

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université M'hamed Bougara de Boumerdes



Faculté des Sciences
Département de biologie
Spécialité : Biochimie appliquée

Mémoire présenté par :

Mlle GHAIMI Zahia

Mlle NACEF Sara

Pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie appliquée

Thème :

Allergies alimentaires : Extraction et caractérisation des allergènes de certaines recettes traditionnelle maghrébines

Soutenu publiquement le 25/06/2024 devant le jury composé de :

Mme LAHIANI. S

MCA

FS : U.M.B.B

Présidente

Mme ALLALOU. H

MCB

FS : U.M.B.B

Examinatrice

Mme OUKALA. N

MCB

FS :U.M.B.B

Promotrice

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Nous exprimons notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'études et qui nous ont soutenus tout au long de notre parcours universitaire.

Tout d'abord, nous remercions chaleureusement notre promotrice, Madame OUKALA.N, pour sa patience, ses précieux conseils et son accompagnement tout au long de ce travail. Ses remarques et son soutien constant ont été essentiels pour mener à bien ce projet. Nous tenons à remercier toute l'équipe du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine, ainsi que celle de laboratoire de l'Université M'hamedBougara de Boumerdes leur collaboration et leur assistance. Leur contribution a joué un rôle essentiel dans notre parcours académique et professionnel, et nous leur en sommes profondément reconnaissants. Nous adressons également nos remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail, pour leur temps précieux et leurs suggestions qui ont grandement amélioré la qualité de notre mémoire.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu de m'avoir aidé à traverser tout cela. Ensuite, je souhaite me remercier moi-même pour avoir toujours cru en moi, pour tout le travail acharné, les nuits blanches et pour ne jamais avoir abandonné. Je tiens à remercier ma maman pour m'avoir inspirée à devenir la femme forte que je suis aujourd'hui. Je veux remercier mon papa d'avoir été à mes côtés quand j'avais besoin de lui, ainsi que ma sœur Amira pour sa motivation et mon frère Fares.

Un merci spécial et une grande reconnaissance à ma belle chatte Daisy qui est restée à mes côtés durant toutes les nuits blanches d'étude.

Enfin, mais non des moindres, je tiens à dire merci aux personnes que j'aime, ma deuxième famille : Ryma, Sadek, Chayma, Sabrina, Nouha, Maya ,kenza ,Radja, Narimane, Aya, Ibtissem, pour leur amour et leur soutien tout au long de cette période. Sans oublier celles qui ont lutté avec moi, Sara et Lydia, cette réussite ne serait pas possible sans vous à mes côtés.

Zahia

Dédicace

Je Dédie ce travail à

A mes chers parents qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études.

A mes très chers frères billem et Amine et Yacine et ma belle-sœur roumaïssa pour ses soutiens moraux et leur conseils précieux tout au long de mes études.

A tous les membres de la famille NACEF et SAKHRAOUI sans aucune exception.

A mes très chers amies Dounia, Lydia , Hayat ,Loubna avec lequel j'ai passé des bons moments.

A ma chère binôme Dounia pour son amour, sa patience, sa tolérance et pour les bons moments qu'on a partagé pour finir ce travail.

Sara

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Historique.....	4
2. Définition	4
3. Les différents types d'allergies.....	5
3.1. Allergies alimentaires	5
3.2. Allergies respiratoires	5
3.3. Allergies de contact	6
4. Allergies alimentaires.....	6
4.1. Allergie alimentaire et intolérance alimentaire	6
4.2. Classification.....	7
4.2.1. Les allergies alimentaires dépendantes des IgE.....	7
4.2.2. Allergies alimentaires indépendantes des IgE.....	8
4.2.3. Allergies alimentaires mixtes.....	8
4.3. Prévalence et épidémiologie.....	9
4.4. Physiopathologie.....	10
4.5. Facteurs influençant le développement d'une allergie alimentaire.....	11
4.6. Mécanisme de l'allergie alimentaire dépendante d'IgE	12
4.6.1. Première étape : la sensibilisation.....	12
4.6.2. Deuxième étape : la réaction allergique proprement dite.....	12
5. Manifestations et signes cliniques.....	13
6. Diagnostic de l'allergie alimentaire.....	14

7. Les allergènes alimentaires	17
7.1. Définition	17
7.2. Caractéristiques des trophallergènes.....	17
7.2.1. Allergènes majeures.....	18
7.2.2. Allergènes mineurs	18
7.3. Nomenclature des allergènes	18
8. Familles des allergènes alimentaires	19
8.1. Familles d'origines végétales.....	19
8.1.1. Aspects structural et fonctionnels des allergènes alimentaires de la famille ns-LTP	21
8.1.1.1. Définition	21
8.1.1.2.Aspect structurale des allergènes alimentaires de la famille ns-LTP.....	22
8.1.1.3.Aspect fonctionnel des allergènes alimentaires de la famille ns-LTP.....	23
8.2. Familles d'origines animales	23

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Lieu de stage.....	26
2. Objectif de l'étude	26
3. Matériel biologique.....	26
3.1.Origine des différents échantillons.....	26
4.Extraction des protéines.....	27
5.Dosage colorimétrique des protéines tissulaires par la méthode de BRADFORD.....	27
6.Précipitation par l'acide trichloroacétique (TCA).....	28
6.1.Dénaturation des protéines.....	28
7.Electrophorèse SDS-Page	29

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Dosage des protéines solubles.....	31
1.1 Comparaison des rendements en protéines des recettes Algériennes.....	32
1.2 Comparaison des rendements en protéines des recettes Tunisiennes.....	34
1.3 Comparaison des rendements en protéines des recettes Marocaines.....	37
2.Profil électrophorétique des protéines obtenues à partir des recettes Algériennes.....	39
Conclusion et perspective.....	42
Références Bibliographiques.....	44
Résumé.....	48
Abstract.....	48
الملخص.....	48

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : les différents types d'hypersensibilité et la différence entre l'allergie alimentaire et l'intolérance alimentaire.....	7
Figure 2: Classifications de l'allergie alimentaire.....	9
Figure 3 : Estimations basées sur la population de la prévalence actuelle des allergies alimentaires chez les enfants.....	10
Figure 4: Mécanisme des allergies alimentaires.....	11
Figure 5 : Mécanismes de l'allergie alimentaire IgE-dépendante.....	13
Figure 6 : Signes cutané(a) Eczéma des joues (convexités du visage) avec atteinte du pli du cou. (b) Urticaire profonde ou angioœdème de la lèvre inférieure.....	14
Figure 7: Procédures SPT. (a) Préparation au test cutané sur l'avant-bras. (b) Prick-test avec une lancette à travers une goutte d'extrait d'allergène.....	16
Figure 8: Étude des réactions allergiques par test épicutané.....	17
Figure 9 : Structure des allergènes de la famille ns-LTP.....	23
Figure 10: Courbe d'étalonnage	31
Figure 11 : Répartition des quantités de protéines dans les recettes algériennes.....	33
Figure 12: Répartition des quantités de protéines dans les recettes tunisiennes.....	35
Figure 13 : Répartition des quantités de protéines dans les recettes marocaines.....	37
Figure 14: Profil SDS-Page des protéines obtenues de quelques recettes traditionnelles algériennes.....	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Classement dès l'allergie alimentaire selon la gravité.....	14
Tableau II : Nomenclature des allergènes en utilisant rAra h 1.0101 de l'arachide (<i>Arachis hypogaea</i>) comme exemple.....	19
Tableau III : Familles des allergènes alimentaires végétaux.....	20
Tableau IV : Nomenclature des allergènes telle que convenue par le sous-comité de la nomenclature des allergènes de l'OMS/IUIS.....	21
Tableau V : Les 4 familles majeures des allergènes alimentaires d'origine animale.....	24
Tableau VI : Dosage des protéines totales.....	28
Tableau VII : Quantités des protéines totales dans les recettes maghrébines.....	32
Tableau VIII : les composants couramment utilisés dans les plats traditionnels algériens et leurs allergènes associés.....	34
Tableau IX : les composants couramment utilisés dans les plats traditionnels tunisiens et leurs allergènes associés.....	36
Tableau X: les composants couramment utilisés dans les plats traditionnels marocains et leurs allergènes associés.....	38

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Allergies Alimentaires.

Aa : Acide aminé.

Ag : Antigènes

CD4 : Cluster de différenciation 4.

CICBAA : Cercle d'investigations cliniques et biologiques en allergologie alimentaire.

CPA : Cellules présentatrice d'antigène.

DEP : Débit expiratoire de pointe.

EAACI: European Academy of Allergy, and Clinical Immunology.

FcεR1 : Récepteur de haute affinité pour les IgE.

FC : Fragment du complément.

FPIES : Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome (Syndrome d'entéocolite induite par les protéines alimentaires)

GALT: Gut Associated Lymphoid Tissue.

IgE : Immunoglobuline E.

KDa: Kilodaltons

LTP: Lipid Transfer Proteins

MW: Masse moléculaire.

nsLTP : Non Specific Lipid Transfer Proteins.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAF : Facteur d'activation des plaquettes.

PBS : Tampon phosphate salin .

PR-10 : Protéine régulatrice

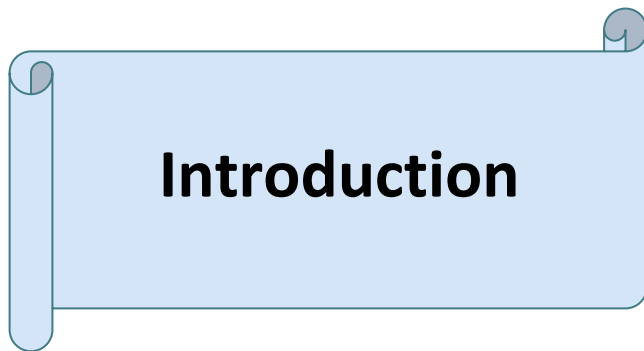
PT: Prick Test.

SDS-PAGE : Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel électrophoresis .

sIgE : Specific Immunoglobuline E

SPT: Skin Prick Test

TCA: Acide trichloroacétique



Introduction

Introduction

Les allergies alimentaires résultent d'une réponse immunitaire spécifique qui se déclenche lors de l'exposition à un aliment particulier (**Martinis *et al.*, 2020**). Elles sont classifiées en différentes catégories selon le mécanisme immunopathogénétique spécifique. Les principales classifications incluent les allergies médiées par les IgE, celles non médiées par les IgE et les réactions mixtes (**Cianferoni et Spergel., 2009**).

Au cours des deux dernières décennies, leur prévalence a significativement augmenté, notamment dans les pays développés (**Calvani *et al.*, 2020**). Ces réactions sont influencées par des facteurs génétiques et environnementaux qui jouent un rôle crucial dans la prédisposition aux allergies alimentaires. Il est couramment observé que les nourrissons et les enfants sont plus susceptibles que les adultes de développer des allergies, probablement en raison de modifications dans leur système immunitaire, ainsi que dans les processus de digestion et d'absorption des aliments (**Sicherer *et al.*, 2020**).

Le diagnostic précis des allergies alimentaires est crucial pour une prise en charge efficace. En effet, la reconnaissance de l'allergie alimentaire permet de mettre en place des stratégies éducatives et de gestion visant à réduire les risques de réactions potentiellement mortelles. Le développement de nouvelles techniques moléculaires pour le diagnostic des allergies alimentaires, sans recourir aux provocations orales et aux tests traditionnels tels que le SPT (Skin Prick Test) est un test diagnostique couramment utilisé pour détecter les allergies et les tests sIgE (Specific Immunoglobuline E) mesurent les niveaux d'anticorps IgE spécifiques dirigés contre des allergènes particuliers dans le sang, représente un domaine de recherche en évolution. Cette section met en lumière les avancées récentes dans ce domaine, suscitant un intérêt croissant pour l'identification et la compréhension des allergènes alimentaires (**Peters *et al.*, 2021**).

Il est important de noter qu'il existe un manque de données spécifiques sur les allergies alimentaires en Algérie, ainsi qu'un déficit en moyens diagnostiques et thérapeutiques adaptés à cette problématique. Notre étude vise à combler cette lacune en fournissant des informations précieuses pouvant contribuer au développement de solutions efficaces pour les personnes souffrant d'allergies alimentaires dans les pays maghrébins et à l'échelle mondiale.

Dans ce cadre, notre projet de recherche vise à explorer les allergènes alimentaires en utilisant une approche multidisciplinaire intégrant l'extraction, le dosage et l'électrophorèse de certains allergènes alimentaires. Notre objectif principal est d'identifier les principaux allergènes présents dans diverses recettes alimentaires traditionnelles, d'évaluer leur potentiel allergénique et d'analyser l'impact de leur présence et de leur allergénicité. Pour atteindre ces objectifs, nous avons utilisé des techniques d'extraction pour isoler les allergènes des échantillons alimentaires, suivies par le dosage colorimétrique et une séparation par l'électrophorèse SDS-Page.

Le premier chapitre de notre étude présente une revue de la littérature couvrant divers aspects des allergies alimentaires. Le deuxième chapitre détaille notre méthodologie, comprenant la description des matériaux biologiques utilisés ainsi que les différentes étapes de notre approche expérimentale. Les résultats obtenus sont présentés dans le troisième chapitre.

Chapitre I :
Rappels
Bibliographiques

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

1. Historique

Tout au long de l'histoire, des cas d'allergies ont été documentés, notamment celui du pharaon Menes, décédé vers 2650 avant notre ère suite à une réaction allergique au venin du "Kheb", terme qui désigne à la fois la "guêpe" ou l'"hyménoptère" (Averty, 2017). En 1903, Von Pirquet a créé le terme "allergie" à partir des racines grecques "allos" (autre) et "ergo" (action), proposant une théorie selon laquelle la présence à la fois d'une substance étrangère (allergène) et de l'hôte contribue au déclenchement de la maladie. En collaboration avec Bela Shick en 1905, Von Pirquet a élucidé la réaction antigène-anticorps, jetant les bases de la compréhension de la maladie sérique. Au cours des quinze années suivantes, une série de découvertes ont conduit au développement de la désensibilisation (immunothérapie) comme traitement des allergies (Roulou, 2013). En 1906, Von Pirquet a fourni une définition plus précise, décrivant l'allergie comme une réponse immunitaire ou un mécanisme caractérisé par une réaction exagérée à un allergène, observée notamment lors de l'immunisation passive contre les maladies infectieuses infantiles avec du sérum de cheval, connue sous le nom de "phénomène de Koch" (Rasoamampianina, 2012). En 1908, Ehrlich a reçu le prix Nobel pour sa découverte des mastocytes, cruciaux dans les allergies, tandis que Schultz et Dale ont mis en évidence le rôle de l'histamine dans l'anaphylaxie la même année (Roulou, 2013). Coca et Cooke en 1911 ont offert la première description de la maladie allergique, la caractérisant comme une réponse exagérée et nocive à une substance après sensibilisation antigénique, déterminée par divers modes d'introduction (Rasoamampianina, 2012). En 1916, Cooke et Vander Veer ont introduit le concept d'un facteur héréditaire dans les maladies allergiques, décrivant des réactions cutanées immédiates chez les patients allergiques courants, tandis qu'en 1919, Maximilien A. Ramirez a rapporté le concept de facteurs de risque transmissibles, appelés "corps anaphylactiques" (Roulou, 2013).

2. Définition

L'allergie est une réaction d'hypersensibilité qui se caractérise par une réponse inhabituelle, inappropriée voire excessive du système immunitaire. Elles survient après un contact initial avec une substance étrangère à l'organisme, appelée allergène. Bien que ces substances soient généralement bien tolérées, nos cellules les perçoivent à tort comme dangereuses. Ainsi, une substance totalement inoffensive pour certains individus peut déclencher une réaction allergique chez une personne sensibilisée (Roulou, 2013).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

L'allergie, issue de mécanismes complexes et déclenchée par une gamme variée de facteurs et se présente sous de multiples formes cliniques. Son spectre englobe divers domaines médicaux et implique une multitude d'organes, tels que les voies respiratoires, les yeux, la peau et le tractus digestif, avec des combinaisons variables selon les individus. Sa diversité se traduit également Par des différences significatives dans sa gravité et son évolution à travers la population (**Zappa, 2016**).

Les allergies, ou réactions allergiques, sont courantes et comprennent les allergies alimentaires, la conjonctivite allergique, les allergies respiratoires, les allergies aux piqûres d'insectes, les allergies médicamenteuses et les allergies cutanées. Les allergies cutanées sont liées à certaines affections, comme l'eczéma et la dermatite de contact. Les allergies sont également associées à l'asthme et à d'autres problèmes respiratoires (**Lloyd, 2020**).

3. Les différents types d'allergies

3.1 Allergies alimentaires

L'allergie alimentaire (AA) est une affection qui se manifeste par une réaction immunitaire à des allergènes alimentaires, principalement des substances protidiques. La réaction allergique peut se présenter sous la forme d'une réaction immédiate médiée par les IgE de type I, selon la classification de Gell et Coombs, ou sous la forme d'une réaction retardée de type IV (**Caimmi, 2021**).

3.2. Allergie respiratoire

Les allergies respiratoires peuvent se présenter sous deux formes : l'asthme allergique et la rhinite allergique :

3.2.1. Rhinite allergique

Affection inflammatoire fréquente et pénible affectant les voies aériennes supérieures et les membranes du nez et des yeux, provoquée par une réaction allergique à un allergène. Une conjonctivite accompagne fréquemment cette affection. Dans ce cas, on parle de rhinoconjonctivite allergique. Cette maladie est souvent associée à l'asthme (**Finizio et Gilder, 2012**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

3.2.2. Asthme allergique

L'asthme est une maladie fréquente et potentiellement mortelle au cours de laquelle les voies aériennes s'enflamment et gonflent. L'asthme allergique est provoqué par l'exposition de la muqueuse bronchique à un allergène en suspension dans l'air inhalé. Cette inflammation provoque également une augmentation de la sensibilité des voies aériennes à divers stimuli (**Finizio et Gilder, 2012**).

3.3. Allergie de contact

Allergie de contact, également appelée dermatite allergique de contact ou eczéma de contact allergique. Elle présente sous forme des lésions courantes telles que l'érythème, le socle œdémateux, ainsi que le développement de lésions vésiculeuses dans la plupart des cas, évoluant vers la formation de bulles dans les formes extrêmes (**Tennstedt et al., 2021**).

4. Allergies alimentaires

4.1 Allergie alimentaire et intolérance alimentaire

Les allergies alimentaires se manifestent de manière récurrente lorsqu'un aliment spécifique provoque une réaction pathogène du système immunitaire (**Sicherer et al., 2020**). Il est important de la distinguer de l'intolérance alimentaire. L'intolérance alimentaire est définie comme une réaction non immunologique provoquée par un aliment ou un composant alimentaire à une dose normalement tolérée, ce qui explique la majorité des désagréments alimentaires (**Tuck, 2019**).

Des distinctions physiopathologiques majeures existent entre l'allergie alimentaire et l'intolérance alimentaire, ce qui entraîne diverses méthodes de diagnostic et choix thérapeutiques, et sont classées en fonction de leur base immunitaire ou non (**Tuck, 2019**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

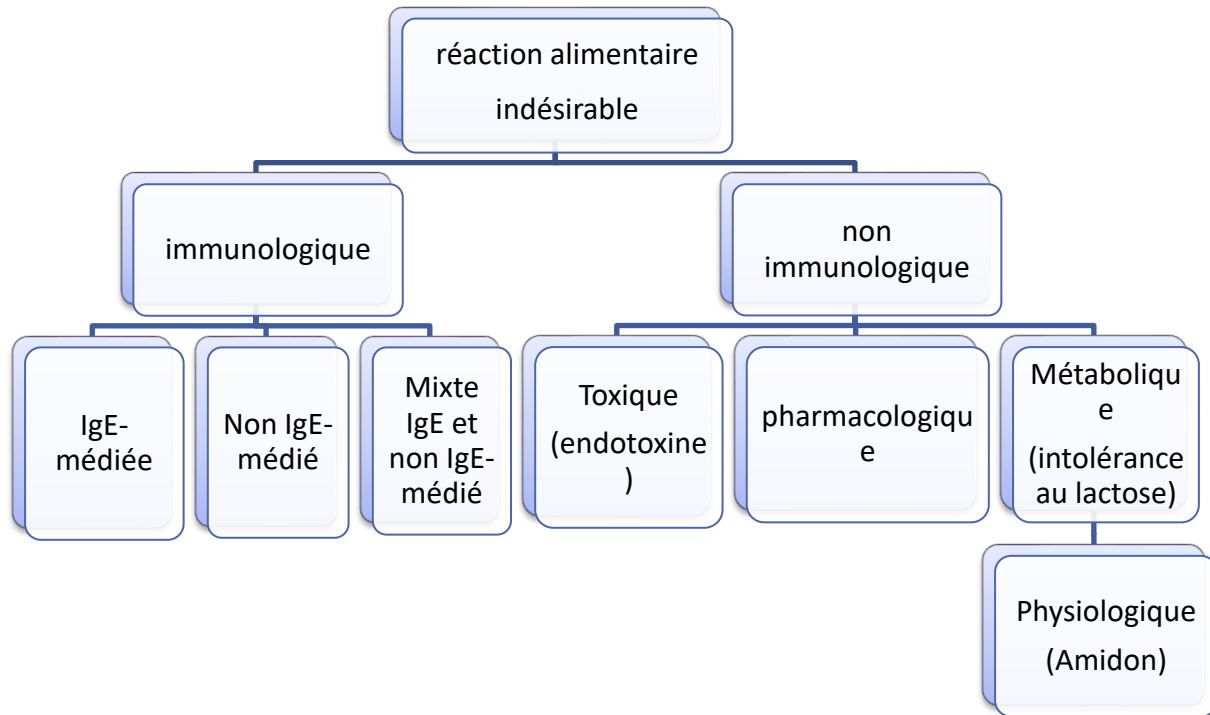


Fig1. Les différents types d'hypersensibilité et la différence entre l'allergie alimentaire et l'intolérance alimentaire (Moisset, 2022).

4.2 Classification

On distingue 3 classes d'allergies alimentaires (Fig 2) (Nemni *et al.*, 2006)

4.2.1. Les allergies alimentaires dépendantes des IgE

Les réactions allergiques médiées par les IgE sont les plus fréquentes, les mieux diagnostiquées et comprises par la communauté scientifique au regard des autres classes d'allergies alimentaires. La présence d'IgE spécifiques de l'allergène alimentaire dans le sérum des patients est caractéristique de ce type d'allergie. Ces Ig sont capables de se lier aux mastocytes ou aux basophiles présentant le récepteur de haute affinité FcεR1 (récepteur de la partie Fc de l'Ig), déclenchant ainsi la libération de médiateurs chimiques responsables de l'apparition des symptômes (Tordesillas *et al.*, 2017).

Les symptômes provoqués sont variés et apparaissent généralement 5 à 30 minutes après l'ingestion de l'allergène. Ils sont observables au niveau de différents organes tels que la cavité buccale, le tractus gastro-intestinal, la peau, les yeux et le système respiratoire. Parfois, une

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

défaillance multi systémique peut se produire conduisant à un choc anaphylactique. Ces symptômes peuvent menacer la vie du patient (**Burks *et al.*, 2019 ; Sicherer et Sampson, 2018**).

4.2.2. Les allergies alimentaires indépendantes des IgE

Les allergies alimentaires non IgE médiées sont bien moins caractérisées que les allergies IgE dépendantes et bien plus difficiles à diagnostiquer. Elles sont induites par des mécanismes de l'immunité cellulaire impliquant des phagocytes, des éosinophiles et des lymphocytes, cependant les mécanismes sous-jacents sont peu décrits (**Boyce *et al.*, 2010**).

Les troubles provoqués par cette réaction apparaissent majoritairement au niveau du tractus gastro-intestinal, par des proctocolites, entérocolites et entéropathies générées par l'ingestion de protéines alimentaires. Ces symptômes apparaissent 2 à 4 heures après ingestion de l'allergène, et peuvent être chroniques ou aigus (**Muraro *et al.*, 2014 ; Sicherer et Sampson, 2018**).

4.2.3. Les allergies alimentaires mixtes

Cette classe d'allergie alimentaire combine des mécanismes impliquant les réactions dépendantes et indépendantes des IgE. A l'heure actuelle, elles sont mal comprises et des études supplémentaires sont indispensables pour comprendre les mécanismes impliqués. La physiopathologie des allergies mixtes engage des dérèglements chroniques et immédiats au niveau cutané, gastro-intestinal, respiratoire et cardiovasculaire. Elles se manifestent par un eczéma associé à une allergie alimentaire et des troubles gastrointestinaux à éosinophiles (**Muraro *et al.*, 2014 ; Nowak-Wegrzyn *et al.*, 2017**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

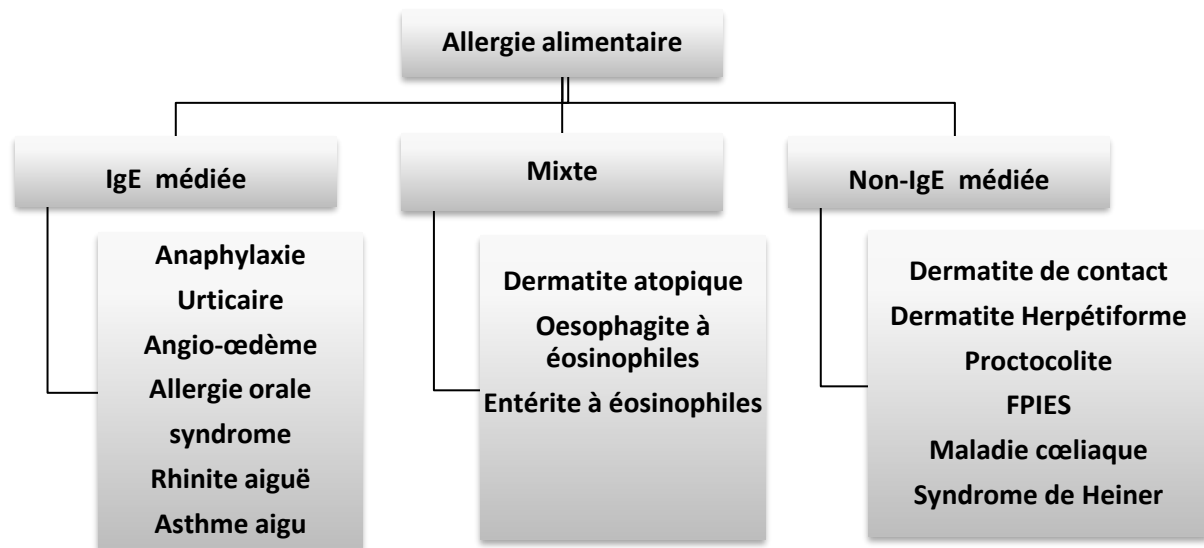


Fig 2. Classifications de l'allergie alimentaire(Cianferoni et Spergel, 2009)

4.3. Prévalence et épidémiologie

D'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les allergies occupent le quatrième rang des maladies chroniques les plus fréquentes dans le monde. Parmi elles, les allergies alimentaires (AA) sont souvent qualifiées de deuxième position, après l'asthme. Elles touchent environ 250 millions de personnes dans le monde (Bonnet *et al.*, 2017).

La prévalence de l'allergie alimentaire (AA) est comprise entre 2 et 3 % dans la population adulte, et entre 5 et 8 % chez l'enfant (Essari *et al.*, 2018). D'autre part, la prévalence des AA a augmenté depuis les deux dernières décennies, plus particulièrement dans les pays industrialisés. Plusieurs études effectuées aux États-Unis, au Royaume-Uni, en Australie et en Chine indiquent une hausse significative de la prévalence d'allergies alimentaires chez les enfants depuis la fin des années 1990 (Dubuc-Fortin *et al.*, 2020). Une banque de données d'origine française (Cercle d'investigations cliniques et biologiques en allergologie alimentaire = CICBAA) indique que l'allergie alimentaire est 4 fois plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte (Nemni *et al.*, 2006) (fig 3).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

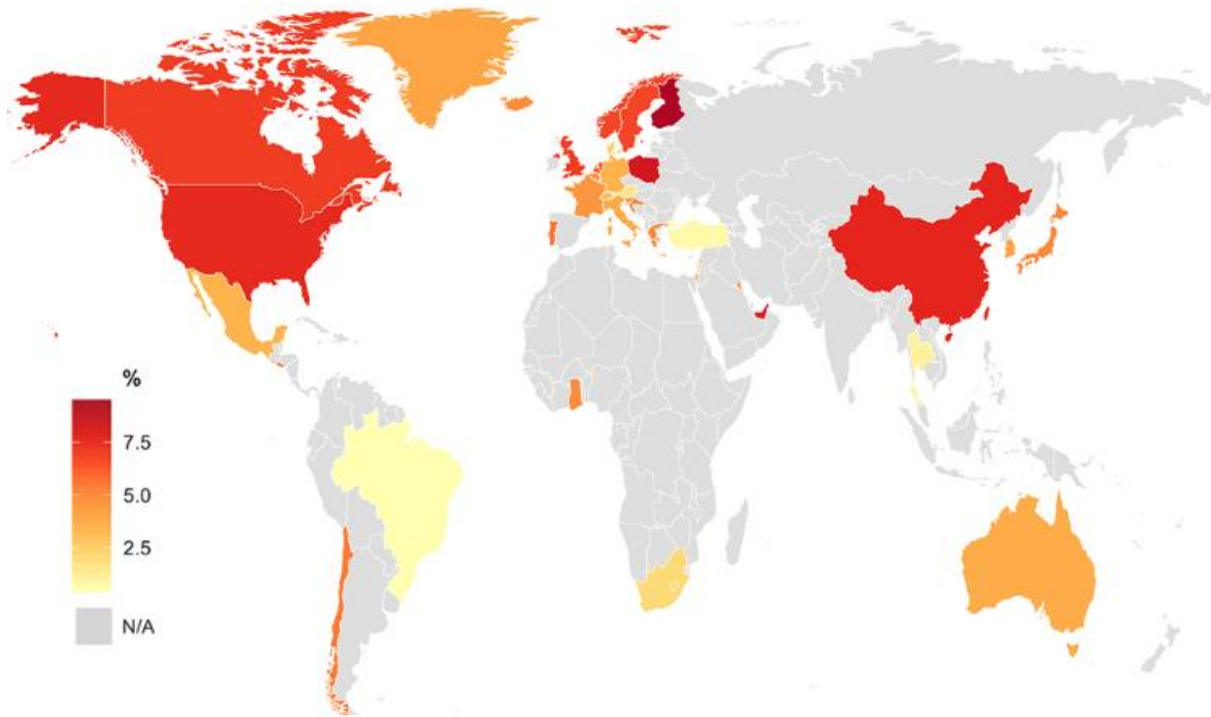


Fig3. Estimations basées sur la population de la prévalence actuelle des allergies alimentaires chez les enfants (**Warren *et al.*, 2020**).

4.4. Physiopathologie

Les substances allergiques d'origines alimentaires (Allergènes) pénètrent dans le système digestif avant de se déplacer vers les ganglions mésentériques. Les sensibilisations se manifestent au sein du système immunitaire digestif (GALT), qui joue un rôle crucial dans la diminution de la tolérance grâce à la flore intestinale. L'allergie fait appel à une synthèse d'immunoglobulines E (IgE) ou à un mécanisme d'activation des éosinophiles, ou encore à une inflammation médiée par les cellules T (**Fig 4**) (**Essari *et al.*, 2018**).

En l'absence de mécanisme immunologique mis en évidence, il s'agit d'une intolérance alimentaire. Le terme utilisé selon la classification européenne est celui d'hypersensibilité non allergique. L'allergie alimentaire est dirigée contre des protéines et non contre les lipides ou les glucides. La nature des protéines est importante pour le pronostic des allergies alimentaires. Les protéines sont formées d'épitopes, linéaires et/ou conformationnels. Les allergies dirigées contre les épitopes conformationnels guérissent plus facilement (**Essari *et al.*, 2018**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

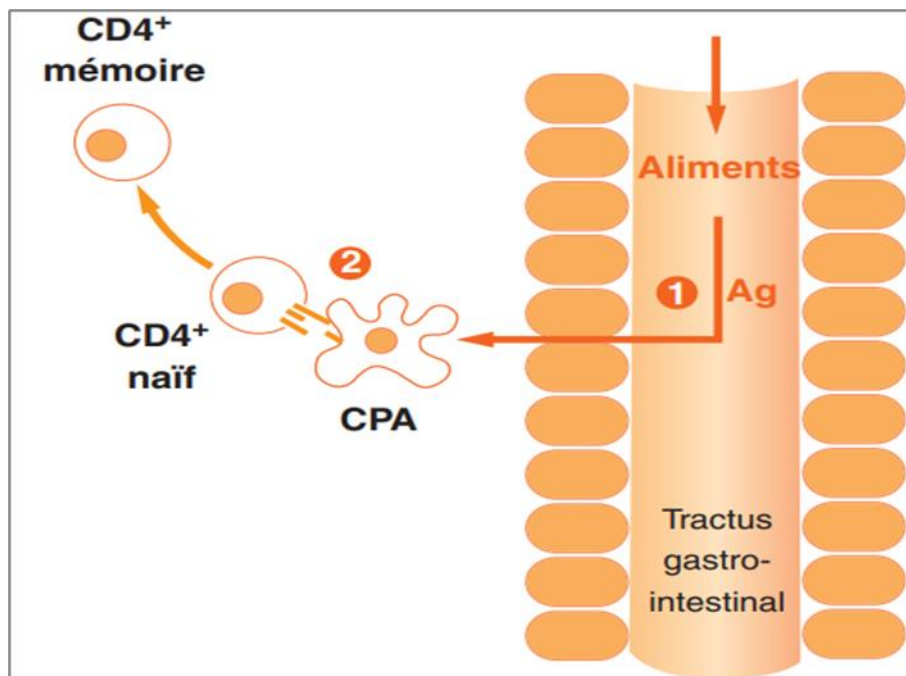


Fig4. Le mécanisme des allergies alimentaires. 1. Passage des allergènes à travers l'épithélium. 2. Endocytose des allergènes par les cellules présentatrices des allergènes (CPA), puis activation des lymphocytes CD4+ naïfs. (Panesar *et al.*, 2013).

4.5. Facteurs influençant le développement d'une allergie alimentaire

Il existe différentes causes de l'allergie alimentaire, qui sont principalement liées à la génétique et à l'environnement. Les allergies alimentaires (80 %) se manifestent principalement chez des familles d'atopiques. D'autres facteurs impliqués, l'âge de la première exposition à l'aliment, la quantité et le type d'aliment, ainsi que la durée d'exposition (Essari *et al.*, 2018).

La tolérance est acquise plus facilement par voie orale, tandis qu'une exposition cutanée ou inhalée favorise le développement d'une allergie alimentaire. Une altération de la barrière cutanée, comme dans le cas d'un eczéma atopique chez le nourrisson, facilite la pénétration des allergènes alimentaires. Les caractéristiques physicochimiques des protéines alimentaires peuvent être altérées par les produits pré-emballés et les techniques agro-alimentaires, ce qui peut les rendre plus allergisantes (Essari *et al.*, 2018).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

4.6. Mécanisme de l'allergie alimentaire IgE-dépendante

Les réactions de type I sont les plus fréquentes. Le mécanisme de la réaction allergique immédiate IgE dépendante s'effectue classiquement en deux étapes (**Fig 5**).

4.6.1 Première étape : la sensibilisation

Le premier contact de l'allergène avec le système immunitaire conduit à la production d'IgE spécifiques. Celles-ci se répartissent ensuite dans l'ensemble de l'organisme, via la circulation sanguine, et se fixent sur des « cellules cibles » de la peau et des muqueuses (mastocytes) ainsi que sur des « cellules cibles » circulantes (polynucléaires basophiles). Cette première étape, appelée phase de sensibilisation, muette cliniquement, prépare l'organisme à réagir de façon immédiate lors d'un second contact avec l'allergène (**Ancellin *et al.*, 2004**).

4.6.2 Deuxième étape : la réaction allergique proprement dite

Lors du second contact avec l'allergène (ou d'un allergène de structure proche dans le cas des allergies croisées), le pontage des IgE spécifiques membranaires active mastocytes et basophiles entraînant la libération de médiateurs chimiques, dont le principal est l'histamine, ainsi que d'autres médiateurs et des cytokines proinflammatoires. Outre leurs effets directs à type de vasodilatation et d'augmentation de la perméabilité capillaire (à la base de l'anaphylaxie), ces médiateurs attirent d'autres cellules (polynucléaires éosinophiles) dans le tissu lésé et favorisent les réponses inflammatoires. 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 (**Ancellin *et al.*, 2004**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

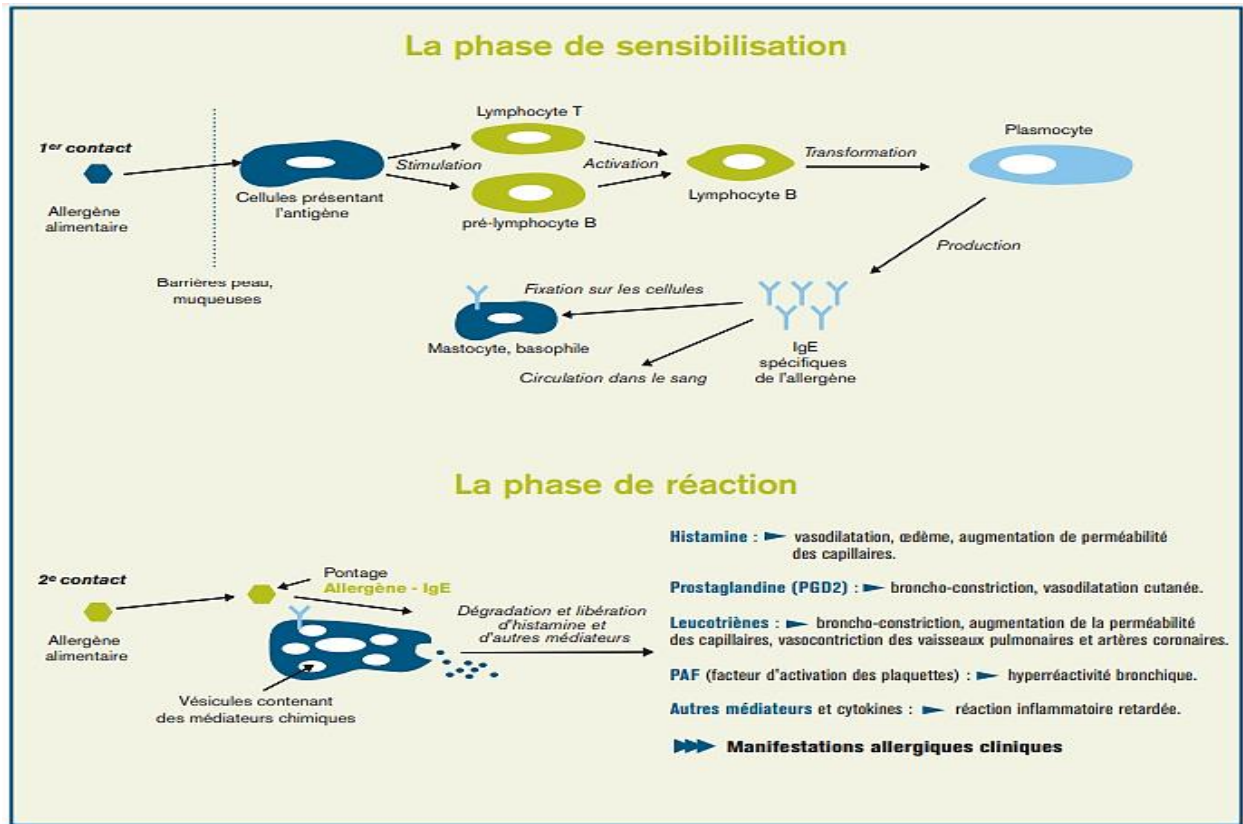


Fig 5. Mécanismes de l'allergie alimentaire IgE-dépendante (Ancellin *et al.*, 2004).

5. Manifestations et signes cliniques

Les signes sont généralement précoces, voire immédiats, au plus dans les 4 heures qui suivent une consommation alimentaire, à l'exception des formes retardées digestives et de l'eczéma, pour lesquelles les signes sont permanents. Les symptômes de l'allergie alimentaire se manifestent fréquemment associés. Tous les organes peuvent être concernés. Parmi les signes digestifs, il peut s'agir d'un syndrome oral d'allergie, de diarrhée, de sang dans les selles, de vomissements, d'un refus alimentaire, d'une faible prise de poids chez le nourrisson, d'une constipation, ou de douleurs abdominales à type de crampes. Les signes respiratoires comportent la gêne respiratoire, les sifflements, la toux, la rhinite ou la rhinoconjonctivite. Le jeune enfant présente des signes cutanés tels que l'eczéma (sévère), le prurit, un rash, une urticaire localisée ou généralisée, ainsi qu'un œdème (Fig 6). Les formes graves comportent l'asthme aigu grave, l'angioœdème laryngé et le choc anaphylactique. Le choc anaphylactique est défini par l'atteinte de deux organes (cutanés et/ou muqueux, et/ou respiratoires, et/ou tachycardie, et/ou digestifs) (Essari *et al.*, 2018).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques



Fig 6. Signes cutanés (a) Eczéma des joues (convexités du visage) avec atteinte du pli du cou , (b) Urticaire profonde ou angioœdème de la lèvre inférieure (**Barbin, 2019**)

Les manifestations d'AA peuvent être classées en fonction de leur gravité (**tableau I**)

Tableau I. Classement dès l'allergie alimentaire selon la gravité(**Essari et al., 2018**).

Grade	Symptôme
Grade 0	Aucun symptôme
Grade 1	Douleur abdominale isolée, disparaissant sans traitement, rhinoconjonctivite, légère urticaire (< 10 papules), rash sur eczéma
Grade 2	Un organe impliqué : douleur abdominale nécessitant traitement, urticaire généralisée, angio-œdème non laryngé, toux ou chute de débit expiratoire de pointe (DEP) < 20%
Grade 3	Deux organes impliqués
Grade 4	Trois organes impliqués ou asthme nécessitant traitement ou angio-œdème laryngé, ou chute tensionnelle accompagnant d'autres symptômes
Grade 5	Symptômes respiratoires et/ou cardiovasculaires nécessitant une hospitalisation en soins intensifs

6. Diagnostic de l'allergie alimentaire

Le diagnostic d'allergie alimentaire médiée par les IgE se fait aux différents stades ce qui permet au patient de vérifier la présence ou l'absence d'allergie alimentaire (AA) et de caractériser l'aliment et l'allergène causal (**Claude, 2016**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

6.1. Tests allergologiques

Le diagnostic et le questionnement font suspecter des mécanismes physiopathologiques et au moins un allergène. Par conséquent, des tests d'allergie tels que des tests cutanés (dépistage clinique) et/ou des tests d'IgE (dépistage biologique) peuvent être envisagés (**Sibilia et al., 2016**).

6.2. Tests cutanés à lecture immédiate

Si une AA est évoquée à la suite de l'histoire clinique, des tests cutanés à lecture immédiate seront réalisés (**Barbin, 2019**). L'objectif de ces tests est d'introduire des allergènes alimentaires sous l'épiderme du patient afin de les mettre en contact avec les mastocytes dermiques. Ils représentent la première étape du diagnostic allergologique (**Barbin, 2019**).

Prick-test (PT)

C'est un examen simple, rapide et très spécifique réalisable dès le premier mois de vie (à conditions d'avoir une peau qui réagisse positivement aux différents témoins tels que phosphate de codéine 9 % et à l'histamine 10 mg/ml). Un témoin négatif permet d'éliminer un dermographisme (La formation d'une papule et d'une rougeur avec le contrôle négatif indique une hypersensibilité de la peau, appelée dermographisme) (**Leelavathi et Adawiyah , 2021**). Les tests cutanés sont effectués après que les médicaments antihistaminiques ont été arrêtés. Le délai nécessaire avant de réaliser ces tests varie en fonction du type spécifique d'antihistaminique utilisé (**Bidat, 2009**).

Une goutte d'allergène est déposée sur la peau, au niveau du bras ou du dos, puis une piqûre est réalisée à travers la goutte de réactif, à 3 cm d'intervalle. La lecture du test est effectuée après dix ou 15 minutes. La plupart des fruits et légumes perdent rapidement leur activité allergénique, et leurs allergènes ne sont pas représentés de façon suffisante dans les extraits commerciaux. Pour cela, on utilisera de plus en plus fréquemment des produits frais ou dits natifs ; le PT consistera donc à piquer dans l'aliment à l'aide de la lancette puis à piquer la peau (prick + prick) (**Bidat, 2009**).

Le test cutané est considéré comme positif lorsque le diamètre d'induration est supérieur à 3 mm (**Bidat, 2009**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

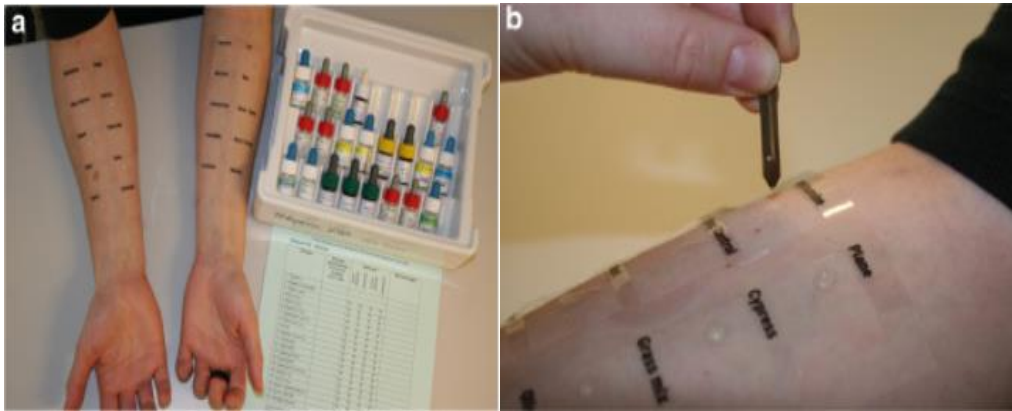


Fig7. Procédures SPT (Skin prick test). (a) Préparation au test cutané sur l'avant-bras. (b) Prick-test avec une lancette à travers une goutte d'extrait d'allergène (**Heinzerling *et al.*, 2013**).

6.3. Tests épicutanés (patches testes)

Le test épicutané est le test de référence utilisé pour détecter la réaction d'hypersensibilité retardée, avec une sensibilité et une spécificité entre 70 et 80%. Une exposition répétée aux allergènes actifs, les lymphocytes T mémorisent et déclenchent une réaction clinique appelée dermatite de contact allergique. Les allergènes courants acquis par contact comprennent les parfums, les conservateurs dans les cosmétiques, le latex, les plantes, les médicaments topiques (comme les antibiotiques et les corticostéroïdes topiques), les métaux (comme le nickel), les adhésifs, les textiles et les colorants capillaires et autre (**Leelavathi et Adawiyah,2021**).

Indications pour le test épicutané

Le test épicutané est particulièrement indiqué dans plusieurs cas: suspicion de dermatite de contact ou dermatite professionnelle où la lésion se situe spécifiquement dans la zone de contact, aggravation de l'eczéma atopique malgré un traitement approprié, dermatite récurrente affectant des zones telles que les lèvres, le visage, les mains, les pieds et le périnée, qui sont fréquemment exposées aux allergènes de contact, ainsi que dans les cas d'eczéma de stase, d'eczéma discoïde et d'eczéma récurrent chronique où aucune cause définitive n'a pu être établie (**Leelavathi et Adawiyah,2021**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

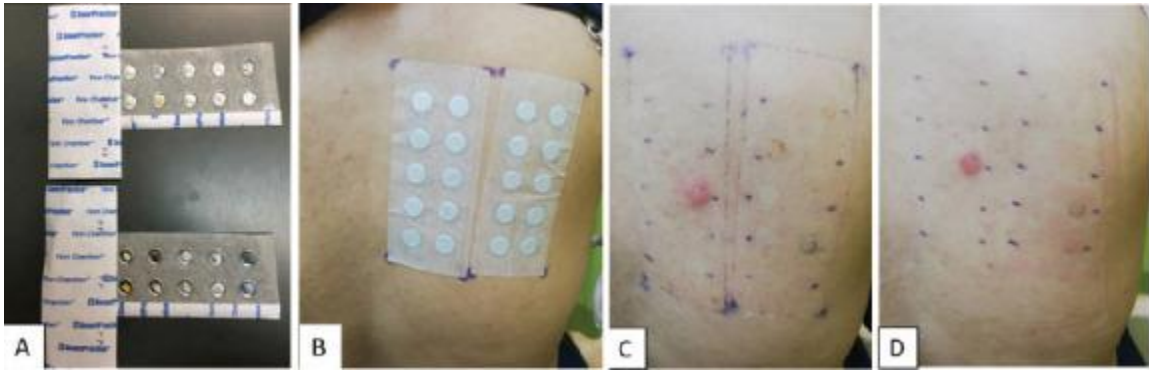


Fig 8. Étude des réactions allergiques par test épicutané (Leelavathi et Adawiyah , 2021).

A : Chambres en aluminium remplies d'allergènes. B : Les allergènes sont appliqués sur le haut du dos avec un ruban hypoallergénique. C : Le résultat du test le jour 3 a montré une réaction positive au nickel. D : Le résultat du test le jour 5 a montré une persistance de la réaction au nickel, tandis que la réaction aux autres allergènes était négative.

7. Les allergènes alimentaires (Trophallergènes)

7.1. Définition

Les allergènes sont définis comme toute substance (antigène) capable de causer une réaction allergique (réponse de système immunitaire). Un allergène dans la majorité des cas des protéines d'origine animale ou végétale (Lezmi et Ponvert, 2021). La connaissance des allergènes alimentaires ou Trophallergènes (terme désignant un allergène ingéré) permet de comprendre les phénomènes allergiques et les conditions du risque allergique alimentaire (Ancellin *et al.*, 2004).

7.2. Caractéristiques des Trophallergènes

Les Trophallergènes ont une origine animale ou végétale. Ils sont essentiellement des glycoprotéines, très rarement de polysaccharides dont la masse moléculaire est comprise entre 10 et 70 kilodaltons (kDa) (Kanny, 2007). À côté de ces antigènes complexes, on observe des molécules connues sous le nom d'haptènes, qui proviennent de l'aliment lui-même, d'un additif autorisé ou d'un contaminant accidentel (Bentenni, 2013).

Certains allergènes sont dits thermostables en raison de leur résistance à la dénaturation thermique. En effet, l'activité allergénique ne diminue pas significativement avec des traitements tels que la cuisson, la pasteurisation, la stérilisation ou le stockage en milieu réfrigéré (Bentenni, 2013).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

L'autre caractéristique des Trophallergènes est de résister aux réactions de protéolyse qui se produisent dans l'appareil digestif pendant la digestion. De nombreux d'entre eux peuvent également supporter des pH modérément acides (**Bentenni, 2013**).

Parmi les substances potentiellement antigéniques présentes dans chaque aliment, des antigènes majeurs et les antigènes mineurs peuvent être distingués :

7.2.1 Allergène majeur

Allergène contre lequel au moins 50 % des individus allergiques sont sensibilisés. Par exemple r Bet v 1 est un allergène majeur du pollen de bouleau car la plupart des individus allergiques à ce pollen sont sensibilisés à cet allergène (**Lezmi et Ponvert, 2021**).

7.2.2 Allergène mineur

Allergène contre lequel moins de 50 % des individus allergiques sont sensibilisés (**Lezmi et Ponvert, 2021**).

7.3. Nomenclature des allergènes

La nomenclature officielle des protéines allergènes est fondée sur la nomenclature binominale linnéenne. Elle a été établie en 1986. Les noms des allergènes sont structurés avec des abréviations indiquant l'origine, le genre et l'espèce de la source, ainsi qu'un code à quatre chiffres spécifiant l'isoallergène (**Tableau II**) (**Radauer et al., 2014 ; Chan et al., 2019**). Donc, les allergènes sont désignés selon leur nom taxonomique : les trois premières lettres du genre, suivies de l'initiale de l'espèce et d'un numéro arabe indiquant l'ordre chronologique d'identification. Par exemple, pour l'arachide (*Arachis hypogaea*) (**Tableau II**), les allergènes sont désignés par Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, etc. (**Rommel, 2012**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

Tableau II. Nomenclature des allergènes en utilisant rAra h 1.0101 de l'arachide (*Arachis hypogaea*) comme exemple (**Rommel, 2012**)

Elément	Exemple	Explication
Origine	r	n : naturel ; r : recombinant ; s : synthétique
Genre	Ara	Premier trois lettres de non de genre
Espèce	h	Premier ou les deux premières lettres du nom de l'espèce
Numéro d'allergène	1	Attribué par ordre chronologique d'identification ou correspondant au nombre d'allergènes homologues des espèces apparentées
Numéro d'isoallergène	01	Groupe de séquences d'allergènes de la même espèce avec >67 mais <90 d'identité de séquence sont définis comme isoallergènes
Numéro de variante	01	Les variantes d'un isoallergène ont >90 d'identité de séquence
Désignation des fragments	(26-84)	Les fragments naturels ou synthétiques sont désignés en utilisant la gamme d'acide aminé avec le non- traité, séquence pleine- longueur comme référence

8. Familles des allergènes alimentaires

8.1. Familles d'origines végétales

Parmi les sources végétales et sur la base de leurs homologies de séquences en relation avec la préservation de leur structure et de leurs fonctions biologiques potentielles, environ 65% des allergènes d'origine végétale appartiennent à quatre grandes familles : les profilines (protéines du cytosquelette, participant au transport intra cellulaire « fruits, légumes »), les PR-10 (« Bet v 2 » pathogenesisrelated protein-10, impliquées dans la réponse contre les pathogènes et les fonctions de reproduction), les protéines de transfert lipidique (LTP, impliquées dans le transfert de phospholipides et la défense) et les protéines de stockage (Cette famille comporte des albumines 2S, globulines 7S et des globulines 11S , vicilline, légumine) (**Tableau III**) (**Lezmi et Panvert, 2013**). Outre les lectines, voire les chitinases, des familles plus douces d'allergènes d'origine végétale ont été découvertes (**Claude, 2016**).

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

Tableau III. Familles des allergènes alimentaires des végétaux (Costa *et al.*, 2020)

	Taille(A A)	Masse moléculaire (KDa)	Fonction biologique (Abondance)	Structure des protéines	Exemple d'allergène (source)
Albumines 2S	130-160	10-18	Protéines de stockage des graines (20-60% selon les espèces)	Hétérodimère tertiaire	Arachide Ara h 6
ns-LTP	100-120	9,5-10,5	Protéines de transport. (pollens, les feuilles, les pelures de fruits (4% des protéines totales)	Monomère tertiaire	Pêche Pru p 3
ATI	120-160 (sous- unité)	12-16 (Sous- unités)	Protéines régulatrices des défense (4 % des protéines totales)	Homodimère tertiaire/quate rnaire	Blé Tri à 28
Prolamines de céréales	430-480 (gliadine) ~380 (PM faible) ~850 (PM élevé)	30-50 (gliadine) 40 (PM faible) 85-90 (PM élevé)	Protéines de stockage des graines. (10-20% de gluténines, 40-50% de gliadines)	Monomère tertiaire (gliadine) Polymère (gluténine)	Blé
Profilines	~130	12-15	Protéines structurelles. (Très abondantes dans toutes les cellules, en particulier dans le pollen).	Monomère tertiaire	Pollen de bouleau Bet v 2
Légumineus es	480-560	360~60 (sous-unité)	Protéines de stockage des graines. (50-70% selon les espèces)11S globulines	Hexamère quaternaire	Soja Gly m 6
Vicilline	500-600	150-190 40-80 (sous- unité)	Protéines de stockage des graines. (~20% selon l'espèce) Globulines 7S	Trimère quaternaire ou homotrimère	Arachide Ara h 1
Protéines PR-10	150-160	15-17	Protéines régulatrices. (Fortement exprimées en cas de stress biotique) Défense	Monomère tertiaire/quate rnaire	
50 allergènes Réactivité croisée pollen- fruit (classe II)					29 allergens Pollen-fruit cross- reactivity (class II)

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

8.1.1 Aspect structurels fonctionnels des allergènes alimentaire végétaux de la famille ns-LTP

8.1.1.1 Définition

Les ns-LTP sont un genre de protéines de transfert lipidique qui font partie de la famille plus large des LTP végétales. Elles se distinguent par leur aptitude à faciliter l'échange de différentes molécules lipidiques entre des membranes naturelles et artificielles *in vitro*. La dénomination « non spécifique » met en évidence leur absence de spécificité de substrat. Selon (Poznanski, 1999), les ns-LTP sont des protéines polyvalentes qui jouent un rôle dans les processus de transfert de lipides chez les plantes, ce qui peut avoir des conséquences pour différentes fonctions biologiques telles que le trafic membranaire, les mécanismes de défense et l'intégrité structurale (Poznanski, 1999).

Tableau IV. Nomenclature des allergènes de la famille ns-LTP (le sous-comité de la nomenclature des allergènes de l'OMS/IUISREF) (Skypala *et al.*, 2021)

Espèces	Allergène	Nom biochimique	MW
<i>Ambrosia Artemisiifolia</i> (armoise)	Amb a 6	Ns LTP1	10 KDa
<i>Apium graveolens</i> (céleri)	API g2	Ns LTP1	9 KDa
<i>Arachishypogaea</i> (Arachide, arachide)	Ara h 16	Ns LTP1	9,8 KDa
<i>Arachishypogaea</i> (Arachide, arachide)	Ara h 17	Ns LTP1	11KDa
<i>Artemisia vulgaris</i> (Armoise, absinthe)	Art v3	Ns LTP1	12 KDa
<i>Asparagus officinalis</i> (Asperges)	Aspa o 1	Ns LTP1	9 KDa
<i>Brassica oleracea</i> (Chou)	Soutien-gorge o 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Cannabis sativa</i> (chanvre indien)	Peut s 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Castanea sativa</i> (châtaignier)	Cas 8	Ns LTP1	9 KDa
<i>Citrus limon</i> (Citron)	Cit 1 3	Ns LTP1	9,6 KDa
<i>Citrus reticulata</i> (Mandarine)	Cit r 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Citrus sinensis</i> (Orange douce)	Cit 3	Ns LTP1	9,46KDa
<i>Corylus avellana</i> (Noisette)	Cor un 8	Ns LTP1	9 KDa
<i>Fragaria ananassa</i> (Fraise)	Fra à 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Helianthus annuus</i> (Tournesol)	Hel un 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Hevea brasiliensis</i> Parahévéa (latex)	Hév b 12	Ns LTP1	9 KDa
<i>Juglans regia</i> (noyer anglais)	Cruche r 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Lactuca sativa</i> (laitue cultivée)	Lacs 1	Ns LTP1	9 KDa
<i>Lens culinaris</i> (Lentille)	Lens c 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Lupinus angustifolius</i> (lupin bleu à feuilles étroites)	Lup un 3	Ns LTP1	11 KDa
<i>Malus domestica</i> (Pomme)	Mal d 3	Ns LTP1	9 KDa
<i>Morus nigra</i> (Murier)	Mor n 3	Ns LTP1	10 KDa
<i>Musa acuminata</i> (banane)	Il faut un 3	Ns LTP1	9 KDa

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

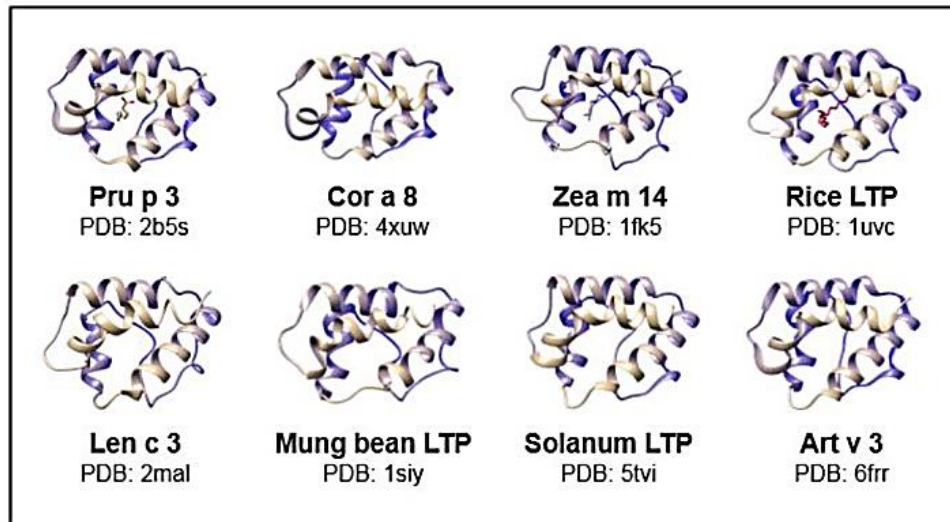
8.1.1.2 Aspect structurel

Les protéines de transfert lipidique non spécifiques (ns-LTP) végétales se caractérisent par une structure unique composée de quatre hélices et d'une terminaison C flexible, maintenues ensemble par des ponts disulfures. Elles possèdent une cavité hydrophobe centrale allongée qui leur permet de lier et de transporter une variété de molécules hydrophobes. (Denise Sy ,2003).

Les ns-LTP extraites de diverses sources végétales, notamment de riz, de blé, de maïs et d'orge, présentent des structures tridimensionnelles similaires. Ces structures se composent de quatre hélices et d'un fragment C-terminal enroulé autour d'une cavité allongée (Poznanski, 1999).

Malgré des modes d'action apparemment similaires, il n'existe aucune homologie de séquence entre les ns-LTP mammifères et végétales, et aucune structure tridimensionnelle n'avait été rapportée pour les ns-LTP végétales (H Shin, 1995).

Fig9. Structure des allergènes de la famille ns-LTP (European Academy of Allergy, and Clinical Immunology (EAACI)).



8.1.1. 3 Aspects fonctionnels

Bien que la fonction biologique exacte des ns-LTP reste débattue, on sait qu'elles catalysent le transfert de lipides *in vitro*. Cependant, il n'est pas clair si cette activité se traduit directement par une fonction similaire *in vivo*. Certaines fonctions proposées incluent la facilitation du transport

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

de monomères de cutine à travers la matrice extracellulaire et pourraient potentiellement servir de mécanismes de défense contre les pathogènes en raison de leurs activités antifongiques. Malgré des plis globaux similaires, les ns-LTP peuvent varier dans leur capacité de liaison aux lipides et dans leurs interactions avec les structures lipidiques. Cette variabilité est influencée par la composition en acides aminés de la cavité interne et par des variations subtiles dans les éléments de structure secondaire. Comprendre cette variabilité grâce à une analyse structurale contribue à une meilleure compréhension de leurs fonctions diverses (**Poznanski, 1999**).

8.2. Familles d'origine animale

Plus de 60 % des allergènes d'origine animale ont été regroupés en trois grandes familles : les tropomyosines (Crustacés, mollusques), les parvalbumines (le poisson) et les caséines (le lait). D'autres familles d'allergènes mineures ont également été identifiées, notamment les lipocalines, les lysozymes, les transferrines, les serpinines (Euf) et arginine kinase (**Tableau V**) (**Claude, 2016**).

Tableau V. Les 4 familles majeures des allergènes alimentaires d'origine animale d'après (**Costa et al., 2020**).

	Tropomyosines	Parvalbumines (β)	Arginine kinases	Caséines
Taille (AA)	~284	~109	355-357	190-224
MW (KDa)	34-38	11-12	40-45	20-30
Fonction biologique	Structurelle	Structurelle	Enzymatique /Réglementaire	Réglementaire
Structure des protéines	4D Homo- /hétérodimère (bobine enroulée)	3D Monomère Globulaire	3D Monomère	Typiquement 2D Micelles de caséine (4D)

Chapitre I : Rappels Bibliographiques

Chapitre II :

Matériels et Méthodes

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1. Lieu du Stage

Les travaux de cette étude sont réalisés dans deux laboratoires différents une partie a été réalisée au sein de laboratoire d'analyse alimentaire du CRBT (centre de recherche en biotechnologie) de Constantine pour la période allant de 02 Mars jusqu'au 14 Mars et de 03 Juin jusqu'au 06 Juin et la deuxième partie au laboratoire de biologie moléculaire de l'université M'Hamed Bougara Boumerdes pour la période allant le 14 Avril jusqu'au 30 Mai.

II.2. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est d'explorer et de caractériser les allergènes alimentaires présents dans différentes recettes à l'aide d'une approche multidisciplinaire intégrant des techniques d'extraction, de dosage et de séparation par d'électrophorèse .

II.3. Matériel biologique

3.1. Origine des différents échantillons

Les échantillons sont des recettes alimentaires (25 recettes) d'origines Maghrébines (Algérie, Maroc et Tunisie).

Les recettes ont été préparées selon 2 étapes : lyophilisation et broyage

- Lyophilisation : la lyophilisation est un processus par lequel l'eau est extraite d'un corps congelé (l'échantillon) en convertissant l'eau à l'état glace en eau à l'état gazeux (Vapeur) sans passer par la formation de l'eau liquide (le principe est l'absorption de chaleur par l'échantillon congelé dans le but de vaporiser l'eau, puis l'utilisation d'une pompe à vide pour aspirer les rejets de vapeur d'eau issus de la surface de l'échantillon) .

- Broyage : Pour préparer les échantillons, un broyage mécanique a été utilisé. Les échantillons ont été broyés dans un broyeur à mortier puis répartis dans des tubes Eppendorf, chaque tube contenant de 1.5 ml de matière (sèche ou humide).

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.4. Extraction des protéines

L'extraction des protéines (allergènes) est réalisée par ultrasons en utilisant le tampon PBS (Phosphate Buffer Saline) (annexe X). Pour chaque échantillon le tampon (PBS) a été ajouté en raison de (2/1 V/W) puis homogénéisés et incubés à 4°C pendant 2h. Par la suite, les mélanges sont centrifugés à 13000 tr/min pendant 30 à 60 min et les surnageants contenant les protéines sont récupérés dans des tubes Eppendorf. Les extrais obtenus sont conservés à 20°C pour des analyses subséquentes

II.5. Dosage colorimétrique des protéines tissulaires par la méthode de BRADFORD

Après l'étape d'extraction, un dosage des protéines a été réalisé par spectrophotométrie en utilisant la méthode de BRADFORD. 100µl du surnageant de chaque échantillon est mélangé avec 1.4 ml de solution BRADFORD. Les mélanges sont laissés reposer pendant 5 à 15min maximum. La densité optique est mesurée à 595 nm, contre le blanc (contenant 0,1ml eau distillée et 1,4ml solution BRADFORD)

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement préparée en utilisant une gamme étalon d'albumine sérique bovine.

- **Préparation de la gamme d'étalonnage**

Une gamme d'étalon est réalisée dans 6 tubes contenant des concentrations croissantes de BSA (tableau VII). Pour chaque tube un volume de 1,4 de solution BRADFORD a été additionné. Après homogénéisation, les tubes sont laissés reposer pendant 15 mn à la température ambiante par la suite, la densité optique a été mesurée à 595 nm.

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Tableau VI. Dosage des protéines totales: réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Volume d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (mL)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Quantité d'albumine (µl)	0	2	4	6	8	10

II.6. Précipitation par l'acide trichloroacétique (TCA)

La précipitation par acide trichloroacétique (TCA) est une méthode couramment utilisée en biochimie pour concentrer les protéines à partir de solutions diluées, surtout lorsque les protéines sont présentes à de faibles concentrations et que des quantités plus importantes sont nécessaires pour les analyses. Pour cette méthode, une solution d'acide trichloroacétique à une concentration de 20 % (p/v) est préparée. Les échantillons sont ensuite ajustés à un volume total de 180 µl, et 20 µl de TCA ont été ajoutés à chaque tube contenant les protéines. Les échantillons sont ensuite incubés à basse température (4°C) pendant 30 minutes pour permettre la précipitation des protéines. Après cette étape, les échantillons sont centrifugés à haute vitesse (environ 13,000 g) pendant 30 minutes. Le surnageant est délicatement retiré sans perturber le culot de protéines.

Pour laver le culot de protéines, 200 µl d'acétone glacée sont ajoutés à chaque tube, permettant ainsi d'éliminer les impuretés. Ensuite, le surnageant est éliminé et les tubes sont laissés sécher à 37°C pour évaporer toute trace d'acétone résiduelle.

II.6.1. Dénaturation des protéines

Les échantillons ont été dénaturés par l'exposition à une température de 100 °C pendant 5 minutes dans un bain-marie. Le traitement thermique permet de perturber les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines. En dénaturant les protéines, nous avons facilité leur séparation sur le gel lors de l'électrophorèse, car les protéines dénaturées adoptent une conformation linéaire plus uniforme et sont plus facilement

Chapitre II : Matériels et Méthodes

séparées en fonction de leur poids moléculaire. Cette étape de dénaturation est importante pour la précision et la fiabilité des résultats obtenus par électrophorèse.

II.7. Electrophorèses SDS-page

Après le dosage, une séparation des protéines en fonction de leurs poids moléculaire a été réalisée. La composition protéique est caractérisée par migration électrophorétique en gel de polyacrylamide en présence de SDS (Agent dénaturant des protéines).

Préparation de l'échantillon pour électrophorèse

Les extraits protéiques dans chaque échantillon sont standardisés 30 µg de protéines dans 12 µl de solution. Par la suite 6 µl du tampon sont ajouté à chaque échantillon pour obtenir un volume total de 18 µl. Une centrifugation à 13000 rpm pendant 30 secondes a été effectuée ensuite. Échantillons sont ensuite incubés dans un bloc chauffant sec à 90 °C pendant 5 minutes et centrifugés à nouveau à 13000 rpm pendant 30 secondes. Enfin, tous les échantillons sont conservés à -20 °C.

- **Condition de séparation par Électrophorèse**

En principe, le gel de l' SDS page est composé de deux gels ; un dit préparatif (opper) et un autre dit séparatif (lower) (annexe ,,,). Après solidification, le gel est rincé à l'eau distillée puis humidifié et conservé au frigo pour une utilisation ultérieure.

A partir des échantillons préalablement préparés nous avons délicatement pipeté 5 µL d'échelle et 18 µL d'échantillon dans chaque puits. Nous avons ensuite branché l'alimentation électrique et réglé le voltage à 170 V. L'électrophorèse s'est déroulée pendant une heure jusqu'à ce que la ligne bleue se rapproche du bas du gel, indiquant la fin du processus

- **La coloration au Bleu de Coomassie**

Une solution de coloration est préparée en ajoutant 0,1 % de Bleu de Coomassie (BBC-R250) dans 40 % d'éthanol et 10 % d'acide acétique. Après l'électrophorèse, le gel est placé dans un bac contenant 100 ml de solution de coloration au Bleu de Coomassie. On a laissé incubé à température ambiante pendant une heure jusqu'à ce que les bandes soient visibles. Ensuite, on a retiré la coloration et on a rincé le gel une fois à l'eau déionisée. Pour finir, on a préparé une solution de décoloration en mélangeant 10 % d'éthanol et 7,5 % d'acide acétique dans 100 ml d'eau. La décoloration est laissée toute la nuit pour assurer une bonne clarté des bandes.

Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

III. Résultats et discussions

III.1. Dosage des protéines solubles

Les protéines (allergènes) présentes dans les recettes étudiées ont été extraites et dosées en utilisant la méthode de dosage de Bradford.

La quantification des protéines obtenues est réalisée par extrapolation sur la courbe d'étalonnage préparée préalablement en utilisant le sérum albumine bovin (BSA) (Bradford) (**fig10**).

- **La courbe d'étalonnage**

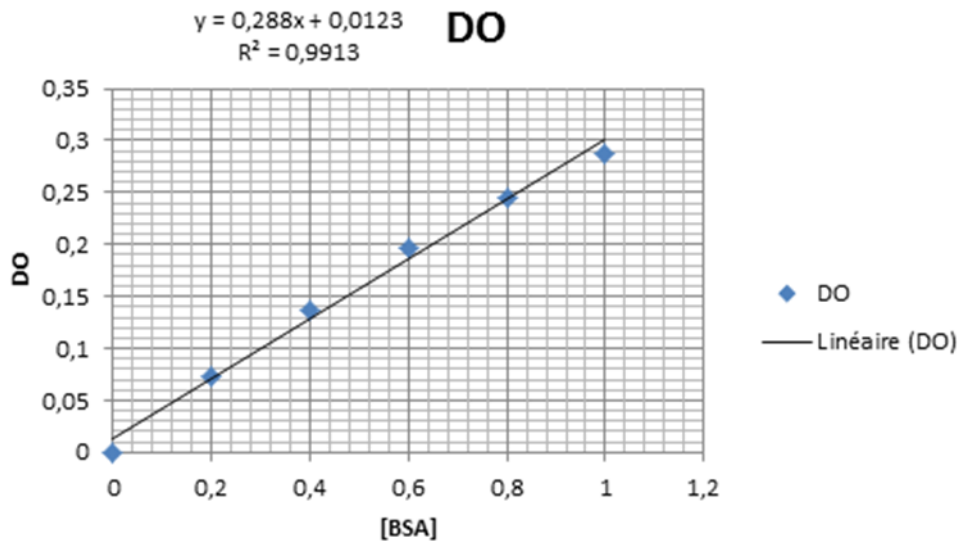


Fig10. courbe d'étalonnage .

Les données relatives aux quantités des protéines totales extraites à partir de chaque recette sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau VII : Quantités des protéines totales dans les recettes maghrébines

Recettes Algériennes	µg/g de MS	Recettes Tunisiennes	µg/g de MS	Recettes Marocaines	µg/g de MS
R1	252,00	T1	108,02	M1	403,00
R2	102,00	T2	390,00	M2	232,00
R3	363,00	T3	189,00	M3	594,00
R4	363,00	T4	105,00	M4	152,00
R5	246,00	T5	172,74	M5	232,00
R6	370,00	T6	68,00	M6	938,00
R7	986,00	T7	109,00	M7	166,00
R8	768,00	T8	605,00	M8	12,00
R9	768,00				

Les résultats obtenus montrent des variations dans les quantités de protéines extraites des différentes recettes alimentaires.

Les recettes marocaines montrent une variabilité remarquable en termes de teneur en protéines, s'étendant de 12,00 µg/g de MS pour M8 à 938,00 µg/g de MS pour M6. En comparaison, les recettes traditionnelles algériennes présentent une gamme de teneurs en protéines, avec des valeurs allant de 102,00 µg/g de MS pour R2 à 986,00 µg/g de MS pour R7. Quant aux recettes traditionnelles tunisiennes, elles montrent des concentrations variant de 68,00 µg/g de MS pour T6 à 605,00 µg/g de MS pour T8.

1.1 Comparaison des rendements en protéines des recettes algériennes

Les échantillons R7 (986,00 µg/g MS) et R9 (768,00 µg/g MS) et R8 (768,00 µg/g MS) montrent les quantités les plus élevées de protéines parmi tous les échantillons analysés. Les échantillons R6 (370,00 µg/g MS), R1 (252,00 µg/g MS) et R5 (246,00 µg/g MS) présentent également des quantités moyennes de protéines. L'échantillon R2 (102,00 µg/g MS) montre la quantité la plus faible de protéines parmi les recettes algériennes.

Chapitre III : Résultats et Discussion

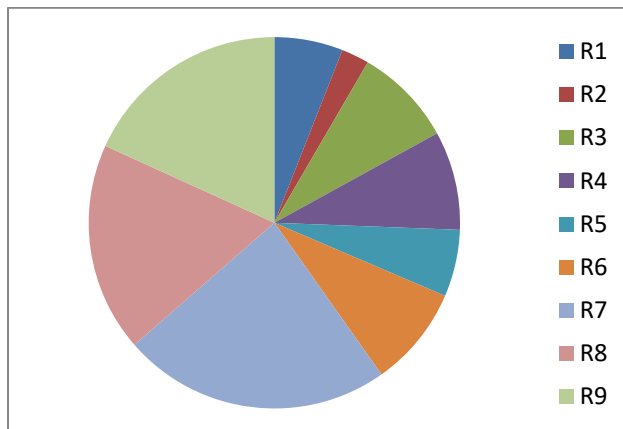


Fig11 . Répartition des quantités de protéines dans les recettes algériennes.

Les échantillons R7, R8 et R9 se distinguent par leurs concentrations élevées en protéines parmi toutes les recettes algériennes étudiées, en raison de la présence de divers composants riches en protéines et contenant plusieurs allergènes alimentaires. Par exemple, l'échantillon R7, qui contient de la viande, est associé aux allergènes de la viande de bœuf (Bos d 1, Bos d 10, Bos d 11, Bos d 12, Bos d 2). Quant à l'échantillon R9, il inclut des œufs, des noix et d'autres ingrédients, associés aux allergènes des œufs (Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4, Gal d 5) et des noix (Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Jug r 5).

Les échantillons R6 (contenant de l'huile d'olive), et R1 (contenant de huile d'olive, poulet et oignon) présentent également des concentrations importantes de protéines. L'huile d'olive est associée aux allergènes de l'huile d'olive (Ole e 1, Ole e 10, Ole e 11, Ole e 12, Ole e 13), tandis que le poulet est lié aux allergènes du poulet (Gal d 1, Gal d 10, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4) et l'oignon à l'allergène de l'oignon (All c 3).

Les recettes R5 et R2 présentent des quantités de protéines plus faibles, avec des ingrédients tels que l'huile, l'ail, le persil et d'autres. Chaque source alimentaire utilisée dans ces recettes est associée à plusieurs allergènes alimentaires spécifiques, tels que l'allergène de l'ail (All s Alliin lyase), et les allergènes du persil (Pet c 1, Pet c 2, Pet c 3).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau VIII .les composants couramment utilisés dans les plats traditionnels algériens et leurs allergènes associés.

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	Allergènes
Ail		X	X	X	X					All s Alliin lyase
Pois chiches	X	X	X	X						Cic a 1, Cic a 10, Cic a 3, Cic a 4, Cic a 6
Huile d'olive	X	X	X	X		X				Ole e 1,Ole e 10, Ole e 11,Ole e 12,Ole e 13
Tomate				X						Sola l 1, Sola l 2, Sola l 3, Sola l 4, Sola l 5
Oignon	X	X	X	X	X					All c 3.
Poivre		X		X	X					Pip n 14kD, Pip n 28kD
Persil					X					Pet c 1, Pet c 2, Pet c 3
Pomme de terre	X									Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Sola t 8
Poulet	X	X			X					Gal d 1, Gal d 10, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4
Œuf			X					X	X	Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4, Gal d 5
Viandede bœuf			X				X			Bos d 1,Bos d 10, Bos d 11,Bos d 12, Bos d 2
Noix									X	Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Jug r 5

1.2 Comparaison des rendements en protéines des recettes Tunisiennes

Les échantillons T8 (605,00 µg/g MS) et T2 (390,00 µg/g MS) affichent les quantités les plus élevées de protéines parmi les recettes tunisiennes. Les échantillons T3 (189,00 µg/g MS), T1 (108,02 µg/g MS) et T5 (172,74 µg/g MS) montrent des concentrations de protéines modérées. Par

Chapitre III : Résultats et Discussion

contre, les échantillons T4 (105,00 µg/g MS), T7 (109,00 µg/g MS) et T6 (68,00 µg/g MS) présentent les quantités les plus basses de protéines parmi les recettes tunisiennes.

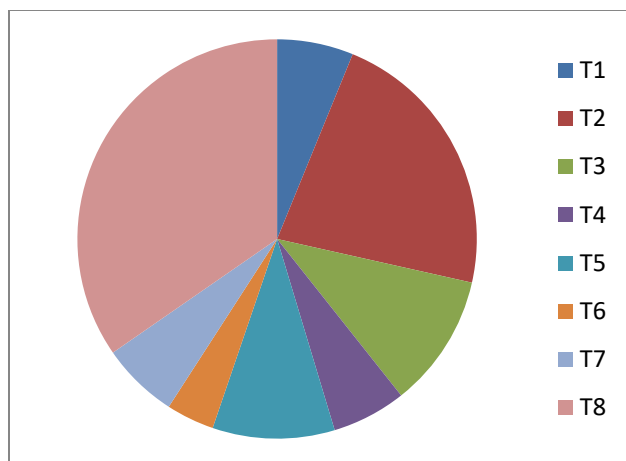


Fig 12 . Répartition des quantités de protéines dans les recettes tunisiennes.

Les échantillons T8 (contenant des œufs) et T2 (à base de viande, tomate et huile d'olive) présentent les concentrations les plus élevées en protéines parmi les recettes tunisiennes, avec une diversité d'ingrédients qui incluent plusieurs allergènes alimentaires. Par exemple, T8 est associé aux allergènes des œufs (Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4, Gal d 5), tandis que T2 contient de la viande de bœuf (Bos d 1, Bos d 10, Bos d 11, Bos d 12, Bos d 2) et de l'huile d'olive (Ole e 1, Ole e 10, Ole e 11, Ole e 12, Ole e 13).

En revanche, les échantillons T3 et T5, composés notamment d'ail, de poivre, de pomme de terre et d'autres ingrédients, montrent des niveaux de protéines plus modérés, bien que chaque ingrédient puisse être associé à des allergènes spécifiques comme l'allergène de l'ail (All s Alliin lyase), du poivre (Pip n 14kD, Pip n 28kD) et de la pomme de terre (Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Sola t 8).

À l'inverse, les échantillons T4, T7 , T1 et T6 présentent les quantités les plus basses en protéines parmi les recettes tunisiennes, malgré la présence de plusieurs ingrédients différents, chacun associé à divers allergènes alimentaires selon sa composition spécifique.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau IX. Les composants couramment utilisés dans les plats traditionnels tunisiens et leurs allergènes associés.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Allergènes
Ail	X	X	X	X	X	X	X		All s Alliin lyase
Pois chiches					X				Cic a 1, Cic a 10, Cic a 3, Cic a 4, Cic a 6
Huile d'olive	X	X	X	X	X	X	X		Ole e 1,Ole e 10, Ole e 11,Ole e 12,Ole e 13
Tomate	X	X	X	X	X	X	X		Sola l 1, Sola l 2, Sola l 3, Sola l 4, Sola l 5
Poivre			X	X	X	X			Pip n 14kD, Pip n 28kD
Harissa (piment)			X	X		X	X		Cap a 1 , cap a 2 , cap a 4
Pommes de terre				X	X				Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Sola t 8
Œuf			X	X				X	Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4, Gal d 5
Viande		X			X	X	X		Bos d 1, Bos d 10,Bos d 11,Bos d 12, Bos d 2

Chapitre III : Résultats et Discussion

1.3. Comparaison des rendements en protéines des recettes Marocaines

Les échantillons M6 (938,00 µg/g MS), M3 (594,00 µg/g MS) et M1 (403,00 µg/g MS) présentent les concentrations les plus élevées de protéines par gramme de matière sèche parmi les recettes marocaines. Les échantillons M5 (232,00 µg/g MS), M2 (232,00 µg/g MS) et M4 (152,00 µg/g MS) montrent des quantités plus modérées de protéines. L'échantillon M8 (12,00 µg/g MS) affiche la quantité la plus basse de protéines parmi les recettes marocaines.

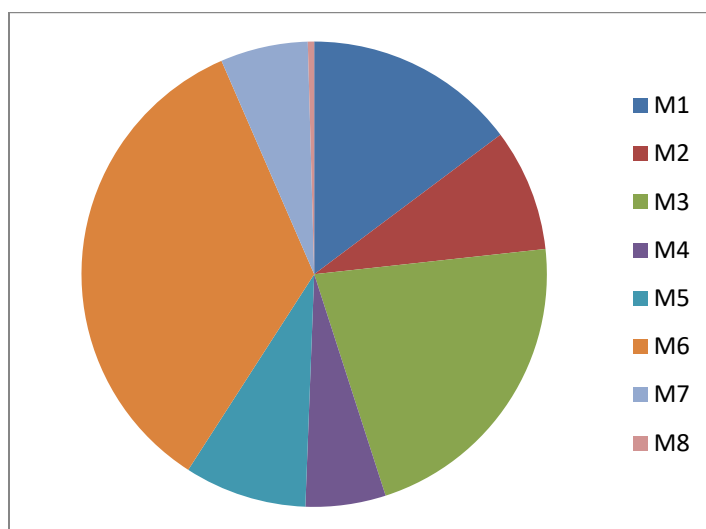


Fig13 . Répartition des quantités de protéines dans les recettes marocaines.

Les échantillons M6 et M3, contenant de l'huile d'olive, du poulet, de la viande et d'autres ingrédients, affichent les concentrations les plus élevées de protéines parmi les recettes marocaines. Chaque ingrédient est associé à divers allergènes alimentaires spécifiques : l'huile d'olive (Ole e 1, Ole e 10, Ole e 11, Ole e 12, Ole e 13), le poulet (Gal d 1, Gal d 10, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4), et la viande (Bos d 1, Bos d 10, Bos d 11, Bos d 12, Bos d 2).

Les échantillons M5, M2 et M4 présentent des quantités plus modérées de protéines, incluant divers ingrédients comme du poulet et de l'huile d'olive, chacun étant également associé à des allergènes alimentaires spécifiques.

L'échantillon M8 présente la quantité la plus basse de protéines parmi les recettes marocaines, car il contient uniquement de l'orange et de la cannelle comme ingrédients. Bien que ces ingrédients ne soient pas des sources majeures de protéines, ils peuvent également être associés à des allergènes alimentaires spécifiques, tels que ceux présents dans l'orange (Cit s 1, Cit s 2, Cit s 3).

Chapitre III : Résultats et Discussion

La concentration en protéines peut varier en raison de la richesse naturelle en protéines de certains ingrédients par rapport à d'autres, ainsi que de l'influence d'autres composants comme les lipides et les protéines présents dans la même recette.

Tableau X. Les composants couramment utilisés dans les plats traditionnels marocains et leurs allergènes associés.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Allergènes
Ail	X		X	X	X	X	X		All s Alliin lyase
Pois chiches		X							Cic a 1, Cic a 10, Cic a 3, Cic a 4, Cic a 6
Huile d'olive	X	X	X	X	X	X	X		Ole e 1,Ole e 10, Ole e 11,Ole e 12,Ole e 13
Tomate		X		X					Sola l 1, Sola l 2, Sola l 3, Sola l 4, Sola l 5
Poivre			X		X	X			Pip n 14kD, Pip n 28kD
Poulet			X	X					Gal d 1, Gal d 10, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 4
Persil		X		X	X				Pet c 1, Pet c 2, Pet c 3
Oignon		X	X	X	X	X	X		All c 3.
Orange								X	Cit r 3, Cit s 1, Cit s 2, Cit s 3, Cit s 7
Viande de bœuf				X	X	X	X		Bos d 1,Bos d 10, Bos d 11,Bos d 12, Bos d 2

Ces résultats mettent en évidence que les recettes présentant des concentrations élevées en protéines sont principalement composées d'ingrédients comme la viande, les noix et les produits laitiers. Cette composition biochimique riche en protéines peut intensifier le potentiel allergénique des plats, surtout lorsqu'ils sont consommés simultanément, augmentant ainsi le risque pour les personnes allergiques aux protéines.

Cette observation corrobore les conclusions d'études antérieures qui ont identifié les arachides, les noix, le blé et le soja parmi les allergènes alimentaires les plus fréquemment étudiés

Chapitre III : Résultats et Discussion

et les plus préoccupants (Lokya *et al.*, 2023). Ils ont mis en évidence que ces allergènes sont largement documentés pour leurs effets allergéniques significatifs dans divers contextes alimentaires.

En outre, malgré des cuissons poussées, certaines préparations maintiennent des concentrations substantielles en protéines, ce qui suggère la présence de molécules allergéniques résistantes à la chaleur.

Les différences dans la composition des recettes, telles que la quantité de viande, poulet comparée à celle de persil ou d'ail, peuvent expliquer les variations de protéines observées, étant donné que les ingrédients et leurs proportions varient d'un plat à l'autre.

III .2. Profil électrophorétique des protéines obtenues à partir des recettes Algériennes.

L'électrophorèse a été réalisée en utilisant uniquement les plats traditionnels algériennes en raison de leur richesse en protéines, et l'importance culturelle et traditionnelle de l'alimentation dans notre pays, offrant une perspective historique sur les habitudes alimentaires à long terme et leur impact sur la santé.

La séparation électrophorétique révèle plusieurs bandes dans chaque colonne (échantillon), signalant la présence de plusieurs allergènes dans la même recette (**fig14**).

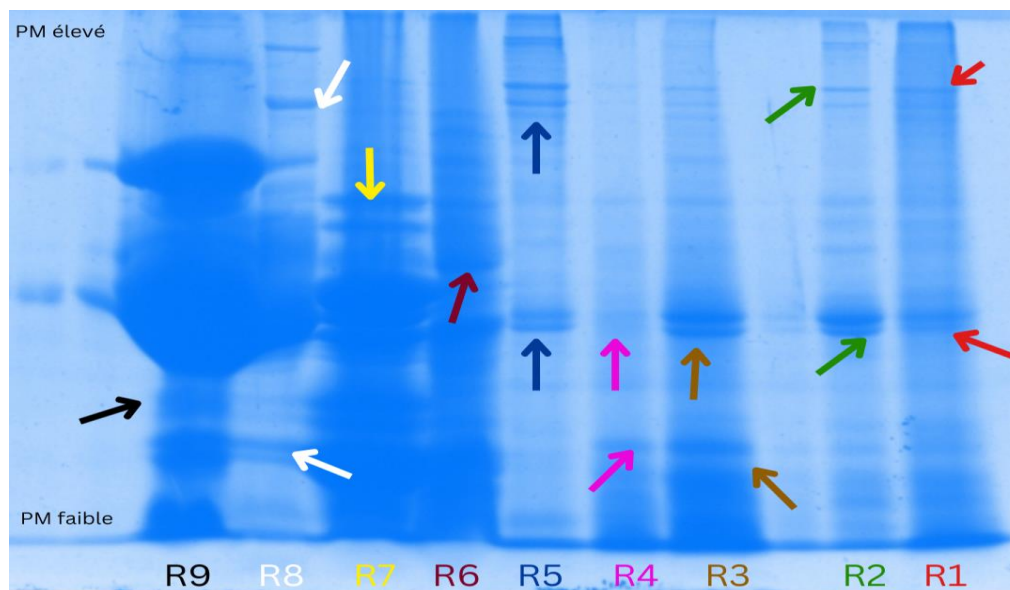


Fig 14. Profil SDS-Page des protéines obtenues de quelques recettes traditionnelles algériennes.

Chapitre III : Résultats et Discussion

La variation en nombre et en intensité des bandes indique la présence de différentes protéines (allergènes alimentaires) et des concentrations différentes dans ces échantillons. Les petites protéines migrent plus rapidement vers le bas du gel, tandis que les plus grosses migrent plus lentement et se situent vers le point de départ (en haut du gel). À partir de ces observations, des hypothèses peuvent être formulées sur les protéines spécifiques présentes dans le gel. Les bandes près du bas du gel pourraient correspondre à des allergènes de type ns-LTP en raison de leur faible poids moléculaire (environ 9 à 10 kDa) ou à des profilines, également en raison de leurs poids moléculaires faibles (12-17 kDa). Les bandes situées dans la région médiane du gel pourraient correspondre à de la tropomyosine, une protéine de poids moléculaire moyen (32-40 kDa).

Malgré la cuisson (pendant 30 min minimum pour chaque recette), une concentration importante en protéine a été observée, suggérant la présence des molécules allergéniques thermorésistante.

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective

Nos résultats de recherche présentent une analyse préliminaire des allergènes alimentaires dans les recettes traditionnelles algériennes, tunisiennes et marocaines. L'extraction et le dosage ont révélé des concentrations variables d'allergènes, mesurées en $\mu\text{g/g}$ de matière sèche, avec des valeurs allant de 12.00 à 986.00 $\mu\text{g/g}$ pour les recettes marocaines, de 68.00 à 605.00 $\mu\text{g/g}$ pour les recettes tunisiennes, et de 102.00 à 986.00 $\mu\text{g/g}$ pour les recettes algériennes.

Parallèlement, l'électrophorèse SDS-Page a permis de visualiser la composition protéique des recettes algériennes, révélant des bandes correspondant à diverses protéines allergéniques. Les bandes situées près du bas du gel suggèrent la présence probable d'allergènes de faible poids moléculaire comme les ns-LTP et les profilines, tandis que celles dans la région médiane du gel pourraient correspondre à des protéines de poids moléculaire moyen telles que la tropomyosine.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que les recettes présentant des concentrations élevées en protéines sont souvent composées d'ingrédients principaux riches en protéines tels que le poisson, la viande, les noix et les produits laitiers. Les recettes avec des concentrations moyennes à faibles en protéines se concentrent principalement sur les légumes, les fruits et des ingrédients riches en glucides ou lipides. Les recettes affichant une très faible concentration en protéines sont dominées par les légumes. Malgré une cuisson poussée, certaines préparations maintiennent une concentration significative en protéines, suggérant la présence de molécules allergéniques résistantes à la chaleur. Ceci souligne la thermo résistance de certains allergènes. Les résultats obtenus dans cette étude enrichissent notre compréhension des allergènes alimentaires dans les cuisines traditionnelles maghrébines et soulignent l'importance d'adapter les stratégies de gestion des allergies alimentaires pour répondre aux spécificités culinaires de chaque région.

Le profil électrophorétique nous a permis de révéler la présence des protéines à des concentrations importantes (épaisseur des bandes). Néanmoins la confirmation de pouvoir allergénique de ces recettes, doit être réalisé au moyen des tests de diagnostic *in vivo* (Prick- test cutané) ou *in vitro* par test ELISA.

Pour les protéines révélées par SDS-Page, la caractérisation moléculaire doit être réalisée expérimentalement, afin de déterminer les biomolécules protéiques, cela peut se faire par séquençage interminale, ou détermination précise de poids moléculaire par Spectrométrie de masse (SM).

**Références
Bibliographiques**

Références Bibliographiques

Ancellin R, Berta JL, Dubuisson C, La Vieille S, M. 2004. Allergies alimentaires: connaissances, clinique et prévention. *Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments AFSSA*. 2004. pp. 10-70.

Averty, E. 2017. Allergies alimentaires chez l'enfant: fiches conseils destinées au pharmacien d'officine. Thèse de doctorat, université de Nantes, France : s.n., 2017.

Barbin, C. 2019. Pharmacien d'officine et démarche éducative: facus sur les maladies allergiques alimentaires de l'enfant. *Thèse de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie*. 2019. p. 116.

Bendelier C, Leimgruber A, Wassenberg J, Bart PA, . 2008. Allergies alimentaires rares. *Europe PubMed Central (PMC)*. Vol. 4, p. 154.

Bentenni, A. 2013. Allergies : caractérisation, détection et aspects législatifs dans le cadre. *Direction de commerce de la wilaya de Mostaganem*. 2013. p. 8.

Bidat, E. 2009. Bilan allergologique d'allergie alimentaire: diagnostic et allergie alimentaire chez l'enfant. *Service de pédiatrie*. s.l., Hopital Ambroise-Paré : Elsevier Masson SAS, 2009. pp. P: 65-72.

Bonnet B, Vinot PA, Bellier B. 2017. cibles et immunothérapies innovantes dans le traitement de l'allergie alimentaire. Juin 2017, Vol. 57, 4, pp. 327-336.

Bergereau, E. 2010. Rôle des LT-CD 8+ dans l'auto-immunité du SNC: influence des autres effecteurs de l'immunité adaptative. *Thèse de doctorat, Toulouse*. France.

Bruks A, Sampson H, Plaut M, Lack G et al. 2019. Traitement de l'allergie alimentaire. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019, Vol.41, 1, pp. 1-9.

Caimmi D, Caffarelli C, Licari A, Clvani M, et al. 2021. Allergie alimentaire en soins primaires. 2021, Vol. 92, S7.

Calvani M, Anania C, Caffarelli C et al . 2020. Allergie alimentaire : une revue actualisée sur la pathogénèse, la prévention et la gestion. 2020 , Vol . 91.

Références Bibliographiques

Chan S .K, Hilger CH, Mueller G, L.LopatabA. 2019. Garder les noms des allergènes clairs et définis. *Devant. Immunol.* 2019, Vol. 10.

Cianferoni A, Spergel JM.2009. Food allergy: review, classification and diagnosis. 2009, vol. 58,4, pp.457-66.

Claude, M. 2016. Agrégation thermique de l'ovalbumine et modulation de l'allergénicité. *Thèse de doctorat.* 2016. pp. P: 22-30.

Costa C, Coimbra A, Vitor A, Aguiar R, Ferreira AL. 2020. Food allergy-From food avoidance to active treatment. *Scand J Immunol.* 2020, Vol. 91.

Dubuc-Fortin E, Marquis M, Ph D, Scuralli S, DtP,. 2020. Prévalence, facteurs de risque et conséquences des allergies alimentaires chez les enfants d'age scolaire. *Nutrition Science en évolution.* 2020, Vol. 18, 2.

Essari L-A, Khayat N, Rancé F, Blay F. 2018. Nutrition clinique pratique: Allergie alimentaires chez l'enfant et l'adulte. s.l., Paris : Elsevier Masson SAS, 2018. pp. 261-268.

Finizio D, Gilder JA. Respiratory allergies. [éd.] Valovirta E. 2012

Heinzerling L, Bergmann K.Ch, Mari A, Bresciani S-M. 2013. The skin prick test- european standards. *Clinical and Translational Allergy .* 2013, Vol. 11.

J Truck C, R Biesiekierski J, P Schmid-Grendelmei. 2019. Intolérances alimentaires. *Nutriments,* 2019, Vol. 11, 7.

Kanny G. 2007. Allergie alimentaire .2007, vol 57,12 , pp. 1331-8.

Lezmi G, Ponvert C. 2021. Définitions utiles : des fondamentaux en allergologie. *Librairie Unithèque .* [En ligne] 2021. <http://www.unitheque.com>.

Leevathi M, Adawiyah J. 2021. Piqure , patch ou prise de sang ? un guide simple sur les tests d'allergie, 2019, Vol . 16.2 , 19-26.

Lokya V, Parmar S, Pandey AK, et al. 2023 .Perspectives de développement de cultures vivrières appauvries en allergènes,2023,Vol. 16,4.

Références Bibliographiques

Martinis M, Sirufo M, Suppa M , Ginaldi L . 2020. Nouvelles perspectives dans le domaine des allergies alimentaires. 2020, Vol 11,4.

Muraro A., S. Halken S. H. Arshad K. Beyer A. 2014. Lignes directrices de l'EAACI sur les allergies alimentaires et l'anaphylaxie: diagnostic et prise en charge de l'allergie alimentaire. 2014, Vol. 69, 8, pp. 1008-25.

Nowak-Wegrzyn A, Chehadé M, M. Spergel J, Atkins .2017. Lignes directrices consensuelles internationales pour le diagnostic et la prise en charge du syndrome d'entérocolite induite par les protéines alimentaires: résumé exécutif-Rapport du groupe de travail du Comité des réactions indésirables aux aliments, . *National Library of Medicine*. 2017, Vol. 139, 4, pp. 1111-1126.

Panesar SS, Javad S, de Silva D, et al. 2013. *The epidemiology of anaphylaxis in Europe : a systematic review*. 2013. pp. 1353–61. Vol. 68.

Radauer C, Nandy A, Ferreira F. 2014. Mis à jour de la base de données de nomenclature des allergènes OMS/IUIS basée sur l'analyse des séquences d'allergènes. 15 Janvier 2014, Vol. 69, 4, pp. 413-419.

Rasomampianina, LE. 2012. Allergies alimentaires chez les adolescents dans la ville d'Antananarivo. s.l., thèse de Doctorat : université d'Antananarivo, 2012.

Rommel, S. 2012. Hypersensibilités alimentaires allergiques chez l'enfant diagnostic, traitement et conseil de pharmacien. *thèse de doctorat*. 2012. pp. P: 13-73.

Roulou, H. 2013. Les allergies: donnés générales et protocole diagnostique. 2013.

Sicherer S, Sampson H. 2018. Allergie alimentaire: examen et mise à jour de l'épidémiologie, de la pathogenèse, du diagnostic, de la prévention et de la gestion. *Allergie Clin Immunol*, 2018, Vol. 114, 1, pp. 41-58.

Sicherer S, Warren C, Dant C. 2021. Allergie alimentaire de la petite enfance à l'âge adulte, 2021, Vol. 8.6, pp. 1854-1864.

Références Bibliographiques

Tennstedt D, Herman A, Baeck M. 2021. Dermatite allergique de contact. *Expertise Médicale Continue*. Expertise Médicale Continue, octobre 2021, Vol. 1, 7, pp. 436-463.

Warren CM, Jiang J, Gupta RS. 2020. Epidemiology and Burden of Food Allergy. 2020, vol 20.2.

William C, Liyodlll, MD, FACS. 2020. allergies. *Healthgrades Editorial Staff*. [En ligne] 18 novembre 2020. <http://www.healthgrades.com>.

Zappa, M. 2016. le traitement de l'allergie par immunothérapie spécifique . *thèse de doctorat* . 2016. pp. 1-42.

Résumé

Résumer

L'allergie alimentaire est une réponse indésirable du système immunitaire qui se produit lors d'une exposition à un aliment spécifique. Elle représente un défi croissant pour la santé publique, touchant un nombre significatif de personnes à travers le monde. L'objectif de cette étude est d'explorer et de caractériser les allergènes alimentaires à partir de différentes recettes, en utilisant des techniques d'extraction, de dosage et d'électrophorèse.

L'analyse de nos résultats révèle que les recettes avec des concentrations élevées en protéines sont souvent associées à des ingrédients principaux riches en protéines tels que le poisson, la viande, les légumineuses, les noix et les produits laitiers. A l'inverse, les recettes avec des concentrations moyennes à faibles en protéines sont principalement composées de légumes, de fruits et d'ingrédients riches en glucides ou lipides. De plus, les recettes avec une concentration très faible en protéines sont dominées par des légumes. Malgré une cuisson, une concentration importante en protéines a été observée, suggérant la présence de molécules allergéniques thermostables dans les préparations. Cette analyse met en lumière la diversité des compositions alimentaires et leur impact sur les niveaux de protéines, ce qui peut influencer le potentiel allergénique des aliments.

Mots clés : Allergie alimentaire, Allergènes alimentaires, Protéines, Potentiel allergénique.

Abstract

Food allergy is an adverse immune system response that occurs upon exposure to a specific food. It represents a growing public health challenge, affecting a significant number of people around the world. The objective of this study is to explore and characterize food allergens from different recipes. Our research aims to fill the data gap on food allergies and highlight the critical importance of this information in finding tailored solutions for people with food allergies.

Analysis of our results reveals that recipes with high allergen concentrations are often associated with protein-rich main ingredients such as fish, meat, legumes, nuts and dairy products. Conversely, recipes with medium to low allergen concentrations are mainly composed of vegetables, fruits and ingredients rich in carbohydrates or lipids. Additionally, the treatment of proteins extracts with high temperature didn't reduce proteins concentrations. This underlines the heat-resistant stability of certain allergens. This analysis highlights the diversity of food compositions and their impact on protein levels, which can influence the allergenic potential of foods.

Key words: Food allergy, Food allergen, Proteins, Allergenic potential.

المخلص

حساسية الطعام هي استجابة عكسية للجهاز المناعي تحدث أثناء التعرض لطعام معين الامر الذي يؤثر على عدد كبير من الأشخاص حول العالم. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد المواد المسببة للحساسية الغذائية في وصفات مختلفة، باستخدام تقنيات الاستخلاص والفحص الكمي والرحلان الكهربائي. يكشف تحليل النتائج التي توصلنا إليها أن الوصفات التي تحتوي على تركيزات عالية أغلبها تكون مكوناتها الرئيسية غنية بالبروتين مثل الأسماك واللحوم والبقوليات والمكسرات ومنتجات الألبان. على العكس من ذلك، الوصفات التي تكون تركيزات البروتين فيها من متوسطة إلى منخفضة، تتكون بشكل رئيسي من الخضروات، الفواكه والمكونات الغنية بالكربوهيدرات أو الدهون. وبالإضافة إلى ذلك، وصفات التي تهيمن الخضروات على تركيبها، يكون تركيز البروتين فيها منخفض جداً رغم الطبخ... لوحظ تركيز كبير من البروتين في مختلف الوصفات، مما يشير إلى وجود جزيئات المواد المسببة للحساسية المقاومة للحرارة في الوصفات. يسلط هذا التحليل الضوء على تنوع التركيبات الغذائية وتأثيرها على مستويات البروتين والتي يمكن أن تؤثر بدورها على قدرة الأطعمة في التسبب في الحساسية الغذائية.

الكلمات المفتاحية: حساسية الطعام , مواد مسببة للحساسية في الطعام , بروتينات , إمكانات الحساسية .

Résumé