
Allergies: Caractérisation, détection et aspects législatifs dans le cadre alimentaire



A. BENTENNI, inspecteur principal de la répression des fraudes

2013

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN Acide DésoxyriboNucléique / DesoxyriboNucleic Acid
AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
ANIA Association Nationale des Industries Alimentaires.
BPF Bonne Pratique de Fabrication
BPH Bonne Pratique d'Hygiène
B ϵ : Lymphocytes B mémoire
CCP Critical Control Point
CPA Cellules présentatrices d'antigène
ELISA Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FAO Food and Agriculture Organization
HACCP Hazard Analysis Critical Control Point
IAA Industries Agroalimentaires
Ig Immunoglobulines / Immunoglobulins
IgE Immunoglobuline E.
IL Interleukine
ISO International Standard Organisation
OGM Organisme(s) Génétiquement Modifié(s) / Genetically Modified Organism(s)
OMS Organisation Mondiale de la Santé
PCR Polymerase Chain Reaction
ppm Partie par million
PrP Programmes Prérequis
RAST (*test*) Radio Allergo Sorbent Test
TB2 Lymphocyte B helper de type 2
TPODA Test de Provocation Orale en Double Aveugle / Oral Provocation Test, Double Blind

TABLE DES MATIERES

Introduction

I. DEFINITIONS - TERMINOLOGIES

1. Allergie alimentaire « vraie »

2. Mécanismes

2.1. Phase de sensibilisation

2.2. Phase de réaction allergique

3. Symptomatologie

4. Les allergènes alimentaires

4.1. Caractéristiques des trophallergènes

5. Les allergies croisées

6. Les intolérances alimentaires

II. LE RISQUE ALLERGENE : UN RISQUE EN PROGRESSION

III. LES PRINCIPAUX ALIMENTS RESPONSABLES DES ALLERGIES ALIMENTAIRES

IV. ASPECTS REGLEMENTAIRES

1. En Algérie

1.1. Réglementation en vigueur

2. Au niveau international

2.1 Le Codex Alimentarius : Une référence au niveau international

2.2 Codex Alimentarius et gestion du risque allergène

V. TECHNIQUES DE DETECTION

1. Le diagnostic médical

1.1. Les Tests sanguins

1.2. Les Tests cutanés

1.3. Des Tests de provocation orale

1.4. Les microarrays à allergènes

2. Détection des allergènes en milieu industriel

2.1. Les méthodes chimiques

2.2. Les méthodes basées sur la biologie moléculaire (PCR)

2.3. Les méthodes immunochimiques

VI. MAITRISE DU RISQUE ALLERGENE EN MILIEU INDUSTRIEL

Conclusion

Introduction: L'allergie est un phénomène en pleine croissance partout dans le monde et en particulier dans les pays industrialisés. La fréquence des maladies allergiques ne cesse d'augmenter, aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte. Les maladies allergiques occupent le quatrième rang parmi les maladies mondiales (OMS) et posent ainsi un important problème de santé publique. Les allergies alimentaires ont durant longtemps été ignorées ou assimilées à d'autres pathologies comme l'asthme, les rhinites allergiques ou l'urticaire. Ainsi leur étude épidémiologique est délicate car leur diagnostic et la méthodologie des études à mener sont difficiles (Dutau, 2003).

Durant cette étude, l'allergie alimentaire et ses mécanismes seront définis dans un premier temps, les caractéristiques des allergènes alimentaires ainsi que le cadre législatif lié à la maîtrise du risque allergène seront ensuite détaillés. Nous aborderons ensuite les méthodes de diagnostic des allergies alimentaires chez les patients et le diagnostic en milieu industriel. Nous poursuivrons ensuite, en exposant un ensemble de principe à mettre en place afin d'endiguer la présence fortuite des allergènes au sein des produits alimentaires.

I. DEFINITIONS – TERMINOLOGIES :

1. Allergie alimentaire « vraie » :

L'allergie alimentaire correspond à un état d'hypersensibilité développé contre les protéines alimentaires appelé **trophallergènes**. Il s'agit le plus souvent d'allergie IgE-dépendante à caractère plus ou moins immédiat (Beaudouin et al, 2009).

Dans ce groupe des allergies alimentaires, d'autres types de mécanismes immunologiques peuvent cependant être impliqués (Jaffuel et al, 2001):

- **L'hypersensibilité de type I** (immédiate, à médiation IgE), ces réactions sont largement les plus fréquentes.
- **L'hypersensibilité de type II** (cytotoxique et cytolytique) n'intervient que de manière exceptionnelle dans les réactions immunitaires déclenchées par les aliments.
- **L'hypersensibilité de type III** (semi-tardive, à complexes immuns) peut théoriquement intervenir vis à vis des aliments.
- **L'hypersensibilité de type IV** (retardée, à médiation cellulaire) est probablement le mécanisme responsable des formes entéropathiques d'intolérance aux protéines de lait de vache.

Le taux d'allergie alimentaire varie selon l'âge, l'alimentation, et de nombreux autres facteurs.

2. Mécanismes :

L'allergie alimentaire implique des mécanismes immunologiques, et comporte deux phases selon le schéma suivant:

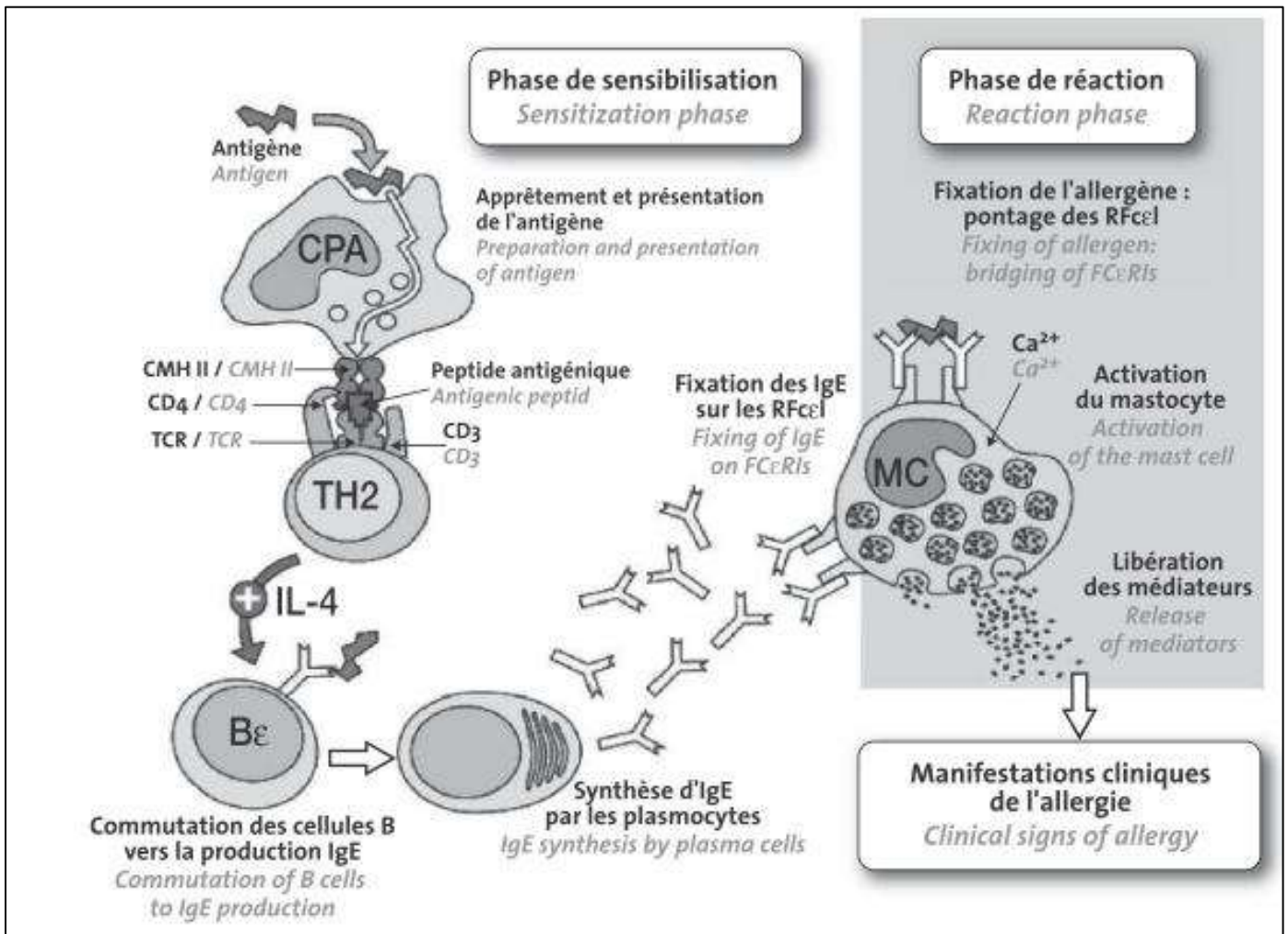


Schéma adapté à partir de « AFFSA , Juin 2006 »

2.1. Phase de sensibilisation:

Elle a lieu lors d'un contact préalable du sujet avec l'allergène, et se caractérise par la synthèse d'anticorps IgE. Celles-ci se fixent au mastocytes et granulocytes et sont capables de se lier à certaines parties de l'allergène appelées épitopes, Cette première phase est asymptomatique; Les manifestations allergiques proprement dites ne se déclenchent que lors du contact suivant, même si celui-ci intervient après un intervalle de temps très long (Bidat, 2009).

2.2.Phase de réaction allergique:

Elle se produit lors du second contact entre l'allergène et l'organisme. La reconnaissance de celui-ci par les IgE active les mastocytes et granulocytes entraînant la libération de médiateurs chimiques, dont le principal est l'histamine. Son action est complétée par d'autres substances qui vont amplifier et propager la réaction allergique dans tout l'organisme. C'est au cours de ce deuxième contact avec l'allergène que le sujet déclenche une manifestation clinique plus ou moins grave en fonction de chaque individu: asthme, urticaire, œdème, voire choc anaphylactique (parfois mortel).

3. Symptomatologie :

Type de réaction	Organe cible	Tableau clinique	Symptomatologie
<ul style="list-style-type: none"> - Manifestations cutanéomuqueuses - Manifestations oro-pharyngées 	Peau	Dermatite atopique	- Lésion d'eczéma sur le visage, face d'extension des muscles, plis de flexion.
		Urticaire	- Dermatose éruptive dues à un œdème dermique secondaire à une vasodilatation et une perméabilité des capillaires. - Papules roses, prurigineuses, œdémateuses
	Muqueuse	Œdème de Quincke	- Dermatose due à un œdème hypodermique pouvant être fatal s'il touche les muqueuses oro-pharyngées - Tuméfaction blanc rosée.
	Muqueuse buccale	Syndrome de Lessof	- Prurit et œdème labial, gingivale, buccal, de la glotte
	Muqueuse nasale	Rhinite	- Obstruction et prurit nasal (inflammation de la muqueuse) toux, éternuement, conjonctivite.
Réactions généralisées	Système Générale	Choc anaphylactique	- Insuffisance circulatoire aigue provoquée par une vasodilatation périphérique liée à la libération massive de médiateurs - Mise en jeu du pronostic vitale.
Manifestations respiratoires	Poumon	Asthme	- Constriction bronchique conduisant à une gêne respiratoire et dyspnée sifflante due à la libération d'histamine.

Tableau 01 : Symptomatologie des principales réactions allergiques cliniques. Adapté à partir de « Godeau P and al (1996) »

4. Les allergènes alimentaires :

Un allergène est défini comme toute substance capable de sensibiliser l'organisme de certains individus et de déterminer, lors de sa réintroduction, des manifestations pathologiques (Wal, 2004).

4.1. Caractéristiques des trophallergènes:

Les allergènes alimentaires, également connus sous le nom de trophallergènes, ont une origine animale ou végétale. Il s'agit essentiellement de glycoprotéines, très rarement de polysaccharides. On distingue à côté de ces antigènes complexes des molécules appelées haptènes, provenant de l'aliment lui-même, d'un additif autorisé ou d'un contaminant accidentel. Pour acquérir une propriété immunogénique, ces haptènes doivent nécessairement être liées à une protéine.

Chaque aliment comporte un grand nombre de substances potentiellement antigéniques, parmi lesquelles on peut distinguer les antigènes majeurs et les antigènes mineurs.

La résistance à la dénaturation thermique caractérise certains allergènes dits thermostables. En effet, les traitements tels que la cuisson, la pasteurisation, la stérilisation, le stockage en milieu réfrigéré ne diminuent pas sensiblement l'activité allergénique (Patient, 2008).

Les trophallergènes présentent également la particularité de résister aux réactions de protéolyse qui se déroulent dans l'appareil digestif durant la digestion. Bon nombre d'entre eux supportent par ailleurs des pH modérément acides.

5. Les allergies croisées :

Les allergies croisées sont caractérisées par des **manifestations cliniques allergiques** dues à des allergènes différents **sans** qu'il y ait eu, au préalable, un **premier contact sensibilisant avec chacun de ces allergènes**. En pratique, les patients possèdent donc des IgE spécifiques capables de reconnaître les allergènes alimentaires en cause. Cette sensibilité croisée est due à l'existence d'une homologie immunochimique entre les allergènes que ces agents allergisants soient d'espèces taxonomiquement proches ou éloignées (Fontaine et Pauli, 2006). Ainsi, dans les allergies croisées, l'organisme de certains sujets sécrète des IgE pas suffisamment spécifiques qui, pour cette raison, réagissent avec plusieurs allergènes différents mais ayant des configurations proches (homologie immunochimique). Les allergies croisées les plus connues sont les allergies aliments – pneumallergènes, les allergies aliments - latex et les allergies aliments – aliments.

6. Les intolérances alimentaires :

Ce sont des réactions survenant après l'ingestion d'un aliment, *mais qui ne font pas intervenir de mécanismes immuno-allergiques*. Elles peuvent être dues à un déficit enzymatique comme c'est le cas pour l'intolérance au lactose. Cette pathologie, de mieux en mieux reconnue et largement répandue dans la plupart des populations adultes du monde, est à différencier de l'allergie aux protéines du lait de vache qui appartient à la catégorie des allergies alimentaires vraies (Ispano et al, 1998).

7. Les fausses allergies alimentaires :

Elles surviennent après ingestion d'un aliment et peuvent se présenter avec des manifestations cliniques très proches des allergies vraies. Cependant, d'un point de vue physiopathologique, il ne s'agit pas d'un mécanisme immuno-allergique. Elles sont dues à l'ingestion d'aliments riches en amines biogènes, notamment l'histamine et la tyramine (tomate, chocolat, banane...).

II. LE RISQUE ALLERGENE : UN RISQUE EN PROGRESSION :

La prévalence de l'allergie est estimée à environ : 3 % de la population générale et 8% de la population pédiatrique. Différents facteurs tendent à prouver que la prévalence des allergies alimentaires est en augmentation (Moneret-Vautrin et al, 2005). La fréquence des allergies alimentaires a doublé en cinq ans et celle des urgences allergiques a été multipliée par cinq au cours des quinze dernières années (Molckhou, 2004). Ainsi, Les diagnostics des allergies alimentaires sont plus fréquents et plus performants, ce qui contribue à l'augmentation de la prévalence.

Les facteurs avancés afin d'expliquer l'augmentation de la prévalence des allergies alimentaires sont multiples (Molckhou, 2004) :

- **Multiplication des vaccins et traitements antibiotiques** qui aboutiraient à un changement de fonctionnement de notre système immunitaire.
- **La désaffectation de l'allaitement maternel** et la diversification trop précoce de l'alimentation du nourrisson favorisée par l'arrivée sur le marché d'aliments prêts pour bébé.

- **Internationalisation des repas et introduction de nouveaux aliments** : les épices, les condiments (Cayenne, coriandre), les fruits exotiques (kiwi, avocat, litchis), les graines de sésame, etc...
- **L'augmentation de la consommation de produits alimentaires transformés industriellement**, exposant davantage les consommateurs aux allergènes masqués (ingrédients utilisés en très petites quantités).
- **Une hygiène trop présente** : L'aseptisation de l'environnement conduirait à une évolution du système immunitaire qui le rendrait plus sensible aux réactions allergiques.

III. LES PRINCIPAUX ALIMENTS RESPONSABLES DES ALLERGIES ALIMENTAIRES :

Les aliments les plus allergènes ne sont pas les mêmes d'un pays à l'autre. Ils varient notamment en fonction du type d'alimentation. Les allergènes ont aussi une corrélation avec l'âge des patients. Ainsi les allergènes alimentaires d'origine animale prévalent jusqu'à l'âge de huit ans alors que ceux d'origine végétale sont plus fréquents chez l'adolescent et chez l'adulte (Molokhou, 2004). De même, chez l'enfant jusqu'à 15 ans, 5 allergènes sont à l'origine de 78,1% des allergies alimentaires : l'œuf, arachide, le lait de vache, la moutarde et le poisson (F. Rancé, 1998). Le tableau suivant adapté à partir de (Jaffuel D, 2001) récapitule les principaux allergènes alimentaires ainsi que leurs cibles et principes actifs.

Origine de l'Allergène	Principaux éléments allergènes	Caractéristiques et Cibles
Animaux	Lait de Vache	Dans le lait de vache, l'alpha-lactalbumine et la beta-lactoglobuline sont les principaux responsables d'allergies chez les jeunes enfants. Chez l'adulte par contre, c'est la caséine qui est responsable de la plupart des réactions allergiques.
	L'Œuf	Le blanc d'œuf contient les principaux éléments allergéniques: ovalbumine (58% du blanc d'œuf), ovomucoïde (11%), conalbumine (14%), lysozyme (3,4%) Les jeunes enfants sont les populations à fort risque
	Le Poisson	Les principaux allergènes sont des protéines musculaires comme Gad c I. Les populations cibles se trouvent dans les pays à forte consommation de poisson.
	Crustacé et mollusques	L'allergène principal est une protéine musculaire thermo-résistante, la tropomyosine.
Végétaux	L'Arachide	Les sous-unités Ara h I, Ara h II de l'arachide et de la conarachine sont extrêmement allergéniques. Elles sont localisées dans la graine uniquement. Ce sont les allergies les plus fréquentes pour ce type d'aliments et touche surtout les enfants.
	Les Noix	
	Le Sésame	
	Le Soja	Son allergénicité est conférée par plusieurs protéines distinctes mais les cas sont encore peu fréquents.
	Céréales	Les protéines les plus souvent mises en cause sont les inhibiteurs de l'amylase ou de la trypsine (blé, orge, riz, avoine), ainsi que les protéines de transfert de lipides (maïs).
	Fruits et Légumes	Les allergènes mis en cause dans ces aliments présentent des analogies structurales avec des profilines (allergènes de pollen). Les adultes sont essentiellement touchés.
Additifs Alimentaires	Colorants, conservateurs, Antioxydants, agents de texture, arômes, édulcorants, gélatines et Sulfites	Les additifs mis en cause peuvent être aussi bien des colorants (azoïques comme la tartrazine), que des anti-oxydants (BHA/BHT, sulfites) ou des conservateurs (benzoate). Les sulfites semblent pourtant être le groupe d'additif posant le plus de problèmes sanitaires notamment chez les asthmatiques.

IV. ASPECTS REGLEMENTAIRES :

La législation concernant les allergènes alimentaires reste difficile à mettre en œuvre de par l'impossibilité d'imposer des seuils limites à détecter, contrairement à d'autres contaminants retrouvés en agro-alimentaire. Selon les aliments sources d'allergènes, les consommateurs ne sont pas tous sensibles aux mêmes protéines, aux mêmes doses, tant et si bien qu'une concentration infime en allergènes est suffisante pour induire des réactions allergiques pouvant être graves.

Face à ces difficultés, la législation n'est basée que sur l'existence d'une liste des allergènes majeurs ou des ingrédients pouvant contenir un allergène majeur et sur les moyens de détections.

1. En Algérie

1.1.Réglementation en vigueur :

Le **décret exécutif n° 05-484** du 22 décembre 2005 modifiant et complétant le décret exécutif n°90-367 du 10 novembre 1990 relatif à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaire précise d'une part dans son **article 7** les mentions obligatoires devant apparaître sur l'étiquetage, parmi lesquelles « *la liste des ingrédients* », et d'autre part, l'**article 14** «**art.12bis.**» indique la liste des ingrédients dont la mention est obligatoire sur l'étiquetage des denrées alimentaires. En effet, toute substance utilisée dans la production d'une denrée alimentaire et toujours présente dans le produit fini, même sous une forme modifiée, et provenant d'ingrédients énumérés à la liste ci-dessous doit être mentionnée sur l'étiquetage.

1. Céréales contenant du gluten, à savoir blé, seigle, orge, avoine, épeautre ou leurs souches hybridées et les produits dérivés.
2. Crustacés et produits dérivés.
3. Œufs et produits dérivés.
4. Poissons et produits dérivés.
5. Arachides, soja et produits dérivés.
6. Lait et produits laitiers (y compris le lactose).
7. Fruits à coque et produits dérivés.
8. Sulfites en concentration de 10 mg/kg ou plus.

En outre, et en application des dispositions de l'article 8 de la **loi n° 09-03** du 25 février 2009 relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes, les additifs alimentaires peuvent être incorporés aux denrées alimentaires. Les conditions et les modalités de leurs utilisations ainsi que les limites maximales autorisées sont fixées par le **décret exécutif n° 12-214** du 15 mai 2012 fixant les conditions et les modalités d'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine.

Les additifs alimentaires doivent systématiquement être étiquetés avec une référence claire au nom de l'additif et/ou son numéro de système international de numérotation « **SIN** » selon l'**article 12** du **décret**

exécutif n° 12-214, ce nom doit être **spécifique** et **non générique** et doit indiquer la nature véritable de l'additif alimentaire.

Ainsi, les additifs alimentaires incorporés dans les denrées alimentaires et ceux destinés à la vente au consommateur doivent comporter de manière visible et lisible sur leur emballage l'expression « déconseillé aux individus allergiques et/ou présentant une intolérance aux additifs alimentaires (**Art.12 du décret exécutif n° 12-214**).

La réglementation oblige les fabricants à signaler sur les étiquettes des produits la présence de tous les additifs alimentaires, étant donné qu'ils peuvent parfois provoquer des allergies. A titre d'exemple, les conservateurs et les antioxydants permettent de prolonger la durée de vie des aliments mais certains d'entre eux peuvent poser problème, exemple avec les sulfites présentes entre autres dans certaines conserves, produits surgelés ou encore les moutardes, ils peuvent chez des individus sensibles déclencher des nausées, des douleurs abdominales ou des réactions allergiques au niveau du visage, des yeux, et de la langue. Second exemple, les colorants parmi lesquels le SIN 102 un colorant jaune et le SIN 124 un colorant rouge pourraient parfois provoquer de l'urticaire, une congestion nasale, voir de l'asthme.

2. Au niveau international

2.1.Le Codex Alimentarius : Une référence au niveau international :

Suivant une traduction littérale, le Codex Alimentarius est un "code alimentaire". Il comprend une série de normes générales et spécifiques relatives à la sécurité alimentaire. Le Codex Alimentarius est géré conjointement par la FAO et l'OMS. **Les normes adoptées par le Codex Alimentarius n'ont aucun caractère obligatoire, mais elles font néanmoins autorité au niveau international.**

2.2.Codex Alimentarius et gestion du risque allergène :

Les prérogatives en matière de gestion du risque allergène sont données par la norme **CODEX STAN 1-1985 : norme générale pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées.**

Cette norme fournit une liste positive et évolutive répertoriant les allergènes majeurs dont l'étiquetage est obligatoire. N'apparaissent dans cette liste, que les allergènes dont les effets sont strictement prouvés par la réalisation de Test de provocation oral en double aveugle, et dont l'occurrence est fréquente et les manifestations graves.

Si un ingrédient entre pour moins de 5% dans la composition du produit final, ces constituants n'ont pas alors à être indiqués sur l'étiquette, exceptés pour les additifs qui eux doivent être systématiquement inscrits sur les étiquettes.

V. TECHNIQUE DE DETECTION :

Les principaux allergènes sont connus et de nombreuses techniques de détection ont été mise en place. Elles peuvent servir tant au diagnostic médical chez le patient, qu'à la détection in vitro en industrie agroalimentaire. Les enjeux de la recherche actuelle consistent à la prospection de nouvelles techniques de détection et de maîtrise industrielle.

1. Le diagnostic médical :

Le diagnostic médical repose sur la réalisation d'un interrogatoire afin de connaître les antécédents personnels et familiaux du patient et sur la réalisation tests spécifiques (tests cutanés et biologiques) (E. Beaudouin, 2009).

1.1.Des Tests sanguins :

Le Test RAST (Radio Allergo Sorbent Test) ou EAST sont des tests permettant de mesurer in vitro le taux sanguin d'IgE spécifiques vis-à-vis d'un allergène chez un patient. (Morisset, 2008) Au cours de la réalisation des test RAST ou EAST, le sérum d'un patient allergique à un aliment donné et présentant un taux élevé d'IgE spécifiques, est mis en présence des antigènes de cet aliment, immobilisé sur un support solide. Les IgE spécifiques contenus dans le sérum se fixent sur l'allergène et ce complexe est mis en évidence par un anticorps anti-IgE marqué. Ce marquage se fait soit par une enzyme (peroxydase, phosphatase alcaline) qui émet une longueur d'onde en dégradant un substrat (méthode EAST) ou soit par un isotope radioactif (méthode RAST). Le taux d'IgE spécifiques vis-à-vis de l'allergène est corrélé à l'absorbance de l'essai ou au rayonnement gamma perçu.

1.2.Les Tests cutanés :

Les tests cutanés sont réalisés en cas de suspicion de dermatites d'origine allergique et permettent de mettre en avant une sensibilisation souvent liée à des IgE spécifiques ou à une hypersensibilité de type IV.

Le Test PRICK explore la réaction allergique impliquant les immunoglobulines IgE. Ces tests sont basés sur la taille de la réaction cutanée que développe un patient quand son épiderme rentre en contact avec une protéine alimentaire donnée. Les prick tests cutanés peuvent être utilisés et sont particulièrement fiables chez le jeune enfant. Quelques gouttes de l'extrait d'un aliment à tester sont placées sur la peau du patient, puis une petite piqûre est faite à travers cette goutte. L'apparition d'un érythème cutané avec œdème et prurit après 15 minutes indique si le patient est allergique à l'aliment. (Morisset ,2008) La taille de la papule est comparée à celle du témoin positif et du témoin négatif. Les résultats positifs d'un PICK test sont souvent complémenté par la réalisation de test RAST afin de déterminer le taux sanguin d'anticorps IgE et leur rôle dans la réaction allergique. Le prick test est une méthode de diagnostic fiable mais nécessite que l'on dispose d'équipements de réanimation afin de palier à des chocs anaphylactiques.

Le PATCH test est utilisé en dermatologie pour déterminer si une substance spécifique est capable de provoquer une réaction inflammatoire de la peau. Le test consiste à la mise en contact occlusif prolongé (48H) de substances répertoriées comme allergènes avec la peau du patient. Les substances sont déposées en très faible quantité sur des carrés de plastique ou des cupules en aluminium. Pragmatiquement, le test reproduit le mécanisme mis en jeu dans le cadre d'une hypersensibilité de type IV : dans le cas d'une réaction positive à la substance, les cellules de Langerhans, cellule présentatrice d'antigènes, stimulent et activent les lymphocytes T. Cela aboutit, ensuite, à la libération de médiateur chimique induisant des manifestations cutanéomuqueuses de type papules et/ou lésions eczémateuses (White, 2011).

1.3. Les Tests de provocation orale :

Le test de provocation orale est connu comme étant le gold standard (l'étalon d'or) permettant le diagnostic de l'allergie alimentaire de façon intrinsèque. Ce test consiste en l'ingestion d'une certaine quantité d'un aliment. En raison de la forte probabilité que ce test provoque un choc anaphylactique grave, sa réalisation ne peut se faire que par un allergologue ayant à sa disposition le matériel médicale nécessaire (Niggemann, 2010 ; Rancé, 2010). Il existe trois types de test de provocation orale : des tests en ouvert, en simple aveugle ou en double aveugle (TPODA). Au cours des tests de provocation orale en ouvert le patient et le médecin connaissent tous les deux la nature de l'aliment testé. En simple aveugle, l'identité de l'aliment testé n'est connue que par le médecin.

Le test de provocation orale en double aveugle (TPODA) est caractérisé par la méconnaissance de l'aliment testé par le patient mais aussi le médecin.

1.4. Les microarrays à allergènes :

Depuis quelques années, on assiste au développement de « puces à allergènes » qui permettant de tester simultanément l'IgE-réactivité vis-à-vis d'allergènes. Les fractions protéiques allergéniques sont immobilisées sur une biopuce. De faibles échantillons de sérum ou de plasma du patient sont utilisés pour détecter les IgE spécifiques (20 µL). La liaison des IgE spécifiques avec les composants allergéniques immobilisés est révélée par l'ajout d'un anticorps anti-IgE humain sur lequel est fixé un fluorochrome. Cette opération est suivie d'une acquisition d'image à l'aide d'un scanner de biopuce (Hiller et al, 2002; Jahn-Schmid, 2003; Ohyama et al, 2005; Morisset, 2008).

2. Détection des allergènes en milieu industriel :

La réglementation impose la mention des allergènes majeurs. Il est donc primordial de pratiquer des tests efficaces pour déterminer la présence de ces allergènes en milieu industriel.

2.1.Les méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques sont plus couramment utilisées dans le cadre du dosage des sulfites, composés chimiques utilisés comme additif alimentaire dans de nombreux aliments et considérés comme allergène à une concentration supérieure à **10 mg/kg ou 10 mg/litre exprimées en SO₂**.

2.2.Les méthodes basées sur la biologie moléculaire (PCR) :

Dans celles-ci on va amplifier la séquence d'ADN de l'espèce (ex: blé). Les séquences d'ADN sont ensuite identifiées par électrophorèse en gel d'agarose ou par méthode Southern. C'est l'ingrédient par sa structure génétique qui est caractérisé. Cette méthode ne permet pas de vérifier la présence réelle de l'allergène (l'ADN peut être présent, sans que la protéine allergène le soit), mais permet de vérifier une contamination de la matière première, du produit fini ou l'efficacité des opérations de désinfection.

2.3.Les méthodes immunochimiques :

La méthode ELISA est une méthode qui permet de détecter quantitativement et qualitativement, un allergène par une réaction antigène/anticorps relativement sensible (la limite de détection est de l'ordre du ppm soit 1mg/kg). On en distingue 2 types :

- Dans le cadre d'un test ELISA de type sandwich, l'allergène est pris en sandwich entre un anticorps immobilisé sur une surface solide qui lui est spécifique et un autre antigène, lui aussi spécifique, et marqué par une enzyme dégradant un substrat coloré. Le signal correspond à la concentration de l'antigène (Batard, 2011).
- Le test ELISA compétitif se caractérise par la compétition existant entre un allergène et un antigène marqué par une enzyme, qui peuvent se fixer à l'anticorps qui leur est spécifique, immobilisé en milieu solide. La présence d'un faible taux d'allergènes permet la fixation d'une large majorité d'antigènes marqués ce qui se traduit par une absorbance élevée.

Il existe des kits d'analyse rapide, basés sur la méthode ELISA, qui permettent d'obtenir un résultat fiable dans des délais relativement court et ne nécessitant pas le lourd matériel utilisé en laboratoire.

VII. MAITRISE DU RISQUE ALLERGENE EN MILIEU INDUSTRIEL :

Les législations concernant les allergènes ne peuvent être appliquées qu'à l'introduction volontaire d'ingrédients allergènes dans la formulation des produits alimentaires.

Afin de se prémunir de toutes atteintes aux consommateurs, les professionnelles du secteur agro-alimentaire doivent se mettre en œuvre un ensemble de techniques visant à évaluer et réduire l'introduction fortuite d'allergènes dans leurs produits. Ces techniques permettent notamment, d'éviter la contamination croisée à une étape du processus de fabrication. Dans le cas où il n'est pas possible de maîtriser le risque de contamination fortuite, un étiquetage du type « *peut contenir des traces de...* » ou « *susceptible de contenir des...* » doit être envisageable. (ANIA – Février 2005).

Des mesures à mettre en place permettent de réduire la présence fortuite des allergènes exogènes voire de l'éliminer. La plupart des recommandations (*AFSSA Octobre 2005, ANIA – Février 2005...*) mettent en avant la nécessité de mettre en place au sein des entreprises un programme HACCP (**Hazard analysis critical control point**) et un Programme de Pré-requis.

La méthode HACCP est une analyse des dangers (microbiologiques, physique, chimique) pouvant survenir au cours d'un procédé de fabrication. Elle nécessite la sélection de « CCP » (Point critique pour la maîtrise), *étape à laquelle une mesure de maîtrise peut être appliquée et est essentielle pour prévenir ou éliminer un danger lié à la sécurité des denrées alimentaires ou le ramener à un niveau acceptable* (ISO 22000, 2005). La méthode HACCP nécessite la mise en œuvre des procédures de surveillance efficaces des points critiques de contrôle. L'établissement d'actions correctives lors de la surveillance et de procédures pour vérifier que le programme fonctionne efficacement. Cette approche doit prendre en compte les 5M (matériel, milieu, méthode, main d'œuvre, matières premières).

Le Programme de Pré-requis (PRP) désigne l'ensemble des *Conditions et activités de base nécessaires pour maintenir tout au long de la chaîne alimentaire un environnement hygiénique approprié à la production, à la manutention et à la mise à disposition de produits finis sûrs et de denrées alimentaires sûres pour la consommation humaine.* : (ISO 22000, 2005)

Il s'agit en fin de compte, d'un ensemble de bonnes pratiques d'hygiène (BPH) voir de bonne pratique de fabrication (BPF), essentiel pour maîtriser la probabilité d'introduction de dangers liés à la sécurité des denrées alimentaires.

Conclusion: De par le groupe de population ciblé par cette pathologie, le risque allergène demeure un problème majeur pour l'industrie agro-alimentaire. Il peut représenter, en l'absence de maîtrise, un danger non négligeable pour le consommateur. Malgré les recherches menées pour déterminer les modes d'actions des allergènes ainsi que pour faciliter leur détection de façon de plus en plus précise, le grand nombre de facteurs ainsi que le coût élevé des procédures réduisent les marges de manœuvres des médecins et des industriels. Dans le cadre de la gestion du risque allergène dans les industries agroalimentaire, ils convient de mettre en avant des bonnes pratiques à mettre en place. Ce risque peut être lié aux matières premières en cas de présence fortuite d'allergènes majeurs, ainsi qu'au site de fabrication. L'hygiène est importante et une attention particulière doit être portée à la ligne de fabrication et au personnel.

Les gouvernements de plusieurs états ont défini des normes de sécurité aux échelles nationales et parfois internationales et les industriels ont eux même mis en place de nombreux protocoles de bonne conduite pour éviter un maximum de contagion par des allergènes notoires. Mais ces actions restent trop faibles face à une pathologie dont le risque n'est pas pleinement mesuré par la population. Cette étude a permis de confirmer le sérieux de la menace liée au risque allergène et la nécessité d'accroître le volet de prévention et de sensibilisation qui demeure le plus important pour le consommateur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFSSA (2006) Allergies alimentaires : les plantes génétiquement modifiées ont-elles un impact ?

AFSSA (Novembre 2008) Allergies alimentaires et étiquetage de précaution.

AFSSA (Octobre 2005) Allergies alimentaires : Enquête auprès des industries agroalimentaires françaises / Besoins en informations et pratiques vis-à-vis du risque « allergènes »

ANIA (Février 2005) Guide des Bonnes Pratiques pour la réduction des présences fortuites d'allergènes majeurs.

Batard T, Nony E, Chabre H, Bouley J, Lemoine P, Jain K, Couret M.-N, Berrouet C, Barberon J, Huet A, Horiot S, Mascarell L, Bodo V, Moingeon P, (2011) Méthodes de caractérisation des extraits allergéniques, *Revue française d'allergologie* **51** : 274–277.

Beaudouin E, Renaudin J-M, Sergeant P, Morisset M, Moneret-Vautrin D.-A, Kanny G (2009) Les principaux diagnostics différentiels en allergie alimentaire. *Revue française d'allergologie* **49**: 291–295

Bidat E (2009) Diagnosing and food allergy in children. *Archives de pédiatrie*, **16**: 65-72

Cianferoni A, Spergel JM (2009) Food Allergy: Review, Classification and Diagnosis. *Allergy International* **58**: 457-466

Codex Alimentarius (1985. Amendée 1991, 1999, 2001, 2003, 2005, 2008 et 2010) CODEX STAN 1-1985 : Norme générale pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées.

Décret exécutif n° 05-484 du 22 décembre 2005 modifiant et complétant le décret exécutif n°90-367 du 10 novembre 1990 relatif à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaires.

Décret exécutif n° 12-214 du 15 mai 2012 fixant les conditions et les modalités d'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine.

Fontaine J-F, G. Pauli (2006). Allergic cross-reactions: from theory to clinical practice. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* **46** : 484–487

Godeau P, Herson S, Piette J (1996) Traité de médecine, Flammarion, collection Médecine-Sciences, 3ème édition. pp 833-840.

Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt W M, Twardosz A, Barletta B, Becker W M, Blaser K, Breiteneder H, Chapman M, Cramer R, Duchene M, Ferreira F Fiebig, H, Hoffmann-Sommergruber K, Te Piao King, Kleber-Janke T, Kurup V P, Lehrer S B, Lidholm J, Muller U, Pini C, Reese G, Scheiner O, Scheynius A, Horng-Der Shen, Spitzauer S, Suck R, Swoboda I, Thomas W, Tinghino R, Van Hage-Hamsten M, Virtanen T, Kraft D, Muller M W, R Valenta (2002) Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *The FASEB Journal* **16**: 414-416

ISO (2005) ISO 22000:2005 Systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires - Exigences pour tout organisme appartenant à la chaîne alimentaire.

Ispano M, J. Scibilia, R. Ansaloni, F. Rotondo, L. Vannucci, C. Ortolani (1998). Definition and classification of food allergy and intolerance. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, **38** : 179-182

Jaffuel D, Demoly P, Bousquet J (2001). Les allergies alimentaires. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, **41** : 169-86

Jahn-Schmid B, Harwanegg C, Hiller R, Bohle B, Ebner C, Scheiner O and Mueller M. W (2003) Allergen microarray: comparison of microarray using recombinant allergens with conventional diagnostic methods to detect allergen-specific serum immunoglobulin E. *Clinical & Experimental Allergy* **33**: 1443–1449.

LSTA-Institut Meurice (2010) Allergies et intolérances alimentaires. Laboratoire des sciences et technologies alimentaires, <http://www.lsta-meurice.be/allergies-alimentaires.htm>

Loi n°09-03 du 25 février 2009 relative à la protection du consommateur et à la répression des fraudes.

Molkhou P (2004) Epidemiology of food allergy, *Journal de pédiatrie et de puériculture* **17** : 249–253

Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Flabbee J, Beaudouin E, Kanny G (2005). Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy*;60:443–51

Morisset M (2008) Evaluation de l'allergénicité des aliments, application au diagnostic de l'allergie alimentaire. PhD thesis. Université de Nancy Henri Poincaré I. Nancy

Niggemann B (2010) When is an oral food challenge positive? *Allergy* **65**: 2–6

Ohyama K, Omura K, Ito Y (2005) A photo-immobilized allergen microarray for screening of allergen-specific IgE. *Allergology International* **54**:627-631

Rancé F, Kanny G, Dutau G, Moneret -Vautrin D-A (1998), Aspects cliniques de l'allergie alimentaire. *Revue française d'allergologie* **38** : 900-905.

Rancé F (2010) Comment se passer du test de provocation par voie orale en cas d'allergie alimentaire ? *Revue française d'allergologie* **50** : 222–225

Vigh-Conrad K A, Conrad D F, Preuss D (2010) A protein allergen microarray detects specific IgE to pollen surface, cytoplasmic, and commercial allergen extracts. *PLoS One*, **4**: e10174

Wal J-M (2004). Food allergy: pathophysiology, identification of food allergens. *Nutrition clinique et métabolisme*, **18**: 15–19

White, J. M. L. (2011), Patch testing: what allergists should know? *Clinical & Experimental Allergy*. doi: 10.1111/j.1365-2222.