

الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



570. 275

12/589

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire: Immunologie approfondie

Thème : Les Chironomidae et leurs effets allergiques

Présenté par : TOUNKARA Sady

YIRAMPO Safil K

Devant le jury composé de :

Présidente	: M ^{me} AOUISSI Cherairia Mouna (MCB)	(Université de Guelma)
Examineur	: M ^r BOUDEN Ismail (MAA)	(Université de Guelma)
Examinatrice	: M ^{me} BOUKEMARA Hanane (MAA)	(Université de Guelma)
Encadreur	: M ^{me} ZERGUINE Karima (Dr)	(Université de Guelma)
Invité	: M ^{elle} BENSAKHIR Zinette	(Université de Guelma)

Juin 2012

Nos sincères remerciements s'adressent :

- ✓ *Au tout Puissant qui nous a créé et donné la force et le courage d'étudier.*
- ✓ *A M^{me} AOUISSI Cherairia Mouna notre présidente de jury, d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*
- ✓ *A M^r BOUDEN Ismaïl en tant qu'examinateur.*
- ✓ *A M^{me} BOUKEMARA Hanane en tant qu'examinatrice.*
- ✓ *Au Dr ZERGUINE Karima, Notre encadreur de nous avoir reçue au sein de son équipe, de la confiance qu'il nous a accordée, et de son soutien scientifique et moral tout au long du travail ; merci d'avoir cru en nous et en notre travail.*
- ✓ *A M^{elle} BENSAKHIR Zinette, qui nous a suivies tout au long de notre travail.*
- ✓ *Aux ingénieurs de labo : M^{lle} MESSIOUD Nadjeh (labo 2), M^{lle} ABBAS Leïla (labo 1) et M^{me} DJORJI Houria.*
- ✓ *A tous les étudiants du Master II Immunologie Approfondie (Promotion 2012).*
- ✓ *A M^r Brouk Ramoul d'avoir fait notre analyse.*
- ✓ *A tous les enseignants du département de biologie de l'université de Guelma.*

Notre souhait est que ce mémoire puisse apporter un meilleur stimulant à tous les biologistes (étudiants, chercheurs, ingénieurs, techniciens...) afin de mener à bien leurs travaux de recherche.

Merci à vous tous et toutes !

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des Figures	
Introduction générale	1
Chapitre 1 : Biologie des Chironomidae	3
1.1 Généralités sur les Diptères.....	3
1.2 Chironomidae.....	3
1.2.1 Comportement.....	4
1.2.2 Cycle biologique.....	5
1.2.2.1 Les œufs.....	5
1.2.2.2 Les larves.....	6
1.2.2.3 Nymphe.....	8
1.2.2.4 Adulte.....	9
1.2.3 Fonctions environnementales.....	9
1.2.4 Utilisations.....	10
1.3 Bio-indicateur.....	10
1.4 Indicateur climatique.....	10
Chapitre 2 : Les allergies	11
2.1 Historique.....	11
2.2 Définition.....	11
2.3 Les allergènes.....	12
2.3.1 Classification des allergènes.....	12
2.4 Les réactions allergiques.....	14
2.4.1 Classification de Gell et Coombs.....	14
2.4.1.1 Hypersensibilité induite par l'IgE (Type I).....	14
A - Phase de sensibilisation.....	16
B - Phase effectrice.....	18
C - Médiateurs des réactions de types I.....	18
2.4.1.2 Hypersensibilité cytotoxique induit par des anticorps (Type II).....	19
A - Les réactions de transfusion.....	21
B - Maladie hémolytique du nouveau-né.....	21
C - Anémie hémolytique induit par des médicaments.....	23
2.4.1.3 Hypersensibilité induit par des complexes immuns (Type III).....	23

2.4.1.4 Hypersensibilité retardée (Type IV).....	25
A - Les différentes phases de l'hypersensibilité retardée.....	25
B - Les cytokines impliquées dans la réaction de DTH.....	28
Chapitre III : Description des sites d'échantillonnages	30
3.1 Situation géographique.....	30
3.2 Coordonnées GPS des sites d'échantillonnages.....	31
3.3 L'influence des paramètres.....	31
3.3.1 Conductivité.....	31
3.3.2 La profondeur de l'eau.....	32
3.3.3 La température.....	33
Chapitre IV : Matériels & Méthodes	34
4.1 Matériels biologique.....	34
4.1.1 Chironomidae.....	34
4.1.2 Souris.....	35
4.2 Matériels expérimental	36
4.2.1 Sur le terrain	36
4.2.2 Au laboratoire.....	36
A - Solutions.....	36
B - Appareillage.....	36
C - Verrerie.....	37
4.3 Méthodes.....	39
4.3.1 Echantillonnage.....	39
4.3.2 Au laboratoire.....	39
A - Le tri des individus des Chironomidae.....	39
B - Identification des échantillons.....	40
C - Extraction des allergènes.....	41
D - Sensibilisation des souris.....	42
E - Les différentes analyses.....	42
Chapitre V : Résultats et discussions	45
5.1 Abondance des Chironomidae dans les différentes stations.....	45
5.1.1 Comparaison entre les stations d'oued Cherf.....	45
5.1.2 Les différents sous famille des Chironomidae d'oued Dehmen.....	46
5.1.3 Check-list des espèces des Chironomidae dans oued Dehmen.....	47

5.2 Résultats des testes.....	48
5.2.1 Leucocytes sanguins.....	48
A - Variation du nombre des lymphocytes.....	48
B - Variation du nombre des monocytes.....	49
C - Variation du nombre des granulocytes.....	50
5.2.2 Variation du nombre des macrophages péritonéaux.....	51
Conclusion.....	52
Résumés.	
Bibliographie.	
Annexe.	

ABO : système A, B, AB et O du groupe sanguin.

Ac: Anticorps.

ACTH: Adénocorticotropin (adenocorticotropin hormone).

ADCC : cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps.

ADR: Adrénaline.

Ag : Antigène.

BCR: B cell receptor.

C : System de complément.

CCL2 ou MCP-1 : Chemokine ligand 2/ Monocyte chimoattractant protein 1.

Cells : Cellules

CPA : Cellule présentatrice d'antigène.

CD : Cellule dendritique.

CMH I : Complexe majeur d'histocompatibilité de type I.

CMH II : Complexe majeur d'histocompatibilité de type II.

DTH: delayed-type hypersensitivity.

E.D.T.A : Acide Ethylène Diamino Tétracétique.

Fc: Fragment Fc des anticorps.

FcγR . Recepteur du Fc.

Fig : Figure.

FNS: Formule numérique sanguine.

GM-CSF: Colony Stimulating Factor (Monocyte et Granulocyte).

GPS: Global Positioning System.

IFN: Interferon.

Ig : Immunoglobuline (A, D, E, G et M).

l : litre.

IL : Interleukine.

LB : Lymphocyte B

LT : Lymphocyte T

MIF: Macrophage Inhibition Factor

mn: Minute.

ml: millilitre.

PBS: Phosphate buffer salin.

RhD: Rhesus D

Rpm: Round par minute.

T CD4 ou T4: Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD4 (T auxiliaire).

T CD8 ou T8: Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD8 (T cytotoxique).

TH1/TH2: Lymphocyte T auxiliaires de type 1 ou 2, produisant des cytokines de type 1 (IL-2, TNF, IFN- γ) ou de type 2 (IL-4, IL-6, IL-10).

TNF: Facteur de nécrose tumorale.

μ l : microlitre.

Tableau 1 : les coordonnées GPS des sites d'échantillonnages.....	31
Tableau 2 : la variation mensuelle de la Conductivité	31
Tableau 3 : la variation mensuelle de la profondeur de l'eau	32
Tableau 4 : la variation mensuelle de la température	33
Tableau 5 : check-list des espèces de chironomidae d'oued Dehmen	47

Figure 1 : Chironomidae Adulte [2].....	4
Figure 2 : Différents stades de développement de <i>Chironus tentans</i> . A : Masse d'œufs, B : larve (du stade 1 au stade 4), C : Nymphé et D : Adulte (Walker <i>et al.</i> , 1997).....	5
Figure 3 : Les Œufs [3].....	6
Figure 4 : Larve [2].....	7
Figure 5 : Nymphé et extrémité abdominale de la nymphé [4].....	8
Figure 6 : Sources communes d'allergènes (Gerd <i>et al.</i> , 1998).....	13
Figure 7 : Phase de sensibilisation d'hypersensibilité de type I (Thomas <i>et al.</i> , 2007).....	17
Figure 8 : Phase effectrice d'hypersensibilité de type I (Gerd <i>et al.</i> , 1998).....	18
Figure 9 : Réponse des cellules en cas d'hypersensibilité de types II (Janeway et travers, 1997).....	20
Figure 10 : Activité antimicrobienne normale (Janeway et travers, 1997).....	20
Figure 11 : Réaction d'hypersensibilité de type II (Janeway et travers, 1997).....	20
Figure 12 : Cas de réaction de transfusion (Janeway et travers, 1997).....	21
Figure 13 : Maladie hémolytique du nouveau-né (Male <i>et al.</i> , 2007).....	22
Figure 14 : Maladie hémolytique du nouveau-né (Male <i>et al.</i> , 2007).....	22
Figure 15 : Dépôt des complexes immuns (Male <i>et al.</i> , 2007).....	24
Figure 16 : Induction d'une hypersensibilité de contact (Male, 2005).....	26
Figure 17 : Phase de sensibilisation d'hypersensibilité de contact (Thomas <i>et al.</i> , 2007).....	26
Figure 18 : Phase effectrice d'hypersensibilité de contact (Thomas <i>et al.</i> , 2007).....	27
Figure 19 : Histologie d'un granulome (Janeway et travers, 1997).....	28
Figure 20 : Carte des sites d'échantillonnages (Sadaoui <i>et al.</i> , 2010).....	30
Figure 21 : Larve de Chironomidae (Epler, 2001).....	34
Figure 22 : Souris du genre Mus [6].....	35
Figure 23 : Matériels utilisé au laboratoire.....	38
Figure 24 : les Chironomidae (Larves, nymphé, Exuvie et Adulte) monté entre lame et lamelle.....	41
Figure 25 : le sang prélevé pour FNS.....	43
Figure 26 : Dissection de la souris	43
Figure 27 : Numération sur cellule de Mallassez.....	44
Figure 28 : Comparaison entre les stations d'oued Cherf (Mars et Avril).....	45

Figure 29 : Les différents sous famille des Chironomidae d'oued Dehmen.....	46
Figure 30 : Variation du nombre des Lymphocytes.....	48
Figure 31 : Variation du nombre des Monocytes.....	49
Figure 32 : Variation du nombre des Granulocytes.....	50
Figure 33 : Variation du nombre des macrophages péritonéaux.....	51



Introduction

Introduction

La famille des Chironomidae est un groupe d'insectes Diptères du sous ordre des Nématocères, les membres de cette famille sont appelés communément << Les moucheron non piqueurs>> ou << Non biting midges des anglophones>> au stade adultes et << Blood worms>> au stade larvaire (Zerguine, 2010).

Les Chironomidae sont le groupe de macroinvertébrés le plus abondant en nombre d'espèce et d'individus, rencontré dans tous les milieux aquatiques d'eaux douces. En plus, les Chironomidae ont envahi la mer, se trouvant le long des cotes du monde entier et vivant à une profondeur de 30 m dans l'océan et la terre, où ils peuvent être rencontrés dans les milieux humides ou les feuillus secs de litières de forêt. De même les Chironomidae se présentent dans tous les continents. En effet, ils ont été trouvés vivants à des hauteurs 5600 m sur les glaciers de l'Himalaya (Kohshima, 1984) et à des profondeurs de plus de 1000 m dans le lac baïkal (Linevich, 1971 ; Armitage *et al.*, 1995 ; Epler, 2001)

Les Chironomidae sont parmi les insectes aquatiques les plus tolérants à la température de l'air et de l'eau. En effet, les larves de *Paratendipes Thermophilus* vivent dans les mares chaudes de 38,8°C et les adultes de *Diamesa Mendotae* capables de dépasser leur point de fusion et survivre à des températures atmosphériques de moins -20°C (Lencioni, 2004 ; Bouchard et Ferrington, 2009).

Les Chironomidae sont des insectes holométaboles, leurs larves, nymphes et adultes forment une part intégrale de la chaîne trophique servant de nourriture pour d'autres invertébrés, poissons, oiseaux et amphibiens (Ali, 1991 ; Armitage *et al.*, 1995)

De nos jours les Chironomidae sont utilisés dans plusieurs domaines, comme la pêche, l'alimentation pour les aquariums dans nos maisons.

Les Chironomidae seraient responsables d'hypersensibilité de type I, et également de type IV, allergène en cause (hémoglobines) serait très abondant dans les larves (Aldunate *et al.*, 1999).

Notre étude portera sur l'analyse de cette hypothèse en fin d'illustrer les effets réels des hémoglobines des larves des Chironomidae sur la réponse immunitaire en choisissant comme modèle d'étude les souris.

Pour répondre à l'objectif du présent travail, le mémoire est composé de cinq principaux chapitres présentés ci-après :

- ✓ Notre premier chapitre est consacré à l'étude de la biologie des Chironomidae.
- ✓ Le deuxième chapitre sera consacré aux généralités sur les allergies.

- ✓ Le troisième chapitre portera sur la description des sites d'échantillonnages.
- ✓ Dans le quatrième chapitre nous aborderons la partie sur le matériel et les méthodes utilisées tout au long de ce travail.
- ✓ Le cinquième chapitre traite des résultats et leurs discussions.

Chapitre I

Biologie des
Chironomidae

1.1 Généralités sur les Diptères

Par leur nombre, les Diptères représentent le quatrième ordre animal, avec plus de quatre-vingt mille espèces connues. On rencontre ces insectes dans le monde entier, y compris dans l'Antarctique, mais ils sont particulièrement abondants sous les climats chauds et humides. Avec plus de 150 000 espèces décrites réparties dans 177 familles, ils occupent enfin le second rang mondial, après les Hyménoptères en tant que pollinisateurs surtout les (*Syrphidae*, les *Bombyliidae* et les *Muscoidea*).

Les Diptères sont caractérisés par la possession d'une seule paire d'ailes membraneuses. Les pièces buccales sont de type suceur, montrant toujours une trompe (proboscis) qui est parfois vulnérante [1].

L'étude des Diptères en tant que spécialité de l'entomologie s'appelle la diptérologie. Comme de nombreux autres groupes d'invertébrés, les mouches, moustiques et autres Diptères sont très peu étudiés et le nombre de spécialistes est très réduit. Cela pose de nombreux problèmes, notamment pour évaluer l'action de l'être humain sur l'environnement. Seules les espèces touchant aux domaines de l'agriculture ou de la santé font l'objet d'investigations en règle, ces espèces ne formant toutefois qu'une très petite minorité et n'étant pas caractéristiques de l'ensemble du groupe. Quelques espèces, en particulier les drosophiles, sont très étudiées sur un plan génétique [1].

Ceux-ci nous amène à parler d'un Diptère peu connue mais très important sur le plan écologique et sanitaire, se sont les Chironomidae.

1.2 Chironomidae

Les Chironomidae sont des insectes de petite taille, ressemblant beaucoup à des moustiques (Culiciformes), ils sont communément confondus avec ces derniers. Environ 10.000 espèces existent dans le monde entier. Leur habitat naturel est les zones humides.

On les distingue facilement par :

- la couleur verdâtre des adultes.
- une taille souvent plus grande (mais il existe des espèces de petite taille).

- absence de pièces buccales allongées (l'organe piqueur chez la femelle) des moustiques (*Culicidae*) ; d'où le nom « *non-biting midges* » qui signifie « moucheron non-piqueur ».
- des antennes en forme d'épais ou large plumeau chez le mâle (Figure 1).



Figure 1 : Chironomidae adulte [2]

1.2.1 Comportement

Au moment des émergences et de la reproduction, les adultes forment souvent en bordure de rivière et de canaux, et au-dessus des arbres ou buissons, et parfois plus en hauteur (par exemple au-dessus d'une toiture de clocher) en fin d'après midi, des nuages d'insectes tournoyants caractéristiques (ou essaims), qui exceptionnellement sont si denses qu'ils peuvent de loin être confondus avec des volutes de fumées. À la différence du moustique qui pond dans les eaux stagnantes, les chironomes recherchent les eaux vives (rivières, ruisseaux, canaux avec courant suffisant, sans qu'ils soient toutefois torrentueux). Ils y pondent des œufs associés en rubans gélatineux et translucides jaunâtres ou légèrement orangés de plusieurs centaines d'œufs. Ces rubans qui gonflent rapidement dans l'eau sont collés à la berge ou en périphérie d'un objet flottant ou émergeant de l'eau [3].

Certaines espèces de Chironomidae colonisent volontiers les fosses septiques (si elles ont un accès non protégé par un filtre de type moustiquaire). Les larves peuvent alors y vivre par centaines de milliers, voire par millions. Il ne semble pas exister d'étude sur d'éventuels impacts sanitaires de ce phénomène.

1.2.2 Cycle biologique

Le cycle de reproduction des Chironomidae comporte 4 stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte (Figure 2).

Tous les stades, de l'œuf à l'adulte, peuvent coexister. En effet, on observe chez les Chironomidae, au moins deux générations par an, selon les espèces. La génération d'hiver dure neuf à dix mois, car elle subit une diapause en raison des faibles températures observées durant cette période; les adultes émergent en mai - juin. Quant à la génération d'été, elle ne dure que deux à trois mois les adultes émergeant en août - septembre. On trouve donc moins de larves de stades de développement élevés durant ces phases d'émergences.

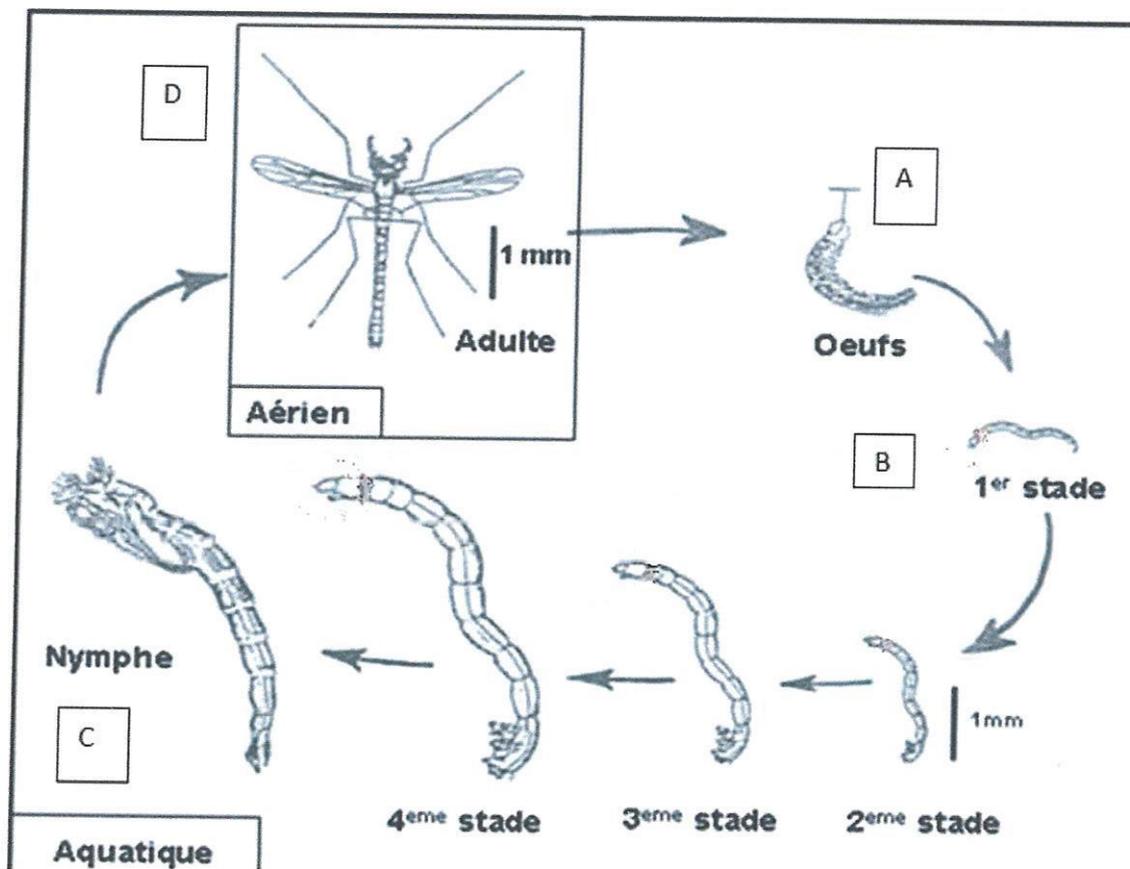


Figure 2 : Différents stades de développement de *Chironomus tentans*. A : Masse d'œufs, B : larve (du stade 1 au stade 4), C : Nymphe et D : Adulte (Walker *et al.*, 1997).

1.2.2.1 Les œufs

L'œuf de Chironomidae est ovale, jaunâtre et translucide. Les œufs sont pondus en paquets denses sur la ceinture d'objets flottants ou émergents, ou sur la berge au bord de l'eau.

La taille varie considérablement entre les espèces en effet les plus petit sont ceux de *Corynoneura* et *Thienemanniella* dont la taille est au tour de 170µm de long et 70µ de largeur, alors que les *Tanypus punctipennis*, un grand *Tanypodinae* pondent des œufs d'une taille de 612 µm de long et 135µm de largeur. Généralement chez les chironomes le ratio : Longueur/largeur est de 2.5 à 3 (Nolte, 1993).

La masse d'œufs des Chironomidae peut contenir approximativement 20 à 30 œufs (Figure 3). Ce nombre s'étend souvent jusqu'à plus de 3000 chez les espèces de grande taille (Davies ,1976). Néanmoins, il peut y avoir également des variations interspécifiques (Nolte, 1993).

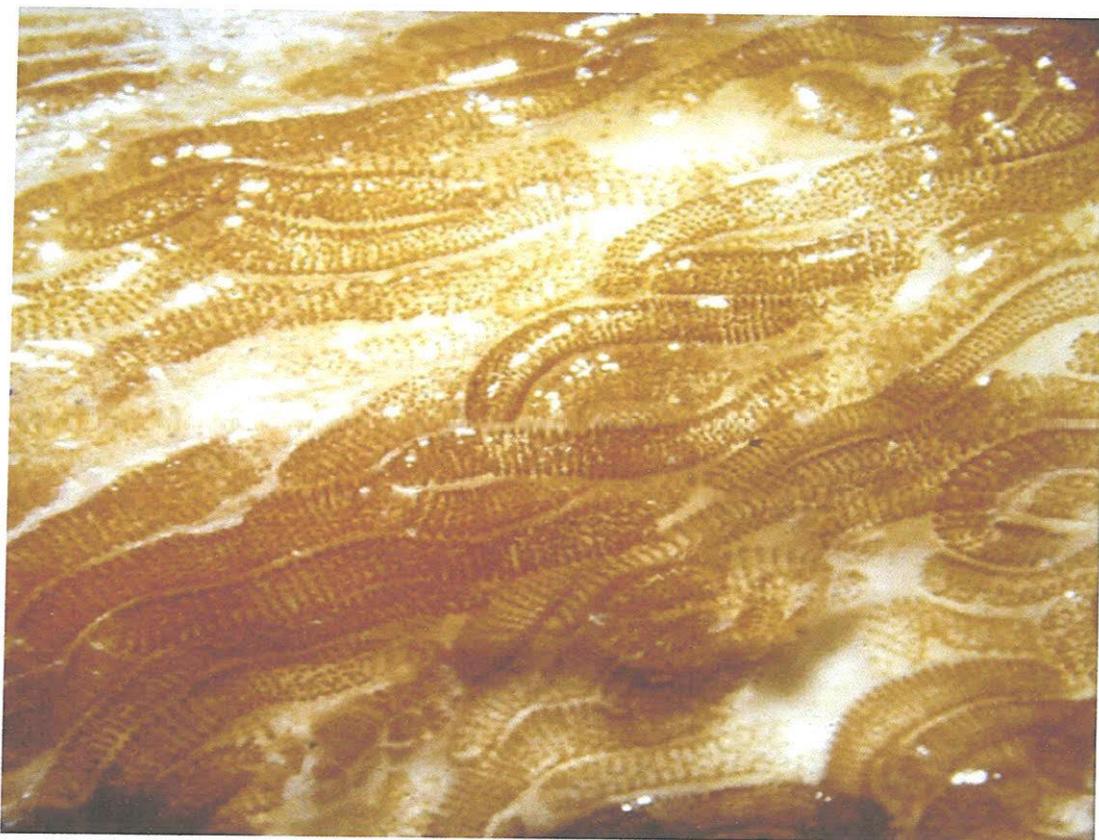


Figure 3: Les Œufs [3]

1.2.2.2 Les larves

Les Chironomidae possèdent quatre stades larvaires mais toutes les observations morphologiques et taxonomiques sont faites sur le dernier stade. En effet la majorité des structures apparaissent dans les stades larvaires précoces (Olafsson, 1992). Mais beaucoup de caractère de stade final, surtout les formes et ratios, ne s'appliquent pas sur les premiers stades et ne permettent pas une bonne différenciation (Cranston, 1995; Epler, 2001).

Ils représentent un abondant groupe d'insectes benthiques dans les eaux douces. Les larves atteignent une taille appropriée pour l'alimentation des animaux dans les 16-20 jours (Guerrero, 1982).

La croissance et le développement dans l'ensemble peuvent être influencés par de nombreux facteurs environnementaux tels que la température (18° à 22°) et de la photopériode (Maier *et al.*, 1990), de la qualité et quantité de la nourriture (Mackey 1977, Vos *et al.*, 2000).

Elle est d'une couleur caractéristique rouge sang, dû à la présence l'hémoglobine, alors que l'adulte sera verdâtre. Le corps allongé, en forme de ver, peut atteindre une longueur de 30 mm. On distingue clairement une tête, trois segments thoraciques et neuf segments abdominaux (Figure 4).

De couleur blanchâtre, jaunâtre, rouge ou verte suivant les espèces, la larve se reconnaît à ses deux pseudopodes sur le premier segment thoracique et à ses deux appendices servant au déplacement présents sur le dos de l'avant-dernier segment abdominal. Tous les autres segments sont apodes. Elle rampe lentement, parfois comme une chenille urpenteuse. La plus part des Chironomidae possèdent des antennes bien développées, segmentées, placées antero-dorsalement sur les genae supérieure. Les antennes sont divisées en cinq segments mais il peut y avoir 3 ; 4 ou 7 segments.



Figure 4 : Larve de Chironomidae [2]

1.2.2.3 Nymphe

C'est un stade très court comparativement au stade larvaire. En effet sa durée est de quelque heure à plusieurs jours.

Il est très difficile de séparer les nymphes des Chironomidae de celles des autres Diptères. Les pupes des Chironomidae ont la forme de virgule avec une longueur qui varie d'un peu moins de 3 à 18 mm. La coloration suit, le plus souvent, celle de la larve.

Les nymphes ont un thorax renflé portant des organes respiratoires, le bout de l'abdomen avec des lobes annaux aplatis qui les différencient des autres Diptères (Tachet *et al.*, 2000), des pattes longues et recourbées sous les ailes (les podothèques) et des antennes passant en dessous des yeux (Figure 5) [4].

Les caractères des nymphes (ou pupes) sont mieux visibles sur leurs exuvies. Ces dernières constituent des outils très utiles pour la détermination des différents niveaux taxinomiques et notamment les espèces (Langton, 1991; Langton et Wisser, 2003).

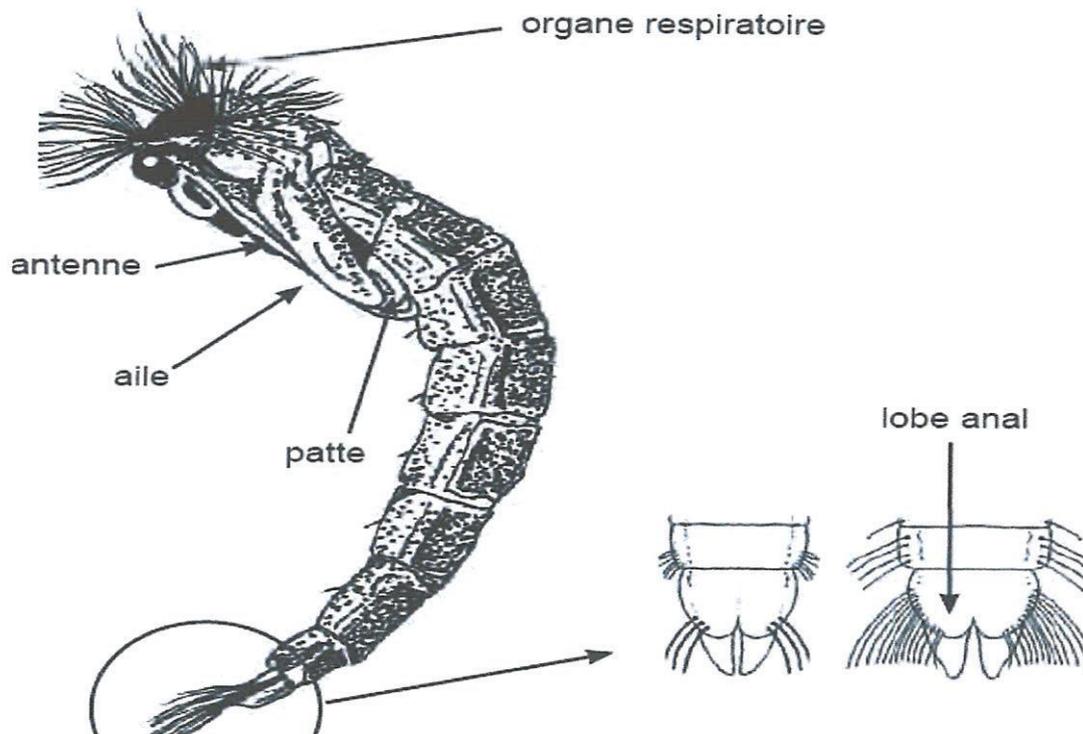


Figure 5 : Nymphe et extrémité abdominale de la nymphe [4]

1.2.2.4 Adulte

L'activité des adultes la plus importante est celle de la reproduction. Celle - ci implique l'accouplement suivi par la ponte des œufs par les femelles (Jackson et Resh, 1989).

L'accouplement a lieu généralement en vol mais chez certaines espèces, le couple, formé dans l'essaim, choisit sur le sol (Ferrington et Saether, 1987). Les essaims les plus denses attirent plus de femelles (Delettre, 1984 ; Neems *et al*, 1992). De même, des copulations sans la formation d'essaims aériens ont été observées chez *Diamesa sp* (Kohshima, 1985).

La parthénogenèse est répandue chez les insectes mais elle n'est pas particulièrement commune chez les Chironomidae (Armitage *et al*, 1995). Néanmoins, elle est connue chez les *Tanytarsini* et les *Orthoclaadiinae* (Delettre et Cancela de Fonseca, 1979 ; Cranston, 1987)

1.2.3 Fonctions environnementales

Les Chironomidae semblent jouer un rôle écosystémiquement important dans les zones humides riches en matière organique, voire nettement polluées (tant que ces polluants ne nuisent pas à leur cycle de développement) [5].

Leurs larves en se nourrissant de bactéries et en construisant leurs tubes à l'interface eau-sédiment et interfèrent donc avec le biofilm présent à la surface du sédiment et jouent un rôle fondamental dans la bioturbation effective de cette couche. Dans cette zone, elles se montrent capables d'extraire des quantités significatives de NH_4^+ et de phosphates à partir du sédiment [5].

Elles semblent indirectement consommer de la matière organique favorable à la méthanogenèse (méthane produit par certaines bactéries sulfatoréductrices qui apprécient les eaux et/ou sédiments anoxiques, dont dans les rizières).

En outre, ils sont très prolifiques et procurent une source importante de nourriture à certains poissons et organismes aquatiques ainsi qu'aux oiseaux, chauve-souris, musaraignes aquatiques etc.

1.2.4 Utilisations

Certaines espèces possèdent des chromosomes anormalement grands, visibles au microscope, ce qui les a fait l'objet de diverses expérimentations scientifiques ou pédagogiques.

Les larves des certaines espèces sont utilisées par les pêcheurs et des entreprises spécialisées pour appâter ou pour nourrir des poissons d'aquariums avec de la nourriture vivante (au risque d'importer des microbes et des polluants de type dioxines ou métaux lourds le cas échéant) [3].

1.3 La Bio-indication

Les Chironomidae sont de bons indicateurs de l'intégrité d'écosystème, ils sont communs dans presque tous les types de corps de l'eau et répondent à la variation de beaucoup de variables environnementales, telles que l'oxygène dissous, la température de l'eau, le substrat et la salinité (Thienemann, 1954). Dans les fleuves méditerranéens, ils sont résistants à la variabilité hydrologique et peuvent être parmi les premiers qui colonisent les plans d'eau après la sécheresse (Marziali *et al* 2009).

De même certains Chironomidae sont des bio-indicateurs d'une très mauvaise qualité de l'eau s'ils sont massivement présents [3].

1.4 Indicateur climatique

Des chercheurs (paléolimnologistes) ont aussi utilisé les Chironomidae comme indicateur environnemental et climatique dans des études rétrospectives visant à mesurer et à comprendre les récentes modifications de l'environnement, notamment les changements climatiques. En effet, les espèces présentes sous forme de fossile renseignent sur le climat et la température de l'eau à l'époque où elles ont été fossilisées [3].

Chapitre II

Les allergies

2.1 Historique :

Au début de ce siècle le prince de Monaco s'est rendu compte que les bains de mer Méditerranéen s'étaient perturbés par de brulures occasionnées par les méduses. Pour résoudre ces problèmes, le prince s'est assuré le concours de deux scientifiques français, Paul Portier et Charles Richet. Ces scientifiques ont isolés les toxines des méduses et projetés de les utiliser comme immunogène pour vacciner les baigneurs sensibles. Il espérait que cela devrait protéger en cas de future rencontre avec ces méduses (Thomas *et al.*, 2007).

Cependant, leurs premières tentatives se soldèrent par des résultats désastreux. Pour tester leur vaccin, ils ont injecté à des chiens les toxines purifiées. L'injection initiale a été suivie d'une injection de rappel de la même toxine. Au lieu de répondre par la production d'anticorps contre la toxine, les chiens ont réagit immédiatement par des vomissements, diarrhées, une asphyxie, et certains cas sont morts. Manifestement il s'agissait d'un état où les animaux hyper réagissaient à l'antigène (Thomas *et al.*, 2007).

Pour décrire cet état d'hyper réaction ils ont utilisé le terme d'anaphylaxie, à partir de racine grecques dont le sens était contraire de prophylaxie.

Par la suit, en 1913 Richet a eu le prix Nobel de médecine pour son travail sur l'anaphylaxie.

2.2 Définition

Une réponse immunitaire suscite une batterie de molécules effectrices qui interviennent dans l'élimination de l'antigène. Généralement, ces molécules effectrices induisent une réponse inflammatoire localisée, infraclinique, qui élimine l'antigène sans endommager gravement le tissu de l'hôte.

Cependant, dans certaines circonstances, cette réponse peut avoir des effets néfastes qui conduisent à une lésion tissulaire importante, voire même à la mort. Une telle réponse immunitaire inopportune est appelée hypersensibilité ou allergie (Thomas *et al.*, 2007).

Bien que le mot hypersensibilité implique une réponse accrue, cette dernière n'est pas toujours très intense. Les réactions d'hypersensibilités peuvent se développer au cours des réponses humorale ou des réponses à médiation cellulaire.

2.3 Les allergènes

Les antigènes qui déclenchent les réactions d'hypersensibilité sont appelés allergènes. Ils sont souvent communs dans l'environnement humain et l'être humain peut être allergique à plusieurs de ces antigènes. Dans les pays développés, 10% à 30% des habitants sont allergiques à l'un ou à plusieurs de ces antigènes.

2.3.1 Classification des allergènes :

Tout allergène peut être classé en fonction de son origine, de la voie d'exposition et de la nature de la protéine en cause. Les allergènes sont classés d'abord selon les voies qu'ils empruntent pour pénétrer dans l'organisme car ces dernières déterminent le mode de présentation de l'antigène au système immunitaire. On distingue :

- Des particules inhalées : Pneumallergènes.
- Allergènes injectés.
- Allergènes ingérés : Trophallergènes.
- Allergènes d'objets ou de produits touchés.

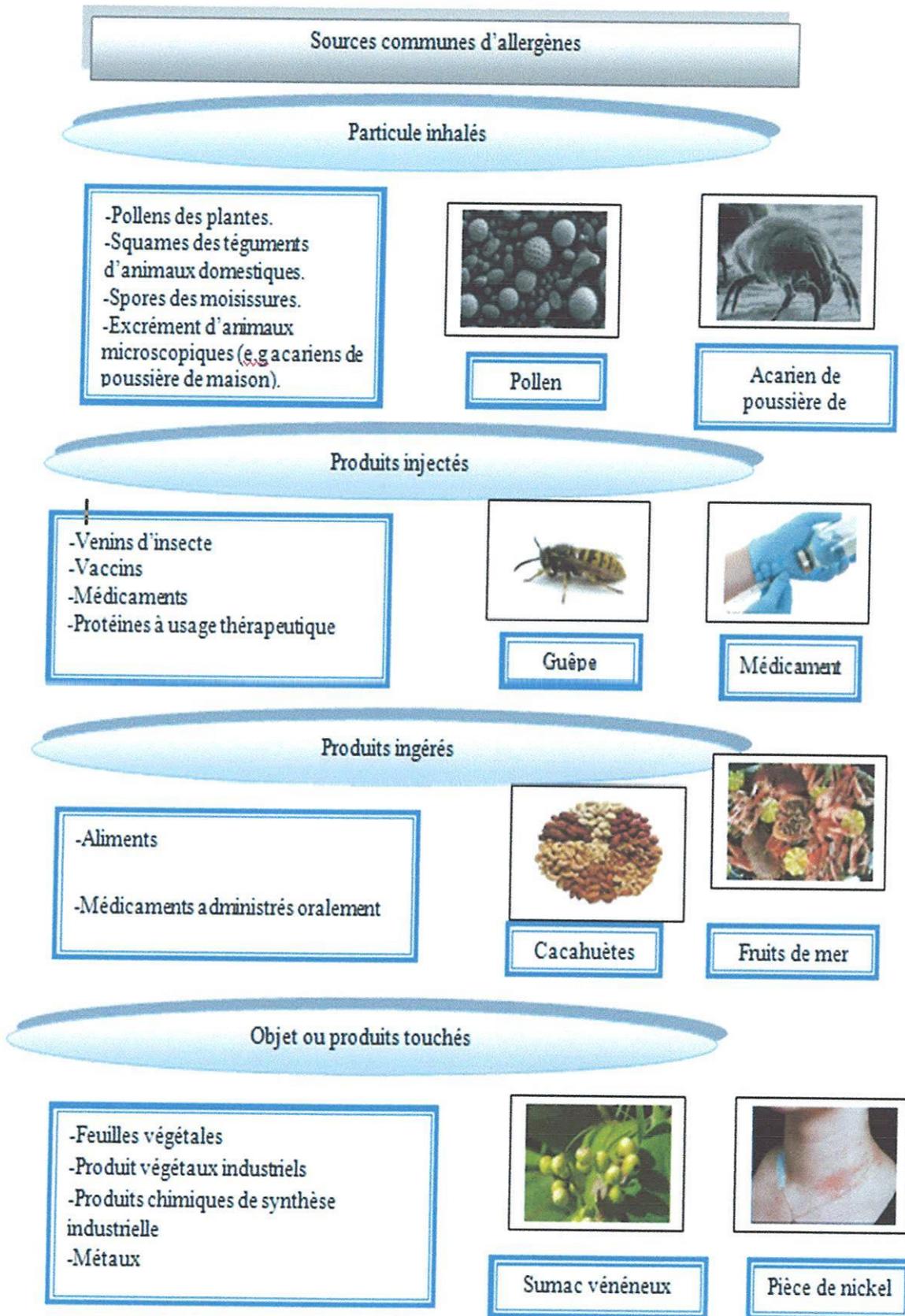


Figure 6 : Sources communes d'allergènes (Gerd *et al*, 1998)

Sources communes d'allergènes		
Particule inhalés		
<ul style="list-style-type: none"> -Pollens des plantes. -Squames des téguments d'animaux domestiques. -Spores des moisissures. -Excrément d'animaux microscopiques (e.g acariens de poussière de maison). 	 Pollen	 Acarien de poussière de maison
Produits injectés		
<ul style="list-style-type: none"> -Venins d'insecte. -Vaccins. -Médicaments. -Protéines à usage thérapeutique. 	 Guêpe	 Médicaments
Produits ingérés		
<ul style="list-style-type: none"> -Aliments. -Médicaments administrés oralement. 	 Cacahuètes	 Fruits de mer
Objet ou produits touchés		
<ul style="list-style-type: none"> -Feuilles végétales. -Produit végétaux industriels. -Produits chimiques de synthèse industrielle. -Métaux. 	 Sumac vénéneux	 Pièce de nickel

Figure 6 : Sources communes d'allergènes (Gerd *et al*, 1998)

ردى/بها

2.4 Les réactions allergiques :

2.4.1 Classification de Gell et Coombs :

Diverses formes de réaction d'hypersensibilité peuvent être distinguées en fonction des différentes molécules effectrices créées lors de la réaction.

Lorsqu'il est devenu évident que des mécanismes immunitaires différents pouvaient donner naissance à des réactions d'hypersensibilité, Gell et Coombs ont proposé une classification dans laquelle les réactions d'hypersensibilité sont réparties en quatre types. Trois d'entre eux se déroulent dans la branche humorale et sont déclenchés par des anticorps ou des complexes antigènes-anticorps ; ils comprennent les réactions induites par les IgE (type I), par IgM et IgG (type II), et les réactions provoquées par des complexes immuns (type III). Un quatrième type d'hypersensibilité dépend de l'activation des cellules T de la branche cellulaire. Chaque type implique des mécanismes immunitaires, des cellules, et des mécanismes moléculaires distincts (Thomas *et al.*, 2007).

La classification de Gell et Coombs a joué un grand rôle dans l'identification des différences entre les mécanismes immunitaires engendrés par l'intrusion d'un pathogène et les lésions tissulaires caractéristiques causées par diverses réactions d'hypersensibilité.

Cependant il est important de remarquer que, la complexité du réseau formé par les réactions immunitaires humorales et cellulaires et les mécanismes effecteurs, souvent observés dans les manifestations cliniques d'hypersensibilité, estompent les frontières entre les quatre catégories (Thomas *et al.*, 2007).

2.4.1.1 Hypersensibilité induite par l'IgE (Type I)

Les allergènes à la base de l'hypersensibilité de type I (stimulent une réponse IgE) sont de nature protéique avec des poids moléculaires allant de 10.000 à 40.000 Daltons. Ils sont généralement des pneumallergènes et des trophallergènes. Ces petites protéines qui sont toutes solubles dans l'eau exercent beaucoup de fonction biologique : activité d'enzymes digestives, de protéine porteuses et des protéines de reconnaissance de pollen

Les pneumallergènes ne peuvent atteindre une densité aérienne suffisante pour sensibiliser ou déclencher une réaction que lorsqu'ils sont sous forme de particules. Une fois inhalés ils sont captés par le mucus des voies respiratoires et des poumons. Ces protéines se

réhydratent et libèrent des antigènes protéiques. Les allergènes de petite taille et solubles se détachent des particules et pénètrent dans la muqueuse plus facilement et sont transportés jusqu'aux cellules présentatrices d'antigène professionnelles (CPA) de la muqueuse respiratoire et soumis ensuite à l'apprêtement et à la présentation aux cellules TCD4 (Thomas *et al.*, 2007).

La plus part des réponses allergiques et anaphylactiques à la nourriture seraient liées, à des protéines alimentaires qui n'ont pas été digérées et qui déclenchaient la dégranulation des mastocytes locaux ou parviendraient dans la circulation.

Certains sujets peuvent présenter une anomalie appelée **atopie**, qui est une prédisposition héréditaire au développement de réaction d'hypersensibilité immédiate contre des antigènes banaux de l'environnement c'est-à-dire généralement inoffensifs. Les déficits de régulation de l'IgE dont souffrent les individus atopiques permettent à des antigènes non offensifs de stimuler la production inappropriée d'IgE (Thomas *et al.*, 2007).

La réponse IgE anormale des individus atopiques est au moins en partie, d'origine génétique ; elle est souvent familiale. Les individus atopiques ont un taux anormalement élevé d'IgE circulante et un nombre d'éosinophiles circulants supérieurs à la normale. La propension génétique aux réponses atopiques a été localisée dans divers locus candidat. Un locus, sur le chromosome 5q, est lié à une région qui code toute une variété de cytokine, y compris l'IL-3, l'IL-4, l'IL-5, l'IL-9, l'IL-13 et GM-CSF ; tous provoquent la production d'IgE. Un second locus, sur le chromosome 11, est lié à une région qui code la chaîne du récepteur de haute affinité de l'IgE. Les réponses IgE sont également liées aux gènes des CMH sur le chromosome 6 (Thomas *et al.*, 2007).

Ce qui distingue une réponse d'hypersensibilité de type I d'une réponse humorale est la sécrétion d'IgE par les plasmocytes en réponse à l'activation de cellule TH2 spécifiques aux allergènes. Cette réaction d'hypersensibilité se déclenche en deux phases, une première phase asymptomatique (phase de sensibilisation) et seconde phase symptomatique (phase effectrice)

A - Phase de sensibilisation :

En présence de l'IL-4, les cellules T CD4 s'orientent vers une réponse TH2 ce qui aboutit à une sécrétion accrue d'IL-4 et d'autre cytokine qui engagent les cellules B à commuter l'isotope de leurs immunoglobulines en IgE. La sensibilisation initiale à l'allergène est ainsi promue par les conditions qui favorisent une réponse TH2 spécifique de l'antigène et la production de l'IgE, mais elle est inhibée par les conditions qui favorisent une réponse TH1 (absence de l'IL4) (Figure 7).

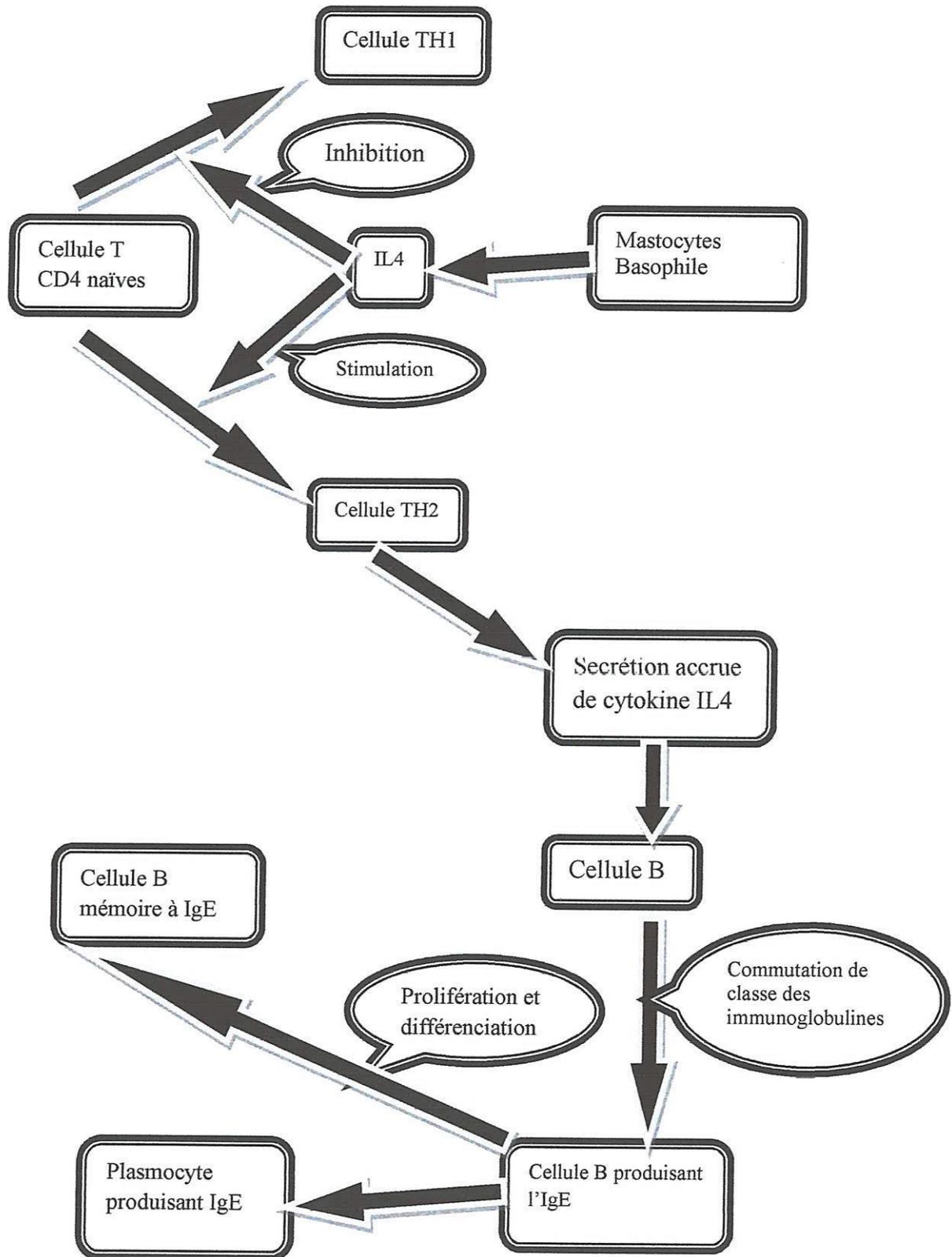


Figure 7 : Phase de sensibilisation d’hypersensibilité de type I (Thomas *et al.*, 2007)

B - Phase effectrice : (Figure 8) X

Les anticorps IgE spécifiques produits après le contact précédent avec un allergène diffusent à travers le corps et entre en contact avec les mastocytes. Ces cellules possèdent des récepteurs à haute affinité pour les régions Fc de l'IgE et donc se lient à ces anticorps. Cela ne produit aucun effet sur les mastocytes jusqu'à ce que l'antigène entre en contact avec les mastocytes portant les IgE en quantité suffisantes pour une liaison croisée avec les anticorps sur la surface cellulaire. Quand deux récepteurs IgE sont pontés (interconnections) par l'allergène en cause, la transduction du signal conduit à la libération des médiateurs des basophiles et des mastocytes (Thomas *et al.*, 2007). Cependant la dégranulation peut être obtenue par d'autres agents qui réagissent sur d'autres récepteurs de la surface cellulaire (ex : des médicaments comme la morphine ou des antibiotiques comme la vancomycine etc)

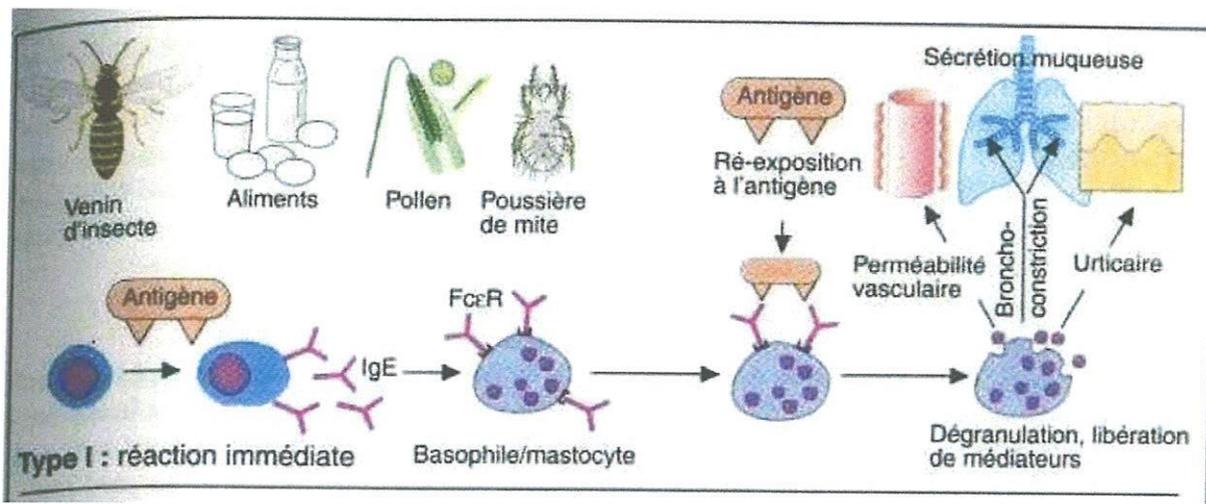


Figure 8 : Phase effectrice d'hypersensibilité de type I (Gerd *et al.*, 1998)

C - Médiateurs des réactions de types I

Les manifestations cliniques des réactions de type I sont en rapport avec les effets biologiques des médiateurs libérés lors de la dégranulation des mastocytes. Ces médiateurs sont des agents pharmacologiquement actifs qui agissent sur les tissus locaux ainsi que sur les populations de cellules effectrices secondaires, y compris les éosinophiles, les neutrophiles, les lymphocytes T, les monocytes et les plaquettes (Thomas *et al.*, 2007).

La libération des médiateurs induit par un allergène se traduit par augmentation non nécessaire de la perméabilité vasculaire et de l'inflammation dont les effets dommageables dépassent l'effet bénéfique. Les médiateurs peuvent être classés; en primaire et secondaire.

Les médiateurs primaires sont produits avant la dégranulation et mis en réserve dans des granules. Les plus importants sont l'histamine, les protéases, le facteur chimiotactique des éosinophiles, le facteur chimiotactique des neutrophiles et l'héparine.

Les médiateurs secondaires sont, soit synthétisés après l'activation de la cellule cible, soit libérés par la rupture des phospholipides membranaires lors du processus de dégranulation. Ils incluent le facteur d'activation des plaquettes, les leucotriènes, prostaglandines et d'autres cytokines.

L'histamine induit la contraction des muscles lisses de l'intestin et des bronches, augmente la perméabilité des veinules et augmente la sécrétion de mucus par les cellules caliciformes. Il augmente aussi la perméabilité (causée par contraction de la cellule endothéliale) et la vasodilatation des vaisseaux (en relâchant les muscles lisses des vaisseaux sanguins), stimule les glandes exocrines et augmente la libération d'acide dans l'estomac (Thomas *et al.*, 2007).

Les leucotriènes et prostaglandines médient une broncho constriction, augmentent la perméabilité vasculaire et la production de mucus.

Les différents mécanismes d'hypersensibilité de type I dans divers tissus reflètent partiellement les variations des médiateurs primaires ou secondaires présents.

Chez l'homme, la contraction des muscles lisses des bronches et de la trachée semble être médiée tout d'abord par l'histamine mais 30 à 60S, une contraction supplémentaire est médiée par les leucotriènes et les prostaglandines.

2.4.1.2 Hypersensibilité cytotoxique induit par des anticorps (Type II)

Les réactions d'hypersensibilité de type II impliquent la lyse des cellules induite par des anticorps. La liaison des anticorps à une surface cellulaire peut activer le système du complément, créant ainsi des pores dans la membrane de la cellule étrangère ou peut induire la lyse cellulaire via un mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC). Dans ce processus les cellules cytotoxiques qui possèdent des récepteurs de Fc se lient à la région Fc des anticorps sur les cellules cible et provoquent la destruction des cellules. L'anticorps lié à une cellule étrangère peut aussi servir d'opsonine, ce qui permet aux cellules phagocytaires avec des récepteurs de Fc ou C3b de se fixer et de phagocyter la cellule recouverte d'anticorps (Figure 9, 10, 11) (Thomas *et al.*, 2007).

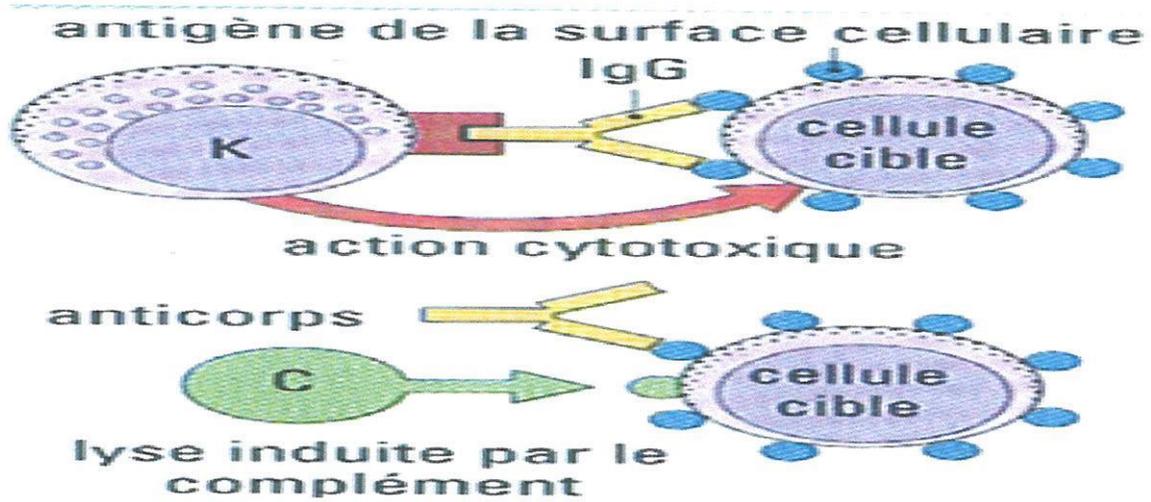


Figure 9 : Réponse des cellules en cas d'hypersensibilité de types II (Janeway et travers, 1997)

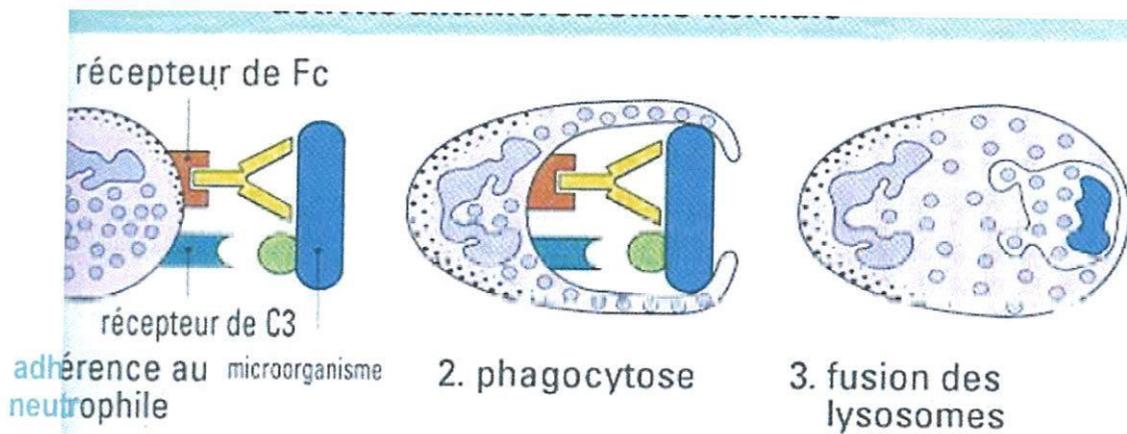


Figure 10 : Activité antimicrobienne normale (Janeway et travers, 1997).

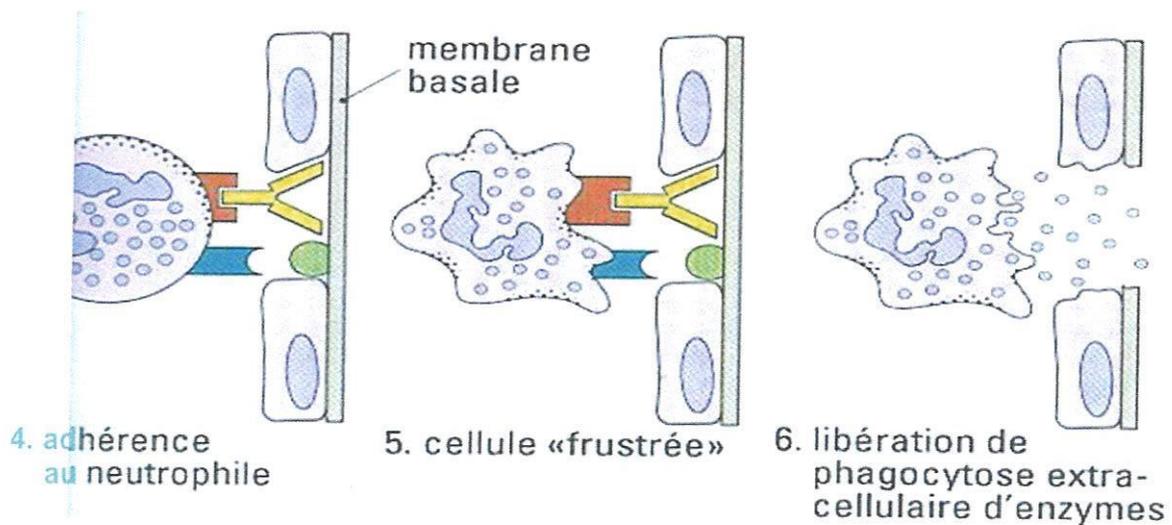


Figure 11 : Réaction d'hypersensibilité de type II (Janeway et travers, 1997).

A - Les réactions de transfusion :

Cette réaction se produit lorsque du sang incompatible est transfusé à un receveur, celui-ci peut présenter des anticorps naturels dirigés contre les cellules du donneur, comme c'est le cas dans le système ABO, ou ces anticorps peuvent se développer après transfusion et induire une lyse par le système du complément (Figure 12) (Rubin et Farber, 1994).

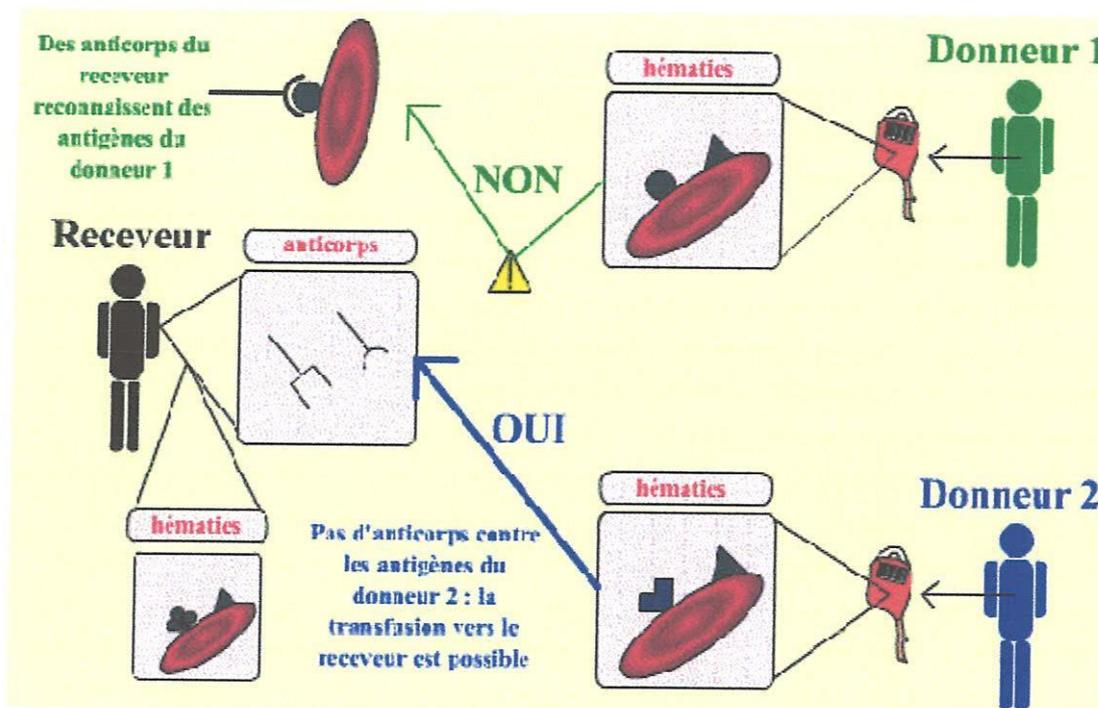


Figure 12 : Cas de réaction de transfusion (Janeway et travors, 1997).

B - Maladie hémolytique du nouveau-né :

L'antigène du rhésus D (RhD) est porté par les érythrocytes. Les enfants nés de mères à RhD⁻ et des pères RhD⁺ peuvent exprimer le RhD sur leurs érythrocytes. Habituellement au moment de l'accouchement, les érythrocytes RhD⁺ de l'enfant entrent en contact avec le système immunitaire de la mère. Certains passeront à travers le placenta alors que la plupart sont libérés dans circulation maternelle durant la chute du placenta. Puisque le RhD⁺ n'est pas présent chez la mère, le système de celle-ci réagira contre lui comme étranger et produira des anticorps anti-RhD de classe IgG (Thomas *et al.*, 2007).

Cela ne cause pas de problème au cours de la première grossesse mais lors des grossesses ultérieures, des petites quantités d'érythrocyte passant à travers le placenta

stimulent une réponse mémoire conduisant à la production d'anticorps anti-RhD⁺ spécifiques. Les anticorps IgG traversent le placenta et se lient aux érythrocytes fœtaux conduisant à leur opsonisation et lyse. Cela conduit à une anémie hémolytique du nouveau-né. Si à la fin de chaque grossesse avec un fœtus RhD⁺ on injecte immédiatement après l'accouchement (maximum 72 heures) aux mères RhD⁻ des anticorps anti-RhD⁺ éliminent les globules rouges RhD⁺ fœtus de la circulation sanguine de la mère prévenant ainsi l'immunisation (Figure 13, 14) (Thomas *et al.*, 2007).

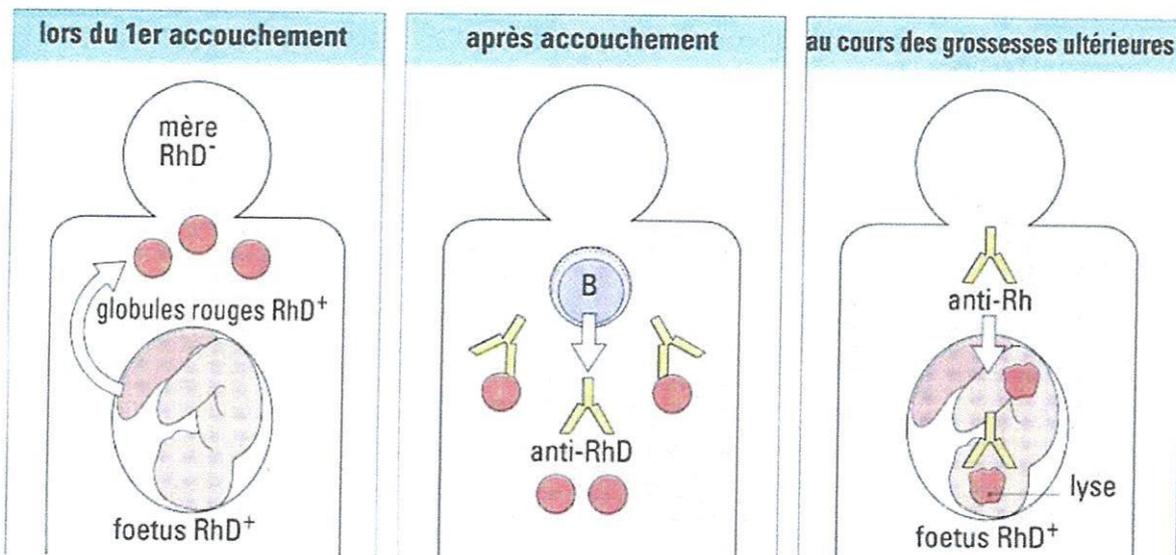


Figure 13 : Maladie hémolytique du nouveau-né (Male *et al.*, 2007)

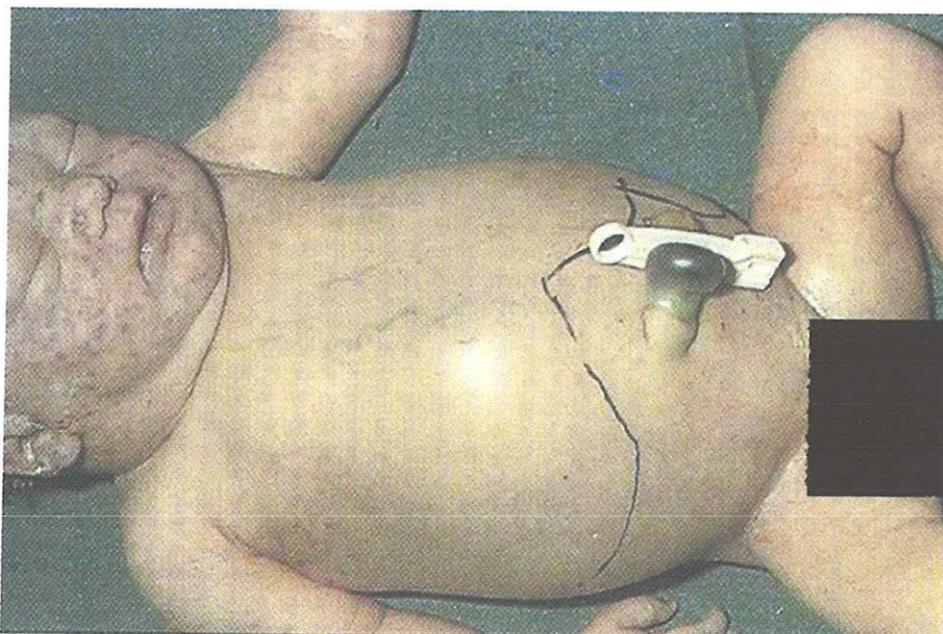


Figure 14 : Maladie hémolytique du nouveau-né (Male *et al.*, 2007)

C - Anémie hémolytique induite par des médicaments :

Certains antibiotiques (par exemple, la pénicilline, la céphalosporine et la streptomycine) peuvent s'adsorber de façon non spécifique sur des protéines de la membrane des cellules rouges du sang, formant alors un complexe semblable à un haptène-porteur. Chez certains patients, de tels complexes médicaments protéines induisent la formation d'anticorps qui ensuite se lient au médicament adsorbé sur les globules rouges du sang ; il s'ensuit une lyse médiée par le complément et donc une anémie progressive. Lorsqu'on supprime le médicament, l'anémie hémolytique disparaît. La pénicilline est remarquable par le fait qu'elle peut induire les quatre types d'hypersensibilité avec des manifestations (Thomas *et al.*, 2007).

2.4.1.3 Hypersensibilité induite par des complexes immuns (Type III)

La réaction des anticorps avec les antigènes génère des complexes immuns. Généralement, la formation d'un complexe entre antigène et l'anticorps facilite l'élimination de l'antigène par les phagocytaires. Dans certains cas cependant, des grandes quantités de complexes immuns peuvent conduire des réactions d'hypersensibilité de type III entraînant des lésions tissulaires. L'importance de la réaction est fonction du taux des complexes immuns et de la distribution de ces derniers dans l'organisme. Selon l'endroit où ces complexes sont amenés, différentes réactions dommageables aux tissus peuvent être observées.

Les réactions d'hypersensibilité de type III se développent lorsque des complexes immuns activent le réseau de molécules effectrices immunitaires du système du complément. Le produit de clivage du complément le C3a, le C5a sont des anaphylatoxines qui entraînent une dégranulation localisée des mastocytes, et par conséquent une augmentation de la perméabilité vasculaire locale. Le C3a, le C5a et le C5b6,7 sont aussi des facteurs chimiotactiques pour les neutrophiles qui peuvent s'accumuler en grand nombre au niveau du site de dépôt du complexes immuns. Les plus gros complexes immuns sont déposés sur la membrane basale des parois des vaisseaux sanguins ou des glomérules du rein, tandis que les petits complexes peuvent passer à travers la membrane basale et être déposés dans la zone sous-épithéliale. Le type de lésion qui en résulte dépend du site de dépôt des complexes (Thomas *et al.*, 2007).

La liaison des complexes immuns avec les récepteurs de Fc et les récepteurs du complément sur les leucocytes, conduit à l'activation de réponse inflammatoire. La plupart

des lésions cellulaires dans les réactions de types III trouvent leur origine dans la libération d'enzymes lytiques par les neutrophiles lorsque ces derniers tentent de phagocyter les complexes immuns. Le composant C3b du complément agit comme une opsonine, en recouvrant les complexes immuns. Un neutrophile se lie à un complexe immun recouvert de C3b grâce à son récepteur du complément, spécifique du C3b (Figure 15). Étant donné que le complexe est déposé à la surface de la membrane basale, sa phagocytose est empêchée et des enzymes lytiques sont alors libérés au cours des essais infructueux du neutrophile pour ingérer le complexe immun adhérent. Une activation ultérieure du mécanisme d'attaque membranaire du système du complément peut aussi contribuer à la destruction du tissu. De plus, l'activation du complément peut induire l'agrégation des plaquettes la libération des facteurs de la coagulation qui en résulte peut conduire à la formation de microthrombus (Thomas *et al.*, 2007).

L'exemple qui illustre cela est les anticorps passifs qui sont donnés aux patients afin de les protéger contre les toxines bactériennes comme les toxines diphtériques ; ceci est réalisé par l'injection de sérum de cheval hyperimmunisé contre ces toxines. Les anticorps du cheval permettent de contrôler et de guérir l'infection mais entraînent parfois une réaction systématique d'hypersensibilité III que l'on appelle maladie sérique.

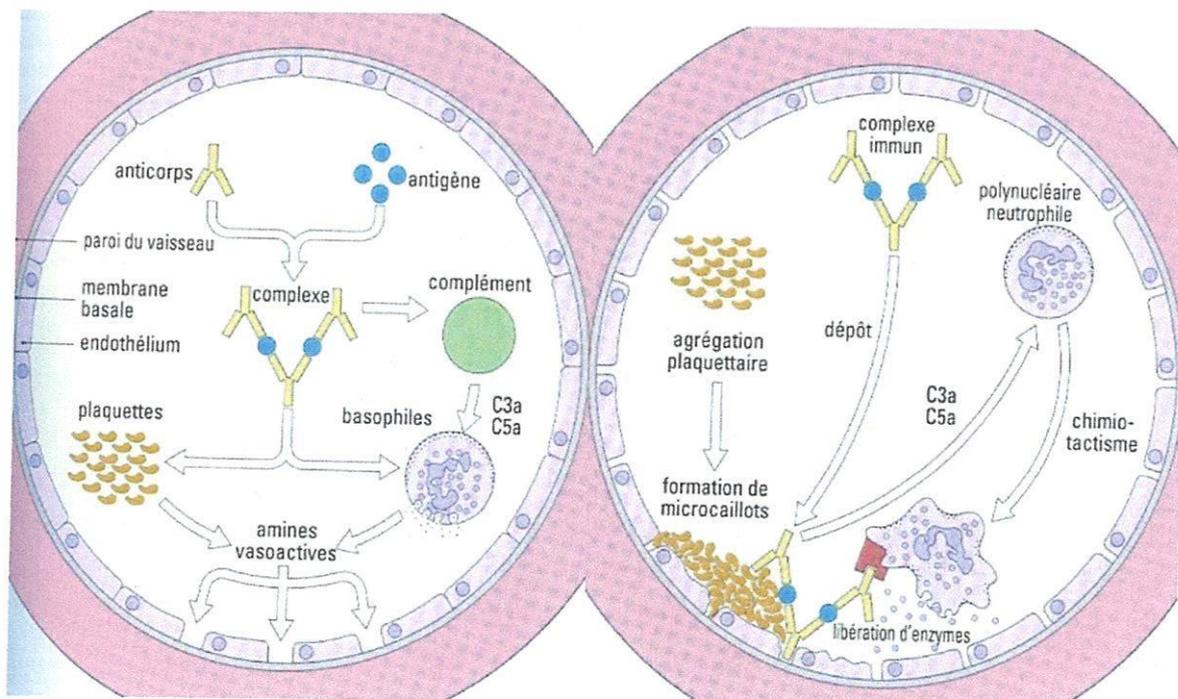


Figure 15 : Dépôt des complexes immuns (Male *et al.*, 2007)

2.4.1.4 Hypersensibilité retardée (Type IV)

Cette réaction se développe vis-à-vis des divers antigènes de l'environnement exemple : le nickel présent sur les pièces de monnaie ou de boucle de bracelet de montre et autre objet métallique, le sumac vénéneux de certaines plantes.

Lorsque certaines sous-populations de lymphocytes TH rencontrent ces types d'antigènes, ils produisent des cytokines qui induisent une réaction inflammatoire locale appelée réaction d'hypersensibilité de type IV (DTH, delayed-type hypersensitivity). La réaction est caractérisée par un afflux important de cellules inflammatoires, en particulier les macrophages (Thomas *et al.*, 2007).

A - Les différentes phases de l'hypersensibilité retardée

Le développement d'une réponse DTH débute par une phase initiale de sensibilisation d'une à deux semaines après le premier contact avec un antigène. Durant cette phase, on note une activation et une expansion clonale des TH, après présentation de l'antigène par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) dans un contexte restreint par les molécules CMH de classe II. Différents types de CPA sont impliqués dans l'activation d'une réponse DTH, incluant les cellules de langerhans et les macrophages. Les cellules langerhans sont les cellules dendritiques résidents dans l'épiderme. Ces cellules peuvent capturer l'antigène qui pénètre dans la peau et les transportent dans ganglions régionaux, où les lymphocytes T sont activés. Chez certaines espèces, y compris l'homme, les cellules endothéliales des vaisseaux peuvent exprimer des molécules CMH de classe II et avoir aussi un rôle de CPA dans le développement d'une réponse DTH. Généralement les lymphocytes T qui sont activés pendant la phase de sensibilisation sont des TH1, mais il été montré que dans de rare cas les lymphocytes T CD8 peuvent aussi induire une réponse DTH (Figure 16, 17) (Thomas *et al.*, 2007).

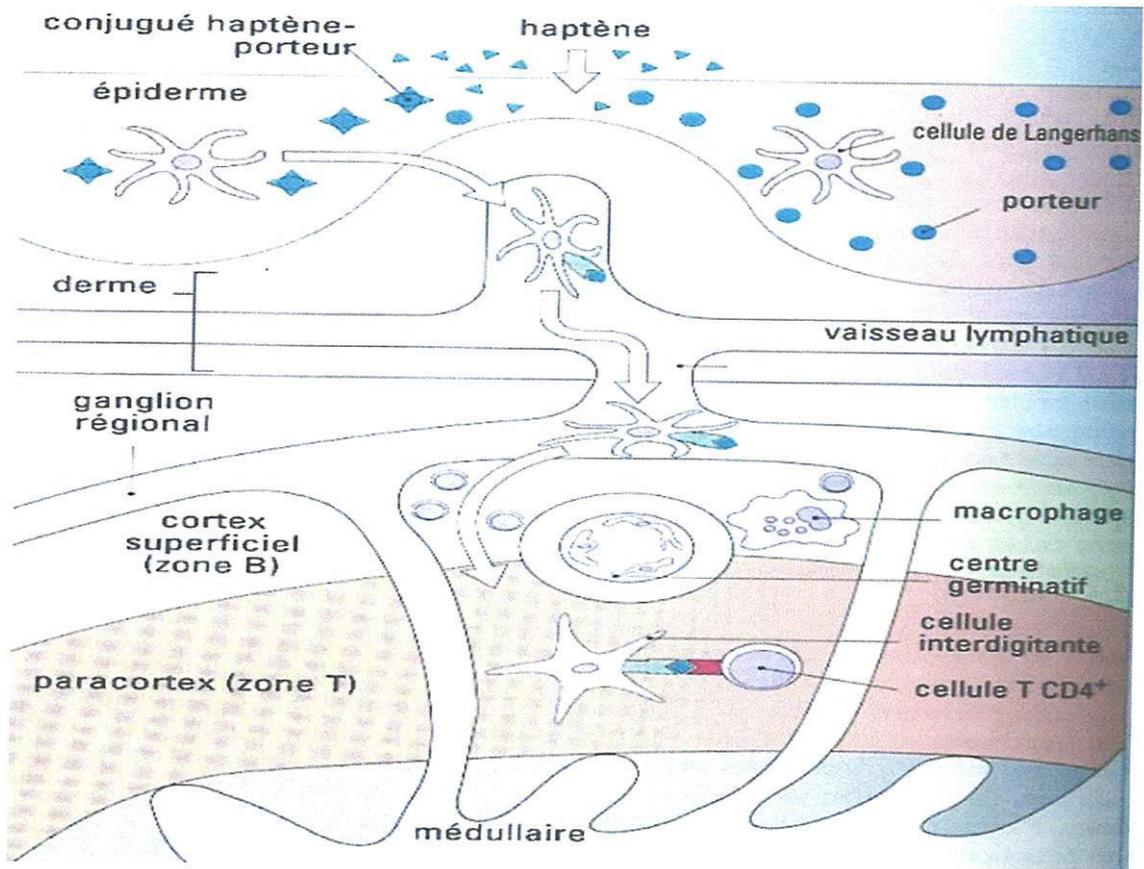


Figure 16 : Induction d'une hypersensibilité de contact (Male, 2005)

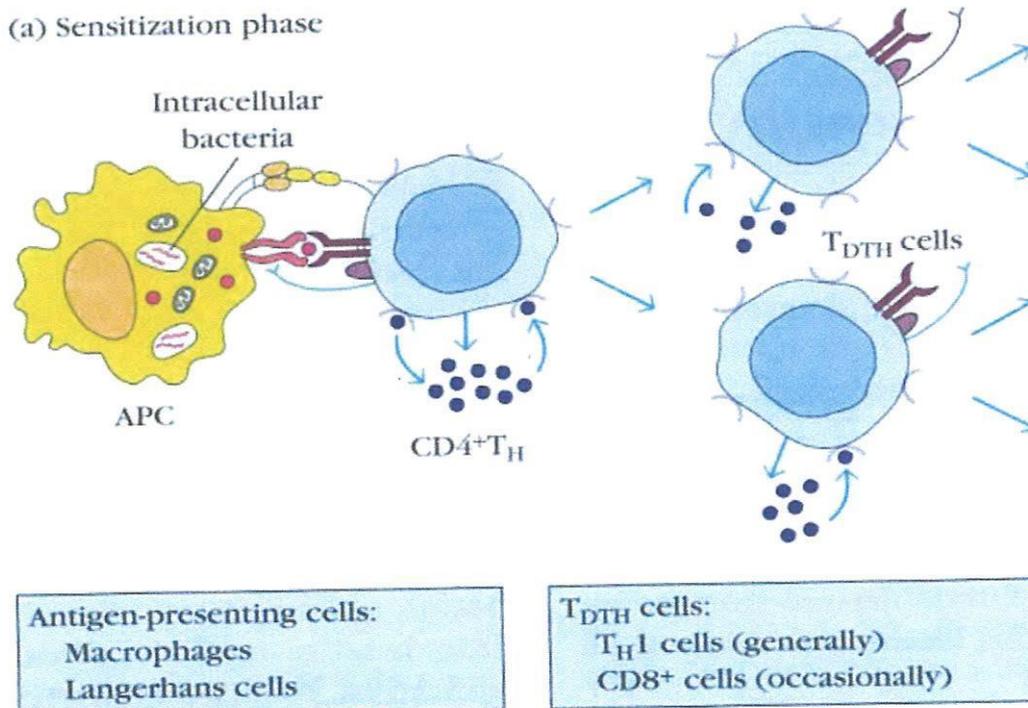


Figure 17 : Phase de sensibilisation d'hypersensibilité de contact (Thomas *et al.*, 2007)

Une exposition ultérieure à l'antigène déclenche la phase effectrice de la réponse DTH. Durant la phase effectrice, les lymphocytes TH1 sécrètent des cytokines qui recrutent et activent les macrophages ainsi que d'autres cellules inflammatoires non spécifiques. Normalement une réponse DTH apparaît environ 24 heures après le second contact avec l'antigène ; et pic de la réponse survient généralement entre 48 et 72 heures après le second contact. Le délai de cette réponse reflète le temps requis pour une activation des cellules T et la sécrétion de cytokine pour induire l'afflux local de macrophage ainsi que leur activation. Une fois que la réponse DTH a débuté, un dialogue complexe s'établit entre les cellules non spécifique et des médiateurs conduisant à une amplification important de la réponse. Dans une réponse DTH complétement développée, 5% seulement des cellules participantes à la réaction sont des lymphocytes TH1 spécifiques de l'antigène ; le reste de l'infiltration est constitué de macrophages et autres cellules non spécifiques (Figure 18) (Thomas *et al.*, 2007).

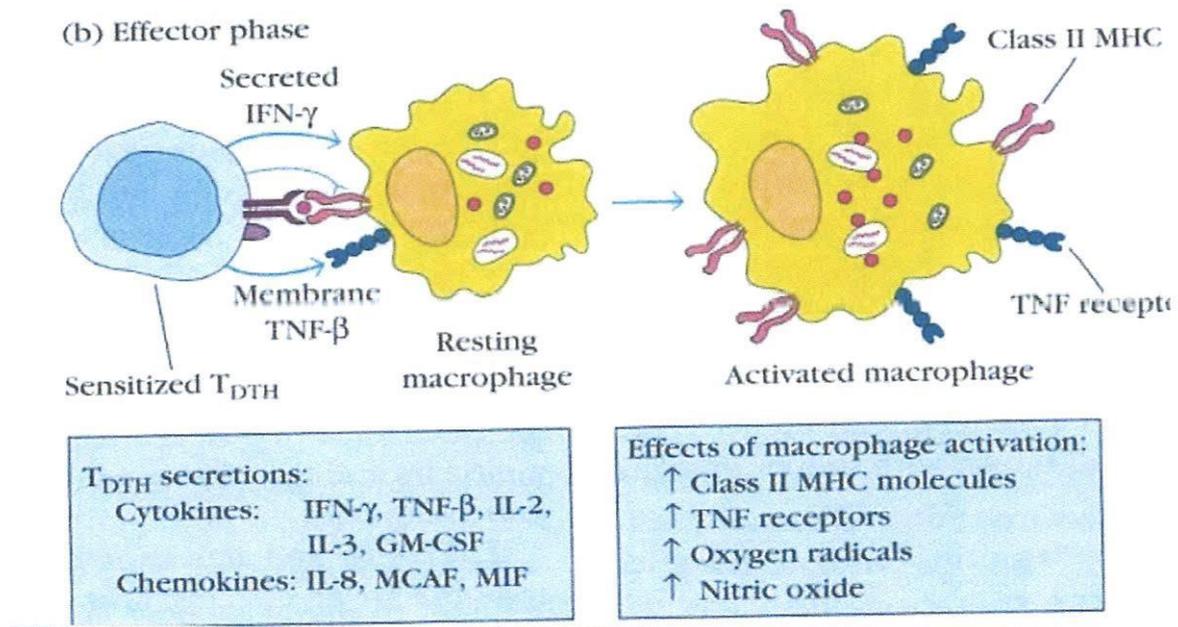


Figure 18 : Phase effectrice d'hypersensibilité de contact (Thomas *et al.*, 2007).

Généralement les pathogènes sont éliminés assez rapidement par les macrophages, avec peu de dommages tissulaires. Cependant dans certaines situations, notamment si l'élimination de l'antigène est incomplète, une réaction DTH persistante peut elle-même devenir destructrice pour l'hôte, avec une réponse inflammatoire très intense et le développement de réaction granulomateuse visible (Thomas *et al.*, 2007).

Un granulome se développe lorsque l'activation continue des macrophages provoque une forte adhésion des ces derniers entre eux, formant une structure épithélioïde qui parfois,

fusionne pour former de cellule géante multinuclées. Ces cellules géantes déplacent les cellules normales et forment ainsi des nodules palpables (Figure 19). Elles libèrent aussi de forte concentration d'enzymes lytiques qui vont provoquer la destruction des tissus voisins. Dans ces cas, les réponses peuvent entrainer des lésions vasculaire et aboutissant à une nécrose tissulaire importante (Thomas *et al.*, 2007).

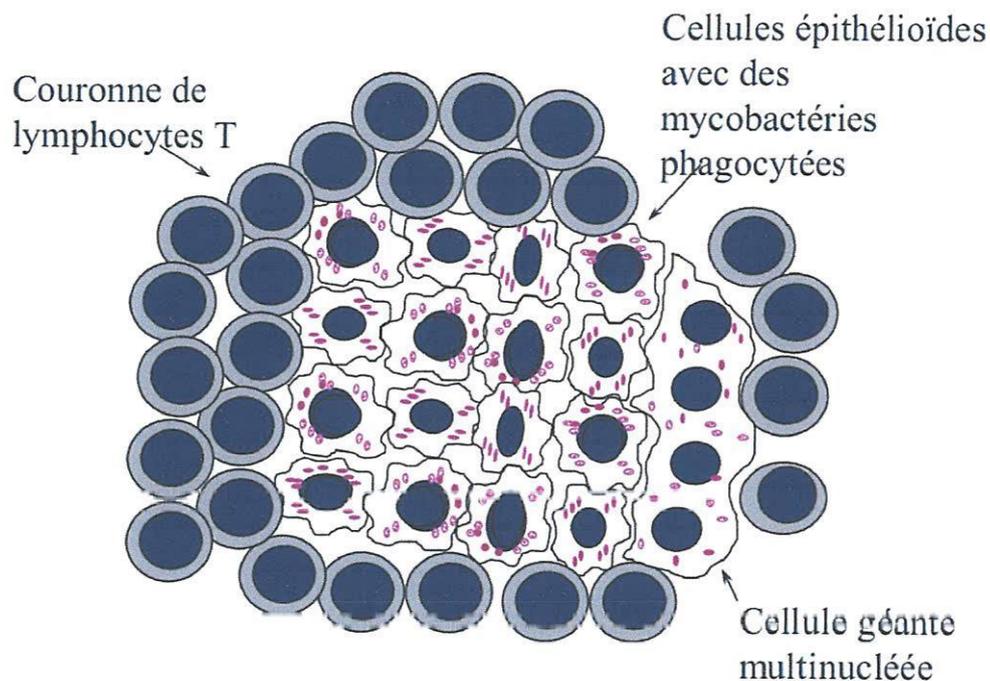


Figure 19 : Histologie d'un granulome (Janeway et travers, 1997).

B - Les cytokines impliquées dans la réaction de DTH

Les cytokines produites par les lymphocytes TH1 permettent la migration et l'activation des macrophages au site de l'infection. L'IL3 et le GM-CSF induisent une hématopoïèse locale de la ligné granulocytaire et des monocytes. L'IFN- γ et le TNF- β (ensemble avec le TNF- α et l'IL-1 produit par les macrophages) agissent sur les cellules endothéliales, induisant diverses modifications qui facilitent l'extravasation des monocytes et autres cellules inflammatoires non spécifiques. Lorsque les monocytes entrent dans les tissus pour devenir des macrophages, ils sont attirés vers le site de la réponse DTH par les chimiokines comme le MCP-1 /CCL2 (monocyte chemotatic protein). Les macrophages activés peuvent induire une activation efficace d'un nombre plus important de lymphocyte TH1. Cette activation s'effectue en premier lieu par l'intermédiaire d'une sécrétion d'IL2 qui est inducteur de

réponse TH1, stimule une forte production d'IFN- γ et inhibe dans le même temps le développement des cellules TH2 (Thomas *et al.*, 2007).

Chapitre III

Description des
sites
d'échantillonnages

3.1 Situation géographique

Le bassin versant d'oued Charef est situé dans la région nord-est de l'Algérie, il a une longueur de 88,61 km (Bouchelaghem, 2008), c'est le plus important affluent de l'oued Seybouse, qui se réunit à Medjaz Amar avec oued Bouhamdane pour donner naissance à l'oued Seybouse.

Le bassin de oued Charef qui n'est autre que celui du cours supérieur de la Seybouse atteint les hautes plaines, d'une altitude qui varie entre 800 à 1000 m. Cependant sur ces vastes surfaces surgissent Djebel Tenaghalt (1156 m) ; Djebel Sidi Reghiss (1636) (Khelifa et Kahalerras, 2009).

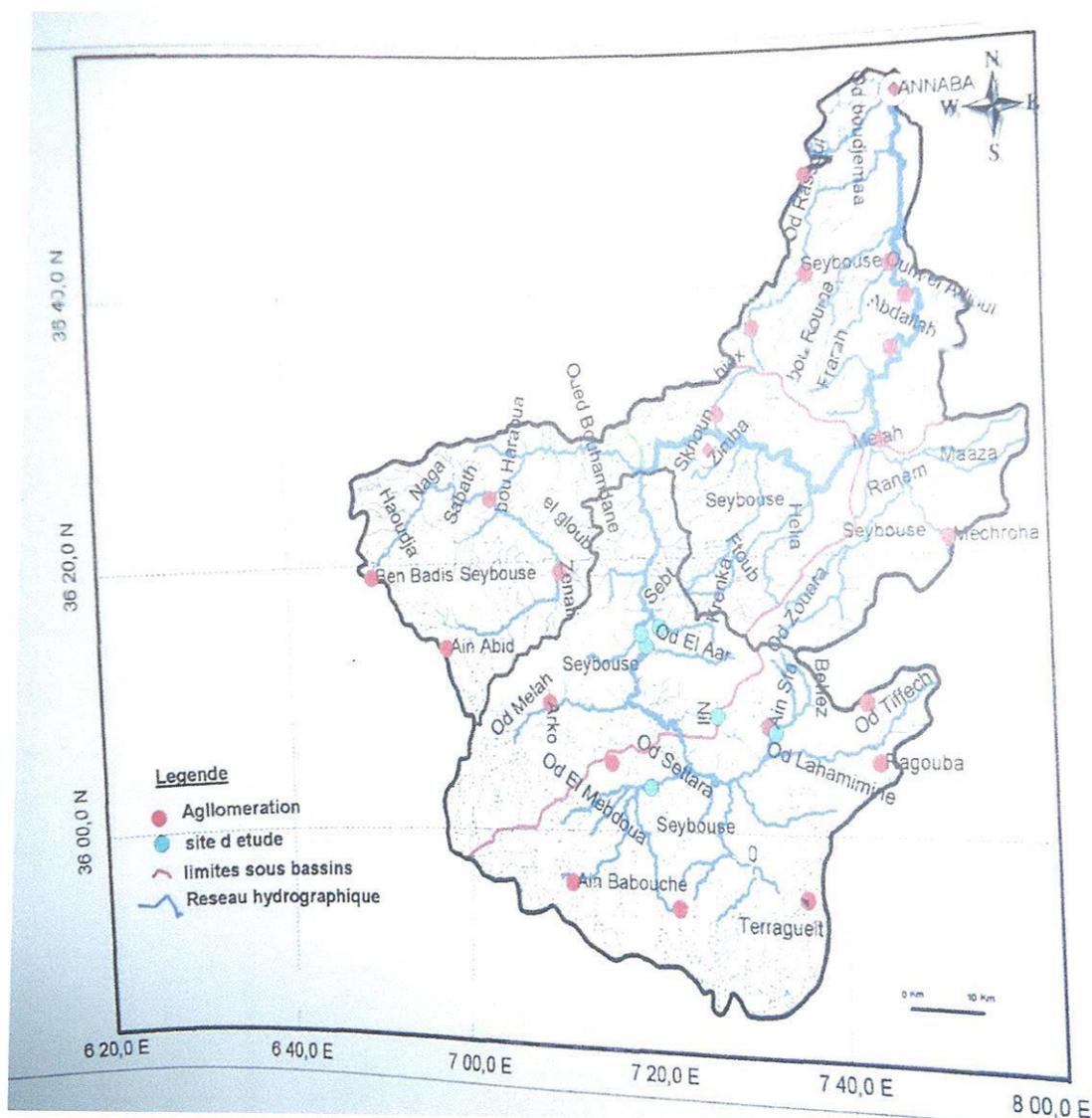


Figure 20 : Carte des sites d'échantillonnage (Sadaoui *et al.*, 2010)

3.2 Coordonnée GPS des sites d'échantillonnages

Le *Global Positioning System* (GPS), que l'on peut traduire en français par « système de localisation mondial » ou, plus proche du sigle d'origine, « Guidage Par Satellite », est un système de géolocalisation fonctionnant au niveau mondial. En 2011, il est avec GLONASS, un système de positionnement par satellites entièrement opérationnel et accessible au grand public.

Tableau 1 : les coordonnées GPS des sites

Sites	Latitude	Longitude
Dehmen	36°03209	7°19566
Crabe	36°04478	7°29643
Nile	36°08280	7°27731
Charef	36°14458	7°18620
Chaniour	36°14881	7°20607
Elare	36°13574	7°19289

3.3 L'influence des paramètres

3.3.1 Conductivité

La conductivité est un paramètre très important pour la dynamique des peuplements. Elle est proportionnelle à la quantité des sels ionisables dissous. Elle nous indique le degré de minéralisation des eaux (Bounaceur, 1997).

Tableau 2 : la variation mensuelle de la Conductivité ($\mu\text{s}/\text{cm}$).

Sites	Mois	
	Mars	Avril
Charef	1560	1999
Chaniour	590	600
Dehmen	1999	1999
Nile	1380	1440
Crabe	1380	1620
Elare	760	870

Le tableau de l'évolution mensuelle de la conductivité, au niveau des sites échantillonnés, pour la période d'étude qui s'étend de (Mars et Avril) montre que :

- Dehmen et Chéniour sont des sites à conductivité stable.
- Une faible conductivité dans les oueds suivant : Elare, Chaniour et Charef.
- Par contre, on a noté une conductivité élevée dans les oueds Dehmen, Crabe et Nile.

3.3.2 La profondeur de l'eau

La profondeur de l'eau influence le réchauffement des eaux et donc l'installation et la prolifération de la flore thermophiles. La profondeur de l'eau agit sur la teneur en O₂. En effet la surface peu profonde permet à l'air de se diffuser largement et de bien se mélanger, par contre dans les lacs, la profondeur est telle qu'elle conduit à la stratification thermique (Touati, 2008).

Tableau 3 : la variation mensuelle de la profondeur de l'eau (cm)

Sites	Mois	
	Mars	Avril
Charef	24	24
Chaniour	30	42
Dehmen	20	34
Nile	21	24
Crabe	31	30
Elare	18	20

Le tableau d'évolution mensuelle de la profondeur montre que:

- Les oueds qui ont une profondeur faible (ne dépasse pas 30cm) sont : Nile, Elare et Charef.
- Les oueds Chaniour et Crabe ont une profondeur entre 30cm et 40cm.

3.3.3 La température

La température joue un rôle important dans le développement, la croissance et le cycle biologique de la majorité des insectes aquatiques. Elle peut agir également sur la localisation des espèces et la densité des populations (Dajoz, 1985).

Tableau 4 : la variation mensuelle de la température (°C).

sites	Mois	
	Mars	Avril
Charef	13	12
Chaniour	12	14
Dehmen	8.5	9
Nile	9	8
Crabe	6	12
Elare	19	12

Le tableau de l'évolution de la température de l'eau mensuelle moyenne dans les oueds de Charef, Chaniour, Dehmen et Nile sont presque constant pendant la période d'étude Mars & Avril.

Chapitre IV

Matériel et
Méthodes

4.1 Matériel biologique

4.1.1 Chironomidae

Les Chironomidae sont des insectes Diptères faisant partie des Culiciformes, c'est à dire ayant un aspect général de celui des moustiques.

Leur cycle de développement comporte quatre états morphologiquement très différents qui, tout en ayant un aspect général identique d'une sous famille à l'autre, présente des variations anatomiques qui constituent l'une des bases essentielles de la systématique.

La position systématique au sein du règne animal est la suivante (Epler, 2001):

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Arthropoda*

Sous-embranchement : *Hexapoda*

Classe : *Insecta*

Sous-classe : *Pterygota*

Infra-classe : *Neoptera*

Super-ordre : *Endopterygota*

Ordre : *Diptera*

Sous-ordre : *Nematocera*

Infra-ordre : *Culicomorpha*

Super-famille : *Chironomoidea*

Famille : *Chironomidae*

Notre travail concerne les larves considérées comme responsables d'hypersensibilité.

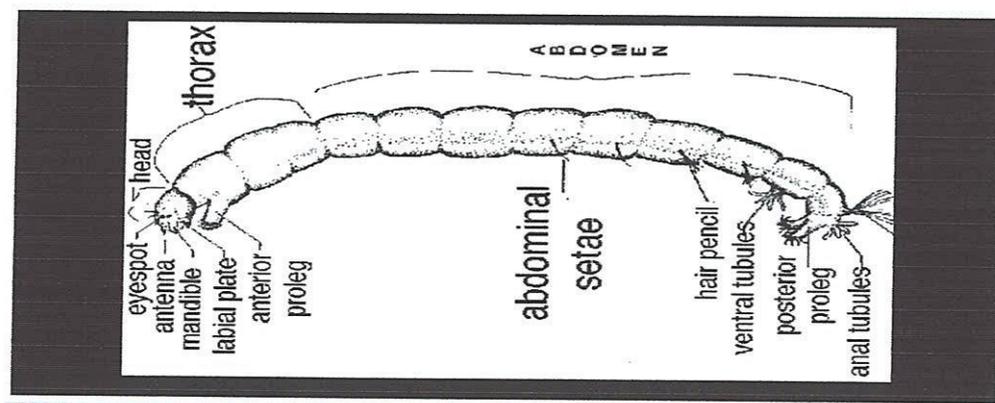


Figure 21 : Larve de Chironomidae (Epler, 2001)

4.1.2 Souris

Mus musculus est une espèce parmi les petits rongeurs de la famille des muridés. On désigne plus simplement cette espèce très répandue par le nom vernaculaire générique, **souris**.

La **souris blanche** est une race de souris domestiquée largement utilisée en laboratoire.

La position systématique au sein du règne animal est la suivante [6]:

Règne : Animalia

Embranchement : Chordata

Sous-embranchement : Vertebrata

Classe : Mammalia

Chore : Euarchontoglires

Ordre : Rodentia

Sous-ordre : Myomorpha

Famille : Muridea

Sous-famille : Murinae

Genre : Mus

Sous-genre : Mus(Mus)

Espèce : Mus musculus



Figure 22 : Souris du genre Mus [6]

La souris commune a été et continue beaucoup utilisée comme organisme modèle en biologie, que ce soit en génétique, en embryologie, en oncologie, en pharmacologie ou en toxicologie etc...

La souris a en effet plusieurs avantages tel qu'un cycle de vie court, un élevage facile à faible coût, une petite taille, le fait que cela soit un mammifère avec un génome proche de celui de l'homme, le nombre important d'études déjà réalisées sur elle ou encore une natalité importante [7].

4.2 Matériel expérimental

4.2.1 Sur le terrain

- Epuisette (un filet de type de toile de moustiquaire rigide monté sur un manche de bois).
- Des bouteilles en plastique.
- Du formol 5% pour la conservation des échantillons.
- Un conductimètre.
- Un oxymètre.
- Un profondimètre.
- GPS

4.2.2 Au laboratoire

A - Solutions

- KOH.
- Acide acétique.
- Alcool éthylique (75% et 95%).
- L'Euparal.
- PBS.
- Solution de coca.
- Adjuvant de Freund incomplet.
- Eau distillée
- Le colorant : May Grunwald Giemsa (MGG)
- L'eau tamponnée
- Le Bleu de Trypan.

B - Appareillage : (Figure 23)

- Une loupe binoculaire de type leica-zoom-2000.
- Un microscope (Zeiss).
- Plaque chauffante (Rommelsbacher).
- Etuve.
- Autoclave.
- Balance électronique.
- Agitateur Thermique.
- Incubateur.
- Centrifugeuse.

- Cage

C - Verrerie

- Entonnoir.
- Des boîtes de pétri.
- Des bols en plastique.
- Pincés de dissection.
- Aiguilles entomologiques.
- Un pinceau.
- Etiquettes.
- Tubes en verre avec bouchon.
- Lames et lamelles.
- Cellules de Malassez
- Boîtes pour conserve les lames montées.
- Des salières.
- Becher 200 ml.
- Pipette graduée de 25mL.
- Pipettes Pasteur.
- Portoir tube à essai.
- Broyeur (Mortier et pilon).
- Les guides d'identification.
- Flacon.
- Bec Benzène.
- Trousse à dissection.



Agitateur thermique



Centrifugeuse



Micropipette



Balance Electrique



Cage a souris



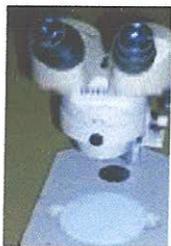
Incubateur



Multi paramètre



Trousse à dissection



Loupe binoculaire



Microscope



Autoclave



Portoir et Tube à Essai



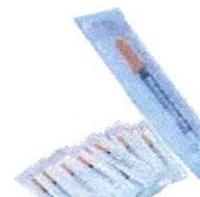
Boite de Pétri



Entonnoir et Fiole



Becher



Seringue à insuline

Figure 23 : Matériels utilisés au laboratoire.

4.3 Méthodes

4.3.1 Echantillonnage

Nous avons étudié 6 stations réparties dans 3 Wilayas pendant une période d'un mois (22/03/2012 au 15/04/2012).

Ces récoltes concernent les larves, nymphes et adultes, chaque station a été échantillonnée deux fois, pendant une durée de 30 minutes avec un total de 12 visites.

Les échantillons obtenus ont été conservés dans du formaldéhyde (5%) dans des bouteilles en plastique étiquetées (pour noter la date et le site).

Nous avons effectué les premières visites sur ces sites pour évaluer les paramètres influençant sur le développement des Chironomidae et leurs abondances dans les sites.

Compte tenu de l'abondance des larves Chironomidae dans l'oued Dehmen par rapport aux autres sites, il a été choisi pour y collecter les échantillons utilisés au cours de notre travail.

Une troisième visite a été faite sur l'oued Dehmen pour réaliser l'extraction des allergènes mais ces échantillons étaient vivants c'est-à-dire sans formaldéhyde.

4.3.2 Au laboratoire

Au laboratoire, nous procédons au dépouillement, la séparation et le dénombrement des individus appartenant au même taxon.

Les échantillons récoltés sur le terrain sont passés par les étapes suivantes :

A - Le tri des individus des Chironomidae

Le montage de tous les individus des Chironomidae est pratiquement impossible surtout si un grand nombre a été collecté. Un tri des individus (larve, nymphe et adulte) est nécessaire avant le montage entre lame et lamelle. Le tri des individus se fait selon plusieurs caractères qui peuvent être observés quand les individus sont dans l'alcool (ou le formol).

Parmi les caractères principaux :

➤ **L'apparence générale du corps.**

- La taille des individus.

- Présence ou absence de soies, leur position, longueur, simples ou groupées en touffes.
- Les pseudopodes des larves : présence de crochets sur les pseudopodes ou non, la forme des griffes.
- La présence ou absence des cornes thoracique des nymphes, leur forme, leur taille.
- Présence ou absence de tubules ventraux ou latéraux dans la partie postérieure du corps, ainsi que leur forme et nombre

➤ **La couleur du corps**

Elle est mieux observée chez les individus vivant ou fraîchement mis dans l'alcool. Certaines larves sont blanchâtre, jaunâtre, rougeâtres, verdâtres ou même violets. Certaines larves ont des bandes colorées sur leur corps.

➤ **La forme et les structures de la capsule céphalique des larves :**

- Certaines larves ont des capsules céphalique arrondies, d'autres sont très allongées.
- Certaines larves ont des projections sur leurs capsules céphaliques.
- La mentum et ses structures associées sont facilement visibles chez les larves de grande taille et conduisent directement au genre, par exemple : le mentum de *polypedilum* sp. Avec deux dents médianes caractéristiques et de *Chironomus* sp., les plaques paralabiales triangulaires caractéristiques de *Dicrotendipes* sp.

➤ **Montage des individus des Chironomidae**

Le montage des individus des Chironomidae (larves, nymphes et adultes) se fait au cours de plusieurs étapes successives faisant intervenir plusieurs bains de produits chimiques. Cependant, les exuvies larvaires et nymphales sont montées par une méthode différente.

B - Identification des échantillons

Avant l'identification les échantillons ont suivis les traitements suivants :

- Passage des larves dans une solution de potasse (KOH), à chaud pendant 2 à 3 mn, pour dissoudre les éléments musculaire et les lipidique.
- Passage ensuite dans un bain d'alcool 75%.
- Passage dans un bain d'alcool 95% pour une déshydratation complète pendant 3mn.

Enfin, la dissection des individus de Chironomidae, puis se réalise dans une goutte d'Euparal sur une lame. La dissection a pour but de séparer les différentes parties des individus de Chironomidae (Figure 24).

L'identification des échantillons de Chironomidae a été effectuée par Dr Zerguine K.

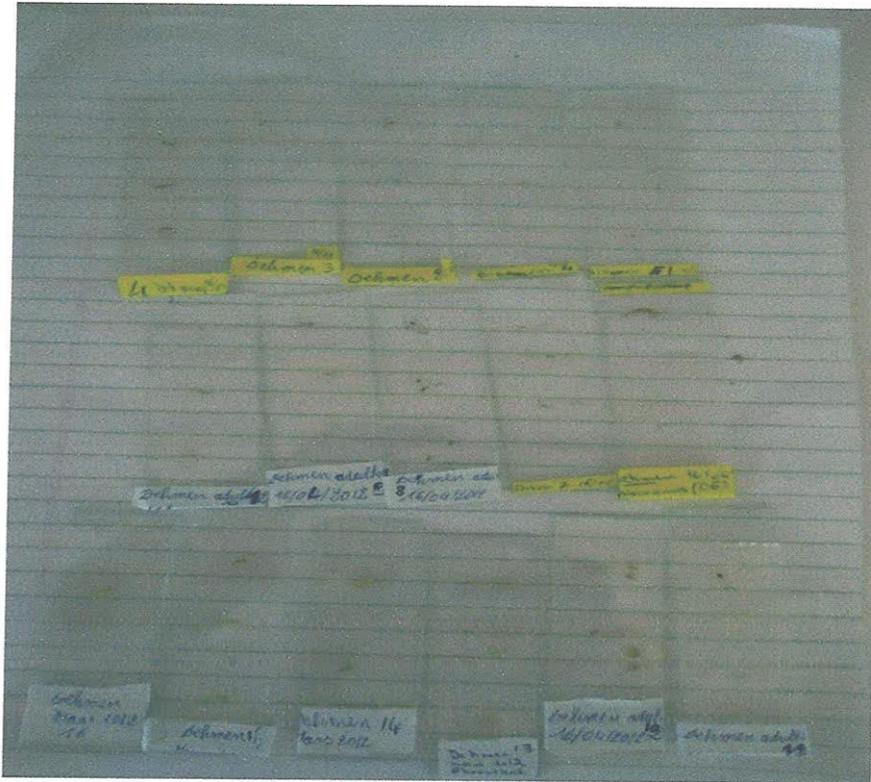


Figure 24 : les Chironomidae (Larves, nympe, Exuvie et Adulte) montés entre lame et lamelle

C - Extractions des allergènes

• Protocole

- Le dessèchement à température ambiante 25°C pendant 72 heures.
- Pesée de l'échantillon desséché P= 43,4 mg.
- Broyer, peser (P=28.8 mg) et homogénéiser.
- L'extrait est incubé avec 10 ml de PBS (PH=7.2) pendant 10heures à 4°C.
- Centrifugée à 3900g tour/mn pendant 10 mn (culot₁ et surnagent₁).

- Récupéré le surnagent₁ et centrifugée à 9000g tours/mn pendant 50mn (culot₂ et surnagent₂).
- Récupérer le culot₂ et ajouter 0.434ml de solution de Coca.
- Filtrer par un filtre millipore (0,45micromètre) et récupérer la matière sèche.
- Ajouter 0.9ml du surnagent₂ et 1ml d'adjuvant de Freund, agite pendant 2mn et conserve dans une température de 4 à 8 °C pendant 48 H.

Enfin on obtient notre allergène, on ajoute alors l'adjuvant de Freund.

D - Sensibilisation des souris

Nous avons, à notre disposition quatre souris réparties en deux lots. Les lots sont composés de deux souris.

Le lot 1 est le lot témoins. Ces souris ont été injectées que par le PBS.

Le lot 2 : ces souris ont été immunisées par 0,1ml de solution d'immunisation.

L'immunisation se fait chaque trois jour pendant deux semaines dont 4 injections par souris.

Pendant le dernier jour d'immunisation, une double dose de la solution d'immunisation a été administrée aux souris.

E – Les différentes analyses

- Le prélèvement sanguin s'effectue après avoir égorgé l'animal. Le sang est recueilli dans des tubes à EDTA destinés pour la réalisation de la FNS (formule numérique sanguine) (Figure 25).



Figure 25 : le sang prélevé pour FNS

➤ Isolement des macrophages péritonéaux. 

Après avoir préparé la plaque à dissection et la surface avec de l'alcool ainsi que les instruments de dissection, la souris est fixée sur le dos avec des aiguilles. On ouvre la peau de la face ventrale en faisant attention de ne pas ouvrir le péritoine à cette étape, et on l'écarte proprement pour découvrir les péritonéaux (Figure 26).

En premier et à l'aide d'une seringue stérile, on introduit 3 ml de la solution de PBS dans la cavité péritonéale.



Figure 26 : Dissection de la souris

Après 5 minutes, le liquide injecté est récupéré dans un tube stérile et centrifugé 5 minutes à 1500 rpm.

Le culot issu de cette première centrifugation est remis en suspension dans 3 ml de PBS et recentrifugé 5 minutes à 1500 rpm. (2 fois). A la fin du dernier lavage le culot est remis en suspension dans 3 ml de PBS. Enfin, on passe au comptage des macrophages péritonéaux des quatre coins de la cellule de Malassez.

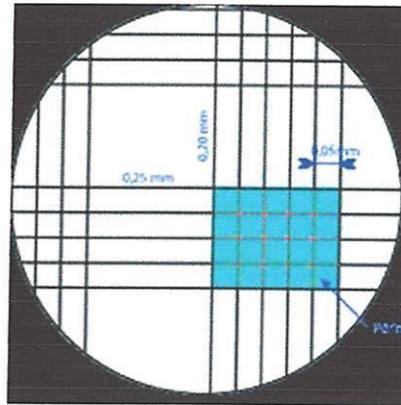


Figure 27 : Numération sur cellule de Malassez (10X40)

- Le nombre de macrophages péritonéaux par litre est calculé selon l'équation suivante :

$$N = (n/v) f$$

Avec : N : Nombre de cellules par litre.

n : Nombre de cellules comptées.

v : Volume de comptage en litre.

f : Facteur de dilution.

Chapitre V

Résultats et
Discussions

5.1 Abondance des Chironomidae dans les différentes stations

5.1.1 Comparaison entre les stations d'oued Charef

La comparaison est basée sur l'abondance des Chironomidae dans le bassin d'oued Charef des mois de Mars et Avril.

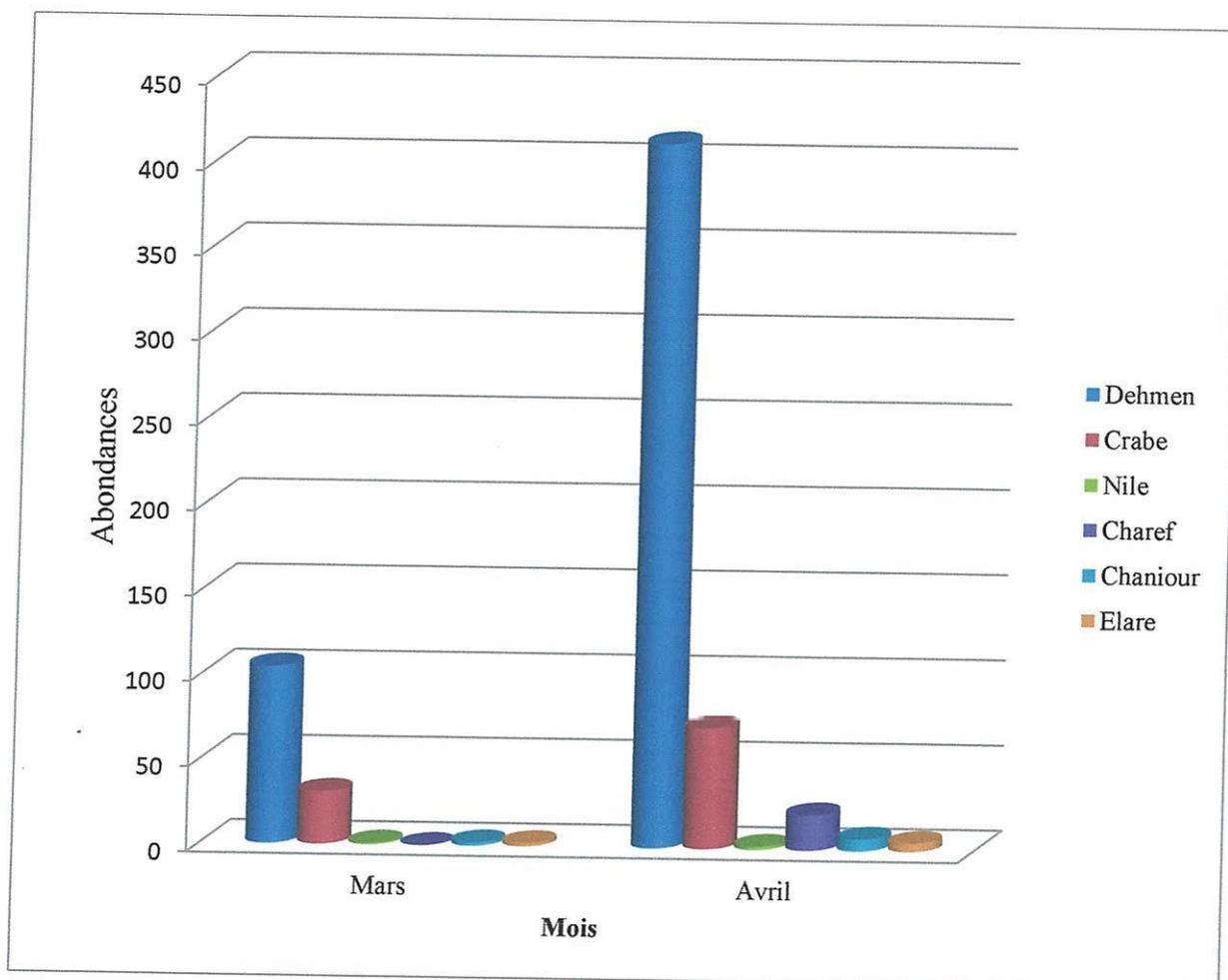


Figure 28 : Comparaison entre les stations d'oued Charef (Mars et Avril)

La figure 28 met en évidence l'abondance des Chironomidae dans les différents sites. Le nombre des individus est élevé dans l'oued Dehmen et Crabe au cours des deux mois (Mars et Avril). Il est moyennement élevé dans l'oued Nile et Chaniour mais concernant les 2 oueds Elare et Charef le nombre des individus est réduit. On remarque également que les Chironomidae sont abondants en mois d'Avril qu'en Mars.

5.1.2 Les différentes sous familles des Chironomidae d'oued Dehmen

Trois sous familles de Chironomidae ont été recensées dans la station oued Dehmen qui sont :

- Tanypodinae.
- Orthoclaadiinae.
- Chironominae.

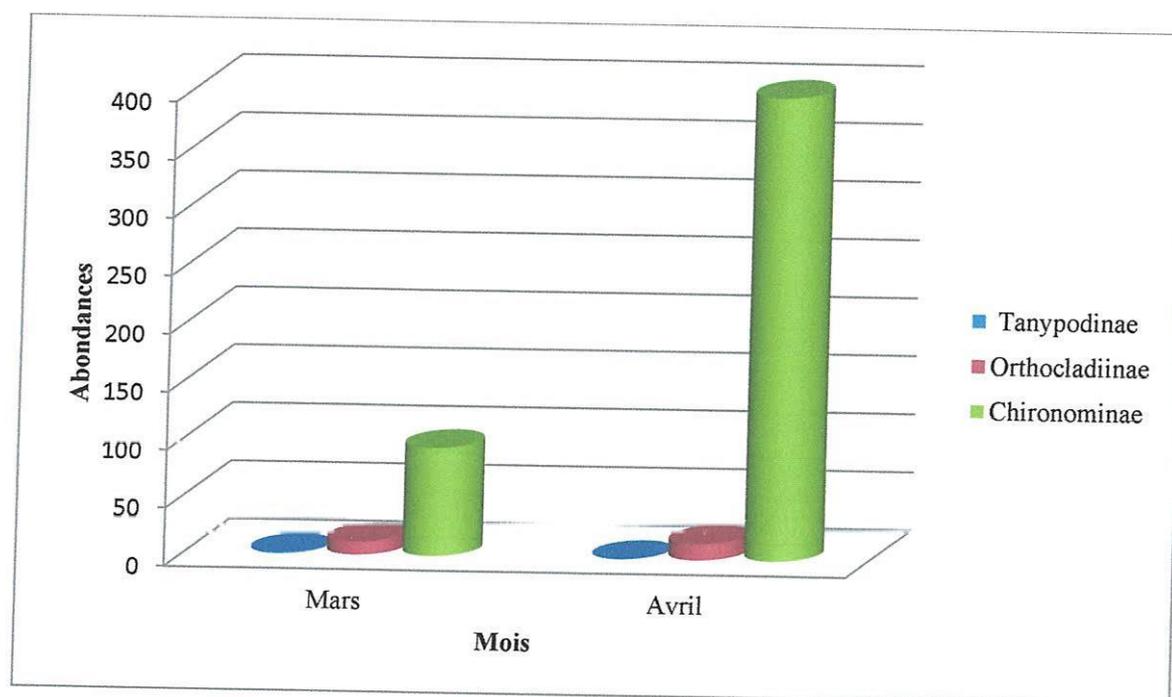


Figure 29 : Les différentes sous familles des Chironomidae d'oued Dehmen (Mars et Avril).

Les Chironominae dominent toutes les autres sous familles d'oued Dehmen au cours de notre étude (Mars et Avril), les Orthoclaadiinae viennent en seconde position enfin les Tanypodinae.

5.1.3 Check-list des espèces des Chironomidae d'oued Dehmen

Le tableau 5 présente le check-list des espèces de Chironomidae d'oued Dehmen au cours de notre travail. Ce tableau nous montre la présence des Chironomidae dans les 6 sites avec une majorité des Chironominae (8 espèces), suivie par celle des Orthocladiinae (4 espèces) et enfin la sous famille des Tanypodinae (1 espèce).

Tableau 5 : check-list des espèces de Chironomidae d'oued Dehmen.

Les sous familles	Tribus	Espèces	Nombre	Stade
Tanypodinae	Procladiini	<i>Procladius choreus</i> (Meigen)	1	L
Orthocladiinae	Orthocladiini	<i>Cricotopus bicinctus</i> (Meigen)	9	L, Ex
		<i>Psectrocladius sordidellus</i> (Zetterstedt)	5	L
		<i>Rheocricotopus tirolus</i> (Lehmann)	10	L
		<i>Endochrinomus imparis</i> (Walker)	1	L
Chironominae	Chironominae	<i>Polypedilum</i> sp	363	L
		<i>Chironomus riparius</i> (Meigen)	23	L, A
		<i>Chironomus thummi</i>	22	L
		<i>Polypedilum tripodura</i> (Kieffer)	2	L, Ex
		<i>Chironomus plumosus</i> (Linnaeus)	5	L
		<i>Psilopterus</i> (Kieffer)	1	L
	<i>Reorthocladus</i> sp	77	L, P	
	Tanytarsini	<i>Tanytarsus</i> sp	9	L

(Ex : exuvie ; L : larve ; adulte mâle ; P : nymphe)

5.2 Résultats des tests

L'objectif de ce travail est d'étudier la réaction du système immunitaire contre l'hémoglobine des larves de Chironomidae. L'hémoglobine extrait additionné à l'adjuvant de Freund a été utilisé pour immuniser les souris.

Pour chacune des souris nous avons évalué les réponses immunitaires en comptant les leucocytes du sang et les macrophages péritonéaux. Les résultats obtenus sont résumés dans les figures ci-dessous.

5.2.1 Leucocytes sanguins

Nous avons effectué un prélèvement afin de compter le nombre des différentes populations leucocytaires pour les témoins et les traités. L'analyse a été réalisée à l'aide d'un appareil spécialisé dans le laboratoire Brouk Ramoul de Guelma.

A - Variation du nombre des Lymphocytes

Les résultats présentés dans la figure 30 indiquent une augmentation du taux de lymphocytes chez les souris traitées par rapport aux témoins (Témoin: $1,7 \times 10^3$ Cells/ μ L, Traitées : $5,1 \times 10^3$ Cells/ μ L).

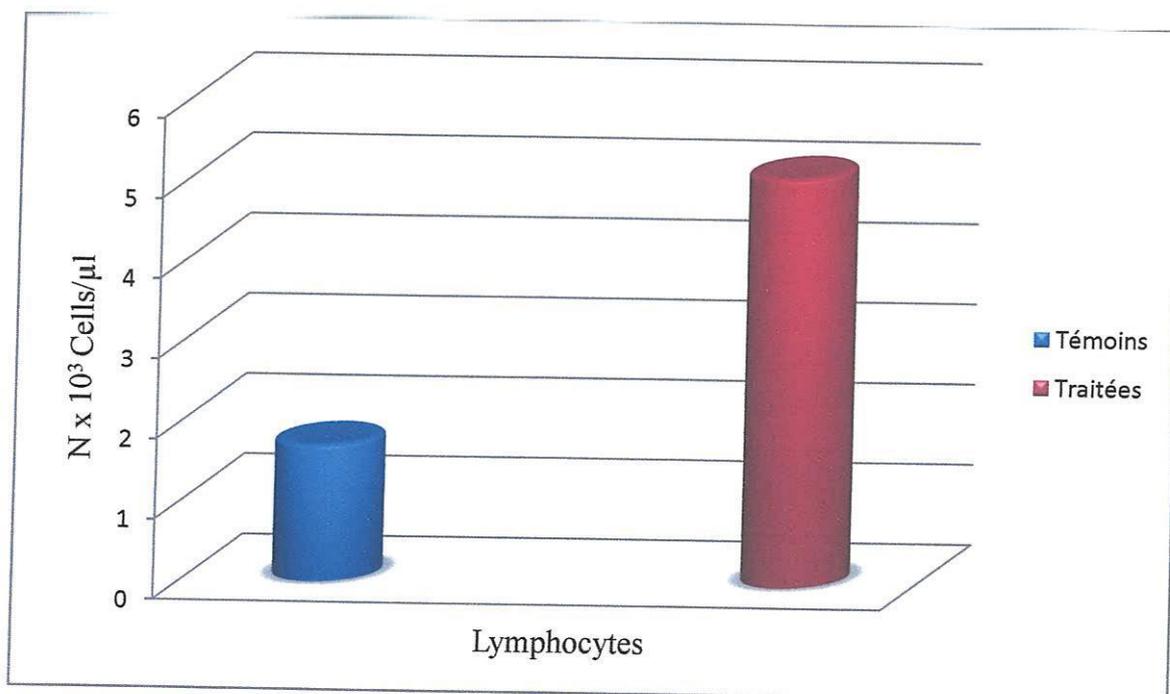


Figure 30 : Variation du nombre des Lymphocytes.

L'augmentation du nombre des lymphocytes chez les souris traitées pourrait être due à l'activation des lymphocytes par l'extrait de l'hémoglobine et à l'effet des cytokines (IL-4, IL-5, IL-12, IL-2 etc....) qui permettent la prolifération des lymphocytes dans une réponse spécifique (Thomas *et al.*, 2007).

Ayant reçu des immunisations de rappel, cela suppose que les souris ont développé des réactions secondaires permettant la prolifération massive des lymphocytes d'où une grande augmentation.

Il est à signaler qu'aucune souris ne manifestait une infection.

B - Variation du nombre des Monocytes

Les résultats présentés dans la figure 31 illustrent une augmentation du taux des monocytes chez les souris traitées par rapport aux témoins (Témoins: $0,6 \times 10^3$ Cells/ μ L, Traitées : $1,4 \times 10^3$ Cells/ μ L).

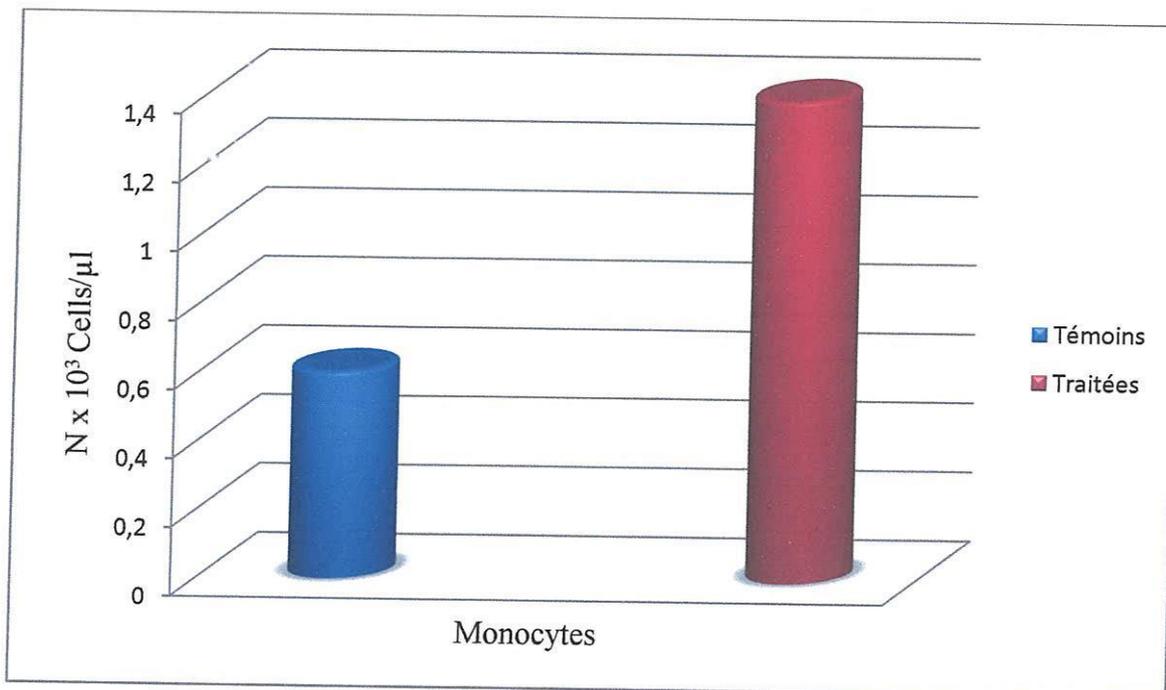


Figure 31 : Variation du nombre des monocytes.

Les monocytes sont des précurseurs des macrophages. Ils résident dans le sang et migrent dans les tissus pour devenir des macrophages qui jouent un grand rôle dans la réponse cellulaire et dans l'hypersensibilité de type IV (Thomas *et al.*, 2007). Comme indiqué

dans le chapitre II l'hypersensibilité de type IV est une réaction totalement cellulaire et intense.

Un taux élevé de monocytes dans le sang des souris traitées suggère une réponse cellulaire pouvant devenir une réaction d'hypersensibilité de type IV avec une forte intensité.

C - Variation du nombre des Granulocytes

Les résultats présentés dans la figure 32 indiquent une augmentation du taux de granulocytes chez les souris traitées par rapport aux témoins (Témoins: $0,3 \times 10^3$ Cells/ μ l, Traitées : $0,9 \times 10^3$ Cells/ μ l).

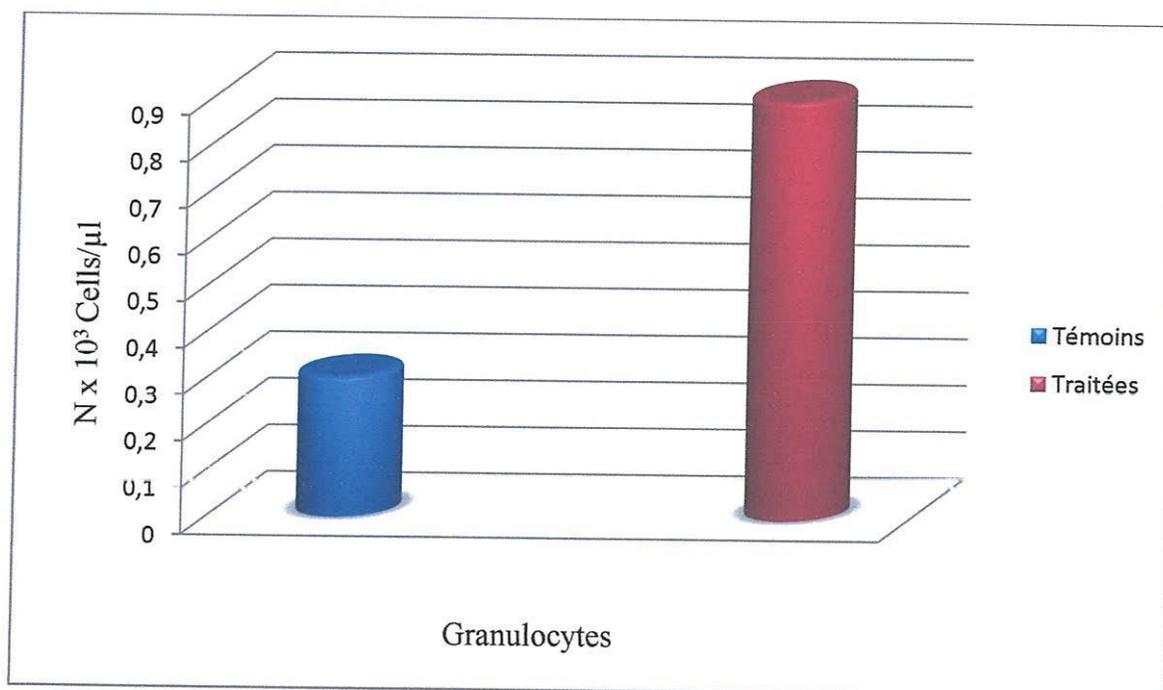


Figure 32 : Variation du nombre des granulocytes.

Les granulocytes appelés aussi polynucléaires sont composés de neutrophiles, d'éosinophiles et des basophiles. Les éosinophiles et les basophiles portent sur leur surface des récepteurs pour les fragments Fc des IgE et sont très importants dans les réactions d'hypersensibilité de type I. Les neutrophiles sont des phagocytes, ils peuvent induire tout comme les éosinophiles la lyse cellulaire via un mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC) et autres réactions inflammatoires (Thomas *et al.*, 2007).

Les souris traitées ont un taux de granulocytes élevé. Cet état de fait suppose une réaction inflammatoire et une prolifération des granulocytes provoquée par des médiateurs

inflammatoires produits lors de la réaction du système immunitaire contre l'extrait d'hémoglobine.

5.2.2 Variation du nombre des macrophages péritonéaux

La figure 33 illustre une augmentation remarquable du taux des macrophages intra-péritonéaux chez les souris traitées par rapport aux témoins (Témoins: $1,5 \times 10^8$ Cells/l, Traitées : $4,1 \times 10^8$ Cells/l).

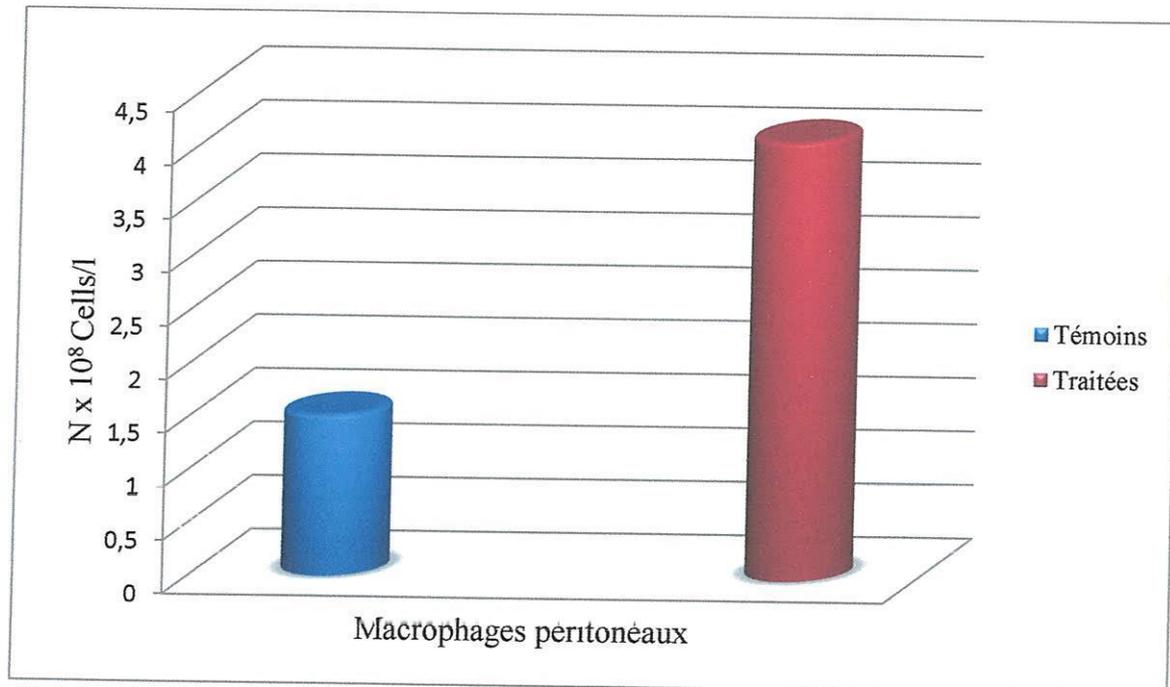
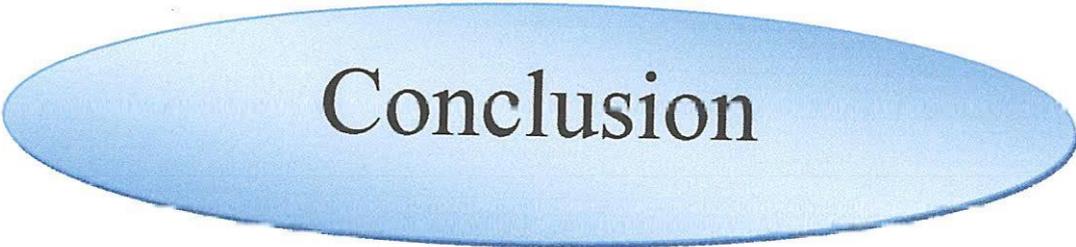


Figure 33 : Variation du nombre des macrophages péritonéaux.

Ces résultats confirment ceux de la figure 30 qui ont montré un taux élevé de monocytes des souris traitées par rapport aux témoins.

Un taux élevé de monocytes dans le sang des souris traitées suggère une augmentation du nombre de macrophages et une réponse cellulaire pouvant devenir une réaction d'hypersensibilité de type IV avec une forte intensité.

Nos résultats sont en accord avec les résultats des travaux réalisés par différents chercheurs comme (Yong *et al.*, 1999) en Korea, (Kay *et al.*, 1978) au Soudan, (Ballesteros *et al.*, 2006) et (Aldunate *et al.*, 1999) en Espagne. En effet, Toutes ces études mettent en évidence une réponse immunitaire et inflammatoire contre l'hémoglobine des Chironomidae.



Conclusion

Conclusion

Notre étude s'est portée sur deux approches : une approche entomologique et une approche immunologique.

L'approche entomologique nous a permis de :

- De comprendre que les Chironomidae sont très abondante en espèce et en nombre d'individus
- Etudié la faune Chironomidienne d'oued Charef et faire un bon échantillonnage pour l'approche immunologique. En effet, l'espèce abondante dans le site d'échantillonnage : *Polypedilum*, est une espèce allergisante selon la littérature.

Dans l'approche immunologique, nous avons voulu mettre en évidence les effets de l'hémoglobine des larves de Chironomidae sur les cellules immunitaires des souris.

Les résultats obtenus supposent que l'extrait d'hémoglobine des larves de Chironomidae a induit une réaction immunologique et l'inflammatoire chez les souris car il y a eu augmentation du taux des lymphocytes, de monocytes, macrophages et des granulocytes.

Il serait difficile de dire la nature de l'inflammation et la réaction immunologique par manque d'analyse approfondie.

Mais il est à signaler que des cas de l'asthme bronchique, la rhino conjonctivite œdème de Quincke et urticaire ont été observé chez les aquariophiles et les pêcheurs due aux larves Chironomidae (Aldunate et *al.*, 1999).

Nous sommes néanmoins persuadés que cette étude mérite d'être poursuivie. Cela permettra sans doute de progresser à nouveau champ de connaissance sur les effets allergiques des Chironomidae. Il s'avère intéressant :

- De faire une étude avec un nombre plus important de souris
- D'utiliser d'autre voie d'immunisation comme les voies respiratoires
- De réaliser une exploration humorale, confirmant les anticorps produits lors de la réponse immunitaire.
- De mesurer le taux d'éosinophiles, de basophiles et de neutrophiles.



Résumé

Résumé

Il s'agit d'une étude de la famille de Chironomidae et leur effet allergique. Elle a concerné les Chironomidae de l'oued Charef de la région, pendant les mois de mars et avril 2012. Au cours de notre travail nous avons remarqué que le site d'étude est riche en espèce de Chironomidae.

Dans l'approche immunologique, nous avons tenté de cerner et d'analyser les effets de l'hémoglobine des larves de Chironomidae sur le système immunitaire en choisissant comme model animal les souris.

Dans l'ensemble, cette expérimentation a permis de suspecté le pouvoir immunogénique et inflammatoire de l'hémoglobine des larves de Chironomidae (augmentation du taux de lymphocytes, de monocytes, de granulocytes et de macrophages intra-péritonéaux).

Cette étude est une étude préliminaire qui reste intéressant à approfondir.

Les mots clé : Chironomidae, larve, Hypersensibilité, Immunisation et Réponse immunitaire.

Summary

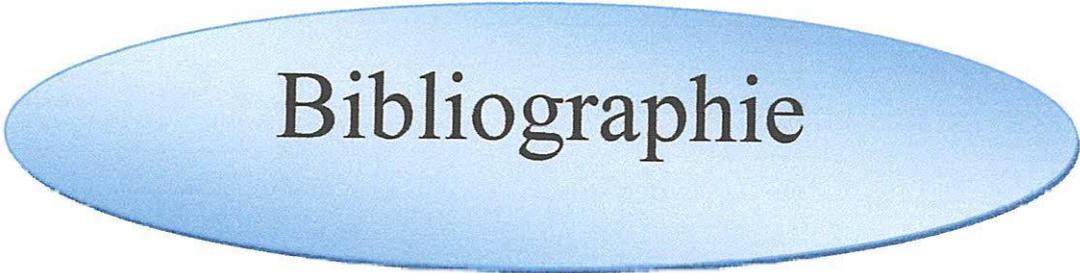
It is about study of the family Chironomids and their allergic effects. It concerned the Charef Oued Chironomids from the wilaya of Guelma, from March to April 2012. During our work we noticed that the study site is rich in Chironomids species

In the immunological approach, we attempted to identify and analyze hemoglobin effects of Chironomids larvae on the immune system by choosing as the animal model mice.

Overall, this experiment has suspected inflammatory and immunogenic power of Chironomids larvae's hemoglobin (increased lymphocytes, monocytes, granulocytes and macrophages intraperitoneal).

This study is a preliminary study which remains interesting to deepen.

Key words: Chironomids, larva, Hypersensitivity, Immunization and Immune Response.



Bibliographie

-
- **Aldunate M. T., Echechipía S., Gómez B., García B. E., Olaguibel J. M., Rodríguez A., Moneo I. & Tabar A. I. 1999.** Chironomids and other causes of fish food allergy, *Alergol. Inmunol. Clin.*, **14** (3). 140-145.
 - **Ali A., 1991.** Perspectives on management of pestiferous Chironomidae (Diptera), an emerging global problem. *J. Americ. Mosq. Cont. Assoc.* **7**, 260-281
 - **Armitage P. Cranston P.S. & Prinder L.C.V., 1995.** Chironomidae – Biology and ecology of non-biting midges. Chapman & Hall, London. 572pp.
 - **Ballesteros S. C., Barrio M., Baeza M.L., Sotés M. R. ; 2006;** Allergy to chironomid larvae (red midge larvae) in non professional handlers of fish food. *J. Investig Allergol Clin Immunol*; **16**: (1): 63-68.
 - **Bouchard R. W. & Ferrington L. C., 2009.** Winter Growth, Development, and Emergence of *Diamesa mendatae* (Diptera: Chironomidae) in Minnesota Streams. *Environm. Entomol.* **38** (1): 250-259.
 - **Cranston, P.S., 1987.** A non-biting midge (Diptera: Chironomidae) of horticultural significance. *Bull. Entomol. Research.* **77**, 661-8.
 - ✕ - **Cranston P.S., 1995.** Introduction. In: Armitage, P.D., Cranston, P.S & Pinder, L.C.V. (Eds). The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midges. Chapman & Hall, London, UK, 1-7.
 - **Davies B. R., 1976.** Wind distribution of the egg masses of *Chironomus anthracinus* (Zetterstedt) (Diptera: Chironomidae) in a shallow, wind-exposed lake (Loch Leven, Kiiross). *Fresh. Bio.*, **6**: 421-424.
 - **Delettre Y., 1984.** Recherche sur les Chironomidae (Diptera) à larves édaphique. Biologie, écologie, mécanismes adaptatifs. Thèse de Doctorat D'état, Université de Rennes I. 310 p.
 - **Delettre, Y.R. & Cancela da Fonseca, J.P., 1979.** Biologie et Ecologie de *Limnophe pusillus* Eaton, 1875 (Diptera, Chironomidae), aux Iles Kerguelen. II : Etude des populations imaginaires et discussion. *Revue d'écologie et de biologie du sol.* **16**, 355-72.
 - **Male D., 2005.** Immunologie aide-mémoire illustré, 4^{ème} Edition De Boeck, 141p.
 - **Epler J.H., 2001.** Identification Manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina. *A guide to the taxonomy of the midges of the southeastern United States, including Florida. Special Publication SJ2001-SP13.* 526 pp.
 - **Ferrington L.C. Jr. 2008.** Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Hydrobiologia.* **595**, 447-455.
 - **Ferrington L.C. Jr. & Saether O.A., 1987.** Male, Femelle, Pupa and biology of *Oliveridia hugginsii* (Chironomidae: Diptera) from Kansas. *J. Kansas. Entomol. Soc.* **60**, 451-61.

-
- **Gerd R. B & Antonio P, 1998.** Atlas de poche d'immunologie. Allemand. 283p.
 - **Guerrero R.D., 1982.** Culture of invertebrate as food organisms for village-level Fish Hatcheries. In: T. Iloilo (editor) Report of the training course on growing food organisms for fish hatcheries 3-22 August 1981. South China Sea fisheries development and coordination programme. Manila, Philippines.
 - **Jackson J.M. & Resh V.H., 1989.** Activities and ecological role of adult aquatic insects in the riparian zone of streams. *Gen.Tech.Rep.* 110.
 - **Janeway & Travers., 1997.** Immunobiologie. (eds. Deboeck.), **581** :443-455
 - **Kay A. B., Gad El Rab M. O., Stewart J & Erwa H. H.; 1978.** Widespread IgE-mediated hypersensitivity in Northern Sudan to the chironomid *Cladotanytarsus lewisi* ('green nimitti')., *Clin. exp. Immunol.* **34**, 106-110.
 - **Kohshima S., 1984.** A novel cold-tolerant insect found in a Himalayan glacier. *Nature.* **310**,225-227.
 - **Kohshima S., 1985.** Migration of the Himalayan wingless glacier midge (*Diamesa* sp.): slope direction assessment by sun-compassed straight walk. *J. Ethol.* **3**,93-104.
 - **Langton P. H., 1991.** A key to pupal exuviae of the west Palaearctic Chironomidae. *Privately published: huntingdon*, PE 17 1 YH, England, 386pp.
 - **Langton P. H. & Wisser H. 2003.** Chironomidae exuviae. A key to pupal exuviae of the west palaeartic region. Amsterdam: Biodiversity Center of ETI.
 - **Lencioni V., 2004.** Survival strategies of freshwater insects in cold environment. *J. limnol.* **63** (1): 45-55
 - **Linevich A. A., 1971.** The Chironomidae of Lake Baikal. *limnologica.* **8**, 51-52.
 - **Mackey A.P., 1977.** Quantitative studies on the chironomidae (Diptera) of the River Thames and Kennet. 111. *The Nuphar Zone. Archive Hydrobiologia.* **79**: 62-102.
 - **Maier K.J. ; Kosalwat P. & A.W. Knight, 1990.** Culture of *Chironomus decorus* (Diptera: Chironomidae) and the effect of temperature on its life history. *Environmental Entomology* **19**:1681-1688.
 - **Male D., brostoff J., Roth .B. D. & Ivan R., 2007.** *Immunologie.* **600**:467-539.
 - **Marziali L., Rossaro B., & Buffagni A., 2009.** Temporal and spatial variability of chironomid assemblages in a large lowlandriver (Po River, Northern Italy). - 38-39.
 - **Nolte U., 1993.** egg masses of chironomidae (Diptera).A review, including new observations and a preliminary Key. *Entomol. Scand. Suppl.* **43**, 1-75.
 - **Neems R.M., Lazarus J. & McLachlan A.J, 1992.** Swarming behavior in male chironomid midges: a cost-benefit analysis. *Behav Ecol* **3**:285-290.

- **Olafsson J. S., 1992.** A comparative study on mouthpart morphology of certain larvae of Chinomini (Diptera: Chironomidae) with reference to the larval feeding habits. *J. Zool. London.* **223**: 183-204.
- **Rubin & Farber., 1994.** Pathology. Lippincott Williams et wilkins., 546:416.
- **Sadaoui H., Abdi F., & Haffersses B., 2010.** Contribution à l'étude des Chironomidae (Diptera, insecte) de Oued Cherf (Guelma). Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 de Guelma.
- **Tachet H., Richoux P., Bournaud M. & Polatera P. U., 2000.** Invertébrés d'eau douce : systématique, Biologie, Ecologie. CNRS (eds), Paris.588p.
- **Touati I., 2008.** Distribution spatio-temporelle des Genre *Daphnia* et *Simocephale* dans les mares temporaires de la Numidie. Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma
- **Thienemann A., 1954.** Chironomus. Leben Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Chironomiden. In : P. Armitage, Craston P.S. & Pinder L.C.V. (eds), The Chironomidae – Biology and ecology of non-biting midges. *Chapman & Hall*, London, pp.107-135.
- **Thomas J. K., Richard A., Goldsby, & Barbara A. O., 2007.** Immunologie: 6^{ème} ed. New York. 684p.
- **Walker I. R., Levesque A. J., Cwynar, L. C., & Lotter, A. F., 1997.** An expanded surface-water palaeotemperature inference model for use with fossil midges from eastern Canada. *J. Paleolimnol.* **18**, 165-178.
- **Vos J.H.; Ooijevaar M.A.G.; Postma J.E., & Admiraal W., 2000.** Interaction between food availability and food quality during growth of early instar chironomid larvae. *J. North American Benthol. Soc.* **9**: (1), 158-168.
- **Yong T. S., Lee. J. S., Yong Lee I. Y., Park S.J., Park G. M., Ree H. I., Park J. W., Hong C.S., Park & Park H. S., 1999.** Identification of *Chironomus kiiensis* allergens, a dominant species of non-biting midges in Korea. *J. Parasitology.* **37**. 3. 171-179
- **Zerguine K., 2010.** Contribution à l'étude des Chironomidae (Diptera, insecte) des mares temporaires Orientale. Aspect de Biologie, Ecologie et Systématique, Thèse de Doctorat. Université Babji Mokhtar-Annaba.

Internet: Sites web

[1] : Diptera. [En ligne]. [Consulte le 17/02/2012]

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Diptera>.

[2] : Chironomidae. [En ligne]. [Consulte le 18/02/2012]

<http://www.aquaportail.com/fiche-invertebre-925-chironomus-plumosus.html>

[3]: Chironomidae. [En ligne]. [Consulte le 17/02/2012]

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Chironomidae>

[4] : Nymphe. [En ligne]. [Consulte le 17/02/2012]

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Chironomides-nymphe.jpg>

[5] : Chironomidae. [En ligne]. [Consulte le 18/02/2012]

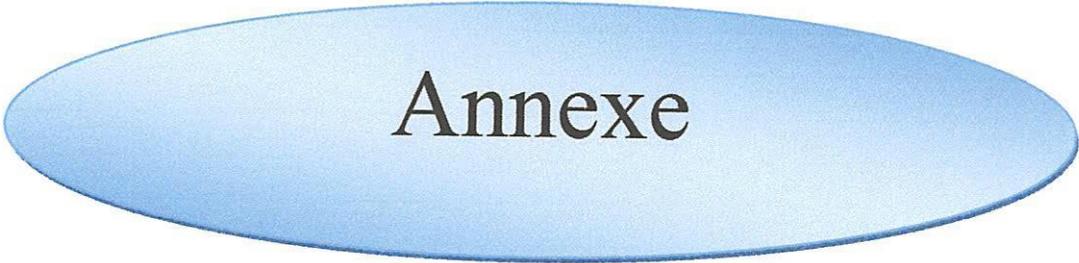
<http://www.imep-cnrs.com/gandouin/EGandouin.html#intro>

[6] : BALB/c. [en ligne]. [Consulte le 20/03/2012]

<http://en.wikipedia.org/wiki/BALB/c>

[7] : *Mus musculus*. [En ligne]. [Consulte le 20/03/2012]

http://fr.wikipedia.org/wiki/Souris_blanche



Annexe

Adjuvant de Freund**Solution de PBS**

Na Cl.....	8g
Na ₂ HPO ₄	1.15g
KH ₂ PO ₄	0.1g
K Cl.....	0.1g
Eau distillée.....	1 L

Normalité :**H Cl (0.1N)**

H Cl.....	0.93ml
Eau distillée.....	1 L

Na OH (0.1N)

Na OH.....	0.4g
Eau distillée.....	1 L

Solution de Coca

Na Cl.....	2.5g
NaHCO ₃	1.375g
Phénol.....	2g
Eau distillée.....	1/2 L

