

Evaluation de l'allergénicité des nouvelles protéines

Dr Corinne Herouet Guicheney, CropLife International

► Vendredi 17 juin 2016



Allergie alimentaire

- Réaction excessive du système immunitaire à une substance inoffensive
- Mécanismes biologiques complexes
- Touche 5% des adultes, 4-8 % des enfants
- Symptômes très divers, pouvant être sévères (anaphylaxie)
- Des quantités infimes d'allergènes peuvent provoquer une réaction clinique. Pas de seuils connus pour la majorité des allergènes



Allergènes



- Les allergènes sont majoritairement des protéines

Pourtant, les protéines sont des éléments essentiels des organismes et participent à tous les processus au sein des cellules

- En théorie, toutes les protéines peuvent être des allergènes

Pourtant, peu sont des allergènes alimentaires majeurs: environ 1500 allergènes sur 2,8 millions de protéines connues

- Les propriétés physicochimiques des "allergènes" ne sont pas clairement définies

Comment évaluer l'allergénicité des protéines ?

- Le risque zéro n'existe pas
- Approche comparative entre la protéine étudiée avec celles connues pour démontrer une « relative certitude d'absence de danger » (OCDE), que la protéine est « aussi allergénique que » (EFSA), est « généralement reconnue saine » (US FDA)
- Au cas par cas, en fonction des conditions d'utilisations, de la réglementation et législation en vigueur, basées sur des considérations scientifiques

Environnement réglementaire

Au niveau international :



C O D E X A L I M E N T A R I U S

Normes alimentaires internationales



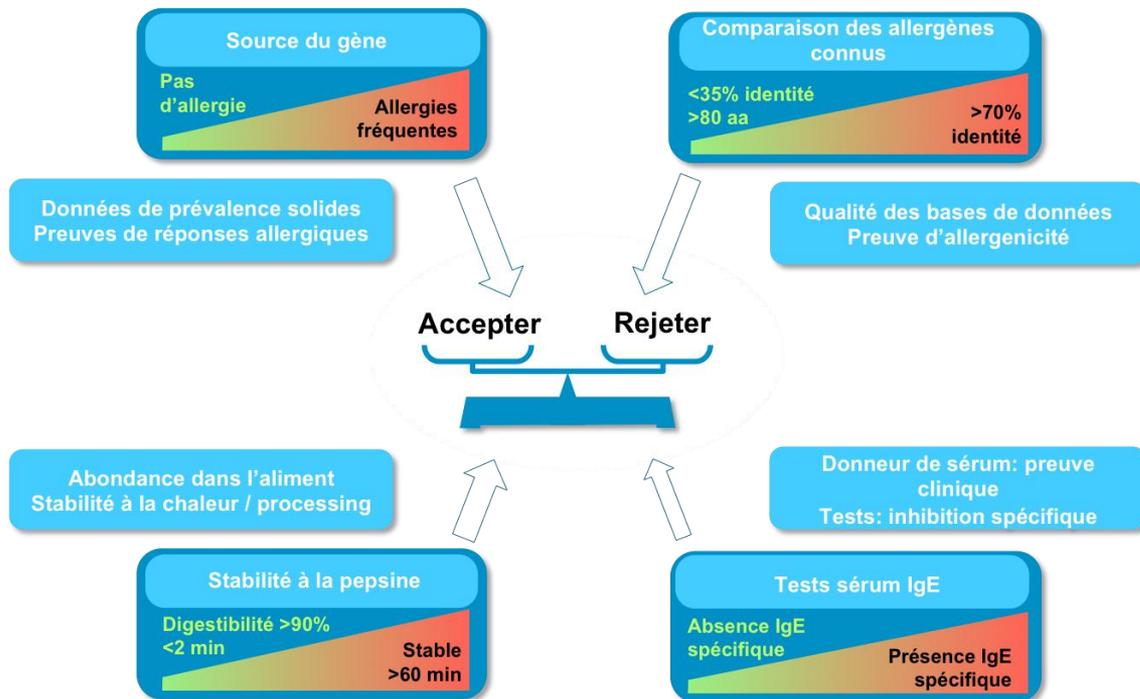
Au niveau local :



Si la stratégie est assez similaire, les modèles d'étude ne sont généralement pas clairement définis, et les exigences ne sont pas harmonisées



Faisceau d'évidences (Codex 2009)



- ◆ Corrélation imparfaite entre le résultat d'un test et le potentiel allergisant d'une protéine => Batterie de tests nécessaire
- ◆ Analyse holistique des résultats

Approche globale pour les OGMs

Plante hôte

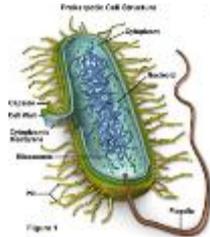
Allergénicité connue ?

non-OGM



Source

Allergénicité de la source?



Produit du gène

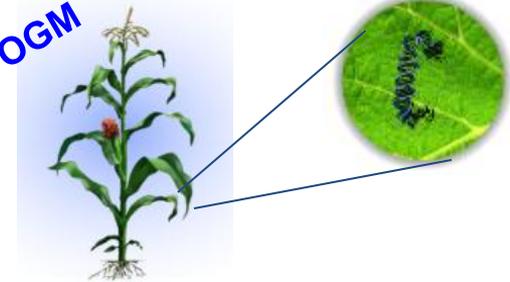
Allergénicité de la nouvelle protéine?



Plante OGM

Augmentation l'allergénicité connue?

OGM

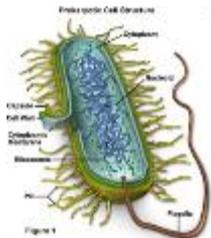


Identification du danger pour la protéine

Littérature sur la source

Source

Transfert d'un allergène connu de la source?



Produit du gène

Réactivité croisée avec un allergène connu ?
Sensibilisation à cette nouvelle protéine?



Littérature sur des protéines similaires

Bioinformatique: homologie avec des allergènes

Test in vitro: Digestibilité gastrique, intestinale, chaleur

Test in vivo: 28-jours rongeurs (hematobiologie)

Autres essais in vitro au cas par cas: criblage d'IgE de sérum humain, test d'activation de basophiles, etc

Littérature sur la source ou protéines similaires

- Histoire de la consommation, de la source ou de protéines similaires, et des effets observés décrits dans la littérature
- A la base de l'évaluation de l'allergénicité des protéines (Codex 2009): Si la source est allergénique, ou si la protéine est similaire à des allergènes, des tests utilisant des sérums humains sont recommandés

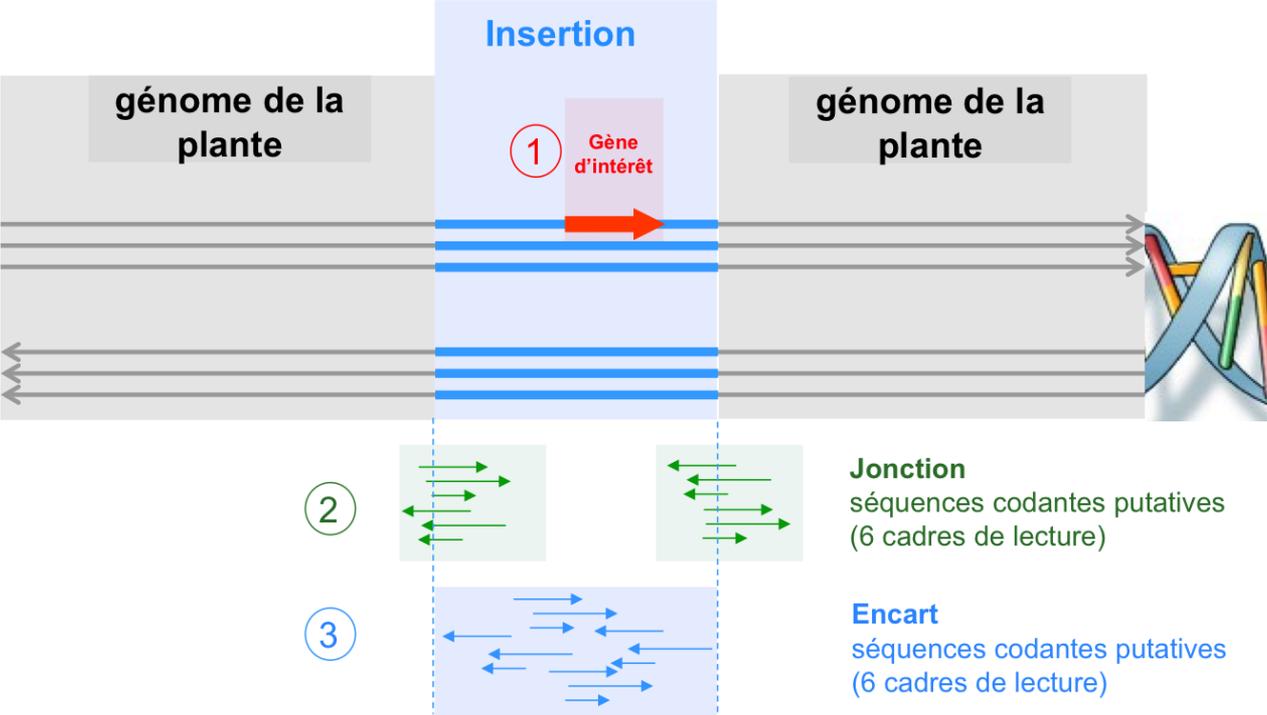


Literature sur la source ou protéines similaires

- Présence dans la nature, utilisation dans l'industrie agroalimentaire, exposition, etc
- Comparaison avec des protéines similaires: appartenance à une famille connue, mode d'action
- Autres résultats de tests vitro, vivo, clinique avec des protéines similaires



Tests de bioinformatique



Tests de bioinformatique

➤ 3 types de recherches :

- domaines conservés
- épitope putatifs
- sites de N-glycosylation

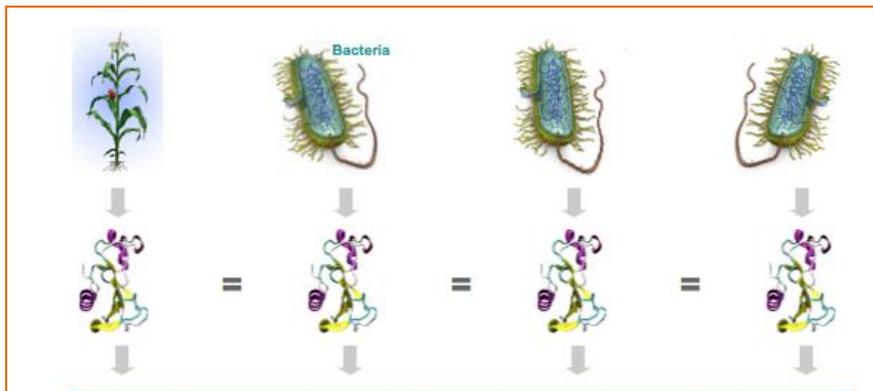
Importante preuve d'innocuité, même si les faux positifs sont nombreux



A screenshot of the University of Nebraska-Lincoln AllergenOnline website header. It features the UNL logo (a large red 'N' with a white 'U' inside) on the left. To the right of the logo is a navigation menu with links: Visitor, Prospective Student, Current Student, Faculty & Staff, and Business, Industry & Gov. Below the navigation menu is a red banner with the text 'UNIVERSITY OF NEBRASKA-LINCOLN' in white. Underneath the banner is a breadcrumb trail: 'UNL > AllergenOnline > Home'. Below the breadcrumb trail is the text 'AllergenOnline' in a large, bold, dark blue font, followed by 'Home of the farrp allergen protein database' in a smaller, bold, black font.

Tests in vitro

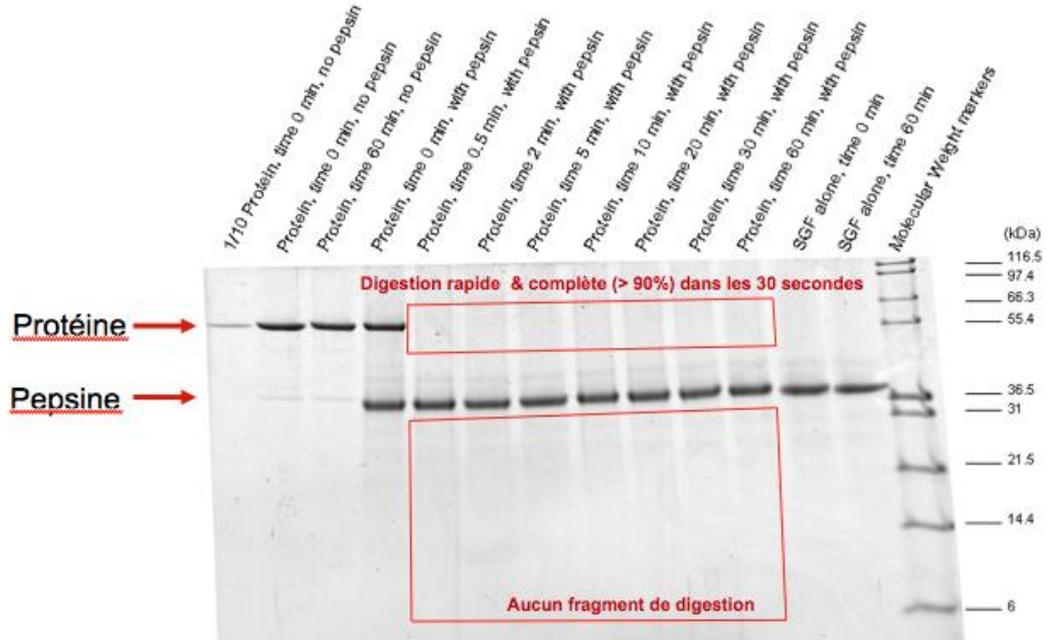
- SGF: Test de résistance aux enzymes gastriques (pepsine)
- SIF: Test de résistance aux enzymes intestinales (pancréatine)
- Test de résistance à la chaleur (0-100° C)



Capacité à résister ◀▶ Facteur de risque potentiel mais faible poids dans l'évaluation du danger, en particulier pour le SIF et le test à la chaleur

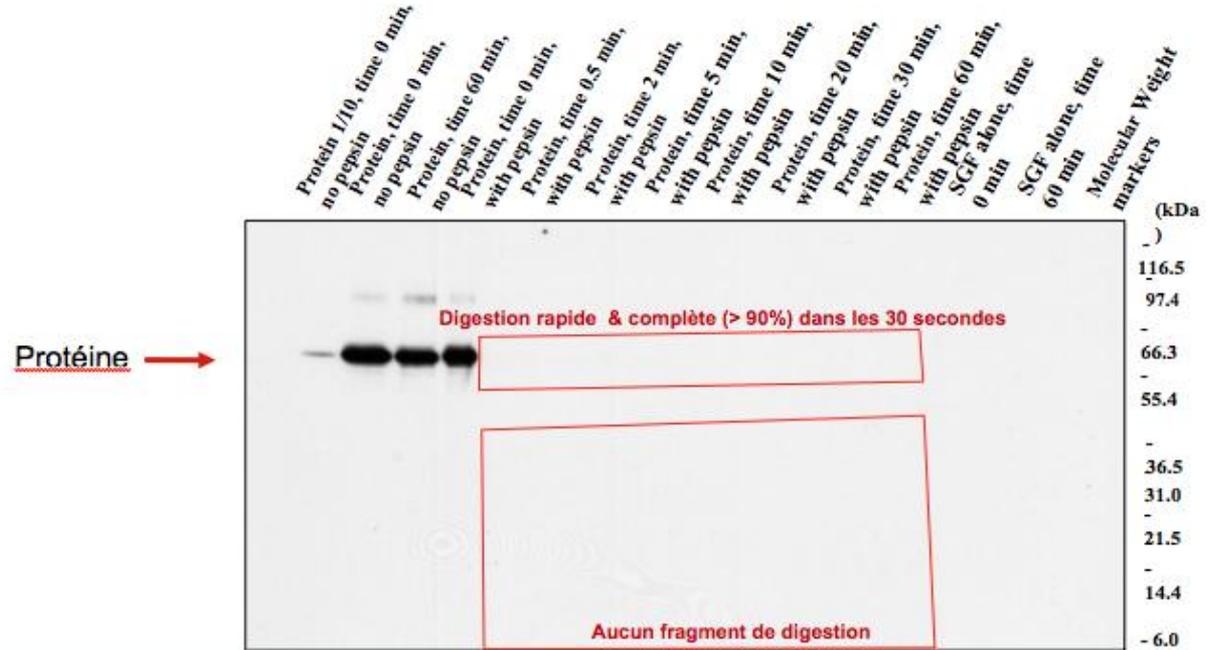
SGF – exemple 1

Marquage bleu de Coomassie

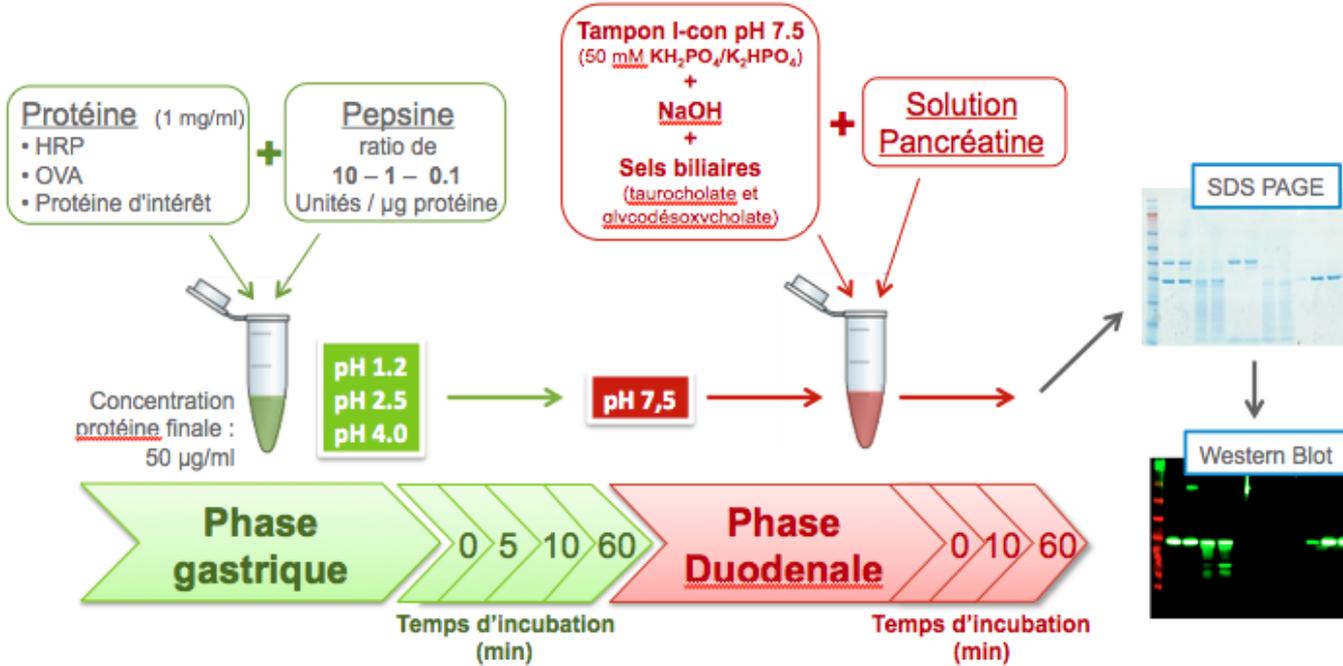


SGF – exemple 2

Western Blot



Test in vitro « physiologique » (EFSA)



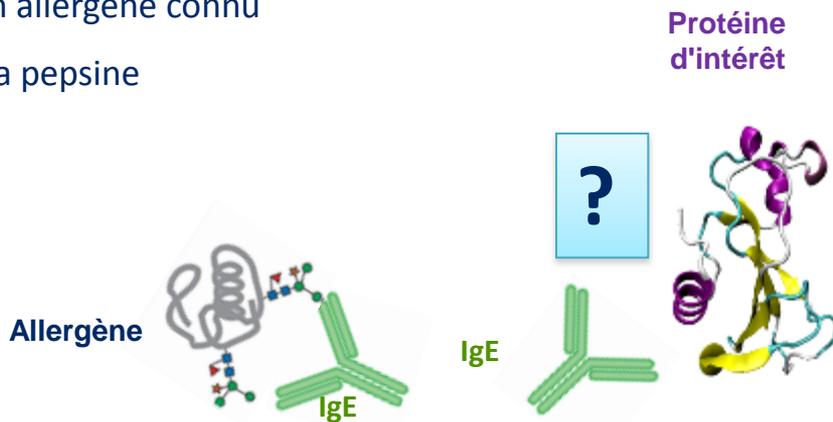
Tests in vitro avec des sérums humains



Au cas par cas si...

- Source allergénique
- Similarité à un allergène connu
- Résistance à la pepsine

Réactivité croisée (IgE) ?



Réaction clinique ?

Pas de symptômes



Symptômes

Tests in vitro avec des sérums humains



Allergène

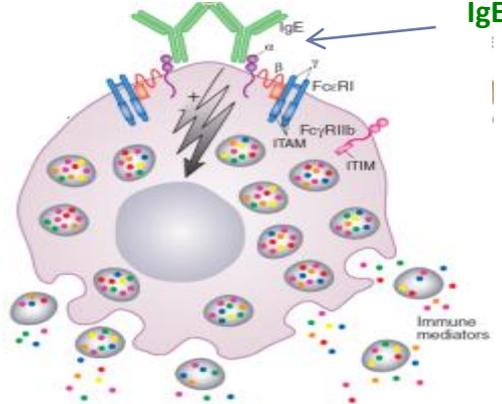
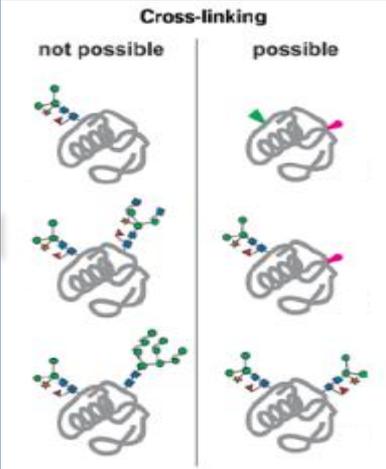
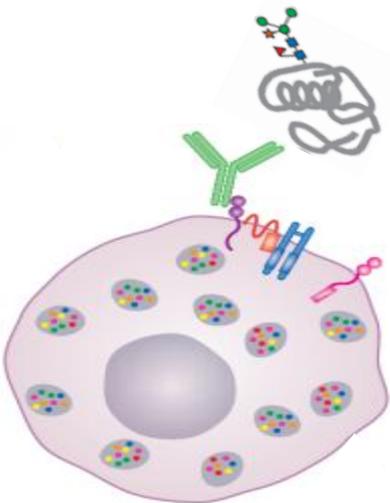


Protéine d'intérêt



Pas de problème de sécurité

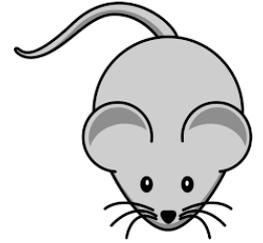
Test in vitro avec des basophiles humains



Mastocytes activés



Test in vivo chez les rongeurs (OCDE)



- Gavage pendant 28 jours
- 1 dose limite (1 g/kg poids corporel) ou plusieurs doses plus faibles
- 10/animaux/sexe/groupe
- 2 sexes
- Observations de paramètres hématologiques (cellules du système immunitaire), des plaques de Peyer intestinales, etc

Exploitation des résultats très limitée car pas de sensibilisation poussée avec la protéine. Pas de modèle vivo validé à ce jour.

Importance de l'exposition

$$\text{RISQUE} = \text{DANGER} \times \text{EXPOSITION}$$
$$\text{RISQUE} = \text{Probabilité de la survenue d'un dommage}$$

- L'exposition tient compte de la voie (interne vs externe), le temps, la durée et l'intensité de l'exposition
- Presque chaque décision réglementaire aboutira à un seul point final : l'évaluation des risques, en probabilité d'occurrence d'un effet nocif

Risque de décès / 1 milliards de personnes / km



0.05



2.6

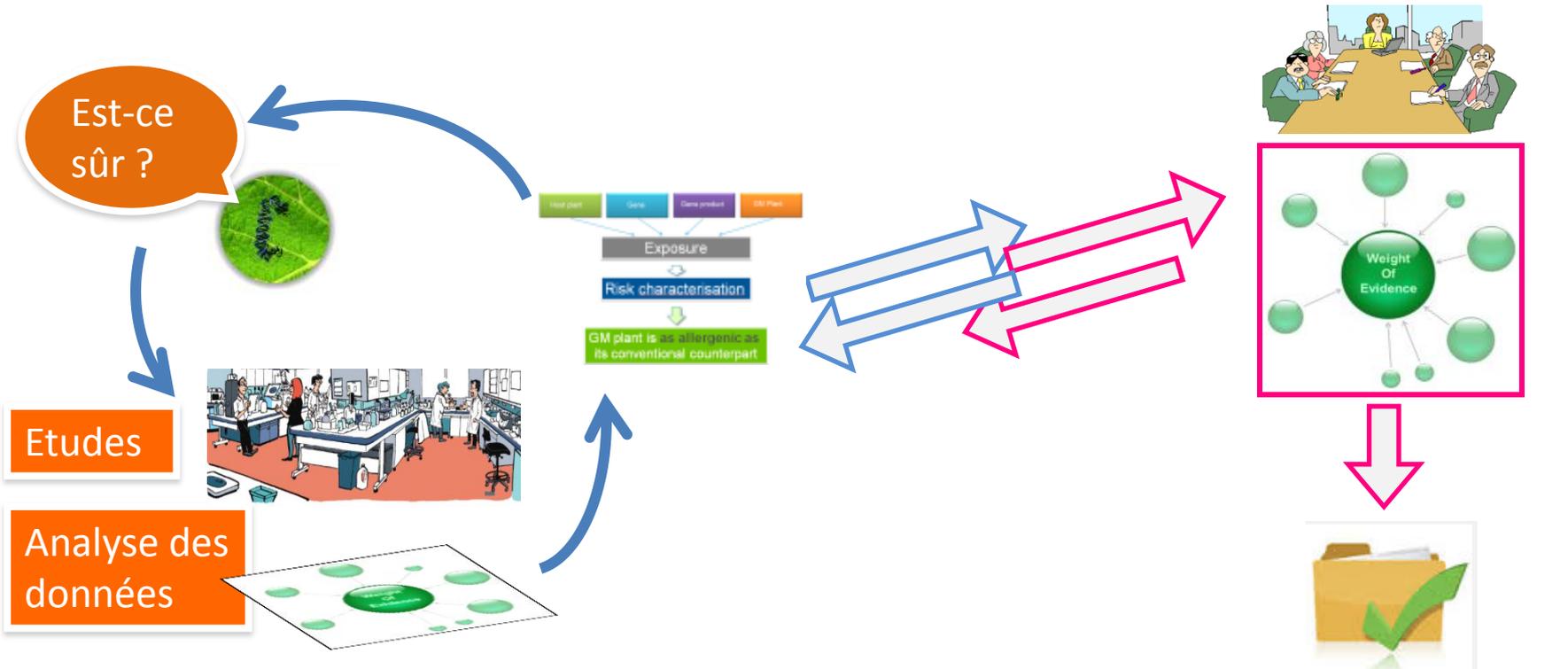


54.2



108.9

Processus d'homologation



A retenir

Le cadre réglementaire est en pleine évolution

Débats intenses pour améliorer et harmoniser l'approche d'évaluation de l'allergénicité des protéines

Evolution rapide pour les OGMs, les nouveaux aliments

L'évaluation de la sécurité suit une approche comparative basée sur un faisceau de preuves

L'évaluation de l'allergénicité des nouvelles protéines est une partie importante de l'évaluation de la sécurité des OGMs, des nouveaux aliments

Le risque zéro n'existe pas.... Cependant aucun cas d'allergie due à l'introduction des OGMs depuis les années 90.

Idéalement les protéines devraient être

- D'une source ne présentant pas de risque allergénique
- Suffisamment caractérisée (familiarité)
- Ne ressemblant pas structurellement à des allergènes connus
- Non reconnues par des IgE spécifiques de serums humains
- Labile dans des fluides gastriques et/ou intestinaux
- Susceptible d'être dégradé, extrudé après lors de la fabrication des aliments
- Exposition limitée

Merci pour votre attention !



corinne.guicheney@orange.fr