

Allergies, intolérances et hypersensibilités alimentaires

► Vendredi 17 juin 2016



Améliorer l'évaluation de l'allergénicité de nouvelles protéines alimentaires : Quels outils pour le futur ?

Sandra Denery

UR1268 BIA
INRA Nantes

iMPARRAS



Improving Allergy Risk Assessment Strategy for new food proteins

Kitty Verhoeckx, Scientist, TNO, The Netherlands



L' Action Cost FA1402

⇒ Nécessité d'évaluer la sécurité alimentaire de nouveaux aliments avec des outils fiables et reconnus

⇒ Réseau interdisciplinaire

⇒ Objectifs :

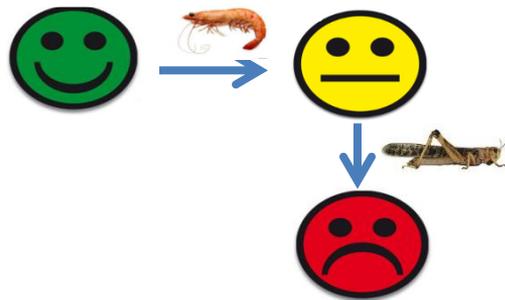
- Connaissances sur les allergènes et l'allergie alimentaire
- Améliorer les stratégies d'évaluation du risque allergique
- Prendre en compte l'effet des procédés de transformation et des matrices alimentaires
- Générer des idées pour développer des outils in vitro / in vivo
- Dissémination vers les IAA et les autorités européennes



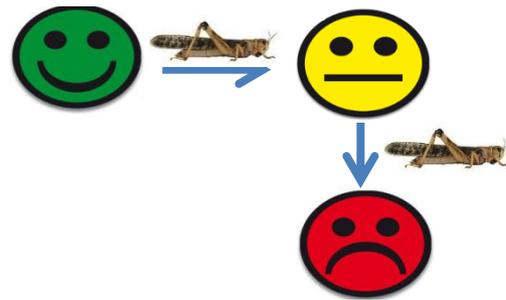


Stratégie d'évaluation du risque allergique

- La nouvelle protéine est-elle capable de déclencher une réaction allergique dans une population déjà allergique (réaction croisée)?
- La protéine est-elle capable d'induire une allergie nouvelle (sensibilisation)?



Réaction croisée

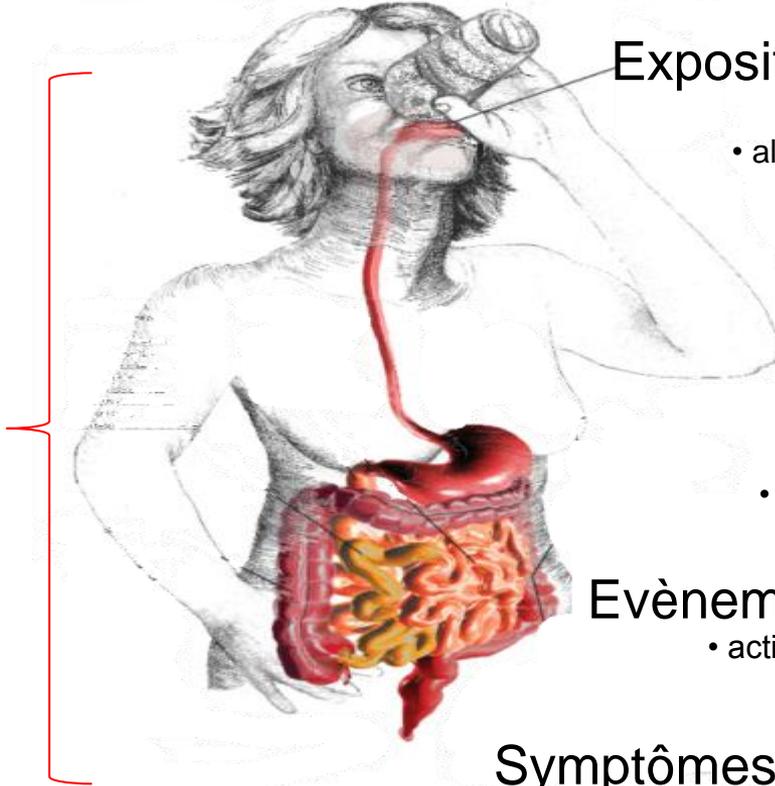


Allergie nouvelle



Evènements clés dans l'allergie alimentaire

Paramètres prédictifs ?



Exposition à l'allergène

- voie d'exposition
- allergène : dose, structure, modifications

Digestion

- stabilité de l'allergène, capacités digestives de l'hôte, impact de la matrice alimentaire

Absorption

- voie de passage, effets sur la barrière intestinale

Evènements cellulaires

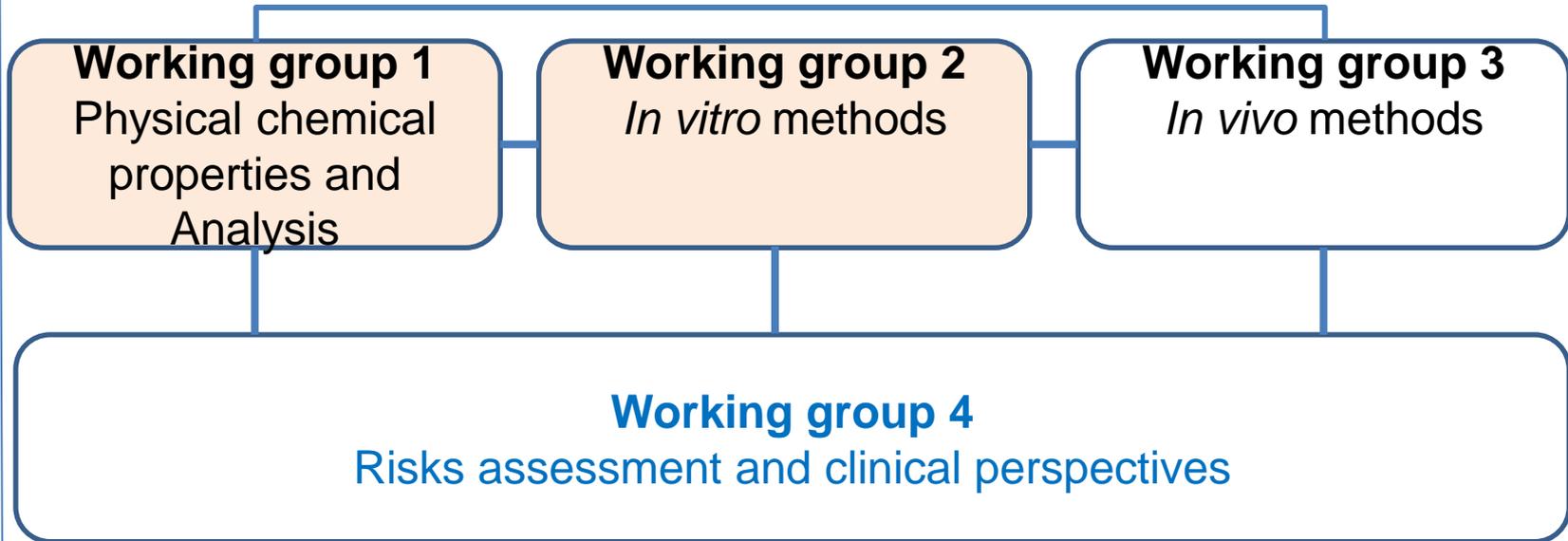
- activation de cellules de l'immunité innée et de l'immunité spécifique

Symptômes



Les Actions

www.imparas.eu

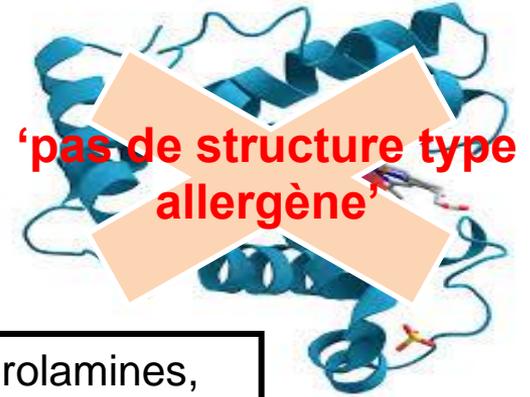


Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

1. Propriétés intrinsèques de la protéine

Propriétés physico-chimiques, biologiques, structure 3D ?

- Ensemble de structures 3D favorisant le caractère allergène : prolamines, cupines...
- Stabilité chauffage / digestion
- Capacité à lier certains ligands / récepteurs de l'immunité innée
- Activité protéasique



Questions à résoudre

- Quelles propriétés sont pertinentes pour prédire / sensibilisation ?
- Effet des procédés et de la formulation ?
- Biais liés à extraction / purification ? Effet (adjuvant) / contaminants ?

ImpARAS
WG1

Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

2. Résistance à la digestion

Stratégie évaluation GM inclue stabilité à la digestion pepsique

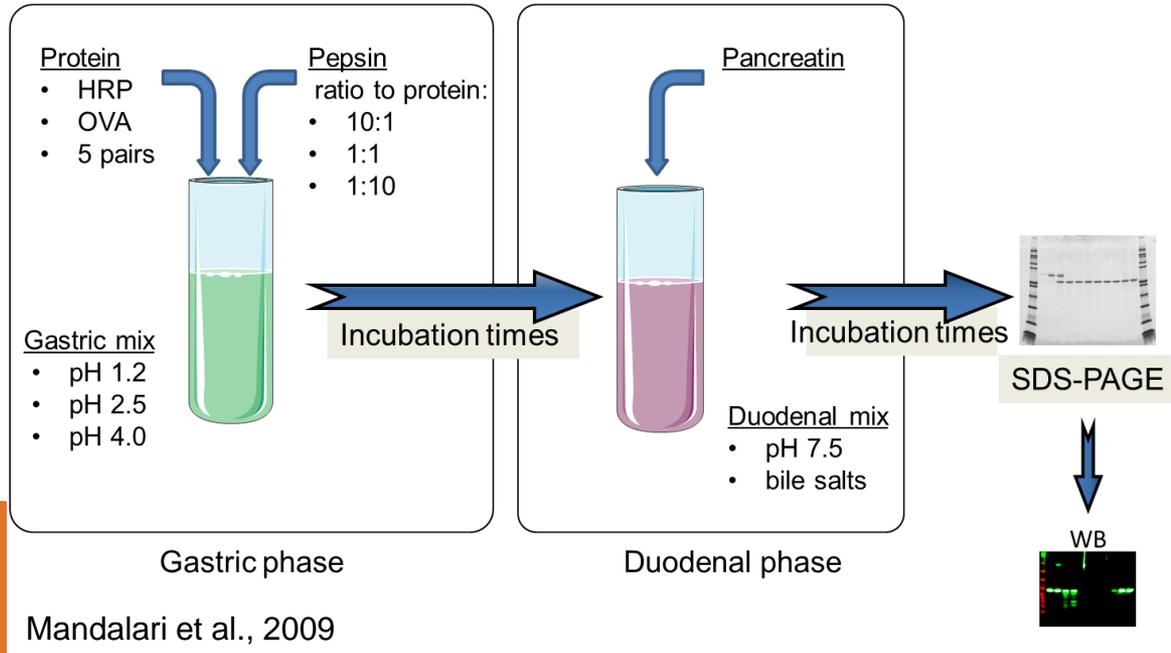
→ Recommandation EFSA d'un modèle + physiologique - Individu sain et variations

○ Digestibility WG (ILSI PATC)

→ Valider 1 modèle commun

pour IAA

→ Discriminer des protéines allergènes / non allergènes



Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

2. Résistance à la digestion

Questions

- Quelles conditions sont pertinentes ? Ratio E/S, pH, temps ?
- Conditions optimales identiques pour toutes les protéines de référence ?
- Effet des procédés ? Pas de règle générale
- Appliquer protocoles sur protéines purifiées / matrice alimentaire
- Nécessité des phases duodénale, intestinale....?

Autre protocole : **Action COST Infogest**

→ protocole complet harmonisé : phases orale, gastrique, duodénale, intestinale

Définir des allergènes de référence

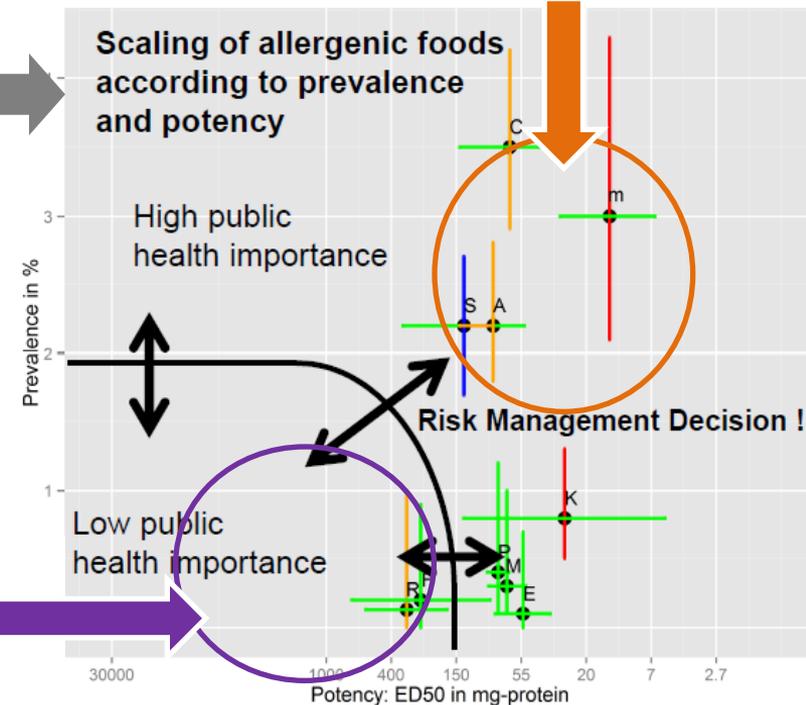
- Pour développer et valider les méthodes in vitro

- Données sur prévalence et sévérité
- Source d'allergènes / allergènes moléculaires
- Gamme d'allergènes de 'faibles' à 'forts'
- Protéines d'une même famille avec différents potentiel

ImpARAS
WG4

Allergies peu
fréquentes/sévères
Ex haricot, pois

Allergies fréquentes
et sévères
Ex : arachide, soja



Présentation G. Houben TNO

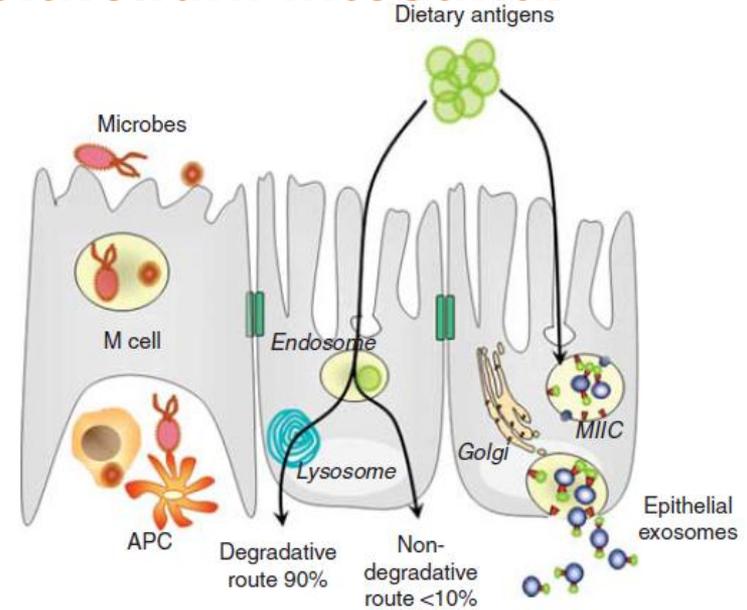
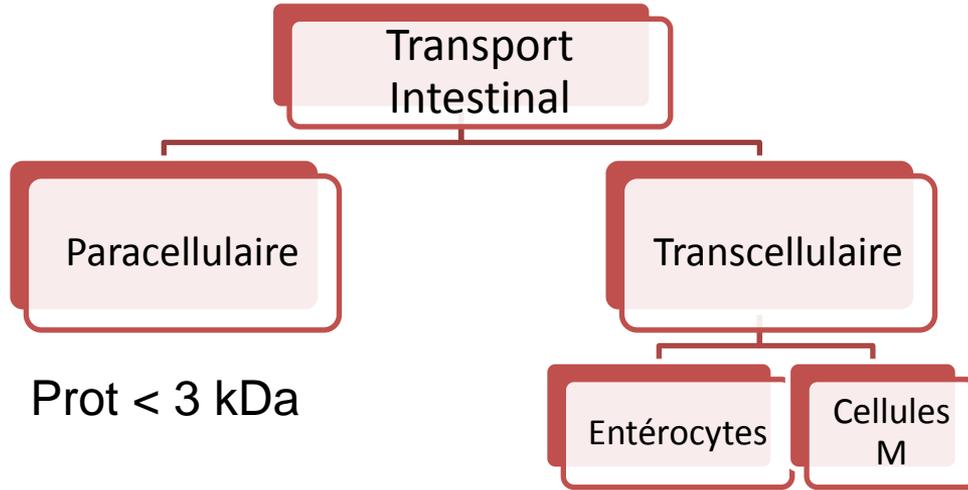
Définir des allergènes de référence

- Exemple - Digestibility Working Group : sélection de paires de protéines
 - Allergène / Non Allergène
 - Critères : similarité de structures et/ou fonction

Famille protéique	Protéine allergène	Protéine non/faiblement allergène	% identité
Albumines 2S	Arachide Ara h 2	Pois Pis s albumine	5,2
Tropomyosines	Crevette Pen a 1	Porc Tropomyosine	55,0
Parvalbumines	Carpe Cyp c 1	Espadon Xyp g 1	77,8
Collagènes	Poisson collagène	Bœuf collagène	55-75
lipid transfer proteins	Pêche Pru p 3	Fraise Fra a 3	66,6

Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

3. Absorption des allergènes par l'épithélium intestinal



En fonction conformation / taille ?

- ✓ Nano-particules, agrégats : transport via cellules M – induction d'une réponse immune
- ✓ Particules solubles : transport via entérocytes – induction tolérance

Ménard et al., 2010

Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

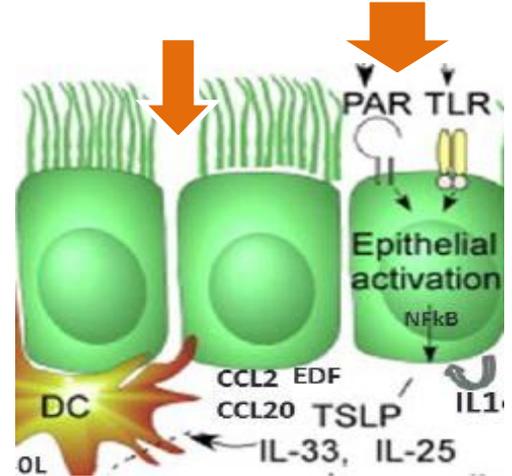
3. Absorption / Interaction avec l'épithélium intestinal

Données actuelles sur le passage

- ✓ Voie de passage pourrait influencer la capacité de sensibilisation / de déclenchement
- ✓ Allergènes + forte aptitude à passer sous forme antigénique / homologue peu allergène

Données actuelles sur l'interaction allergènes / épithélium

- ✓ Allergènes → Effet sur la barrière épithéliale ↑ du passage (protéases, effet sur zone de jonction cellulaire)
- ✓ Par extrapolation avec poumon / intestin de souris : Interaction de certains allergènes avec des Récepteurs sur l'épithélium → Signaux de danger → inflammation



Lambrecht et al., 2014

Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

3. Absorption / Interaction avec l'épithélium intestinal

Questions

- Quelle valeur prédictive de la voie de passage ?
- Paramètres à mesurer : quantité, antigénicité ?

Modèles *in vitro*

- In vitro : Lignées cellulaires (Caco2)
- In vitro : co-culture (sécrétion mucus / cellules M)
- Ex vivo : fragments intestin

ImpARAS

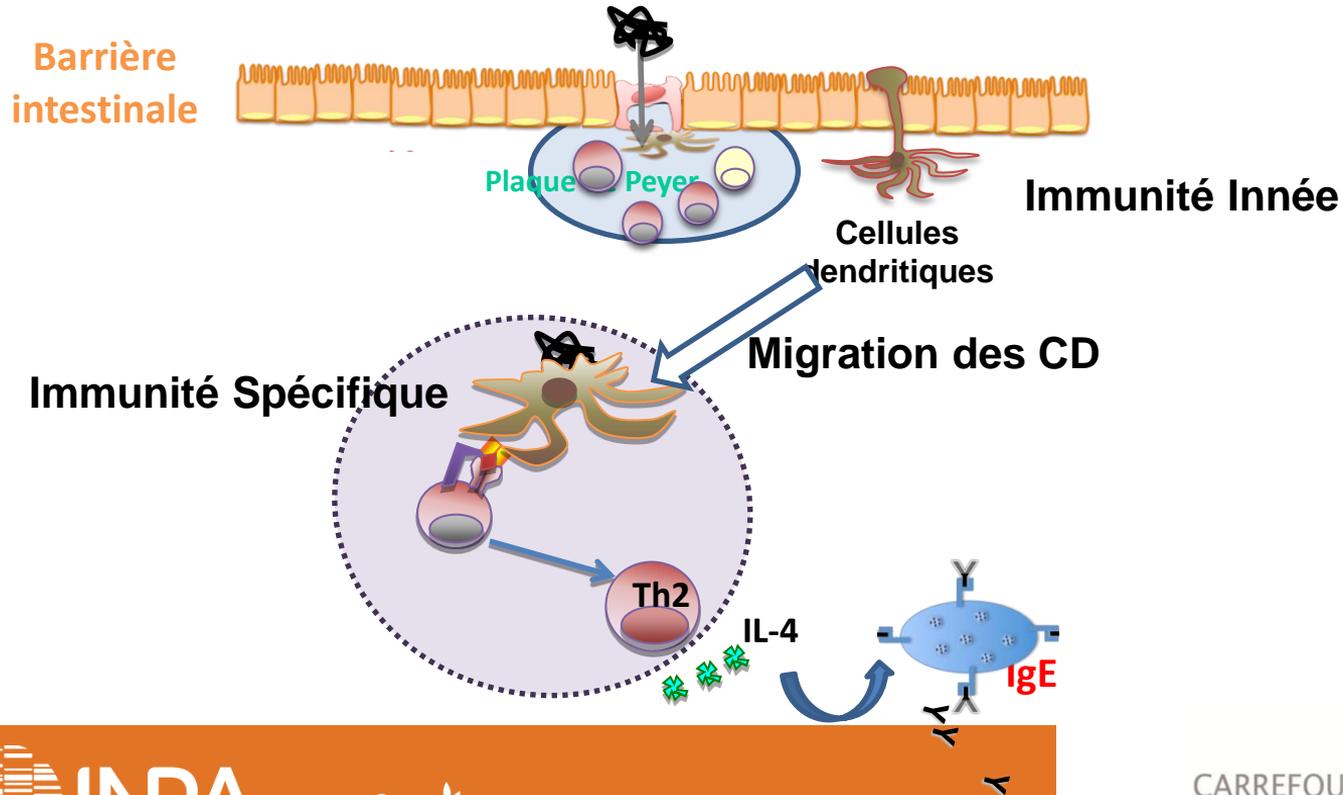
WG2



▲ Limite : évaluation du passage

Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

4. Capacité à stimuler l'immunité innée et spécifique



Pourquoi une protéine est-elle un allergène?

4. Capacité à stimuler l'immunité innée et spécifique

Ex : Stratégie du projet Sens-it-iv

Évaluer le risque relatif de la production de nouvelles enzymes (all respiratoire)

- Approche comparative / enzymes industrielles déjà connues : allergènes de réf
- En cours de validation

→ Boite à outils

Réponses Immunitaires innées

Tissus reconstitués
Peau - poumon

Lignées cellulaires
Cellules Dendritiques

Réponses Immunitaires spécifiques

Cellules Dendritiques

Lymphocytes T

Maturation

Migration

Activation

Profils cytokines, expression de marqueurs cellulaires/génomiques spécifiques, prolifération

Améliorer l'évaluation de l'allergénicité ?

Conclusion

- Des outils basés sur les étapes clés de la sensibilisation, pour
 - classer selon le potentiel allergène 'faible'.....'fort'
 - Comparer des protéines modifiées, fonctionnalisées / natives
- Meilleure connaissance des mécanismes fondamentaux de l'allergie alimentaire
- Pour choisir des modèles pertinents (lignées, tissus)
 - Corrélation
 - Modèle explicatif
- Définir un Jeu d'allergène de référence
- Définir les conditions permettant de discriminer allergènes forts / faibles
- Définir les paramètres à mesurer
- Comment harmoniser et valider chaque méthode ? Quelle est la meilleure stratégie ?
contrôles, extraits / protéines purifiées / après transformation ?

Améliorer l'évaluation de l'allergénicité ?

Conclusion ➤ 1 Combinaison d'outils pour un faisceau de preuves

Nouveaux outils in vitro

1. Caractérisations biochimiques
2. Résistance à la digestion
3. Passage épithélium intestinal
4. Inflammation
5. Réponse innée
6. Réponse spécifique

Définir 1 stratégie
de mise en œuvre
de ces outils

Stratégie actuelle

1. Évaluation de la source du gène
2. Bio-informatique : homologues de séquences / structures 3D
3. Liaison aux IgE d'individus déjà allergiques

In vivo

Modèles animaux
« modèles intégrés »
Pas de consensus

▲ Autres utilisations / voies
de sensibilisation

Merci pour votre attention

RENCONTRES FRANCOPHONES EN
ALLERGOLOGIE MOLÉCULAIRE

PARIS 26 & 27 NOVEMBRE 2016
PROGRAMME SUR RFAM.FR