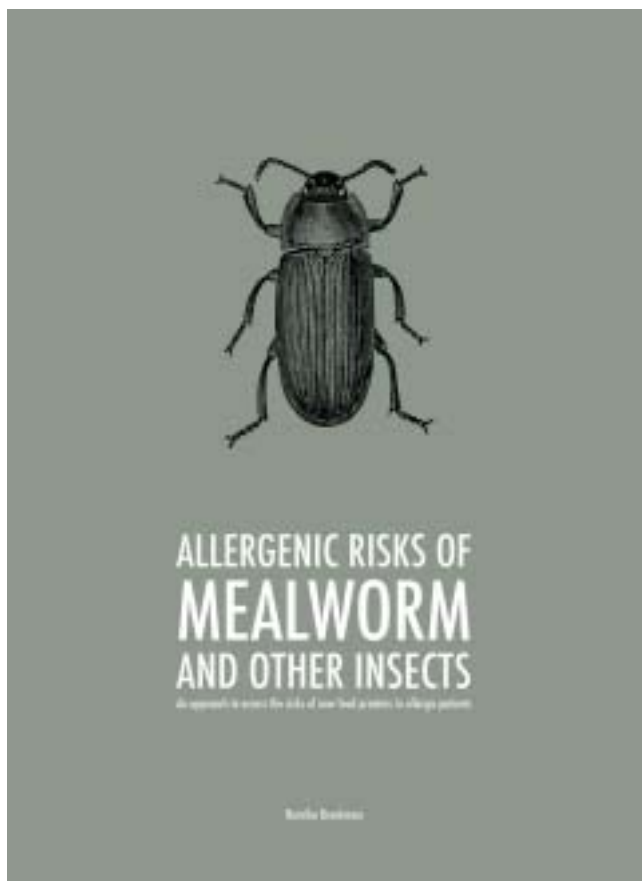




Allergenic risks of mealworm and other insects

H.C.H. Broekman

Op 23 mei 2017 promoveerde Henrike Broekman aan het UMC Utrecht op het proefschrift getiteld *Allergenic risks of mealworm and other insects. An approach to assess the risks of new food proteins in allergic patients*. Haar promotoren waren prof. dr. A.C. Knulst en prof. dr. C.A.F.M. Bruijnzeel-Koomen. De copromotoren waren dr. G.F. Houben en dr. K.C.M. Verhoeckx.



Nieuwe duurzame eiwitbronnen zijn nodig om de groeiende wereldbevolking te voeden en te zorgen voor zo min mogelijk belasting van het milieu. Wanneer nieuwe voedingsmiddelen op de markt worden gebracht voor consumptie door de mens, moeten ze voldoen aan diverse veiligheidseisen. Een van de veiligheidseisen is dat mogelijke allergeniciteit onderzocht moet worden. Dit staat in de richtlijnen voor nieuwe voedingsmiddelen, geregeld onder de *Novel food law*. Voedingsmiddelen vallen onder deze regeling wanneer ze voor mei 1997 nog niet

in substantiële mate in Europa werden genuttigd. Richtlijnen over hoe de beoordeling van allergeniciteit uitgevoerd moet worden ontbraken echter. Daarom is als onderdeel van dit proefschrift een gestructureerde aanpak opgezet die vervolgens is toegepast op een potentiële nieuwe eiwitbron, namelijk meelworm (*Tenebrio molitor*). Meelwormen behoren fylogenetisch tot de klasse insecten en zijn een voedzame en, in vergelijking met vlees, meer duurzame eiwitbron.

ALLERGENICITEITBEOORDELING

De eerste stap van de voorgestelde, gestructureerde aanpak voor allergeniciteitsbeoordeling bestaat uit het verzamelen van algemene informatie over de (potentiële) eiwitbron: de eventuele geschiedenis van blootstelling van de mens aan het product (in Nederland of daarbuiten). Daarnaast wordt mogelijke fylogenetische verwantschap (bijvoorbeeld zelfde fyllum of klasse) met bekende allergeenbronnen in kaart gebracht en vindt identificatie van de eiwitten en de vorm van toekomstig gebruik (zoals de manier van verwerken of bereiding en de hoeveelheid product die zal worden genuttigd) plaats. Uit het onderzoek bleek dat meelworm eiwitten bevat die veel overeenkomst vertonen met allergenen in onder andere garnaal, andere schaaldieren en huisstofmijt (HSM). Ook werd duidelijk dat meelworm in meerdere vormen geconsumeerd zou kunnen gaan worden: gefrituurd, gebakken, maar ook geblancheerd. Voor de vervolgstappen waren deze bevindingen van belang, omdat daaruit kon worden afgeleid wat de eventuele risicopopulaties (garnaal/HSM-allergische mensen) zijn. Dit hielp om de belangrijkste studiepopulaties voor het onderzoek naar allergeniciteit vast te stellen. Daarnaast kon worden afgeleid aan welke vorm de mensen blootgesteld zullen gaan worden, wat belangrijk is om de testextracten te definiëren (mogelijk zijn de verschillende eiwitten niet in iedere buffer oplosbaar).

In dit proefschrift is het effect van verschillende vormen van bereiding van meelworm op allergeniciteit onderzocht. Het onderzoek liet zien dat de mate van oplosbaarheid van verschillende belangrijke eiwitten (zoals tropomyosine en



Henrike Broekman wordt ontvangen door haar paranimfen en haar promotoren professor André Knulst en professor Carla Bruijnzeel-Koomen.

argininekinase), door de bereidingswijze werd beïnvloed, maar de allergeniciteit niet. Uit het onderzoek kwam duidelijk naar voren dat verschillende buffers nodig waren om zoveel mogelijk eiwitten en daarmee potentiële allergenen in oplossing te brengen om deze vervolgens te kunnen bestuderen. Het gebruik van alleen een waterige buffer kan leiden tot verkeerde conclusies, omdat na processing eiwitten onoplosbaar kunnen worden, maar nog steeds allergeen zouden kunnen zijn.

KRUISREACTIVITEIT

De volgende stap in de gestructureerde aanpak is het bepalen van mogelijke kruisreactiviteit. Omdat meelworm en garnaal fylogenetisch nauw verwant zijn en analogen van bekende allergenen in garnaal (tropomyosine en argininekinase) ook in meelworm werden aangetoond, lag het voor de hand om de mogelijke allergeniciteit van meelworm te onderzoeken bij garnaallallergische patiënten.

Ook hierbij werd een stapsgewijze aanpak gevolgd. Eerst werd nagegaan of garnaallallergische patiënten gesensibiliseerd waren voor meelworm, dat wil zeggen of er IgE-antistoffen die meelwormeiwitten herkenden, aanwezig waren in hun bloed. Dit werd gedaan met vier verschillende testmethoden (BAT, blot, ISAC, ImmunoCAP). Bij de meeste garnaallallergische patiënten (88% van 60 patiënten) werden IgE-antistoffen tegen meelworm aangetoond. Om te onderzoeken of deze sensibilisatie klinisch relevant was, werd als volgende stap een dubbelblinde voedselprovocatie met meelworm uitgevoerd. Bij deze voedselprovocatietest vertoonde de meerderheid (13 van 15) van de patiënten met IgE tegen meelworm allergische klachten bij het eten van meelworm. Deze klachten varieerden van orale allergieklachten tot gastro-intestinale klachten en benauwdheid en waren te classificeren als mild tot ernstig.

Behalve garnaallallergische patiënten, lopen ook HSM-allergische patiënten een mogelijk risico op meelwormallergie, vanwege de eerder genoemde fylogenetische verwantschap. Een deel van de HSM-allergische patiënten reageert op allergenen van HSM (tropomyosine en argininekinase) die ook door garnaallallergische patiënten worden herkend. Deze groep patiënten was ook geïnccludeerd in de garnaallallergische groep.

Het overgrote deel van de HSM-allergische groep (~90%) herkent echter geen tropomyosine of argininekinase, maar andere allergenen van HSM. In deze HSM-allergische patiëntengroep werd bij 22% eveneens meelwormsensibilisatie aangetoond. Tevens zijn patiënten met seizoensgebonden neusklachten, maar zonder sensibilisatie of allergie voor huisstofmijt getest. Ook daarbij werd in 16% van de patiënten sensibilisatie voor meelworm gevonden. In een controlegroep van mensen zonder aanleg voor allergische ziekten werd geen sensibilisatie voor meelworm aangetoond.

Deze bevindingen geven aan dat de groep die risico loopt op een allergie voor meelworm mogelijk breder is dan alleen de garnaal (schaaldier)-allergische populatie. Echter, de klinische implicaties van deze bevindingen moeten nog verder worden onderzocht.

NIEUWE EIWITTEN

Behalve een risico op sensibilisatie/allergie voor meelworm bij patiënten met sensibilisatie of allergie voor vergelijkbare allergenen (cosensibilisatie of kruisreactie), moet ook rekening worden gehouden met de mogelijkheid dat nieuwe eiwitten een nieuwe (tot nu toe niet bekende) allergie kunnen veroorzaken. Dit wordt ook wel een 'primaire allergie' genoemd. Of meelworm een nieuwe (voedsel)allergie zou kunnen veroorzaken, werd onderzocht in een volgende stap. Mensen die ten gevolge van hun hobby of beroepsmatig in aanraking komen met meelworm kunnen mogelijk gesensibiliseerd raken en dus allergisch worden. In dit onderzoek is daarom nagegaan of professionele en hobbymatige meelwormkwekers mogelijk allergische klachten hebben ontwikkeld. Vier personen die klachten hadden bij contact met en/of het eten van meelworm, waarbij ook IgE-antistoffen tegen meelworm in het bloed waren aangetoond, zijn aan een nader onderzoek onderworpen. Bij twee personen werd een voedsel allergie voor meelworm aangetoond. De andere twee waren op basis van anamnese en serologie zeer verdacht voor een inhalatieallergie voor meelworm. Geen van deze vier personen had een allergie voor garnaal en slechts één van de vier had een HSM-allergie, zodat kruisreactiviteit als verklaring hiervoor onwaarschijnlijk was. Dit werd bevestigd door het ontbreken van sensibilisatie tegen de bekende allergenen tropomyosine of argininekinase in drie van de vier personen (waaronder ook de HSM-allergische persoon). Een ander meelwormallergeen, namelijk het *larval cuticle protein* (LCP), lijkt deels of volledig verantwoordelijk voor deze primaire meelwormallergie.

Omdat de personen met een primaire meelwormallergie op meerdere manieren (via inhalatie, huid en voeding) blootgesteld zijn aan meelworm kan er geen conclusie worden getrokken over de risico's op primaire allergie wanneer insecten als voedingsbron gebruikt gaan worden in de algemene bevolking. Het risico hierop is in elk geval niet uitgesloten.

Omdat naast meelworm ook andere insecten als mogelijke nieuwe eiwitbron gebruikt kunnen worden, is in dit project ook de allergeniciteit van enkele andere insecten bestudeerd. Hiervoor is serum van dezelfde patiëntengroepen (garnaal- en primair meelwormallergische patiënten) gebruikt.

De garnaalallergische patiënten bleken naast *Tenebrio molitor* (meelworm), voor het overgrote deel gesensibiliseerd voor *Acheta domesticus* (huiskrekel), *Zophobas morio* (morio- of superworm), *Alphitobius diaperinus* (buffalo- of lessermeelworm), *Locusta migratoria* (Afrikaanse treksprinkhaan), *Galleria mellonella* (grote wasmot) en *Hermetia illucens* (zwarte soldatenvlieg). Hoewel de klinische relevantie van deze resultaten (nog) niet onderzocht is door middel van dubbelblinde provocatie, geven deze resultaten aan dat er een risico is dat ook deze insecten allergene risico's met zich meebrengen voor garnaal- en waarschijnlijk alle schaaldierallergische patiënten.

De mensen met een primaire meelwormallergie lieten wisselende patronen van sensibilisatie voor de verschillende andere insecten zien. Dit wijst erop dat het risico op allergie voor insecten bij deze personen anders is dan bij de garnaal- of schaaldierallergische personen. Andere allergenen dan tropomyosine en argininekinase lijken hierbij betrokken.

TOT SLOT

Samengevat blijkt de gestructureerde stapsgewijze aanpak een goede methode om de risico's van nieuwe eiwitbronnen in kaart te brengen. Het op de markt brengen van insecten brengt een duidelijk risico op allergie met zich mee voor garnaalallergische patiënten en waarschijnlijk voor alle schaaldierallergische patiënten. Een risico voor patiënten met andere allergieën kan niet worden uitgesloten. Insecten kunnen ook een primaire allergie veroorzaken. Onderzoek, zoals in dit proefschrift beschreven, is van belang om de veiligheid van nieuwe voedingsmiddelen te kunnen waarborgen. Ook zal dit besluitvorming ten aanzien van de toelating van nieuwe voedingsmiddelen en/of de eventueel te nemen risico-managementmaatregelen ondersteunen.

CORRESPONDENTIEADRES

Henrike Broekman

E-mail: H.C.H.Broekman-3@umcutrecht.nl