



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques
www.fst-usmba.ac.ma



Année Universitaire : 2014-2015

Master Sciences et Techniques : Biotechnologie microbienne
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Contribution à l'étude de la sensibilité de la population de la région de Fès aux pommes : profil allergénique et effet des traitements thermique et enzymatique sur l'allégénicité

Présenté par : EL HASSOUNI Salma

Encadré par : Pr. Ibtissam OUAHIDI

Soutenu le : 22 Juin 2015

Devant le jury composé de : Pr. Lotfi AARAB
Pr. Ali TAZI
Pr. Rachid BENCHEIKH
Pr. Ibtissam OUAHIDI

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

☎ 212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – Fax : 212 (35) 60 82 14



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques
www.fst-usmba.ac.ma



FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

☒ B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

☒ 212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – **Fax** : 212 (35) 60 82 14

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'unité de pharmacologie de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès au sein du Laboratoire des Molécules Bioactives, structure et fonction.

Je tiens à remercier mon encadrante le professeur Ibtissam OUAHIDI pour son aide fructueuse et ses conseils pertinents.

Je remercie également le professeur Lotfi Aarab, pour son soutien, ses orientations et sa disponibilité malgré ses énormes occupations professionnelles.

Je tiens à remercier le professeur Rachid BENCHHEIKH et le professeur Ali TAZI, d'avoir accepté d'évaluer ce travail et de l'enrichir par leurs remarques constructives.

Tous mes remerciements à Mme Amal BOUSFIHA pour son aide précieuse.

Je remercie le personnel du CHU de Fès, du centre hospitalier Ibn Elkhâtib et des laboratoires privés des analyses biomédicales de Fès.

Un grand remerciement à mes collègues du laboratoire des Molécules Bioactives structure et fonction, spécialement Ouarda et Najlae.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je tiens à dédier cet humble travail à mes chers parents, qui m'ont toujours encouragé, écouté et soutenu tout au long de mon parcours.

À ma sœur Halima et mon frère Mohammed, qui ont toujours été à mes côtés pendant les moments difficiles.

À tous mes amies et amis qui me sont chers, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

À tous ceux qui m'ont aidé à bien mener ce travail.

Sommaire

Introduction	1
Contexte bibliographique	
I. Allergie.....	3
1. Définition de l'allergie	3
2. Types d'allergies	3
3. Mécanismes d'hypersensibilité immédiate	3
3.1. Les immunoglobulines E (IgE) et leurs récepteurs	
3.2. Mastocytes et polynucléaires basophiles.....	5
II. Allergie alimentaire.....	6
1. Définition et prévalence.....	6
2. Symptômes des allergies alimentaires.....	8
3. Réactions alimentaires non allergiques.....	8
4. Diagnostic d'une allergie alimentaire.....	8
5. Allergie croisée.....	9
6. Les allergènes alimentaires.....	9
6.1. Définition d'un allergène.....	9
6.2. Allergènes alimentaires les plus fréquents.....	10
III. Allergie aux Rosacées.....	11
1. La pomme.....	11
1.1. Généralités.....	11
1.2. Allergie aux pommes.....	12
2. Allergènes de la pomme.....	12
IV. Influence des transformations alimentaires sur l'allergénicité des aliments.....	13
1. Traitement thermique.....	14
2. Digestion enzymatique.....	14
Matériel et méthodes	
I. Protéines de pommes.....	16
1. Extraction des protéines.....	16
2. Protocole du traitement des protéines de pomme.....	16
a. Traitement thermique.....	16
b. Hydrolyse enzymatique.....	16
c. Combinaison des traitements.....	16

II.	Sérums humains.....	16
1.	Etude rapportée.....	16
2.	Patients.....	17
3.	Collecte des sérums.....	17
4.	Dosage des IgE spécifiques (ELISA indirecte).....	17
III.	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE).....	18

Résultats et discussion

I.	Dosage des IgE sériques humaines.....	19
1.	Description de l'échantillon.....	19
2.	Allergies rapportées.....	19
3.	Dosage des IgE spécifiques aux protéines natives.....	19
4.	Dosage des IgE spécifiques aux protéines traitées.....	20
II.	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE).....	22
	Discussion	24
	Conclusion	26
	Références bibliographiques	27

Liste des abréviations

BBS : Borate Buffered Saline

BSA : Albumine de sérum bovin

CICBAA : Cercle D'investigations Cliniques Et Biologiques En Allergie Alimentaire

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

Fc RII : Récepteur de faible affinité pour les IgE

Fc RI : Récepteur de haute affinité pour les IgE

IgE : Immunoglobuline E

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

LTP : Lipid Transfer Protein (Protéine de transfert lipidique)

OAS : Oral Allergic Syndrom (Syndrome d'allergie orale)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAF : Platelet Activating Factor (Facteur d'activation des plaquettes)

PBS : Phosphate Buffer Solution

PR : Pathogenesis Related Protein

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis

TH2 : Lymphocyte T auxiliaire de type 2

UISI : Union Internationale des Sociétés d'Immunologie

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de Gell et Coombs (1963) des phénomènes allergiques.....	4
Tableau 2 : Pourcentage des patients sensibles aux trois variétés de pommes.....	19
Tableau 3 : Pourcentage des patients sensibles à la variété Golden Delicious.....	20
Tableau 4 : Pourcentage de variation de liaison des IgE humaines aux protéines de Golden traitées par chauffage, digestion enzymatique et combinaison des deux traitements.....	21

Liste des figures

Figure 1 : Structure de l'immunoglobuline E humaine.....	5
Figure 2 : Mécanisme de l'hypersensibilité de type I.....	6
Figure 3 : Production en pourcentage des différentes variétés de pommes au Maroc.....	12
Figure 4 : Principe d'ELISA indirecte.....	18
Figure 5 : Représentation graphique de l'effet du chauffage, de la digestion enzymatique et de la combinaison des deux traitements sur la reconnaissance des IgE humaines vis à vis des protéines de Golden.....	21
Figure 6 : profil électrophorétique des protéines de la variété Golden Delicious natives (1,2,4), traitées par chauffage (5), traitées par hydrolyse enzymatique (6), traitées par chauffage et hydrolyse enzymatique (7). La bande 3 correspond à la BSA.....	23

Introduction

Le problème de l'allergie alimentaire préoccupe de plus en plus le monde médical qui note depuis ces dernières années une augmentation importante du nombre d'allergies. Cette augmentation est liée en particulier à la multiplication des protéines utilisées comme additifs dans les produits manufacturés, avec en particulier des problèmes d'allergènes masqués (Sanchez & Frémont, 2003).

Actuellement, l'allergie alimentaire ne peut être guérie qu'en évitant l'aliment responsable. Par conséquent, l'allergie alimentaire est un problème qui concerne à la fois la personne allergique et toutes les personnes impliquées dans l'approvisionnement et la préparation de la nourriture pour l'individu allergique, y compris la famille, les amis, les restaurants et les industries alimentaires (Madsen, 2005).

La pomme (*Malus domestica*) est l'une des principales espèces fruitières cultivées dans le monde, les pommes ne sont pas seulement consommées fraîches, mais sont aussi utilisées comme ingrédient dans la plupart des produits alimentaires comme les confitures, les compotes, les pâtisseries et les formules infantiles. Cependant, plusieurs études cliniques ont montré que le problème de l'allergie aux pommes a connu une augmentation importante ces dernières années.

Les procédés de transformation alimentaire comprennent un ensemble d'opérations unitaires thermiques et mécaniques dont l'objet est de structurer, texturer et permettre une conservation satisfaisante de l'aliment (Sanchez & Frémont, 2003), toutefois, ces procédés peuvent avoir différents effets sur l'allergénicité des aliments, ils peuvent entraîner l'élimination du potentiel allergénique ou la formation de nouveaux allergènes.

Ce travail a pour objectif l'étude du profil de sensibilité d'une population marocaine au niveau de la région de Fès à trois variétés de pommes : Golden Delicious, Red Delicious et Granny Smith, ainsi que l'évaluation de l'effet des traitements thermique et enzymatique sur l'allergénicité des protéines de la variété Golden Delicious.

Cette étude repose sur la détermination de la reconnaissance des IgE sériques humaines avec les protéines de pomme, dans ce cadre, une série d'expériences était réalisée pour étudier

l'immunoréactivité des sérums humains vis-à-vis des protéines de pomme natives et celles ayant subies des traitements physico-chimiques tels que le chauffage et l'hydrolyse enzymatique.

I. Allergie :

1. Définition de l'allergie :

Le terme « allergie » a été défini par Von Pirquet en 1906 comme la capacité de l'organisme à réagir spécifiquement d'une façon différente. Cette réponse «différente » peut être à la fois protectrice (réponse immune) et pathogène (Jaffuel et al., 2004).

Cela signifie que l'exposition du sujet à un allergène est nécessaire pour stimuler son système immunitaire. Au sens large, l'allergie est donc un mécanisme immunologique «normal » de défense de l'organisme. Il témoigne que cet organisme réagit contre tout élément qui lui est étranger.

Cette « allergie » est fondée sur un mécanisme immunologique à la fois simple et complexe : un élément étranger (antigène ou allergène) provoque de la part de l'organisme une réaction immunologique (synthèse d'un anticorps ou stimulation de cellules immunocompétentes).

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

2. Types d'allergies :

En 1963, deux immunologistes britanniques, Gell et Combs, ont proposé une classification qui, bien que trop schématique et par conséquent un peu inexacte, est encore largement utilisée. Les allergies peuvent être divisées en quatre types (Tableau 1) (Jaffuel et al., 2004) :

- **Type I** : réaction immédiate liée aux IgE (5 à 15 minutes après ingestion) ;
- **Type II** : réaction cytotoxique (semi-retardée : 4 à 8h) ;
- **Type III** : réaction semi-retardée (intervention de complexes immuns circulants) ;
- **Type IV** : réaction retardée (1 à 3 jours) : immunité à médiation cellulaire

Tableau 1 : Classification de Gell et Coombs (1963) des phénomènes allergiques (Mondoulet, 2005)

Type d'hypersensibilité	I	II	III	IV
Type de réactions	Médiée par les IgE	Cytotoxique	Complexes immuns	Cellulaire
Délai de déclenchement	Immédiat	Semi-retardé (4 à 8 heures)	Semi-retardé (quelques heures)	Retardé (1 à 3 j.)
Maladies et phénomènes courants	Anaphylaxie, asthme, rhinite, eczéma atopique, choc anaphylactique	Destruction des cellules sanguines par allergie médicamenteuse	Maladie sérique, pneumopathies à précipines	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, Platelet Activating Factor (PAF)	Protéines du complément	Anticorps, complément, plaquettes, neutrophiles	Lymphokines

Selon la classification de Gell et Coombs, l'allergie est souvent assimilée à une réaction d'hypersensibilité de type I, dite immédiate, IgE-dépendante. Cette réaction a pour origine l'activation, par un antigène spécifique, de mastocytes sensibilisés par des IgE, aboutissant à la libération des médiateurs chimiques de l'inflammation (Mondoulet, 2005).

3. Mécanismes d'hypersensibilité immédiate :

La réaction allergique médiée aux IgE implique une cascade complexe d'événements qui se déroulent entre le premier contact de la muqueuse avec l'allergène et l'apparition des symptômes allergiques liés au deuxième contact avec le même allergène (Mondoulet, 2005).

3.1. Les immunoglobulines E (IgE) et leurs récepteurs :

Les IgE sont des glycoprotéines composées de 4 chaînes, dont deux chaînes lourdes (type γ_4) et deux chaînes légères réunies par des ponts disulfures, de masse relative à 188 kDa (Mondoulet, 2005), la concentration des IgE dans le sérum est la plus basse des autres classes d'immunoglobulines, sa demi-vie est courte (environ 2 jours), et son expression est étroitement régulée en absence de maladie (Stone et al., 2010).

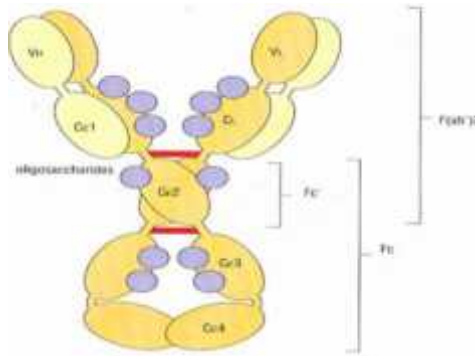


Figure 1 : Structure de l'immunoglobuline E humaine (Mondoulet, 2005)

Il existe deux types de récepteurs pour les IgE : le récepteur IgE de faible affinité (Fc RII ou CD23) exprimé sur la surface des cellules B, ainsi que d'autres cellules hématopoïétiques, et le récepteur IgE de forte affinité (Fc RI), exprimé sur les mastocytes et les basophiles sous forme de tétramère (β) ,et sur des cellules présentatrices d'antigène (CPA) à des niveaux beaucoup plus faibles , sous forme de trimère () (Stone et al., 2010).

3.2. Mastocytes et polynucléaires basophiles :

Les Mastocytes et les polynucléaires basophiles ont un rôle crucial dans les réactions d'hypersensibilité immédiate, ces deux types de cellules expriment le récepteur de haute affinité pour les IgE (Fc RI), et l'agrégation de ce récepteur entraîne la sécrétion de plusieurs médiateurs puissants qui causent beaucoup de signaux et de symptômes d'une réaction allergique (Donald MacGlashan, 2008).

- **Phase de sensibilisation :**

Cette première phase de l'allergie est dite « silencieuse ». Elle se déroule lors du premier contact avec l'antigène qui est alors défini comme allergène, et se traduit par la production d'IgE spécifiques par les lymphocytes B .La production des IgE dépend directement de l'interaction entre les cellules B et T et notamment de la production d'interleukines par les cellules T auxiliaires de type 2 (TH2) (Mondoulet, 2005).

Les IgE se fixent, par leur région Fc, sur des cellules portant les récepteurs de haute affinité (Fc RI), en particulier les mastocytes et les basophiles, ainsi elles sont dites «sensibilisées » (Pearlman, 1999), ces IgE fixées attendent un second contact avec l'allergène : aucun signe clinique n'est apparent.

- **Phase de déclenchement :**

Lors du second contact avec l'allergène, celui-ci va être reconnu par les IgE fixées sur les récepteurs membranaires Fc RI des mastocytes et des basophiles, cette fixation induit un pontage des IgE à la surface des cellules effectrices entraînant ainsi le rapprochement et l'agrégation des récepteurs aux IgE, ce qui entraîne l'activation des mastocytes et des basophiles et la libération, par exocytose des granules, d'un ensemble de médiateurs chimiques, dont le principal est l'histamine, ainsi que d'autres médiateurs (prostaglandine, leucotriène et le facteur d'activation des plaquettes).

Ces médiateurs conduisent à l'apparition rapide de signes cliniques de la réaction d'hypersensibilité immédiate, comme la dilatation des vaisseaux, l'œdème muqueux et la contraction du muscle lisse bronchique (Mondoulet, 2005).

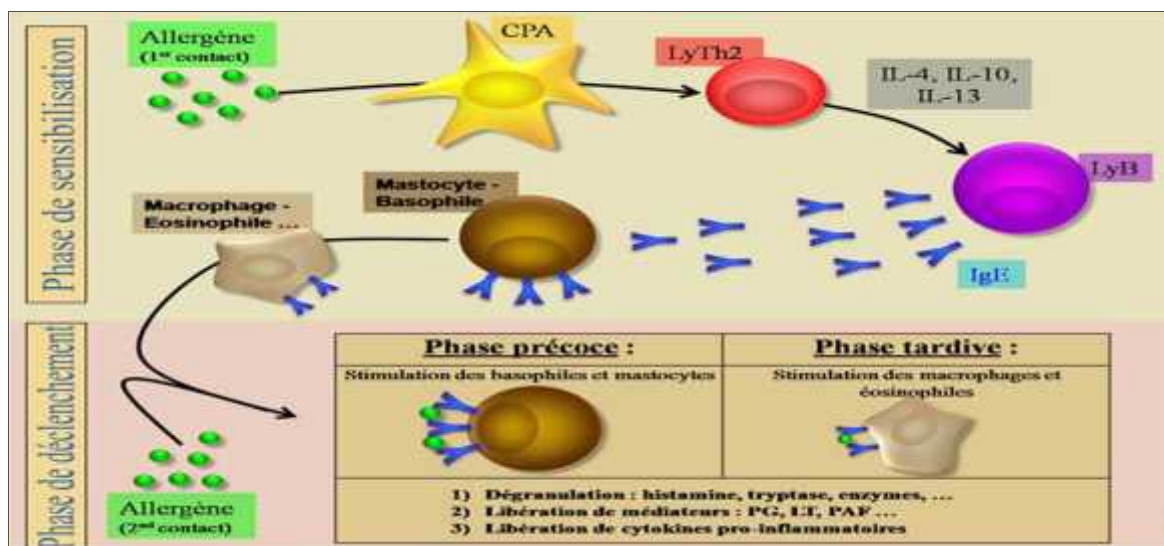


Figure 2 : Mécanisme de l'hypersensibilité de type I

II. Allergie alimentaire :

1. Définition et prévalence :

le terme « allergie alimentaire » se réfère à différentes réactions immunologiques provoquées par des aliments et qui se manifestent habituellement par la production d'anticorps de type IgE spécifiques des protéines ingérées (Sanchez & Frémont, 2003).

L'allergie alimentaire est considérée comme un problème de santé publique très important, elle est estimée par l'OMS comme la quatrième maladie dans le monde (Sicherer & Sampson, 2006).

Certaines études ont montré que l'allergie alimentaire occupe une place importante dans la vie courante. La plupart des allergologues affirment que la prévalence de l'allergie alimentaire est en augmentation (Ouahidi et al., 2010). Au Maroc, l'expérience professionnelle montre que les maladies allergiques sont de plus en plus fréquentes (Ghadi & Dutau, 2007).

Au Maroc, les publications sur les allergies alimentaires sont minimes, cependant, quelques études ont permis de déterminer la prévalence de certains aliments ayant un fort potentiel allergisant. L'étude de Ouahidi et al. (2010) sur la prévalence des arachides dans la région de Fès-Meknès a révélé que 2,5% des enfants sont allergiques aux arachides, cette étude était basée sur la mesure des IgE spécifiques anti-protéines d'arachides. De même, on retrouve des études réalisées sur la prévalence de la sensibilité de trois allergènes alimentaires, les protéines d'arachides, le blanc d'œuf et la gliadine, au niveau de la région Fès-Meknès, dans cette étude, il s'est avéré que le blanc d'œuf arrive en premier, et dont la moyenne trouvée est proche de celle retrouvée dans les pays tels que la France, les Etats Unis et le Singapour (Ouahidi et al., 2011).

L'allergie alimentaire est cliniquement mieux définie et reconnue, cependant, sa réelle prévalence dans la population a fait l'objet de peu d'études. Lorsque l'on utilise des questionnaires, près de 33% des personnes interrogées rapportent des manifestations compatibles avec des réactions d'allergie ou d'intolérance alimentaire. La confusion entre allergie alimentaire et intolérance alimentaire, l'inexistence d'un test simple permettant le diagnostic d'allergie alimentaire ont pour conséquence la méconnaissance de la prévalence précise de l'allergie alimentaire. Cette prévalence est estimée entre 2 et 8 % chez l'enfant et à moins de 2 % chez l'adulte (Jaffuel et al., 2004).

En France, la prévalence des allergies alimentaires est de l'ordre de 3% si l'on considère la population générale et de l'ordre de 8% si on se restreint à la population pédiatrique (Sanchez & Frémont, 2003).

Plusieurs raisons sont à l'origine de l'augmentation de l'allergie alimentaire dans les pays industrialisés, par exemple la mondialisation des échanges commerciaux, avec pour conséquence une modification des habitudes alimentaires, ainsi que l'évolution des techniques et des processus de transformation des aliments (Jaffuel et al., 2004).

2. Symptômes des allergies alimentaires :

Les réactions allergiques d'origine alimentaire sont responsables d'une variété de symptômes touchant la peau, le tube digestif et les voies respiratoires, elles peuvent être causées par des mécanismes médiés par les IgE et à médiation cellulaire (Sicherer & Sampson, 2006).

Les symptômes de l'allergie alimentaire peuvent être cutanés (urticaire, œdème localisé, eczéma), respiratoires (asthme, rhinite, gêne laryngée), gastro-intestinaux (vomissements, douleurs abdominales, diarrhée), ophtalmologiques (conjonctivite). L'allergie peut se manifester sous des formes plus graves comme l'œdème de Quincke ou le choc anaphylactique (réactions systémiques généralisées) (Mondoulet, 2005). Ces symptômes peuvent survenir immédiatement après l'ingestion de l'aliment ou quelques heures après (Jaffuel et al., 2004).

3. Réactions alimentaires non allergiques :

Les réactions non allergiques sont dues à une intolérance alimentaire qui ne fait pas intervenir des mécanismes immunologiques, Les manifestations d'intolérance alimentaire peuvent être dues à des mécanismes :

- toxiques (contamination chimique ou bactériologique, cas de salmonelles sécrétant des toxines)
- pharmacologiques (caféine contenue dans le café ; amines biogènes telles que l'histamine ou la tyramine; aliments contenant des substances histaminolibératrices activant les mastocytes par un mécanisme non allergique : fraises, blanc d'œuf...)
- métaboliques (déficit en lactase, par exemple) (Jaffuel et al., 2004).

4. Diagnostic d'une allergie alimentaire :

Le diagnostic de l'allergie alimentaire comprend différentes étapes afin de déterminer l'origine allergique des symptômes et d'identifier le ou les allergènes en cause. Ces étapes

comprennent en premier lieu des tests cliniques tels que les tests cutanés, ou les tests de provocation orale.

Le diagnostic clinique est complété par des examens biologiques de dosage des IgE totales et spécifiques. Ce dosage s'effectue par des méthodes immunologiques, telles que la méthode ELISA.

- **Principe d'ELISA :**

L'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est une technique biochimique, principalement utilisée en immunologie, afin de détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

L'allergène fixé à un support solide, est incubé avec le sérum à tester et la fixation des IgE spécifiques de l'allergène présent est révélée par un anticorps anti-IgE marqué, le marqueur est enzymatique.

5. Allergie croisée :

L'allergie croisée correspond à des manifestations cliniques d'allergie vis-à-vis de plusieurs agents allergisants différents sans qu'il y ait eu une sensibilisation préalable à chacun de ces agents (Jaffuel et al., 2004), elle peut se produire quand un allergène alimentaire possède une homologie structurale ou séquentielle avec un allergène alimentaire différent ou un aéroallergène (Burks et al., 2012).

Au cours des dernières années, plusieurs allergènes à réaction croisée ont été identifiés dans les fruits de la famille des Rosacées ; l'allergène majeur de la pomme (Mal d 1), la poire (Pyr c 1), l'abricot (Pru ar 1), sont des homologues structuraux de Bet v 1, allergène majeur de pollen de bouleau, des épitopes communs dans ces allergènes pourraient être responsables des phénomènes de réactivité croisée entre les différentes espèces de fruits et entre les fruits et les pollens (Rodriguez et al., 2000).

6. Les allergènes alimentaires :

6.1. Définition d'un allergène :

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.

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 (Mondoulet, 2005).

Les allergènes alimentaires sont en général des protéines, elles sont reconnues par les cellules immunitaires spécifiques de l'allergène et sont capables de susciter la plupart des réactions immunologiques (Burks et al., 2012).

6.2. Allergènes alimentaires les plus fréquents :

La plupart des aliments constituent une source de protéines, comme la viande rouge, les volailles, les poissons, les produits laitiers, les céréales, les œufs, les fruits et légumes..., malgré cette grande diversité, un nombre restreint d'aliments est responsable de la majorité des réactions allergiques alimentaires.

De par le monde, les allergènes alimentaires les plus fréquents sont l'œuf de poule, le lait de vache, les poissons, les crustacés, l'arachide, le soja, la noisette (Jaffuel et al., 2004). Ces aliments allergènes couramment consommés représentent la cause de plus de 90 % des allergies alimentaires (Bousquet et al., 1998).

Aux États-Unis, l'allergie à l'arachide et aux noisettes atteint 1,3 % des adultes et 0,5% des enfants. La prévalence de l'allergie au lait de vache varie de 1 à 3 %, alors que l'allergie aux œufs concerne 1,3 % des enfants (Jaffuel et al., 2004).

En France, chez les patients âgés de plus de 15 ans, les allergènes végétaux sont les plus fréquents (84 % des cas). Les Rosacées représentent 15 % des cas, les fruits secs 7 %, le blanc d'œuf 5%, l'arachide 4 % et le poisson 3 %. Chez les patients âgés de moins de 15 ans, l'allergie au blanc d'œuf représente 34 % des cas, l'arachide 23 %, le lait de vache 8 %, le poisson 5 % (Jaffuel et al., 2004).

Toutefois, l'importance de l'allergie aux fruits est en augmentation : il a été estimé que la réaction indésirable perçue vers n'importe quel fruit varie entre 0,4 % et 6,6 % dans la population adulte et jusqu'à 11 % chez les enfants âgés de 0 à 3 ans (Savazzini et al., 2015).

III. Allergie aux Rosacées :

La famille botanique des Rosacées regroupe des fruits de consommation courante comme la pêche, la prune, l'abricot, la cerise, l'amande, la pomme, la poire, la framboise, la fraise.

En France chez l'adulte, l'allergie aux Rosacées est au 1er rang des données du cercle d'investigations cliniques et biologiques en allergie alimentaire (CICBAA), avec une prévalence de 25,73%, elle est également au 1er rang d'une autre étude réalisée au 1/1000 de la population française : 14%. En Espagne, l'allergie aux fruits arrive en 4ème position (20,8% parmi les allergies alimentaires de l'enfant, dont 62% d'allergies aux Rosacées (Giovannini et al., 2004).

1. La pomme :

1.1. Généralités :

La pomme, *Malus domestica*, appartient à la famille des Rosacées et l'un des fruits les plus cultivés dans le monde. L'adaptation facile du pommier à différentes conditions climatiques et sa résistance aux basses températures ont permis sa culture dans différentes régions climatiques. C'est un fruit très consommé dans le monde, et plusieurs variétés sont commercialisées. Plus de 1000 variétés de pommes ont été décrites, cependant, seules quelques variétés sont généralement consommées (Carnés et al., 2006).

Au Maroc, la variété la plus cultivée est la Golden Delicious, elle représente plus de la moitié de la production nationale. Malgré que la Golden Delicious est exigeante en froid, cette variété possède une certaine souplesse d'adaptation lui permettant d'être cultivée dans différentes situations (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime- Direction de la Stratégie et des Statistiques).

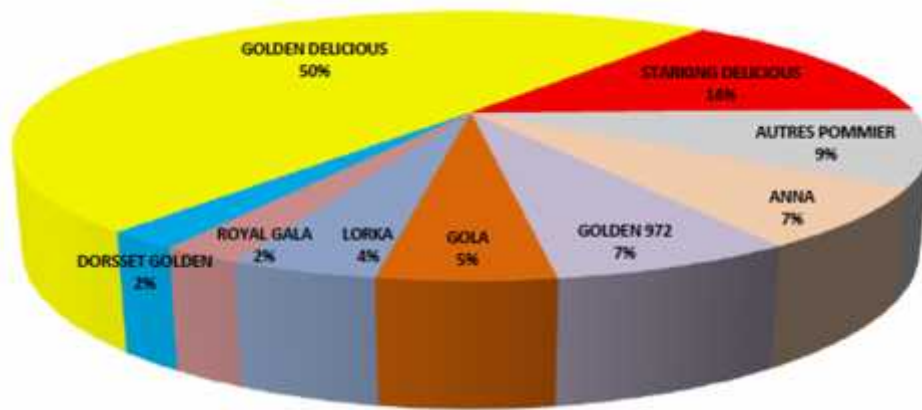


Figure 3: Production en pourcentage des différentes variétés de pommes au Maroc (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime-Direction de la Stratégie et des Statistiques).

1.2. Allergie aux pommes :

Plusieurs études cliniques ont démontré que le problème de l'allergie aux pommes a beaucoup augmenté ces dernières années (Savazzini et al., 2015), plus de 2% de la population de l'Europe du nord et l'Europe centrale est allergique aux pommes (Bolhaar et al., 2005).

L'allergie aux pommes est responsable de plusieurs réactions d'hypersensibilité médiées par les IgE, ces réactions peuvent être divisées en deux classes :

Classe I : identifiées comme des symptômes gastro- intestinaux et systémiques, car l'allergène n'est pas dégradé par la digestion gastrique.

Classe II : identifiées comme le syndrome d'allergie orale (OAS) dans lequel les protéines de pollen agissent comme des agents sensibilisateurs primaires et l'ingestion de fruits provoque immédiatement des symptômes dans la bouche et dans la peau en contact avec la pomme lors de la consommation (Savazzini et al., 2015).

2. Allergènes de la pomme :

Selon la nomenclature de la Sous-comité de l'OMS / UISSI (www.allergen.org), quatre principales classes d'allergènes ont été identifiées dans la pomme : Mal d 1, 2, 3 et 4. Les trois premières protéines appartiennent à la famille des PR ou « Pathogenesis Related Protein » exprimées dans les plantes en réponse au stress, tandis que Mal d 4 appartient à la famille des profilines (Savazzini et al., 2015).

- **Mal d 1 (PR-10 ribonucléase) :**

Mal d 1 est considéré comme l'allergène majeur de la pomme avec un rôle potentiel dans la défense et le développement des plantes, cette protéine a une taille de 17 kDa (Savazzini et al., 2015).

- **Mal d 2 (PR-5 thaumatine) :**

Les thaumatines sont considérées comme les allergènes mineurs de la pomme, même s'ils sont abondants dans les pommes mûres et produisent une forte réaction avec les sérums des patients allergiques, leur taille est de 23 kDa (Savazzini et al., 2015).

- **Mal d 3 (PR-14 LTP) :**

Mal d 3 appartient à la famille des LTP « lipid transfer protein » ou protéines de transfert lipidique, c'est une famille de polypeptides de PM de 9 kDa hautement conservés et distribués dans le monde végétal qui appartiennent au groupe PR-14. Elles se localisent majoritairement dans la peau des fruits (elles interviennent dans la défense du fruit), sont thermostables et résistent à la digestion par la pepsine. En conséquence, les réactions cliniques des patients allergiques aux Rosacées sensibilisés aux LTP sont souvent plus sévères (Giovannini et al., 2004).

- **Mal d 4 (profilines) :**

Les Profilines sont des protéines cytosoliques qui se trouvent dans toutes les cellules eucaryotes, leur poids moléculaire varie entre 12 et 15 kDa, elles sont impliquées dans la régulation du cytosquelette d'actine (Savazzini et al., 2015).

IV. Influence des transformations alimentaires sur l'allergénicité des aliments :

Le traitement médical d'une allergie alimentaire consiste en l'éviction complète et définitive de l'allergène incriminé (Jaffuel et al., 2004), ce qui est difficile pour la majorité des patients allergiques.

Parmi les procédés physicochimiques de transformations des aliments couramment utilisés, on trouve les traitements thermiques, les traitements chimiques (acido-basiques) et les traitements enzymatiques, ces procédés peuvent potentiellement affecter les propriétés allergéniques des aliments. Le traitement peut détruire des épitopes existants dans les protéines ou générer de nouveaux épitopes (formation de néoallergènes), en raison du changement dans la conformation de ces protéines (Sathe et al., 2005).

1. Traitement thermique :

Les procédés thermiques de transformation des aliments englobent un ensemble d'opérations comme le chauffage, la cuisson, le rôtissage, la stérilisation, la pasteurisation...etc., ces procédés peuvent entraîner la dénaturation des protéines par altération de leur structure secondaire, tertiaire et quaternaire (Sanchez & Frémont, 2003). La nature de ces changements dépend de la température, la durée du procédé thermique, des caractéristiques intrinsèques de la protéine ainsi que des conditions physico-chimiques de l'environnement (Mondoulet, 2005).

Les traitements thermiques, en altérant la structure d'une protéine, peuvent modifier le potentiel allergénique de l'aliment, laisser ce potentiel intact, ou bien faire apparaître de nouvelles structures immunoréactives (Mondoulet, 2005). Certains aliments allergéniques sont décrits comme étant stables à la chaleur ou partiellement stables (le lait, les œufs, les arachides, le soja), d'autres sont considérés comme labiles (les fruits de la famille des Rosacées) (Besler et al., 2001). Les procédés thermiques peuvent augmenter le potentiel allergénique de l'aliment en créant de nouveaux épitopes, par exemple lors de la réaction de Maillard (Davis & Williams, 1998). Il est donc difficile de généraliser les effets de modifications dues aux traitements thermiques sur l'allergénicité des aliments (Mondoulet, 2005).

2. Digestion enzymatique :

L'hydrolyse enzymatique est considérée comme le procédé le plus efficace pour diminuer l'allergénicité des aliments en altérant les épitopes séquentiels et conformationnels (Thomas et al., 2007), cette méthode est actuellement la plus utilisée pour la préparation de produits alimentaires hypoallergéniques, y compris les formules infantiles (Von Berg, 2007). L'hydrolyse enzymatique est l'une des techniques utilisées dans la transformation des

aliments, par exemple, les jus de fruits sont traités par des enzymes afin d'éliminer les matières solides en suspension et les protéines (Marzban et al., 2009).

Certains aliments sont stables à la digestion enzymatique, selon Mondoulet (2005), les protéines de l'arachide ont gardé leur pouvoir allergénique après la digestion par la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine, de même, Burks et al. (1992) ont montré que les arachides et le soja résistaient à l'hydrolyse enzymatique. Cependant, d'autres aliments perdent leur allergénicité suite à la digestion enzymatique, comme l'avocat, le kiwi, la pomme de terre, le melon, la pêche (Yagami et al., 2000).

I. Protéines de pommes :

1. Extraction des protéines:

L'extrait des protéines alimentaires est préparé à partir de pomme fraîche *Malus domestica* de trois variétés : Golden Delicious, Red Delicious et Granny Smith, les pommes sont soigneusement épluchées, et la peau est finement broyée à l'aide d'un mortier, l'extraction est réalisée par suspension de la peau de pomme dans un tampon PBS (phosphate buffer solution, pH 7,4) à raison de 50% (poids/volume). Le mélange est agité pendant deux heures, puis centrifugé à 7000 t/mn pendant 20 mn, ensuite le surnageant est recueilli et conservé à -20°C. On a utilisé juste la peau de pomme vu sa richesse en protéines par rapport à la pulpe.

2. Protocole du traitement des protéines de pomme :

a. Traitement thermique :

Le traitement thermique des protéines de pomme est réalisé en chauffant une solution de 0,5mg/ml à une température de 90°C pendant une heure.

b. Hydrolyse enzymatique :

La digestion enzymatique des protéines est réalisée en milieu acide (pH 2) en présence de la pepsine à raison de 1%, puis la solution est incubée pendant une heure à 37°C. La réaction est arrêtée par addition de NaOH.

c. Combinaison des traitements :

L'extrait protéique est traité par chauffage à 90 °C pendant une heure, puis traité par la pepsine 1% en milieu acide et incubé à 37°C pendant une heure.

II.Sérums humains :

1. Etude rapportée :

Un questionnaire détaillé a été distribué sur un échantillon de 100 étudiants de la FST, qui nous a permis de recueillir des informations sur l'âge, le sexe, la présence ou non d'une allergie, les aliments responsables de l'allergie ainsi que d'autres informations supplémentaires.

2. Patients :

La collecte des sérums a été réalisée au centre hospitalo-universitaire (CHU) de Fès, à l'Hôpital Ibn Elkhatib et au niveau de laboratoires d'analyses médicales à Fès. Les personnes ont été choisies au hasard, il est important de noter qu'ils n'ont subi aucune sensibilisation préalable vis-à-vis des pommes, il s'agit de consultants pour des analyses médicales diverses.

3. Collecte des sérums :

La collecte des sérums humains a été effectuée sur une période de deux mois, après avoir obtenu l'approbation du comité éthique du centre hospitalier universitaire (CHU) à Fès. La collecte a également été effectuée au niveau de l'Hôpital Ibn Elkhatib et de laboratoires privés d'analyses médicales à Fès. Après consentement du patient, un échantillon sanguin de 3ml est prélevé dans un tube sec sans anti coagulant. Après récupération des échantillons sanguins, une centrifugation de 4000 rpm pendant 5min nous a permis de récupérer les sérums et de les garder à -20°C jusqu'à utilisation.

4. Dosage des IgE spécifiques (ELISA indirecte):

L'extrait des protéines est dilué à une concentration de 0,5mg/ml dans du tampon PBS, pH 7,4 et déposé à un volume de 100µl par puits de plaque de microtitration à 96 puits, après incubation pendant 40 mn à 37°C, trois lavages sont effectués avec du BBS Tween 20 (0,1%), ensuite les puits sont saturés avec de l'albumine sérique de bovins (BSA) à 0,25% à raison de 200µl par puits, après trois lavages, on ajoute les sérums humains dilués à 50% avec du tampon BBS, 100µl de sérum est déposé dans chaque puits et incubé pendant 40 mn à 37°C, après trois lavages, on ajoute 100µl d'anti-IgE marqué à la peroxydase, après incubation pendant 40 mn à 37°C, on effectue trois lavages et on ajoute l'orthophénylènediamine 0,01% dilué avec du tampon citrate de sodium (0,05M à pH 5,1). La réaction colorée développée est arrêtée par l'HCl 3M et l'absorbance est mesurée à 490 nm par un lecteur ELISA.

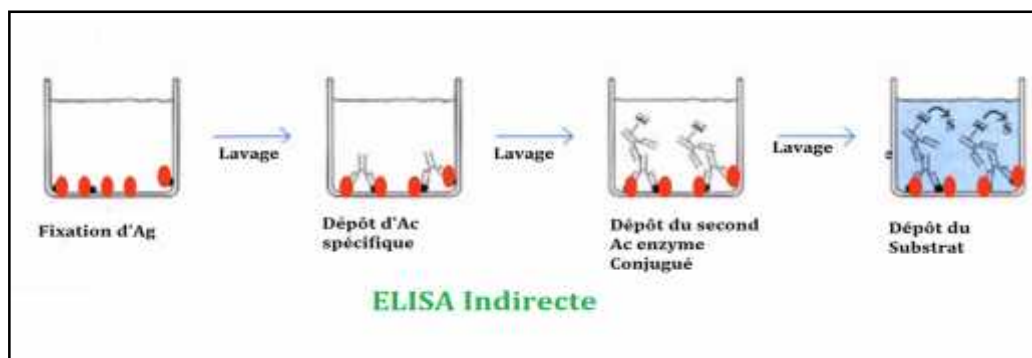


Figure 4: principe d'ELISA indirecte

III. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) :

Les protéines de pomme natives et traitées de la variété Golden Delicious ont été séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide 15% (poids/volume) en condition dénaturante. Les échantillons protéiques ont été dénaturés par chauffage à 100°C en bain-marie pendant 2 mn en présence du β -mercaptoéthanol, puis déposés dans les différents puits à un volume de 30 μ l par puits, la migration s'est déroulée sous une intensité de 20mA.

A la fin de la migration, le gel est coloré par le Bleu de Coomassie R 250 0,1% dans un mélange éthanol- acide acétique-eau (40-10-50).

I. Dosage des IgE sériques humaines :

1. Description de l'échantillon :

Le nombre total de patients recrutés est de 73 patients, dont 55 femmes (75,3%), 18 hommes (24,6%), parmi eux on trouve 11 enfants (15%), parmi ces 73 patients, 56 ont été recrutés au niveau du Centre Hospitalier Ibn Elkhatib et 17 ont été enregistrés auprès de CHU et des laboratoires privés d'analyses médicales, ces derniers présentent des taux élevés d'IgE totales variant entre 62 et 744 UI/ml .Un nombre de 11 patients ont un âge entre 0 et 10 ans, 10 patients dont l'âge varie entre 10 et 20 ans, 41 d'entre eux entre 20 et 40 ans, et 11 patients dont l'âge est supérieur à 40 ans.

2. Allergies rapportées :

Le questionnaire a été complété par 100 étudiants de la FST, dont 38% hommes et 62% femmes, l'âge est compris entre 19 et 30 ans, le pourcentage d'allergie totale rapportée est de 23%, dont 4% sont allergiques aux arachides, 2% aux amandes, 6% au lait, 13% aux œufs, 9% aux poissons, 9% aux fraises et 1% aux pommes.

3. Dosage des IgE spécifiques aux protéines natives:

Un échantillon de sérums humains de 47 patients était utilisé pour étudier l'allergénicité des protéines des trois variétés de pommes : Golden Delicious, Red Delicious et Granny Smith, les résultats du dosage des IgE spécifiques aux protéines de pommes sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Pourcentage des patients sensibles aux trois variétés de pommes

Variété de pomme	Golden Delicious	Red Delicious	Granny Smith
Nombre de patients dont l'absorbance est > 0,1	13 (27,6%)	9 (19,1%)	6 (12,7%)
Nombre de patients dont l'absorbance est > 0,25	6 (12,7%)	5 (10,6%)	4 (8,5%)

D'après les résultats du dosage obtenus, on remarque que la population étudiée est plus sensible à la variété Golden Delicious qu' aux autres variétés de pommes (27,6% des patients avec une absorbance > 0,1 et 12,7% avec une absorbance > 0,25), pour cela, on s'est restreint à l'étude de l'allergénicité de cette variété.

Un échantillon de 26 sérums humains a été utilisé pour rechercher davantage de personnes sensibles aux protéines de la variété Golden Delicious, afin de mieux étudier l'allergénicité de cette variété, ce qui nous a permis de collecter enfin de compte un total de 73 sérums. Les résultats du dosage des IgE spécifiques aux protéines de Golden sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Pourcentage des patients sensibles à la variété Golden Delicious

Nombre total des patients étudiés	73 (100%)
Nombre de patients dont l'absorbance est > 0,1	36 (49,3%)
Nombre de patients dont l'absorbance est > 0,25	22 (30,1%)

Les résultats du dosage des IgE spécifiques ont montré que 49,3% des patients ont une absorbance supérieure à 0,1 et 30,1% d'entre eux ont une absorbance supérieure à 0,25.

4. Dosage des IgE spécifiques aux protéines traitées :

Un échantillon de sérums humains de 24 patients a été utilisé pour étudier l'influence des traitements thermique et enzymatique sur l'allergénicité des protéines de la variété Golden Delicious.

Une série d'expériences était réalisée pour évaluer la reconnaissance des IgE sériques vis à vis des protéines de pomme ayant subies un traitement thermique (chauffage à 90°C pendant une heure), une hydrolyse enzymatique par la pepsine, et un traitement thermique suivi d'hydrolyse enzymatique par la pepsine.

La figure 5 montre la variation de la liaison des IgE humaines aux protéines de pomme en pourcentage selon le rapport des protéines traitées sur les protéines natives.

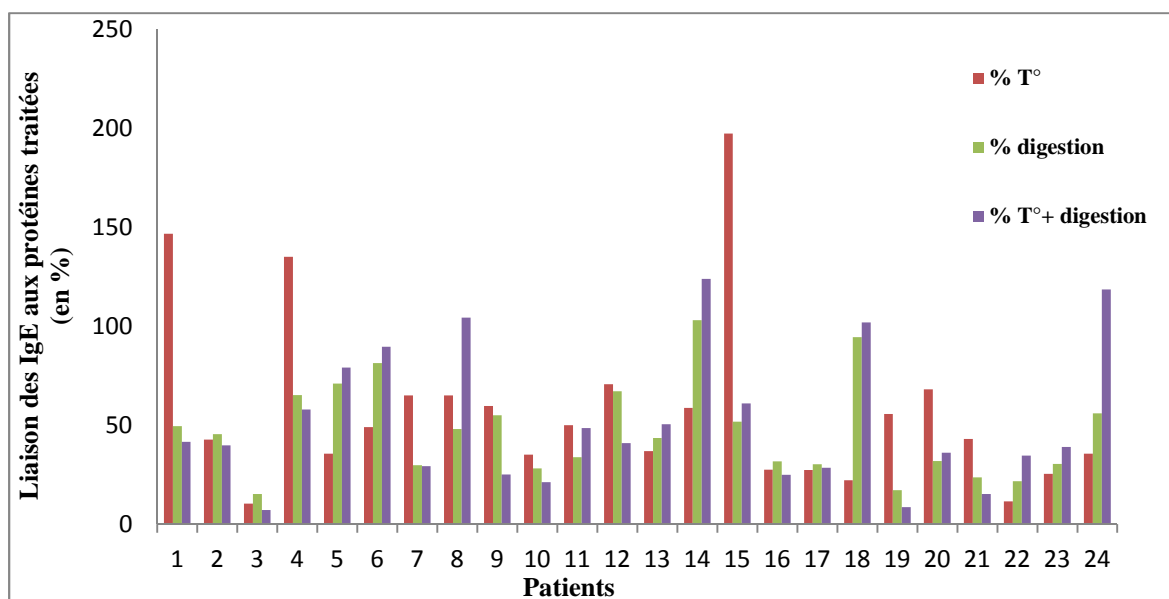


Figure 5 : Représentation graphique de l’effet du chauffage, de la digestion enzymatique et de la combinaison des deux traitements sur la reconnaissance des IgE humaines vis à vis des protéines de Golden.

Les résultats obtenus sur le graphe sont convertis dans le tableau 4, qui représente en pourcentage la variation de la liaison des IgE humaines aux protéines de Golden.

Tableau 4 : Pourcentage de variation de liaison des IgE humaines aux protéines de Golden Delicious traitées par chauffage, digestion enzymatique et combinaison des deux traitements

	Chauffage à 90°C	Digestion enzymatique	Combinaison des deux traitements
Nombre de patients avec un % <90%	21 (87,5%)	22 (91,6%)	20 (83,3%)
Nombre de patients avec un % 90-110%	0 (0%)	2 (8,3%)	2 (8,3%)
Nombre de patients avec un % >110%	3 (12,5%)	0 (0%)	2 (8,3%)

D’après les résultats obtenus, on remarque une diminution de la liaison des IgE aux protéines de pomme traitées par chauffage. La reconnaissance des IgE aux protéines chauffées a diminué chez 87,5% des patients, parmi eux, 61,9% ont montré un pourcentage de liaison inférieur à 50%. Pourtant, cette reconnaissance a augmenté chez 3 patients (12,5%).

Pour le traitement enzymatique, on constate que la reconnaissance des IgE vis-à-vis des protéines de pomme hydrolysées a diminué chez la majorité des patients (91,6%), dont 68,1% montrent un pourcentage de liaison inférieur à 50%, cependant, cette liaison est restée stable chez 2 patients (8,3%). L'augmentation de la liaison IgE- protéines hydrolysées n'a pas été observée chez les patients étudiés.

En ce qui concerne la combinaison des traitements thermique et enzymatique, on remarque une diminution de la liaison des IgE aux protéines de pomme chauffées puis hydrolysées. Cette diminution a été observée chez 83,3% des patients, pourtant, 2 patients (8,3%) ont montré une augmentation de la reconnaissance IgE- protéines, et 2 autres patients n'ont pas montré de changement de liaison par rapport aux protéines natives.

II. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) :

Les résultats de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide des différents échantillons protéiques (natifs, chauffés et/ou hydrolysés par la pepsine) de la variété Golden Delicious sont représentés sur la figure 6.

L'électrophorèse de l'extrait protéique natif a révélé la présence d'une seule bande migrant aux alentours de 10 kDa (taille attendue pour les LTP), qui correspond probablement à la protéine Mal d 3, la LTP de la pomme.

Pour l'extrait protéique traité par chauffage suivi ou non d'hydrolyse enzymatique, on remarque une forte atténuation de la bande de Mal d 3, pour l'extrait protéique traité par hydrolyse enzymatique, une faible atténuation de la bande Mal d 3 a été observée.

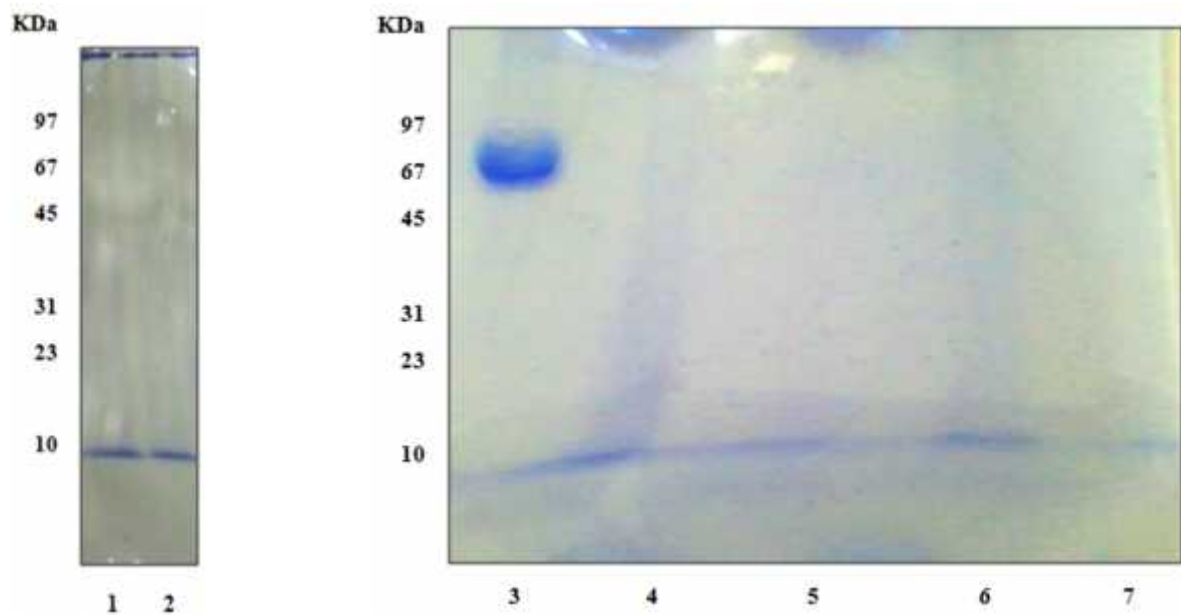


Figure 6 : Profil électrophorétique des protéines de la variété Golden Delicious natives (1,2,4), traitées par chauffage (5), traitées par hydrolyse enzymatique (6), traitées par chauffage et hydrolyse enzymatique (7). La bande 3 correspond à la BSA.

Discussion :

La prévalence de l'allergie alimentaire a connu une augmentation importante ces dernières années. Actuellement, l'allergie alimentaire est classée au quatrième rang des maladies dans le monde selon l'organisation mondiale de la santé. Parmi les causes possibles de cette augmentation, on peut citer la modification des habitudes alimentaires ainsi que l'évolution des techniques de transformation des aliments.

L'objectif de cette étude est d'étudier la sensibilité d'une population marocaine de la région de Fès vis-à-vis des pommes, ainsi que d'évaluer l'influence des traitements physico chimiques sur l'allergénicité de cet aliment.

La méthodologie de travail a reposé sur la réalisation d'une enquête au niveau de la ville de Fès suivie de la constitution d'une banque de sérums humains. La sensibilité a été testée par dosage des IgE sériques humaines spécifiques aux protéines des pommes par la technique d'ELISA. Enfin, on a étudié l'immunoréactivité des IgE humaines aux protéines de pomme natives ou soumises à des traitements thermiques ou enzymatiques.

L'enquête a révélée qu'une seule personne parmi les 100 sondés a reporté une sensibilité aux pommes. L'étude du profil de la sensibilité (par dosage d'IgE) de la population marocaine à trois variétés de pommes : Golden Delicious, Red Delicious et Granny Smith, a montré que les personnes étudiées ont plus de sensibilité à la variété Golden Delicious que Red Delicious suivie de Granny Smith.

L'étude de Bolhaar et al. (2005) sur l'allergénicité de différentes variétés de pommes sur un échantillon de patients néerlandais et espagnols, a montré que les patients néerlandais ont montré des prick-tests positifs avec la peau de Golden Delicious.

Les résultats de l'immunoréactivité des IgE humaines vis-à-vis des protéines de pomme ayant subies un traitement thermique ont montré une diminution importante de la reconnaissance des IgE vis-à-vis de ces protéines. Après un chauffage des protéines à 90°C pendant une heure, leur liaison aux IgE humaines a diminué chez 87,5% des patients. Ces résultats sont en corrélation avec ceux d'une étude qui a montré que le chauffage de l'extrait protéique de pomme, réduit significativement son immunoréactivité vis-à-vis des IgE (Vieths et al., 1998).

La reconnaissance de IgE vis-à-vis des protéines chauffées a augmenté chez 3 patients, ceci peut être expliqué par le fait que le traitement thermique a induit l'apparition de nouveaux sites allergéniques probablement séquentiels ou résultants de réactions avec d'autres composés telle que la réaction de Maillard.

Une autre série d'expériences a été réalisée pour évaluer l'effet de la digestion enzymatique par la pepsine sur l'allergénicité des protéines de Golden Delicious. L'immunoréactivité des IgE vis-à-vis des protéines de Golden hydrolysées a révélé que la majorité des patients (91,6%) ont montré une diminution de la reconnaissance des IgE vis-à-vis de ces protéines. D'après ces résultats, on peut conclure que l'hydrolyse enzymatique réduit fortement le pouvoir allergénique des protéines de pomme.

Lors de la combinaison du traitement thermique et enzymatique, on a remarqué une diminution de la reconnaissance des IgE vis-à-vis des protéines chauffées puis hydrolysées chez 83,3% des patients. En plus, on a remarqué une augmentation de la liaison des IgE aux protéines traitées chez 2 patients différents de ceux qui ont montré une augmentation par le chauffage.

Lorsque l'hydrolyse enzymatique est précédée par un chauffage, on constate une augmentation de la liaison des IgE aux protéines chez 2 patients. D'après ces résultats, on peut déduire que les protéines de Golden ont été dénaturées par le chauffage, donnant en résultat de nouveaux épitopes peptidiques reconnaissables par les IgE, qui sont à l'origine de l'augmentation de l'immunoréactivité de ces protéines.

Les allergies alimentaires constituent un problème important de santé publique en raison de leur impact significatif en termes de morbidité, de mortalité et de coûts. Plusieurs études épidémiologiques ont montré une augmentation de la prévalence de l'allergie alimentaire durant les dernières décennies, cela est dû à la modification des habitudes alimentaires ainsi qu'à l'évolution de la technologie de transformation des aliments et l'apparition de nouveaux constituants utilisés comme additifs alimentaires.

Ce travail regroupe un ensemble d'études épidémiologiques et biologiques menées au niveau du Laboratoire des Molécules Bioactives de la FST. Les résultats de l'effet des traitements physicochimiques ont montré que les protéines de Golden Delicious perdent la majorité de leur pouvoir allergénique après traitement par chauffage ou hydrolyse enzymatique.

L'étude des effets des procédés de transformation alimentaires (traitement thermique, digestion enzymatique...) sur l'activité allergénique des aliments, ainsi que l'étude de l'effet des interactions entre les protéines allergènes et les ingrédients utilisés dans les produits manufacturés sur l'assimilation et la sensibilisation à l'allergène, permet une meilleure connaissance des allergènes en relation avec les technologies alimentaires et une meilleure appréhension des phénomènes allergiques et des conditions du risque allergique alimentaire.

Les résultats obtenus dans cette étude ouvrent une perspective importante aux personnes allergiques, les traitements physicochimiques de certains aliments peuvent être une alternative au traitement thérapeutique lourd.

- Besler, M., Steinhart, H., & Paschke, A. (2001). Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. *Journal of Chromatography B Biomedical Sciences and Applications*, 756(1-2), 207–228.
- Bolhaar, S. T. H. P., Van De Weg, W. E., Van Ree, R., Gonzalez-Mancebo, E., Zuidmeer, L., Bruijnzeel-Koomen, Carla A. F. M., Fernandez-Rivas, M., Jansen, J., Hoffmann-Sommergruber, K., Knulst, A.C., Gilissen, L. J. W. J. (2005). In vivo assessment with prick-to-prick testing and double-blind, placebo-controlled food challenge of allergenicity of apple cultivars. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(5), 1080–1086.
- Bousquet, J., Bjorksten, B., Cafm, B., & Huggett, A. (1998). Scientific criteria and the selection of allergenic foods for product labelling. *Allergy*, 53, 3–21.
- Burks, A. W., Tang, M., Sicherer, S., Muraro, A., Eigenmann, P. A., Ebisawa, M., Fiocchi, A., Chiang, W., Beyer, K., Wood, R., Hourihane, J., Jones, S., Lack, G., Sampson, H. A. (2012). ICON: Food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(4), 906–920.
- Burks, A. W., Williams, L. W., Thresher, W., Connaughton, C., Cockrell, G., Helm, R. M. (1992). Allergenicity of peanut and soybean extracts altered by chemical or thermal denaturation in patients with atopic dermatitis and positive food challenge. *J. Allergy Clin. Immunol*, 90, 889-897.
- Carnés, J., Ferrer, A., & Fernández-Caldas, E. (2006). Allergenicity of 10 different apple varieties. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 96(4), 564–570.
- Davis, P. J., & Williams, S. C. (1998). Protein modification by thermal processing. *Allergy*, 53(46 Suppl), 102–105.
- Donald MacGlashan, J. (2008). IgE receptor and signal transduction in mast cells and basophils. *Current opinion in immunology*, 20, 717–723.
- Ghadi, a, & Dutau, G. (2007). Etude des sensibilisations chez l' enfant atopique à Marrakech. Etude prospective chez 160 enfants entre 2002 et 2005. A sensitization study of atopic children in Marrakech . A prospective study of 160 children between 2002 and 2005. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 47, 409–415.
- Giovannini, L., Bourrier, T., Noormahomed, M. T., Albertini, M., & Boutté, P. (2004). L'allergie aux Rosacées chez l'enfant: À propos de vingt-deux cas. *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 44(8), 625–633.
- Jaffuel, D., Demoly, P., & Bousquet, J. (2004). Les allergies alimentaires. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, 1311, 169–186.

- Madsen, C. (2005). Prevalence of food allergy: an overview. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 64(4), 413–417.
- Marzban, G., Herndl, A., Pietrozotto, S., Banerjee, S., Obinger, C., Maghuly, F., Hahn, R., Boscia, D., Katinger, H., Laimer, M. (2009). Conformational changes of Mal d 2, a thaumatin-like apple allergen, induced by food processing. *Food Chemistry*, 112(4), 803–811.
- Marzban, G., Puehringer, H., Dey, R., Brynda, S., Ma, Y., Martinelli, A., Zaccarini, M., Van Der Weg, E., Housley, Z., Kolarich, D., Altmann, F., Laimer, M. (2005). Localisation and distribution of the major allergens in apple fruits. *Plant Science*, 169(2), 387–394.
- Mondoulet. (2005). Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide. Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermiques et des processus digestifs. Thèse Doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- Ouahidi I. (2011). Etude des sensibilités allergiques à différents aliments au niveau de la population Fès-Meknès : Epidémiologie, stabilité des allergènes aux traitements industriels et mise au point de trousse analytique. Thèse Doctorat Universitaire. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- Ouahidi, I., El Youbi Elhamsas, A., Bouyahyaoui, Y., Mernissi, F., & Aarab, L. (2010). Characterization and stability of specific IgE to white egg's, gliadin's and peanut's proteins among children. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 9(2), 97–102.
- Pearlman, D. S. (1999). Pathophysiology of the inflammatory response. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104(4 Pt 1), S132–S137.
- Rodriguez, J., Crespo, J. F., Lopez-Rubio, A., De La Cruz-Bertolo, J., Ferrando-Vivas, P., Vives, R., & Daroca, P. (2000). Clinical cross-reactivity among foods of the Rosaceae family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(1 I), 183–189.
- Sanchez, C., & Frémont, S. (2003). Conséquences des traitements thermiques et de la formulation sur la structure et l'allergénicité des protéines alimentaires. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 43, 13–20.
- Sancho, A. I., Rigby, N. M., Zuidmeer, L., Asero, R., Mistrello, G., Amato, S., González-Mancebo, E., Fernández-Rivas, M., Van Ree, R., Mills, E. N. C. (2005). The effect of thermal processing on the IgE reactivity of the non-specific lipid transfer protein from apple, Mal d 3. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 60(10), 1262–1268.

- Sathe, S. K., Teuber, S. S., & Roux, K. H. (2005). Effects of food processing on the stability of food allergens. *Biotechnology Advances*, 23, 423–429.
- Savazzini, F., Ricci, G., & Tartarini, S. (2015). Apple allergens genomics and biotechnology: Unravelling the determinants of apple allergenicity. *Applied Plant Genomics and Biotechnology*. 35-54.
- Sen, M., Kopper, R., Pons, L., Abraham, E. C., Burks, A. W., & Bannon, G. A. (2002). Protein structure plays a critical role in peanut allergen stability and may determine immunodominant IgE-binding epitopes. *The Journal of Immunology*, 169(2), 882–887.
- Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2006). 9. Food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 470–475.
- Stone, K. D., Prussin, C., & Metcalfe, D. D. (2010). IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125, S73–S80.
- Thomas, K., Herouet-Guicheney, C., Ladics, G., Bannon, G., Cockburn, A., Crevel, R., Fitzpatrick, J., Mills, C., Privalle, L., Vieths, S. (2007). Evaluating the effect of food processing on the potential human allergenicity of novel proteins: International workshop report. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7), 1116–1122.
- Von Berg, A.(2007). The concept of hypoallergenicity for atopy prevention, *Nestle Nutrition Workshop Series : Pediatric Program*, 59, 49-56.
- Vieths, S., Hoffmann, A., Holzhauser, T., Muller, U., Reindl, J., & Haustein, D. (1998). Factors influencing the quality of food extracts for in vitro and in vivo diagnosis. *Allergy*, 53(Suppl 46), 65–71.
- Yagami, T., Haishima, Y., Nakamura, A., Osuna, H., & Ikezawa, Z. (2000). Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(4), 752–762.



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques
www.fst-usmba.ac.ma

Année Universitaire : 2014-2015

Résumé

La pomme, *Malus domestica*, est un fruit qui appartient à la famille des Rosacées, et l'un des fruits les plus consommés dans le monde entier. Cependant, Plusieurs études cliniques ont démontré que le problème de l'allergie aux pommes a connu une augmentation importante dans les dernières années.

Notre étude vise, dans un premier volet, à évaluer la sensibilité de la population marocaine au niveau de la région de Fès à trois variétés de pommes : Golden Delicious, Starking Delicious et Granny Smith, dans un deuxième volet, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'influence des traitements thermique et enzymatique sur l'allergénicité de la variété Golden Delicious.

Ce travail repose sur un échantillon composé de sérums de 73 patients, d'âge et de sexe différents. Les sérums ont été collectés à partir du centre hospitalier Ibn Elkhatib, du CHU ainsi que des laboratoires privés d'analyses médicales de Fès. L'analyse des sérums a été réalisée par la technique d'ELISA pour le dosage des IgE spécifiques ainsi que pour l'évaluation des effets des traitements physicochimiques sur l'immunoréactivité des protéines.

L'évaluation des IgE spécifiques a montré que la population étudiée est plus sensible à la variété Golden Delicious qu'aux deux autres variétés. L'étude de l'effet du traitement thermique et enzymatique a montré que les protéines de Golden perdent la majorité de leur immunoréactivité vis-à-vis des IgE humaines.

Mots clés : Allergie alimentaire, IgE spécifique, pomme, traitement thermique, hydrolyse enzymatique.

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

☒ B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

☒ 212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – Fax : 212 (35) 60 82 14