



**HAL**  
open science

**Projet MANOE, Maîtrise Allergène NutritiOn Enfant.  
Etude de la réactivité de patients allergiques à des  
faibles doses d'allergènes (blé, œuf, lait, arachide).  
Détection et quantification des allergènes présents à  
faibles doses dans des matrices alimentaires complexes**

Olivier Tranquet, Valerie Echasserieau-Laporte, Hervé Bernard, Clair-Yves  
Boquien, Thomas Moyon, M. Drouet

► **To cite this version:**

Olivier Tranquet, Valerie Echasserieau-Laporte, Hervé Bernard, Clair-Yves Boquien, Thomas Moyon, et al.. Projet MANOE, Maîtrise Allergène NutritiOn Enfant. Etude de la réactivité de patients allergiques à des faibles doses d'allergènes (blé, œuf, lait, arachide). Détection et quantification des allergènes présents à faibles doses dans des matrices alimentaires complexes. Innovations Agronomiques, 2016, 52, pp.27-35. 10.15454/1.513583543955866E12 . hal-01652907

**HAL Id: hal-01652907**

**<https://hal.science/hal-01652907v1>**

Submitted on 30 Nov 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License

## **Projet MANOE, Maîtrise Allergène NutritiOn Enfant.**

### **Etude de la réactivité de patients allergiques à des faibles doses d'allergènes (blé, œuf, lait, arachide). Détection et quantification des allergènes présents à faibles doses dans des matrices alimentaires complexes.**

**Tranquet O.<sup>1</sup>, Echasserieau V.<sup>1</sup>, Bernard H.<sup>2</sup>, Boquien C.-Y.<sup>3</sup>, Moyon T.<sup>3</sup>, Drouet M.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> INRA, UR1268, Biopolymères, Interactions, Assemblages (BIA), Rue de la Géraudière, BP 71627, F-44316 Nantes Cedex 3

<sup>2</sup> INRA, UMR CEA-INRA SPI, Laboratoire d'ImmunoAllergie Alimentaire (IAA) CEA de Saclay, F-91191 Gif-sur-Yvette cedex

<sup>3</sup> INRA, UMR1280 PHAN, CRNH Ouest, Université Nantes, DHU2020, F- 44000 Nantes

<sup>4</sup> CHU d'Angers, Unité Allergologie Générale, F-49000Angers

**Correspondance :** Olivier.tranquet@nantes.inra.fr

### **Résumé**

En l'absence de seuils cliniques reconnus et de seuils réglementaires qui en découleraient, la gestion du risque allergène est insatisfaisante pour tous les acteurs concernés. Pour les industriels un risque avéré de contamination croisée à une dose très faible se doit d'être étiqueté même s'il apparaît de plus en plus clairement que la plupart des patients allergiques pourraient consommer cette dose sans y réagir. De leur côté, les patients se trouvent confrontés à de multiples messages d'avertissement sans consistance. Le projet MANOE s'est placé dans un contexte de seuils, cliniques et analytiques, pour voir : 1/ S'il était possible d'identifier les enfants tolérants de petites doses d'allergène ; 2/ Comment cette information de tolérance de faible dose d'allergène pourraient être transmise au patient ; 3/ Si les méthodes analytiques commercialisées permettaient de détecter et de quantifier une contamination à une faible concentration.

Appliqué à l'arachide, au blé, au lait et à l'œuf, un test oral de réintroduction a permis d'identifier les patients tolérants de petites doses et de faciliter l'acceptation d'un assouplissement de leur régime alimentaire. Les méthodes analytiques commercialisées se sont montrées capables de détecter des contaminations de 10 mg/kg mais pas de les quantifier dans le cas du lait, de l'arachide et de l'œuf.

**Mots-clés :** Allergie alimentaire, Seuils, Gestion du risque

### **Abstract: MANOE project: Children tolerance to low amount of allergen (wheat, egg, milk and peanut). Detection and quantification of allergens in processed matrices.**

In the absence of validated clinical thresholds and of subsequent regulatory thresholds, allergen risk management is not satisfactory for all stakeholders. For industry a real risk of cross contamination at a low level have to be labelled even though most of the allergic people might tolerate this low dose. On their side, patients faced multiple and inconsistent advised labels on food packaging. The MANOE project addressed this threshold issue to explore: 1/if it is possible to identify allergic children who tolerated low amount of allergen; 2/ how allergic people can be informed about their tolerance to low amount of allergen; 3/if commercial analytical methods are sensitive and quantitative to guaranty a risk of contamination below a threshold.

An oral challenge with low doses of peanut, milk, wheat or egg was designed and enabled the identification of patients who tolerated low amount of allergen and it facilitated acceptance of a less

restricted diet. Analytical methods detected all contaminations at 10 mg/kg but were not accurate for quantification of egg, milk and peanut notably in processed foods.

**Keywords:** Food allergy, Thresholds, Risk management

## 1. Introduction

### 1.1 Contexte

Les allergies alimentaires affectent aujourd'hui entre 2 et 10 % de la population (Nwaru et al., 2014 ; Zuidmeer et al., 2008). Il est difficile de mesurer l'évolution de son incidence au cours des dernières décennies car le recueil des données épidémiologiques sur les allergies n'ont pas été et ne sont pas systématiques (Sicherer, 2011). Par contre il apparait plus clairement que la prévalence de l'allergie alimentaire est en augmentation (Nwaru et al., 2013). Les symptômes provoqués par l'allergie alimentaire peuvent être sévères et même parfois létaux. Cette gravité impose un régime d'éviction qui est souvent lourd pour les enfants, leurs parents et la collectivité.

Cette prévalence en augmentation et le fait que les symptômes puissent être parfois très sévères ont conduits les pays industrialisés à mettre en place des réglementations sur l'étiquetage des allergènes. En Europe, 13 aliments, en plus des sulfites, font partie de cette liste d'Allergènes à Déclaration Obligatoires (ADO). Pour répondre à cette réglementation, les fournisseurs de matières premières et les industriels de l'agroalimentaire ont mis en place une évaluation du risque basée sur l'HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) qui a mis en évidence de nombreux risques de contaminations croisées dont les origines sont multiples, allant des lieux de production des matières premières jusqu'à l'emballage des produits finis, en passant par les chaînes de fabrication qui produisent plusieurs recettes sur les mêmes équipements.

La réglementation sur les ADO s'applique aux ingrédients volontairement introduits dans une recette et, contrairement au cas des contaminants ou dans d'autres contextes pathologiques, cette réglementation ne donne aucun seuil en deçà duquel l'étiquetage n'est plus nécessaire. Bien que hors du champ réglementaire, les risques de contaminations croisées révélés par la conduite d'un HACCP ne peuvent être ignorés en l'absence de seuils. Ces risques se sont ainsi traduits par l'étiquetage de mentions diverses et variées du type «peut contenir des traces de ...» ou «fabriqué dans un atelier utilisant ...» sans qu'il soit possible pour le consommateur d'évaluer le risque qu'il court ni de distinguer un étiquetage de prévention d'un étiquetage parapluie. La notion de trace est ainsi très floue et ne se réfère à aucune quantité précise. Une étude de 2013 visant à rechercher et doser des protéines de l'arachide dans des produits étiquetés avec des messages d'avertissement a montré que 8,6 % (16/186) des produits contenaient effectivement de l'arachide et que les concentrations présentes étaient comprises entre 3 et 510 mg/kg (Remington et al., 2013). L'absence de seuils réglementaires, qui résultent du manque de données concernant les seuils de réactivité des patients, est la principale raison de la multiplication de ces étiquetages de prévention.

Depuis la fin des années 2000, des données concernant les seuils de réactivité clinique, à l'échelle de groupe de patients allergiques, ont été publiées (Taylor et al., 2010). Ces travaux et leurs méta-analyses ont révélés que la plupart des patients tolèrent des quantités d'allergènes de l'ordre du mg. Passer de ces doses réactogènes à l'échelle du patient à un seuil réglementaire est cependant extrêmement complexe. Cela impose, pour chaque allergène, de modéliser à partir de données individuelles la réactivité à l'échelle d'une population allergique et de se baser sur des enquêtes de consommation pour connaître les quantités d'aliment consommées. Une approche probabilistique a ainsi été proposée en 2009 (Madsen et al., 2009). Cette approche s'appuie sur les courbes de réactivité pour une population allergique et les données de consommation des aliments susceptibles de contenir ces allergènes. Depuis 2010 des courbes de réactivité pour les allergènes les plus fréquents ont été publiées ( Taylor et al., 2014). Quand les données sont suffisantes, elles permettent de définir une dose

d'allergène en deçà de laquelle seul un pourcentage donné de la population allergique présentera des symptômes (ED, Eliciting Dose). Par exemple une ED05 de 7,3 mg de protéines a été déterminée pour l'arachide, c'est à dire que moins de 5% de la population allergique à l'arachide régira à une dose inférieure à 7,3 mg de protéines d'arachide (Taylor et al., 2010). Ces doses réactogènes ont été converties en seuils et intégrées dans des outils d'évaluation du risque comme VITAL2 qui propose de ne plus étiqueter d'avertissement quand le risque se situe en dessous de ces seuils réactogènes (ED01 ou ED05 selon les allergènes) (Taylor et al., 2014).

Plusieurs interrogations demeurent autour ces doses réactogènes et notamment :

- Quelle est la robustesse des seuils quand les patients ne sont plus dans un environnement hospitalier ?
- Comment le patient sait qu'il est « hypersensible » à un allergène ?
- Comment le patient peut-il distinguer un produit pour lequel le risque allergène a été géré en regard d'un seuil, d'un produit pour lequel le risque n'a pas été géré ? En effet, aucun des deux n'aura de message de prévention ou de signalétique particulière.

### 1.2 Le projet MANOE

Le projet MANOE est né de ces préoccupations autour des seuils. Financé par la Région des Pays de la Loire, labellisé par Nova Child et co-labellisé par le pôle de compétitivité Valorial, le projet MANOE a pour objectif de développer des produits alimentaires destinés à la population générale tolérés par la plupart des enfants allergiques à l'arachide, à l'œuf, au lait ou au blé. Ce programme a démarré en 2010 et s'est achevé en 2015. Pilotée par la composante analytique de la société Biofortis (Groupe Mérieux Nutrisciences), le projet MANOE a réuni 4 industriels de l'agroalimentaire (Charal, Sadac-Cyranie, Lactalis et Brioche Pasquier), des cliniciens (le CHU d'Angers et 11 autres centre hospitaliers), 4 équipes de recherches de l'INRA, du CNRS et d'Audencia, et l'AFPRAL une association de patients allergiques (<http://www.lenfantallergique.com/real2-manoe/manoe/>).

Le projet MANOE comprenait quatre volets :

- 1 - Un volet industriel visant à optimiser la gestion du risque « allergène » en entreprise afin de développer des produits alimentaires à teneur « maîtrisée » en allergène.
- 2 - Un module analytique visant à tester la fiabilité des méthodes de détection et de quantification des allergènes sur les matrices alimentaires des industriels, puis à développer ou optimiser ces méthodes.
- 3 - Un module clinique visant à évaluer la tolérance de petites doses d'allergènes chez une population de 400 enfants allergiques à l'arachide, à l'œuf, au lait ou au blé.
- 4 - Un module consommateur visant à mieux cerner les connaissances et les croyances des familles d'enfants allergiques. Basé sur des entretiens et des questionnaires, ce module a pour objectif d'évaluer les paramètres qui affectent l'acceptabilité et l'utilité de ces nouveaux produits où le risque est maintenu en dessous d'un seuil.

Selon les acteurs concernés, la problématique de seuils s'est déclinée en quatre questions :

- Quels sont ces seuils dans une population pédiatrique française ?
- Comment les fabricants peuvent-ils les utiliser ?
- Les méthodes de dosages des allergènes permettent-elles de les garantir ?
- Comment les patients perçoivent-ils les seuils ?

## 2. Résultats

### 2.1 Volet Clinique

Les conséquences de l'allergie alimentaire IgE dépendante sont potentiellement sévères, notamment avec certains aliments pour lesquels des accidents anaphylactiques mortels sont parfois rapportés. Les accidents allergiques après ingestion de doses infinitésimales ou traces semblent toutefois rares.

Un test de Réintroduction de Petites Doses (RPD) d'allergène-aliment a donc été défini. Il permet de tester 4 faibles doses croissantes d'allergène versus placebo dans le cadre d'une hospitalisation de jour et d'associer à une dose unique (et non au cumul de plusieurs doses) les éventuelles réactions allergiques. Alors qu'il était recommandé selon un protocole de consensus d'espacer 2 doses d'allergènes de 30 minutes (Taylor et al., 2004), il apparaissait de plus en plus clairement que les délais de réaction pouvaient être supérieurs à 1h. Ce délai a donc été allongé à plus d'1 heure dans l'étude MANOE. Les doses d'allergènes, de l'ordre du mg, choisies en 2009 selon l'expérience et la pratique clinique du Dr. M. Drouet, se sont avérées correspondre aux doses n'affectant qu'un faible pourcentage de patients allergiques selon les courbes de réactivité de population allergiques publiées par la suite (Taylor et al., 2014). Un protocole d'essai clinique centré autour de ce test de RPD et visant à inclure 400 enfants allergiques à l'arachide, au lait, à l'œuf ou au blé, a ainsi été coordonné par l'Unité Allergologie Générale du CHU d'Angers. Dix centres hospitaliers français ont participé à cette étude, entre 2011 et 2015 (Unité Transversale d'Allergologie – CHU Tours, Service de Pédiatrie – CHU Nantes, Service de Pédiatrie – CHU Dupuytren Limoges, Hôpital Mère Enfant – CHU Lyon, Polyclinique de l'Ormeau – Tarbes, Service de Pédiatrie – CH Le Mans, Centre Régional d'Allergologie – CHU Poitiers, Service de Pédiatrie – CHU Rennes, Service de Pédiatrie – CH Niort, Hôpital Saint Vincent de Paul – Lille).

Les objectifs de cette étude étaient doubles. Le 1er objectif était individuel : un enfant tolérant de petites doses pouvait assouplir le régime alimentaire en consommant les traces potentiellement présentes dans les aliments pré-emballés fournis par les industries agro-alimentaires. Un tel assouplissement permettait d'autoriser divers aliments non consommés auparavant sans risque allergique et contribuer à une amélioration de la qualité de vie des patients et de leur entourage. Le 2<sup>ème</sup> objectif était collectif : connaître le nombre d'enfants dans une population allergique à un aliment susceptible d'être réactif à ces petites doses. Nous avons qualifié ces enfants d' « hyper-réactifs » par rapport aux enfants tolérants les petites doses qualifiés de « non hyper-réactifs »

#### **2.1.1 Recrutement et pourcentage d'enfant hyper-réactifs à l'arachide, au lait, à l'œuf et au blé**

281 enfants ont effectivement été inclus et soumis à un test de Réintroduction de Petites Doses dans les 11 centres hospitaliers.

- Pour l'arachide : 71 patients (71.7%) parmi 99 inclus ont toléré les petites doses d'arachide
- Pour le lait de vache : 67 patients (81.7%) parmi 82 patients inclus ont toléré les petites doses de lait de vache
- Pour le blanc d'œuf : 58 patients (75.3%) parmi 79 patients inclus ont toléré les petites doses de blanc d'œuf
- Pour la farine de blé : 18 patients (85.7 %) parmi 21 patients inclus ont toléré les petites doses de farine de blé

La sécurité du protocole est vérifiée par le peu d'effets secondaires et un faible nombre d'EIG (Effets Indésirables Graves) observés au cours des RPD. Pour l'instant, seuls les résultats concernant les patients allergiques à l'arachide ont été analysés dans le détail (publication en cours) et vont être brièvement présentés dans ce document. Les résultats détaillés des études œuf, lait et blé sont en cours d'exploitation

### **2.1.2 La RPD à l'Arachide**

Sur 102 enfants éligibles, 99 enfants ont été inclus. Dans ce groupe, 71 enfants ont toléré les 4 doses d'arachide et 28 ont présenté une réaction allergique d'intensité variable au cours de la RPD.

Parmi ces derniers, 7 n'ont reçu aucun traitement du fait de symptômes mineurs (douleurs abdominales ou réactions cutanées localisées), 19 ont dû être traités avec un antihistaminique, et 2 ont dû être hospitalisés pour surveillance clinique (également traité avec de l'épinéphrine). Les réactions sont survenues en moyenne 58 minutes après la dose réactogène.

Les patients tolérants la RPD et leurs parents ont bénéficié de conseils afin qu'ils puissent suivre un régime alimentaire d'éviction assoupli (traces autorisées). Trois mois plus tard, la mise en place réelle de l'assouplissement du régime a été évaluée soit au cours d'une consultation soit par enquête téléphonique. Nous avons également vérifié l'innocuité de ce régime assoupli. Parmi les 71 patients tolérants la RPD, 61 ont suivi les conseils de régime assoupli mais 10 n'ont pas modifié leurs habitudes alimentaires. Parmi les 61 enfants avec régime assoupli, 3 ont présenté une réaction allergique attribuée à l'ingestion de traces (5%). Trois autres enfants ont présenté une réaction allergique non due aux traces : pour 2 enfants il s'agissait d'un accident par contact et inhalation, et pour le 3ème enfant d'un accident par écart de régime (après consommation d'une sauce « saté », à base d'arachide).

## *2.2 Volet analytique*

Les méthodes de détection des allergènes sont les outils indispensables à l'évaluation et à la gestion du risque « allergène » dans les aliments. A ce jour, la réglementation sur l'étiquetage des allergènes ne comporte aucun seuil. Quand une méthode de dosage est mise en œuvre pour la gestion d'un risque allergène, son seuil de détection devient de facto le seuil imposant un étiquetage de prévention. Du fait d'une meilleure connaissance de la sensibilité clinique des patients allergiques, et afin de faciliter et diversifier leur choix en aliments acceptables pour eux, des seuils réglementaires de l'ordre de 1 à 10 mg/kg pourraient être mis en place. Dans ce contexte de seuil, les méthodes d'analyse se devront alors d'être suffisamment sensibles mais aussi précises et justes afin de quantifier les allergènes dans les aliments. Or, à ces très faibles niveaux de contamination, les performances des méthodes d'analyses peuvent fortement varier d'un aliment à l'autre et être altérées par les traitements technologiques, notamment la cuisson qui rend plus difficilement détectable et quantifiable certains allergènes (Khuda et al., 2012). Ainsi, pour évaluer les performances des méthodes de dosage, il est ainsi recommandé d'utiliser des matrices contaminées avant qu'elles ne subissent un traitement thermique plutôt que d'ajouter l'allergène après la cuisson de la matrice (Taylor et al., 2009).

### **2.2.1 Démarche MANOE**

La détection des allergènes peuvent donc être fortement impactée par les procédés de transformation des matières premières, Nous avons donc mis en place une méthodologie visant à évaluer les performances de différentes méthodes de dosage des protéines de l'arachide, du lait, de l'œuf ou du blé sur de vrais produits finis, dont les recettes sont complexes et qui ont été contaminés et fabriqués dans des installations industrielles. Ceci a été possible grâce à la participation de 4 partenaires industriels dans le projet : Sadac-Cyranie (fond de sauce), Charal (boulettes de viande), Brioche Pasquier (muffins et croissants) et Picot (biscuits et céréales infantiles). Les allergènes ont été volontairement ajoutés et mélangés avec l'ensemble des ingrédients en début de recette. Des lots de 5 à 50 kg de produits ont été fabriqués, avec 3 niveaux de contamination d'arachides grillées, de farine de blé, de lait en poudre ou de poudre de blanc d'œuf : 0, 10 et 1000 mg de protéine/kg de produit. En fin de recette, les produits ont été analysés de façon indépendante par 2 laboratoires de l'INRA (INRA-BIA et INRA-Laboratoire d'ImmunoAllergie Alimentaire), un laboratoire du CNRS (UMR 5553, Laboratoire d'écologie Alpine, université Joseph Fourier, Grenoble) et par la société Biofortis (Groupe Merieux

nutrisciences) afin d'évaluer la capacité de certaines méthodes commerciales disponibles à détecter et à quantifier de petites quantités d'allergènes.

Cette approche analytique s'est en fait divisée en 3 phases :

- En amont, la validation des produits contaminés en termes d'homogénéité de la contamination (Biofortis, INRA-BIA),
- L'évaluation des méthodes de dosages commercialisées (INRA et CNRS)
- En aval, l'amélioration des méthodes existantes ou le développement de nouvelles méthodes (INRA/CNRS).

En fin de projet, les méthodes optimisées ou spécifiquement développées sont diffusées auprès des partenaires du projet.

Au cours de ce projet, l'impact de la cuisson sur les performances de détection et de quantification des méthodes de dosages des allergènes ont ainsi pu être évaluées.

### **2.2.2 Homogénéité des matrices contaminées**

Bien qu'une attention particulière ait été portée au moment des contaminations volontaires, l'homogénéité des contaminations a été vérifiée sur les produits avant qu'ils ne soient chauffés et/ou conditionnés. Pour cela 10 prélèvements ont été effectués juste après la contamination. Les allergènes ont ensuite été dosés dans tous les prélèvements avec différents kits de dosages distribués par les sociétés R-Biopharm, Tepnel et ELISA system reposant toutes sur des méthodes immunochimiques de types ELISA sandwich (environ 900 dosages).

Indépendamment du résultat des dosages, ce sont les variabilités des dosages entre les 10 prélèvements qui ont été évaluées à cette étape. Chaque prélèvement a été dosé en duplicate et pour chaque couple matrice/allergène, le coefficient de variation (CV) des dosages de ces 10 prélèvements a été déterminé. Un CV inférieur à 25 % a été jugée comme suffisant pour considérer que la contamination volontaire s'est répartie de façon homogène dans l'ensemble du lot produit (Tableau 1).

**Tableau 1** : Variabilité de la contamination à 10 mg/kg en arachide, en lait, en blé ou en œuf. En Vert, CV < 25 %. En orange, CV >25 %. En gris, CV non déterminé sur le produit contaminé à 10 mg/kg mais inférieur à 25 % sur le même produit contaminé à 1000 mg/kg.

		Allergène			
<b>Cyranie</b>	Fond de sauce	Lait	Œuf	Blé	
<b>Charal</b>	Boulettes de viande	Lait		Blé	
<b>Brioche Pasquier</b>	Muffins nature	Lait			Arachide
	Muffins pépite	Lait			Arachide
	Croissants		Œuf		
<b>Picot</b>	Biscuits infantiles	Lait		Blé	
	Céréales infantiles	Lait			

L'homogénéité de la contamination à 10 mg/kg n'a pas pu être déterminée pour tous les allergènes, notamment les contaminations avec le lait car la méthode de dosage utilisée à cette étape s'est révélée

trop peu sensible pour ce niveau de contamination dans 5 des 6 matrices. Cependant les mêmes matrices contaminées à 1000 mg/kg (en gris dans le Tableau 1) se sont révélées contaminées de façon homogène (CV < à 25%). Par ailleurs, les matrices contaminées à 10 mg/kg de lait ont été simultanément contaminées avec du blé, de l'œuf et/ou de l'arachide dont la contamination à 10 mg/kg est homogène (CV <25%), suggérant donc que la contamination par le lait est également homogène. Le CV des dosages de lait dans les boulettes de viande a été mesuré à 33 % à partir des résultats de dosages de 7 prélèvements sur 10, 3 prélèvements donnant des résultats inférieurs à la limite de détection (LOD). Comme dans les autres cas de contamination avec le lait en poudre, la contamination à 1000 mg/kg des boulettes de viande a été homogène (CV<25%). Ces différents résultats nous ont permis de conclure que les 7 produits ont été contaminés de façon homogène.

### 2.2.3 Evaluation des méthodes de dosages des allergènes commercialisés

L'homogénéité des contaminations ayant été établie, les deux laboratoires INRA ont alors évalué les performances en termes de détection et de quantification des méthodes de dosages commercialisés sur les produits contaminés avant et après cuisson (Tableau 2 : INRA-IAA : arachide et lait, INRA-BIA : Blé et œuf). Compte tenu des mauvaises performances de la méthode de dosage du lait utilisée pour tester l'homogénéité des contaminations en lait, une autre méthode a été utilisée pour la suite du projet (R-Biopharm).

**Tableau 2** : Capacité à détecter une contamination à 10 mg/kg : en vert, résultat supérieur à la limite de détection, en rouge résultat inférieur à la limite de détection. Capacité à quantifier : en vert, résultat de quantification compris entre 7 et 13 mg/kg, en rouge, valeurs en deçà de 7 mg/kg ou au-delà de 13 mg/kg.

Allergène	produit	Détection		Quantification	
		Avant cuisson	Après cuisson	Avant cuisson	Après cuisson
Blé	Fond de sauce	✓		✓	
	Boulette de viande	✓	✓	✓	✓
	Biscuits	✓	✓	±	±
Arachide	Muffins nature	✓	✓	×	×
	Muffins pépite	✓	✓	×	×
Lait	Fond de sauce	✓		×	
	Boulette de viande	✓	✓	×	×
	Biscuits Infantiles	✓	×	✓	×
	Céréales Infantiles	✓	✓	×	✓
Œuf	Fond de sauce	✓		×	
	Croissant	✓	×	×	×



Avant cuisson des différentes matrices testées, tous les allergènes introduits à raison de 10 mg/kg sont détectés. Après cuisson, le blé et l'arachide sont toujours détectés, le lait l'est dans 2 produits sur 3, et l'œuf ne l'est plus du tout.

L'aptitude des méthodes à la quantification, c'est à dire à retrouver un niveau de contamination compris entre 7 et 13 mg/kg pour une valeur cible de 10 mg/kg a été déterminée. Elle est conforme dans 2 produits sur 3 pour le blé et n'est pas affectée par la cuisson. Dans le cas de l'arachide, du lait et de l'œuf et que ce soit avant ou après cuisson, les méthodes utilisées ne permettent pas une quantification juste.

### 3. Discussion

Le protocole de réintroduction aux petites doses s'est montré bien adapté pour identifier les patients qualifiés d' « hyper-réactifs » parmi une population d'enfants allergiques au blé, au lait, à l'œuf ou à l'arachide. Ce test de RPD a également permis de proposer aux enfants le supportant un régime autorisant la consommation de produits étiquetés avec des mentions d'avertissement. Dans le cas des enfants allergiques à l'arachide, 61 sur les 71 (soit 86%) à qui un régime assoupli a été proposé ont effectivement assoupli leur régime. Ceci démontre que le test de RPD a permis de rassurer parents et enfants vis-à-vis du risque de réaction allergique. Cependant, la consommation de produits avec traces ne signifie pas que les enfants ont réellement été exposés à des traces d'arachide au cours des 3 mois d'assouplissement. Tout dépend de la proportion et de la nature des produits comportant un risque de présence réellement consommé, certains produits contenant effectivement des traces d'arachide, d'autres non. Le fait que 3 enfants aient eu un accident allergique au cours d'une période de 3 mois montre que le risque de consommer de l'arachide à une dose réactogène dans le cadre de ce type de régime assoupli n'est pas négligeable mais il ne nous est pas possible de savoir si ce risque est augmenté par rapport à un régime excluant les produits avec des messages d'avertissement.

L'évaluation quantitative de l'exposition à un allergène donné dans des aliments portant des messages de risque doit reposer sur des méthodes analytiques quantitatives. Nous avons observés que les méthodes ELISA disponibles commercialement ne permettent pas de quantifier une contamination à 10 mg/kg de lait, d'œuf ou d'arachide dans les matrices produite par nos partenaires industriels. Dans le cas de l'œuf, la détection est même fortement impactée par la cuisson. L'évaluation du risque d'exposition à une quantité donné est donc délicate.

Cependant il est à noter que ce niveau de contamination à 10 mg/kg est détecté pour les 4 allergènes étudiés. Les méthodes ELISA commercialisées permettent donc de conduire un HACCP allergène répondant à la réglementation actuelle qui ne précise aucun seuil. Il pourra aussi être observé que dans le cas du blé, la quantification est acquise à 10 ppm. Or la quantification du gluten est aussi requise pour répondre à la réglementation sur les aliments destinés aux malades céliaques qui, elle, précise un seuil de 20 mg/kg en deçà duquel la mention « sans gluten » peut être apposée. Indépendamment du contexte pathologique (maladie céliaque versus allergie), on peut se demander si un seuil a pu être fixé parce que une méthode analytique permettait de le garantir ou si les méthodes sont devenues précises et fiables parce qu'un seuil réglementaire était imposé.

### Conclusion

Il apparait de plus en plus évident que des seuils réglementaires pour la gestion du risque allergène pourraient convenir à la plupart des patients allergiques. Les données permettant de définir des doses réactogènes protégeant 95% ou 99 % d'une population allergique sont de plus en plus fournies. La question de leur robustesse dans un contexte non hospitalier (Co facteurs, cumul de plusieurs petites doses) se pose maintenant. Le protocole de RPD mis en place dans le projet MANOE permet

d'identifier les patients hyper-réactifs qui devront toujours suivre un régime très contrôlé. La gestion du risque allergène avec des seuils impose aussi que les méthodes analytiques soient fiables et quantitatives. Or, les méthodes actuellement commercialisés ne le sont pas sur toutes les matrices alimentaires.

### Références bibliographiques

- Khuda S., Slate A., Pereira M., Al-Taher F., Jackson L., Diaz-Amigo C., Bigley E.C., Whitaker T., Williams K.M., 2012. Effect of Processing on Recovery and Variability Associated with Immunochemical Analytical Methods for Multiple Allergens in a Single Matrix: Sugar Cookies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (17) (May 2): 4195–4203. doi:10.1021/jf3001839
- Madsen C.B., Hattersley S., Buck J., Gendel S.M., Houben G.F., Hourihane J.O'B. , Mackie A., et al., 2009. Approaches to Risk Assessment in Food Allergy: Report from a Workshop developing a Framework for Assessing the Risk from Allergenic Foods". *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 47 (2)
- Madsen C.B., Hattersley S., Buck J., Gendel S.M., Houben G.F., O'B Hourihane J., Mackie A., 2009. Approaches to Risk Assessment in Food Allergy: Report from a Workshop developing a Framework for Assessing the Risk from Allergenic Foods. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 47 (2) (February): 480–9. doi:10.1016/j.fct.2008.12.001.
- Nwaru B.I., Hickstein L., Panesar S.S., Muraro A., Werfel T., Cardona V., Dubois A.E.J, et al., 2013. The Epidemiology of Food Allergy in Europe: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Allergy* 69 (1) (November 11): 62–75. doi:10.1111/all.12305.
- Remington B.C., Baumert J.L., Marx D.B., Taylor S.T., 2013. Quantitative Risk Assessment of Foods Containing Peanut Advisory Labeling. *Food and Chemical Toxicology* 62 (December): 179–187. doi:10.1016/j.fct.2013.08.030
- Sicherer S.H., 2011. Epidemiology of Food Allergy. *J Allergy Clin Immunol* 127 (3): 594–602. doi:S0091-6749(10)01868-3 [pii]10.1016/j.jaci.2010.11.044.
- Taylor S.L., Baumert J.L., Kruizinga A.G., Remington B.C, Crevel R.W.R., Brooke-Taylor S., Allen K.J., Houben G.F., 2014. Establishment of Reference Doses for Residues of Allergenic Foods: Report of the VITAL Expert Panel. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 63 (January): 9–17. doi:10.1016/j.fct.2013.10.032.
- Taylor S.L., Moneret-Vautrin D.A., Crevel R.W.R., Sheffield D., Morisset M., Dumont P., Remington B.C., Baumert J.L., 2010. Threshold Dose for Peanut: Risk Characterization Based upon Diagnostic Oral Challenge of a Series of 286 Peanut-Allergic Individuals. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 48 (3) (March): 814–9. doi:10.1016/j.fct.2009.12.013.
- Taylor S.L., Nordlee J.A., Niemann L.M., Lambrecht D.M., 2009. Allergen Immunoassays—considerations for Use of Naturally Incurred Standards. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395 (1) (September 30): 83–92. doi:10.1007/s00216-009-2944-0.
- Zuidmeer L., Goldhahn K., Rona R.J., Gislason D., Madsen C., Summers C., Sodergren E., et al., 2008. The Prevalence of Plant Food Allergies: A Systematic Review. *J Allergy Clin Immunol.* 121 (5): 1210–1218.e4. Epub 2008 Apr 18.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL ou son DOI).