

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE VEGETALE ET ECOLOGIE

N° d'ordre: 112 / MAG/ 2010

N° de série: 006 / SN / 2010

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère (Ecole doctorale)

Option: Biotechnologie végétale

Thème

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE CERTAINES PROTEINES
ALLERGENES ALIMENTAIRES D'ORIGINE VEGETALE ET
DETERMINATION DE RELATIONS ENTRE DIFFERENTS
PARAMETRES PHYSICOCHEMISTIQUES**

Présenté par: M^{elle} MAHROUG Hamida

Soutenue le: 21 /04 /2010

Devant le jury:

Président : Mr KHELIFI D.

Prof. Univ. Constantine

Rapporteur : Mr BOUTEBBA A.

Prof. Univ. Annaba

Examineur : Mr TAHAR A.

Prof. Univ. Annaba

Examineur : Mme YKHLEF N.

Prof. Univ. Constantine

Année universitaire: 2009 / 2010

RESUME

L'allergie alimentaire est une réaction immunitaire caractérisée par la production des IgE spécifiques, chez les atopiques, dirigés contre un antigène d'origine alimentaire dis trophallergène. Elle provoque des manifestations sévères qui peuvent conduire à la mort.

Parmi les aliments d'origine végétale incriminés dans l'allergie alimentaire existe l'arachide, le blé, la lentille, le pois vert, les graines de sésame et de soja. Pour étudier leur protéines allergènes, il a été procédé a :

-L'extraction de la viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline des graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja.

-La détermination du taux de protéines, du taux de glucides, la teneur en eau, le pH isoélectrique et la température de dénaturation.

-la comparaison des paramètres physicochimiques.

-La recherche de relations entre les différents paramètres physicochimiques.

Il a été montré que ces protéines allergènes sont de nature glycoprotéique et possèdent des pH isoélectrique acides ou proches de la neutralité. Elles sont résistantes à la chaleur et ont une grande capacité à retenir de l'eau. La température de dénaturation dépend de la quantité de protéines mais ne dépend pas de la quantité de glucides. Lorsque le taux de protéines est important, la fraction glucidique est faible, le pH isoélectrique est acide et la température de dénaturation est élevée. Le taux de protéines et le taux de glucides exercent la même influence sur le pH isoélectrique mais de façon opposée.

Mots clés : Protéine allergène, Alimentaire, Végétale, Paramètres physicochimiques, Relations.

ABSTRACT

The food allergy is a reaction of immune system characterized by the production of the specific IgE, to apotics, against an antigen of food origin named food allergen. Food allergy causes severes clinical manifestations which can lead to the death.

Among plants food incriminated in the food allergy exist peanut, wheat, lentil, green pea, sesame seeds and soybean. To study their proteins allergens, it was proceeded to:

- Extraction of vicilin of peanut, albumin and globulin of wheat, vicilin of lentil, albumin of green pea, albumin 2S, legumin and vicilin of sesame seeds, β conglycinin and glycinin of soybean.
- Determination of proteins rate, carbohydrates rate, the moisture content, the isoelectric pH and the temperature of denaturation.
- Comparison of the physico-chemical parameters.
- Search for relations between the various parameters.

It was shown that these proteins allergens are glycoproteins and possess pH isoelectric acid or near to the neutrality. They are thermoresistants and have a great water holding capacity. Their temperatures of denaturation depend on the quantity of proteins but do not depend on the quantity of carbohydrates. When the proteins rate is important, the carbohydrates rate is low, the pH isoelectric is acid and the temperature of denaturation is raised. The proteins rate and the carbohydrates rate have the same influence on the pH isoelectric but in an opposite way.

Keywords: Proteins allergens, Food, Plant, Physico-chemical parameters, Relations.

ملخص

الحساسية الغذائية هي عبارة عن إستجابة مناعية تتميز بتركيب أجسام مضادة من نوع IgE المتخصصة عند الأشخاص الذين لديهم قابلية وراثية للحساسية ضد أحد مركبات الغذاء و الذي يسمى الالرجان الغذائي. الحساسية الغذائية تسبب اعراض خطيرة و التي يمكن أن تؤدي إلى الموت .
من بين الاغذية النباتية المسببة للحساسية الغذائية نجد الفول السوداني, القمح, العدس, الجلبان, بذور السمسم و الصوية . لدراسة بروتينات الالرجانات هذه الاغذية, تم القيام بما يلي:

-استخلاص viciline من الفول السوداني, globuline و albumine من القمح, viciline من العدس, albumline من الجلبان, albumine 2S, légumine و viciline من بذور السمسم , β conglycinine و glycinine من الصوية.
-تحديد نسبة البروتينات, نسبة التسكر , نسبة الاحتفاظ بالماء , نقطة التعادل الكهربائي و درجة حرارة التشوه .
-مقارنة العوامل الفيزيوكيميائية .
-البحث عن علاقات بين مختلف العوامل الفيزيوكيميائية.

تبين أن هذه البروتينات الالرجانات ذات طبيعة غليكوبروتينية و لها نقط تعادل كهربائي حمضية أو قريبة من التعادل .بالإضافة إلى أنها مقاومة للحرارة ولها قدرة عالية على الإحتفاظ بالماء . درجات حرارة تشوها تتعلق بنسبة البروتينات و لا تتعلق بنسبة التسكر . عندما تكون نسبة البروتينات عالية , يقل الجزء السكري , نقطة التعادل الكهربائي تكون حمضية و درجة حرارة التشوه ترتفع. نسبة البروتينات و نسبة التسكر تؤثر على نقطة التعادل الكهربائي بنفس الدرجة لكن في اتجاه معاكس .

كلمات مفتاحية: بروتينات الالرجانات , غذائية , نباتية , عوامل فيزيو كيميائية , علاقات .

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord **DIEU TOUT PUISSANT**, qui m'a permis de réaliser ce travail.
Je remercie infiniment Monsieur le professeur **BOUTEBBA .A** pour avoir consacré beaucoup de temps pour me conseiller et me diriger pour réaliser ce travail.

Mes sincères remerciements vont aussi :

A Monsieur le professeur **KHELIFI.D** pour son aide et l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce jury.

A Monsieur le professeur **TAHAR .A** pour sa gentillesse et son aide et c'est grâce à lui que j'ai pu réaliser ce travail sous la direction de professeur **BOUTEBBA.A** et je le remercie également pour avoir accepté d'examiner ce travail.

A Madame le professeur **YEKHELF.N** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

A Madame le professeur **REBANI.F** Doyen de la faculté des sciences pour son aide.

A Madame **KIRANE.D** le chef de département de Biochimie pour son aide.

A Monsieur le professeur **SOLTANI.N** et Madame **SOLTANI** qui m'ont beaucoup aidé.

A Monsieur le professeur **OUNISSI .I** qui m'a permis de réaliser certaines manipulations dans le laboratoire de recherche de Biomarine.

Je tiens à remercier tous les techniciens et toutes les techniciennes des départements de Biochimie et de Biologie végétale et de Chimie de l'université de Annaba et tous les techniciens de département du biologie de l'université de Constantine.

Mes remerciements vont à Madame le professeur **KHELFALAH**, Madame le maître assistant **BELAAZ.M**, Monsieur le maître de conférences **BOUDELAÄ**, Monsieur le maître assistant **BOUARROUDJ**, Monsieur le maître de conférences **DJAMAÏ**, Monsieur le maître de conférences **MERAYHIYA .D**, Monsieur le professeur **BOUZERNA**, Madame le maître de conférences **HENCHIRI**, Monsieur le maître de conférences **AOUADI.S** et Monsieur le maître assistant **SAOUDI.B** qui m'ont beaucoup aidé et orienté.

Je tiens à remercier Monsieur **BOUDERSSA.A** infirmier à la clinique rénale **Deksi - Constantine**, Monsieur le médecin **CHALAL.A**, Madame le médecin **BOUROUZ** et toutes les techniciennes de polyclinique **Filali - Constantine**.

DEDICACES

A Toute Ma Famille,

A Mes Collègues Et Mes Amies.

ABREVIATIONS

α : seuil de signification.

BSA : Sérum d'albumine bovine.

CM_f : Carré moyen factoriel.

CM_r : Carré moyen résiduel.

ddl : degré de liberté.

DNA : Acide désoxyribonucléique.

EDTA : Acide Ethylène DinitroloTétra Acétique.

F_{obs} : F observée.

F_{1- α} : Valeur théorique de F tirée de la table F de FISHER.

g : Unité d'accélération radiale.

IgE : Immunoglobuline de type E.

IgG : Immunoglobuline de type G.

IgM : Immunoglobuline de type M.

k Da : kilo Dalton.

nm : Nanomètre.

p : Probabilité.

pH_i : pH isoélectrique.

PMSF : Phenyl Méthyl Sulfonyl Fluoride.

r : Coefficient de corrélation.

R² % : Coefficient de détermination.

RNA : Acide ribonucléique.

S : Svedberg.

SCE : Somme des carrés des écarts.

SCE_f : Somme des carrés des écarts factorielle.

SCE_r : Somme des carrés des écarts résiduelle.

t_{obs} : Valeur de t observée.

t_{1- α /2} : Valeur théorique de t tirée de la table t de STUDENT.

Tris : Tris-hydroxyméthylaminométhane.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
<i>I.1- Allergie</i>	
I.1.1-Historique.....	2
I.1.2-Définition et classification.....	2
I.1. 2.1-Allergie de type I.....	2
I.1.2.2-Allergie de type II	3
I.1.2.3-Allergie de type III.....	3
I. 1.2.4-Allergie de type IV	3
<i>I.2. Allergie alimentaire</i>	
I.2.1-Définition.....	4
I.2.2-Mécanisme.....	4
I.2.2.1-Phase de sensibilisation.....	4
I.2 .2.2-Phase de déclenchement.....	4
I.2.3-Manifestations cliniques.....	5
I.2.4-Allergies croisées.....	5
I.2.5- Intolérances alimentaires et fausses allergies alimentaires.....	7
I.2.6-Traitement.....	7
<i>I.3- Biochimie des principales protéines allergènes alimentaires d'origine végétale</i>	
I.3.1-Définition et nomenclature	8
I.3.2-Caractéristiques générales.....	9
I.3.3-Classification.....	10
I.3.3.1-La superfamille des cupines	10
I.3.3.2-La superfamille des prolamines.....	12
I.3.3.3-La superfamille de papaine de protéinases cystéines.....	13
I.3.3.4- Autres familles des protéines allergènes.....	14
I.3.3.5-Les protéines de défense végétales Pr Dv ou PR	15
I.3.4-Réduction de l'allergénicité : hypoallergénicité.....	18
I.3.4.1-La dénaturation des protéines par le chauffage.....	18

I.3.4.2-La dénaturation globale par procédés enzymatiques.....	18
I.3.4.3-Les procédés physiques et chimiques.....	19
I.3.4.4-L'association de différents procédés.....	19
I.3.4.5-Des procédures complexes.....	19
I.3.4.6-La sélection de variants agronomiques avec un taux moindre ou une absence d'allergènes majeurs.....	19
I.3.5-Les protéines allergènes des aliments étudiés	20
I.3.5.1-Les protéines allergènes d'arachide.....	20
I.3.5.2-Les protéines allergènes de blé.....	22
I.3.5.3-Les protéines allergènes de lentille.....	24
I.3.5.4-Les protéines allergènes de pois vert.....	24
I.3.5.5-les protéines allergènes des graines de sésame.....	26
I.3.5.6-Les protéines allergènes de soja.....	27

II- MATERIEL ET METHODES D'ANALYSES

II.1-Matériel végétal.....	31
II.2-Méthodes d'analyses.....	31
II.2.1-Extraction des protéines allergènes.....	31
II.2.1.1-Extraction de la viciline d'arachide.....	31
II.2.1.2-Extraction de l'albumine et la globuline de blé.....	31
II.2.1.3-Extraction de la viciline de la lentille.....	32
II.2.1.4-Extraction de la fraction d'albumine de pois vert.....	32
II.2.1.5-Extraction de l'albumine 2S, la viciline et la légumine des graines de sésame.....	32
II.2.1.6- Extraction de la β conglycinine et la glycinine de soja.....	33
II.2.2-Détermination des paramètres physicochimiques des protéines allergènes étudiées	
II.2.2.1- Détermination du taux de protéines.....	33
II.2.2.2- Détermination du taux de glucides.....	35
II.2.2.3-Détermination du pH isoélectrique.....	37
II.2.2.4-Détermination de la teneur en eau.....	37
II.2.2.5-Détermination de la température de dénaturation.....	37
II.2.3-Analyse statistique.....	37
II.2.3.1-Description des données.....	37
II.2.3.2-Test t de STUDENT pour échantillons indépendants.....	38

II.2.3.3-Analyse de la variance (ANOVA).....	38
II.2.3.4-Analyse statistique bivariée.....	39

III-RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de différents aliments d'origine végétale étudiées.....	42
---	----

III.2-Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique et ceux du groupe des globulines des différents aliments d'origine végétale étudiées	47
---	----

II.2.1-Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique de différents aliments d'origine végétale étudiées	47
--	----

III.2.2-Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes du groupe des globulines de différents aliments d'origine végétale	49
---	----

III.3-Détermination et analyses des relations entre les différents paramètres physico-chimiques des protéines allergènes d'origine végétale étudiées	53
--	----

CONCLUSION GENERALE	59
----------------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	60
--	-----------

TABLE DES FIGURES

Figure N° 1 : Epitopes séquentiels et conformationnels d'un allergène	10
Figure N° 2 : Structure des protéines de la superfamille des cupines.....	11
Figure N° 3 : Structure secondaire des allergènes de la superfamille des prolamines.....	12
Figure N° 4 : Structure tridimensionnelle de la viciline d'arachide Ara h 1.....	21
Figure N° 5 : Localisation des acides aminés hydrophobes dans la structure tertiaire de la viciline Ara h 1.....	21
Figure N° 6 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.....	34
Figure N° 7 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides	36
Figure N° 8 : Histogrammes des taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale	43
Figure N° 9 : Histogrammes des taux de glucides des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.....	43
Figure N° 10 : Histogrammes des pH isoélectrique des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.....	44
Figure N° 11 : Histogrammes des teneurs en eau des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.....	44
Figure N° 12 : Histogrammes des températures de dénaturation des protéines allergènes de différents aliments d'origine végétale.....	45
Figure N° 13 : Relation entre la température de dénaturation et le taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.....	55
Figure N° 14 : Relation entre le pH isoélectrique et le taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale	55
Figure N° 15 : Relation entre le pH isoélectrique et le taux de glucides des protéines allergènes alimentaires d'origine végétale.....	56
Figure N° 16 : Relation entre le taux de glucides et le taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.....	56

TABLE DES TABLEAUX

Tableau N° I : Protéines allergènes PR Pathogenesis-Related	16
Tableau N° II : Protéines allergènes PR-like	17
Tableau N° III : Concentrations des solutions de sérum d'albumine bovine (BSA).....	34
Tableau N° IV : Concentrations de glucose et les densités optique.....	35
Tableau N° V : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique des différents aliments d'origine végétale par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe.....	48
Tableau N°VI : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes du groupe des globulines des différents aliments d'origine végétale par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe	50
Tableau N° VII : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des vicilines, globulines de type 7S, des différents aliments d'origine végétale par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe.....	50
Tableau N° VIII : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des légumineuses, globulines de type 11 S, des différents aliments d'origine végétale par le test t de STUDENT.....	51
Tableau N° IX : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des globulines de soja par le test t de STUDENT.....	51
Tableau N° X : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des globulines de graines de sésame par le test t de STUDENT.....	52
Tableau N° XI : Relations entre les différents paramètres physicochimiques des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale étudiées.....	54

INTRODUCTION

Introduction :

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

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

La viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline des graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja appartiennent à différentes familles protéiques. La diminution ou la suppression de leur allergénicité est possible grâce à la biotechnologie et aux traitements industriels. De nombreuses études ont été réalisées pour créer des aliments hypoallergéniques. Un groupe de chercheurs japonais a réussi de réduire la quantité de la globuline allergénique contenue dans le riz en insérant le DNA antisens de DNA codant pour cet allergène.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE :

I.1-Allergie :

I.1.1-Historique :

L'allergie constitue un problème de santé à l'échelle mondiale. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) elle occupe le quatrième rang parmi les maladies mondiales. La découverte de l'allergie remonte avant Jésus-Christ quand Hippocrate et Galen ont découvert que la consommation du lait de vache ou de chèvre peut provoquer des troubles digestifs et de l'urticaire. En 1483, Richard III avait des boutons rouges après quelques heures de l'ingestion de fraises, c'était une urticaire. En 1586, Marcello Donati décrivit le cas d'un jeune comte qui développait un angioœdème chaque fois qu'il consommait les œufs (Dutau et Rancé , 2005). En 1902, les français Richet et Portier décrivaient l'induction expérimentale d'une allergie fatale chez le chien. Ils ont injecté à un chien des doses successives non toxiques de venin d'anémones de mer. Quelques semaines après, ils ont réinjecté les mêmes doses de poison au chien qui réagissait violemment et meurt. Pour ce phénomène reproductible, ils ont proposé le terme d'anaphylaxie, dérivé de mots grecs ana : contraire, phylaxie : protection (Mondoulet, 2005). En 1905, le premier cas d'anaphylaxie au lait de vache est rapporté (Bodinier, 2007). En 1906, Von Pirquet a proposé le terme d'allergie, dérivé de mots grecs allos : autre, ergon. : action, comme une réaction différente de celle attendue vis-à-vis d'une substance étrangère (Roumier et *al.* , 2002).

I.1.2-Définition et classification :

L'allergie ou l'hypersensibilité est une réaction inappropriée ou exagérée du système immunitaire à des substances qui ne causent aucune réaction chez la plupart des sujets. Les allergies s'observent notamment en réponse à des antigènes présents dans l'environnement, appelés « allergènes » (Fattorusso et Ritter, 2004). En 1963, Gell et Coombs ont classés les réactions d'hypersensibilité en quatre groupes en fonction de la vitesse de la réaction et du mécanisme impliqué (Male, 2005).

I.1.2.1-Allergie de type I :

Elle est dite réaction immédiate ou anaphylaxie, c'est une réaction entre un allergène et des cellules sensibilisées par la liaison des IgE avec leurs récepteurs spécifiques. La combinaison antigène-anticorps provoque la libération par les cellules basophiles et les

mastocytes d'histamine, de prostaglandines et de substances vasoactives et provoque aussi la dégranulation des mastocytes. En clinique, l'asthme allergique, la rhinite et la conjonctivite allergique, le choc anaphylactique, certaines urticaires, l'œdème de Quincke et l'eczéma atopique sont dus à ce type de réaction.

I.1.2.2-Allergie de type II :

Elle est dite cytotoxique, c'est une réaction entre un allergène lié à la surface des cellules et des anticorps circulants de type IgG ou IgM. En clinique, certaines anémies hémolytiques, leucopénies ou agranulocytoses, thrombopénies et le syndrome de Goodpasture sont dus à des réactions de ce type, ainsi que les accidents précoces de transfusions sanguines.

I.1.2.3-Allergie de type III :

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

I.1.2.4-Allergie de type IV :(réaction à médiation cellulaire)

C'est une réaction entre l'antigène et un lymphocyte T qui, après transformation en lymphoblaste, libère des médiateurs appelés lymphokines ou cytokines, attirent et activent les macrophages ; la réaction immunitaire est indépendante de la formation des anticorps. La réaction est lente et se manifeste après 24 à 48 heures. Ce type de réaction joue un rôle dans l'eczéma de contact, le rejet de greffe, la surveillance et l'élimination de cellules cancéreuses ainsi que la formation de granulomes dans les infections à des germes intracellulaires.

I.2-Allergie alimentaire :

I.2.1-Définition :

L'allergie alimentaire est définie comme l'ensemble des manifestations cliniques liées à une réponse immunoallergique vis-à-vis des allergènes alimentaires (Nemni et *al.*,2006) . C'est une réaction immunologique provoquée par l'ingestion, l'inhalation ou le contact avec un allergène d'origine alimentaire (Fattorusso et Ritter,2004 ;Guez et *al.*, 2004). Les quatre types d'allergie peuvent être impliqués dans les allergies alimentaires dont 90% sont de types I (Nemni et *al.*, 2006) . Les réactions de type IV sont impliquées dans les formes entéropathiques d'allergie aux protéines de lait de vache non IgE dépendante et jouent un rôle dans la dermatite atopique du nourrisson. Les réactions de types III peuvent théoriquement intervenir vis-à-vis des aliments (Ancellin et *al.* , 2002).

I.2.2-Mécanisme :

L'allergie alimentaire se manifeste seulement chez les individus atopiques, individus génétiquement prédisposés à développer une allergie, qui présentent une faible fraction de la population. Elle passe par deux étapes distinctes séparées dans le temps : la phase de sensibilisation et la phase de déclenchement.

I.2.2.1-Phase de sensibilisation :

Lors du premier contact avec l'allergène, les cellules B synthétisent les IgE spécifiques qui se fixent sur leurs récepteurs situés à la surface des mastocytes et des basophiles .Au cours de cette phase, il y aura aucun symptôme qui apparaît. Pour cela, elle est dite *silencieuse*.

I.2.2.2-Phase de déclenchement :

Au cours de cette phase, la réaction allergique est déclenchée lors du deuxième contact avec le même allergène ou avec d'autres allergènes qui partagent avec lui des structures immunoréactives communes ou voisines. Deux épitopes de l'allergène se lient avec deux IgE fixés sur les mastocytes. Cette liaison induit un influx calcique entraînant la libération des médiateurs préformés (histamine, protéases) et des médiateurs néoformés (prostaglandines D2, leucotriène C4 et les facteurs d'activation des plaquettes) responsables d'une manifestation immédiate des symptômes cliniques (dilatation des vaisseaux, œdème muqueux, contraction du muscle lisse bronchique,.....) (Wal, 2005 ; Mondoulet, 2005).

I.2.3-Manifestations cliniques :

Les manifestations cliniques de l'allergie alimentaire sont diverses : digestives, respiratoires et cutanées.

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

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

-*Manifestations cutanées* : la dermatite atopique est la principale manifestation cutanée chez l'enfant. Elle peut s'aggraver par l'ingestion des aliments riches en histamine ou histamino-libérateurs (poissons, œuf, chocolat.....). D'autres signes sont moins fréquents comme l'urticaire, l'angio-œdème localisés surtout au niveau du visage, sur les lèvres et sur les paupières.

D'autres signes cliniques peuvent se manifester comme les céphalées, migraine alimentaire et le choc anaphylactique. Ce dernier, représente la forme la plus grave de l'allergie alimentaire, rare chez l'enfant. L'allergie alimentaire représente 10% des cas de choc anaphylactique. L'arachide et les graines de sésame possèdent un pouvoir anaphylactogène accru (Perin, 1998).

1.2.4-Allergies croisées :

Les allergies croisées sont dues à des allergènes différents, sans qu'il y ait eu une sensibilisation préalable avec chacun de ces allergènes, qu'ils appartiennent à des origines taxonomiques proches ou éloignées. Les IgE secrétés dans ce cas là ne sont pas assez spécifiques parce qu'ils sont capables de reconnaître des allergènes différents ayant de fortes homologues séquentielles et structurales (Rancé et Bidat, 2000). Elles peuvent se faire entre aliments –pneumallergènes polliniques, aliments-pneumallergènes non pollinique et aliments-aliments (Dubuisson et al., 2002 ; Jaffuel et al., 2001).

-Les allergies croisées aliments - pneumallergènes polliniques:

Les pneumallergènes sont des allergènes dont l'inhalation provoque des réactions allergiques au niveau des sphères oro-pharyngée et respiratoire. D'après plusieurs études, 20 à 40% des patients souffrent de ces allergies qui sont limités le plus souvent au niveau de la bouche, syndrome oral, mais une anaphylaxie peut survenir (Patriarca *et al.*, 2009). Généralement, les signes de pollinose, allergie aux pollens, précèdent ceux de l'allergie alimentaire. Les réactions croisées les plus classiques sont celles liées aux pollens de bouleau et aux différents fruits ou légumes. Une allergie aux pollens de composées (armoïse, ambroisie) et au céleri ou aux épices. Une allergie aux pollens de graminées et à la tomate ou pomme de terre ou au poivron.

-Les allergies croisées aliments– pneumallergènes non pollinique :

Il existe des allergies croisées entre le latex de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) et certains fruits le plus souvent l'avocat, la banane, le kiwi, la châtaigne et le melon. Généralement, la sensibilisation au latex précède le déclenchement d'une allergie alimentaire. Autres allergies croisées ont été décrites comme allergie croisée entre la poussière de sève du figuier pleureur (*Ficus benjamina*) et la figue et allergie croisée entre le pain et la bière et les moisissures (Dechamp *et al.*, 1995 ;Deviller, 1998) .

-Les allergies croisées aliments-aliments :

Ces allergies peuvent se produire entre des aliments de même familles ou de différentes familles :

-Légumineuses : arachides, lentilles, pois, haricots, fèves.

- Solanacées : tomate, pomme de terre, poivron.

- Ombellifères : céleri, fenouil, carottes, persil, aneth.

-Crucifères : moutarde, choux, colza.

-Liliacées : ail, oignon, asperge.

-Rosacées : pomme, cerise, poire, pêche, abricot, amande.

-Rutacées : orange, citron, mandarine, pamplemousse.

- Légumineuses et les oléagineux : pistache, noix, noisette.

Les allergies croisées peuvent être dues à une protéine commune .C'est le cas de la tropomyosine de crustacés, des mollusques et l'inhibiteur de l'alpha –amylase des céréales tel que le blé, le seigle et l'orge.

I.2.5-Intolérances alimentaires et fausses allergies alimentaires :

Les intolérances et les fausses allergies alimentaires sont des réactions non médiées par le système immunitaire.

Les intolérances alimentaires regroupent toutes les affections qui sont en relation avec les anomalies enzymatiques tel que les intolérances aux sucres, le favisme qui est un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (Perrin, 1998). L'exemple classique est l'intolérance au lactose due à un déficit enzymatique en lactase. Il s'agit de la traduction clinique de la disparition de la capacité à digérer le lactose qui est le principal sucre du lait. Les signes de cette intolérance se manifestent par des douleurs abdominales, diarrhée et l'émission de gaz dans les heures suivant l'ingestion de lait. Cette pathologie est différente de l'allergie aux protéines du lait de vache (APLV) qui appartient à la catégorie des allergies alimentaires vraies (Ancellin *et al.*, 2002).

Les fausses allergies alimentaires ou pseudo allergies peuvent provoquer les symptômes des allergies vraies tel que les céphalées, les migraines, les troubles fonctionnels intestinaux et l'urticaire chronique. Les mécanismes les mieux identifiés sont :

-l'intolérance aux amines biogène comme l'histamine qui se trouve en quantités abondantes essentiellement dans les boissons fermentés ,certains fromages, les aliments fumés, les conserves de poissons et le poisson frais ainsi que les crustacées et la tyramine comme par exemple certains fromages et le chocolat .

-les réactions histaminiques liées à des substances histamino-libératrices (les fraises, les tomates, le blanc d'œuf et les crustacés) activant les mastocytes par un mécanisme non immunologique (Ancellin *et al.*, 2002).

I.2.6-Traitement :

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

d'adrénaline en première intention. La voie intramusculaire permet d'obtenir plus rapidement que la voie sous-cutanée, un pic sérique efficace. La voie intraveineuse étant réservée à la réanimation. Le stylo auto-injecteur (Anapen®) permet au patient de s'auto-administrer 0,15 ou 0,30 mg d'adrénaline. Les antihistaminiques et les corticoïdes ont leur place en deuxième intention, sauf dans le cas de l'urticaire ou de l'angio-œdème non compliqués (Guez *et al.*, 2004).

1.3-Biochimie des principales protéines allergènes alimentaires d'origine végétale :

1.3.1-Définition et nomenclature :

Les allergènes alimentaires ou trophallergènes sont une variété d'antigènes capables de provoquer une réponse immunitaire particulière dite « allergique » liée à la synthèse d'IgE spécifiques (Moneret-Vautrin, 1997). Il est distingué dans le groupe d'allergènes, les allergènes majeurs, mineurs, isoallergènes et les variants allergéniques. L'allergène est dit majeur quand il s'agit d'un antigène purifié contre lequel au moins 50% des patients testés présentent des IgE spécifiques et donne des résultats positifs immédiatement aux tests cutanés à concentration très faible chez au moins 90% des sujets ayant la maladie allergique. Il est dit mineur s'il n'intéresse qu'environ 10% des sujets. L'isoallergène est tout antigène ayant la même masse moléculaire et la même fonction biologique qu'un autre allergène et représente au moins 67% d'homologie de séquence d'acides aminés (Dubuisson *et al.*, 2002 ; Mondoulet, 2005). Il existe des molécules qui présentent des séquences d'acides aminés très proches appelées les variants allergéniques (Moneret-Vautrin, 1997). Les allergènes alimentaires sont dénommés pan allergènes lorsqu'il s'agit d'un groupe de protéines fonctionnellement indispensables qui sont conservées à quelques modifications près au cours de l'évolution (Moneret-Vautrin *et al.*, 1997). Les allergènes sont dénommés selon le nom taxonomique de leurs sources qui peuvent être animale ou végétale. La nomenclature officiellement adoptée en 1986 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS) est la suivante : les trois premières lettres du genre, espace, la première lettre de l'espèce, espace, un numéro (Jacquenot et Moneret-Vautrin, 2007). Ces numéros sont choisis selon l'ordre d'identification et leurs séquences d'ADN indépendamment de leurs propriétés physicochimiques (Hoffman *et al.*, 1994 ; Moneret-Vautrin, 1997). Une convention adoptée

par l'Union internationale des sociétés d'immunologie (IUIS) consiste à rajouter devant les noms d'allergènes un « n » lorsque l'allergène est d'origine naturelle et un « r » quand l'allergène est recombinant, issu d'une transgénèse (Malandain , 2008).

I.3.2-Caractéristiques générale :

La plupart des protéines allergènes alimentaires sont des glycoprotéines ayant un pH isoélectrique acide. Elles ont en moyenne une masse moléculaire comprise entre 10 et 70 kDa (Dubuisson et *al.* , 2002 ; Peltre ,2002 ;Parent-Massin ,2005). Ces protéines allergènes sont généralement hydrosolubles ou solubles dans les solutions salines diluées et rarement solubles dans l'alcool avec une basse hydrophobicité (Traidl-Hoffmann et *al.* , 2009). Elles sont caractérisées par une stabilité à la chaleur et une résistance à la protéolyse grâce à leur structure tridimensionnelle compacte, leur ponts dissulfures, leur glycosylation et leur capacité d'être liées à certains ions métalliques, des molécules lipidiques et stéroïdiques. Elles sont aussi résistantes à une acidité modérée (Moneret-Vautrin ,1997).Certains protéines allergènes alimentaires possèdent des domaines répétitifs, capables de former des oligomères, et une tendance à s'agréger (Breiteneder et Mills ,2005). L'immunoréactivité d'un allergène est la propriété d'induire une réponse immunitaire caractérisée par la synthèse d'IgE spécifiques (Moneret-Vautrin ,1997). Cette propriété est due à la présence des portions limitées de la protéine allergène dites épitopes ou déterminants antigéniques situés généralement à la surface de la molécule dans des zones de forte flexibilité et de forte hydrophilie et peuvent se répartir tout le long de la molécule et se localiser dans une zone particulière (Moneret-Vautrin,1997 ; Peltre,2002 ; Sanchez et Frémont, 2003). Du point de vue réactionnel, ceux qui réagissent avec les lymphocytes T sont appelés des épitopes T et ceux qui réagissent avec les lymphocytes B sont des épitopes B (reconnus par les IgE). Les épitopes T sont des petits peptides de huit à neuf acides aminés, les épitopes B sont composés de huit à seize acides aminés. Du point de vue structural, il est distingué des épitopes séquentiels dépendant de l'enchaînement d'acides aminés, structure primaire, et des épitopes conformationnels qui sont plusieurs fragments de la chaîne peptidique et se rapprochent dans la conformation de la molécule protéique, la structure tertiaire ou quaternaire. Les épitopes conformationnels sont dits continus s'ils correspondent à un enchaînement d'acides aminés et discontinus s'ils dépendent d'un rapprochement spatial d'acides aminés non contigus (Peltre ,2002). Les épitopes T sont des épitopes séquentiels alors que les épitopes B sont le plus souvent des épitopes conformationnels (Pauli ,2003). Ces derniers sont plus accessibles à la dénaturation par cuisson ou la digestion que les épitopes

séquentiels (Moneret-Vautrin et al .,2006 ; Peltre, 2002).

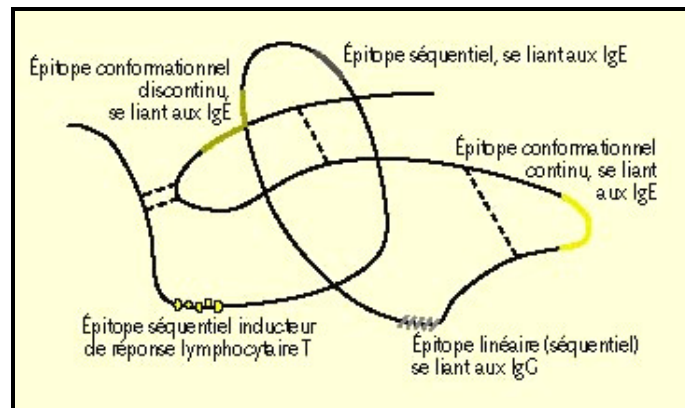


Figure N°1 : Epitopes séquentiels et conformationnels d'un allergène (Peltre , 2002).

I.3.3-Classification :

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

I.3.3.1-La superfamille des cupines :

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

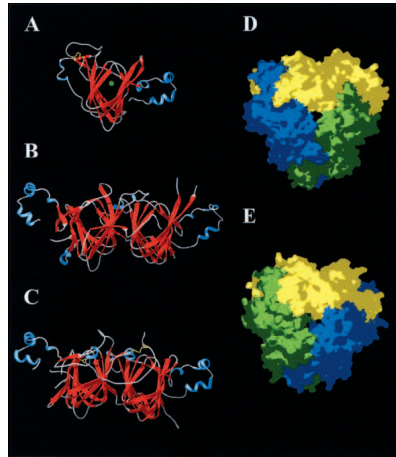


Figure № 2 : Structure des protéines de la superfamille des cupines.

A/ protéine de l'orge contient un seul domaine cupine. B/ une seule sous unité de β conglycinine. C/ une seule sous unité de proglycinine de soja. D et E / les surfaces moléculaires des la β conglycinine et la proglycinine sous formes de trimères. Bleue : hélice alpha , Rouge : les coudes β , Jaune : les ponts dissulfures , Vert : l'ion de manganèse (Breiteneder et Radauer, 2004).

-Les vicilines :

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

-Les légumines :

Les globulines 11S matures sont des protéines, rarement glycolysées, hexamériques de 360 kDa. Elles sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique rugueux où elles sont assemblées sous forme des trimères intermédiaires avant d'être transformées, a travers le système sécrétoire , vers la vacuole (Shewry *et al.* ,1995). Au niveau vacuolaire, chaque sous unité va subir un clivage par des protéases pour donner deux polypeptides liés par des ponts disulfures (un polypeptide acide de 30 à 40 kDa de pH isoélectrique 5 et l'autre basique de pH isoélectrique 8.2 de 20 kDa). La région C terminale de la chaîne de légumines est liée à la région C terminale des vicilines (Breiteneder, 2006).

I.3.3.2-La superfamille des prolamines:

Cette superfamille inclue les protéines majeures de réserve de graines de céréales à l'exception des graines de riz et l'avoine dont les globulines 11S présentent la majorité des protéines de réserve. Les prolamines sont caractérisées par leurs solubilités dans les mélanges alcool-eau (Jacquet et Moneret-Vautrin ,2007). Elles sont riches en proline et en glutamine d'où le nom de prolamine et possèdent un squelette conservé composé de huit résidus de cystéines. Ces derniers sont organisés en quatre ponts disulfures assurent aux prolamines une structure tridimensionnelle très compacte et riche en hélices alpha. Cette structuration spatiale les rend très résistantes à la chaleur et à la digestion (Breiteneder et Mills ,2005). Plusieurs protéines allergènes appartiennent à cette superfamille comme les albumines 2S, les nsLTPs et les inhibiteurs alpha-amylase et trypsine des graines de céréales. Ces trois familles ont été décrites comme des protéines de faible poids moléculaires riches en cystéines et possèdent une structure tridimensionnelle semblable riche en hélice alpha (Breiteneder,2006). Elles sont aussi des protéines de défenses contre les agents pathogènes et contre la peste.

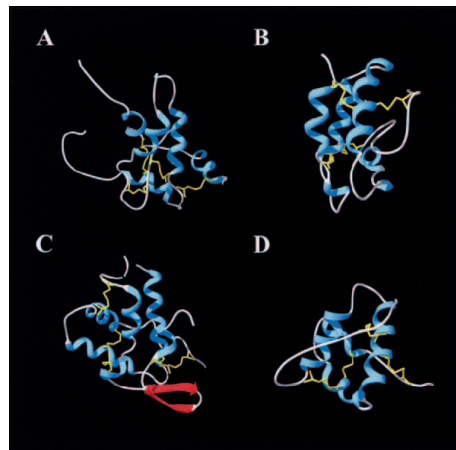


Figure №3 : Structure secondaire des allergènes de la superfamille des prolamines
A / Albumine 2S de graine de colza. B/ nsLTP de l'orge, C / inhibiteur d' α -amylase de blé. D /Protéine hydrophobique de soja HSP Gly m 1, bleue : hélice α , rouge : coudes β , jaune : les ponts disulfures (Breiteneder et Radauer, 2004)

-Les albumines 2S :

Les albumines 2S forment un groupe majeur de protéines de stockage de nombreuses espèces de dicotylédones. Elles sont formées de deux sous unités issues d'un précurseur protéique unique et reliées entre elles par quatre ponts disulfures (Shewry et *al.*, 1995). Elles

sont hydrosolubles et généralement riches en acides aminés soufrés et en hélice alpha. Les albumines 2S sont stables à la protéolyse et peuvent être liées aux lipides. En plus de leur rôle principal, d'assurer le développement de la graine, les albumines 2S jouent un rôle de défense contre les champignons.

-Les protéines de transfert de lipides non spécifiques : nsLTPs

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

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

Les inhibiteurs de cette famille sont présents dans le blé, l'orge, le seigle, le riz et le maïs. Les sous unités composants ont un poids moléculaire compris entre 12 et 16 kDa contenant quatre ponts disulfures existant sous forme monomérique ou dimérique ou trimériques (Breiteneder et Radauer, 2004). Le rôle principal de ces inhibiteurs est l'inhibition de la trypsine et de différents types d'alpha amylase d'insectes et de champignons. Ces inhibiteurs sont extraits par des mélanges Chloroforme/méthanol.

-Les prolamines de céréales :

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

I.3.3.3-La superfamille de papaine de protéinases cystéines :

Cette superfamille est composée de trois groupes de protéinases de cystéines : le groupe de papaine, le groupe de bléomycine hydrolase et le groupe de calpaine (Berti et Storer, 1995).

Ces protéases possèdent des résidus de cystéines nucléophiliques dans leur site actif qui ont pour rôle de couper les liaisons entre les peptides. Ces enzymes sont synthétisées comme des preproenzymes et sont localisées au niveau des lysosomes.

1.3.3.4-Autres familles des protéines allergènes :

-Protéases :

Les protéases sont regroupées dans des familles selon les homologues de séquence. Seulement deux familles entre les protéases contenant des allergènes et sont : la famille des protéases cystéines papain-like et la famille des protéases sérines subtilisine like.

La première famille inclue des enzymes de plusieurs espèces bactériennes et des eucaryotes. Ces protéines sont composées de deux domaines le domaine prédominant est l'hélice alpha et l'autre domaine contient les tonneaux bêta. Cette famille renferme aussi des protéases de fruits comme la bromélaïne d'ananas, actidine de kiwi (Act c 1) et la ficine de figue. La deuxième famille représente la plus grande famille de protéases à sérine et comporte plus de 200 membres chez les bactéries et les eucaryotes (Siezen et Leunissen, 1997).

-Les inhibiteurs de protéases de type Kunitz :

La famille Kunitz des inhibiteurs trypsique de soja appartiennent aux nombreuses familles d'inhibiteurs protéinases. Elle regroupe les protéines végétales ayant une activité inhibitrice de différentes protéinases comme les protéinases sérine de familles de subtilisine et trypsine, thiol protéinases et aspartiques protéinases. Toutes les protéines sont caractérisées par la présence de deux ponts disulfures. La Kunitz des inhibiteurs trypsiques est présente dans de nombreuses légumineuses. La lécithine de soja utilisée comme agent émulsifiant dans les produits alimentaires et cosmétiques contient une petite quantité des inhibiteurs Kunitz (Breiteneder et Radauer, 2004 ; Breiteneder, 2006).

-Les lectines :

Elles sont très largement présentes dans le règne végétal et se lient de manière spécifique à certains résidus glucidiques (Perrot, 1995). Les lectines sont présentes dans les graines, spécifiquement dans celles des légumes.

-Les profilines :

Les profilines sont des protéines cytosoliques présentes dans toutes les cellules

eucaryotes, et même dans les pollens, de poids moléculaire compris entre 12 et 15 kDa (Breiteneder et Radaur,2004). Elle se lie à l'actine monomérique et participe à la régulation de la polymérisation des filaments d'actine durant les processus d'écoulement cytoplasmique, d'élongation des cellules et le développement des tubes de pollens et de poil des racines (Ramachandran et al., 2000). Les séquences de profilines sont très conservées, 70 à 80% d'homologie, entre les différentes espèces végétales. Les IgE spécifiques de profilines montrent une réactivité croisée entre les profilines des pollens et celles des aliments. Malgré leur caractère allergénique, les profilines sont sensibles aux traitements thermiques et à la digestion gastrique c'est la cause pour laquelle l'allergie alimentaire à ces protéines est généralement limitée par un syndrome oral.

I.3.3.5-Les protéines de défense végétales Pr Dv ou PR :

Ces protéines assurent la croissance et la reproduction des plantes en réagissant aux attaques des agents pathogènes et en cas des conditions environnementales défavorables. Les protéines de défense appartiennent à 14 familles et représentent 42% des allergènes végétaux. Les protéines de défense végétales sont divisées en deux catégories (Van Loon et Van Strien 1999) :

-les protéines PR « Pathogenesis-Related » qui ne sont exprimées par la plante que lors d'un stress biotique ou abiotique comme les chitinases de classe 1.

-les protéines PR-like qui ont un rôle tantôt physiologique, tantôt défensif comme les albumines 2S et les vicilines qui participent à l'action défensive lors de la germination.

Tableau N°I : Protéines allergènes PR Pathogenesis-Related
(Breiteneder et Radauer,2004 ; Malandain et Lavaud ,2004).

<i>Famille de protéine</i>	<i>Rôle</i>	<i>Nombre d'allergènes</i>	<i>Exemples</i>
PR-2 : beta1-3glucanases	-Attaquent les polysaccharides de la paroi des pathogènes	2	-glucanase de banane
PR-3 : Chitinases de classe 1	-attaque la chitine (champignons, insectes)	16	-Pers a 1 (Avocat), Cas s 5 (châtaigne)
Chitinase classe 2	-synergie avec les beta-1,3 glucanases	2	-Latex
Chitinase classe 4	/	1	-Raisin
PR-4Win like chitinase et heveine	-Activité lectine (inactivation des glycoprotéines)	4	-Bra r 2 (navet)
PR-5 thaumatin-like	-Perméabilisation de la membrane -résistance au choc osmotique et au froid	6	-Mal d (pomme), Pru av 2 (cerise), Cap a 1 (poivre)
PR-9 : Peroxydases	-synthèse de lignine -détoxification de H2O2.	1	-Tri a Bd 36 (blé)
PR-10 : Bet v-1 like	-transport de stérols et de cytokines -activité ribonucléique	24	-Mal d 1(pomme), Api g 1(céleri), Gly m 4 (soja), Bet v 1(bouleau)
PR-14 :LTP (protéines de transfert de lipides)	-transport de lipides	38	-Pru p 3(pêche) , Mal d 3(pomme), Pru ar 3 (abricot), Lac s 1(laitue)

Tableau №II : Protéines allergènes PR-like (Malandain et Lavaud ,2004).

<i>Famille de protéines</i>	<i>Rôle</i>	<i>Nombre d'allergènes</i>	<i>Exemples</i>
Albumines 2S	-protéines de stockage avec, parfois, une activité inhibitrice d'amylase trypsine.	20	-Bra j 1 (moutarde)
Inhibiteurs (ATI) d'amylases trypsine	-Inhibition d'enzymes digestives d'insectes		-Hor v 15 (orge)
Cyclophilines	-Protection de la conformation des protéines	2	-Bet v (bouleau)
Cystéines protéases C1	-Toxicité pour les insectes phytophages. -résistance a la déshydratation	4	-Act c 1(kiwi)
Germines	-Détoxification de l'oxalate : tolérance a la sécheresse aux métaux lourds	1	-Poivre
HSP (Heat Shoc Proteins)	-Protection des protéines contre le stress thermique	2	-HPS-1 (noisette)
Inhibiteurs de sérine protéases type potato-1	/	1	-Farine de sarrasin
Isoflavone réductases	-Synthèse de phytoalexines et de lignanes (résistance mécanique)	12	-Pyr c 5(poire)
Lectines	-Liaison aux glycoprotéines	1	-Agglutinine (arachide)
Patatin-like	-Activité lipasique	3	-Hev b 7(latex)
Superoxyde dismutases Cu/Zn	-détoxification des radicaux libres	2	-Ole e 5(olivier)

I.3.4-Réduction de l'allergénicité : hypoallergénicité :

La notion d'hypoallergénicité, qui remonte historiquement aux années 1970, est d'abord appliquée à des produits industriels pour éliminer ou diminuer la teneur des réactogènes chimiques reconnus (cosmétiques, lessives). Puis, l'hypoallergénicité s'élargie au domaine des allergènes protéiques pour répondre à la problématique des allergies aux protéines de gants de latex, ainsi qu'à celui de l'allergie aux protéines de lait de vache. Plusieurs procédés ont été appliqués pour supprimer ou diminuer l'allergénicité (Moneret-Vautrin et Kanny ,2007).

I.3.4.1-La dénaturation des protéines par le chauffage :

La plus simple action sur l'allergénicité est la dénaturation des protéines par le chauffage. L'effet du chauffage sur les protéines dépend de la température appliquée.

-entre 55 et 70 °C provoque le dépliement des chaînes polypeptidiques.

-entre 70 et 80 °C provoque le début de rupture des ponts disulfures, qui se désorganisent totalement entre 80 et 90 °C.

-entre 90 et 100 °C, les protéines s'agrègent.

-au-delà de 100 °C, les protéines engagent des liaisons covalentes avec les sucres réducteurs, composés de Maillard, et leurs dérivés dicarbonyles, ainsi qu'avec les lipides oxydés (Davis et *al.*, 2001). Ces procédés thermiques peuvent avoir deux effets opposés soit la diminution de l'allergénicité par la destruction des épitopes conformationnels soit la possibilité de liaisons avec les IgE comme certains allergènes des légumineuses. Le mode de chauffage est un facteur important qui peut orienter l'effet dans les deux sens. Le rôtissage de l'arachide à 170°C augmente son allergénicité alors que l'ébullition ou la simple friture la diminue (Beyer et *al.*, 2001).

I.3.4.2-La dénaturation globale par procédés enzymatiques :

La dénaturation globale par procédés enzymatiques, au-delà des dénaturations des épitopes conformationnels engendrées par le chauffage, vise à l'altération des épitopes linéaires. La fermentation des protéines de soja et la farine de pois annule la liaison aux IgE (Lehrer et Bannon ,2005). Trois enzymes sont utilisées pour réduire la teneur en allergène majeur, Gly m Bd , de soja. Ce sont les enzymes de *Bacillus subtilis*, *Bacillus natto* et *Aspergillus soyae* (Weichel et *al.* ,2006).

I.3.4.3-Les procédés physiques et chimiques :

Parmi les procédés physiques et chimiques : l'ultrafiltration appliquée au lait de soja infantile le rend hypoallergénique. La texturisation du soja modifie certainement l'allergénicité, mais de façon variable selon le profil de sensibilisation au soja naturel (Franck et *al.*, 2002). Le traitement alcalinisant du riz diminue notablement la teneur en allergènes hydrosolubles.

I.3.4.4-L'association de différents procédés :

L'association de différents procédés : chauffage, traitement enzymatique, ultrafiltration est la base de la fabrication des laits infantiles hypoallergéniques (Moneret-Vautrin et *al.*, 2001). L'allégation que les laits hypoallergéniques entraînent moins de réactions allergiques chez les sujets, sensibilisés aux protéines de lait de vache, que le produit naturel, est soutenue par le fait que la liaison des IgE spécifiques aux protéines du lait est très diminuée.

I.3.4.5-Des procédures complexes:

Des procédures complexes associant l'élimination des lipides, la réduction par sulfites, des modifications de pH et de force ionique, ont permis à certains auteurs d'élaborer des produits à base de soja privé de trois allergènes : Gly m Bd 30, GlymBd 60 et Gly mBd 28. L'absence de réactions allergiques a été constatée chez 80 % des sujets allergiques au soja (Ogawa et *al.*, 2000).

I.3.4.6-La sélection de variants agronomiques avec un taux moindre ou une absence d'allergènes majeurs :

La sélection de variants agronomiques ayant un taux moindre ou une absence d'allergènes majeurs pourrait aller dans le sens d'une commercialisation orientée vers de telles variétés « hypoallergéniques ». Une étude a été faite sur 324 variétés de blé vis-à-vis des patients allergiques aux protéines de blé (les gluténines, les gliadines et l'inhibiteur de l'alpha amylase). Elle montre que la teneur de ces allergènes varie selon la variété. Au contraire des gliadines et gluténines, thermorésistantes, les allergènes salino-solubles (les albumines et les globulines) sont dénaturés par cuisson du pain. C'est la raison pour laquelle les boulangers allergiques à ces allergènes de la farine de blé inhalés présentent très rarement une allergie alimentaire au pain (Moneret-Vautrin et Kanny, 2007).

I.3.5-Les protéines allergènes des aliments d'origine végétale étudiées :

I.3.5.1-Les protéines allergènes d'arachide :

L'arachide (*Arachis hypogaea*) est une légumineuse annuelle de la famille des Papilionacées. Elle contient 40 à 45% de lipides et 25 à 30% de protéines (Boissieu, 2002). Les protéines de l'arachide sont classées en albumines et en globulines. Les protéines allergènes du groupe de globulines sont subdivisées en deux fractions l'arachine (globuline 11S) et la conarachine. Cette dernière peut être séparée par ultracentrifugation en deux composants de 7.8S et 12.6S. Les autres composants de la fraction d'albumine de l'arachide sont l'agglutinine, la lectine, les inhibiteurs de protéase, inhibiteurs d'alpha amylases et les phospholipases (Loza et Brostoff, 1995). Les deux principaux allergènes de l'arachide sont la viciline (Ara h 1) et l'albumine 2S conglutine (Ara h 2) (Burks et al., 1991).

-La viciline Ara h 1 :

La viciline de l'arachide est responsable de la majorité des cas d'anaphylaxie fatale. Il s'agit d'une glycoprotéine qui possède un seul site de N-glycosylation (Van der Veen et al., 1997 ; Rougé et al., 2009). Elle a une masse moléculaire comprise entre 63.5 à 65 kDa et un pH isoélectrique de 4.55 (Burks et al., 1991 ; Mondoulet, 2005). Elle représente 12 à 16 % des protéines totales de l'arachide. Elle a une structure tridimensionnelle stable qui joue un rôle primordial dans la protection des épitopes contre la dégradation (Burks et al., 1998 ; Pomes et al., 2003). Les vingt trois épitopes de la viciline détectés sont distribués le long de la molécule soit au niveau de la partie protéique ou glycanique (Shin et al., 1998). L'analyse de la séquence de la viciline (Ara h 1) montre qu'elle présente une forte homologie avec les autres protéines de réserve de la même famille des globulines 7S. Cet allergène protéique possède un seul résidu de cystéine dans toute la molécule.

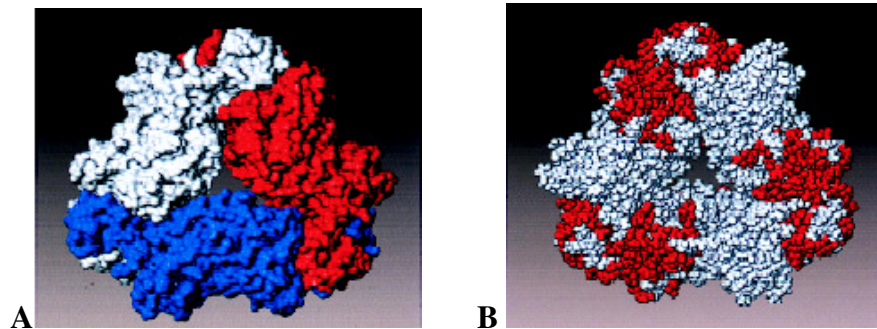


Figure №4 : Structure tridimensionnelle de la viciline d’arachide Ara h 1

A /les hélices alpha sont localisés au niveau des extrémités de chaque monomère. Les trois monomères sont présentés par différentes couleurs. **B**/ la plupart des épitopes, colorés en rouge, sont localisées dans la région de contact entre deux monomères (Maleki *et al.*, 2000).

La structure tertiaire a quatre domaines : une pelote d’hélice alpha dans une extrémité, deux groupes de feuillet β antiparallèles opposé et une pelote d’hélice alpha dans l’extrémité opposée. Les interactions hydrophobes sont responsables de la formation de cette structure. Les acides aminés hydrophobes (alanine, isoleucine, leucine, méthionine, phénylalanine, proline, tryptophane, valine) se condensent au niveau des extrémités moléculaires.

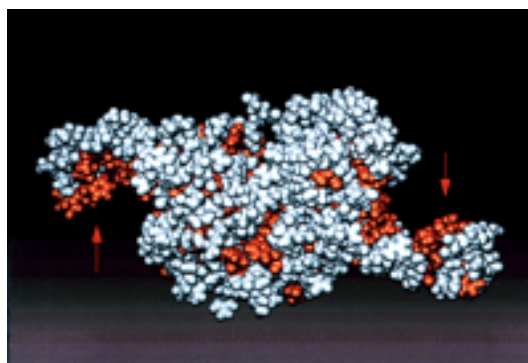


Figure № 5: Localisation des acides aminés hydrophobes dans la structure tertiaire de la viciline Ara h 1 : orange : acides aminés hydrophobes (Maleki *et al.* ,2000).

-Les autres protéines allergènes :

-Ara h 2 est un allergène majeur de l’arachide. Il appartient à la famille d’albumines 2S. Il a un pH isoélectrique acide égal à 5.2 et un faible poids moléculaire de 17 kDa. C’est un inhibiteur de la trypsine (Koppelman *et al.*, 2005). Il se compose de deux isoformes Ara h 2.0101 et Ara h 2.0201.

- Ara h 3 est un allergène majeur. C'est une glycinine de 60 kDa et de pH isoélectrique égal à 5.5. Elle peut être un inhibiteur de la trypsine. Elle se compose de plusieurs polypeptides de 14 à 45 kDa qui sont classés en sous unités acides et basiques. Le caractère allergénique de l'Ara h 3 est du aux sous unités basiques (Restani et al., 2005). Elle possède deux sites de N-glycosylation (Rougé et al., 2009).
- Ara h 4 est une glycinine de 61 kDa, elle présente 91% d'homologie avec Ara h 3 (Mondoulet, 2005).
- Ara h 5 est une profiline de 15 kDa peu abondante (Shin et al., 1998).
- Ara h 6 et l'Ara h 7 sont des albumines 2S dont les masses moléculaires sont respectivement 14.5 kDa et 15.8 kDa (Jacquenot et Moneret-Vautrin, 2007). Elles sont résistantes à la protéolyse digestive et aux températures supérieures à 100°C.
- Ara h 8 est une protéine homologue à Bet v 1. Elle a un poids moléculaire de 16.9 kDa. Elle est instable à la digestion gastrique et moins stable au rôtissage.
- Ara h 9 est une protéine de transfert de lipide (Asero et al., 2002).
- Ara h oléosine est un allergène possédant un poids moléculaire de 18 kDa.
- Ara h agglutinine.

I.3.5.2-Les protéines allergènes de blé :

Le blé est une plante annuelle. Il appartient à la famille des Graminées. La teneur en protéines des graines est comprise entre 10 à 15%, selon la variété. Ces protéines sont riches particulièrement en acide glutamique, en leucine et en proline mais pauvres en lysine. Ces protéines sont divisées en deux grands groupes :

- Protéines de structure et de fonction* : les albumines et les globulines.
- Protéines de réserves* : les protéines du gluten (gliadines et gluténines).

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

-Les protéines de structure et de fonction :

C'est la fraction salino-soluble, protéines métaboliques et cytoplasmique. Elle représente 20% des protéines totales. Les albumines et les globulines sont des protéines globulaires et se concentrent dans la périphérie de la graine (Chiron et Roussel, 2007). Les albumines de blé sont des protéines glycosylées de masse moléculaire comprise entre 5 et 30

kDa (Godon *et al.*, 1984 ; Feillet , 2000). Elles ont un pH isoélectrique, approximativement, 7.3 (Sodini *et al.*, 2001). Les globulines possèdent des poids moléculaires variant de 20 à 90 kDa. Les albumines et les globulines contiennent moins d'acide glutamique et de proline que les protéines de gluten mais leur teneur en lysine est beaucoup plus élevée. Elles sont constituées d'un grand nombre de protéines se différenciant par leurs propriétés physicochimiques (masses moléculaires , composition en acides aminés et le pH isoélectrique) et fonctionnelles (activité enzymatique : α et β amylases , protéases , oxydoréductases , inhibiteurs d'enzymes , agent d'échange de liaison dissulfure). Les protéines allergènes des fractions des albumines et des globulines sont nombreuses et ont des masses moléculaires comprises entre 12 et 70 kDa (Battais *et al.*, 2007). Parmi elles, la protéine de transfert de lipide LTP1 de 9 kDa qui est responsable de l'eczéma et un groupe de protéines de poids moléculaire de 12 à 18 kDa appartenant aux inhibiteurs de l'alpha amylases. L'inhibiteur de l'alpha-amylase du blé semble être un allergène important dans l'asthme du boulanger (Saadoun-Cousin *et al.*, 2002). Il a été récemment identifié la thioredoxine qui est un allergène de blé appartenant a la famille protéique des céréales (Weichel *et al.*, 2006).

-Les protéines de réserve :

Ce groupe de protéines localisé dans l'amande de la graine est subdivisé en deux groupes de protéines qui se différencient essentiellement par leurs solubilités.

-Les gliadines : sont des protéines monomériques solubles dans les alcools dilués et représentent 40 à 50% des protéines totales de blé. Les gliadines sont riches en acide glutamique et en proline. Elles contiennent des liaisons disulfures intramoléculaires (Saadoun-Cousin *et al.*, 2002). Elles sont réparties en quatre groupes selon leur mobilité électrophorétique à pH acide. Il existe les α , β , γ et ω gliadines. Les trois premiers, α , β , γ , sont responsables de la dermatite atopique chez l'enfant avec ou sans asthme tandis que les ω gliadines provoquent l'anaphylaxie induite par l'effort et de l'urticaire (Denery *et Bodinier*, 2006).

-Les gluténines : sont des protéines polymériques, partiellement solubles dans les solutions acides diluées et dans certains détergent ou dissociant. Les gluténines peuvent être classées en deux sous unités, liées par des ponts disulfures : les gluténines de faibles poids moléculaire (FPM) et les sous unités de haut poids moléculaire (HPM). Les gluténines de faibles poids moléculaire (FPM) représentent 60 à 80% des gluténines totales et ont une composition en

acides aminés proche de celle des gliadines et sont des allergènes potentiels (Saadoun-Cousin et *al.*, 2002 ; Shewry et Halford ,2002).

I.3.5.3-Les protéines allergènes de la lentille :

La lentille (*Lens culinaris*) est une légumineuse herbacée annuelle appartenant à la famille des Papilionacées. C'est une espèce méditerranéenne, cultivée en Algérie (Baba Aissa ,2000). Elle contient des protéines, des lipides et de l'amidon, du fer et du phosphore et les vitamines B1, B2 et B6. Le taux de protéines de la lentille varie de 15 à 40% selon les variétés. Les principales protéines sont les globulines 11(légumines), les globulines 12S et les vicilines. La composition en acides aminés est caractérisée par une teneur élevée en lysine , en arginine, en glutamine , en acide aspartique et en leucine et une faible teneur en méthionine , en cystéine et en tryptophane (Swason , 1990). Parmi les protéines allergènes de lentille :

-Len c 1.01 appelé viciline est une protéine allergène majeure de lentille. Il s'agit d'une glycoprotéine de poids moléculaire de 48 kDa. Elle se compose de deux fragments qui sont la gamma viciline (Len c 1) et une protéine de poids moléculaire de 26 kDa. Sa séquence en acides aminés présente 50% d'homologie avec celles des vicilines de l'arachide et de soja (Lopez-Torrejón et *al.*, 2003).

-Len c 1 possède un poids moléculaire de 12 à 16 kDa. C'est un allergène majeur correspond à la gamma viciline (Sanchez-Monge et *al.* ,2000).

-Len c 2 a un poids moléculaire de 66 kDa . C'est une protéine biotinylatée spécifique de la graine (Sanchez-Monge et *al.*, 2000).

I.3.5.4- les protéines allergènes de pois vert :

Le pois vert (*Pisum sativum L.*) appartient à la famille des Papilionacées. Le pois vert est une espèce méditerranéenne, cultivée en Algérie (Baba Aissa, 2000). La graine de pois, à l'état sec, contient 30 à 50% de glucides, 20 à 25% de protéines et moins de 2% de lipides selon les variétés (Perrot ,1995). Les protéines allergènes potentielles de pois sont la fraction d'albumine et deux protéines de la fraction des globulines de type 7S qui sont la viciline et la conviciline (Sanchez-Monge et *al.*,2000 ; Malley et *al.*,2004 ; Sell et *al.*, 2005).

-La fraction d'albumines :

La fraction d'albumines représente 21% des protéines totales (Belitz et *al.*,2009). Le pH isoélectrique est de 6.0 (Swanson, 1990). Elle contient plus de tryptophane, de lysine, de

thréonine, de cystéine et de méthionine que la fraction de globulines. Elle se compose de :

a) Les albumines majeures : sont subdivisées en deux groupes selon leurs poids moléculaires :

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

- *L'albumine de bas poids moléculaire*, PMA S, est un dimère de 11 kDa, composé de polypeptides d'environ 6 kDa. Elle est exceptionnellement riche en soufre et contient 50 % des acides aminés soufrés totaux du pois (Gatehouse et *al.*, 1985 ; Higgins et *al.*, 1986).

b) Les lectines :

Les lectines représentent 2,5 % environ des protéines du pois (Masson et *al.*, 1986). Elles sont des protéines tétramériques de 50 kDa environ, composées de deux chaînes polypeptidiques légères de 7 kDa (α) et de deux chaînes lourdes (β) de 17 kDa. Les lectines de pois ne contiennent pas d'acides aminés soufrés et leur structure secondaire contient une proportion élevée de feuillets β .

c) les inhibiteurs trypsiques :

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

-La fraction de globulines :

La fraction de globulines constitue 66% des protéines totales de pois (Belitz et *al.*, 2009). Elle est riche en arginine, en phénylalanine, en leucine et en isoleucine (Swanson, 1990). Elle possède un pH isoélectrique acide variant de 4.4 à 4.6. La viciline et la convicine représentent les allergènes potentiels majeurs de cette fraction (Sanchez-Monge et *al.*, 2004).

a) La viciline : est une protéine glycolysée trimérique de masse moléculaire égale à 150 kDa (Swanson, 1990). Elle est composée de polypeptides de 50 kDa environ, et d'un grand nombre de polypeptides de plus faible masse moléculaire (33, 30, 19, 15, 13, 12,5 kDa) issus du

clivage post traductionnel d'un précurseur de 50 kDa. Sa structure secondaire est riche en feuillet β (L'anson et *al.*, 1988).

b) La conviciline : est une protéine trimérique de sous unités de 70 kDa, non glycolysée (Newbiggin et *al.*, 1990). Elle présente de très grandes homologies de séquence avec la viciline.

I.3.5.5-Les protéines allergènes des graines de sésame :

Sésame (*Sesamum indicum L*) est une herbacée annuelle et oléagineuse appartenant à la famille des Pedaliacées. L'huile de sésame est de très bonne qualité. La graine de sésame contient 45 à 54% de lipides. Il renferme de glucides, de protéines, du fer, du calcium, du phosphore, de l'acide folique, la vitamine A et la vitamine B (Agne et *al.*, 2003). La plupart des protéines de sésame ont un pH isoélectrique compris entre 4.9 et 6.4 (Fremont et *al.*, 2002). Les teneurs des albumines, des globulines, des prolamines et de gluténines par rapport au taux de protéines totales sont respectivement 8.9%, 67.3% ,1.3% et 6.9%. Leur composition en acides aminés est riche en méthionine et en cystéine mais pauvre en lysine. Les accidents graves liés au sésame sont de type d'angioœdème et de choc anaphylactique mais il existe beaucoup de sensibilisation sans allergie. Une hypothèse a été supposée selon laquelle l'importante sensibilisation au sésame pourrait être liée à une réaction croisée entre le sésame et l'arachide (Beyer et *al.*, 2002). Les protéines allergènes majeures de cet aliment sont :

-Les albumines 2S :

Les albumines 2S présentent 25% des protéines totales. Elles sont appelées conventionnellement les β globulines. Elles sont hétérodimériques non glycolysée à pH isoélectrique basique (Agne et *al.*, 2003). Le premier allergène de cette fraction est une conglutine, Ses i 1, appartenant à la famille des inhibiteurs de la trypsine et de l'alpha amylase des céréales. C'est une protéine non glycolysée de 9 kDa ayant un pH isoélectrique égal a 7.3. Les pH isoélectrique de la petite et la grande sous unité composantes de cet allergène sont respectivement 6.5 et 6.0 (Pastorello et *al.*, 2001). Elle est thermostable à 100°C pendant 5 minutes (Agne et *al.*, 2003). La séquence N-terminale de la petite sous unité est Ala-Arg-Asp-Leu-Pro-Arg-Arg-Cys-Asn-Met-Arg-Pro-Gln-Gln-Cys-Ala-Phe. L'extrémité N-terminale de la grande sous unité est bloquée par un résidu d'acide pyroglutamique (Agne et *al.*, 2003). Le deuxième allergène, Ses i 2, est un allergène majeur de 7 kDa . Il est thermostable. Il est riche en méthionine et présente 35% d'identité au Ses i 1 et 46% d'homologie (Beyer et *al.*, 2002 ;Wolff et *al.*,2003).

-La globuline 7S :

C'est une viciline, Ses i 3, de 45 kDa (Beyer et *al.*,2002). Elle représente 5% des protéines totales. Elle est composée d'un seul polypeptide (Tai et *al.*, 2001).

-La globuline 11S :

Cette fraction est appelée conventionnellement *α globuline*. Les deux protéines de cette fraction identifiées comme des allergènes sont Ses i 6 et Ses i 7. Cette dernière présente 36% d'identité avec Ses i 6 (Beyer et *al.*, 2007). Il existe d'autres protéines allergènes à fonctions enzymatique et des protéines porteuses de graisses tel que la caléosine Sop1 qui possède un poids moléculaire de 76.6 kDa (Chen et *al.*, 1999).

I.3.5.6-Les protéines allergènes de soja :

Le soja (*Glycine max*) est une herbacée annuelle d'origine asiatique. Il appartient à la famille des légumineuses. C'est une plante protéagineuse. Sa teneur en protéines varie entre 40 et 45% selon la variété. Les protéines de soja ont une bonne valeur nutritionnelle et sont riches en lysine. Elles sont séparées par précipitation acide à pH 4.8 en :

-globulines : Elles sont composées de quatre fractions qui se différencient par leur coefficient de sédimentation 2, 7, 11 et 15 S. Elles représentent 85% des protéines totales.

-Le petit lait : Il renferme 10% des protéines totales. Il contient l'inhibiteur de trypsine et l'hémagglutinine (Dean ,1985).

Parmi les protéines allergènes de soja :

a) Les protéines de défense :

La PR-10 SAM 22 ou Gly m 4 appartient à la famille des homologues Bet v-1 secrétée en réponses aux attaques des nématodes. Les inhibiteurs de protéases à sérine sont secrétés contre les larves d'insectes et le thiol protéase, Gly m Bd 30 K (Collard et Tap , 2005) .

b) Les protéines de réserve :

b1) Les globulines 2S :

Elles sont désignées par STI (Soybean Trypsin Inhibitor) . Elles regroupent : l'inhibiteur de Kunitz (STKI) ayant un poids moléculaire de 21.5 kDa, l'inhibiteur de la trypsine Gly m TI , l'inhibiteur de Bowman-Birk, l'inhibiteur de la trypsine et la chymotrypsine. L'inhibiteur de Kunitz et l'inhibiteur de Bowman-Birk forment un complexe équimoléculaire inactif avec la trypsine (Alais et *al.* ,2004).

b2) La β conglycinine:

La β conglycinine, Gly m 5, a un poids moléculaire de 170 kDa. Elle représente 27% des protéines totales et 85% de la fraction de globuline 7S (Renkema et al., 2001 ; Amigo-Benavent et al., 2009). C'est une glycoprotéine de pH isoélectrique acide égal à 4.98. Elle est résistante à la dégradation par le liquide gastrique artificiel et renferme environ de 5% des glucides (mannose et N-acétyl-glucosamine) (Cheftel et al., 1985 ; Amigo-Benavent et al., 2009 ; Belitz et al., 2009). Sa dénaturation thermique commence à partir de 67°C (Cheftel et al., 1985). Elle est composée de trois sous unités glycolysées α , α' et β . La dissociation de la β conglycinine en sous unités est possible en milieu acide ou alcalin et même au cours d'une dialyse à faible force ionique 0.5. Les sous unités α' et β sont basiques. La sous unité α , Gly m Bd 68 K, ayant un poids moléculaire de 72 kDa est acide. La sous unité α est reconnue par 25% des patients sensibilisés au soja atteint de dermatite atopique (Owaga et al., 1995). La composition de la sous unité α , dépourvue de cystéine et cystine, et celle de α' ayant un poids moléculaire de 67 kDa sont très proches. La sous unité β de 53 kDa est dépourvue non seulement de cystéine mais aussi de méthionine c'est la raison pour laquelle les sous unités α , α' et β sont liées par des liaisons non covalentes (Cheftel et al., 1985 ; Alais et al., 2004). Gly m Bd 28 K était le premier allergène isolé à partir de la farine de soja. Il s'agit d'une glycoprotéine, glycolysée au niveau de deux sites, de 28 kDa. Elle est probablement composée de deux peptides de 240 et 212 acides aminés.

b3) La globuline 11S :

C'est la glycinine, Gly m 6. C'est une glycoprotéine qui renferme moins de 1% de glucides (Belitz et al., 2009). C'est un oligomère de poids moléculaire de 350 kDa de pH isoélectrique égal à 4.64 et représente 34% des protéines totales (Cheftel et al., 1985 ; Renkema et al., 2001). Elle est formée de 12 sous unités dont six basiques « B » et six acides « A ». Les masses moléculaires des sous unités « A » varie de 37 à 42 kDa et celles de « B » varie de 17 à 20 kDa. Les sous unités « A » sont responsables de la plupart des fixations d'IgE sur la glycinine. 35% de la structure secondaire de la glycinine est sous forme feuillet plissé β , 60% est sous forme d'une zone en pelote statistique et 5% est sous forme d'hélice α . Sa dénaturation thermique commence à partir de 70°C (Alais et al., 2004). Son chauffage à 80°C (Cheftel et al., 1985), en milieu acide ou basique et en présence d'urée ou d'un détergent, à faible force ionique (0.01) dissocient facilement la glycinine en sous unités (Alais et al., 2004).

b4) les Albumine 2S :

La protéine allergène est appelée Gly m 2S Albumin (Kobayashi, 2005).

MATERIEL ET METHODES D'ANALYSE

II- MATERIEL ET METHODES D'ANALYSES :

II.1-Matériau végétal :

Les produits utilisés sont : les graines d'arachide, de blé, de lentille, de pois vert, de sésame blanc et de soja. Le blé a été fourni de Moulins Sybousse -Annaba. Les autres aliments ont été achetés du marché.

II.2- Méthodes d'analyses :

II.2.1-Extraction des protéines allergènes :

II.2.1.1-Extraction de la viciline d'arachide :

50 g de graines d'arachide broyées sont placées dans un Becher contenant 500 ml de Tris-HCl à 20 mM de pH 8.2. Le contenu est agité pendant 2 heures à température ambiante puis centrifugé à 3000 g pendant 5 minutes à une température ambiante. Le surnageant résultant est centrifugé à 10 000 g pendant 15 minutes à température ambiante pour enlever les particules insolubles et les traces d'huiles (Kang *et al.*, 2007). Il est ensuite dialysé contre du Tris-HCl à 20 mM de pH 8.2 pendant 24 heures à froid puis centrifugé à 10 000 g pendant 15 minutes pour récupérer l'extrait protéique (Koppelman *et al.*, 1999). Ce dernier est solubilisé dans un litre de tampon composé du Tris-HCl à 50 mM de pH 8.3, 1 mM d'EDTA, 1 mM de β -Mercaptoethanol, 1 mM de PMSF et 200 mM de NaCl puis agité pendant 1 heure à température ambiante. La solution est centrifugée à 13 000 g pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant résultant est salé out par le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 70% de saturation. Après centrifugation à 13 000 g pendant 30 minutes, le surnageant est salé out par le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 100% et la viciline est récupérée par centrifugation à 13 000 g pendant 30 minutes (Maleki *et al.*, 2000).

II.2.1.2-Extraction de l'albumine et la globuline de blé :

Dans un Becher, 500 ml de NaCl à 0.5 M sont ajoutés à 50 g de blé moulu. Après agitation magnétique pendant 2 heures et filtration, la solution est centrifugée à 3000 g pendant 30 minutes. Le surnageant est dialysé contre du Tris-HCl à 50 mM de pH 7.9 durant 24 heures à froid. Par centrifugation à 3000 g pendant 30 minutes les albumines sont séparées des globulines (Buchanan *et al.*, 1997).

II.2.1.3-Extraction de la viciline de la lentille :

50 g de graines de lentille broyées et délipidées par 250 ml d'acétone dilué 1/10 pendant 1 heure à froid puis séchées à l'air libre sont ajoutées à 250 ml de tampon phosphate salin composé de tampon phosphate à 0.1M de pH 7.4 et de NaCl à 0.15 M. Le mélange est agité à froid pendant 1 heure puis centrifugé à 10 000 g pendant 30 minutes à 4°C. Le surnageant est dialysé contre l'eau distillée pendant 24 heures à froid. L'extrait protéique est récupéré par centrifugation à 10 000 g pendant 30 minutes à 4°C. La viciline est solubilisée dans NaCl à 0.5 M puis salé out par le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 85% de saturation. La solution est laissée au repos pendant 2 à 4 heures à température ambiante puis centrifugée à 10 000 g pendant 30 minutes à 4°C. Après dialyse du surnageant contre l'eau distillée pendant 24 heures à froid et centrifugation à 10 000 g pendant 30 minutes à 4°C, la viciline est récupérée (Lopez-Torrejón et *al.*, 2003).

II.2.1.4-Extraction de la fraction d'albumine de pois vert :

Dans un Becher 500 ml de NaCl à 0.5 M sont ajoutés à 50 g de graines broyées de pois vert. L'ensemble est agité pendant 2 heures puis centrifugé à 3000 g pendant 30 minutes à 4°C. La fraction albumine reste dans le surnageant après dialyse contre l'eau distillée pendant 24 heures à froid et centrifugation à 3000 g pendant 30 minutes à 4°C (Malley et *al.*, 2004) .

II.2.1.5-Extraction de l'albumine 2S, la légumine et la viciline des graines de sésame :

Après la délipidation des graines blanches de sésame broyées pendant 12 heures à l'éther de pétrole en utilisant le Soxhlet, 25 g de farine délipidées sont ajoutées a 250 ml de tampon phosphate salin composé de tampon phosphate à 20mM de pH7.5 et Na Cl à 1 M. Après agitation magnétique constante pendant 2 heures à température ambiante et centrifugation à 17 000 g pendant 1 heure 30 minutes à 4°C, le surnageant est filtré sur du papier Whatman N°1 et dilué au 1/5.5 puis laissé au repos pendant 1 heure. La légumine est extraite à partir du surnageant obtenu par centrifugation à 17 000 g pendant 1 heure 30 minutes à 4°C et après l'ajout du sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 40% de saturation et centrifugation à 11 600 g pendant 30 minutes à 4°C. En ramenant le taux de sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 80% et centrifugation à 17 000 g pendant 1 heure 30 minutes, la viciline et l'albumine 2S sont précipitées. Après l'ajout du tampon d'extraction au culot et dialyse contre l'eau distillée pendant 24 heures à froid puis centrifugation à 17 000 g pendant 1 heure 30 minutes,

l'albumine 2S est solubilisée dans le surnageant alors que la viciline reste dans le précipité (Orruño et Morgan ,2007).

II.2.1.6-Extraction de la β conglycinine et la glycine de soja :

Après la délipidation à l'hexane des graines de soja broyées en utilisant le Soxhlet pendant 8 heures, 50 g de farine de soja délipidées placées dans un Erlen -Meyer de 2 litres, il est ajouté 1 litre de Tris-HCl à 0.03 M de pH8 contenant 5 mM de β -Mercaptoethanol. Après agitation magnétique pendant 2 heures à température ambiante et centrifugation à 4000 g pendant 15 minutes, le surnageant acidifié par HCl de pH 6.4 est placé à 4°C pendant 2 à 4 heures. Après centrifugation à 4000 g pendant 15 minutes, le précipité contenant la glycine brute est solubilisé dans un tampon phosphate salin composé du phosphate monopotassique KH_2PO_4 à 2.6 mM, du phosphate dipotassique K_2HPO_4 à 32.5 mM de pH7.6, du NaCl à 0.4M et du β -Mercaptoethanol à 10 mM. Par acidification à pH 4.8 et centrifugation à 4000 g pendant 15 minutes du surnageant renfermant la β conglycinine brute et les fractions du petit lait, le précipité est solubilisé complètement dans le tampon Tris-HCl à 0.03 M de pH 7.6. Les solutions de glycine et β -conglycinine sont dialysées complètement contre l'eau distillée à 4°C pendant 24 heures (Renkema et *al.*, 2001).

II.2.2-Détermination des paramètres physicochimiques des protéines allergènes étudiées :

II.2.2.1-Détermination du taux de protéines :

Les protéines sont dosées selon la méthode de Bradford. Cette méthode est un dosage colorimétrique basé sur le changement de la couleur du bleu de Coomassie après sa liaison avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines (Weckber et Cory ,1988). La densité optique est lue à $\lambda = 595 \text{ nm}$.

-Préparation du réactif de Bradford :

100 mg de bleu de Coomassie G-250 sont ajoutés à 50 ml d'éthanol à 95%. Après une agitation magnétique pendant 2 heures, 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% sont ajoutés et le volume est ajusté avec l'eau distillée à 1 litre. La solution obtenue est filtrée et conservée à l'abri de la lumière.

-Réalisation de la courbe d'étalonnage :

A partir d'une solution mère d'albumine bovine à 1mg/ml, des solutions filles de concentrations croissantes : 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1 mg/ml ont été préparées. 50µl de chaque solution fille sont additionnés a 2.5ml du réactif de Bradford. Après 5 minutes de réaction, la densité optique est lue à $\lambda = 595$ nm (Weckber et Cory ,1988).

Tableau N°III : Concentrations des solutions de sérum d'albumine bovine (BSA).

<i>Concentration du BSA (µg/ml)</i>	0	3,92	7,84	11,7	15,6	19,6
<i>Densité optique</i>	0	0,189	0,372	0,553	0,765	0,9

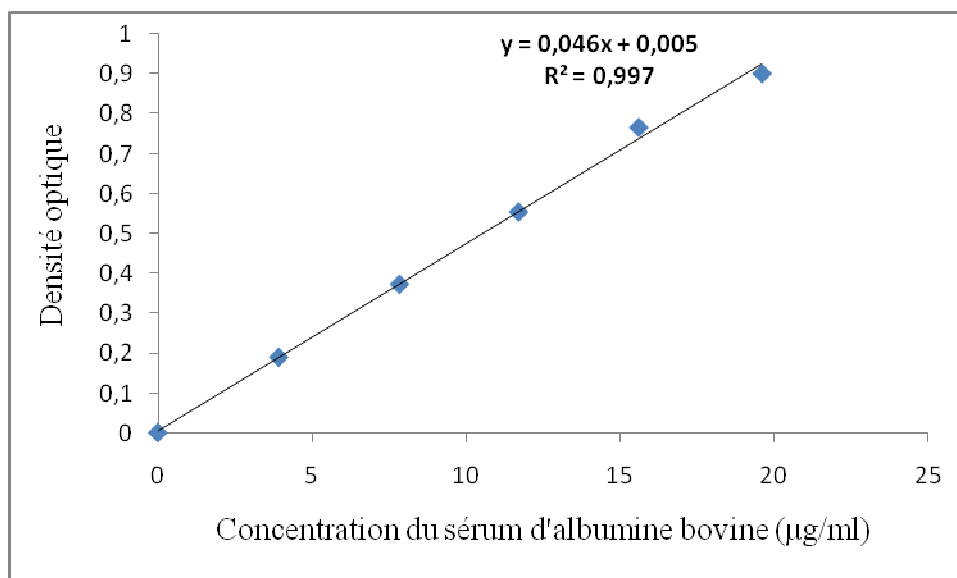


Figure N° 6: Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

-Dosage des protéines allergènes :

50µl sont prélevés des solutions de globulines solubilisées dans l'acide acétique à 0.1M et d'albumines sont ajoutés à 2.5 ml du réactif du Bradford. Après 5 minutes de réaction, la densité optique est mesurée à $\lambda = 595$ nm.

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

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

V : Volume de la solution de la protéine allergène (ml).

2.55 : Volume final dans la cuve (ml).

C : Concentration de l'essai (µg/ml).

0.05 : Volume prélevé de la solution protéique (ml).

H% : Teneur en eau de la protéine allergène (%).

M : Masse de la protéine allergène solubilisée dans le volume V (µg).

II.2.2.2- Détermination du taux des glucides :

La méthode à l'anthrone (oxo-9 dihydro-10 anthracène) est appliquée pour doser les glucides. En milieu acide et à chaud, les glucides solubles sont dégradés en furfural qui forme avec l'anthrone un composé bleu dont l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 625 nm (Cerning-Beroard, 1975). Il fait usage de la loi de Beer Lambert.

-Réalisation de la courbe d'étalonnage :

Des solutions étalons de glucose à concentrations croissantes 0, 30, 45, 60, 75, 90 et 105 µg/ml ont été préparées. 2.5 ml d'acide sulfurique concentrés H₂SO₄ sont coulés dans le tube maintenu dans un bain d'eau glacée contenant 0.25 ml de la solution d'acétate d'éthyle à l'anthrone 2% préparée dans un bain marie bouillant puis conservée à l'abri de la lumière et 1 ml de chaque solution étalon. Ensuite, le tube est mis dans un bain d'eau bouillant pendant 12 minutes. Après refroidissement, la densité optique est lue à λ = 625 nm (Godon et al., 1984).

Tableau N°IV : Concentrations de glucose et les densités optique.

Concentration de glucose (µg/ml)	0	8	12	16	20	24	28
Densité optique	0	0.25	0.4	0.506	0.62	0.87	0.945

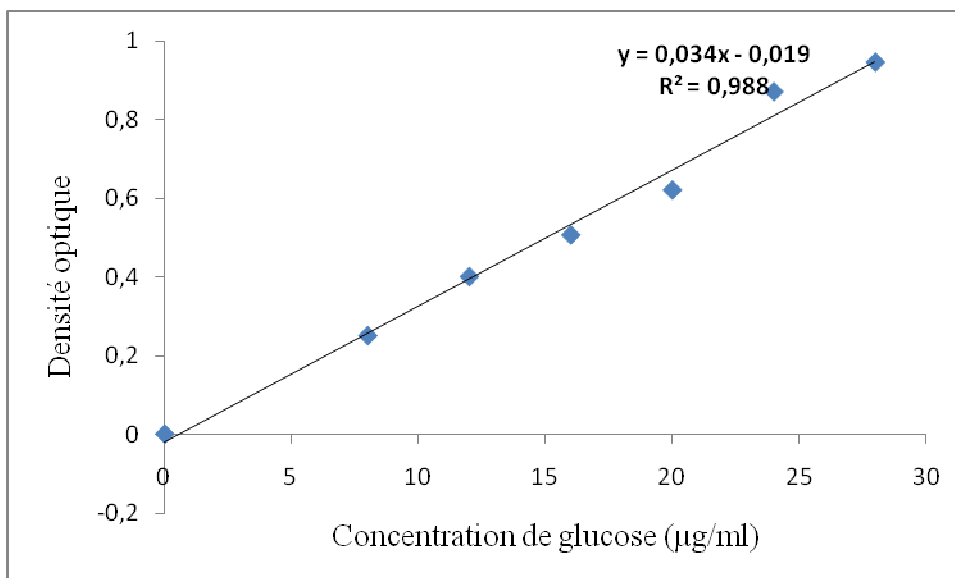


Figure N°7: Courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides.

-Dosage des glucides :

A une quantité de chaque protéine allergène séchée et placée dans un tube à essai sont introduits de l'acide sulfurique H_2SO_4 à 70% puis laisser au repos. Il y est ajouté ensuite de l'eau distillée. Les proportions sont respectivement 1ml / 0.1g et 6 ml /0.1g. Le tube est placé à l'étuve réglée à 100°C pendant 12 à 13 heures. Après l'hydrolyse, la solution est neutralisée par l'hydroxyde de baryum $Ba(OH)_2$ éliminé par centrifugation à 358 g pendant 20 minutes. Après l'addition de la silice, il est procédé à la filtration par papier Whatman N°1. Dans un tube à essai contenant 1ml d'hydrolysats maintenu dans un bain d'eau glacée sont ajoutés 0.25 ml de la solution d'acétate d'éthyle à l'anthrone 2% et 2.5 ml d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 . Après 12 minutes dans un bain marie bouillant et refroidissement, la densité optique est lue à $\lambda = 625$ nm (Godon et al., 1984).

Le taux de glucides est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de glucides (\%)} = \frac{V \times 3.75 \times C}{M} \times 100$$

V : Volume final de l'hydrolysats (ml).

3.75 : Volume final de solution dans la cuve (ml).

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

M : Masse de la protéine allergène sèche (μg).

II.2.2.3-Détermination du pH isoélectrique :

Aux solutions des protéines allergènes sont ajoutés attentivement et progressivement de l'acide acétique CH_3COOH à 0.1M ou de la soude NaOH à 0.1M jusqu'à la précipitation des protéines. La valeur du pH isoélectrique est indiquée sur le pH mètre préalablement étalonné.

II.2.2.4-Détermination de la teneur en eau :

La teneur en eau est la quantité d'eau perdue par un produit lorsqu'il est placé en équilibre avec une pression de vapeur d'eau nulle. Elle exprime la mesure en gramme d'eau pour cent grammes d'échantillon (Godon et *al.*,1984 ; Frénot et Vierling ,1997). La protéine allergène possédant une masse P_0 est placée dans des petites capsules en verre propres et séchées. Ces dernières sont introduites dans une étuve réglée à 80°C pendant 24 heures. Après étuvage, les capsules sont retirées et placées dans un dessiccateur pour refroidissement. La protéine allergène sèche est pesée jusqu'à masse constante P_1 . La teneur en eau est donnée par la relation suivante :

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

P_0 : Masse de la protéine allergène avant étuvage (g).

P_1 : Masse de la protéine allergène après étuvage (g).

II.2.2.5-Détermination de la température de dénaturation :

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

II.2.3-Analyse statistique :

Il a été effectué trois essais dont les échantillons sont aléatoires, simples et indépendants. Tous les calculs ont été réalisés à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement statistique des données MINITAB (X, 2000).

II.2.3.1-Description des données :

Il a été calculé certains paramètres statistiques de base tel que la moyenne arithmétique (\bar{x}) et l'écart-type (S) pour chacun des cinq paramètres physicochimiques de chacune de dix protéines allergènes d'origine végétale étudiées.

II.2.3.2-Test t de STUDENT pour échantillons indépendants :

Le test t de STUDENT consiste à comparer les moyennes de deux populations à l'aide des données de deux échantillons indépendants (Dagneli, 2008). Ce test a été réalisé pour comparer les moyennes de chacun des paramètres physicochimiques (le taux de protéines, le taux de glucides, le pH isoélectrique, la teneur en eau et la température de dénaturation) des globulines 11S de différents aliments d'origine végétale, des globulines de soja et des globulines de graines de sésame. La réalisation du test t de STUDENT a été faite soit par la comparaison de la valeur de t observée (t_{obs}) avec la valeur théorique $t_{1-\alpha/2}$ tirée de la table statistique t de STUDENT pour un niveau de signification $\alpha=0.05$ et pour un certain nombre de degrés de liberté (ddl), soit par la comparaison de la valeur de la probabilité p avec le niveau de signification $\alpha=0.05$. Pour le premier cas il est considéré qu'il existe des différences significatives entre les deux moyennes si la quantité t_{obs} est supérieure ou égale à la valeur $t_{1-\alpha/2}$ et dans le deuxième cas il est considéré qu'il existe des différences significatives si la valeur de p est inférieure ou égale à la valeur $\alpha=0.05$.

II.2.3.3-Analyse de la variance (ANOVA) :

L'analyse de la variance à un critère de classification consiste à comparer plus de deux moyennes de plusieurs populations à partir des données d'échantillons aléatoires, simples et indépendants (Dagneli, 2008). Ce test a été réalisé soit par la comparaison de la valeur de F_{obs} avec une valeur théorique $F_{1-\alpha}$ tirée à partir de la table F de FISHER pour un niveau de signification α (5% ,1% ou 0.1%) pour k_1 et k_2 degrés de liberté (ddl), soit par la comparaison de la valeur de la probabilité p avec les différentes valeurs de α , mentionnées précédemment. Selon que cette hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée au niveau $\alpha =0.05$,0.01 ou 0.001, il est dit conventionnellement que l'écart observé est significatif, hautement significatif ou très hautement significatif. Ces écarts sont généralement marqués d'un, deux ou trois étoiles. Ce test a été réalisé pour comparer les moyennes de chacun des cinq paramètres physicochimiques étudiés des protéines allergènes de nature albuminique de

différents aliments d'origine végétale, des protéines allergènes du groupe des globulines de différents aliments d'origine végétale et des vicilines de différents aliments d'origine végétale.

II.2.3.4-Analyse statistique bivariée :

-Calcul du coefficient de corrélation :

Pour mettre en évidence des relations linéaire entre les cinq paramètres physicochimiques (le taux de protéines, le taux de glucides, le pH isoélectrique, la teneur en eau et la température de dénaturation) de dix protéines allergènes de différents aliments d'origine végétale (arachide, blé, lentille, pois vert, graines de sésame blanc et soja), il a été calculé le coefficient de corrélation « r » de Bravais-Pearson. Ce coefficient mesure l'intensité de la relation qui existe entre les deux caractéristiques, variables, quantitatives quelconques pour autant que cette liaison soit linéaire ou approximativement linéaire (Dagnelie , 2008). Pour deux variables quelconques x et y le coefficient de corrélation est déterminé selon la formule suivante :

$$r = \frac{\text{Cov}(x,y)}{S_x \cdot S_y}$$

Cov (x, y) : La covariance de x et y .

S_x et S_y : Les écart-types de x et de y.

-Test de signification du coefficient de corrélation :

La valeur du coefficient de corrélation est comprise entre +1 et -1. Il est en valeur absolue, d'autant plus proche de 1 que la liaison entre les deux séries d'observations est nette. Par contre si le coefficient de corrélation est nul ou presque nul, les deux variables ne sont pas corrélées entre elles. Le signe du coefficient de corrélation indique si la relation est croissante ou décroissante. Lorsque le coefficient de corrélation est positif, les valeurs élevées d'une caractéristique correspondent dans l'ensemble aux valeurs élevées de l'autre caractéristique , et les valeurs faibles d'une caractéristique correspondent aux valeurs faibles de l'autre caractéristique. Lorsque le coefficient de corrélation est négatif , les valeurs élevées d'une caractéristique correspondent dans l'ensemble aux valeurs faibles de l'autre caractéristique et vice versa (Dagnelie ,2008). Pour chaque valeur de r calculée, le logiciel MINITAB (X,2000) donne la valeur de la probabilité p correspondante , permettant ainsi de tester la

signification de la corrélation obtenue. Si la valeur de p est supérieure à la valeur critique $\alpha = 0.05$ ($p > 0.05$), il est dit qu'il n'existe pas une différence significative entre le coefficient r et la valeur zéro et par conséquent il n'y a pas de corrélation entre les deux variables étudiées (NS). Par contre, si la valeur de p est inférieure ou égale à $\alpha = 0.05$ ($p \leq 0.05$), il est dit qu'il existe une différence significative entre le coefficient r et la valeur zéro donc il y a une corrélation entre les deux variables (*). Si la valeur de p est inférieure ou égale à $\alpha = 0.01$ ($p \leq \alpha = 0.01$), le coefficient de corrélation est hautement significatif (**). Si la valeur de p est inférieure ou égale à $\alpha = 0.001$ ($p \leq \alpha = 0.001$), il est dit qu'il existe une différence très hautement significative (***) entre la valeur de r et la valeur zéro. (Dagnelie P, 2008).

-La régression linéaire :

La régression linéaire a pour but de résumer le nuage de points par une droite de régression. L'équation de cette droite est de la forme suivante : **$Y = a + bX$**

b : Coefficient de régression.

a : Ordonnée à l'origine.

-Test de signification du coefficient de régression :

Le test de signification du coefficient de régression est réalisé par l'analyse de la variance. La valeur F_{obs} calculée est comparée avec une valeur théorique $F_{1-\alpha}$ tirée à partir de la table F de FISHER pour un niveau de signification donné α et pour k_1, k_2 degré de liberté, avec $k_1 = 1$ ddl et $k_2 = n - 2$ ddl. Si la valeur de F_{obs} est supérieure ou égale à la valeur théorique $F_{1-\alpha}$ ($F_{obs} \geq F_{1-\alpha}$) le coefficient de régression est significatif, le modèle est significatif. Par contre, si la valeur de F_{obs} est inférieure à la valeur théorique $F_{1-\alpha}$ ($F_{obs} < F_{1-\alpha}$) le coefficient de régression n'est pas significatif donc le modèle n'est pas significatif.

-Autres paramètres de la régression linéaire :

-Le coefficient de détermination R^2 % :

Ce coefficient exprime la part de la variation de la variabilité dépendante Y expliquée ou justifiée par la régression. Ce paramètre correspond au carré du coefficient de corrélation. Il est compris entre 0 et 1 et s'exprime toujours en pourcentage. Si la valeur de R^2 est proche de 1 ou 100%, la régression ou ajustement est alors d'excellente qualité. Par contre si la

valeur de R^2 est faible et tend, plus particulièrement, vers 0 ou 0 % l'ajustement ou la régression est mauvaise.

-L'écart type résiduel S_{yx} :

C'est la racine carrée de la variance résiduelle. Il est appelé aussi l'erreur d'estimation ou l'erreur de prédiction. Il représente l'erreur commise quand il est utilisé l'équation de régression pour faire des estimations. L'écart type résiduel constitue une mesure de la dispersion des points observés autour de la droite de la régression de Y en fonction de X. Il correspond à la part de la variance totale de Y qui n'est pas expliquée ou justifiée par la régression.

RESULTATS ET DISCUSSION

III- Résultats et discussion :

III.1- Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale étudiées :

Les figures № 8 ,9 ,10 ,11 et 12 illustrent les résultats concernant le taux de protéines, le taux de glucides, le pH isoélectrique, la teneur en eau et la température de dénaturation des protéines allergènes alimentaires d'origine végétale étudiées.

Les taux de protéines dans la viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline de graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja sont respectivement 56.36 %, 48.93 %, 59.49%, 60.82 %, 45.54%, 41.21%, 78.72%, 75.40%, 67.89% et 53.32 %. Les taux de protéines de la β conglycinine et la glycinine de soja sont inférieurs à ceux obtenus par Wu *et al.*,1999. Cela peut être expliqué par l'impureté de ces deux substances.

Concernant les taux de glucides, toutes ces protéines allergènes sont glycolysées. Elles renferment de faibles teneurs en glucides à l'exception de l'albumine 2S des graines de sésame. Ces glycoprotéines peuvent être classées en trois groupes selon leurs teneurs en glucides :

-La viciline d'arachide, l'albumine de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, la légumine et la viciline de graine de sésame et la glycinine de soja renferment les taux suivants 0.85%, 0.55%, 1.20 %, 1.25 %, 0.58%,1.06% et 0.77%.

-La globuline de blé et la β conglycinine de soja renferment les taux de glucides suivants 2.35 % et 2.32%.

-l'albumine 2S des graines de sésame contient la plus grande quantité de glucides, soit 29.99%.

Le taux de glucides de la glycinine est en accord avec celui annoncé par Belitz *et al.* , 2009. Pour Alais *et al.* ,2004, la glycinine est une protéine non glycolysée. Le taux de glucides de la β conglycinine est inférieur à ceux obtenus par Cheftel *et al.* , 1985 ,Amigo-Benavent *et al.*,2009 et Belitz *et al.*, 2009. Le résultat concernant le taux de glucides de l'albumine 2S est contradictoire avec celui d'Agne *et al.* ,2003 qui considère cette protéine comme une holoprotéine.

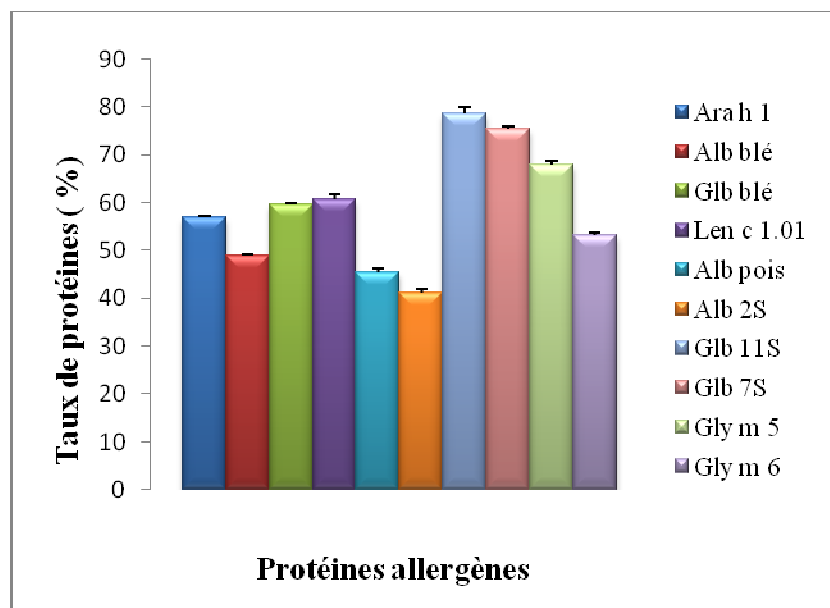


Figure № 8 : Histogrammes des taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale . Ara h 1 :Viciline d'arachide , Alb blé : Albumine de blé , Glb blé :Globuline de blé , Len c 1.01 : Viciline de lentille , Alb pois : Albumine de pois vert , Alb 2S : Albumine 2S de sésame ,Glb 11S : Légumine de sésame ,Glb 7S : Viciline de sésame , Gly m 5 : β conglycinine de soja , Gly m 6 : Glycinine de soja .

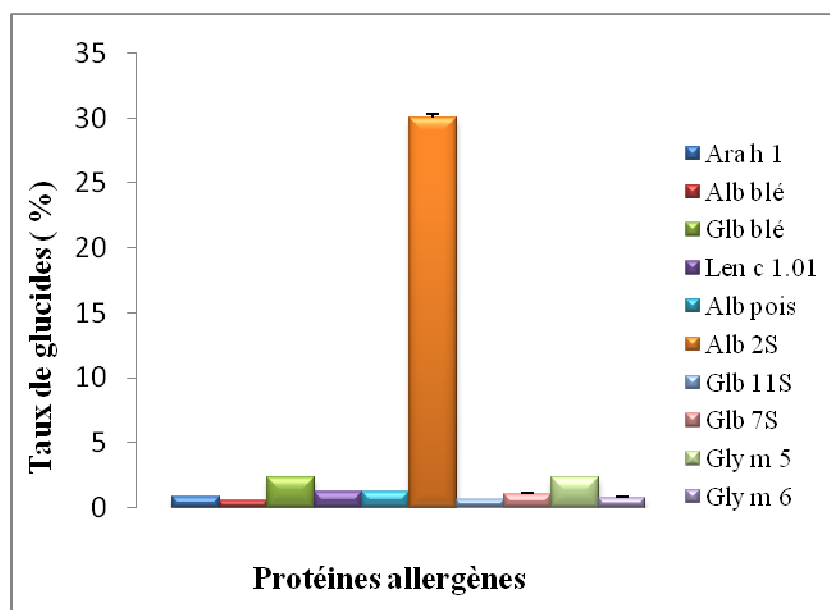


Figure № 9 : Histogrammes des taux de glucides des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale . Ara h 1 :Viciline d'arachide , Alb blé : Albumine de blé , Glb blé :Globuline de blé , Len c 1.01 : Viciline de lentille , Alb pois : Albumine de pois vert , Alb 2S : Albumine 2S de sésame ,Glb 11S : Légumine de sésame ,Glb 7S : Viciline de sésame , Gly m 5 : β conglycinine de soja , Gly m 6 : Glycinine de soja .

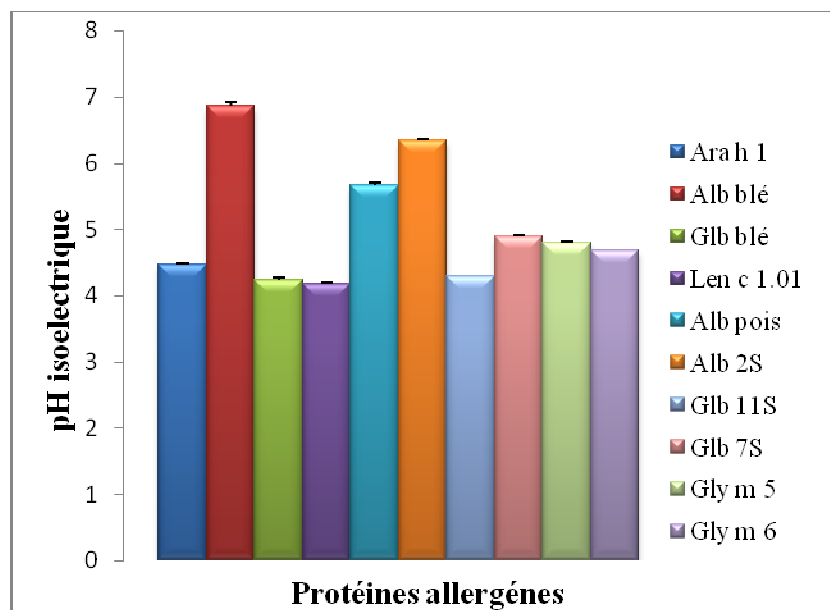


Figure N°10 : Histogrammes des pH isoélectrique des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale . Ara h 1 :Viciline d'arachide , Alb blé : Albumine de blé , Glb blé :Globuline de blé,Len c 1.01 : Viciline de lentille , Alb pois : Albumine de pois vert ,Alb 2S : Albumine 2S de sésame ,Glb 11S : Légumine de sésame ,Glb 7S :Viciline de sésame ,Gly m 5 : β conglycinine de soja ,Gly m 6 : Glycinine de soja.

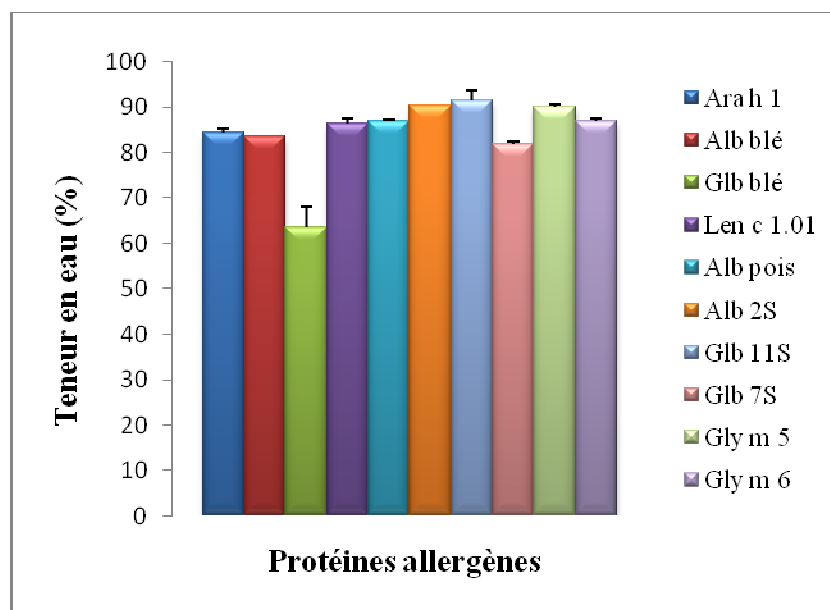


Figure N°11 : Histogrammes des teneurs en eau des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale. Ara h 1 :Viciline d'arachide , Alb blé : Albumine de blé , Glb blé :Globuline de blé , Len c 1.01 : Viciline de lentille , Alb pois : Albumine de pois vert , Alb 2S : Albumine 2S de sésame ,Glb 11S : Légumine de sésame ,Glb 7S : Viciline de sésame , Gly m 5 : β conglycinine de soja , Gly m 6 : Glycinine de soja .

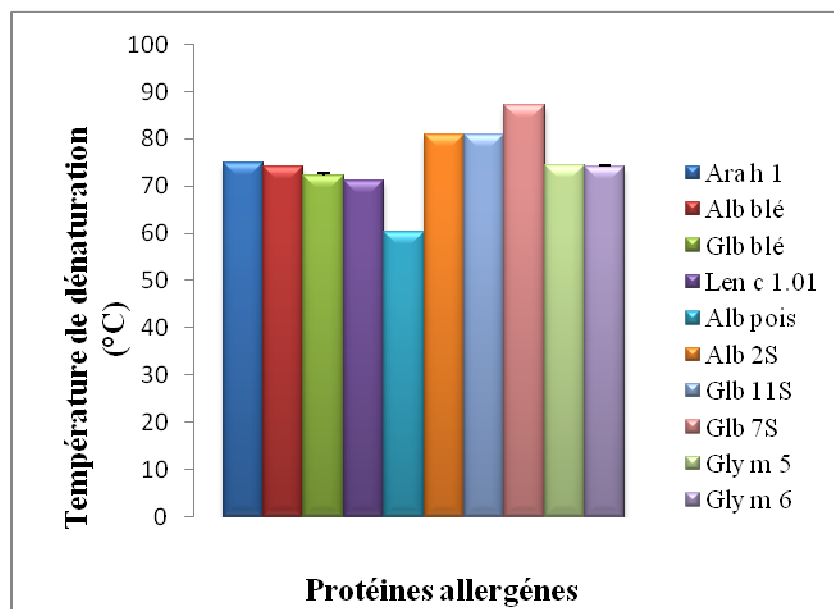


Figure №12 : Histogrammes des températures de dénaturation des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale. Ara h 1 : Viciline d'arachide , Alb blé : Albumine de blé , Glb blé : Globuline de blé , Len c 1.01 : Viciline de lentille , Alb pois : Albumine de pois vert , Alb 2S : Albumine 2S de sésame , Glb 11S : Légumine de sésame , Glb 7S : Viciline de sésame , Gly m 5 : β conglycinine de soja , Gly m 6 : Glycinine de soja .

La fraction glycanique joue un rôle primordial dans l'allergénicité de ces molécules. Il a été montré que les anticorps synthétisés réagissent avec la partie glucidique des protéines allergènes présentant une homologie structurale (Moneret-Vautrin ,1997). Les épitopes glycosylés sont les plus puissants parce qu'ils se lient à leurs récepteurs cellulaires cent ou mille fois plus rapidement que ceux non glycosylés (Huby *et al.*, 2000 ; Dearman et Kimber, 2002).

Les pH isoélectrique de la viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline de graines de sésame , la β conglycinine et la glycinine de soja sont respectivement 4.47, 6.87 , 4.24, 4.17, 5.66, 6.34, 4.29, 4.9, 4.79 et 4.67. A l'exception des pH isoélectrique de l'albumine de blé et l'albumine 2S de graines de sésame qui sont proches de la neutralité, toutes les autres protéines allergènes étudiées possèdent des pH isoélectrique acides.

Les valeurs de pH isoélectrique de la viciline d'arachide et de la glycinine du soja concordent respectivement avec celles déterminées par Mondoulet ,2005 et Cheftel *et al.*, 1985. Les valeurs de pH isoélectrique de l'albumine 2S de sésame, l'albumine de blé et de pois vert mises en évidence par Agne *et al.* ,2003, Sodini *et al.*, 2001 et Swanson ,1990 sont respectivement des pH basique , 7.3 et 6 . Elles sont différentes des valeurs de pH isoélectrique déterminées.

Les teneurs en eau de la viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé , la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline de graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja sont successivement 84.41% , 83.50 % , 63.56% , 86.34% , 86.91% , 90.47% , 91.45% , 82.01% , 89.95% et 86.97 % . Il est constaté que ces protéines allergènes possèdent une grande capacité à retenir de l'eau. Ces protéines allergènes peuvent être riches en acides aminés hydrophiles. L'hydrophilie de ces molécules permet leur passage dans la vapeur de cuisson par conséquent elle favorise la sensibilisation des muqueuses respiratoires donc la possibilité d'un asthme par allergie alimentaire (Lehrer *et al.* ,1990 ; Moneret-Vautrin ,1997). Elle maximise leurs propriétés fonctionnelles lors des processus industriels (Radauer et Breiteneder ,2009).

Les températures de dénaturation de la viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline

de graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja sont respectivement 75°C, 74.06°C, 72.26°C, 71.1°C, 60.3 °C, 81°C, 80.76°C, 87°C, 74.26°C et 74.13°C. La température de dénaturation obtenue de la glycinine est comparable à celle d'Alais et *al.*, 2004 mais diffère de celle indiquée par Cheftel et *al.*, 1985. Pour ce qui est de la température de dénaturation de la β conglycinine, elle concorde à celle rapportée par Cheftel et *al.*, 1985. La viciline de graines de sésame est la protéine la plus résistante à la chaleur. L'albumine de pois vert est la plus sensible à la chaleur. Toutes ces protéines allergènes sont caractérisées par une résistance à la chaleur et leur allergénicité peut exister même après dénaturation. Cela explique l'allergénicité constante de ces molécules. Le pouvoir allergénique de ces molécules peut accroître après chauffage, c'est à cause d'un démasquage des épitopes par un changement conformationnel au cours duquel des épitopes séquentiels localisés dans des régions hydrophobes apparaissent (Wal, 2005) alors que les épitopes conformationnels sont détruits lors de la dénaturation (Taylor et Lehrer, 1996). La diminution de l'immunoréactivité des protéines allergènes peut être provoquée par le chauffage, elle dépend de l'équilibre entre les épitopes conformationnels et séquentiels accessibles, l'immunoréactivité de la protéine est réduite (Sanchez et Frémont, 2003). L'augmentation de l'allergénicité peut être due aussi à des modifications chimiques d'acides aminés par réaction de Maillard avec des sucres.

III.2-Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique et ceux du groupe des globulines des différents aliments d'origine végétale étudiés :

III.2.1-Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique de différents aliments d'origine végétale étudiés :

Le tableau N° V donne les résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique des différents aliments d'origine végétale étudiés. Pour les taux de protéines, les taux de glucides, les pH

Tableau N°V : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique des différents aliments d'origine végétale par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe.

Paramètres physicochimique	Statistiques							
	Différence factorielle			Différence résiduelle			F _{obs}	p
	ddl	SCE _f	CM _f	ddl	SCE _r	CM _r		
Taux de protéines	2	89,920	44,960	6	1,664	0,277	162,10***	0,000***
Taux de glucides	2	1693,5	846,79	6	0,248	0,041	20653.4***	0,000***
pH isoélectrique	2	2,184	1,092	6	0,0075	0,0012	869,85***	0,000***
Teneur en eau	2	72,813	36,406	6	0,3921	0,0653	557,15***	0,000***
Température de dénaturation	2	666,08	333,04	6	0,0267	0,0044	75690.90***	0,000***

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, *** : Différences très hautement significatives.

isoélectrique, les teneurs en eau et les températures de dénaturation, les valeurs de p données par l'analyse de la variance sont nulles ($p=0.000 \leq 0.001$). Il existe des différences très hautement significatives entre chaque paramètre physicochimique de ces albumines. L'albumine 2S de graines de sésame est caractérisée par la plus grande teneur en glucides, la plus grande teneur en eau et la plus grande résistance à la chaleur. La grande teneur en glucides améliore sa capacité à retenir de l'eau et même sa résistance thermique (Malandain, 2005). Ces protéines allergènes appartiennent à la même famille protéique mais chacune a ses propres caractéristiques.

III.2.2-Comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes du groupe des globulines de différents aliments d'origine végétale :

Les tableaux № VI, VII, VIII, IX et X donnent les résultats des comparaisons des paramètres physicochimiques des protéines allergènes du groupe des globulines des aliments d'origine végétale étudiés. Il est constaté qu'il existe des différences très hautement significatives entre tous les paramètres physicochimiques de toutes les protéines allergènes du groupe des globulines étudiées. Pour les vicilines, il existe des différences très hautement significatives entre les paramètres physicochimiques. Des différences se trouvent essentiellement au niveau des régions N et C terminal (Belitz *et al.*, 2009). Concernant les légumineuses, des différences très hautement significatives sont mises en évidence ($p=0.000 \leq 0.001$) entre les teneurs en protéines de la glycinine de soja et la légumine de graines de sésame ainsi qu'entre leur pH isoélectrique et leur températures de dénaturation. Il existe des différences hautement significatives ($p=0.008 \leq 0.01$) entre leur teneur en eau alors qu'il existe de différences significatives ($p=0.016 \leq 0.05$) entre le taux de glucides de la légumine de graines de sésame et la glycinine de soja. Ces globulines se différencient probablement dans leurs compositions en acides aminés. Ces différences se trouvent au niveau des sous unités acides et des régions C terminal des sous unités basiques (Belitz *et al.*, 2009). En ce qui concerne la β conglycinine et la glycinine de soja, il existe des différences très hautement significatives entre les taux de protéines ainsi qu'entre les taux de glucides. Les valeurs de p sont nulles. Il existe des différences très hautement significatives ($p=0.001 \leq 0.001$) entre les pH isoélectrique. Il n'existe pas des différences

Tableau N°VI : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes du groupe des globulines des différents aliments d'origine végétale par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe.

Paramètres physicochimique	Statistiques							
	Différence factorielle			Différence résiduelle			F _{obs}	p
	ddl	SCE _f	CM _f	ddl	SCE _r	CM _r		
Taux de protéines	6	1687,8	281,30	14	7,220	0,516	545,49 ***	0,000***
Taux de glucides	6	9,613	1,602	14	0,032	0,0023	692,34 ***	0,000***
pH isoélectrique	6	1,4794	0,2465	14	0,0064	0,0004	539,39 ***	0,000***
Teneur en eau	6	1576,9	262,82	14	55,82	3,99	65,92 ***	0,000***
Température de dénaturation	6	564,74	94,123	14	0,7667	0,0548	1718,78 ***	0,000***

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, *** : Différences très hautement significatives.

Tableau N°VII : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des vicilines, globulines de type 7S, des différents aliments d'origine végétale par l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe.

Paramètres physicochimique	Statistiques							
	Différence factorielle			Différence résiduelle			F _{obs}	p
	ddl	SCE _f	CM _f	ddl	SCE _r	CM _r		
Taux de protéines	3	626,26	208,75	8	3,587	0,448	465,57***	0,000***
Taux de glucides	3	3,8388	1,2796	8	0,0261	0,0032	391,72***	0,000***
pH isoélectrique	3	0,6588	0,2196	8	0,0022	0,0002	798,66***	0,000***
Teneur en eau	3	101,22	33,741	8	6,258	0,782	43,13***	0,000***
Température de dénaturation	3	3,8388	1,2796	8	0,0261	0,0032	391,72***	0,000***

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, *** : Différences très hautement significatives.

Tableau N° VIII : Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des légumineuses, globulines de type 11 S, des différents aliments d'origine végétale par le test t de STUDENT.

Paramètres physicochimiques	Moyennes		t _{obs}	p
	Glycine de soja	Légumine de sésame		
Taux de protéines (%)	53,323	78,73	34,34****	0,001****
Taux de glucides (%)	0,5867	0,7733	7,92*	0,016*
pH isoélectrique	4,6700	4,29667	56,00****	0,000****
Teneur en eau (%)	91,45	86,970	3,32**	0,008**
Température de dénaturation (°C)	74,133	80,767	33,64****	0,000****

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, **** : Différences très hautement significatives .

Tableau N° IX: Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des globulines de soja par le test t de STUDENT.

Paramètres physicochimiques	Moyennes		t _{obs}	p
	B conglycinine	Glycine de soja		
Taux de protéines (%)	67,877	53,323	29,49****	0,000****
Taux de glucides (%)	2,3200	0,7733	58,00****	0,000****
pH isoélectrique	4,7967	4,6700	12,02****	0,001****
Teneur en eau (%)	89,880	86,970	6,12**	0,009**
Température de dénaturation (°C)	74,267	74,133	0,71 ^{NS}	0,519 ^{NS}

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, **** : Différences très hautement significatives .

Tableau N° X: Résultats de la comparaison des paramètres physicochimiques des globulines de graines de sésame par le test t de STUDENT.

Paramètres physicochimiques	Moyennes		t _{obs}	p
	Légumine de sésame	Viciline de sésame		
Taux de protéines (%)	78,73	75,410	4,27*	0,024*
Taux de glucides (%)	0,5867	1,063	7,45*	0,018*
pH isoélectrique	4,29667	4,9000	90,50***	0,000***
Teneur en eau (%)	91,45	82,017	6,96*	0,02*
Température de dénaturation (°C)	80,767	87,0100	42,94***	0,001***

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, *** : Différences très hautement significatives.

significatives entre les températures de dénaturation ($p=0.519 >0.05$). Il existe des différences hautement significatives ($p=0.009 \leq 0.01$) entre les teneurs en eau. Pour Belitz *et al.*, 2009, la glycinine est beaucoup plus stable que la β conglycinine. Ces deux protéines allergènes diffèrent par leur composition en acides aminés. La β conglycinine est plus hydrophile que la glycinine. Ce résultat concorde avec ceux de Cheftel *et al.*, 1985 et Alais *et al.*, 2004. Elles se différencient principalement par leurs teneurs en méthionine. La glycinine est la plus riche en cet acide aminé (Belitz *et al.*, 2009). Pour ce qui est de la légumine et la viciline de graines de sésame, il existe des différences significatives entre les taux de protéines, les taux de glucides ainsi qu'entre les teneurs en eau de ces molécules. Les valeurs de p sont respectivement 0.024, 0.018 et 0.02. Il a été mis en évidence l'existence des différences très hautement significatives entre les pH isoélectrique et les températures de dénaturation. Les valeurs de p sont successivement 0.000 et 0.001. Ces protéines allergènes possèdent la même origine alimentaire (graines de sésame ou soja) et appartiennent au même groupe protéique (globulines) mais chacune a ses propres caractéristiques.

III.3-Détermination et analyses des relations entre les différents paramètres physico-chimiques des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale étudiées :

Le tableau N° XI donne les différentes relations entre les paramètres physicochimiques des protéines allergènes d'origine végétale étudiées. Il y est indiqué les coefficients de corrélation, les coefficients de détermination et les équations de régression linéaire. Dans les figures N° 13, 14, 15 et 16 sont représentées les droites de régression des relations entre la température de dénaturation et le taux de protéines, le pH isoélectrique et le taux de protéines, le pH isoélectrique et le taux de glucides ainsi qu'entre le taux de glucides et le taux de protéines.

Les coefficients de corrélation entre la température de dénaturation et le taux de protéines, le taux de glucides, le pH isoélectrique et la teneur en eau sont successivement +0.506, +0.281, -0.049 et +0.104. Le coefficient de corrélation entre la température de dénaturation et le taux de protéines est hautement significatif. La valeur de p est de $0.004 \leq$

Tableau N°XI : Relations entre les différents paramètres physicochimiques des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale étudiées

Variables		Probabilité	Coefficient de Corrélation	Coefficient de détermination	Equation de régression linéaire	Statistique	Ecart-type résiduel
X	Y	p	r	R ² %	Y=a + bX	F _{obs}	S _{yx}
Taux de protéines	Température de dénaturation	0.004**	+0.506	25.6%	Y=57.92+0.29X	9.64**	6.018°C
Taux de glucides	Température de dénaturation	0.132 ^{NS}	+0.281	/	/	/	/
pH isoélectrique	Température de dénaturation	0.796 ^{NS}	-0.049	/	/	/	/
Teneur en eau	Température de dénaturation	0.585 ^{NS}	+0.104	/	/	/	/
Taux de protéines	Teneur en eau	0.974 ^{NS}	-0.006	/	/	/	/
Taux de glucides	Teneur en eau	0.239 ^{NS}	+0.222	/	/	/	/
Taux de protéines	pH isoélectrique	0.000***	-0.645	41.7%	Y=7.92-0.048X	19.99***	0.704
Taux de glucides	pH isoélectrique	0.009**	+0.467	21.8%	Y=4.84+0.048X	7.80**	0.815
Taux de protéines	Taux de glucides	0.006**	-0.492	24.2%	Y=25.4-0.362X	8.92**	7.801%

k₁ = 1 ddl , k₂ = 28 ddl, F_{0.95} = 4.20, F_{0.99} = 7.64, F_{0.999} = 13.5

^{NS} : Différences non significatives, * : Différences significatives, ** : Différences hautement significatives, *** : Différences très hautement significatives

$$Y = 57,92 + 0,29X, R^2\% = 25,6\% , S_{yx} = 6,018\text{ }^\circ\text{C}$$

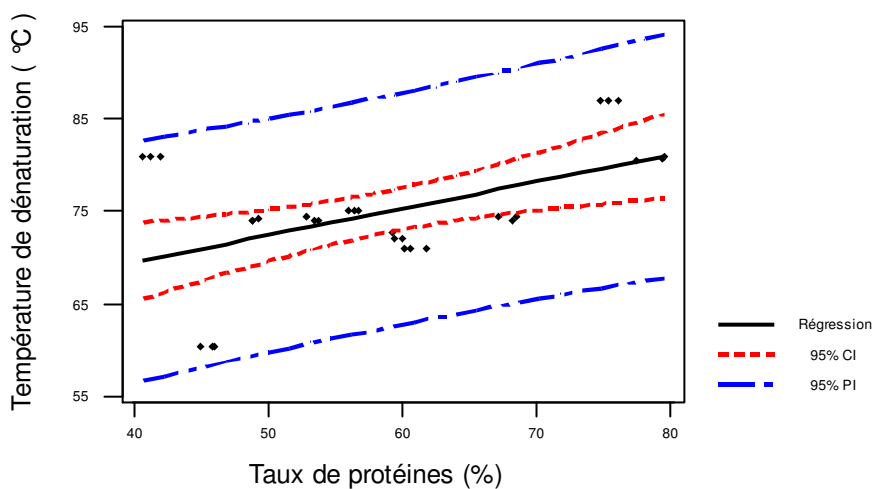


Figure N°13 : Relation entre la température de dénaturation et le taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.

$$Y=7.92-0.048X, R^2\%=41.7\%, S_{yx}=0.704$$

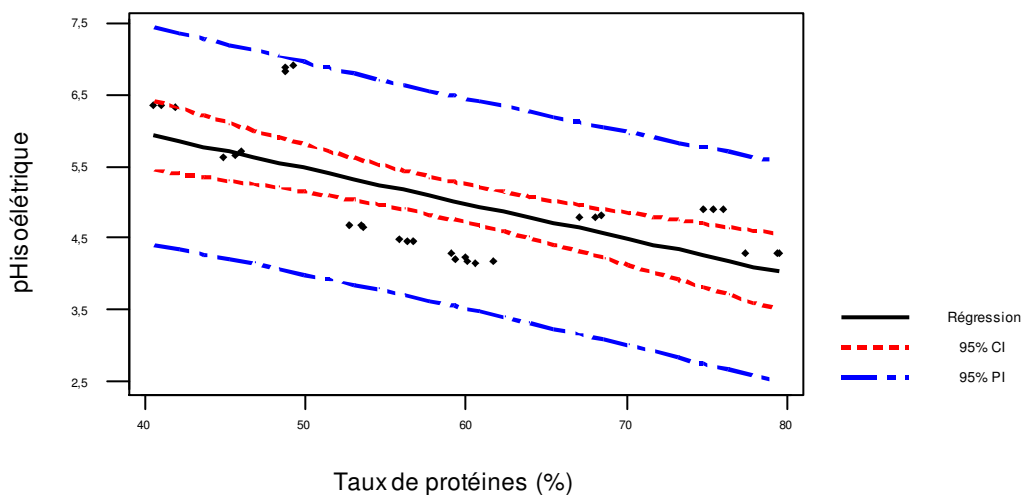
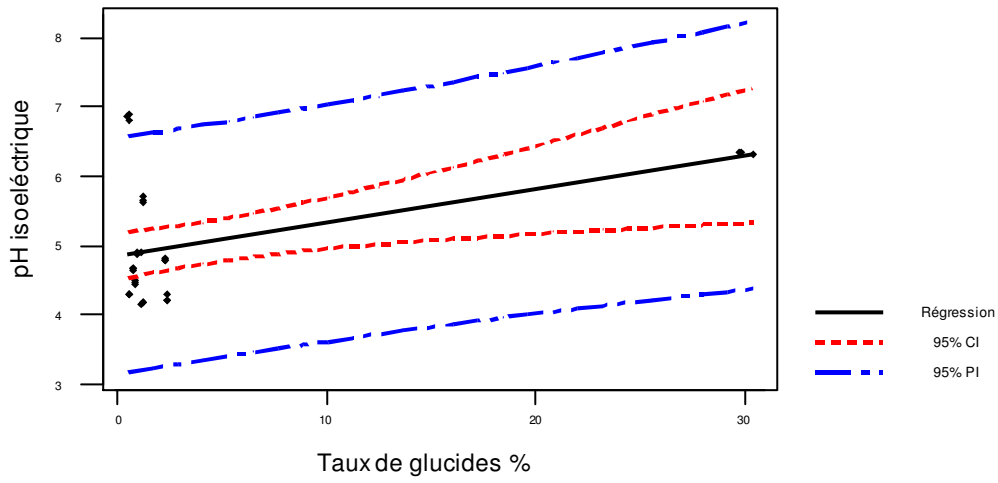


Figure N°14: Relation entre le pH isoélectrique et le taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.

$$Y = 4,84 + 0,048X, R^2\% = 21,8\%, S_{yx} = 0,815$$



Fi

Figure №15 : Relation entre le pH isoélectrique et le taux de glucides des protéines allergènes alimentaires d'origine végétale.

$$Y = 25,4 - 0,362X, R^2\% = 24,2\%, S_{yx} = 7,801\%$$

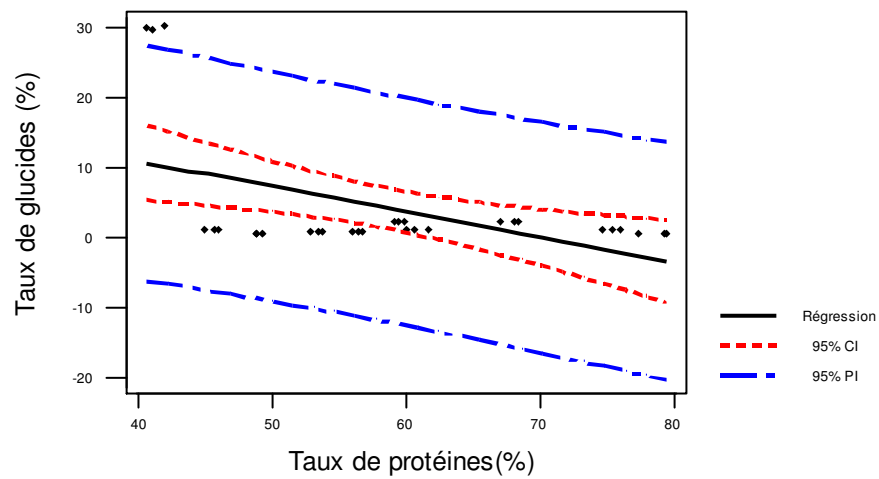


Figure №16 : Relation entre le taux de glucides et le taux de protéines des protéines allergènes des différents aliments d'origine végétale.

0.01. 25.6% des températures de dénaturation sont expliquées par le taux de protéines. Lorsque le taux de protéines augmente la température de dénaturation augmente.

La température de dénaturation dépend de la quantité de protéines (Sanchez et Frémont, 2003). Le coefficient de corrélation entre la température de dénaturation et le taux de glucides n'est pas significatif ($p=0.132>0.05$). Il n'y a pas de relation entre la température de dénaturation et la quantité de glucides. La dénaturation thermique n'entraîne ni la rupture des liaisons peptidiques ni les liaisons reliant les glucides aux protéines mais elle provoque un changement conformationnel se traduisant par la perte de la structure secondaire et tertiaire. Elle peut dépendre de la nature des glucides. La partie glycanique contribue à la stabilité de la protéine allergène, cependant la résistance à la chaleur n'indique pas nécessairement une stabilité structurale mais la persistance d'une immunoréactivité après chauffage (Sanchez et Frémont, 2003). Les protéines allergènes peuvent réagir avec les IgE spécifiques même après la perte de la conformation moléculaire. Le rôle de la partie glucidique peut être un rôle de reconnaissance (Weil, 2001 ; Moneret-Vautrin *et al.*, 2006). En outre, la fraction glycanique a une fonction primordiale dans la protection de la chaîne peptidique contre les attaques des enzymes protéolytiques en jouant le rôle de boucliers (Weil, 2001). Les coefficients de corrélation entre la température de dénaturation et le pH isoélectrique ainsi qu'entre la température de dénaturation et la teneur en eau ne sont pas significatifs. Les valeurs de p sont successivement 0.796 et 0.585. Les coefficients de corrélation entre la teneur en eau et le taux de protéines ainsi qu'entre la teneur en eau et le taux de glucides sont respectivement -0.006 et +0.222. Ces coefficients ne sont pas significatifs. Les valeurs de p sont respectivement 0.974 et 0.239. Ces résultats montrent que la teneur en eau ne dépend ni de la quantité des protéines ni de celle des glucides. Elle dépend non seulement de la nature des acides aminés mais aussi de la nature des glucides (Wu *et al.*, 1999) . Les coefficients de corrélation entre le pH isoélectrique et le taux de protéines, le pH isoélectrique et le taux de glucides ainsi qu'entre le taux de protéines et le taux de glucides sont successivement -0.645, +0.467 et -0.492. Si ces deux derniers coefficients de corrélation sont hautement significatifs, le premier coefficient de corrélation est très hautement significatif. 41.7% des valeurs de pH isoélectrique sont expliquées par le taux de protéines, 21.8 % des valeurs de pH isoélectrique sont expliquées par le taux de glucides et 24.2% des taux de glucides sont expliqués par le taux de protéines. D'après ces résultats, le pH isoélectrique est inversement proportionnel au taux de protéines. Lorsque le taux de protéines augmente le pH isoélectrique tend vers l'acidité et lorsque le taux de protéines diminue le pH isoélectrique tend vers

l'alcalinité. Le pH isoélectrique est proportionnel au taux de glucides, quand le taux de glucides augmente le pH isoélectrique tend vers l'alcalinité et lorsque le taux de glucides diminue le pH isoélectrique tend vers l'acidité. Ce résultat concorde avec ceux décrit par Huby *et al.*, 2000. La partie glycanique modifie le pH isoélectrique de la protéine allergène (Huby *et al.*, 2000). Le taux de protéines et le taux de glucides sont inversement proportionnels. Quand le taux de protéines augmente le taux de glucides diminue. Pour les protéines allergènes, lorsque la fraction glucidique est faible, le pH isoélectrique est acide et la température de dénaturation est élevée.

Le coefficient de régression linéaire de l'équation de régression du pH isoélectrique en fonction de taux de protéines et celui de l'équation de régression du pH isoélectrique en fonction de taux de glucides sont respectivement -0.048 et $+0.048$. Ce dernier est hautement significatif ($F_{obs} \geq F_{0,99}$), donc le modèle de régression linéaire est hautement significatif alors que celui du pH isoélectrique et le taux de glucides est très hautement significatif ($F_{obs} \geq F_{0,999}$) donc le modèle de régression linéaire est très hautement significatif. Le taux de protéines et le taux de glucides exercent la même influence sur le pH isoélectrique mais de façon opposée.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale :

L'arachide, le blé, la lentille, le pois vert, les graines de sésame et de soja sont parmi les aliments d'origine végétale les plus incriminés dans l'allergie alimentaire. Leurs protéines allergènes sont responsables de réactions d'hypersensibilité.

La viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline des graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja ont été extraites par des techniques basées sur la solubilisation, la centrifugation et la dialyse. Les taux de protéines et de glucides ont été déterminés par méthode spectrophotométrique. Le pH isoélectrique a été obtenu par pH précipitation. La teneur en eau a été déterminée par différence de pesée et la température de dénaturation par augmentation de la température jusqu'à la précipitation. La comparaison des paramètres physicochimiques des protéines allergènes de nature albuminique et ceux de groupe des globulines et la recherche de relations entre les différents paramètres ont été possible grâce à l'analyse de la variance à un critère de classification modèle fixe, le test t de STUDENT, le calcul du coefficient de corrélation linéaire et l'établissement des équations de régression.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agne P.S.E. ,Rancé F. ,Bidat E. ; 2003 : Allergie au sésame .Rev.fr.Immunol. Clin ;43 :507-516p.

Alais C. ,Linden G. ,Miclo L.; 2004 : Biochimie Alimentaire .Dunod Ed.5^{ème} Edition .264p.

Amigo-Benavent M. , Athanasopoulos V.I. , Ferranti P. , Villamiel M. ,del Castillo M.D. ; 2009 : Carbohydrate moieties on the in vitro immunoreactivity of soy b-conglycinin .Food Resear.Int ;42: 819–825p.

Ancellin R. ,Berta J.L. ,Dubuisson C. ,La Vieille S. ,Martin A. ; 2002 : Allergies alimentaires : Connaissances, clinique et prévention. Programme National Santé Nutrition AFSSA ; 70p.

Asero R. ,Mistrello G. ,Roncarolo D. ,Amato S. ,Caldironi G. ,Barocci F. ,Van Ree R. ; 2002: Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant-derived foods: a clinical study. Allergy; 57(10):900-906p.

Baba Aissa F. ; 2000 : Encyclopédie des plantes utiles .Librairie moderne Ed.368p.

Battais F. , Richard C. , Leduc V. ;2007 : Les allergènes du grain de blé .Rev. fr. Allergol. Immunol.Clin ; 47 :171–174p.

Belitz H.D. ,Grosch W. , Schieberle P. ; 2009 : Legumes .Food.Chem ; 746-769p.

Berti P. J. ,Storer A .C. ; 1995: Alignment/phylogeny of the papain superfamily of cysteine proteases , Journal.Mol.Biol ; 246(2):273–283p.

Beyer K. ,Morrow E. ,Li X.M. ,Bardina L. ,Bannon G.A. ,Burks A.W. ,Sampson H.A. ; 2001: Effects of cooking methods on peanut allergenicity.Journal.Allerg.Clin.Immunol; 107:1077–1081p.

Beyer K. ,Bardina L. ,Grishina G. ,Sampson H.A. ; 2002 : Identification of sesame seed allergens by 2-dimensional proteomics and Edman sequencing: Seed storage proteins as common food allergens. Journal.Allergol.Clin.Immunol ; 110(1): 154-159p.

Beyer K. ,Grishina G. ,Bardina L. ,Sampson H.A. ; 2007 : Identification of a New Sesame Seed Allergen -Ses i 7, an 11 S Globulin belonging to the Seed Storage Proteins ; 119 (6) : 1554-1556p.

Bidat E. ; 2006 : Allergie alimentaire de l'enfant. Arch.Pédiat ; 13 : 1349-1353p.

Birk Y. ,Smirnoff P. ; 1992: Protein protease inhibitor from legume seeds and their significance in nutrition, pest control and medicine. Première conférence européenne sur les protéagineux, Angers, France: 391-392p.

Bodinier M. ; 2007 : Les allergies alimentaires .INRA ; 37p.

Boissieu D. ; 2002 : Allergie a l'arachide. Elsevier SAS Ed. Journal. Pédiatr. Puériculture ; 15 : 17-20p.

Breiteneder H. ,Radauer C. ; 2004 : Classification of plant food allergens .Journal. Allergy. Clin.Immunol. Shearer W. , Rosenwassr L. J. ,Bochner B.S Ed ; 821-830p.

Breiteneder H. ,Mills E.N. ; 2005 : Molecular properties of food allergens. Journal. Allergy.Clin.Immunol ; 115:14–23p.

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

Buchanan B.B. ,Adamidi C. ,Lozano R.M. ,Yee B.C. ,Momma M. ,Kobrehel.K. ,Ermel R. ,Frik O.L. ; 1997 : Thioredoxin-linked mitigation of allergic responses to wheat, Contributed by B.Bob.Buchanana ; 94 :5372-5377p.

Burks A.W. ,Williams L.W. ,Helm R. M. ,Connaughton C. ,Cockrell G. ,O'Brien T.J.; 1991: Identification of a major peanut allergen, Ara h I, in patients with atopic dermatitis and positive peanut challenges .Journal.Allergy.Clin.Immunol ; 88 : 172–179p.

Burks W. ,Sampson H.A. ,Bannon G.A. ; 1998 : Peanut allergens. Journal.Allergy ; 53 : 725-730p.

Cerning-Beroard J. ; 1975 : A note on sugar determination by anthrone method. Cereal Chem ; 52 : 857-860p.

Chen J.C.F. ,Tsai C.C.Y. ,Tzen J.T.C. ; 1999: Cloning and secondary structure analysis of caleosin, a unique calcium-binding protein in oil bodies of plant seeds .Plant. Cell. Physiol; 40:1079-1086p.

Cheftel J.C. ,Cuq J.L. ,Lorient D. ;1985: Protéines alimentaires. Lavoisier Ed.416p.

Chiron H. , Roussel P. : Du blé au pain et au pâtes alimentaires In Jeantet R., Croguennec T ., Schuck P .,Brulé G ; 2007 : Sciences des aliments :Biochimie Microbiologie Procédés Produits Loivoisier TEC & DOC Ed ;139 – 185p.

Collard G. ,Tap J ; 2005 : Allergie alimentaire : Le soja. Rapport Maitrise SIAL.29p.

Dagnelie P. ; 2008: Statistique théorique et appliquée. Tome 2. De Boeck & Larcier Ed .658p.

Davis P.J. ,Smales C.M. ,James D.C.; 2001:How can thermal processing modify the antigenicity of proteins.Allergy ; 56:56–60p.

Dean D.M. ; 1985: Food Allergens; Rev.Allergy.Clin ;331(3):331-349p .

Dearman R.J. ,Kimber I ; 2002 : Proteins as allergens : A toxicological perspective In Emerton V : Food allergy and intolerance : current issues and concerns.Royal.Soc.Chem ;14 - 148p .

Dechamp C. ,Bessot J.C. ,Pauli G. ,Deviller P. ;1995 : First report of anaphylactic reaction after fig ingestion Allergy ;50 :514-516p.

Denery S. ,Bodinier M. ; 2006 :Identification et caractérisation des allergènes et épitopes impliqués dans la réponses IgE dépendante de l'allergie alimentaire au blé. INRA .mise à jour 07/02/2006.Consulté le 07/05/2008.

Deviller P. ; 1998 In Panorama des allergies croisées .Rev.fr.Allergol ; 38 :20-27p.

Dubuisson C. ,La Vieille S. ,Martin A. ; 2002 : Allergies alimentaires :Etat des lieux et propositions d'orientations .Rapport .Nutrition humaine. AFSSA Derns.104p.

Dunwell J.M. ; 1998 : Cupins: A new superfamily of functionally diverse proteins that include germins and plant storage proteins .Rev.Biotech.Genet.Eng ;15:1–32p.

Dutau G. ,Rancé F.; 2005 : Histoire de l'allergie alimentaire : Des précurseurs a l'histoire contemporaine. Rev.fr.Allerg.Immunol.Clin ; 46 :312-323p.

Fattorusso V. ,Ritter O. ; 2004 : Vademecum clinique : *du diagnostic au traitement*. Masson Ed .17^{ème} Edition ; 1981p.

Feillet P.; 2000 : Le grain de blé: *Composition et utilisation*. Quae Ed.312p

Franck P. ,Moneret Vautrin D.A. ,Dousset B. , Kanny G. ,Nabet P. ,Guenard Bilbaut L. ,Parisot L. ; 2002: The allergenicity of soybean-based products is modified by food technologies. Int.Arch.Allergy.Immunol;128:212–219p.

Frénot M. ,Vierling E. ;1997 :Biochimie des aliments Diététique du sujet bien portant. Doin Ed .285p.

Fremont S. ,Zitouni N. ,Kanny G. ,Veneri V. ,Metche M. ,Moneret-Vautrin D.A. , Nicolas J.P. ;2002 : Allergenicity of some isoforms of white sesame proteins Clin.Exper.Allergy ;32(8) :1211-1215p.

Gatehouse J.A. ,Gilroy J. ,Hoque M.S. ,Croy R.R.D. ; 1985: Purification, properties and amino acid séquence of a 1 row-M abundant seed protein from pea (*Pisum satiuunz* L.).Journal. Biochem ; 225 : 239-247p.

Godon B. ,Loisel W. ,Buré J. ; 1984 : Guide pratique d'analyse dans les industries des cereales.Tec & Doc .Lavoisier. Aparia Ed.685p.

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

Guez S. ,Masson H. ,Attout H. , Sériés C. ;2004 : Prise en charge clinique d'une allergie alimentaire .Journal .Nutr. Clin. Métabol ;18 :20-24p.

Higgins T.J.V. ,Chandler P.M. ,Randall P.J. ,Spencer D. ,Beach L.R. ,Blagrove R.J. , Kortt A.A. ,Inglis A.S. ; 1986: Gene structure, protein structure, and regulation of the synthesis of a sulfur-rich protein in pea seeds. Journal. Biol. Chem; 261:11124-11130p.

Hoffman D. ,Lowenstein H. ,Marsh D.G. ,Platts-Mills T.A.E. ,Thomas.W .;1994: Allergen nomenclature .WHO; 72 (5):796-806p.

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

Jacquet S. ,Moneret-Vautrin D.A. ; 2007 : Les allergènes de l'arachide et des fruits à coque .Rev.fr.Allergol.Immunol.Clin ; 47 : 487–491p.

Jaffuel D. ,Demoly P. ,Bousquet J. ; 2001 :Les allergies alimentaires .Rev.fr.Allergol. Immuno.Clin ; 42(2) :169-186p.

Kang I.H. ,Gallo M. ,Tillman B.L. ;2007: Distribution of allergen composition in peanut (*Arachis hypogaeae* L.)and wild progenitor (*Arachis*)species. Crop.Sci. Society. America;47 :997 -1003p.

Kobayashi M. ;2005: Immunological functions of soy sauce: hypoallergenicity and antiallergic activity of soy sauce. Journal Biosci Bioeng ;100(2):144-151p.

Koppelman S.J. , Bruijnzeel-Koomen C.A.M.F. , Hessing M. ,Jongh H.H. J. ;1999: Heat-induced conformational changes of *Ara h 1*, a major peanut allergen, do Not Affect Its Allergenic Properties' *Journal. Biol.Chem*; 274(8): 4770-4777p .

Koppelman S.J. , de Jong G.A. , Laaper-Ertmann M. ,Peeters K. A. ,Knulst A.C. , Hefle S.L. , Knol E.F. ; 2005: Purification and immunoglobulin E-binding properties of peanut allergen Ara h 6: evidence for cross-reactivity with Ara h 2. *Clin.Exp .Allergy* ; 35(4):490-497p.

L'anson K.J. ,Miles M.J. ,Bacon J.R. ,Carr H.J. ,Lambert N. ,Morris V.J. ,Wright D. J. ;1988 : Structure of the 7 S globulin (vicilin) from pea (*Pisum sativum*). *Int.Journal. Biol. Macromol* ; 10 : 311-317p.

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

Lehrer S.B. ,Bannon G.A. ; 2005 : Risks of allergic reactions to biotech proteins in foods: perception and reality.*Allergy* ; 60:559–564p.

Lopez-Torrejôn G. ,Salcedo G. ,Martin-Esteban M. ,Diaz-Parales A. ,Pascuel C.Y. , Sanchez-Mongue R. ; 2003 : Lenc 1, is a major allergen and vicilin from lentil seed, protein isolation and c DNA cloning, *Journal.Allergy.Clin.Immunol*; **112**(6):1208-1215p.

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

Male D.; 2005 : *Immunologie Aide-mémoire illustré* .Boeck Universités Ed. Paul Fonteneau Editeur . 4^{ème} Edition ; 141p.

Maleki S.J. ,Kopper R.A. ,David S.D.S. ,Park C.W. ,Compadre C.M. ,Sampson H. , Burks A.W. ,Bannon G.A. ; **2000** : Structure of the Major Peanut Allergen Ara h 1 May Protect IgE-Binding Epitopes from Degradation .*Journal.Immunol*;164: 5844-5849p.

Malley A. ,Beacher L. ,Mackler D. ,Perlman F. ; 2004 : The isolation of allergens from the green pea .*Journal.Allergy.Clin.Immunol* ;56(4) :282-290 p.

Malandain H. ,Lavaud F. ; 2004 : Allergénicité des protéines de défense végétale .*Rev.fr Allergol.Immunol.Clin* ; 44 : 469–475p.

Malandain H. ; 2005 : IgE reactive carbohydrate epitopes - Classification, cross-reactivity and clinical impact. *Eur. Ann.Allergy.Clin.Immunol* ;37:122-128, 247-256p.

Malandain H. ; 2008 : Allergènes protéiques : nomenclature et classification. disponible sur URL : www.allerdata.com/spip.php . Consulté le 26.04.2008.

Masson P. ,Tome D. ,Gaborit T. ;1986. Large-scale preparation and characterization of pea seed lectins (*Pisum sativum* L.). *Lebensm. Wiss.Techn* ; 19 :138-143p.

Mondoulet L. ; 2005 : Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide. Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermique et des processus digestifs .Thèse de doctorat .Toulouse : INSA Toulouse ; 263p.

Moneret-Vautrin D.A. ; 1997 : Les allergènes alimentaires et leurs modifications par les technologies agroalimentaires.*Rev.fr.Allergol*.37 (1) :21-28p.

Moneret-Vautrin D.A. ,Kenny G. ,Rancé F. ,Lemerdry. P.; 1997 : Les allergènes végétaux alimentaires : Allergies associées et réactions croisées .*Rev .fr. Allergol* ; 37(3) :316-324p.

Moneret-Vautrin D.A. ,Kanny G. ,Parisot L. ; 2001 : Accidents graves par allergie alimentaire en France : Fréquence, caractéristiques cliniques et étiologiques .Première enquête du réseau d'allergovigilance .*Rev.fr.Allergol* ;41 :696-700p.

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

Moneret-Vautrin D.A. ,Kanny G. ;2007 : Axes de recherche en allergologie alimentaire hypoallergénicité et vaccins .*Rev.fr.Allergol.Immunol*;47:305-313p.

Nemni A. ,Grimfeld A. ,Just.J. ; 2006 : Allergie alimentaire chez l'enfant. Décision thérapeutique en médecine générale № 31 ; 2-7p.

Newbiggin E.J. ,Lumen B.O. ,Chandler P.M. ,Gould A. , Blagrove R.J. ,March J.F. , Kortt A.A. , Higgins T.J.V. ;1990 : Pea convicilin: structure and primary sequence of the protein and expression of a gene in the seeds of transgenic tobacco. *Planta* ; 180 :461-4703p.

Orruño E. ,Morgan M.R.A.; 2007: Purification and characterisation of the 7S globulin storage protein from sesame (*Sesamum indicum*L.). *Food.Chem*; 100 (3): 926-934p.

Owaga T. ,Bando N. ,Tsuji H. ,Nishikawa K. ,Kitamura K. ;1995 : A subunit of β conglycinin , an allergenic Protein Recognized by IgE Antibodies of soybean-sensitive Patients with atopic Dermatitis.*Biosci.Biotech.Biochem* ;59 :831-833p.

Ogawa A. ,Samoto M. ,Takahashi K. ;2000 : Soybean allergens and hypoallergenic soybean products. *Journal.Nutr .Sci.Vitaminol* ; 46 :271–279p.

Parent-Massin D. ; 2005 : Exigences réglementaires ou comment prévenir la présence d'allergènes alimentaires.Congrès SFT. Octobre.

Pastorello E.A. ,Varin E. ,Farioli L. ,Pravettoni V. , Ortolani C. ,Trambaioli C. ,Fortunato D. ,Giuffrida M.G. ,Rivolta F. ,Robino A. , Calamari A.M. ,Lacava L. ,Conti A ;2001 :The major allergen of sesame seeds (*Sesamum indicum*)is a albumin 2S.Journal Chromato B : Biochem.Sc.App ;765(1-2) :85-93p.

Patriarca G. , Schiavino D. ,Pecora V. , Lombardo C. , Pollastrini E. ,Aruanno A. ,Sabato V. , Colagiovanni A. , Rizzi A. ,De Pasquale T. ,Roncallo C. ,Decinti M. ,Musumeci S. ,Gasbarrini G. ,Buonomo A. ,Nucera E. ; 2009 : Food allergy and food intolerance : diagnosis and treatment. Intern.Emerg. Med :1-14p.

Pauli G. ; 2003 : Allergène recombinant : Application au diagnostic et au traitement In David .B : Mieux comprendre les maladies allergiques .Elsevier & Masson Ed : 210-214p.

Peltre G. ; 2002 : Identifying and eliminating allergens .Journal.fr.OLC :112-114p .

Perin L.F. ; 1998 : Allergologie pratique.3^{ème} Edition. Masson Ed.196p .

Perrot C. ;1995 : Les protéines de pois : De leur fonction dans la graine à leur utilisation en alimentation animale.INRA.Prod.Anim ;8(3) :152-164p.

Pomes A. ,Helm R.M. ,Bannon G.A. ,Burks A.W. ,Tsay A. ,Chapman M.D. ;2003: Monitoring peanut allergen in food products by measuring Ara h 1. Journal.Allergy.Clin. Immunol ; 111(3):640-645p.

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

Ramachandran S. ,Christensen H.E. ,Ishimaru Y. ,Dong C.H. ,Chao-Ming W. ,Cleary A.L. ,Chua N.H. ;2000 : Profilin plays a role in cell elongation, cell shape maintenance, and flowering in *Arabidopsis*. Plant.Physiol ;124: 1637-1647p.

Rancé F. ,Bidat E. ; 2000 : Allergie alimentaire chez L'enfant. Médecine et Hygiène ;134-150p.

Renkema J.M.S. ,Knabben J.H.M. ,van Vliet T. ; 2001: Gel formation by β conglycinin and glycinin and their mixtures; 15:407-414p.

Restani P. , Ballabio C. ,Corsini E. ,Fiocchi A. ,Isoardi P. ,Magni C. ,Poiesi C. ,Terracciano L. ,Duranti M. ; 2005: Identification of the basic subunit of Ara h 3 as the major allergen in a group of children allergic to peanuts. Ann.Allergy.Asthma.Immunol ;94(2):262-266p.

Rougé P. , Culerrier R. ,Rancé F. , Barre A. ; 2009 : Quoi de neuf dans la description des allergènes de l'arachide et des fruits à coque .Rev.fr.Allergol ; 49 : 230–234p.

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

Saadoun-Cousin C. ,Paty E. ,Scheinmann P. ;2002 : Allergie au blé .Rev.fr. Allergol. Immunol.Clin ; 42 :583–594 .

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

Sanchez-Monge R. ,Pascual C.Y. ,Diaz-Perales A. ,Fernandez-Crespo J. ,Martin-Esteban M. ,Salcedo G. ; 2000: Isolation and characterization of relevant allergens from boiled lentils .Journal.Allergy.Clin.Immunol ;106 (5):955-961p.

Sanchez-Monge R. ,Lopez-Torrejon G. , Pascual C.Y. , Varela J. , Martin-Esteban M. , Salcedo G. ; 2004 : La viciline et la conviciline sont des allergènes potentiels majeurs du pois.Clin .Exp Allergy ;34(11):1747-1753p.

Sell M. ,Steinhart H. ,Pasche A. ;2005 : Influence of maturation on the alteration of allergenicity of green pea (*Pisum sativum L.*).Journal.Agric.Food.Chem ; 53(5):1717-1722p.

Shewry P.R. , Napier J.A. , Tatham A.S.;1995: Seed storage proteins: structures and biosynthesis. Plant .Cell ; 7:945–956p.

Shewry P.R. , Halford N .G. ;2002 : Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. Journal.Exp.Bot ;53:947–958p.

Shin .D. ,Compadre C.M. ,Maleki S.J. ,Kopper R.A. ,Sampson H. ,Huang S.K. ,Burks W.A. ,Bannon G.A. ; 1998: Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h 1, an abundant and highly allergenic peanut protein.Journal.Biol.Chem; 273: 13753-13759p.

Siezen R.J. ,Leunissen J.A.;1997:Subtilase : the superfamilly of subtilisin-like serine proteases.Protein.Sci ; 6:501-523p.

Sodini G. ,Silano V. ,De Agazio M,Pocchiari F. ,Tentori L. ,Vivaldi G. ;2001 : Purification and properties of a *Triticum aestivum* specific albumin. Phytochem ; 9(6):1167-1172p.

Swason B.G.; 1990: Pea and lentil protein extraction and functionality. Journal. American.Oil Chemists.Society. 67(5) : 276-280p.

Tai S.S.K. ,Li T.T.T. ,Tsai C.C.Y . ,Yiu T.J. ,Tzen J.T.C. ; 2001 :Expression pattern and deposition of the three storage proteins, 11 globulin .2S albumin , and 7S globulin in maturing sesame seeds.Plant.Physiol.Biochem ;39 :981-992p.

Taylor S.L. ,Lehrer S.B. ;1996 : Principales and characteristics of food allergens. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr ;36 : 91-118p.

Traidl-Hoffmann C. ,Jakob T. ,Behrendt H.; 2009 : Determinants of allergenicity .Journal. Allergy .Clin.Immunol;123:558-566p.

Van Loon L.C. ,Van Strien E.A. ;1999 : The families of pathogenesis-related proteins ,their activities , and their comparatives analysis of PR-1 type proteins.Physiol.Mol.Plant.Pathol ;55 : 85-97p.

Van Ree R.; 2002: Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. Biochem. Soc.Trans; 30: 910–913p.

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

Wal J.M. ; 2005 : Problèmes posés par la détection des allergènes alimentaires In Arbault P. , Daussant J : Méthodes d'analyses immunochimiques pour le contrôle de qualité dans les IAA. TEC & DOC Lavoisier Ed.409p .

Weckber G. ,Cory J.G. ;1988 : Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathion depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro ; 40 :257-264p.

Weichel M. ,Glaser A.G. ,Ballmer-Weber B.K. ,Schmid-Grendelmeier P. ,Cramer R ; 2006 :Wheat and maize thioredoxins: A novel cross-reactive cereal allergen family related to baker's asthma. Journal.Allergy.Clin.Immunol ; 117:676–81p.

Weichel M. ,Vergoossen N.J. ,Bonomi S . ,Scibilia J. ,Ortolani C. ,Ballmer-Weber B.K., Pastorello E.A. ,Cramer R.; 2006 : Screening the allergenic repertoires of wheat and maize with sera from double-blind, placebo-controlled food challenge positive patients. Allergy; 61:128–135p.

Weil J.H. ;2001 :Biochimie générale.Dunod Ed .9^{ème} Edition .655p.

Wolff N. ,Cogan U. ,Admon A. ,Dalal I. ,Katz Y. ,Hodos N. ,Karin N. ,Yannai S. ; 2003: allergy to sesame in humans in a associated primarily with IgE antibody to a 14 Kd 2S albumin precursor. Food.Chem.Toxicol ;41 : 1165-1174p.

Wu S. ,Murphy P.A. ,Johnson L.A. ,Fratzke A.R. ,Reuber M.A.; 1999: Pilot-Plant Fractionation of Soybean Glycinin and β -Conglycinin .JAOCS ; 76 (3):285–293 p .

Nom et prénom : MAHROUG Hamida

Thème : Contribution à l'étude de certaines protéines allergènes alimentaire d'origine végétale et détermination de relations entre différents paramètres physicochimiques.

Résumé :

L'allergie alimentaire est une réaction immunitaire caractérisée par la production des IgE spécifiques, chez les atopiques, dirigés contre un antigène d'origine alimentaire dit trophallergène. Elle provoque des manifestations sévères qui peuvent conduire à la mort.

Parmi les aliments d'origine végétale incriminés dans l'allergie alimentaire existe l'arachide, le blé, la lentille, le pois vert, les graines de sésame et de soja. Pour étudier leur protéines allergènes, il a été procédé a :

- L'extraction de la viciline d'arachide, l'albumine et la globuline de blé, la viciline de lentille, l'albumine de pois vert, l'albumine 2S, la légumine et la viciline des graines de sésame, la β conglycinine et la glycinine de soja.
- La détermination du taux de protéines, du taux de glucides, la teneur en eau, le pH isoélectrique et la température de dénaturation.
- la comparaison des paramètres physicochimiques.
- La recherche de relations entre les différents paramètres physicochimiques.

Il a été montré que ces protéines allergènes sont de nature glycoprotéique et possèdent des pH isoélectrique acides ou proches de la neutralité. Elles sont résistantes à la chaleur et ont une grande capacité à retenir de l'eau. La température de dénaturation dépend de la quantité de protéines mais ne dépend pas de la quantité de glucides. Lorsque le taux de protéines est important, la fraction glucidique est faible, le pH isoélectrique est acide et la température de dénaturation est élevée. Le taux de protéines et le taux de glucides exercent la même influence sur le pH isoélectrique mais de façon opposée.

Mots clés : Protéine allergène, Alimentaire, Végétale, Paramètres physicochimiques, Relations.

Membres de jury :

Président : Mr KHELIFI D.

Prof.Univ.Constantine

Rapporteur : Mr BOUTEBBA A.

Prof.Univ.Annaba

Examineur : Mr TAHAR A.

Prof.Univ.Annaba

Examineur : Mme YKHLEF N.

Prof.Univ.Constantine

