



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE
D'
Allergologie

Revue française d'allergologie xxx (2011) xxx-xxx

Article original

Étude de l'allergénicité d'un lait extensivement hydrolysé

Study of the allergenicity of extensively hydrolyzed formula

A.C. Brahim^{*}, S. Addou, O. Kheroua, D. Saidi

Laboratoire de physiologie de la nutrition et sécurité alimentaire, département de biologie, faculté des sciences, université d'Oran, bâtiment principal,
1^{er} étage, porte N° 68, Oran, Algérie

Reçu le 26 avril 2011 ; accepté le 12 août 2011

Résumé

L'allergie aux protéines du lait de vache (APLV) toucherait 3 à 6 % des enfants de moins de deux ans. Lorsque l'allaitement doit être interrompu, on fait appel à des substituts. Trois types de produits à antigénicité réduite doivent être distingués selon le degré d'hydrolyse, des formules partiellement hydrolysées (HA), extensivement hydrolysées, à base d'acides aminés. La potentialité d'un produit à prévenir ou traiter l'allergie ne peut être déterminée que par des études cliniques randomisées ayant une méthodologie correcte.

But de l'étude. – Étudier l'allergénicité d'un lait extensivement hydrolysé in vitro en chambre de Ussing, à partir d'un modèle animal (souris Balb/c) sensibilisé avec la protéine allergisante majeure du lait de vache la β -lactoglobuline (β -Lg).

Matériels et méthodes. – Soixante souris femelles Balb/c ($22,50 \pm 0,27$ g) sont utilisées, 48 souris immunisées avec la (β -Lg) native et 12 souris femelles Balb/c ne recevant aucun traitement (témoin). Des échantillons d'un lait extensivement hydrolysé, d'un lait standard infantile « premier âge » et d'un lactosérum bovin natif utilisés dans cette étude sont caractérisés sur le plan biochimique par un dosage des protéines totales par la méthode de Lowry. L'allergénicité des laits est étudiée, en chambre de Ussing, par des tests de provocation effectués sur des fragments jéjunaux de souris Balb/c sensibilisées par voie intra péritonéale à la β -lactoglobuline (β -Lg).

Résultats. – Les résultats obtenus montrent que la teneur en protéines des deux laits infantiles est comparable à celle du lait maternel. Sur le plan de l'allergénicité, le lait extensivement hydrolysé stimule significativement le courant de court-circuit (Isc), cette réaction est comparable à celle obtenue avec la protéine sensibilisante (β -Lg), le lactosérum bovin natif, et le lait infantile standard. Ces résultats suggèrent l'existence d'une réaction anaphylactique locale due à l'interaction directe de l'antigène sensibilisant avec les muqueuses des fragments jéjunaux.

Conclusion. – Les peptides de faibles poids moléculaires du lait extensivement hydrolysé sont dotés d'un pouvoir allergénique chez les souris Balb/c.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Hydrolysats de protéines ; Préparations infantiles ; β -Lg ; Formules lactées ; Allergénicité des hydrolysats ; Lait maternel

Abstract

The cow's milk allergy touches 3 to 6% of the children less than two years. When the feeding must be interrupted, we appeal to substitutes. Three types of products in reduced antigenicity must be distinguished according to the degree of hydrolysis, partially hydrolyzed formulae, extensively hydrolyzed, with amino acids. The potentiality of a product to prevent or treat the allergy can be determined, by clinical randomized studies having a correct methodology.

Aim of work. – Study of the allergenicity of the extensively hydrolyzed formula in vitro (Ussing chamber), from an animal model (Balb/c) mice, made sensitive with the major allergenic protein of cow's milk (β -Lg).

Materials and methods. – Sixty female mice Balb/c ($22,50 \pm 0,27$ g), 48 mice immunized with native (β -Lg) and 12 female mice Balb/c receiving no treatment.

Samples from, extensively hydrolyzed formula, standard formula “first age” and native bovine whey are used in this study and characterized on the biochemical plan by dosage of the total proteins (Lowry method). The allergenicity of formulae is studied in Ussing chamber, by tests of provocation done on jejunal fragments of Balb/c mice, sensitized by parenteral way with β -lactoglobulin (β -Lg).

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : soleil20042003@yahoo.fr (A.C. Brahim).

Results. – The obtained results show that the amount of proteins of both, standard and extensively hydrolyzed formulae is close to the amount found in human milk. On the plan of the allergenicity, the extensively hydrolyzed formula stimulates the current of short circuit (Isc). This reaction is comparable to the one gotten with the sensitizing protein (β -Lg), the native bovine whey, and the standard infantile milk. These results suggest the existence of a local anaphylactic reaction due to the direct interaction of the antigen making sensitive with the mucous membranes of jejunum fragments.

Conclusion. – The peptides of low molecular weights of the extensively hydrolyzed formula are endowed with an allergenic power to Balb/c mice.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Proteins hydrolyzed; Infant formulae; β -Lg; Milk formulae; Allergenicity of hydrolyzes; Human milk

1. Introduction

L'allergie aux protéines du lait de vache est une réaction exagérée du système immunitaire face à des protéines qu'il considère comme dangereuses. Ici, il s'agit des protéines du lait de vache que l'on peut retrouver dans le lait premier âge, mais aussi dans le lait maternel, lorsque la maman qui allaite consomme des laitages [1]. La prévention comme la recherche d'un traitement, constituent des sujets d'actualité. Ils reposent sur des hydrolysats de protéines, dont les indications respectives sont fondées sur leurs caractéristiques immunologiques et sur leurs risques allergiques [2]. L'allergie aux hydrolysats de protéines semble correspondre à une forme sévère d'allergie aux protéines du lait de vache [3] : elle n'est pas exceptionnelle puisqu'elle pourrait toucher 10 % des enfants allergiques au lait de vache. Actuellement, la potentialité d'un produit à prévenir l'allergie ne peut être déterminée, selon l'Espghan (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) et l'Espace (European Society for Paediatric Allergology and Clinical Immunology) que par des études cliniques randomisées ayant une méthodologie correcte. Notre objectif de travail est d'étudier les propriétés allergéniques d'une formule lactée extensivement hydrolysé par un test de provocation in vitro en comparant son allergénicité avec celle d'un lait standard et des protéines du lactosérum bovin natif à l'aide d'un model animal (souris Balb/c) rendu allergique aux protéines du lait de vache (β -Lg).

2. Matériels et méthodes

2.1. Produits et réactifs

Les différents produits et réactifs utilisés proviennent de chez Sigma, Pharmingen, Merck et Prolabo (France).

2.2. Les échantillons utilisés dans cette étude

2.2.1. Pepti junior premier âge (Nutricia®)

Formé de concentré de protéines du lactosérum hydrolysées par des procédés technologiques (thermiques et enzymatiques). Il s'agit d'un aliment diététique destiné à des fins médicales spéciales pour les besoins nutritionnels en cas d'allergie aux protéines de lait de vache.

2.2.2. Aptamil alimentation normale premier âge (Nutricia®)

Il s'agit d'un lait industriel pour nourrisson ou préparation standard. Ce lait contient des protéines de lait de vache adaptées (protéines de lactosérum et caséine).

2.2.3. Le lait de vache

Cru (pH 6,8) collecté est écrémé par centrifugation à 3500 tours/min pendant 15 minutes à 4 °C, le lait est ensuite précipité à pH 4,6 par addition de HCl 1 N (pH isoélectrique des caséines), puis centrifugé à 3500 tours/min à 4 °C pendant 15 minutes. Le surnageant correspondant au lactosérum est récupéré. Le lactosérum est ensuite mis à dialyser pendant toute une nuit contre un tampon, à 4 °C, sous agitation continue. Le lactosérum est ensuite lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur de type speed Vac concentrator 100 H.

2.3. Caractérisation biochimique

Le dosage des protéines est effectué par la méthode de Lowry [4], sur le lactosérum bovin natif, la préparation lactée standard et sur le lait extensivement hydrolysé. La lecture se fait au spectrophotomètre (Jasco-V530UV/VIS) à une longueur d'onde de 750 nm à l'aide d'une cuve en quartz. Les résultats sont comparés à une courbe standard préparée avec le sérum albumine bovine.

2.4. Animaux

Les animaux utilisés dans nos protocoles sont des souris de souche Balb/c obtenues auprès de l'institut pasteur d'Alger. Ce sont des souris femelles congéniques, élevées et acclimatées avant toute manipulation dans l'animalerie du laboratoire de physiologie de la nutrition et de sécurité alimentaire dans des conditions d'hébergement conformes à la réglementation. Les expériences sont effectuées en respectant le bien-être de l'animal, évitant le stress et l'agitation susceptibles d'interférer avec les résultats.

2.4.1. Immunisation du modèle animal

Femelles Balb/c sont utilisées pour le protocole d'immunisation. Les souris sont âgées entre six et huit semaines et pèsent entre 20 et 25 g ($22,50 \pm 0,27$ g). Pour les besoins de chaque expérience, les animaux ont été répartis en deux lots :

- premier lot : 48 souris femelles Balb/c immunisées avec la β -Lg native, cette dernière est la protéine allergisante majeure dans le lait de vache ;
- deuxième lot : 12 souris femelles Balb/c ne recevant aucun traitement. Ce lot constitue le groupe témoin.

Les souris du lot 1 sont immunisées par voie intra péritonéale. Chaque souris reçoit une dose de 100 μ L d'une solution de PBS pH 7,4 contenant 10 μ g de β -Lg mélangés à 2 mg d'Al (OH)₃. Les injections intra péritonéales ont lieu à J₀ puis, sous forme de rappels et dans les mêmes conditions, aux 14^e, 21^e et 28^e jours du protocole.

2.5. Mesure de l'allergénicité des différents échantillons

Afin d'évaluer l'allergénicité des protéines des différents échantillons, la technique *in vitro* en chambre de Ussing [5] est utilisée qui permet d'étudier l'interaction entre les différentes protéines des préparations infantiles avec l'épithélium intestinal des souris immunisées à la β -Lg. Cette technique permet d'analyser *in vitro*, les paramètres électriques caractérisant un tissu en mesurant le courant de court circuit I_{sc} (μ A/cm²) et la conductance G (mmho/cm²).

Un fragment de muqueuse intestinale est monté à plat entre deux demi-chambres de Lucite. Les deux faces du tissu déterminant un compartiment muqueux (représentant la lumière intestinale) et un compartiment séreux (représentant la circulation sanguine) sont baignés par des solutions identiques (composition chimique, température, pH, osmolarité et pression). Les deux faces du tissu sont maintenues à 37 °C et oxygénées continuellement par un courant de carbogène (O₂ : 95 %, CO₂ : 5 %) maintenant le pH à 7,4.

Dans ces conditions il n'existe aucun gradient électrique de part et d'autre du tissu.

On dépose 10 μ g/mL d'antigène (β -Lg), ou 20 μ g/mL poudre de lactosérum natif du lait de vache ou des préparations lactées, dans le compartiment séreux de la chambre. Les différents paramètres électrophysiologiques sont alors mesurés dans un premier temps, toutes les minutes durant les cinq premières minutes, puis un fois toutes les cinq minutes, durant 15 minutes d'expérience.

Pour vérifier les mécanismes mis en jeu dans l'augmentation de l'activité sécrétoire de l'épithélium intestinal lorsque ce dernier est activé par l'antigène sensibilisant, nous avons testé l'action d'un agent diurétique, le furosémide, qui est un inhibiteur spécifique du système de cotransport 2 Cl⁻/Na⁺/K⁺ situé sur la membrane basolatérale. Le furosémide entraîne une déplétion de la cellule en Cl⁻ et donc une diminution de la sécrétion de chlore.

Pour cela, nous avons monté des fragments jéjunaux de souris immunisées à la β -Lg en chambre de Ussing et après stabilisation des paramètres électrophysiologiques de base, les tissus sont stimulés par du furosémide du côté séreux à la concentration de 10⁻⁵ M, puis le courant est mesuré toutes les minutes pendant cinq minutes. Les tissus ont été stimulés par la suite avec la protéine sensibilisante.

Pour vérifier l'intégrité structurale des fragments jéjunaux utilisés dans notre expérimentation, nous avons testé l'effet du glucose sur les versants muqueux et séreux de ces tissus à la fin des expériences. Le glucose a été déposé à la concentration de 10 mM.

2.6. Méthodes statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins erreur standard ($X \pm ES$). Les moyennes sont comparées à l'aide d'un test *t* de Student pour les données appariées et non appariées. L'analyse statistique est menée à l'aide d'un logiciel de statistique nommé STATISTICA (5.1.2006). L'analyse de la variance est effectuée avec le test Anova.

Le seuil de signification retenu est 5 %.

3. Résultat

3.1. Les résultats du dosage protéique

Les résultats du dosage protéique ($n = 6$) obtenus montrent que dans le lactosérum bovin natif, la teneur en protéines est de $6,86 \pm 1,28$ g/L. La teneur en protéines totales de la formule standard est de $10,21 \pm 1,30$ g/L, alors que celle de la formule extensivement hydrolysée est de $13,43 \pm 1,76$ g/L.

3.2. Test de provocation *in vitro* en chambre Ussing

Des fragments jéjunaux de souris sensibilisées à la β -Lg sont montés en chambre de Ussing et stimulés par le dépôt de la protéine sensibilisante β -Lg à la concentration de 10 μ g/mL dans le compartiment séreux. Une augmentation significative dans les valeurs de l' I_{sc} après dépôt de la β -Lg, qui passe des valeurs de bases de $47,60 \pm 5,24$ μ A/cm² à $65,26 \pm 5,71$ ($\Delta I_{sc} = 17,98 \pm 2,58$ μ A/cm², $p < 0,001$). En revanche, l' I_{sc} des tissus des animaux témoins, ne varie pas après stimulation de ces derniers avec la protéine sensibilisante (β -Lg) (Fig. 1).

Ces résultats suggèrent donc l'existence d'une réaction anaphylactique locale due à l'interaction directe de l'antigène sensibilisant avec le système immunitaire associé au tube digestif.

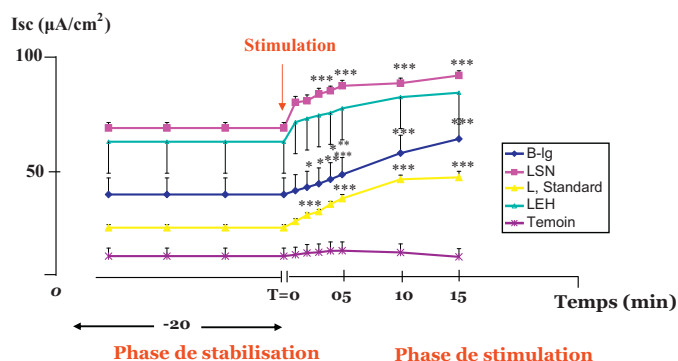


Fig. 1. Effet de la β -Lg, le lactosérum bovin natif, le lait standard et le lait extensivement hydrolysé sur le courant de court circuit (I_{sc}) des fragments jéjunaux de souris sensibilisées à la β -Lg ($n = 10$). Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs standards. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Le dépôt du lactosérum du lait de vache à la concentration de 20 µg/mL dans le compartiment séreux stimule l'augmentation de l'Isc des tissus des animaux sensibilisés à la β-Lg, les valeurs de bases passent de $68,73 \pm 1,72 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ à $85,41 \pm 1,52$ ($\Delta\text{Isc} = 16,68 \pm 0,70$ $p < 0,001$). Ces résultats suggèrent l'existence d'une réaction anaphylactique locale due à l'interaction directe de l'antigène sensibilisant avec les muqueuses des fragments jéjunaux (Fig. 1).

Le dépôt de 20 µg/mL de chaque lait infantile dans le compartiment séreux des tissus des animaux sensibilisés à la β-Lg provoque une augmentation très significative de l'Isc. Pour la préparation standard, les valeurs de bases passent de $37,02 \pm 0,96 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ à $53,03 \pm 1,93$ ($\Delta\text{Isc} = 16,30 \pm 1,48$ $p < 0,001$), et de $64,37 \pm 9,22 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ à $79,97 \pm 9,28$ ($\Delta\text{Isc} = 16,19 \pm 2,99$ $p < 0,001$) pour le lait extensivement hydrolysé (Fig. 1).

3.3. L'augmentation du courant de court circuit (ΔIsc)

Les valeurs de ΔIsc pour la protéine allergisante β-Lg, le lactosérum bovin natif, le lait standard et le lait extensivement hydrolysé sont représentées dans le Tableau 1.

3.4. Effet sur la conductance (G)

Nous avons mesuré les variations de la conductance (G) après stimulation des fragments jéjunaux des souris sensibilisées à la β-Lg avec la protéine sensibilisante et le lactosérum bovin natif et avec les deux laits infantiles (standard et extensivement hydrolysé). Les résultats indiquent une augmentation significative de la conductance (G) pour les tissus sensibilisés après dépôt de l'antigène sensibilisant β-Lg ($p < 0,001$). L'augmentation de la conductance est significative après dépôt du lactosérum du lait de vache sur les tissus sensibilisés à la β-Lg ($p < 0,001$).

Le dépôt des deux laits infantiles provoque aussi une augmentation de la conductance (G) sur les muqueuses des souris sensibilisées à la β-Lg, pour la préparation standards ($p < 0,001$) et pour le lait extensivement hydrolysé ($p < 0,01$) (Tableau 2). Cette augmentation de la conductance traduit probablement une altération de la barrière intestinale chez les

Tableau 1

Les valeurs de ΔIsc (courant de court circuit) des tissus sensibilisés à la β-Lg et stimulés avec la protéine sensibilisante β-Lg, lactosérum bovin natif, les préparations infantiles (standard et extensivement hydrolysé) ainsi que celles des témoins.

ΔIsc (µA/cm ²)	
<i>Souris témoins (n = 6)</i>	
ΔIsc β-Lg	$2,03 \pm 0,62$
ΔIsc LSN	$0,71 \pm 0,59$
ΔIsc Lait standard	$3,30 \pm 0,47$
ΔIsc Lait extensivement hydrolysé	$1,42 \pm 1,15$
<i>Souris immunisées à la β-Lg (n = 10)</i>	
ΔIsc β-Lg	$17,98 \pm 2,58$
ΔIsc LSN	$16,68 \pm 0,70$
ΔIsc Lait standard	$16,30 \pm 1,48$
ΔIsc Lait extensivement hydrolysé	$16,19 \pm 2,99$

$\Delta\text{Isc} = \text{Isc}(t_{15}) - \text{Isc}(t_0)$. T_0 : temps avant la stimulation du tissu ; T_{15} : après 15 minutes de stimulation.

animaux sensibilisés. En revanche, pour les témoins aucune variation significative de ce paramètre n'a été enregistrée.

3.5. Effet du furosémide

Les résultats ont montré que lorsque le furosémide (Fig. 2) est ajouté dans le compartiment séreux, l'Isc ne varie pas et reste comparable avec les valeurs de base. Le dépôt de l'antigène sensibilisant dans le versant séreux ne produit aucune variation de l'Isc. Ces résultats impliquent que le courant de court circuit induit par l'antigène sensibilisant est bien un courant de chlore.

3.6. Effet du glucose

Les résultats (Fig. 2) montrent une augmentation très significative de l'Isc ($p < 0,001$). Cela indique que les tissus sont bien conservés et gardent leur intégrité structurale et fonctionnelle. Et que le furosémide n'a pas un effet toxique et qu'il n'interfère pas avec le mécanisme d'action de glucose. Donc les processus de cotransport glucose- Na^+ ainsi que l'activité de la pompe Na^+/K^+ ATP ase ne sont pas altérés.

Tableau 2

Effet en chambre de Ussing de la protéine sensibilisante (β-Lg) et du lactosérum du lait de vache ainsi que les deux laits infantiles standard et extensivement hydrolysé sur la conductance (G) des fragments de jéjunum de souris sensibilisées à la β-Lg.

		G (mmho/cm ²)			
		B-Lg (n = 10)	LS bovin (n = 10)	Lait standard (n = 10)	Pepti junior (n = 10)
Témoin	T_0	$23,48 \pm 3,95$	$18,69 \pm 1,84$	$27,64 \pm 0,81$	$22,88 \pm 3,87$
	T_{15}	$26,008 \pm 4,38$	$21,31 \pm 1,99$	$30,89 \pm 1,27$	$26,79 \pm 3,35$
p		NS	NS	NS	NS
Sensibilisé à la β-Lg	T_0	$23,43 \pm 2,21$	$20,85 \pm 0,55$	$24,47 \pm 1,25$	$25,38 \pm 2,26$
	T_{15}	$28,90 \pm 2,35$	$27,01 \pm 0,71$	$30,78 \pm 1,17$	$31,61 \pm 2,04$
p		$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,01$

Les valeurs rapportées sont des moyennes et leurs erreurs standard recueillies au temps T_0 au moment de la stimulation des tissus par la protéine sensibilisante (β-Lg) et par le lactosérum du lait de vache ainsi que par le lait standard et le lait extensivement hydrolysé et après 15 minutes de la stimulation. NS : Non significatif ; n : nombre de tissus.

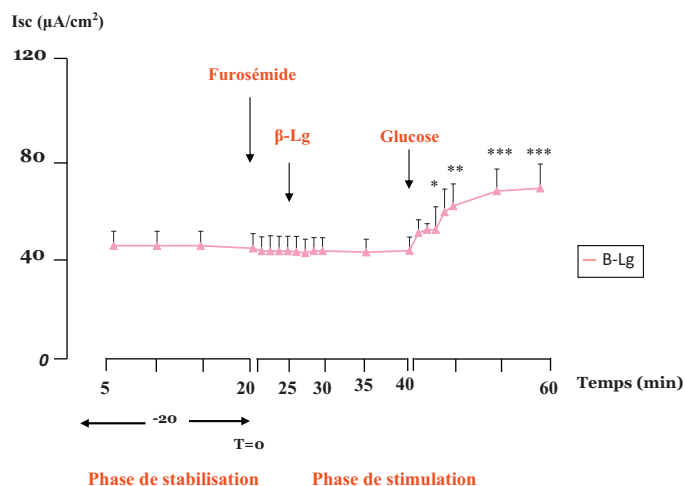


Fig. 2. Effet de la β -Lg sur le courant de court circuit (Isc) mesuré en chambre de Ussing sur des fragments jéjunaux de souris sensibilisées à la β -Lg préalablement incubé par le furosémide ($n = 6$). Les valeurs rapportées sont des moyennes et leurs erreurs standards. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4. Discussion

L'utilisation prolongée d'un lait HA ou d'un hydrolysat extensif de protéines est recommandée à condition qu'ils aient fait la preuve de leur efficacité par des études contrôlées. Le comité de nutrition de la société française de pédiatrie regrette que beaucoup de produits commercialisés hypoallergéniques n'aient fait l'objet d'aucune étude et que ces produits puissent être autorisés sur le marché avec cette allégation. C'est la raison pour laquelle ce travail a été entrepris, afin de contrôler la qualité d'un lait extensivement hydrolysé, en comparant son allergénicité avec celles d'un lait standard et des protéines du lactosérum bovin natif à l'aide d'un modèle animal (souris Balb/c) sensibilisé avec la β -lactoglobuline, la protéine allergisante majeure des protéines du lait de vache.

Après le dosage protéique des différents échantillons (lait standard, lait extensivement hydrolysé), les résultats obtenus concordent avec ceux mentionnés sur l'étiquetage, par l'industrie. La teneur en protéines des deux laits est proche de la concentration protéique du lait maternel comprise, entre 8 et 12 g/L, est nettement inférieure à celle des autres mammifères [6]. Néanmoins, cette concentration est parfaitement adaptée aux besoins du nourrisson en raison d'une excellente absorption et d'une parfaite adéquation du profil de ses acides aminés.

On a évalué le degré d'allergénicité des préparations lactées infantiles (standard et extensivement hydrolysé), afin d'approcher l'interaction in vitro, des protéines du lait standard et extensivement hydrolysé, ainsi que les protéines du lactosérum bovin natif avec la muqueuse intestinale des souris Balb/c sensibilisées par voie parentérale avec l'allergène majeur incriminé dans l'APLV (β -Lg). Cela en précisant sur le plan fondamental l'effet de ces protéines sur les paramètres électrophysiologiques de l'intestin, à savoir : la différence de potentiel (PD, mV), le courant de court circuit (Isc, μ A/cm²) et la conductance du tissu (G, mmho, cm²).

Dans nos résultats, il est clair que l'ajout de l'antigène (β -Lg) au versant séreux des jéjunums des souris immunisées à la

β -Lg, montés en chambre de Ussing, modifie les paramètres électrophysiologiques en augmentant significativement le courant de court circuit.

Nos résultats concordent, avec ceux rapportés par la littérature [7–9]. Ces études ont montré l'augmentation significative du courant de court circuit après la mise en contact de l'antigène sensibilisant avec les fragments intestinaux montés en chambre de Ussing. On peut traduire cette augmentation de l'Isc par le fait que la β -Lg agit sur les tissus des animaux sensibilisés en augmentant la sécrétion électrogénique de Na^+ et Cl^- , qui serait l'une des conséquences du passage des allergènes intacts ou presque à travers l'épithélium intestinal.

Nos résultats ont aussi révélé, une stimulation significative de la conductance chez nos souris immunisées. Cela reflète une atteinte de l'épithélium intestinal au niveau des jonctions serrées des souris sensibilisées. Les réactions d'hypersensibilités immédiates suivies par la sécrétion d'ions sont initiées par l'interaction des antigènes aux anticorps IgE à la surface des cellules mastocytaires de la muqueuse intestinale, en libérant des médiateurs (histamine, cytokines...) qui agissent sur des récepteurs se trouvant à la surface des cellules épithéliales [10,11]. Pour faciliter d'un côté, le passage des macromolécules au niveau des jonctions serrées [12] et augmenter la production des immunoglobulines spécifiques aux protéines du lait d'un autre. La β -Lg contribue de manière significative à l'allergénicité globale du lait de vache [13].

Le dépôt du lactosérum bovin natif et le lait standard sur les fragments de souris sensibilisées à la β -Lg stimulent le courant de court circuit, cela se traduit par une fixation de l'antigène (β -Lg) sur les IgE fixés sur les mastocytes, lymphocytes, les plaquettes et la provocation d'une réaction anaphylactique locale au niveau des tissus des souris sensibilisées.

L'interaction du lait extensivement hydrolysé avec les muqueuses de souris sensibilisées montre que les peptides du lait extensivement hydrolysé stimulent le courant de court circuit (Isc). Nos résultats pourraient être expliqués par l'interaction entre les peptides de faibles poids moléculaires et les IgE sériques anti β -Lg. En effet ces peptides peuvent contenir dans leurs séquences des épitopes allergéniques. Selo et al. [14] ont montré que l'allergénicité de la β -Lg n'était pas directement liée à sa résistance à la digestion ni associée à l'intégrité de la molécule. Au contraire, la protéolyse de la β -Lg peut augmenter son allergénicité en révélant des épitopes masqués au sein de la structure tertiaire de la protéine. Alors, nos résultats montrent qu'aucune différence significative n'est enregistrée en ce qui concerne l'augmentation du courant de court circuit (Isc), entre la protéine sensibilisante (β -Lg), le lactosérum bovin natif, le lait standard et le lait extensivement hydrolysé. Donc le degré du pouvoir allergénique et la capacité de produire une réaction anaphylactique locale pour le lactosérum bovin, lait standard, lait extensivement hydrolysé sont pareils et aucune différence n'est enregistrée.

Nos résultats concordent avec ceux de [15] qui ont montré que l'analyse de quatre études comparant l'utilisation d'un hydrolysat extensif à celle d'un lait standard ne met en évidence aucune différence significative en ce qui concerne la survenue de manifestations allergiques, d'asthme, d'eczéma, de rhinite

allergique ou d'allergie alimentaire. Quatre autres études retenues, comparant l'utilisation prolongée d'un hydrolysate extensif à celle d'un hydrolysate partiel, a conclu également à l'absence de différence, sauf pour la survenue d'allergie alimentaire, au profit des hydrolysats extensifs.

Une étude multicentrique contrôlée, randomisée sur 2252 enfants ayant des antécédents atopiques familiaux (German infant nutritional intervention study GINI) a comparé l'effet préventif de différentes formules, dans cette étude la supériorité préventive d'un hydrolysate poussé de protéines (Nutramigen[®], hydrolysats de caséine) était observée, puisque l'ensemble des manifestations allergiques diminuaient quels que soient les antécédents dans la famille, mais une autre formule Pepti junior (Nutricia[®]), hydrolysats de protéines du lactosérum n'ayant aucun effet préventif.

Les résultats de l'étude GINI ont été confirmés avec une diminution, chez les enfants à risque de l'incidence de la dermatite atopique avec le Nutramigen[®] (hydrolysats de caséine) et le Nidal HA[®]. En revanche, aucune différence n'est observée avec le Pepti junior[®] [16]. Des cas d'allergie, ont été décrits avec des hydrolysats de protéines du lactosérum tels que Pepti junior[®] et Prégomine[®] [17,18], et les prick-tests sont clairement positifs. Une recherche [2], de sensibilisation croisée par prick-tests chez 37 enfants avec APLV montre une fréquence de sensibilisation croisée de 24 % pour Pepti junior[®], 9 % pour Pregestimil[®], 3,4 % pour Alfaré[®], et 2,8 % pour Prégomine[®].

5. Conclusion

Les peptides de faible poids moléculaire du lait extensivement hydrolysé étudié, semblent toujours conserver un potentiel allergisant significatif. Chez les souris Balb/c.

Donc l'allaitement maternel exclusif reste la meilleure recommandation pour prévenir l'apparition de manifestations allergiques chez un nourrisson allergique. Si l'enfant n'est pas allaité ou que la mère ne peut plus ou ne souhaite plus allaiter, le premier choix est une préparation à base d'hydrolysate extensif (eHF) de protéines du lait de vache (PLV), sous réserve que son efficacité ait été démontrée. En cas d'échec de l'eHF, une préparation d'acides aminés est justifiée. Les eHF de protéines de riz constituent une alternative aux eHF d'origine animale.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Dupont C. L'allergie aux protéines du lait de vache (APLV). *J Pediatr Pueric* 2008;21:156–7.
- [2] Moneret-Vautrin DA, Hatahet R, Kanny G. Hydrolysats de protéines : laits hypoallergéniques et formules extensivement hydrolysées. Bases immunoallergologiques de leur utilisation dans la prévention et le traitement de l'allergie au lait. *Arch Pediatr* 2001;8:1348–57.
- [3] Pétrus M, Lacrampe M, Villefranche C, Cossarizza G, Dutau G. Allergie aux protéines du lait et aux hydrolysats de protéines de lait : à propos d'une observation au diagnostic retardé. *Rev F Allergol Immunol Clin* 2006;46:416–8.
- [4] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:193–251.
- [5] Ussing HH, Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuit isolated frog skin. *Acta Physiol Scand* 1951;25:110–27.
- [6] Turck D, Comité de nutrition de la société française de pédiatrie. Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Arch Pediatr* 2005;12:145–65.
- [7] Yang PC, Berin MC, Yu LCH, Conrad DH, Perdue MH. Enhanced intestinal transepithelial antigen transport in allergic rats is mediated by IgE and CD23 (FcεRII). *J Clin Invest* 2000;106:879–86.
- [8] Addou S, Tomé D, Kheroua O, Saidi D. Parenteral immunization to β-lactoglobulin modifies the intestinal structure and mucosal electrical parameters in rabbit. *Inter Immunophar* 2004;4:1559–63.
- [9] Saidi D, Heyman M, Kheroua O, Boudraa G, Bylsma P, Kerroucha R, et al. Jejunal response to beta-lactoglobulin in infants with cow's milk allergy. *CR Acad Sci III* 1995;318:683–90.
- [10] Rance F. Lymphocytes T et allergie alimentaire. *Rev F Allergol Immunol Clin* 2007;47:214–8.
- [11] Merja N, Sirpa J, Marja-Leena L, Hans S, Soili M-K, Johanna MK, et al. Molecular interactions between a recombinant IgE antibody and the β-Lactoglobulin allergen. *Structure* 2007;15:1413–21.
- [12] Perdue MH. Mucosal immunity and inflammation III. The mucosal antigen barrier: cross talk with mucosal cytokines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1999;277:1–5.
- [13] Zeece M, Huppertz T, Kelly A. Effect of high-pressure treatment on in-vitro digestibility of β-lactoglobulin. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2008;9:62–9.
- [14] Selo I, Clement G, Bernard H, Chatel JM, Creminon C, Peltre G. Allergy to bovine β-lactoglobulin: specificity of human IgE to tryptic peptides. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1055–63.
- [15] Osborn DA, Sinn J. Formula's containing hydrolyzed protein for prevention of allergy and food intolerance in infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;4:CD003664.
- [16] Von Berg A, Koletzko S, Filipiak-Pitroff B. Certain hydrolyzed formulas reduce the incidence of atopic dermatitis but not that of asthma: three year results of the German infant nutritional intervention study. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:718–25.
- [17] Barau E, Dupont C. Allergy to cow's milk proteins in mother's milk or in hydrolyzed cow's milk infant formulas as assessed by intestinal permeability measurements. *Allergy* 1994;49:295–8.
- [18] Ammar F, De Boissieu D, Dupont C. Allergie aux hydrolysats de protéines. À propos de 30 cas. *Arch Pediatr* 1999;6:837–43.