ainsi que des séquences répétées, aux motifs variables riches en proline et glutamine. [42]

Ce squelette de huit cystéines permet de classer ces protéines dans ce même groupe alors que les prolamines ont d'abord été identifiées par leurs caractéristiques biochimiques de solubilité. Certaines enfin subissent des protéolyses lors de leur maturation post-traductionnelle.

Les prolamines constituent le groupe principal des protéines de réserve des graines de céréales et des graminées. Elles représentent la famille de protéines allergéniques la plus importante sur le plan quantitatif. Quatre groupes de prolamines représentent des allergènes alimentaires : les prolamines, les albumines 2S trouvées dans les noix et les graines, alpha-amylase/inhibiteurs de la trypsine dans les graines de céréales, et les protéines non spécifiques de transfert des lipides trouvées dans les fruits et légumes. Ces trois groupes ont seulement le squelette cystéine en commun sur le plan structural. [43]. En revanche, ils présentent des structures hélice alpha très similaires. Ces structures sont très stables à la chaleur et à la protéolyse (figure I-6).

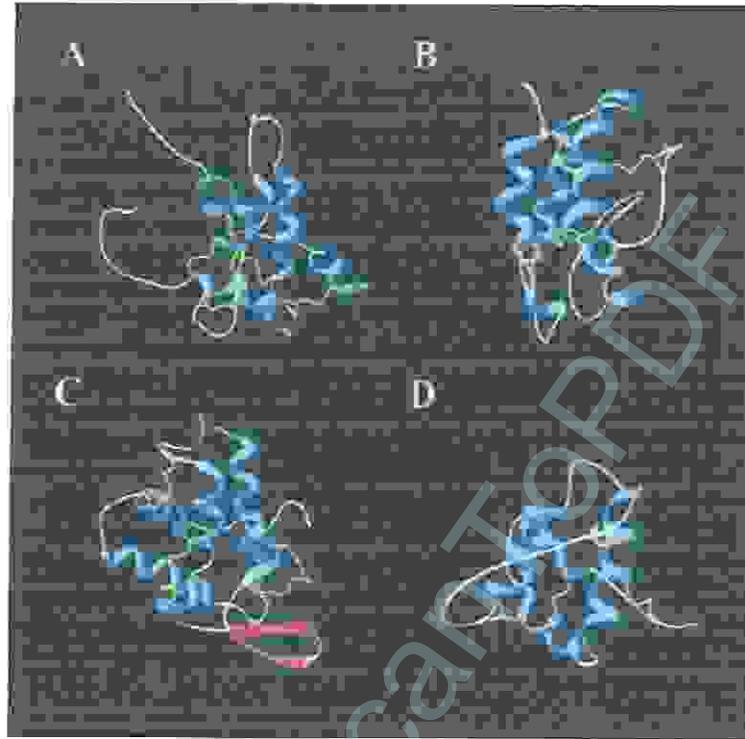


Figure (I-06) : Structure secondaire des allergènes de la superfamille des prolamines A/ Albumine 2S de graine de colza. B/ nsLTP de l'orge, C/ inhibiteur d' α -amylase de blé. D /Protéine hydrophobique de soja HSP Gly m 1, bleue : hélice α , rouge : coudes β , jaune : les ponts disulfures.[1]

A- Les albumines 2S

Les albumines 2S forment un groupe majeur de protéines de stockage de nombreuses espèces de dicotylédones. Elles sont formées de deux sous unités issues d'un précurseur protéique unique et reliées entre elles par quatre ponts disulfures. Elles sont hydrosolubles et généralement riches en acides aminés soufrés et en hélice alpha. Les albumines 2S sont stables à la protéolyse et peuvent être liées aux lipides. En plus de leurs rôle principal, d'assurer le développement de la graine, les albumines 2S jouent un rôle de défense contre les champignons (figure I-7).

A-1- Structure tridimensionnelle:

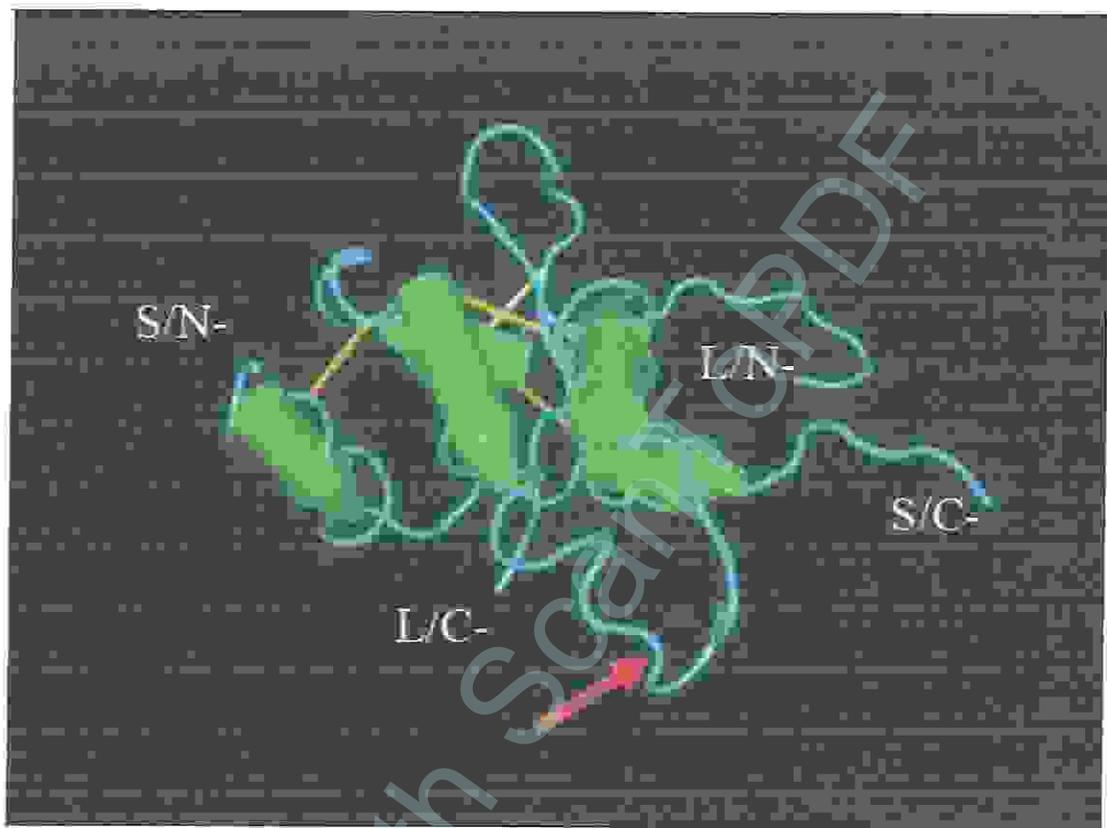


Figure (I-07) : structure tridimensionnelle de la napine (BnIb), albumine 2S du colza rico et all. [2]

La boucle qui correspond à la région hypervariable est indiquée par la flèche rouge. Les terminaisons pour des chaînes petites et longues sont respectivement nommées S/N- et L/N- en N-terminal et S/C- et L/C- en C-terminal.

B- Les protéines de transfert de lipides non spécifiques nsLTPs

Les nsLTP sont des protéines monomériques de faible poids moléculaires, de point isoélectrique basique. Elles sont composées de quatre ballots d'hélice alpha et forment un tunnel hydrophobe pouvant accueillir des lipides, [44]. Généralement, elles s'accumulent dans la couche externe de l'épiderme des organes végétaux ce qui explique la grande allergénicité de l'écorce par rapport à la pulpe des fruits des Rosacées. Leurs caractéristiques structurales communes sont à la base d'une réactivité croisée. Les nsLTPs sont résistantes à la protéolyse, aux pH modérés et au traitement thermique, c'est ce qui les rend des allergènes alimentaires puissants. [44]

B-1- Les prolamines de céréales

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

I-3-3-3 La superfamille de papaïne de protéinases cystéines:

Cette superfamille est composée de trois groupes de protéinases de cystéines : le groupe de papaïne, le groupe de bléomycine hydrolase et le groupe de calpaïne. [45]. Ces protéases possèdent des résidus de cystéines nucléophiliques dans leur site actif qui ont pour rôle de couper les liaisons entre les peptides. Ces enzymes sont synthétisées comme des preproenzymes et sont localisées au niveau des lysosomes.

I-3-4- Les allergènes de l'arachide**I-3-4-1-l'arachide**

L'arachide (*Arachis hypogaea*) est une plante légumineuse de la famille des Papilionacées, comme les pois, les lentilles, le lupin, le soja, les fèves ou encore les haricots. La graine d'arachide, appelée cacahuète, est composée de 24 à 29% de protéine (figure 1-8). [11]



Figure (1-8) : *Arachis hypogaea*

I-3-4-2- Les protéines d'arachide

L'arachide possède plus de 30 protéines différentes. L'électrophorèse bidimensionnelle de l'arachide illustre bien cette chimie protéique complexe (figure I-9).

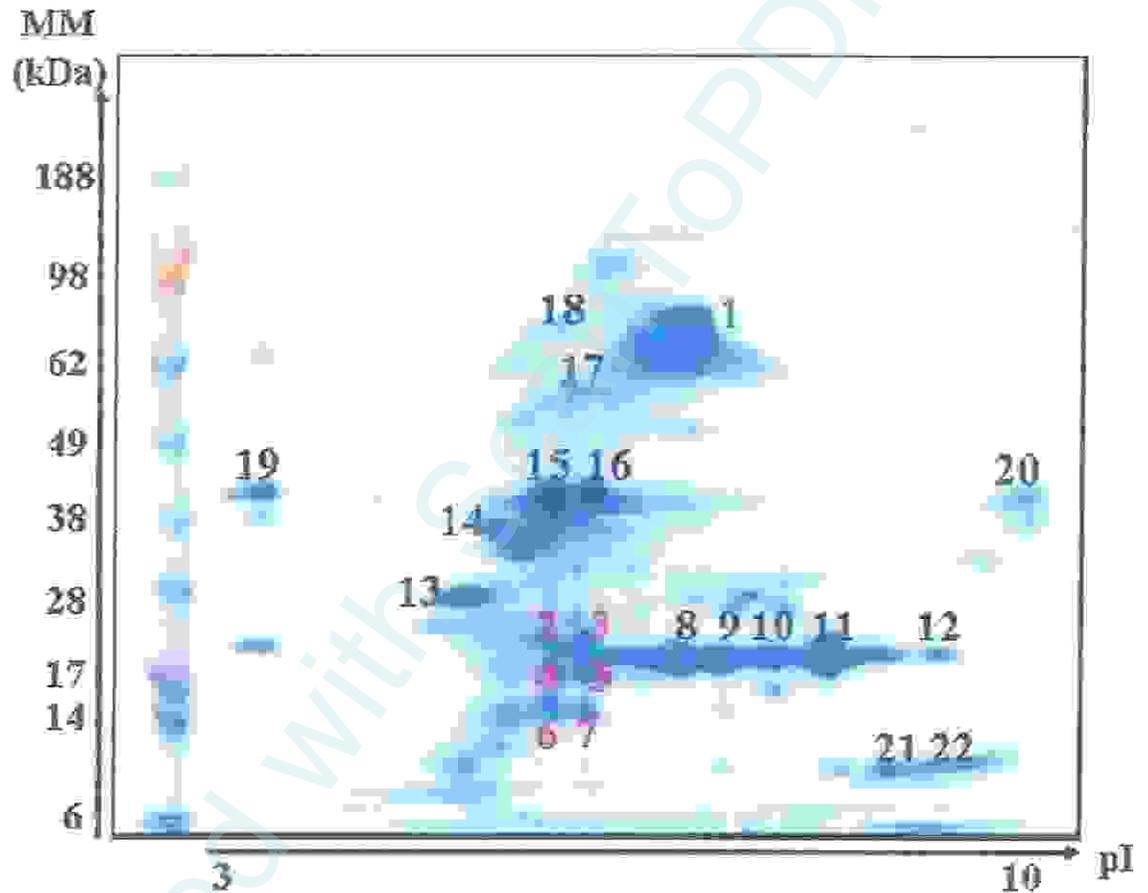


Figure (1-09) : Electrophorèse bidimensionnelle de l'arachide et identification des protéines (n°1 : Ara h 1, n°2-5 : Ara h 2, n°6-7 : Ara h 6, n°8-22 : fragments de glycinines (Ara h 3/4) ; MM : masse moléculaire ; pI : point isoélectrique. [46]

I-3-4-3- Les allergènes identifiés de l'arachide

Au cours des 20 dernières années, de nombreuses protéines de l'arachide ont été caractérisées et identifiées comme étant des allergènes de l'arachide, c'est-à-dire reconnues par les IgE de patients allergiques à l'arachide. Les allergènes d'un aliment sont classifiés en deux groupes selon leur fréquence de reconnaissance par les IgE d'une population de patients allergiques à cet aliment. L'IUIS (International Union of

Immunological Societies) répertorie 11 allergènes, nommés de « Ara h1 » à « Ara h11 ». (Tableau I-4)

Tableau (I-04) : Caractéristiques des allergènes de l'arachide [47]

Allergènes	Superfamilles	Familles		MM (kDa)		pHi	Proportion par rapport aux protéines totales (%)
				données par l'IUIS	obtenues au laboratoire		
Ara h 1	cupines	globuline 7S	viciline	64	62,7	4,55	14 (12-16)
Ara h 2	protamines	albumine 2S	conglutine	17	doublet à 16,67 et 18,05	5,2	6,5 (5,9-9,3)
Ara h 3	cupines	globuline 17S	glycine	60		5,5	50
Ara h 4	cupines	globuline 17S	glycine	57			
Ara h 5	profilines			45			
Ara h 6	protamines	albumine 2S	homologue de la conglutine	15	14,84		4,5
Ara h 7	protamines	albumine 2S	homologue de la conglutine	15			
Ara h 8	protéines de défense végétale	homologue de Bet v 1	Pathogenesis-related protein (PR)-10	17			
Ara h 9	protamines	protéine de transfert des lipides non spécifique (nsLTP)		9,8			
Ara h 10			oléosine	16			
Ara h 11			oléosine	14			

La caractérisation des allergènes de l'arachide a été initiée par Sachs et coll. en 1981. Cette équipe a démontré les propriétés allergéniques d'une protéine, « Peanut », complexe de 180 kDa à l'état natif, et présentant 2 sous-unités de 20 et 30 kDa par technique électrophorétique.

En 1983, Barnett et coll ont démontré le potentiel allergénique de l'arachide, de la conarachine et d'une glycoprotéine réactive à la concanavaleine A (Con A). [47] Par la suite, Burks et coll ont mis en évidence une fraction immunoréactive qui possède un poids moléculaire de 63 kDa et un pHi de 4,5.[48]. Cette protéine s'est avérée être identique à la glycoprotéine réactive à la Con A décrite par Barnett.

L'allergène ainsi identifié, nommé Ara h1, appartient à la famille des globulines 7S (viciline). Les études d'immunoréactivité avec des sérums de patients allergiques ont montré qu'Ara h1 est un allergène majeur de l'arachide : près de 90% des sérums de patients allergiques possèdent des IgE spécifiques de cette protéine. [49]

En 1992, Burks et coll ont isolé et caractérisé un autre allergène de l'arachide, appelé Ara h2. [50]. Ara h2 appartient à la famille des albumines 2S (conglutines), et se présente en électrophorèse sur gel de polyacrylamide comme un doublet à 16,67 et 18,05 kDa. [51]. Ces doublets correspondent à deux isoformes qui se distinguent par la présence/absence d'une séquence de 12 acides aminés. Ara h2 est reconnu par les IgE de plus de 80% de patients allergiques à l'arachide, ce qui fait de cette protéine un autre allergène majeur de l'arachide. [52]

Récemment, Ara h6, une autre albumine 2S, a été également décrite comme étant un allergène majeur reconnu par 80 à 95 % des patients allergiques. [53]

Il a été montré par Bernard et coll. Que Ara h6 présente naturellement un polymorphisme dans la graine d'arachide. Une isoforme d'Ara h6 a été caractérisée ainsi qu'un de ses produits issu d'une protéolyse naturelle lors de la maturation de la graine d'arachide. Cette maturation entraîne la formation d'un hétérodimère dont la structure est maintenue par des ponts disulfures, [54]. La reconnaissance d'Ara h6 par les IgE de patients allergiques n'est pas modifiée par cette maturation naturelle, tandis qu'une perte drastique de la liaison aux IgE humaines est observée lorsque ces isoformes sont réduites chimiquement.

Ces résultats suggèrent donc que l'allergénicité d'Ara h6 dépend fortement du maintien de sa conformation tridimensionnelle grâce à ses ponts disulfures.

Des protéines de la famille des globulines 11S (glycinines) ont également été identifiées comme allergènes de l'arachide. Ara h3, qui a été tout d'abord identifiée par une approche de biologie moléculaire, présente une masse moléculaire de 58 kDa et un pHi de 5,5. [55]. Ara h4, de masse moléculaire 36 kDa, est une isoforme de Ara h3, possédant 91% d'homologie avec cette dernière. Cependant les glycinines dans l'arachide n'existent pas sous une forme entière ou associée. Ara h3/4 est naturellement présente dans la plante sous forme de polypeptides de 14 à 45 kDa, résultant d'une protéolyse naturelle au cours de la maturation de la plante. [56]. Selon les études se basant sur des formes naturelles ou recombinantes, cette protéine est

reconnue par 35 à 55% des IgE de sérums de patients allergiques à l'arachide.[57] Ara h5 (profiline) et Ara h7 (albumine 2S) ont également été décrits comme des allergènes mineurs de l'arachide. Ara h 8, la protéine homologue à Bet v 1, l'allergène majeur du pollen de bouleau, a été récemment clonée et est reconnue par 85% des patients qui sont sensibilisés au pollen de bouleau. Ara h9, la protéine de transfert lipidique (LTP) de l'arachide a également été caractérisée récemment comme étant un allergène de l'arachide. Ara h10 et Ara h11, protéines de la famille des oléosines, ont également été décrites comme étant des allergènes mineurs. Cependant, à ce jour, les formes protéiques de ces allergènes n'ont pas été isolées dans la graine. Leur présence naturelle et leur proportion n'ont pas encore été évaluées. [58]

La plupart des allergènes de l'arachide peuvent donc être décrits comme des allergènes majeurs suivant la définition énoncée et les données de la littérature. Ainsi, Ara h1, Ara h2, Ara h6 et Ara h3 sont des allergènes majeurs. De plus, la sensibilisation à un seul allergène de l'arachide est relativement rare. On observe le plus souvent une co-sensibilisation à pratiquement tous ces allergènes. [59]

De nombreux épitopes ont été identifiés sur ces protéines, les IgE des patients allergiques en reconnaissant souvent plusieurs d'un même allergène. Cependant, la comparaison de la réactivité de ces allergènes purifiés semble établir un classement suivant leur potentiel allergénique. Dans ces études, la réactivité est évaluée *in vitro* par la capacité de liaison aux IgE de patients allergiques et dans des tests de dégranulation de cellules effectrices, et *in vivo*, par des tests cutanés chez des patients allergiques. [60]. La majorité des études fait ressortir le fort potentiel allergénique des albumines 2S en dépit de leur faible quantité dans la graine d'arachide (tableau 3).

Les albumines 2S de l'arachide (Ara h2, Ara h6) sont des protéines résistantes à la digestion et aux traitements thermiques. Il a été mis en évidence un noyau central résistant à la digestion par la trypsine et la chymotrypsine, ainsi qu'aux traitements thermiques, et qui possède la même capacité à déclencher la réaction allergique que les protéines intactes. [60]. A l'inverse, la digestion gastroduodénale *in vitro* d'Ara h1 conduit à une dégradation très rapide de cette protéine. [61]. Cependant, il apparaît que les produits de cette digestion sont capables de se lier aux IgE anti-Ara h1, de stimuler la prolifération des cellules mononuclées du sang périphérique et de provoquer une libération d'histamine par les basophiles de patients allergiques aussi efficacement que Ara h1 intacte.[62]. Des travaux complémentaires ont démontré que

certaines peptides issus de la digestion gastrique d'Ara h1 s'organisent en agrégats constitués par l'assemblage de deux à quatre polypeptides de MM d'environ 8 et 11 kDa. [63]. La formation de tels agrégats serait responsable de la préservation du pouvoir déclenchant des digestats d'Ara h1 malgré la disparition de la protéine.

Produced with ScanTOPDF

CHAPITRE II

MATERIELS

ET METHODE

D'ANALYSE

II- MATÉRIELS ET MÉTHODE D'ANALYSE

II-1-Description du matériel biologique

Les graines d'arachides ont été achetées du marché

II-2- Préparation du tourteau de l'arachide

Les graines d'arachide (commerciales), sont d'abord grossièrement pilées. Le broyage est ensuite finalisé à l'aide d'un mixer jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Cette pâte est alors mise en suspension dans de l'éther (1/5, p/v) pendant une minute à température ambiante puis l'ensemble est centrifugé à 4000 g à +4°C pendant 15 minutes. Les lipides de l'arachide présents dans le surnageant sont ainsi séparés de la partie protéique du culot. L'opération de délipidation est répétée après remise en suspension du culot dans de l'éther. Les culots sont ensuite laissés à l'air libre pendant 24 heures pour laisser un maximum d'éther s'évaporer avant de procéder ensuite à l'extraction protéique. [2]

II-3- Extraction des protéines allergènes de l'arachide

II-3-1- Fractionnement d'Osborne (1924)

Le « fractionnement d'Osborne » a constitué très rapidement la référence des méthodes d'extraction et de purification des protéines des plantes. Cette procédure, décrite par Osborne.

en 1924, assemble différentes méthodes d'extraction en un fractionnement séquentiel. Elle s'applique à tout matériel de graines broyées et s'appuie sur les différentes propriétés de solubilité des familles de protéines de plantes.

- Extraction des globulines et des albumines

50g d'arachide délipidée sont placés dans un bécher contenant 500cm³ de NaCl à 0,5M, PH=6. Le contenu est agité pendant 2h à température ambiante puis centrifugé à 3000g pendant 30 minutes à température ambiante, le surnageant résultant est récupéré dans un bécher de 1 litre.

250 cm³ de la solution de NaCl sont ajoutés au résidu de la 1^{ère} centrifugation. Le mélange est agité pendant 1h puis centrifugé dans les mêmes conditions. Le surnageant résultant est ajouté au 1^{er}, l'ensemble est dialysé contre l'eau distillée pendant 24h à (-4° C), puis centrifugé à 4000 g pendant 15 min pour récupérer les albumines et les globulines.

- **Extraction des prolamines**

150 cm³ d'alcool éthylique à 70% sont ajoutés au résidu, le mélange est agité pendant 2h puis centrifugé à 3000g pendant 30 min après centrifugation le culot est resolubilisé dans la même solution d'alcool est centrifugé dans les mêmes conditions, l'ensemble surnageant est dialysé contre l'eau distillée pendant une nuit à froid, puis centrifugé à 4000g pendant 15 min afin de récupérer les prolamines.

- **Extraction des gluténines**

100 cm³ d'acide acétique 0.05M sont ajoutés au culot résultant, l'ensemble est agité pendant 2h puis centrifugé à 3000g pendant 30 min. le résidu qui en résulte est additionné à 50 cm³ d'acide acétique 0.05M, puis agité pendant 1h puis centrifugé dans les mêmes conditions.

Le surnageant est ensuite dialysé contre l'eau distillée pendant 24h (- 4° C), puis centrifugé à 4000 g pendant 15 min afin de récupérer les gluténines solubles dans l'acide acétique. Le dernier résidu représente les gluténines insolubles dans l'acide acétique.

II-4-Détermination des différents paramètres physicochimiques

II-4-1- Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est la quantité d'eau perdue par un produit lorsqu'il est placé en équilibre avec une pression de vapeur d'eau nulle. Elle exprime la mesure en gramme d'eau pour cent grammes d'échantillon. La protéine allergène possédant une masse P₀ est placée dans des petites capsules en verre propres et séchées. Ces dernières sont introduites dans une étuve réglée à 80°C pendant 24 heures. Après étuvage, les capsules sont retirées et placées dans un dessiccateur pour refroidissement. La protéine allergène sèche est pesée jusqu'à masse constante P₁. La teneur en eau est donnée par la relation suivante : [1]

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{(P_0 - P_1) \times 100}{P_0}$$

P₀ : Masse de la protéine allergène avant étuvage (g).

P₁ : Masse de la protéine allergène après étuvage (g).

II-4-2- Détermination du taux de cendres

Les cendres résultent de la pyrolyse des impuretés minérales des composés organiques. Elles représentent fréquemment de quelque % à 10% de la masse d'un charbon, le taux de cendres est mesuré d'après la masse du résidu solide obtenu après combustion du composé organique dans les conditions suivantes:

6g d'arachide broyée sont placés dans un four à 530°C pendant 5 heures.

Le taux de cendres est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Cendres\%} = (M_1 \times 100) / M_0 - W$$

W : taux d'humidité

M₁ : 2^{ème} poids

M₀ : 1^{er} poids

II-4-3- Détermination de la température de dénaturation

Les tubes à essais contenant la protéine allergène en solution sont placés dans un bain marie réglé à 30°C. La température est augmentée progressivement de 1°C chaque 3 minutes jusqu'à la précipitation de la protéine. [2]

II-4-4- Détermination du pH isoélectrique

Aux solutions des protéines allergènes sont ajoutés attentivement et progressivement de l'acide acétique CH₃COOH à 0,1M ou de la soude NaOH à 0,1M jusqu'à la précipitation des protéines. La valeur du pH isoélectrique est indiquée sur le pH mètre préalablement étalonné. [1]

CHAPITRE III

RESULTATS

ET

DISCUSSION

Produced with Scantopdf

III- Résultats et discussion

1- Détermination des paramètres physicochimiques

a- La teneur en eau et taux de cendres

Tableau (III-1) : valeurs des taux d'humidité et de cendres des protéines allergènes de l'arachide.

Paramètre	Résultat
Teneur en eau (%)	16,4
Taux de cendres (%)	0,19

Le tableau (III-1) illustre les résultats concernant les taux d'humidité et de cendres des protéines allergènes de l'arachide.

Le taux d'humidité et de cendre sont respectivement 16,4%, et 0,19%. Il est constaté que l'arachide possède une capacité à retenir de l'eau. Ceci peut être expliqué par la richesse de ces protéines allergènes en acides aminés hydrophiles. L'hydrophilie de ces molécules permet leur passage dans la vapeur de cuisson par conséquent, elle favorise la sensibilisation des muqueuses respiratoires donc la possibilité d'un asthme par allergie alimentaire[64]. Elle maximise leurs propriétés fonctionnelles lors du processus industriels.[65]. On a montré que la teneur en eau dépend de la nature des acides aminés et de la nature des glucides, vu que les protéines sont de nature glycoprotéique ces résultats obtenus concordent avec ceux obtenus par (MAHROUG 2010 et MONDOULET 2005).

Le taux de cendres est un paramètre qui indique le taux de la matière organique et les sels minéraux. Pour le blé, il permet de classer les différentes variétés de farine, concernant l'arachide le taux de cendres ne peut être considéré comme un facteur permettant de spécifier les protéines allergènes. [65]

b- La température de dénaturation et le PH isoélectrique

Tableau (III-2) : résultats des températures de dénaturation et des PHi des protéines allergènes de l'arachide

Protéine allergène	Température de dénaturation (T° C)	le PHi
ALBUMINE	45	5,20
GLOBULINE	55	4,43
GLUTENINE INSOLUBLE	46	4,87
PROLAMINE	40	4,71
GLUTENINE SOLUBLE	38	5,11

Le tableau (III-2) et les figures (III-1) et (III-2) donnent les résultats concernons la température de dénaturation et le PH isoélectrique des protéines allergènes d'origine, albuminique, globulinique, prolaminique, gluténinique solubles et insolubles dans l'acide acétique.

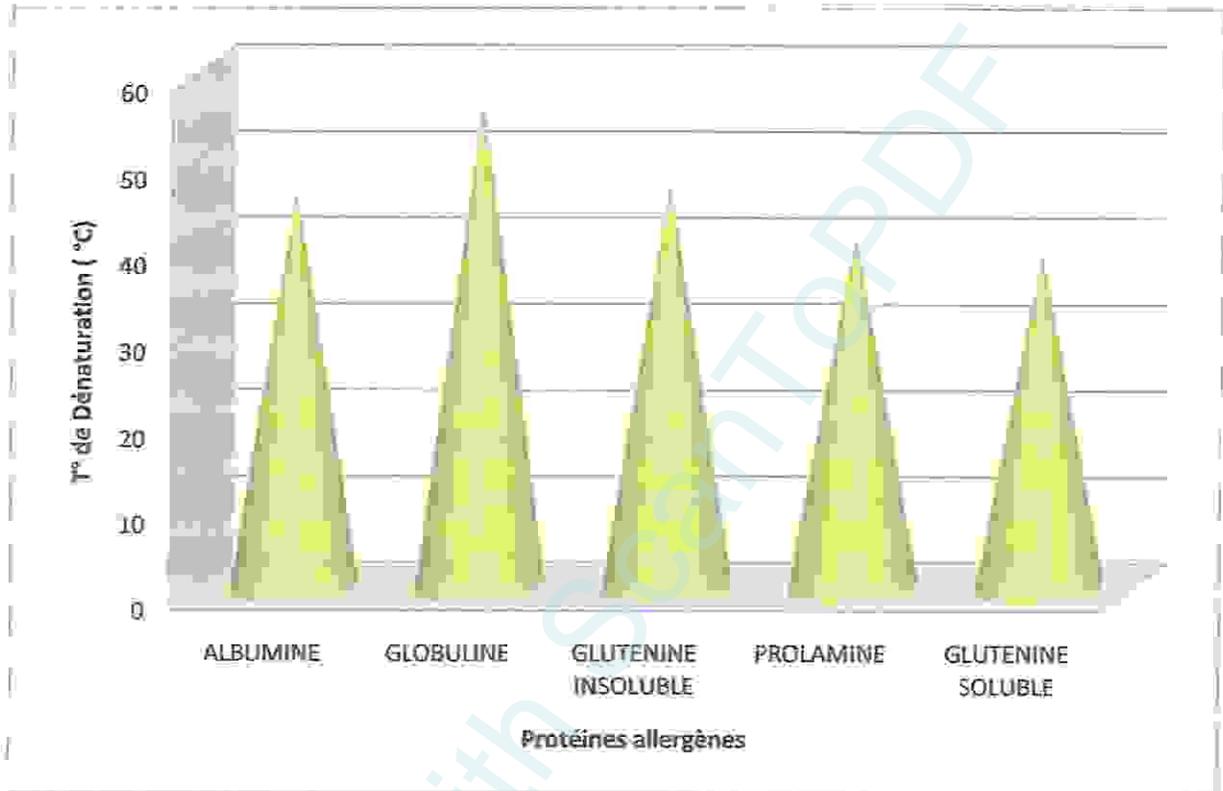


Figure (III-1): Histogrammes des températures de dénaturation des protéines allergènes de l'arachide

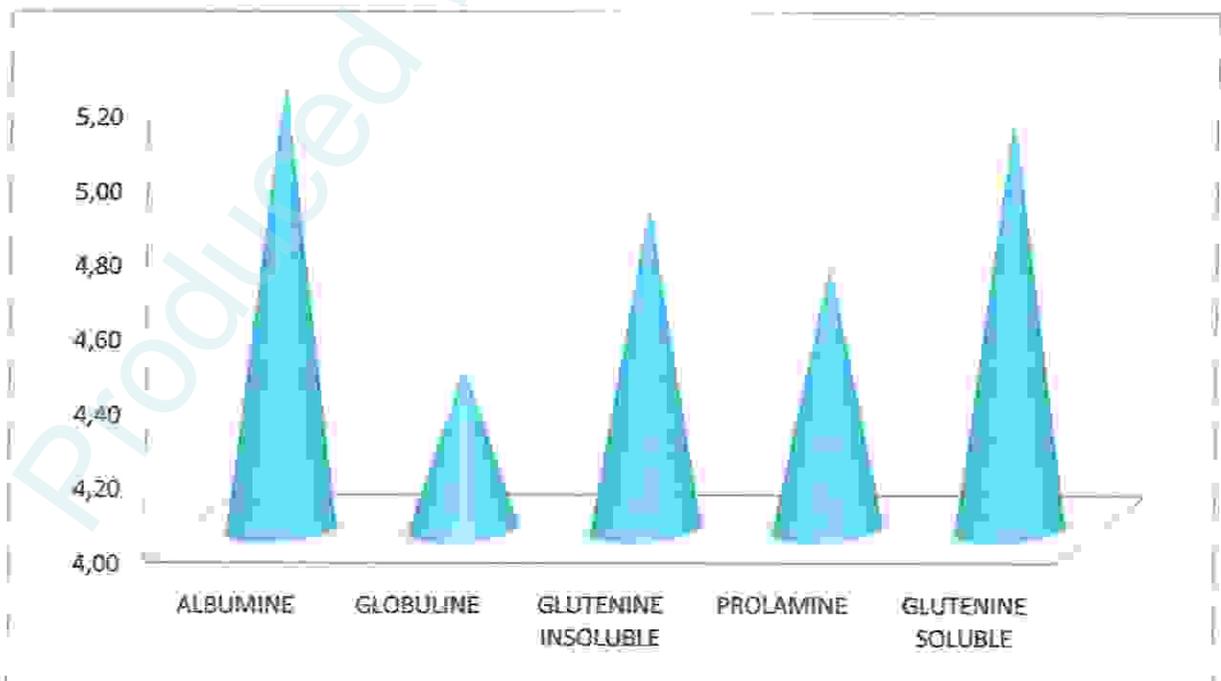


Figure (III-2): Histogrammes des PHi des protéines allergènes de l'arachide

Il a été constaté que la fraction de Globuline possède le PH isoélectrique le plus acide et la température de dénaturation la plus élevée. Les autres protéines présentent un PH isoélectrique acide et presque neutre. Aussi, le PH isoélectrique est proportionnel aux taux des glucides, quand le taux des glucides augmente le PH isoélectrique tend vers l'alcalinité et lorsque le taux des glucides diminue le PH isoélectrique tend vers l'acidité. (Huby 2000).

Il a été difficile d'établir la relation entre les différents PH isoélectrique et les températures de dénaturation, et le taux des protéines et des glucides, vu que ces dernières n'ont pas été dosées par défaut de matériels.

Ces valeurs concordent respectivement avec celle déterminées par (MONDOULET 2005 et CHEFTEL et AL 1985).

Concernant la température de dénaturation ; il est observé que les globulines possèdent la température de dénaturation la plus élevée par rapport aux autres protéines allergènes extraites. Toutes ces protéines sont caractérisés par une résistance à la chaleur et leur allergénicité peut exister même après dénaturation cela explique l'allergénicité constante de ces molécules. Le pouvoir allergénique de ces molécules peut accroître après chauffage c'est à cause d'un démasquage des épitopes par un changement conformationnel au cours du quel les épitopes séquentiels localisés dans des régions hydrophobes apparaissent (WAL, 2005).

Les valeurs de température de dénaturation sont expliquées par le taux des protéines (SANCHEZ et FREMONT 2003). La température de dénaturation ne provoque ni la rupture des liaisons peptidiques ni les liaisons reliant les glucides et les protéines mais elle provoque un changement conformationnel se traduisant par la perte de structure secondaire et tertiaire (FREMONT, 2003).

Des études ont montré l'existence d'une relation entre le PH isoélectrique et la température de dénaturation. Pour les protéines allergènes, lorsque la fraction glyconique est faible, le PH isoélectrique est acide et la température de dénaturation est élevée (HUBY et AL 2000). Ces résultats concernant le Phi et la température de dénaturation concordent avec ceux publiés par HUBY et AL 200 et avec ceux obtenus par (MAHROUG 2010).

Produced with Scantopdf

CONCLUSION

CONCLUSION

Conclusion

L'arachide, *Arachis hypogaea*, est une légumineuse riche en protéines (30%). On la retrouve un peu partout dans notre alimentation mais également dans de nombreux produits non alimentaires tels que les cosmétiques et les denrées pour animaux de compagnie. Ces protéines allergènes sont responsables de réactions d'hypersensibilité peuvent une entraîner une réaction anaphylactique menant parfois au décès. Les globulines et l'albumine, la prolamine, les gluténines solubles et insolubles dans l'acide acétique ont été extraites par des techniques basées sur la solubilisation, la centrifugation et la dialyse. Le pH isoélectrique a été obtenu par pH précipitation. La teneur en eau a été déterminée par différence de pesée et la température de dénaturation par augmentation de la température jusqu'à la précipitation.

Il a été montré que toutes les protéines allergènes étudiées ont des pH isoélectrique acides ou proches de la neutralité. Elles sont caractérisées par une résistance à la chaleur. La température de dénaturation dépend de la quantité de protéines mais ne dépend pas de la quantité de glucides. Lorsque le taux de protéines est important, la fraction glucidique est faible, le pH isoélectrique est acide et la température de dénaturation est élevée. Leur taux de protéines et de glucides exercent la même influence sur le pH isoélectrique mais de façon opposée.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Produced with ScanTOPDF

Références bibliographiques

- [1]. Mahroug Hamida, . Contribution à l'étude de certaines protéines allergènes alimentaires d'origine végétale et détermination de relations entre différents paramètres physicochimique 2001,p .1, 2, 3, 8, 9, 10, 13, 31, 37, 46.
- [2]. Mondoulet, Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide. Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermiques et des processus digestifs, 2005, p. 1, 2, 3, 28, 29, 30, 31, 32, 36,46.
- [3].Pichler, W.J. Delayed drug hypersensitivity reactions. *Ann. Intern. Med.*, 2003,p 139, 683-693.
- [7].Dr NICOLAS BOISSELE, Dr BRIGITTE RANQUE, allergies et hypersensibilité de l'enfant et de l'adulte : aspects épidémiologique, diagnostiques et principes de traitement, 2005 ,p3.
- [10].Godeau P, Herson S, Piette J. *Traité de médecine*. 1996(3ème édition);p833-840.
- [11].Guez S., Masson H., Attout H., Sériés C. ; 2004 : Prise en charge clinique d'une allergie alimentaire *Journal Nutr. Clin. Métabol* ; 18 :p20-24.
- [12].Dutau, G.R., F. Michaud, A. Juchet and Brémont, F, Farines et allergie: les pièges à ne pas méconnaître. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.*, 2003. 42(3): p289-298.
- ✓ [13]. Awatif LIFRANI, 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, 2006, p 25, 30, 31, 33.
- [14]Varjonen, E., et al. Prevalence of atopic disorders among adolescents in Turku,Finland. *Allergy*, 1992. p47, 243-8.
- [15].Kanny, G., et al. Population study of food allergy in France. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2001. 108(1): p. 133-140.
- [16].MoneretVautrin, D.A., et al. Food allergy to peanuts in France - evaluation of 142 observations. *Clinical and Experimental Allergy*, 1998. 28(9): p.1113- 1119.
- [17].Moneret-Vautrin, D.A.k., L, Accidents graves par allergie alimentaire en France: fréquence, caractéristiques cliniques et étiologiques. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.*, 2001. 41(8): p. 696-700.
- [18].Lasley, M., Comprehensive are in the allergy/asthma office. Allergic diseaseprevention and risk factor identification. *Immunol Allergy Clin North Am*, 1999.p. 19 : 149-159.

- [19]. Dutau, G.R., F. Kanny, G. Moneret-Vautrin, D.A. Manifestations cutanées dans l'allergie alimentaire. Résultats préliminaires de l'enquête CICBAA (300 observations) avec référence particulière à la dermatite atopique en Pédiatrie. *Rev fr Allergol*, 1996. P.36: 233-8.
- [20]. Stoger, P. and B. Wuthrich, Type I allergy to cow milk proteins in adults. A retrospective study of 34 adult milk- and cheese-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol*, 1993. 102(4): p. 399-407
- [21]. Ulbrecht, M., et al. High serum IgE concentrations: association with HLA-DR and markers on chromosome 5q31 and chromosome 11q13. *J Allergy Clin Immunol*, 1997. 99(6 Pt 1): p. 828-36.
- [22]. Swert, L.F., Risk factors for allergy. *Eur J Pediatr*, 1999. 158(2): p. 89-94
- [23]. Host, A., S. Husby, and O. Osterballe, A prospective study of cow's milk allergy in exclusively breast-fed infants. Incidence, pathogenetic role of early inadvertent exposure to cow's milk formula, and characterization of bovine milk protein in human milk. *Acta Paediatr Scand*, 1988. 77(5): p. 663-70.
- [24]. Kuitunen, M., E. Savilahti, and A. Sarnesto, Human alpha-lactalbumin and bovine beta-lactoglobulin absorption in infants. *Allergy*, 1994. 49(5): p. 354-60. 24. Kanny, G.M.-V.D., Sergeant P, Hatahet R., Diversification de l'alimentation de l'enfant. Applications au cas de l'enfant de famille atopique. *Médecine et Nutrition*, 1996. 3(32): p. 127-131
- [25]. Montis, G., et al, [Peanut sensitization and oily solution vitamin Preparations]. *Arch Pediatr*, 1995. 2(1): p. 25-8
- [26]. Swert, L.F., Risk factors for allergy. *Eur J Pediatr*, 1999. 158(2): p. 89-94
- [27]. Host, A., S. Husby, and O. Osterballe, A prospective study of cow's milk allergy in exclusively breast-fed infants. Incidence, pathogenetic role of early inadvertent exposure to cow's milk formula, and characterization of bovine milk protein in human milk. *Acta Paediatr Scand*, 1988. 77(5): p. 663-70.
- [28]. Kanny, G.M.-V.D., Sergeant P, Hatahet R., Diversification de l'alimentation de l'enfant. Applications au cas de l'enfant de famille atopique. *Médecine et Nutrition*, 1996. 3(32): p. 127-131
- [29]. Kuitunen, M., E. Savilahti, and A. Sarnesto, Human alpha-lactalbumin and bovine beta-lactoglobulin absorption in infants. *Allergy*, 1994. 49(5): p. 354-60
- [30]. Romagnani, S., T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2000. 85(1): p. 9-18; quiz 18, 21.
- [31]. Marsh, D.G., Goodfriend, L., King, T.P., Lowenstein, H., Platts-Mills, T.A. *Allergen nomenclature*. *Bull. World Health Organ*, 1986, 64, 767-774

- [32].Hoffman D., Lowanstein H., Marsh D.G., Platts-Mills T.A.E., Thomas W. Allergen Nomenclature. International Union of Immunological Societies Allergen Nomenclature Sub-Committee . 1994,p 20,28.
- [33]. Etienne Vervaecke, Fr  rique Martin, Marc Descamps, TOUT SAVOIR SUR LES ALLERGIES ALIMENTAIRES, 2001, p 23.
- [34].Affsa (agence française de sécurité sanitaire des aliments), ALLERGIES ALIMENTAIRES : Etat des lieux et propositions d'orientations, 2002,13P
- [35].Burks, A.W., Cockrell,G., Connaughton,C., Karpas,A., Helm,R.M. Epitope specificity of the major peanut allergen, Ara h II. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995a, 95, 607-611
- [36].Lehrer, S.B., Horner, W.E., Reese,G. Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.*, 1996, 36, 553-564
- [37].Murzin, A.G., Brenner, S.E., Hubbard,T., Chothia,C. SCOP: a structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures. *J Mol. Biol.*, 1995, 247, 536-540
- [38].Rawlings, N.D. et Barrett, A.J. Families of aspartic peptidases, and those of unknown catalytic mechanism. *Methods Enzymol.*, 1995, 248, 105-120
- [39].Adachi.M., Takenaka.Y., Gidamis,A.B., Mikami,B., Utsumi,S. Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer. *J Mol. Biol.*, 2001, 305, 291-305
- [40].Ko, T.P., Ng, J.D., McPherson,A. The three-dimensional structure of canavalin from jack bean (*Canavalia ensiformis*). *Plant Physiol*, 1993, 101, 729-744
- [41].Argos,P., Narayana,S.V., Nielsen,N.C. Structural similarity between legumin and vicilin storage proteins from legumes. *EMBO*, 1985, 4, 1111-1117
- [42].Jacquenot S., Moneret-Vautrin D.A. ; 2007 : Les allergènes de l'arachide et des fruits    coque .*Rev.fr.Allergol.Immunol.Clin* ; 47 : 487-491p
- [43].Breiteneder H.; 2006 : Classifying food allergens in Detecting allergens in food; 2006 .Stef J. ,Koppelman , Sue L. Hefle Ed ; 21-61p
- [41].Van Ree R.; 2002: Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem. Soc.Trans*; 30: 910-913p
- [44].Asero R. ,Mistrello G. ,Roncarolo D. ,Amato S. ,Caldironi G. ,Barocci F. ,Van Ree R. ; 2002: Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant-derived foods: a clinical study. *Allergy*; 57(10):900-906p.

- [45].Berti P. J. ,Storer A .C. ; 1995: Alignment/phylogeny of the papain superfamily of cysteine proteases , *Journal.Mol.Biol* ; 246(2):273–283p
- [46].Bernard H, Mondoulet L, Drumare MF, Paty E, Scheinmann P, Thai R, Wal JM: Identification of a new natural Ara h 6 isoform and of its proteolytic product as major allergens in peanut. *J Agric.Food Chem.* 2007, 55:9663-9669.p
- [47].Barnett D, Baldo BA, Howden ME: Multiplicity of allergens in peanuts. *J Allergy Clin Immunol* 1983, 72:61-68p.
- [48].Burks AW, Williams LW, Helm RM, Connaughton C, Cockrell G, O'Brien T: Identification of a major peanut allergen, Ara h I, in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenges. *J Allergy Clin Immunol.* 1991, 88:172- 179p.
- [49].Kleber-Janke T, Cramer R, Appenzeller U, Schlaak M, Becker WM: Selective cloning of peanut allergens, including profilin and 2S albumins, by phage display technology. *Int.Arch.Allergy Immunol.* 1999, 119:265-274.
- [50].Burks AW, Williams LW, Connaughton C, Cockrell G, O'Brien TJ, Helm RM: Identification and characterization of a second major peanut allergen, Ara h II, with use of the sera of patients with atopic dermatitis and positive peanut challenge. *J Allergy Clin.Immunol.* 1992, 90:962-969p.
- [51].Chatel JM, Bernard H, Orson FM: Isolation and characterization of two complete Ara h 2 isoforms cDNA. *Int.Arch.Allergy Immunol.* 2003, 131:14-18p.
- [52].Bernard H, Paty E, Mondoulet L, Burks AW, Bannon GA, Wal JM, Scheinmann P: Serological characteristics of peanut allergy in children. *Allergy.* 2003, 58:1285- 1292p.
- [53].Tombs MP: An Electrophoretic Investigation of Groundnut Proteins: the Structure of Arachins A and B. *Biochem J* 1965, 96:119-13p.
- [54].Koppelman SJ, de Jong GA, Laaper-Ertmann M, Peeters KA, Knulst AC, Hefle SL, Knol EF: Purification and immunoglobulin E-binding properties of peanut allergen Ara h 6: evidence for cross-reactivity with Ara h 2. *Clin.Exp.Allergy.* 2005, 35:490-497p.
- [55].Rabjohn P, Helm EM, Stanley JS, West CM, Sampson HA, Burks AW, Bannon GA: Molecular cloning and epitope analysis of the peanut allergen Ara h 3. *J Clin Invest.* 1999, 103:535-542p.
- [56].Koppelman SJ, Knol EF, Vlooswijk RA, Wensing M, Knulst AC, Hefle SL, Gruppen H, Piersma S: Peanut allergen Ara h 3: isolation from peanuts and biochemical characterization. *Allergy.* 2003, 58:1144-1151p.
- [47].Bernard H, Paty E, Mondoulet L, Burks AW, Bannon GA, Wal JM, Scheinmann P: Serological characteristics of peanut allergy in children. *Allergy.* 2003, 58:1285- 1292p.
- [58]. Lauer I, Dueringer N, Pokoj S, Foetisch K, Reese G, San Miguel-Monein M, Malet A, Cistero-Bahima A, Enrique E, Viethis S, Scheurer S: Peanut lipid transfer protein (Ara h 9):

expression, characterisation and its biological activity in comparison to the peach LTP, *Prunella*. *Allergy* 2008,3p.

[59].Pons L, Chery C, Romano A, Namour F, Artesani MC, Gueant JL: The 18 kDa peanut oleosin is a candidate allergen for IgE-mediated reactions to peanuts. *Allergy* 2002, 57:88-93p.

[60]. Lehmann K, Schweimer K, Reese G, Randow S, Suhr M, Becker WM, Vieths S, Rosch P: Structure and stability of 2S albumin-type peanut allergens: implications for the severity of peanut allergic reactions. *Biochemical Journal* 2006, 395:463-472p.

[61].Palmer GW, Dibbern DA, Jr., Burks AW, Bannon GA, Bock SA, Porterfield HS, McDermott RA, Dreskin SC: Comparative potency of Ara h 1 and Ara h 2 in immunochemical and functional assays of allergenicity. *Clin.Immunol.* 2005, 115:302-312p.

[62].Eiwegger T, Rigby N, Mondoulet L, Bernard H, Krauth MT, Boehm A, Dehlink E, Valent P, Wal JM, Mills ENC, Szepefalusi Z: Gastro-duodenal digestion products of the major peanut allergen Ara h 1 retain an allergenic potential. *Clinical and Experimental Allergy* 2006, 36:1281-1288p.

[63].Rigby N, Watson A, Mondoulet L, Eiwegger T, Szepefalusi Z, Nielsen K, Madsen C, Adel-Patient K, Bernard H, Wal JM, Mills ENC: Aggregated pepsinolysis products of the major peanut allergen Ara h1 are IgE reactive. *soumis à J Biological Chemistry* 2008,57,123p.

[64].Lehrer S.B. ,Ibanez M.D. ,McCants M.L. ,Daul C.B . ,Morgan J.E. ;1990: Caractérisation of water soluble Shrimp allergens released during boiling. *Journal. Allerg.Clin. Immunol* ; 85 :1005-1013p.

[65].Radauer C., Breiteneder.H. ; 2009 : Structure, allergenicity, and cross-reactivity of plant allergens .Falus A Ed, *Clin .Applic.Immunol*:127-151p.

[64].souiki. contribution a l'extraction et a la caractérisation de certaines protéines allergènes d'origine alimentaire ,2000, 30P

[66].Chatel,J.M., Bernard.H., Orson,F.M. Isolation and characterization of two complete Ara h 2 isoforms cDNA. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2003, 131, 14-18. Chung,S.Y., Butts,C.L., Maleki,S.J., Champagne,E.T.. Linking peanut allergenicity to the processes of maturation, curing, and roasting. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51, 4273-4277p.

Sites Internet

[4].<http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam>

[5].www.fmcgastro.org/default.aspx%3Fpag

[6].<http://www.fmcgastr-org>

[8].<http://www.docstissimo.fr/html/dossiers/allergies/sa-5373-allergies>

[9].<http://www.fra.ac.uk/protall/cover.html>

Produced with ScanTOPDF

Résumé :

L'allergie alimentaire correspond à des manifestations cliniques apparaissent après l'ingestion d'un allergène alimentaire impliquant un mécanisme IgE.

L'arachide fait partie des aliments les plus allergiques, le sujet auquel notre projet se focalise procédant à :

- L'extraction de l'albumine, globuline, prolamine, gluténine soluble et insoluble dans l'acide acétique à partir de l'arachide.

-La détermination de la teneur en eau, taux de cendre, température de dénaturation et le PH isoélectrique.

Il a été déterminé que les protéines allergènes de l'arachide possèdent des PH isoélectriques acides, et une capacité à retenir l'eau permettant aux allergènes le passage par voies respiratoires sous forme de vapeur provoquant ainsi l'asthme, aussi elles présentent des températures de dénaturation élevées qui rendent les protéines allergènes résistantes à la cuisson.

Mots clés : allergie alimentaire, IgE, arachide, protéines allergènes, asthme.

Produced with ScanToPDF

Abstract

Food allergy is the clinical manifestations that appear after ingesting a food allergen involving IgE mechanism.

Peanut is one of the most allergic foods, the subject to which our project focuses conducting:

- The extraction of albumin, globulin, prolamin, glutenin soluble and insoluble in acetic acid from peanut.
- The determination of moisture content, cinder content, denaturation temperature and pH isoelectric.

It was determined that the proteins allergens of peanut possess acidic isoelectric pH, and an ability to retain water allowing allergens passing through respiratory tract as steam causing asthma disease, they also have high denaturing temperatures that make proteins allergenic resistant to heat.

Key words: Food allergy, IgE, peanut, proteins allergens, asthma.

Produced with Scantopdf

ملخص

الحساسية الغذائية هي عبارة عن استجابة مناعية تتميز بتكوين أجسام مضادة من نوع IgE المتخصصة عند الأشخاص الذين لديهم قابلية وراثية للحساسية ضد أحد مركبات الغذاء والذي يسمى الألرجان الغذائي. الحساسية الغذائية تسبب أعراض خطيرة والتي يمكن أن تؤدي إلى الموت.

من بين الأغذية النباتية المسببة للحساسية الغذائية نجد الفول السوداني، وهو موضوع مشروع بحثنا، حيث قمنا بما يلي:

- استخلاص: globuline, prolamine, albumine و Gluténine القابل وغير قابل للانحلال في حمض الأسيتيك.

- تحديد نسبة الاحتفاظ بالماء، نسبة الرماد، درجة حرارة التثوية ونقطة التعادل الكهربائي. تبين أن هذه البروتينات المسببة للحساسية الخاصة بالفول السوداني لها نقطة تعادل كهربائي حمضية، و قدرة احتفاظ بالماء تسمح للألرجينات بالمرور عبر الجهاز التنفسي في هيئة بخار مسببة بذلك مرض الربو، كما أنها تتميز بدرجة حرارة تثوية عالية ما يجعل البروتينات الألرجينات مقاومة للحرارة.

كلمات المفتاح : الحساسية الغذائية ، IgE، الفول السوداني، البروتينات الألرجينات، الربو.