



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com

Revue française d'allergologie xxx (2014) xxx–xxx

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Quelles farines pour les anaphylaxies à l'effort ?

Which flour for exercise-induced anaphylaxis due to wheat?

S. Denery-Papini

UR1268 Biopolymères, interactions, assemblages (BIA), Institut national de la recherche agronomique (Inra),
rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes, France

Résumé

La diversité génétique du blé peut être mise à profit pour sélectionner des blés ayant une teneur réduite en allergènes. Certains blés tendres possédant une translocation avec le seigle n'expriment pas les ω 5-gliadines qui sont les allergènes majeurs de l'anaphylaxie induite par l'effort (AIE) au blé. La réactivité des IgE de patients souffrant d'AIE au blé est fortement diminuée in vitro vis-à-vis des extraits gliadines de ces blés, néanmoins une réactivité résiduelle persiste, notamment vis-à-vis des sous-unités gluténines de faibles poids moléculaire (PM). La protéine de transfert de lipide (LTP) est également impliquée dans un petit nombre d'AIE au blé. Les patients allergiques pourraient être tentés de consommer des espèces de blé anciennes (engrain ou petit épeautre, épeautre ou Kamut®); cependant, comme les blés actuels, elles expriment les ω 5-gliadines et d'autres allergènes. Il n'y a donc pas de farine qui puisse être consommée actuellement par des patients allergiques au blé avec une AIE.
© 2014 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Anaphylaxie induite par l'effort ; Diversité génétique du blé ; ω 5-gliadines ; Sous-unités gluténines ; Protéine de transfert de lipide

Abstract

The genetic diversity of wheat may be used for the selection of wheat species with a lower content of allergens. The major allergens in exercise-induced anaphylaxis (EIA) due to common wheat, ω 5-gliadins, are not expressed in some bread wheat varieties carrying a translocation with rye. For patients suffering from EIA, in vitro IgE reactivity to gliadins extracted from these varieties with the translocation is greatly decreased; however, residual reactivity remains, mainly due to low Mr glutenin subunits. Lipid transfer protein (LTP) can also be involved in a few cases of EIA due to wheat. Allergic patients may be tempted to eat older wheat species (such as einkorn, spelt or Kamut®); however, these wheat species are not devoid of ω 5-gliadins or other wheat allergens. Consequently, there is currently no wheat flour, which is completely safe for wheat-sensitive patients who suffer from EIA.

© 2014 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords : Exercise-induced anaphylaxis; Wheat allergy; Wheat genetic diversity; ω 5-gliadins; Glutenin subunits; Lipid transfer protein

1. Introduction

L'allergie alimentaire au blé est impliquée dans 7,3 % des anaphylaxies alimentaires sévères (statistiques du Réseau d'allergo-vigilance 2002–2010). L'anaphylaxie induite par l'effort (AIE) est une forme fréquente de l'allergie au blé chez l'adulte qui se déclenche après consommation de blé, suivie d'un effort (moins de 4 h après).

Le seul traitement est un régime d'éviction, qui est très contraignant dans le cas du blé qui entre dans la composition de

nombreux aliments et produits industriels. Les alternatives proposées aux patients sont des produits « sans gluten » ou « sans blé » préparés à base de maïs, riz, pomme de terre... qui ne possèdent pas les propriétés sensorielles ou nutritionnelles des pains, pâtes, biscuits... à base de blé. Les tentatives pour réduire par voies enzymatique ou chimique l'allergénicité du blé ne sont pas convaincantes actuellement du fait de la perte de l'aptitude à la panification des farines et de l'apparition, dans certains cas, de néo-épitopes.

La diversité génétique existant entre les espèces et variétés de blé est très large. Cette diversité induit une variabilité importante dans les séquences de certaines protéines ainsi que des variations quantitatives. Différents projets menés à l'Inra

Adresse e-mail : Sandra.denery@nantes.inra.fr.

ont eu comme objectif d'analyser la composition en allergènes de plusieurs espèces et variétés de blé. Cette voie a également été explorée pour tenter de trouver des variétés à teneur réduite en certains allergènes.

2. Les allergènes identifiés dans l'AIE liée au blé

L'intérêt des ω 5-gliadines (Tri a 19) pour le diagnostic de l'AIE a été bien documenté [1,2] mais dans certains cas, les IgE spécifiques de ces protéines sont négatives.

Sur une cohorte de 26 patients allergiques au blé souffrant d'AIE (recrutement au CHU d'Angers et au centre hospitalier d'Épinal), 73 % possèdent des IgE spécifiques des ω 5-gliadines en Elisa ; ces sérums réagissent également dans 40 % des cas vis-à-vis de sous-unités (SU) gluténines de faible poids moléculaire (FPM). Les réponses vis-à-vis de ces SU gluténines sont même plus fréquentes lorsque les sérums sont analysés en *western blot*, i.e. en conditions dénaturantes pour ces protéines. L'utilisation de protéines recombinantes confirme la reconnaissance des SU FPM dans l'AIE au blé [3].

La majorité des patients avec AIE au blé sans IgE spécifiques des ω 5-gliadines réagit vis-à-vis de la protéine de transfert de lipide (LTP) de blé (Tri a 14) [4]. Dans notre étude, cette réactivité correspond à 20 % des cas.

Sur les 26 patients, nous observons également un cas qui ne possède pas d'IgE spécifiques des ω 5-gliadines ou de la LTP mais qui réagit vis-à-vis de l'extrait albumines/globulines.

3. La diversité des blés

Une longue évolution naturelle des blés puis une domestication très ancienne ont permis la génération de différentes espèces qui peuvent être diploïdes (porteuses d'un génome A), tétraploïdes (porteuses des génomes A et B) ou hexaploïdes (génomes A, B et D). Les blés les plus cultivés et consommés dans le monde sont les blés tendres (*Triticum aestivum*, génomes A, B et D) utilisés en panification et biscuiterie et les blés durs (*Triticum durum*, génomes A et B) utilisés pour la fabrication de la semoule et des pâtes alimentaires. Des espèces de blés anciennes sont cultivées sur des surfaces réduites. Le blé engrain (*Triticum monococcum*, génome A, parfois appelé petit épeautre) est encore cultivé en France et en Italie ; l'épeautre (*Triticum spelta*, génomes ABD, parfois appelé grand épeautre) est produit en Belgique et en Suisse ; le blé poulard (*Triticum turgidum*, génomes A et B) était cultivé il y a environ un siècle ; le blé korozan (*T. turgidum*, ssp. *turanicum*, génomes A et B) est commercialisé sous la marque Kamut®. Les patients allergiques peuvent être tentés de consommer ces blés.

4. Des différences de composition en allergènes

Dans le cas des patients allergiques au blé avec une AIE, nous avons examiné en particulier la présence dans différents blés des allergènes ω 5-gliadines et SU gluténines FPM reconnus par la majorité des patients souffrant d'AIE.

Contrairement aux autres gliadines et gluténines qui sont codées par plusieurs dizaines de gènes regroupés en « cluster »

sur des chromosomes des génomes A, B et D, les gènes codant pour les ω 5-gliadines n'ont été identifiés qu'au locus Gli-B1 situé sur le bras court du chromosome 1B. Il est donc possible dans ce cas plus simple de rechercher des variétés de blé ne possédant pas ce locus ou possédant un allèle nul à ce locus.

Nous avons analysé des variétés de blé tendre sélectionnées à l'Inra de Clermont-Ferrand (G. Branlard) pour l'absence potentielle d' ω 5-gliadines :

- deux variétés transloquées 1BL/1RS pour lesquelles le bras court du chromosome 1B du blé est substitué par celui du seigle (1RS) et qui expriment certaines protéines du seigle à la place des ω 5-gliadines ;
- une variété sélectionnée sur la base de marqueurs génétiques comme portant un allèle nul au locus Gli-B1.

Nous avons également analysé des variétés issues de quatre anciennes espèces de blé possédant un nombre variable de chromosomes : engrain (*T. monococcum*), poulard et Kamut® (*T. turgidum*) et épeautre (*T. spelta*). Les engrains ne disposent pas du locus Gli-B1 puisqu'ils ne possèdent que le génome A. Les autres blés possédant le génome B doivent donc exprimer les ω 5-gliadines mais avec des variations de séquences donc de reconnaissance possibles. Des blés tendres Apache (cultivé actuellement) et Soisson ont servi de référence (Tableau 1).

4.1. Analyse des blés tendres transloqués et Gli-B1 nul

Dans les deux variétés transloquées avec le seigle, on ne détecte plus d' ω 5-gliadines. Par contre, de façon surprenante, la lignée Gli-B1 nul malgré l'absence d'un allèle connu codant pour ces allergènes exprime toujours une bande d' ω 5-gliadine détectée par des anticorps spécifiques et des IgE de patients. Pour les deux variétés transloquées, les réponses des IgE de patients vis-à-vis des extraits gliadines en *western blot* ou Elisa sont fortement réduites, voire abrogées (Fig. 1) [5]. Les protéines de seigle exprimées dans ces variétés ne sont donc pas ou peu

Tableau 1
Différents types de blés analysés pour leur composition en allergènes.

Type de blé	Variété	Génomes	Présence du locus Gli-B1 codant pour les ω 5-gliadines
Blé tendre	Apache	ABD	Oui
Blé tendre	Soisson	ABD	Oui
Blé tendre transloqué	Clément	ABD avec 1BL/1RS	Non
Blé tendre transloqué	Caribou	ABD avec 1BL/1RS	Non
Épeautre	Altgo	ABD	Oui
Épeautre	Blanc sans barbe	ABD	Oui
Blé tendre Gli-B1 nul		ABD	Non
Poulard d'Auvergne		AB	Oui
Poulard de Beauce		AB	Oui
Kamut®		AB	Oui
Engrain	Pays de Sault	A	Non
Engrain	Dubkovsky	A	Non

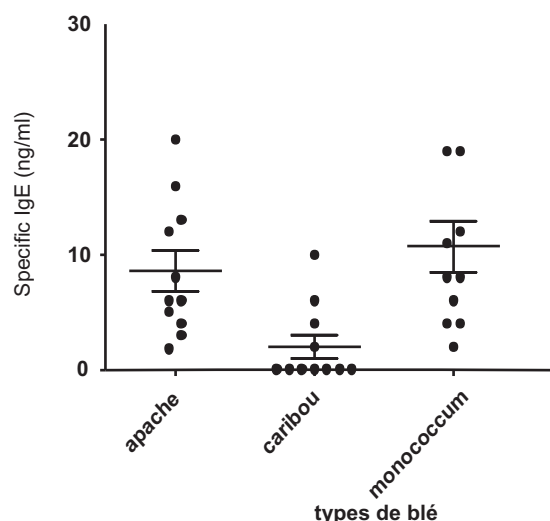


Fig. 1. Comparaison des concentrations en IgE spécifiques mesurées vis-à-vis des extraits gliadines des variétés Apache (blé tendre), Caribou (blé tendre transloquée) et *monococcum* (Engrain) pour des sérums de patients allergiques au blé avec des symptômes sévères.

reconnues par ces sérums. Les quantités de gluténines extraites à partir des blés transloqués sont inférieures à celles des blés tendres à cause de l'absence d'un locus se trouvant aussi sur le bras court du chromosome 1B et codant pour de nombreuses SU FPM. De ce fait, on observe également des réponses IgE légèrement plus faibles vis-à-vis de la fraction gluténines pour ces blés par rapport aux blés tendres de référence.

Parmi les blés tendres, la translocation 1BL/1RS permet donc de réduire fortement in vitro la réactivité des IgE de patients allergiques au blé souffrant d'AIE, mais elle ne permet pas d'abroger totalement cette réponse.

4.2. Analyse des engrains

Les engrains (*T. monococcum*) dépourvus de chromosome 1B possèdent pourtant des protéines très bien reconnues par des anticorps spécifiques des ω 5-gliadines ainsi que par les IgE des patients (Fig. 1). Des allergènes de type ω 5-gliadines peuvent donc être exprimés par d'autres gènes que le locus Gli-B1 et sur d'autres chromosomes que ceux du groupe B. Par contre, comme dans les blés transloqués, les sous-unités gluténines de faible PM sont moins exprimées et la réponse de sérums de patients est plus faible sur les extraits gluténines de l'engrain que sur ceux des blés tendres de référence.

4.3. Analyse des épeautres, des poulards et du Kamut®

Les teneurs en gliadines des épeautres et du Kamut® sont supérieures à celles des blés tendres. Les ω 5-gliadines sont détectées dans tous ces blés, par des anticorps spécifiques et par les sérums de patients. Les teneurs en gluténines et la reconnaissance des SU FPM par des anticorps spécifiques et les IgE des patients sont comparables à celles des BT, même si on observe des différences dans la mobilité des bandes reconnues.

4.4. Réalisation de tests cutanés

Des tests cutanés ont été réalisés pour examiner la réactivité de patients allergiques au blé vis-à-vis de farines provenant d'un engrain (Pays de Sault), d'une variété transloquée (Caribou) en comparaison avec le blé tendre couramment cultivé (Apache). Parmi ces patients, un petit nombre souffrait d'AIE au blé, pour lesquels aucune différence n'a été observée entre les trois farines. La forte baisse de réactivité observée in vitro dans le cas du blé transloqué Caribou n'est donc pas suffisante pour observer un effet en test cutané. En l'absence d' ω 5-gliadines, d'autres allergènes et particulièrement les sous-unités gluténines de FPM induisent une activation des mastocytes cutanés.

5. Conclusion

Il n'y a donc pas de farine qui puisse être consommée actuellement par des patients allergiques au blé avec une AIE, même si certains génotypes de blé sont dépourvus des allergènes majeurs ω 5-gliadines liés à cette pathologie. La variété de tendre transloquée Caribou était un candidat intéressant, car en plus de l'absence d' ω 5-gliadines, elle présentait une bonne qualité boulangère.

Nos travaux confirment l'implication d'autres allergènes (sous-unités gluténines FPM, LTP) dans cette pathologie. L'élimination de ces différents allergènes paraît compliquée. Alors que les ω 5-gliadines sont des protéines mineures (moins de 5 %) de la farine de blé et impactent peu son aptitude à la panification, les sous-unités gluténines FPM représentent au moins 20 % des protéines du gluten et jouent un rôle capital dans la formation du réseau de gluten nécessaire à la panification. De plus, elles font partie d'une famille multigénique et on ne sait pas à l'heure actuelle si seules certaines de ces sous-unités sont impliquées dans l'allergie au blé.

Les espèces de blé anciennes (engrain ou petit épeautre, épeautre ou Kamut®) ne sont pas non plus consommables par ces patients puisqu'elles expriment et parfois en quantité plus importantes que les blés tendres de référence, les ω 5-gliadines et d'autres allergènes. Par contre, l'analyse de la composition en allergènes de type albumines/globulines de ces blés montre des variations qui peuvent être importantes à la fois dans la présence de certains allergènes ou dans leur teneur globale [6].

Dans l'optique où une variété « sans ω 5-gliadines » aurait pu être consommée par les patients allergiques au blé souffrant d'AIE, une équipe d'agronomes de l'Inra (M. Le Bail et A. Barbottin) avait étudié la faisabilité de produire ces blés particuliers sans contamination par des blés classiques tout au long de la chaîne allant de leur culture à leur transformation. Sous réserve de s'assurer d'une pureté variétale des semences très forte, de respecter certains scénarios de production et de bannir les conduites culturales à risques (précédent blé et/ou non-labour), la production de petites quantités de blé dépourvues d' ω 5-gliadine en deçà des seuils de contamination maximum semblait possible. Une étude de marché avait indiqué que de tels produits représentaient une niche trop petite pour être rentable au niveau français mais correspondait à un marché de taille similaire déjà existant au niveau européen.

Déclaration d'intérêts

L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Remerciements

Les résultats présentés dans cet article sont issus d'un projet financé par le Programme de recherche en alimentation de l'Inra et d'un projet financé par l'ANR-08-ALIA-14 et ont bénéficié de la collaboration de plusieurs équipes :

- Inra de Nantes : F. Pineau, O. Tranquet, C. Larré, M. Piétri ;
- Inra de Clermont-Ferrand : G. Branlard et A. Faye ;
- service d'allergologie, centre hospitalier d'Épinal : Pr D.A. Moneret-Vautrin et Dr E. Beaudouin ;
- unité d'allergologie générale et de pneumologie, CHU d'Angers : Dr M. Drouet.

Les autorisations (2006-A00400-51 et 2008-A01565-50) ont été obtenues auprès de l'Afssaps.

Références

- [1] Matsuo H, Dahlstrom J, Tanaka A, Kohno K, Takahashi H, et al. Sensitivity and specificity of recombinant omega-5 gliadin-specific IgE measurement for the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergy* 2008;63(2):233–6.
- [2] Jacquenet S, Morisset M, Battais F, Denery-Papini S, Croizier A, et al. Interest of ImmunoCAP system to recombinant omega-5 gliadin for the diagnosis of exercise-induced wheat allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149(1):74–80 [Epub 2008 Nov 26].
- [3] Mameri H, Snegaroff J, Gohon Y, Pecquet C, Choudat D, et al. Immuno-globulin-e reactivity and structural analysis of wheat low-molecular-weight glutenin subunits and their repetitive and nonrepetitive halves. *J Agric Food Chem* 2012;60(30):7538–47.
- [4] Palacin A, Bartra J, Munoz R, Diaz-Perales A, Valero A, et al. Anaphylaxis to wheat flour-derived foodstuffs and the lipid transfer protein syndrome: a potential role of wheat lipid transfer protein Tri a 14. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152(2):178–83.
- [5] Denery-Papini S, Lauriere M, Branlard G, Morisset M, Pecquet C, et al. Influence of the allelic variants encoded at the Gli-B1 locus, responsible for a major allergen of wheat, on IgE reactivity for patients suffering from food allergy to wheat. *J Agric Food Chem* 2007;55(3):799–805.
- [6] Larre C, Lupi R, Gombaud G, Brossard C, Branlard G, et al. Assessment of allergenicity of diploid and hexaploid wheat genotypes: identification of allergens in the albumin/globulin fraction. *J Proteomics* 2011;74(8):1279–89.