



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com


Biologie et Allergènes

L'acérola, un fruit exotique riche en vitamine C contient une LTP allergénique



Acerola, a vitamin C-rich-exotic-fruit contains an allergenic LTP

S. Pauliat Desbordes^a, P. Challier^a, T. Trividic^b, M. Choël^c, Y. Chantran^d, M.A. Selva^d,
C. Broussard^e, H. Sénéchal^b, P. Poncet^{b,*,f}

^a Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, département de nutrition et de gastro-entérologie, Paris, France

^b Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau AP-HP, groupe de recherche allergie & environnement, Paris, France

^c Université de Lille, CNRS, UMR 8516, LASIRE, Lille, France

^d Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, département d'immunologie, Paris, France

^e Plate-forme Protéom'IC 3P5, Institut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR8104, université Paris Cité, Paris, France

^f Institut Pasteur, département d'immunologie, Paris, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 8 mars 2022

Accepté le 9 mars 2022

Disponible sur Internet le 13 mai 2022

Mots clés :

Acerola

Fruit exotique

LTP

PR10

Profiline

GRP

Analyse allergomique

RÉSUMÉ

But de l'étude. – L'acérola est un fruit tropical 20 à 30 fois plus riche en vitamine C que l'orange. On trouve de l'acérola dans des comprimés ou des poudres vendus pour leur richesse en vitamine C et aussi sous forme de jus ou en additif dans des compotes ou jus de fruit. Excepté la mise en évidence d'une réactivité croisée d'une protéine non identifiée d'acérola avec Hev b 6 du latex, les allergènes de l'acérola n'ont pas été étudiés.

Patients et méthodes. – Les protéines d'acérola ont été extraites à partir du fruit frais, d'un jus commercial et de poudre riche en vitamine C. Les allergènes ont fait l'objet d'une analyse allergomique incluant des immunoempreintes grâce à des patients documentés et l'identification des protéines par spectrométrie de masse.

Résultats. – Les immunoempreintes IgE réalisées avec des patients sensibilisés aux *lipid transfer protein* (LTP) présentent une réactivité IgE dans les faibles masses moléculaires correspondant aux LTP. En revanche, ni *gibberellin-regulated protein* (GRP), ni PR10 et ni profiline allergéniques ne sont révélées. La présence de LTP est confirmée par l'utilisation d'anticorps anti-LTP de pêche et par leur identification dans les extraits de fruit frais et de jus commercial par spectrométrie de masse qui révèle, en outre, de nombreux allergènes potentiels. On peut aussi détecter la présence de LTP dans la poudre riche en vitamine C.

Conclusion. – Le jus d'acérola et les produits dérivés contenant de l'acérola comportent donc un risque certain pour les patients sensibilisés aux LTP.

© 2022 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

ABSTRACT

Aim of the study. – Acerola is a tropical fruit 20 to 30 times richer in vitamin C than oranges. Acerola is found in tablets or powders commercially available for their richness in vitamin C and also in the form of juice or as additives in compotes and fruit juices. Besides a previous report on the existence of an IgE cross-reactivity of an unidentified acerola protein with Hev b 6 from latex no studies on acerola allergens have been performed.

Patients and methods. – Acerola proteins were extracted from fresh fruit, commercial juice and a vitamin C-enriched powder. Allergens were studied by an allergomics analysis, including IgE immunoblots, using sera from documented patients followed by protein identification using mass spectrometry.

Keywords:

Acerola

Exotic fruit

LTP

PR10

Profiline

GRP

Allergomics analysis

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : pascal.poncet@pasteur.fr (P. Poncet).

Results. – IgE Immunoblots performed with patients sensitized to LTPs, showed IgE reactivities in low molecular mass corresponding to LTPs. In contrast, no allergenic *gibberellin-regulated protein* (GRP), PR10 and profilin were revealed. The presence of LTP was confirmed by the use of specific anti-Pru p 3 antibodies and their identification in fresh fruit and commercial juice extracts by mass spectrometry that further unravelled several putative allergens. LTP was also detected in vitamin C-enriched powder.

Conclusion. – Acerola fruit and juice as well as derived products containing acerola carries a risk for LTP sensitized patients.

© 2022 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

L'acérola, (*Malpighia glabra*), [1] aussi connu sous le nom de cerise de la Barbade ou des Antilles, est le fruit de l'arbre du même nom, appelé parfois acérolier. Connue et exploitée par l'industrie pharmaceutique, pour sa forte teneur en vitamine C [2], l'acérola est de plus en plus présente dans l'alimentation humaine [3].

L'arbuste acérola pousse naturellement dans les régions tropicales d'Amérique centrale et est aujourd'hui cultivé en Amérique du Sud, notamment au Pérou et Brésil. L'acérola a été consommé de tout temps par les Indiens d'Amazonie, notamment pour lutter contre les diarrhées, la dysenterie et les troubles hépatiques. Au XVI^e siècle les espagnols ont donné le nom d'acérola à ce fruit qu'ils ont découvert en Amérique du sud. Son nom scientifique *Malpighia glabra* ou *Malpighia punicifolia*, lui a été attribué au XVIII^e siècle en hommage à un naturaliste et botaniste italien du siècle précédent, Marcello Malpighi.

Le fruit peut être consommé sous sa forme originelle, localement, dans les régions où il est cultivé. Il ne s'exporte pas ou peu sous forme fraîche car il se conserve mal. Reconnu pour sa forte concentration en vitamine C, 30 à 40 fois supérieure à celle d'une orange, l'acérola est utilisé dans l'industrie agroalimentaire pour enrichir des jus multifufruits, des compotes ou des laits fermentés [4]. La vitamine C extraite du fruit fait l'objet de complément alimentaire sous forme de comprimé de gélules ou encore de poudre. De façon plus générale, on le trouve dans le monde sous forme de jus. Ce fruit contient également plusieurs autres vitamines telles que les vitamines A, B6, B1 et B2 et les extraits d'acérola sont aussi utilisés comme additif pour leur contenu en antioxydants (flavonoïdes, polyphénol, anthocyanines, caroténoïdes...), dans les conserves de viande par exemple [5,6].

Les allergènes de l'acérola n'ont pas été étudiés. Seule une étude de 2002 de Raulf-Heimsoth et al. a mis en évidence une réaction croisée entre une protéine non identifiée de l'acérola et Hev b 6 un allergène du latex [7]. Du fait de sa consommation croissante la question du contenu en allergènes dans le fruit et les jus de fruit s'est posée.

2. Matériels et méthodes

2.1. Patients et sérums de patients

Vingt et un patients ont été sélectionnés (Tableau 1) selon leurs sensibilisations soit à des profilines (5 patients), ou à des « *pathogenesis related proteins* 10 » (PR10, 10 patients) ou à des « *lipid transfer proteins* » (LTP, 4 patients) ou à des « *gibberellin-regulated proteins* » (GRP, 6 patients), représentant des allergènes impliqués dans des syndromes allergiques pollen fruit [8]. Les IgE spécifiques sont mesurées en utilisant un système ImmunoCap et/ou les puces ISAC (Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suède). Les sérums de patients correspondent à des résidus d'analyses biologiques. Un sérum de patient non allergique sert de contrôle négatif.

2.2. Extractions des protéines

2.2.1. Fruits frais

Environ 500 g de fruits frais d'acérola en provenance de l'île de la Réunion (société Agriterre) ont été dénoyautés et l'ensemble peau + pulpe a été découpé puis broyé au broyeur A11 (IKA-Werke GmbH, Staufen, Allemagne). Après broyage le mélange obtenu est filtré (Stériflip 100 µm, Merck-Millipore, Guyancourt, France) et le filtrat centrifugé (15 min, 4 °C à 9000 g). Le surnageant obtenu constitue le jus d'acérola. Le broyat restant sur le filtre, est traité pendant 40 s, 6 m/s au broyeur multidirectionnel (FastPrep 24, MP-Biomedicals, Illkirch, France) en présence de billes de verre (1 mm de diamètre) et d'un tampon phosphate salin (PBS, pH 7,4). Après filtration et centrifugation (cf. conditions ci-dessus) le surnageant constitue l'extrait d'acérola.

2.2.2. Jus d'acérola commercial

Un extrait a été réalisé à partir de 100 mL d'un jus d'acérola commercial, (suc d'acérola, Salus, Schoenenberger W Pflanzen-safwerk, GmbH & Co, Magstadt, Allemagne) obtenu à partir de fruits frais issus de l'agriculture biologique. Ce jus, garanti par le fabricant sans aucun additif (5 mg.mL⁻¹ de protéines), est vendu comme complément alimentaire. Après précipitation des protéines à 80 % de sulfate d'ammonium, centrifugation et dialyse, l'extrait est traité au polyvinyl-polypyrrolidone (100 mg.mL⁻¹) pour enlever les pigments. Après centrifugation les surnageants sont conservés à –20 °C.

2.2.3. Poudre d'acérola commerciale

Cent mg de poudre (Dietaroma, Thera Sana, Thizy-les-Bourgs, France) obtenue, d'après le fabricant, à partir de jus d'acérola et contenant 17 % de vitamine C ont été dissous dans 1 mL de PBS. La solution a ensuite été centrifugée et le surnageant constitue l'extrait de poudre d'acérola.

2.2.4. Pollen de bouleau

Les protéines du pollen de bouleau (Allergon AB, Angelholm, Suède) sont extraites par broyage multidirectionnel du pollen en présence de billes de verre (cf. ci-dessus) et de PBS (10 %, m/v). Après centrifugation (20 min, 18 000 g à 4 °C), le surnageant constituant l'extrait est conservé à –20 °C.

2.3. Analyse des protéines, électrophorèse monodimensionnelle (1-DE)

Les extraits protéiques sont séparés par électrophorèse en présence de sodium dodécyl sulfate (SDS-PAGE) en gel de polyacrylamide en gradient 8–18 % (ExcelGel, GE Healthcare, Uppsala, Suède) en conditions non réduites sur une chambre d'électrophorèse horizontale (Multiphor II, GE Healthcare) à 12 °C. Des protéines de masse moléculaire (Mr) connues (de 14,4 à 94 kDa) sont utilisées comme référence (GE Healthcare). Les protéines séparées sont ensuite soit colorées au nitrate d'argent [9] soit transférées de façon électrique sur des membranes de nitrocellulose

Tableau 1
Caractéristiques biologiques des patients étudiés.

Patient			Animaux		Pollen		Aliments/plantes	
Nr	Genre	Âge (années)	^a IgE spécifique		^a IgE spécifique		^a IgE spécifique	
P1	NR	NR			^b Pollen de frêne ^b Pollen d'olivier			
P2	F	14	Der p 2 : 0,06 Der f 1 : 0,17 Der f 2 : 0,22 Lep d 2 : 0,11 Fel d 1 : 4,9		Cyn d 1 : 26 Phl p 1 : 69 Phl p 2 : 24 Phl p 4 : 13 Phl p 5 : 76 Phl p 6 : 15 Phl p 12 : 6,6 Pla a 2 : 0,16	Bet v 2 : 8,3 Mer a 1 : 14 Cup a 1 : 0,6 Ole a 1 : 4,4 ^b Phl p 1 : 62,4 ^b Phl p 12 : 3,11 ^b Bet v 1 : <0,1	Hev b 8 : 14 ^b Hev b 5 : <0,1 ^b Hev b 6 : <0,1 ^b Hev b 8 : 6,64 ^b Hev b 11 : <0,3	^b Mal d 1 : <0,1 ^b Kiwi : 5,02 ^b Act d 8 : <0,1 ^b Banane : 6,75 ^b Cerise : 1,98
P3	F	37	Der p 1 : 53 Der p 2 : > 100 Der p 10 : 0,19 Der f 1 : 59 Der f 2 : > 100 Der p 10 : 0,19	Blo t 5 : 0,7 Can f 1 : 20 Can f 5 : 2,4 Fel d 1 : 29	Pla a 2 : 0,16 Cyn d 1 : 22 Phl p 1 : 69 Phl p 4 : 9,2 Phl p 12 : 4,5 Bet v 1 : 76 Bet v 2 : 2,5	Mer a 1 : 14 Ole e 9 : 0,9 Art v 1 : 25 Par j 2 : 0,4 Aln g 1 : 4,5 Cor a 1 : 9,6	Ana o 2 : 2 Cor a 9 : 0,9 Jug r 1 : 5,8 Jug r 2 : 3,4 Ara h 1 : 18 Ara h 2 : 62 Ara h 3 : 22 Ara h 6 : 45 Ara h 8 : 11 Hev b 8 : 11	Api g 1 : 6,3 Gly m 5 : 0,25 Gly m 6 : 1,5 Act d 1 : 1,9 Act d 8 : 1,9 Mal d 1 : 14 Cor a 1 : 23 Pru p 3 : 0,18 Pen m 1 : 0,25
P4	NR	NR			^b Frêne : 3,5 ^b Bet v 1 : 30,0 ^b Bet v 2 : 3,5	^b Graminées ^b Armoise ^b Ambroisie		
P5	F	56			Bouleau : 17,5 Armoise : 1,2			
P6	M	31			Bouleau : 44,7			
P7	F	20	Fel d 1 : 0,19		Hêtre : 7,82 Phl p 1 : 229 Phl p 2 : 2,8 Phl p 4 : 6,8 Phl p 5 : 29 Phl p 6 : 9,2 Phl p 11 : 6 ^b Dac g 3 : pos ^b Dac g 12 : pos	Bet v 1 : 46 Aln g 1 : 8,7 Cor a 1 : 5,2 Ole e 1 : 0,21 Cyn d 1 : 13	Mal d 1 : 13 Cor a 1 : 14 Pru p 1 : 5,9 Ara h 8 : 1,1 Act d 8 : 0,3	
P8	NR	NR	Acariens			^b Dactyle : 59,00		
P9	M	7	Der p 1 : 43 Der p 2 : 47 Der f 1 : 33 Der f 2 : 57 Lep d 2 : 0,3	Can f 1 : 1,5 Can f 5 : 24 Fel d 1 : 7,5 Bla g 5 : 1,2	Bet v 1 : 42 Ole e 1 : 9,2 Pla a 3 : 2,1	Aln g 1 : 14 Cor a 1.01 : 21 Art v 3 : 2	Mal d 1 : 11 Pru p 1 : 4,4 Gly m 4 : 1,3 Pru p 1 : 0,47 Pru p 3 : 3 Cor a 1.04 : 13 Cor a 8 : 3,1	Ara h 2 : 1,9 Ara h 6 : 0,7 Ara h 8 : 11 Act d 8 : 1,4 Api g 1 : 0,9 Pen m 2 : 32
P10	M	13	Der p 2 : 4,4 Der f 2 : 4,3 Der p 10 : 0,5	Fel d 1 : 2,0 bla g 7 : 0,8 Ani s 3 : 0,6	Phl p 1 : 2,4 Phl p 4 : 0,5 Pla a 2 : 0,4 Pla a 3 : 6,6	Art v 3 : 3,1 Cup a 1 : 0,6 Bet v 1 : 0,21 Cry j 1 : 0,26	Ara h 2 : 13 Ara h 6 : 4,8 Ara h 9 : 7,6 Cor a 8 : 7,5 Jug r 3 : 6,1 Pru p 3 : 9,3 ^b Pen a 1 : 5,23 ^b Ara h 1 : 0,16 ^b Ara h 2 : 0,19 ^b Ara h 3 : 0,13 ^b Ara h 8 : 1,4 ^b Ara h 8 : 19,9 ^b Ara h 9 : 64,7	Ara h 3 : <0,1 Ara h 8 : <0,1 Mal d 1 : 0,18 Noix : 2,64 Noix de cajou : 0,20 Pistache : 0,26 ^b Pru p 3 : 72,4 ^b Kiwi : 3,4 ^b Melon : 2,02 ^b Ananas : 3,08 ^b Lentille : 3,08 ^b Cerise : 0,17
P11	M	13			^b Bet v 1 : 62,4			
P12	M	15			^b Cèdre du japon : 21,9 ^b Cypres japonais : 3,62 ^b Bouleau : 1,96	^b Ambroisie : 0,89 ^b Armoise : 1,47 ^b Dactyle : 3,58	^b Pomme : 13 ^b Pêche : 2,59 ^b Orange : 2,35	
P13	F	31			Genévrier d'ashe : 26,4			
P14	F	66			Cup a 1 : 7,26 Cry j 1 : 0,61 Cup s : 0,36		Pru p 7 : 1,41 Act d 10 : 0,77 Api g 2 : 0,39	
P15	F	46			Bet v 1 : 1,24 Cup s : 0,35 Cup a 1 : 14,35 Cry j 1 : 5,96		Pru p : pos Pru p 7 : 5,44	

Tableau 1 (Continued)

Patient			Animaux		Pollen		Aliments/plantes	
Nr	Genre	Âge (années)	^a IgE spécifique		^a IgE spécifique		^a IgE spécifique	
P16	M	27	Fel d 1 : 1,2 Chat : 0,34 Der p : 0,7		Cyn d 1 : 0,8 Phl p 1 : 1,2 Phl p 11 : 0,5 Bet v 1 : 4,6 Aln g 1 : 4,6		Ara h 1 : 25 Ara h 2 : 9 Ara h 3 : 6,7 Ara h 6 : 16 Ara h 8 : 0,4 Gly m 5 : 0,7 Gly m 6 : 1,9 Cor a 1 : 0,8 Ara h 2 : 0,19 Ara h 6 : 0,19	
P17	M	9	Der p 1 : 30 Der p 2 : 62 Lep d 2 : 0,3	Der f 1 : 6,5 Der f 2 : 73	Phl p 1 : 0,11			
P18	M	9			^b Cèdre du japon : 40,3 ^b Bouleau : 0,37	^b Ambroisie : <0,35 ^b Dactyle : 1,31	^b Pomme : <0,35 ^b Pêche : 0,58	^b Orange : 0,49
P19	M	9			^b Cèdre du japon : 222 ^b Ambroisie : 0,76 ^b Armoise : 0,45		^b Pamplemousse : 2,29 ^b Pêche : 6,45 ^b Orange : 1,51	
P20	F	16			^b Cèdre du japon : 79,1 ^b Bouleau : 0,19 ^b Dactyle : 0,35	^b Ambroisie : 0,32 ^b Armoise : 0,42	^b Cerise : 0,17	
P21	F	6			^b Cèdre du japon : 173 ^b Bouleau : 1,44	^b Ambroisie : 1,13 ^b Dactyle : 1,18	^b Cerise : pos	

NR : non renseigné.

^a Dosage en ISAC (ISU-E).^b Dosage en ImmunoCap (kUA/L).

(Optitran® BA-S 83, Schleicher and Schuell, Dassel, Allemagne) activées au bromure de cyanogène (NCA) pour des immunoempreintes.

2.4. Immunoempreintes directes et inhibitions

Après transfert des protéines des différents extraits la membrane de NCA (10 × 10 cm) est découpée en bandelettes de 2,5 mm de large. Après une incubation en PBS contenant 0,3 % de Tween 20 (Tw) (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, États-Unis), chaque bandelette est incubée avec un sérum de patient allergique dilué au 1/10 en PBS-Tw 0,1 %. Après lavages les bandelettes sont incubées avec un anticorps de chèvre anti-IgE humaines couplé à la phosphatase alcaline (PA, Fcε spécifique, Sigma-Aldrich). L'activité PA est détectée avec le substrat 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate et nitro blue tetrazolium (Sigma-Aldrich).

Des inhibitions en présence de protéines recombinantes purifiées du pollen de bouleau, Bet v 1 (PR10) [10] et Bet v 2 (profiline) [11] ont été réalisées après pré-incubation durant 1 h (à 20 °C) du sérum avec la protéine inhibitrice d'intérêt. Ensuite le protocole d'incubation est identique à ce qui est décrit ci-dessus.

Afin de mettre en évidence la présence d'une protéine de transfert de lipide (LTP), un anticorps de lapin anti-LTP de pêche, Pru p 3, a été utilisé, suivi d'une incubation en présence d'anticorps de chèvre anti-IgG de lapin couplé à PA [12]. La révélation se fait comme décrit ci-dessus.

2.5. Analyse protéomique

2.5.1. Spectrométrie de masse (SM)

L'analyse en SM a été réalisée essentiellement comme décrit précédemment [13,14] soit sur l'extrait d'acérola (peau et pulpe) en solution, soit sur le jus commercial concentré en solution, soit sur 4 bandes protéiques de faibles Mr du jus commercial concentré séparées en SDS-PAGE et de Mr d'environ 10, 11–13, 14 et 16–19 kDa. Après coloration au bleu de Coomassie colloïdal (EZBlue, Sigma-Aldrich), ces 4 bandes protéiques, correspondant à des réactivités IgE observées en immunoblot, sont prélevées manuellement du gel, puis décolorées 2 fois avec un mélange d'ammonium bicarbonate 100 mM (ABC) et d'acétonitrile 50 % (v/v) (ACN) pendant 20 min à 22 °C puis déshydratées 2 fois avec de l'ACN

100 % pendant 20 min, avant d'être réduites avec 10 mM TCEP (Tris, 2-carboxyethyl, phosphine), 1 h à 56 °C puis alkylées avec 50 mM de chloro-acétamide (30 min à 22 °C dans l'obscurité). Les morceaux de gel ainsi traités sont à nouveau déshydratés 2 fois avec de l'ACN 100 % pendant 20 min puis incubés soit avec de la trypsin (Promega, États-Unis à 12,5 ng/μL dans 40 mM ABC avec 10 % ACN, pH 8,0), soit avec de la LysC (Lysyl Endopeptidase, Fujifilm Wako, Japon) durant la nuit à 37 °C. Après extraction des peptides, 2 fois, avec un mélange acide formique 5 % et ACN 50 %, les morceaux de gel sont déshydratés avec de l'ACN 100 %. Après séchage et concentration sous vide (Concentrator plus, Eppendorf) les peptides sont repris dans 7 μL de solution ACN 10 % – 0,1 % acide trifluoroacétique. Un μL est ensuite injecté sur une colonne en phase reverse C18 de 25 cm de longueur (colonne aurora CSI C18 25 cm × 75 μm × 1,6 μm, IonOpticks, Australie) qui est placée dans un système nanochromatographique (RSLC Ultimate 3000 Thermo-Fisher Scientific, États-Unis) couplé en ligne avec un spectromètre de masse (Tims TOF Pro, Bruker, Allemagne).

2.5.2. Recherches dans les banques de données

Les spectres MS et MS/MS sont interprétés avec le logiciel Proteome Discover 1.4.0.288 et le moteur de recherche Mascot server 2.5.1 (MatrixScience, Londres, Royaume-Uni) est utilisé pour cribler la banque de données UniProtKB/SwissProt contenant 565 254 séquences (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) en utilisant le filtre taxonomique Viridiplantae (plantes vertes, 40 926 séquences). Les tolérances d'erreur sur les précurseurs et les fragments sont de 20 ppm et de 20 mmu respectivement et un seul site de coupure ratée par la trypsin est autorisé. L'identification de la protéine est validée si le résultat de l'analyse donne un score Mascot d'identification associé à un niveau de signification supérieur à 95 % et si au moins deux peptides sont retrouvés avec un score Mascot supérieur à 25.

3. Résultats

Après broyage du fruit sans noyaux le jus a été séparé de la pulpe et les deux fractions ont été analysées par immunoempreinte IgE après migration des échantillons en SDS-PAGE. Des sérums de patients diagnostiqués allergiques aux *lipid transfer proteins* (LTP)

ou aux profilines ou aux PR-10 ou aux *gibberellin-regulated proteins* (GRP) ont été utilisés (Tableau 1).

3.1. Il existe une LTP allergénique croissante dans le fruit acérola

Les résultats présentés en Fig. 1A montrent que les patients allergiques aux LTP (P8, P9, P10, P11, pistes 11 à 13) reconnaissent dans l'extrait de fruit acérola, une bande protéique dans les faibles Mr compatible avec la position des LTP, protéines basiques de 9 à 14 kDa. Outre sa réactivité dans les faibles Mr, le patient P11 a aussi des IgE dirigées contre des protéines de hautes Mr. Le patient P8 est aussi sensibilisé aux profilines, protéines de 14 kDa, mais la réactivité observée n'est pas inhibée par de la profiline purifiée de pollen de bouleau Bet v 2, déjà testé pour sa capacité à inhiber les réactivités IgE spécifiques anti-profiline vis-à-vis de profilines de pollen ou d'aliment (résultats non montrés) (pistes 14 à 17) ; il s'agit donc vraisemblablement d'une réactivité à la LTP d'acérola. L'hypothèse est confirmée par le résultat positif d'immunoréactivité obtenu avec un anticorps polyclonal de lapin spécifiquement dirigé contre Pru p 3, la LTP de pêche (Fig. 1A, piste 18). Il existe par conséquent une LTP allergénique croissante dans le fruit acérola.

3.2. Il n'existe pas de PR10 allergénique croissante dans le fruit acérola

Six patients diagnostiqués allergiques aux PR10 (P3, P4, P5, P6, P7, P8, pistes 5 à 10), entre autres de pollen de bouleau, sont négatifs sur le fruit acérola, à la masse moléculaire de 17–21 kDa correspondant aux PR10, (Fig. 1A) alors qu'on observe une positivité à une bande protéique d'environ 20 kDa sur un extrait de pollen de bouleau confirmant ainsi le diagnostic de sensibilisation à Bet v 1, la PR10 du pollen de bouleau (Fig. 1B, pistes 23 à 28). La réactivité IgE de cette bande protéique dans le pollen de bouleau est inhibée de façon compétitive par l'allergène Bet v 1 purifié (exemple avec le patient P7, Fig. 1B, pistes 29 à 32).

3.3. Il n'existe pas de profiline allergénique croissante dans le fruit acérola

Parmi les 5 patients sensibilisés aux profilines (P1, P2, P3, P4 et P8, pistes 3 à 6 et 10) seul P8 présente une réactivité IgE dans les faibles masses qui pourrait correspondre à la masse des profilines (14 kDa) (Fig. 1A, piste 10). Cependant, comme vu plus haut, la réactivité de P8 n'est pas inhibée par la profiline, elle est dirigée contre une LTP (Fig. 1A). Les 4 autres patients profiline^{pos}/LTP^{neg} sont négatifs vis-à-vis de l'extrait d'acérola dans les faibles masses. Nous pouvons donc conclure qu'il n'existe pas de profiline d'acérola croissante dans l'extrait de fruit.

3.4. Il n'existe pas de GRP allergénique croissante dans le fruit acérola

Quatre patients sensibilisés aux GRP de fruit et de pollen (P12, P13, P14 et P15) ont été testés vis-à-vis de l'extrait de fruit (pistes 3 à 6) et du jus (pistes 12 à 15) (Fig. 2). Excepté une réactivité diffuse de P12 dans les hautes masses (vraisemblablement liée aux CCD), aucune réactivité n'est observée dans les faibles masses correspondant à la masse des GRP (masse apparente en SDS-PAGE non réduit 14 kDa et masse réelle 7 kDa) ni dans l'extrait de fruit (Fig. 2A, pistes 3 à 6) ni dans le jus (Fig. 2B, pistes 12 à 15). Parmi les 3 patients GRP^{neg} seul le patient P10 montre une positivité correspondant à une réactivité LTP aussi bien dans l'extrait de fruit (Fig. 2A, piste 7) que dans le jus naturel (Fig. 2B, piste 16). La présence de LTP dans le jus naturel est confirmée par l'utilisation d'un anticorps polyclonal de lapin anti-Pru p 3 (Fig. 2B, piste 19). Le jus naturel d'acérola, comme le fruit, ne contient pas de PR10 allergénique croissante (voir

le patient P16, pistes 8 et 17). Le patient P17 (arachide^{pos}) ne présentant aucune réactivité GRP, PR10, profiline ou LTP est négatif (Fig. 2, pistes 9 et 18).

3.5. La LTP allergénique d'acérola se retrouve dans les produits dérivés, jus commercial et poudre

La persistance d'allergène dans les produits dérivés de l'acérola a été recherchée dans un jus commercial et de la poudre d'acérola. Les profils protéiques obtenus après SDS-PAGE du jus et d'un extrait de poudre sont très pauvres. Une seule bande est retrouvée dans le jus commercial dans les faibles masses (Fig. 3, piste 1) et 3 bandes sont détectables dans l'extrait de poudre, 2 larges (> 94 kDa et 32 kDa) et 1 très mince vers 14 kDa. Dans les deux sources, jus commercial et poudre, seuls les patients sensibilisés aux LTP (P9, P8, P11) donnent un résultat positif, pistes 9 à 11 pour le jus commercial et pistes 20 et 22 pour la poudre. La réactivité est très faible sur la poudre et la réactivité de P8, faible sur le jus commercial, n'est plus détectable sur la poudre. Dans les deux sources une LTP est détectée grâce à l'anticorps de lapin anti-Pru p 3.

3.6. L'analyse par spectrométrie de masse révèle de nombreux candidats allergènes dont des LTP

L'analyse globale de l'extrait de fruit d'acérola par SM a permis d'identifier 280 protéines distribuées en 152 familles différentes dont 27 correspondent à des familles dans lesquelles des allergènes de plantes ont été décrits (Tableau 2). Dans le jus commercial 196 protéines différentes ont été identifiées réparties en 150 familles dont 27 familles d'allergènes de plantes (Tableau 2). Seules 13 familles d'allergènes sont en commun, ce qui pourrait s'expliquer par la perte de certaines familles durant la réalisation du jus commercial et l'adjonction hypothétique, volontaire ou involontaire, de traces protéiques détectables par spectrométrie de masse. Parmi les allergènes recherchés, LTP, PR10, profiline et GRP, l'analyse par SM a permis de confirmer la présence de LTP. Une PR10 semblable à un fragment de Que a 1 (pollen de chêne), une GRP semblable à Cry j 7 (GRP de pollen de cèdre du Japon) et une profiline semblable à celle du pollen d'olivier (Ole e 2) ont pu être identifiées avec toutefois de très faibles scores (36, 42, et 27, respectivement pour un seuil de 25) qui indiquent que l'identification de la protéine reste à confirmer par d'autres techniques. Or nous n'avons pas pu mettre en évidence d'immunoréactivité IgE vis-à-vis de PR10, de GRP et de profiline avec les sérums de patients sélectionnés. L'identification ne peut donc pas être assurée pour ces deux protéines. Les LTP sont en revanche détectées avec des scores élevés (jusqu'à 1430) permettant d'affirmer leur présence dans l'extrait de fruit et le jus commercial et confirmer ainsi la spécificité des réactivités observées.

Une analyse plus ciblée sur des protéines en gel au niveau des zones d'immunoréactivité IgE confirme l'existence de LTP dans le jus commercial (Fig. 4). Deux autres protéines décrites comme allergènes dans différentes plantes sont des candidats allergènes aux masses moléculaires considérées (10–17 kDa) dans le jus commercial d'acérola, une protéine ribosomale 60S et une calmoduline (Tableau 3).

4. Discussion

Le fruit acérola est peu consommé frais, même dans les pays où il est cultivé, et aucune étude n'existe actuellement sur ses capacités à induire des symptômes allergiques. Les résultats obtenus par des techniques d'immunochimie analytique, grâce à des patients allergiques, montrent que les patients sélectionnés pour leur sensibilisation aux LTP de pêche, d'arachide, de noisette, de noix, de pollen d'olivier, d'armoise ou de platane reconnaissent

Tableau 2

Protéines potentiellement allergéniques identifiées par spectrométrie de masse (SM) dans l'extrait de fruit et le jus commercial d'acérola.

	Extrait analysé		Protéine identifiée Allergène potentiel	SCORE SM ^a	Masse molec. kDa	pI	Origine taxonomique (de la protéine identifiée)	Plante où l'allergène est décrit ^b
	Fruit	Jus						
1	x		Protéine ribosomale 60S	39	34	9,18	<i>Cucumis sativus</i>	Tomate, amande
2		x	Alpha-amylase inhibiteur	62	17	5,4	<i>Triticum aestivum</i>	Pollen de graminées, sarrasin, orge, blé, haricot vert, riz, seigle
3	x	x	ATP synthase	33	53–55	6,01	<i>Beta vulgaris</i> , <i>Morus indica</i> , <i>Chaetosphaeridium globosum</i>	Pollen de plantain
4		x	Beta-amylase	107	57–60	5,7	<i>Hordeum vulgare</i> , <i>Triticum aestivum</i>	Orge, blé
5	x		Beta-galactosidase	946	81–93	5,1–8,6	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Oryza sativa</i> , <i>Dianthus caryophyllus</i>	Pollen de palmier dattier
6	x	x	Calmoduline	79	14–17	4,2	<i>Bryonia dioica</i> , <i>Solanum tuberosum</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i>	Pollen de Cupressacées, de bouleau, d'olivier
7		x	Cry j 7 (<i>cypmaclein</i>)	42	7	9	<i>Cryptomeria japonica</i>	Pollen de Cupressacées
8	x	x	Cytochrome c	201	12	9,7	<i>Abutilon theophrasti</i> , <i>Ginkgo biloba</i> , <i>Ulva intestinalis</i>	Pollen de graminées, d'olivier, de plantain, algue verte
9		x	Déhydrine	15	21	5,4	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Blé
10		x	<i>E3 ubiquitin-protein ligase</i>	21	28	5,4	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Blé
11	x	x	Facteur d'élongation	235	25–49	4,5–9,2	<i>Pisum sativum</i> , <i>Vicia faba</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Oryza sativa</i>	Latex, blé
12		x	Facteur d'élongation <i>rubber</i>	72	14	5	<i>Hevea brasiliensis</i>	Latex
13	x		Endochitinase acide	142	33	9,2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Kiwi, latex, blé, grenade, avocat
14	x	x	Enolase	423	48	5,2–5,6	<i>Ricinus communis</i> , <i>Hevea brasiliensis</i> , <i>Zea mays</i>	Pollen d'ambrosie, latex, maïs
15	x	x	Fructose-bisphosphate aldolase	118	38–43	6,1–7,5	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Cicer arietinum</i> , <i>Zea mays</i>	Manioc, plantain
16		x	Gliadine gamma	161	33–37	8,5	<i>Triticum aestivum</i>	Blé
17	x		Protéine <i>germin-like</i>	140	23	8,9	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Agrumes, blé, <i>Arabidopsis</i> , poivre
18	x		Beta-1, 3-glucanase	198	52–53	5,8–6	<i>Arabidopsis thaliana</i>	pollen de bouleau, d'olivier, de frêne, d'acacia, banane, raisin, tomate, pomme de terre, poivron
19	x		Glutathione S-transférase	86	25–27	5–5,8	<i>Silene vulgaris</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i>	Pollen de bouleau
20		x	Gluténine (hautes masses)	116	70–90	5,8–7,6	<i>Triticum aestivum</i>	Blé, avoine, orge, sarrasin, maïs
21		x	Gluténine (<i>avenin-like</i>)	31	32	8,1	<i>Triticum aestivum</i>	Avoine
22	x	x	Glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase	296	33–37	6,6	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Taxus baccata</i>	Manioc, latex, blé, ramboutan
23	x	x	<i>Heat Shock Protein 70</i>	365	71–76	4,4–6,4	<i>Spinacia oleracea</i> , <i>Corylus avellana</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Daucus carota</i> , <i>Lupinus polyphyllus</i> , <i>Pinus pinaster</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Oryza sativa</i> , <i>Solanum tuberosum</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Nicotiana tabacum</i>	Noisette, poix chiche
24	x	x	<i>Heat Shock Protein 80</i>	233	80–82	4,2–5	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i> , <i>Oryza sativa</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Ipomoea nil</i>	Latex
25	x		Lactoylglutathione lyase (glyoxalase)	830	33–39	5,5–7	<i>Oryza sativa</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Pinus strobus</i>	Riz
26		x	Allergène majeur de pollen Que a 1	36	17	5,6	<i>Quercus alba</i>	Pollen de chêne
27	x		Malate déshydrogénase	1006	35–42	6,1–8,9	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Beta vulgaris</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Citrullus lanatus</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>Fragaria x ananassa</i> , <i>Eucalyptus gunnii</i>	Pollen de plantain, melon, pastèque, sénéçon de Jacob
28	x	x	<i>Non-specific lipid transfer protein (LTP)</i>	1430	11–12	9	<i>Spinacia oleracea</i> , <i>Gossypium hirsutum</i> , <i>Lycium barbarum</i> , <i>Brassica oleracea</i>	Panallergène : nombreux fruits et pollen
29	x		Pectinesterase/pectinesterase inhibiteur	48	64	9	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Kiwi, pollen de platane
30	x		Péroxidase	73	37	4,5	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Tomate, blé, banane

Tableau 2 (Continued)

	Extrait analysé		Protéine identifiée Allergène potentiel	SCORE SM ^a	Masse molec. kDa	pI	Origine taxonomique (de la protéine identifiée)	Plante où l'allergène est décrit ^b
	Fruit	Jus						
31	x	x	Péroxirédoxine	351	21–30	5,5–9,4	<i>Oryza sativa</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Angiopteris evecta</i> , <i>Nicotiana tabacum</i> , <i>Vitis vinifera</i>	Orge, blé, riz, maïs
32		x	Phosphoglycérate kinase	16	42	5,7		Pollen de plantain
33	x		Polygalacturonase	163	53	6,75		Pollen de Cupressacées, de platane, d'olivier, de graminées, avoine, tomate, papaye, colza
34	x		Profiline	27	14	5	<i>Olea europaea</i>	Panallergène : nombreux pollen et fruits
35	x	x	RuBisCO large subunit-binding protéine	34	62	5,2	<i>Pisum sativum</i> , <i>Brassica napus</i>	Cannabis, épinard, laitue
36		x	Serpine	87	43		<i>Triticum aestivum</i>	Blé
37	x		Protéase subtilisin-like	97	92	9	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Pollen de cèdre du japon
38	x		Superoxyde dismutase [Cu-Zn]	255	15	5,2–5,3	<i>Ananas comosus</i>	Tomate, pollen d'olivier
39		x	Protéine thaumatin-like (TLP)	76	24	8,3	<i>Actinidia chinensis</i> var. <i>chinensis</i>	Pollen de Cupressacées, d'armoise, de bouleau, de platane. Rosacées, piment, banane, châtaigne, noisette, brocoli, cannabis, melon, laitue, piment, kiwi, banane, tabac, olive, poire, tomate, blé, raisin
40	x	x	Thiorédoxine	425	15–20	5,1–9,2	<i>Pisum sativum</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Triticum aestivum</i> , <i>Platanus orientalis</i>	Latex, blé, maïs
41		x	Triosephosphate isomérase	24	26	5,4		Pollen de platane, de plantain, blé, pastèque, litchi

^a Le score SM le plus fort est indiqué quand la protéine est identifiée dans plusieurs espèces orthologues.

^b Banques de données : allergome.org, allergen.org et uniprot.org.

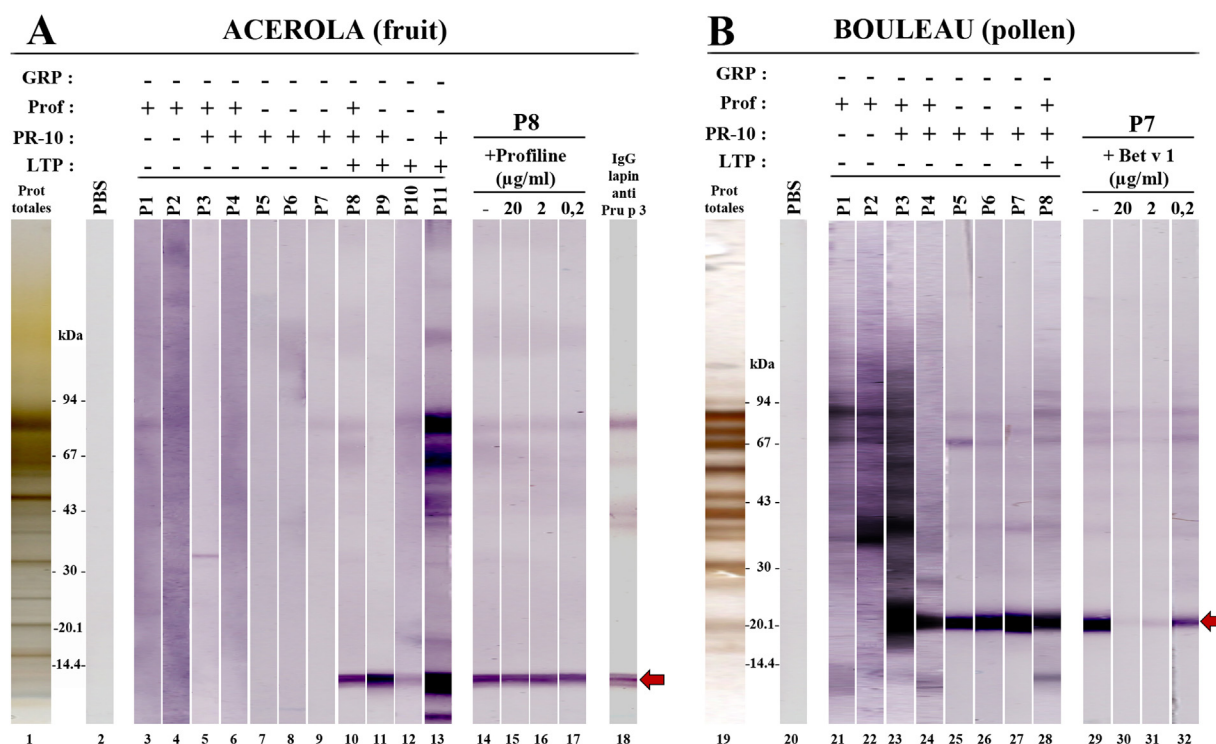


Fig. 1. Immunoréactivité IgE de 11 patients diagnostiqués allergiques aux *lipid transfer protein* (LTP) ou aux profilines ou aux PR10 comme indiqué vis-à-vis d'un extrait d'acérola (A) ou de pollen de bouleau (B). Les protéines totales sont colorées au nitrate d'argent. Les masses moléculaires sont exprimées en kDa. PBS : Contrôle négatif sans sérum. A. Extrait de fruit acérola. Pistes 3 à 13 : immunoréactivité IgE de 11 patients allergiques. Pistes 14 à 17, test d'inhibition compétitive : immunoréactivité IgE du patient P8 en présence ou en absence de concentrations croissantes de Bet v 2 purifié, la profiline du pollen de bouleau. Pistes 18 : immunoréactivité IgG d'anticorps de lapin spécifiquement dirigé contre Pru p 3, la LTP de pêche. La flèche rouge indique la réactivité LTP. B. Extrait de pollen de bouleau. Pistes 21 à 28 : immunoréactivité IgE de 8 patients allergiques. Pistes 29 à 32, test d'inhibition compétitive : immunoréactivité IgE du patient P7 en présence ou en absence de concentrations croissantes de Bet v 1 purifié, la PR10 du pollen de bouleau. La flèche rouge indique la réactivité PR10.

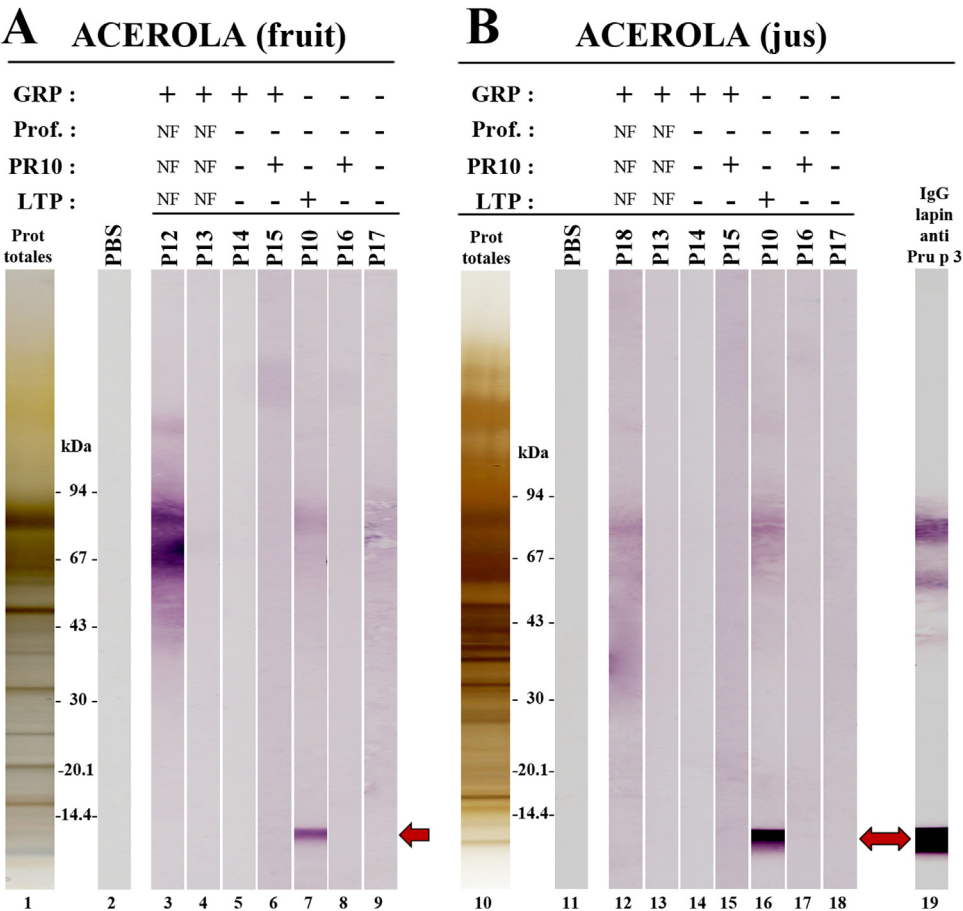


Fig. 2. Immunoréactivité IgE de divers patients diagnostiqués allergiques aux *gibberellin-regulated protein* (GRP) ou aux *lipid transfer protein* (LTP) ou aux profilines ou aux PR10 comme indiqué vis-à-vis d'un extrait de fruit acérola (A) ou de jus d'acérola (B). NF : donnée non fournie. Les protéines totales sont colorées au nitrate d'argent. Les masses moléculaires sont exprimées en kDa. PBS : Contrôle négatif sans sérum. A. Extrait de fruit acérola. Pistes 3 à 9 : immunoréactivité IgE de 7 patients allergiques dont 4 sensibilisés aux GRP comme indiqué. La flèche rouge indique la réactivité LTP. B. Jus d'acérola. Pistes 12 à 18 : immunoréactivité IgE de 8 patients allergiques dont 4 sensibilisés aux GRP. Piste 19 : immunoréactivité IgG d'anticorps de lapin spécifiquement dirigé contre Pru p 3, la LTP de pêche. La double flèche rouge indique la réactivité LTP.

Tableau 3
Protéines identifiées en SM dans les 4 bandes de faibles Mr de jus commercial d'acérola correspondant à une immunoréactivité IgE (voir Fig. 4) et décrites comme allergènes de plantes.

	Protéine identifiée	Origine taxonomique (de la protéine identifiée)	Masse moléculaire (kDa)	pI	Score	Code d'accès
Bande 1						
1	Protéine ribosomale 60S	<i>Prunus armeniaca</i>	18	9	142	RL12.PRUAR
2	Protéine ribosomale 60S	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	17	9,2	129	RL12.CHLRE
3	nsLTP	<i>Spinacia oleracea</i>	11	9	53	NLTP.SPIOL
4	nsLTP	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	12	9,4	25	NLTPB.BRAOT
Bande 2						
1	Protéine ribosomale 60S	<i>Prunus armeniaca</i>	18	9	96	RL12.PRUAR
2	Protéine ribosomale 60S	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	17	9,2	51	RL12.CHLRE
3	Protéine ribosomale 60S	<i>Zea mays</i>	11	4,2	36	RLA2A.MAIZE
4	Protéine ribosomale 60S	<i>Arabidopsis thaliana</i>	14	9,6	31	RL223.ARATH
5	nsLTP	<i>Spinacia oleracea</i>	11	9	140	NLTP.SPIOL
6	nsLTP	<i>Gossypium hirsutum</i>	11	9,3	70	NLTP1.GOSHI
7	nsLTP	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	12	9,4	38	NLTPB.BRAOT
8	Calmoduline	<i>Bryonia dioica</i>	17	4,1	60	CALM.BRYDI
Bande 3						
1	nsLTP	<i>Spinacia oleracea</i>	11	9	203	NLTP.SPIOL
2	nsLTP	<i>Gossypium hirsutum</i>	11	9,3	67	NLTP1.GOSHI
3	nsLTP	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	12	9,4	45	NLTPB.BRAOT
4	nsLTP	<i>Arabidopsis thaliana</i>	12	7,5	42	NLTP6.ARATH
5	Calmoduline	<i>Bryonia dioica</i>	17	4,1	39	CALM.BRYDI
Bande 4						
1	nsLTP	<i>Gossypium hirsutum</i>	13	9,6	27	NLTP6.GOSHI

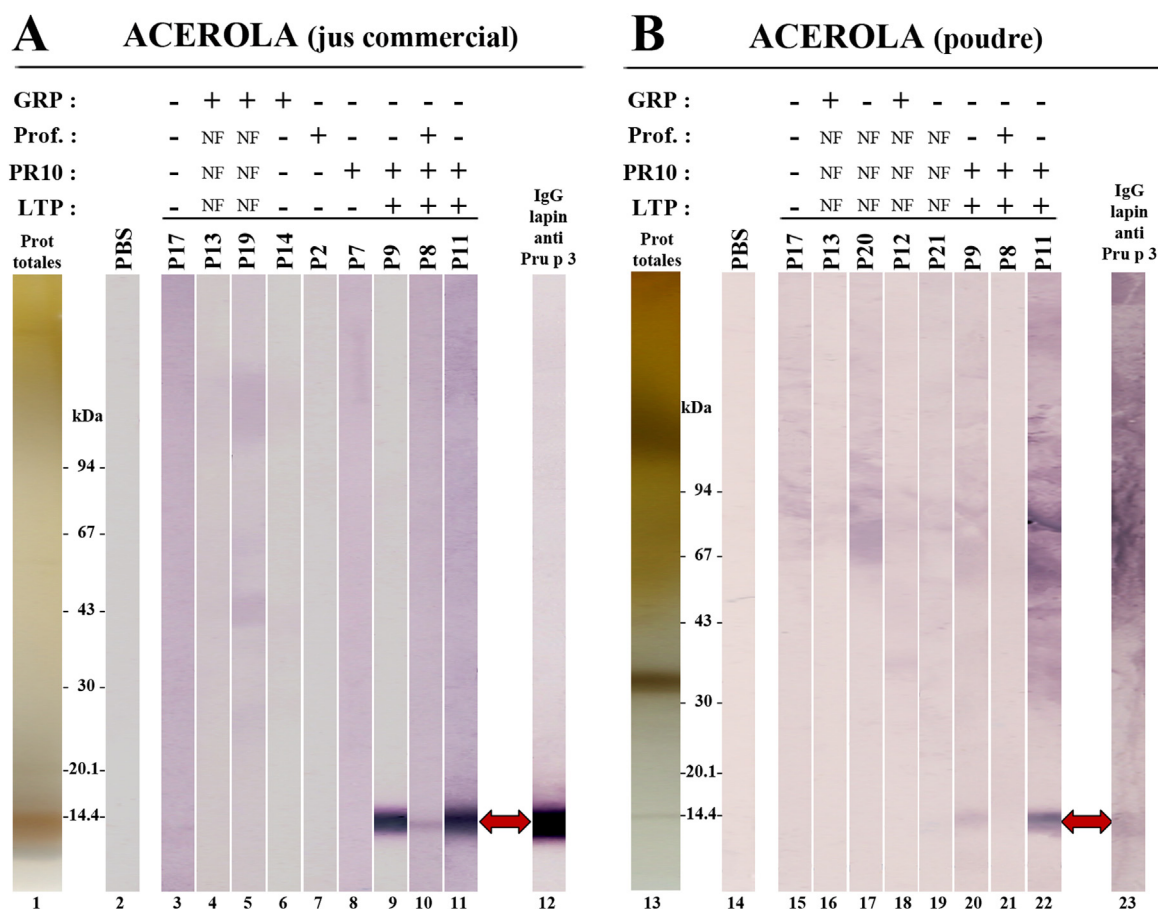


Fig. 3. Immunoréactivité IgE de divers patients diagnostiqués allergiques aux *gibberellin-regulated protein* (GRP) ou aux *lipid transfer protein* (LTP) ou aux profilines ou aux PR10 comme indiqué vis-à-vis d'un jus d'acérola commercial (A) ou d'un extrait de poudre d'acérola commerciale (B). NF : donnée non fournie. Les protéines totales sont colorées au nitrate d'argent. Les masses moléculaires sont exprimées en kDa. PBS : Contrôle négatif sans sérum. A. Jus d'acérola commercial. Pistes 3 à 11 : immunoréactivité IgE de 9 patients allergiques. Piste 12 : immunoréactivité IgG d'anticorps de lapin spécifiquement dirigé contre Pru p 3, la LTP de pêche. La double flèche rouge indique la réactivité LTP. B. Extrait de poudre d'acérola commerciale. Pistes 15 à 22 : immunoréactivité IgE de 8 patients allergiques. Piste 23 : immunoréactivité IgG d'anticorps de lapin spécifiquement dirigé contre Pru p 3, la LTP de pêche. La double flèche rouge indique la réactivité LTP.

une LTP dans le fruit et le jus naturel d'acérola. La protéine est clairement identifiée par spectrométrie de masse dans l'extrait de fruit. En revanche, nous n'avons pas pu mettre en évidence de PR10, ni de profiline ni de GRP allergéniques croissantes en étudiant des patients sensibilisés aux PR10 (pollen de bouleau, d'aulne, de noisetier, noisette, pêche, soja, arachide, kiwi ou céleri), ou aux profilines (pollen de bouleau, de graminées ou latex) ou aux GRP (pollen de Cupressacées et fruit). La LTP allergénique se retrouve dans le jus commercial d'acérola et aussi en plus faible concentration dans une poudre commerciale vendue en parapharmacie pour sa teneur en vitamine C. L'information est d'autant plus pertinente pour les personnes allergiques aux LTP que la consommation de jus de fruit exotique est en augmentation et que la sensibilisation aux LTP est souvent associée à des symptômes cliniques sévères tel que le choc anaphylactique [15]. Une des raisons de l'augmentation de la consommation de jus d'acérola pourrait être lié au fait, entre autre, que la biodisponibilité de la vitamine C est plus importante dans un jus d'acérola que dans des comprimés ou de la poudre à diluer [16].

Outre des LTP, l'acérola contient potentiellement de nombreux autres candidats allergènes comme le montrent les résultats de spectrométrie de masse. Au moins 27 familles d'allergènes présentes dans différentes plantes sont identifiées dans le fruit acérola. La capacité sensibilisante de ces protéines, dans l'acérola, reste cependant à valider par la mise en évidence d'IgE spécifiques chez des patients allergiques. Le répertoire des IgE du patient P11 serait à

ce titre intéressant à explorer car il est très hétérogène sur l'extrait de fruit et se réduit à une simple réactivité anti-LTP dans le jus commercial. Les traitements que subit l'acérola pour la réalisation du jus commercial conduisent donc à la perte de certaines protéines allergéniques ou à la destruction d'épitopes IgE.

L'allergie à l'acérola a fait l'objet d'une seule publication jusqu'à présent. Raulf-Heimsoth et al. en 2002 ont montré qu'un patient allergique au latex, sensibilisé à Hev b 6 et Hev b 8, a développé une réaction anaphylactique après consommation d'un jus de pomme supplémenté par de l'acérola [7]. Les auteurs montrent, par inhibition, l'existence d'une réactivité croisée IgE entre Hev b 6 et une protéine d'acérola non identifiée. Nos résultats de spectrométrie de masse pointent six familles de protéines décrites comme étant allergéniques dans le latex. Un facteur d'élongation que l'on trouve aussi comme allergène dans le blé, une endochitinase acide retrouvée aussi allergénique dans le blé, la grenade, le kiwi et l'avocat, une enolase présente comme allergène dans le pollen d'ambrosie et le maïs, une β -1,3-glucanase retrouvée comme allergène dans le pollen de bouleau, d'olivier, de frêne, d'acacia, la banane, le raisin, la tomate, la pomme de terre, le poivron, une HSP80 et une thioredoxin décrite aussi comme allergène dans le blé et le maïs. L'endochitinase acide pourrait être un bon candidat car Hev b 6 possède, elle aussi, un domaine de fixation à la chitine pouvant constituer une base structurale de réactivité croisée. D'autre part, De Assis et al. ont caractérisé une pectine méthylestérase dans l'acérola [17] mais son allergénicité n'a pas été étudiée alors qu'elle

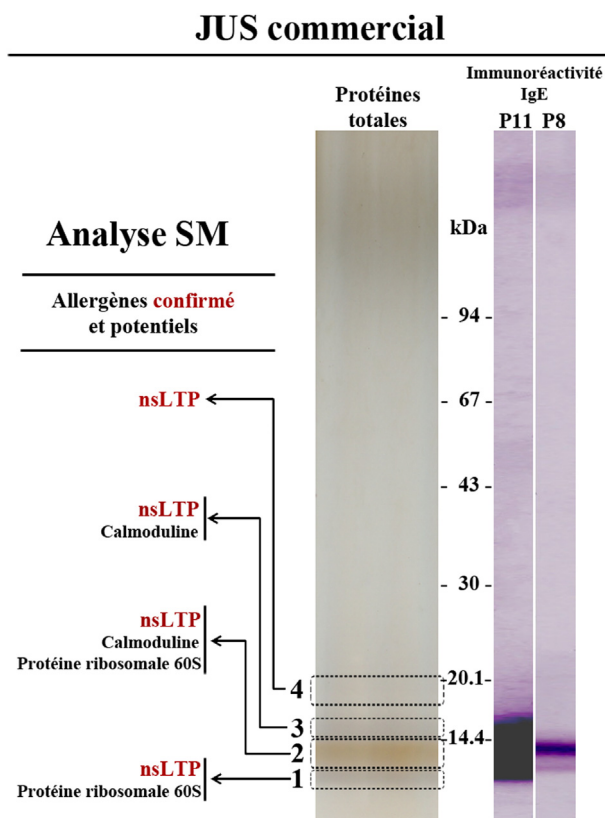


Fig. 4. Analyse par spectrométrie de masse (SM) de 4 bandes de gel contenant des protéines de faible masse moléculaire de jus commercial d'acérola correspondant à une immunoréactivité IgE aux *lipid transfer protein* (LTP) (vérification avec deux patients sensibilisés aux LTP, P8 et P11 – voir Fig. 1). Les protéines totales sont colorées au nitrate d'argent. Les masses moléculaires sont indiquées en kDa. Les données détaillées de l'analyse en SM sont présentées dans le Tableau 3.

a été décrite allergénique dans le kiwi (Act d 7), dans la tomate et aussi dans les pollens de bouleau, d'Oléacées (Fra e 11, Ole e 11) et de soude brûlée (Sal k 1). Par SM nous n'avons pas mis en évidence cette protéine ni dans le fruit ni dans le jus commercial.

5. Conclusion

En résumé nos résultats montrent que des patients allergiques aux LTP doivent se méfier du fruit acérola et de ses produits dérivés, que ce soit en jus d'acérola pur ou en tant qu'additif à cause de sa richesse en vitamine C, car cette LTP est persistante et résiste aux différents traitements qui conduisent aux produits dérivés. Ces résultats sont en accord avec les caractéristiques physicochimiques des LTP, résistantes à la chaleur et à différents traitements enzymatiques.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Remerciements

Les auteurs remercient monsieur et madame Choël pour leur implication efficace dans la recherche et l'envoi de fruits frais d'acérola en provenance de l'île de La Réunion. Ils remercient aussi Noémie Allouche et Vincent Wanner pour leur participation enthousiaste et pragmatique au travail de recherche. Ce travail a été soutenu par le DIM Thérapie Génique Région Paris Île-de-France, IBISA, et le Labex « GR-Ex » qui ont participé au financement du Tims TOF-Pro.

Références

- [1] Davis CC, Anderson WR. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *Am J Bot* 2010;97(12):2031–48.
- [2] Derse PH, Elvehjem CA. Nutrient content of acerola, a rich source of vitamin C. *J Am Med Assoc* 1954;156(16):1501.
- [3] Sabbe S, Van Damme P, Verbeke W. Perceived motives, barriers and role of labeling information on tropical fruit consumption: exploratory findings. *J Food Prod Mark* 2009;15(2):119–38.
- [4] Zmamirowska A, Szajnar K, Pawlos M. Effect of vitamin C source on its stability during storage and the properties of milk fermented by *Lactobacillus rhamnosus*. *Molecules* 2021;26(20):1–14.
- [5] Realini CE, Guàrdia MD, Díaz I, García-Regueiro JA, Arnau J. Effects of acerola fruit extract on sensory and shelf-life of salted beef patties from grinds differing in fatty acid composition. *Meat Sci* 2015;99:18–24.
- [6] Beltran E, Pla R, Yuste J, Mor-Mur M. Use of antioxidants to minimize rancidity in pressurized and cooked chicken slurries. *Meat Sci* 2004;66(3):719–25.
- [7] Raulf-Heimsoth M, Stark R, Sander I, Maryska S, Rihs H-P, Brüning T, et al. Anaphylactic reaction to apple juice containing acerola: cross-reactivity to latex due to prohevein. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(4):715–6.
- [8] Poncet P, Senechal H, Charpin D. Update on pollen-food allergy syndrome. *Expert Rev Clin Immunol* 2020;16(6):561–78.
- [9] Blum H, Beier H, Gross HJ. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis* 1987;8:93–9.
- [10] Ferreira F, Hoffmann-Sommergruber K, Breiteneder H, Pettenburger K, Ebner C, Sommergruber W, et al. Purification and characterization of recombinant Bet v 1, the major birch pollen allergen. Immunological equivalence to natural Bet v 1. *J Biol Chem* 1993;268(26):19574–80.
- [11] Susani M, Jertschin P, Dolecek C, Sperr WR, Valent P, Ebner C, et al. High-level expression of Birch Pollen Profilin (Bet v 2) in *Escherichia coli*: purification and characterization of the recombinant allergen. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;215(1):250–63.
- [12] Borges J, Barre A, Culerrier R, Granier C, Didier A, Rougé P. Lipid transfer proteins from Rosaceae fruits share consensus epitopes responsible for their IgE-binding cross-reactivity. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;365(4):685–90.
- [13] Iizuka T, Takei M, Saito Y, Rumi F, Zheng J, Lu X, et al. Gibberellin-regulated protein sensitization in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergic Japanese cohorts. *Allergy* 2021;76(7):2297–302.
- [14] Barbosa da Cruz D, Helms J, Ramírez Aquino L, Stiel L, Cougourdan L, Broussard C, et al. DNA-bound elastase of neutrophil extracellular traps degrades plasminogen, reduces plasmin formation, and decreases fibrinolysis: proof of concept in septic shock plasma. *FASEB J* 2019;33(12):14270–80.
- [15] Asero R, Pravettoni V, Scala E, Villalta D. Lipid transfer protein allergy: a review of current controversies. *Clin Exp Allergy* 2021;52(2):222–30.
- [16] Uchida E, Kondo Y, Amano A, Aizawa S, Hanamura T, Aoki H, et al. Absorption and excretion of ascorbic acid alone and in acerola (*Malpighia emarginata*) juice: comparison in healthy Japanese subjects. *Biol Pharm Bull* 2011;34(11):1744–7.
- [17] De Assis S, Martins A, Guaglianoni D, De Faria Oliveira O. Partial purification and characterization of pectin methylesterase from acerola (*Malpighia glabra* L.). *J Agric Food Chem* 2002;50(14):4103–7.