Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

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

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

REVUE FRANÇAISE D'Allergologie

Article original

L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*)

The inflammatory effect of a crude extract of Phaenopsectra flavipes *(Diptera: Chironomidae) from north-eastern Algeria in a murine model (*Mus musculus*)*

Z. Bensakhri [a,*], K. Zerguine [a,b], I. Bouguenoun [a], D. Bendjeddou [a,c]

[a] *Laboratoire de biologie, eau et environnement, université 8-Mai-1945, Guelma, Algérie*
[b] *Département d'écologie et génie de l'environnement, université 8-Mai-1945, Guelma, Algérie*
[c] *Département de biologie, université 8-Mai-1945, Guelma, Algérie*

Reçu le 23 décembre 2013 ; accepté le 9 avril 2014

Résumé

Les Chironomidae sont des insectes qui peuplent les zones humides. Pendant le stade larvaire de leur cycle biologique, ces insectes sont pourvus d'hémoglobine responsable des manifestations d'hypersensibilité immédiate. En Algérie, cette hypersensibilité n'est pas encore clarifiée malgré que ce pays soit riche en zones humides d'importance internationale. Par conséquent, le but de notre présente étude est de rechercher l'effet de l'extrait brut des larves de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) sur le système immunitaire d'un modèle murin. Pour cela, les animaux ont reçu des instillations intranasales de l'extrait brut larvaire afin d'étudier les différents paramètres immunologiques influencés. L'analyse de la composition cellulaire des liquides de lavage nasal et broncho-alvéolaire a montré une augmentation du nombre total des cellules présentes et une richesse en polynucléaires neutrophiles dans les deux liquides de lavage après la sensibilisation. Également, la cytologie du sang périphérique a prouvé, après l'exposition à l'extrait larvaire, une diminution du taux global des globules blancs, des neutrophiles et des éosinophiles. Par contre, une augmentation du nombre des lymphocytes, des monocytes et des plaquettes a été enregistrée chez les animaux traités. En outre, le traitement a induit une augmentation du poids des poumons et de la rate accompagnée par une augmentation du taux des splénocytes et un changement structural pulmonaire. Ce dernier est représenté par une inflammation péri-bronchiolaire. Ces résultats ont permis de mettre en évidence un pouvoir inflammatoire de l'extrait larvaire localisé au niveau des voies respiratoires.
© 2014 Publié par Elsevier Masson SAS.

Mots clés : Chironomidae ; *Phaenopsectra flavipes* ; Larve ; Inflammation ; Nord-Est algérien

Abstract

Chironomidae are insects that inhabit the wetlands. During the larval stage of their life cycle, these insects are provided with hemoglobin which is responsible for immediate hypersensitivity. In Algeria, this hypersensitivity has not yet been clarified although this country is rich in wetlands of international importance. Therefore, the aim of our study is to investigate the effect of the crude extract of the larvae of *Phaenopsectra flavipes* (Diptera: Chironomidae) on the immune system of a murine model. For this, the animals received intranasal instillations of the larval crude extract in order to study the different immunological parameters influenced. The analysis of the cellular composition of nasal and broncho-alveolar washing fluids showed an increase in the number of cells and a high content of neutrophils in both washing liquids after sensitization. Also, peripheral blood cytological study proved, after exposure to the larval extract, a decrease in the total rate of the leucocytes, neutrophiles and the eosinophiles. On the other hand, an increase in the number of the lymphocytes, monocytes and platelets has been recorded in the treated animals. Moreover, the treatment induced an increase in the weight of lungs and spleen accompanied by an increase in the rate of splenocytes and a change in

* Auteur correspondant. 9th avenue n° 5, Bouhachana, Guelma, Algérie.
Adresse e-mail : zinette_29@yahoo.fr (Z. Bensakhri).

http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005
1877-0320/© 2014 Publié par Elsevier Masson SAS.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

the pulmonary structure represented by a peri-broncholiory inflammation. Thus, these results proved an inflammatory effect of the larval extract in respiratory tracts.
© 2014 Published by Elsevier Masson SAS.

Keywords: Chironomidae; *Phaenopsectra flavipes*; Larvae; Inflammation; North-east of Algeria

1. Introduction

Les Chironomidae sont des insectes non piqueurs qui appartiennent à l'ordre des Diptères dans le sous-ordre des Nématocères. Ce sont des insectes qui peuplent les zones humides avec environ 10 000 espèces existant dans le monde entier [1]. Pendant le stade larvaire de leur cycle biologique, ces insectes sont pourvus d'hémoglobine, le pneumallergène provoquant l'allergie sous sa forme monomérique et dimérique [2]. L'inhalation de fragments allergéniques aéroportés dans les zones humides à proximité des lacs, des rivières ou des plans d'eau peut causer la conjonctivite, la rhinite et l'asthme allergique. En effet, dans des pays comme le Soudan, les États-Unis, l'Égypte et le Japon, ces moucherons sont à l'origine de graves allergies environnementales [3]. Cependant, en Algérie cette hypersensibilité n'est pas encore vérifiée malgré que ce pays soit riche en zones humides d'importance internationale.

À cet effet, une étude de la distribution des espèces chironomidiennes a été effectuée dans un sous-bassin versant de la Seybouse appelé le bassin d'Oued Charef (Nord-Est algérien) et a montré une abondance remarquable d'une espèce dite *Phaenopsectra flavipes*.

L'abondance de cette espèce allergisante [4] dans notre zone d'étude nous laisse penser qu'une hypersensibilité aux Chironomidae existe dans cette région sans qu'elle soit étudiée.

Par conséquent, cette étude a visé d'étudier les effets de l'inhalation des pneumallergènes chironomidiens de *P. flavipes* chez les souris. Pour cela, des souris BALB/c (*Mus musculus*) ont reçu des instillations intranasales de l'extrait brut larvaire des Chironomidae. Les différents paramètres immunologiques influencés (la formule leucocytaire du sang périphérique et la composition cytologique des liquides des lavages nasal et broncho-alvéolaire) ainsi que l'histologie des poumons ont été analysés.

2. Matériels et méthodes

2.1. Animaux

Douze souris BALB/c (*Mus musculus*) femelles âgées de sept semaines, ont été sélectionnées pour cette étude. Les animaux sont élevés dans l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et l'univers de l'université 8-Mai-1945 de Guelma en Algérie, dans un

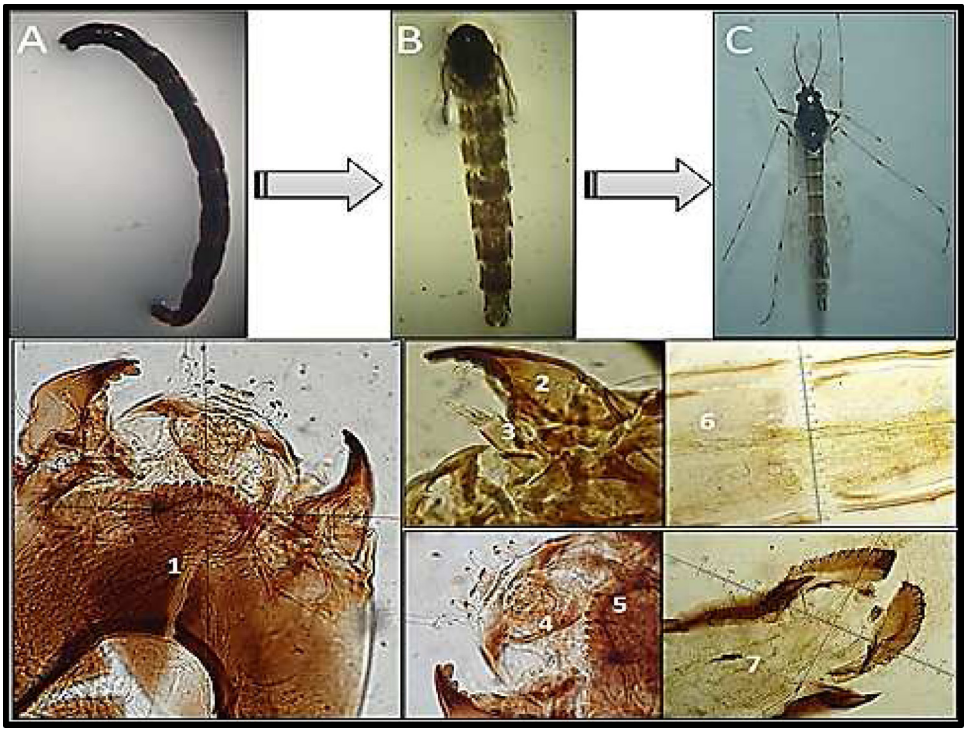

Fig. 1. Photos de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae). A. Larve (1 : tête; 2 : mandibule ; 3 : antenne ; 4 : labre ; 5 : mentum) (× 400). B. Nymphe (6 : abdomen nymphal ; 7 : partie anale de la nymphe) (× 100). C. Adulte.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

environnement propre où les conditions d'hygiène sont respectées.

2.2. Collection des larves de Phaenopsectra flavipes

Dans le Nord-Est algérien, une étude de la distribution des espèces de Chironomidae dans un sous-bassin versant de la Seybouse appelé le bassin d'Oued Charef nous a permis de découvrir un affluent (36° 3′ 12,42″ N, 7° 19′ 33,42″ E) près de la région d'Oum El Bouaghi, à courant lent et en amont d'Oued Charef. Cet affluent est caractérisé par une richesse et une dominance d'une espèce de Chironomidae appelée *P. flavipes* (Fig. 1). L'échantillonnage a été effectué tous les 3 ou 4 jours de juin à octobre 2012, en utilisant un filet entomologique. Seuls les Chironomidae ont été recueillis, sélectionnés puis identifiés au laboratoire de recherche : biologie, eau et environnement (université 8-Mai-1945 Guelma, Algérie) sur la base des clés d'identification morphologique des larves, nymphes et des adultes [5–9]. Les larves de *P. flavipes* ont été sélectionnées et séchées à la température ambiante pendant 48 heures, puis conservées à 4 °C jusqu'à leur utilisation [10].

2.3. Préparation de l'extrait brut

Les larves ont été dégraissées par l'éther diéthylique pendant 24 heures avec trois changements d'éther [10]. Après un séchage pendant 48 heures, une étape d'homogénéisation et d'extraction des larves au *phosphate buffered saline* (PBS) 10 mM (pH 7,4) [11] à une concentration 1:20 (p/v) [12] a été réalisée, suivie par une incubation à 4 °C pendant 10 heures [11]. Après une centrifugation de la solution pendant 45 min à 10 000 *g* à 4 °C, le surnageant a été filtré à travers des filtres Millipore (0,45 µm), dialysé, lyophilisé puis conservé sous forme d'extrait brut afin d'évaluer ses effets in vivo [13] (Fig. 2). La teneur de l'extrait brut en protéines a été mesurée par la méthode de Bradford en utilisant le sérum albumine bovine (BSA) comme standard.

2.4. Sensibilisation des animaux

Les souris ont été divisées au hasard en deux lots, chacun comprenant 6 souris. Les souris du premier lot (les souris traitées) ont reçu des instillations intranasales de 100 µg de

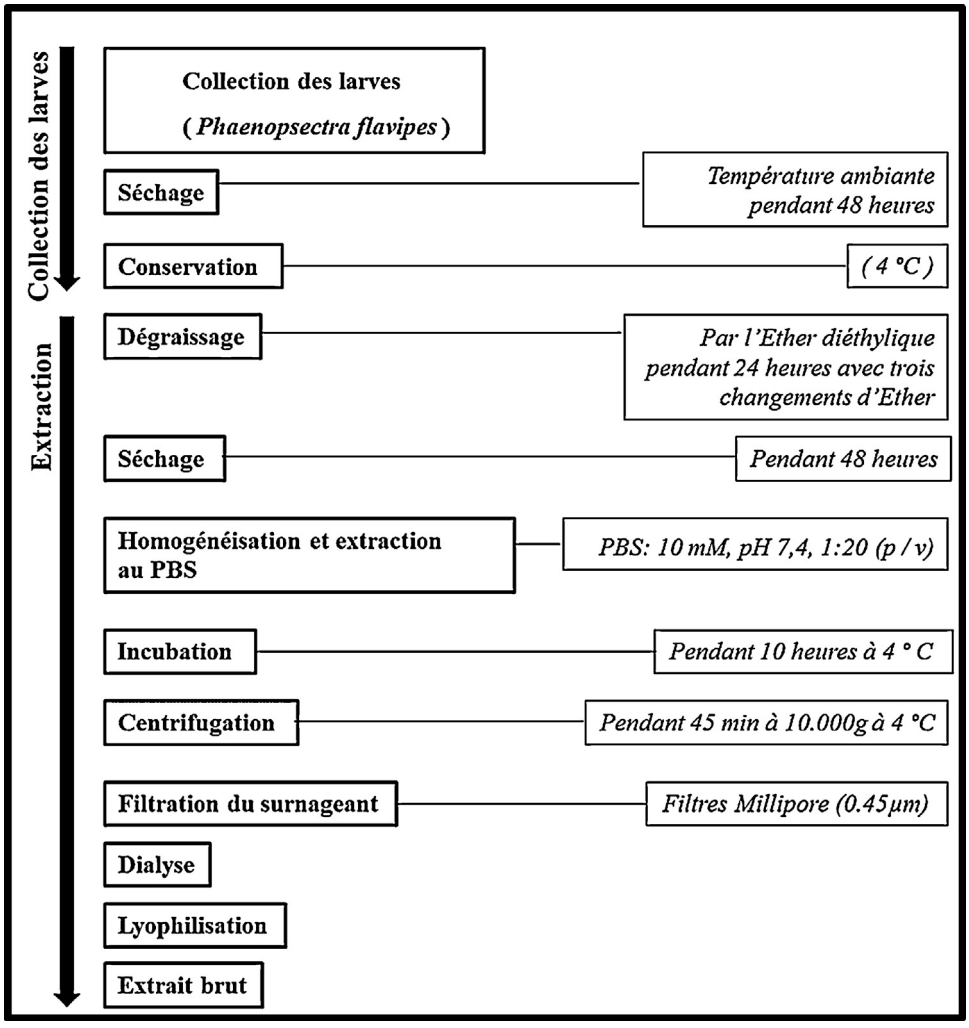

Fig. 2. Mode opératoire de la préparation de l'extrait brut des larves de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae).

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

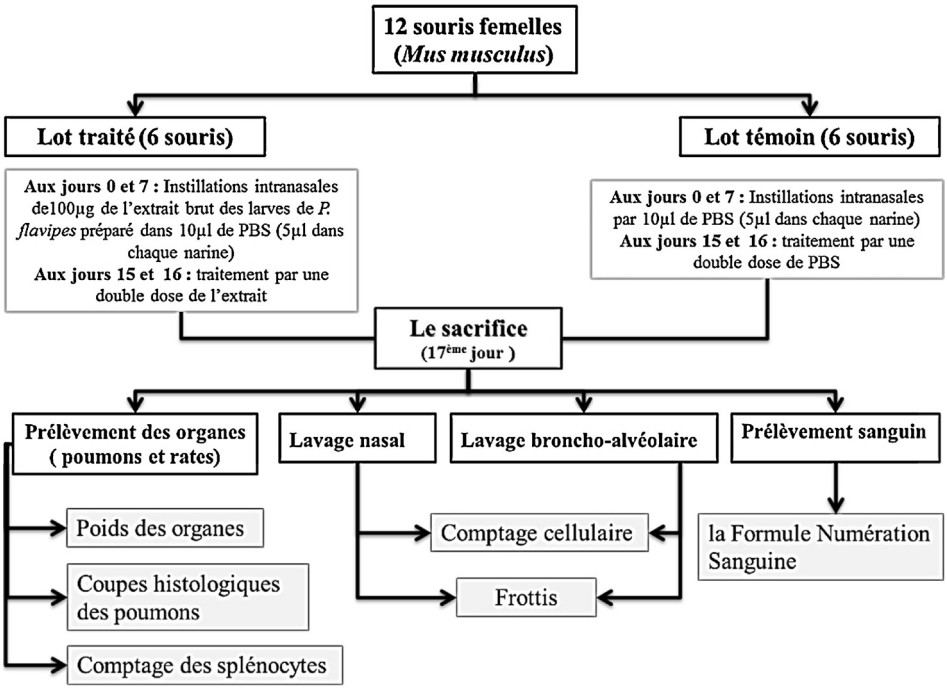

Fig. 3. Le protocole expérimental utilisé pour la sensibilisation intranasale des souris témoins et traitées.

l'extrait brut des larves de *P. flavipes*. Cet extrait est préparé préalablement dans 10 µL de la solution de PBS, passé sur des filtres Millipore (0,45 µm) et introduit à raison de 5 µL dans chaque narine aux jours 0 et 7. Aux jours 15 et 16 du traitement, les souris sont traitées par une double dose de l'extrait. Le même traitement a été effectué pour les souris du deuxième lot (les souris témoins), mais en utilisant seulement la solution du PBS. Le sacrifice a eu lieu au jour 17, soit 24 heures après la dernière instillation et les différentes analyses ont été réalisées [14] (Fig. 3).

2.5. Lavage nasal

Le lavage nasal a été réalisé sur des souris anesthésiées en instillant dans chaque narine 1,5 mL de PBS à 37 °C à l'aide d'une seringue. Le liquide récolté dans les deux cavités nasales a été centrifugé (800 *g* pendant 15 minutes). Chaque culot a été suspendu dans 0,9 mL de PBS [15].

2.6. Lavage broncho-alvéolaire

Au 17^{e} jour, les souris euthanasiées par l'exposition au chloroforme ont subi des lavages broncho-alvéolaires. La technique consiste à ouvrir la cage thoracique des souris et à pratiquer une incision dans la trachée, un peu en dessous du larynx. Un cathéter était ensuite inséré dans la trachée par cette même incision, puis immobilisé par un fil chirurgical (2,0) [16]. Des seringues remplies de 0,5 mL de PBS étaient reliées au cathéter. Le PBS était ensuite injecté dans le poumon, puis réaspiré dans la seringue. Les cellules alvéolaires ont été obtenues suite à un double lavage de 0,5 mL. La suspension recueillie était par la suite centrifugée (1500 rpm pendant 6 min) [17]. Des frottis des deux liquides nasal et broncho-alvéolaire issus des différentes souris ont été réalisés et colorés au May-Grünwald–Giemsa (MGG). D'autre part, un comptage cellulaire de chaque liquide de lavage est réalisé après une dilution au bleu de trypan (0,2 %) et en utilisant la cellule de Malassez. Les résultats sont exprimés en leucocytes par litre du liquide récolté.

2.7. La formule numération sanguine

Après avoir sacrifié les souris, une quantité du sang a été recueillie dans des tubes contenant de l'éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) pour l'analyse de la formule numération sanguine (FNS).

2.8. Prélèvement des organes

Après dissection des souris, les poumons et la rate ont été prélevés et pesés pour évaluer la variation du poids. Pour une étude histologique des poumons, ces derniers ont été fixés au formol (1 %), inclus en paraffine, coupés avec un microtome en tranches de 2 à 5 µm d'épaisseur et colorées par l'hématéine-éosine-safran (HES). D'autre part, la rate débarrassée de la graisse a été vidée de son contenu cellulaire, filtrée et centrifugée pour la préparation d'une suspension cellulaire. Un comptage des splénocytes a été réalisé après une dilution de la suspension splénique au bleu de trypan (0,2 %) [18].

2.9. Analyse statistique

Les valeurs ont été exprimées sous forme de moyennes ± un écart-type. Les résultats ont été analysés au test *t* de Student. Les différences étaient considérées comme significatives pour $p < 0{,}05$.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

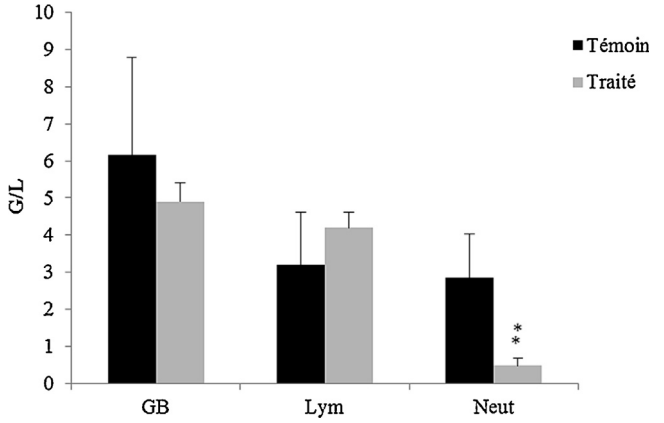

Fig. 4. Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles des souris témoins et traitées. **Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0{,}01$). GB : globule blanc ; Lym : lymphocyte ; Neut : neutrophile.

3. Résultats

3.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines par la méthode de Bradford a révélé une teneur totale en protéines dans l'extrait larvaire. La concentration de protéines était 0,52 mg/mL.

3.2. Effet de l'extrait larvaire de P. flavipes sur la numération leucocytaire du sang périphérique

La formule leucocytaire a présenté des variations après l'exposition à l'extrait larvaire. Le taux global des globules blancs présents dans le sang a diminué de $6{,}18 \pm 2{,}61$ G/L (les souris témoins) à $4{,}9 \pm 0{,}5$ G/L (les souris traitées). Cette diminution du nombre de cellules s'explique par une diminution significative ($p = 0{,}007$) du nombre d'une sous-population leucocytaire appelée les neutrophiles de $2{,}85 \pm 1{,}18$ G/L (les souris témoins) à $0{,}475 \pm 0{,}21$ G/L (les souris traitées). Par contre, le nombre de lymphocytes a augmenté de $3{,}2 \pm 1{,}41$ G/L chez les souris témoins à $4{,}2 \pm 0{,}42$ G/L chez les souris traitées (Fig. 4).

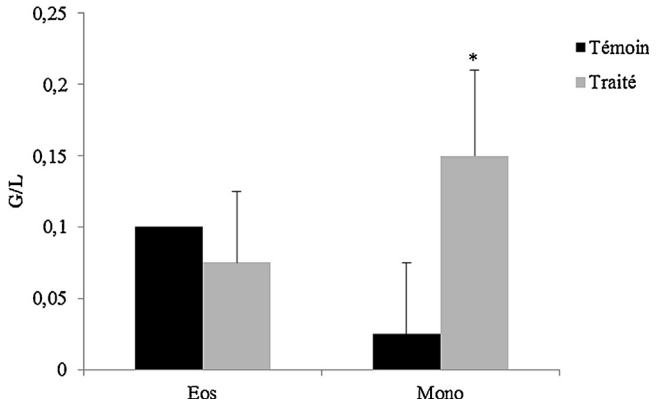

Fig. 5. Variation du taux des éosinophiles et des monocytes des souris témoins et traitées. *Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0{,}05$). Eos : éosinophile ; Mon : monocyte.

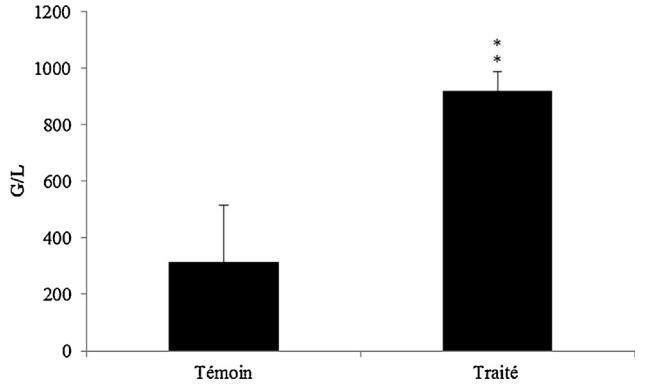

Fig. 6. Variation du taux des plaquettes des souris témoins et traitées. ** Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0{,}01$).

D'autre part, une augmentation significative ($p = 0{,}017$) du nombre des monocytes après l'exposition a été enregistrée de $0{,}025 \pm 0{,}05$ G/L chez les souris témoins à $0{,}15 \pm 0{,}06$ G/L chez les animaux traités. D'autre part, le nombre des éosinophiles a diminué de $0{,}1 \pm 0$G/L (les souris témoins) à $0{,}075 \pm 0{,}05$ G/L (les souris traitées) (Fig. 5). Également, le taux moyen des plaquettes a augmenté significativement ($p = 0{,}001$) de $313{,}5 \pm 200{,}85$ G/L (les souris témoins) à $912 \pm 66{,}62$ G/L (les souris traitées) (Fig. 6).

3.3. Effet de l'extrait larvaire de P. flavipes sur la composition du liquide de lavage nasal

L'exposition à l'extrait larvaire a influencé la composition cellulaire du liquide de lavage nasal que ce soit pour le nombre des leucocytes ou pour les différentes populations cellulaires apparues après l'exposition.

Le nombre des leucocytes dans le liquide a augmenté significativement ($p = 0{,}021$) de $26{,}81 \pm 11{,}8 \times 10^9$ cellules/L (les souris témoins) à $60{,}68 \pm 18{,}26 \times 10^9$ cellules/L (les souris traitées) (Fig. 7).

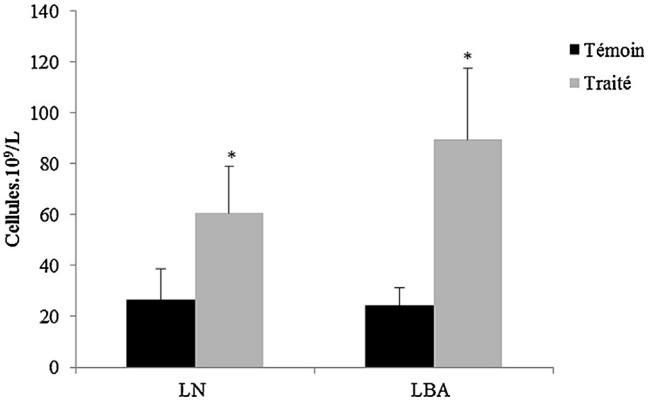

Fig. 7. Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées. * Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0{,}05$). LN : lavage nasal ; LBA : lavage broncho-alvéolaire.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

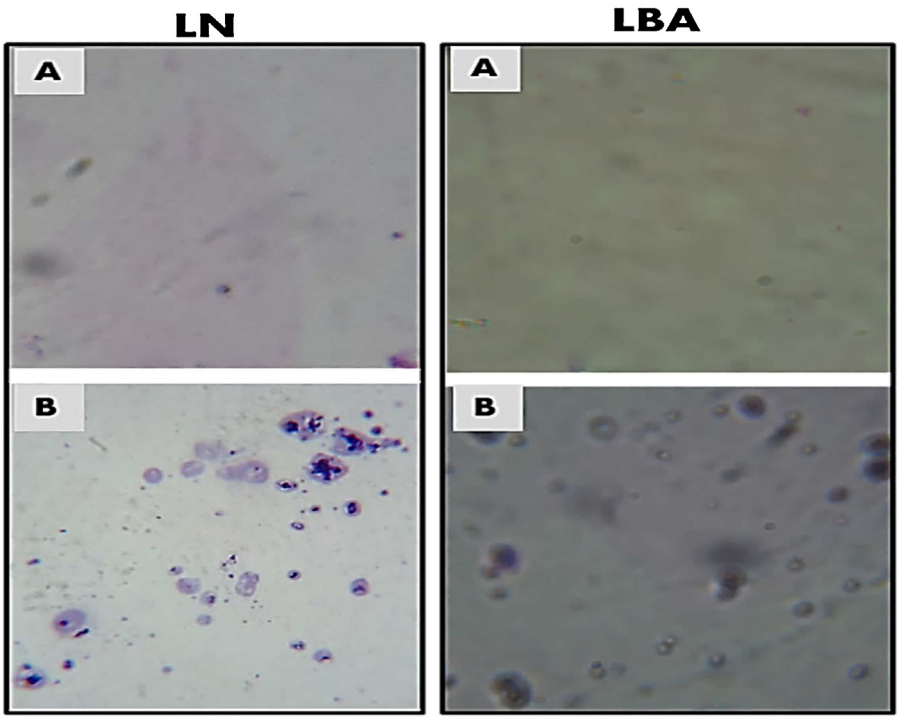

Fig. 8. Frottis des lavages nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées (× 400). LN : lavage nasal ; LBA : lavage broncho-alvéolaire ; A : témoins ; B : traitées.

D'autre part, les frottis réalisés et observés au microscope optique (× 400) ont montré une richesse et une augmentation du nombre des cellules chez les souris traitées par rapport aux souris témoins, plus précisément les polynucléaires neutrophiles (Fig. 8).

3.4. *Effet de l'extrait larvaire de* P. flavipes *sur la composition du liquide de lavage broncho-alvéolaire*

L'exposition à l'extrait larvaire a agi sur le nombre des leucocytes dans le liquide ainsi que sur les différentes populations cellulaires.

Une augmentation significative ($p = 0{,}029$) du nombre des leucocytes a été enregistrée dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire, qui a varié de $24{,}5 \pm 6{,}62 \times 10^9$ cellules/L (les souris témoins) à $89{,}43 \pm 28{,}21 \times 10^9$ cellules/L (les souris traitées) (Fig. 7).

Quant aux frottis réalisés et observés au microscope optique (× 400), ont montré une augmentation du nombre des leucocytes des souris traitées par rapport aux témoins et une richesse en polynucléaires neutrophiles et en macrophages alvéolaires (Fig. 8).

3.5. *Effet de l'extrait larvaire de* P. flavipes *sur la rate*

L'exposition à l'extrait larvaire est associé à une augmentation du poids de la rate de $0{,}095 \pm 0{,}03$ g (les souris témoins) à $0{,}145 \pm 0{,}06$ g (les souris traités), mais cette augmentation reste non significative (Fig. 9A).

D'autre part, le nombre des splénocytes a connu une augmentation significative ($p = 0{,}023$) de $15{,}25 \pm 2{,}88 \times 10^9$ cellules/L (les souris témoins) à $28{,}31 \pm 8{,}09 \times 10^9$ cellules/L (les souris traitées) (Fig. 9B).

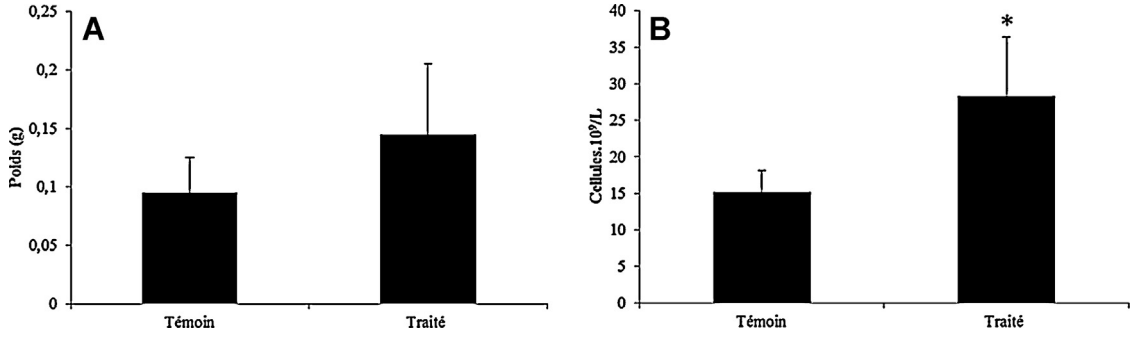

Fig. 9. Variation du nombre du poids de la rate (A) et des splénocytes (B) des souris témoins et traitées. *Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0{,}05$).

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

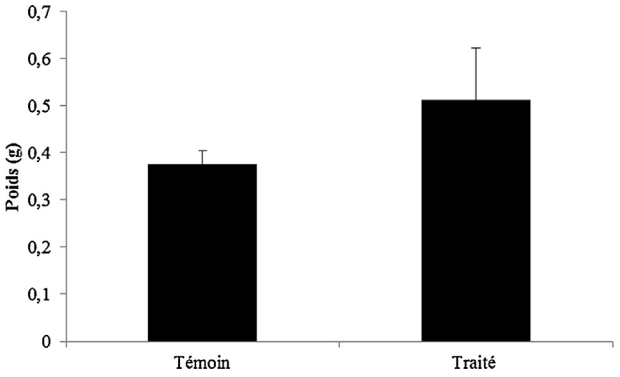

Fig. 10. Variation du poids des poumons des souris témoins et traitées.

3.6. *Effet de l'extrait larvaire de* P. flavipes *sur les poumons*

L'instillation intra-nasale de l'extrait brut chez les souris a induit une augmentation du poids des poumons de $0{,}375 \pm 0{,}03$ g chez les animaux témoins à $0{,}512 \pm 0{,}11$ g chez les animaux traités (Fig. 10).

En outre, l'examen microscopique des coupes histologiques des poumons des souris témoins a montré une structure normale (Fig. 11A). Par contre, un changement structural pulmonaire a été signalé chez les animaux traités. Un infiltrat inflammatoire péri-bronchiolaire et une richesse en polynucléaires ont été bien remarqués (Fig. 11B). Également, une diminution du diamètre alvéolaire a été observée et qui pourrait être due à un épaississement de la paroi alvéolaire suite à une prolifération des fibres conjonctives.

4. Discussion et conclusion

Les Chironomidae sont des insectes qui peuplent les zones humides. Ils sont responsables de manifestations d'hypersensibilité immédiate, médiée par des IgE, distribuée à travers le monde [2]. Depuis l'année 1950, des réactions d'hypersensibilité à ces insectes sont mises en évidence, principalement au Japon, Soudan, les États-Unis et en Égypte. Dans certaines zones de ces pays, les Chironomidae représentent un des pneumallergènes les plus courants [19]. Les principales manifestations de l'allergie aux Chironomidae sont l'urticaire, l'œdème de Quincke, le choc anaphylactique, la rhino-conjonctivite, l'asthme, l'urticaire de contact [20] et la dermatite de contact [21].

Certains aquariophiles, qui sont en contact avec la nourriture des poissons contenant les larves des Chironomidae sous forme congelée, ont présenté des réactions d'hypersensibilité immédiates telles qu'une rhinite et/ou un asthme [22]. En outre, une courte exposition de ces travailleurs est capable d'induire une haute sensibilisation à ce type d'allergènes [23]. Également, dans une autre étude menée en Espagne dans un lieu de travail où on utilisait les larves des Chironomidae (*Chironomus thummi thummi*), un cas d'urticaire/angio-œdème a été mis en évidence [3]. D'autre part, certaines personnes ont développé une conjonctivite, une rhinite et un asthme allergique après l'inhalation des particules larvaires aérotransportées près des lacs ou des rivières [3].

Les déterminants antigéniques responsables de cette sensibilisation ont été identifiés comme les hémoglobines [24], qui montrent un grand polymorphisme en fonction de l'environnement et le stade de développement de l'insecte [25].

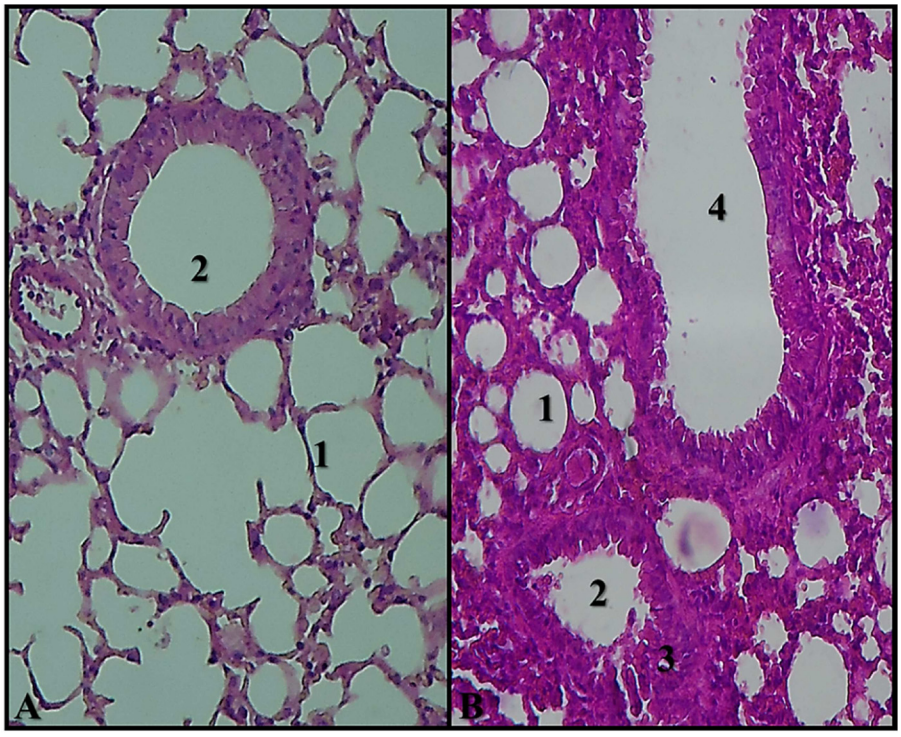

Fig. 11. Coupes histologiques des poumons des souris témoins et traitées (×100). A. Poumon du témoin. B. Poumon après traitement. 1 : alvéole ; 2 : bronchiole ; 3 : infiltrat cellulaire ; 4 : vaisseaux sanguin.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

La concentration maximale de l'hémoglobine se trouve au stade larvaire et diminue progressivement pour atteindre le minimum au stade adulte [3].

Dans cette étude, l'effet de l'extrait brut des larves de *P. flavipes* sur l'appareil respiratoire des souris a été recherché par l'analyse de la composition cellulaire des liquides de lavage nasal et broncho-alvéolaire, la cytologie du sang périphérique et une étude histologique des poumons pour évaluer le degré de l'inflammation. Dans l'ensemble, cette expérimentation a permis de mettre en évidence le processus inflammatoire provoqué par l'extrait brut larvaire en agissant sur la formule leucocytaire, la composition cellulaire du liquide de lavage nasal et broncho-alvéolaire et sur la structure pulmonaire.

La diminution significative du taux des neutrophiles, responsable de la diminution du taux global des globules blancs, peut être expliquée par leur recrutement vers les sites inflammatoires. Cette migration peut être survenue sous l'effet des cytokines pro-inflammatoires secrétées par les macrophages [26]. Dans le cas d'allergie aux acariens, l'activation de ces polynucléaires est susceptible d'induire des dommages tissulaires responsables d'inflammation bronchique allergique [27].

En revanche, l'augmentation du nombre des lymphocytes est probablement le résultat d'une réponse immunitaire spécifique vis-à-vis de l'allergène étudié.

L'augmentation significative du nombre des monocytes confirme le développement d'un processus inflammatoire. Ce processus agit sur le nombre des monocytes sanguins, probablement en augmentant leur sortie de la moelle osseuse [28].

Également, la diminution du taux total des éosinophiles dans le sang des animaux traités peut être expliquée par leur recrutement vers les foyers inflammatoires sous l'effet de certains facteurs chimiotactiques [29]. Cela est confirmé par l'infiltration des éosinophiles et l'hyperréactivité bronchique chez les souris, suite à une activité pro-inflammatoire des allergènes protéasiques des acariens [27].

En effet, l'augmentation du taux des plaquettes sanguines peut être expliquée par leur intervention essentielle dans le processus inflammatoire [30].

D'autre part, une inflammation localisée dans les voies respiratoires est confirmée par l'augmentation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire, suite au recrutement de cellules inflammatoires au niveau des sites inflammatoires (la muqueuse nasale, tractus respiratoire) provoquant ainsi l'augmentation du taux cellulaire remarqué. Ces résultats sont confirmés par les frottis des deux liquides de lavage, qui ont montré une richesse remarquable en polynucléaires chez les animaux traités (Fig. 8). Cette inflammation est associée par une augmentation du poids des poumons enregistrée et par un changement de la structure histologique pulmonaire, montrant une inflammation péri-bronchiolaire. En outre, les infiltrats pulmonaires et l'épaississement des parois alvéolaires remarqués dans les coupes histologiques des poumons des souris traitées peuvent être dus aux recrutements des cellules inflammatoires vers cet organe respiratoire (Fig. 8). Des résultats similaires ont été prouvés en étudiant l'effet de la sensibilisation nasale des souris par un extrait protéique d'arachide**.** Ce dernier a montré une capacité de stimuler les cellules des voies respiratoires supérieures, de déclencher un état pro-inflammatoire et de provoquer des infiltrats péri-vasculaires et péri-bronchiques [14].

D'autre part, l'augmentation signalée du poids de la rate peut être expliquée par l'activation et la prolifération lymphocytaire au niveau de cet organe lymphoïde secondaire afin de déclencher une réponse adaptative. Cette augmentation du poids est associée à l'augmentation du nombre de splénocytes enregistrée.

En résumé, l'exposition des souris aux instillations intranasales de l'extrait brut des larves de *P. flavipes* (Diptera : Chironomidae) pendant 16 jours est susceptible d'induire une inflammation nasale et bronchique suite à une stimulation du système immunitaire. Ce processus inflammatoire qui implique la collaboration spécifique de différentes populations cellulaires est capable d'évoluer, dans des conditions particulières, en un processus inflammatoire allergique. Cet aspect sera traité dans une étude en cours afin de compléter cette recherche.

Déclaration d'intérêts

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

Remerciements

Nous tenons à remercier le laboratoire de chimie appliqué (Guelma), le laboratoire d'analyses médicales Dr Kaci (Annaba) et l'institut de pharmacie (Constantine), pour l'accueil et l'aide lors de la réalisation de notre travail pratique.

Références

[1] Ferrington LCJ. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. Hydrobiologia 2008;595:447–55.
[2] Raymond F, Breuil K. L'allergie aux chironomides. Rev Fr Allergol Immunol Clin 1991;31:52–5.
[3] Cabrerizo Ballestero S, De Barrio M, Baeza ML, Rubio M. Allergy to Chironomid larvae (red midge larvae) in non professional handlers of fish food. J Investig Allergol Clin Immunol 2006;16:63–8.
[4] Cranston PS. Allergens of non-biting midges (Diptera: Chironomidae): a systematic survey of chironomid haemoglobins. Med Vet Entomol 1988;2:117–27.
[5] Wiederholm T. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part I. Larvae. Entomol Scand Suppl 1983;19:1–457.
[6] Wiederholm T. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part II. Pupae. Entomol Scand Suppl 1986;28:1–482.
[7] Wiederholm T. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part III. Adult. Entomol Scand Suppl 1989;34:1–532.
[8] Langton PH. A key to pupal exuviae of the west Palaearctic Chironomidae. England: Huntingdon; 1991.
[9] Pinder LCV. A key to adult males of the British Chironomidae (Diptera). Sci Publ Freshw Biol Assoc 1978;37:1–169.
[10] Cranston PS, Gad El Rab MO, Tee RD, Kay AB. Immediate-type skin reactivity to extracts of the 'green nimitti' midge, (*Cladotanytarsus lewissi*), and other chironomids in asthmatic subjects in the Sudan and Egypt. Ann Trop Med Parasitol 1983;77:527–33.
[11] Yong TS, Lee JS, Lee IY, Park SJ, Park GM, Ree HI, et al. Identification of *Chironomus kiiensis* allergens, a dominant species of non-biting midges in Korea. Korean J Parasitol 1999;37:171–9.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005

[12] Shahali Y, Majd A, Pourpak Z, Tajadod G, Haftlang M, Moin M. Comparative study of the pollen protein contents in two major varieties of *Cupressus arizonica* planted in Tehran. Iran J Allergy Asthma Immunol 2007;6:123–7.
[13] Baur X, Dewair M, Haegele K, Prelicz H, Scholl A, Tichy H. Common antigenic determinants of haemoglobin as basis of immunological cross-reactivity between chironomid species (Diptera, Chironomidae): studies with human and animal sera. Clin Exp Immunol 1983;54:599–607.
[14] Fischer R, McGhee JR, Vu HL, Atkinson TP, Jackson RJ, Tomé D, et al. Oral and nasal sensitization promote distinct immune responses and lung reactivity in a mouse model of peanut allergy. Am J Pathol 2005;167:1621–30.
[15] Urbain B, Gustin P, Prouvost JF, Ansay M. Quantitative assessment of aerial ammonia toxicity to the nasal mucosa by use of the nasal lavage method in pigs. Am J Vet Res 1994;55:1335–40.
[16] Dorion G. Mécanismes et structures impliqués dans l'effet anti-inflammatoire et bronchorelaxant du 1,1-diméthylphényl1-4pipérazinium.[thèse] Québec: Université Laval; 2005
[17] Li Y, Zhang M, Lu J, Liu Y, Yang X, Sun X. Establishment of a mouse model of Humulus pollen allergen-induced allergic asthma. J Xi'an Jiaotong Univ (Medical Sciences) 2010;31:562–5.
[18] Daum JR, Shepherd DM, Randolph JN. Physical interactions and early signaling between helper T lymphocytes and B lymphocytes. In: Burleson GR, Dean JH, Munson AE, editors. Methods in immunotoxicology. New York, Chichester, Toronto, Singapore: Wiley liss Inc; 1995. p. 469–81.
[19] Suzuki M, Itoh H, Sugiyama K, Takagi I, Nishimura J, Kato K, et al. Causative allergens of allergic rhinitis in Japan with special reference to silkworm moth allergen. Allergy 1995;50:23–7.
[20] Galindo PA, Melero R, García R, Feo F, Gómez E, Fernández F. Contact urticaria from chironomids. Contact Derm 1996;34:297.
[21] Brasch J, Bruning H, Paulke E. Allergic contact dermatitis from chironomids. Contact Derm 1992;26:317–20.
[22] Mairesse M, Ledent C. Allergy and fishing activities. Allerg Immunol 2002;34:245–7.
[23] Meseguer Arce J, Sánchez-Guerrero Villajos IM, Iraola V, Carnés J, Fernández Caldas E. Occupational allergy to aquarium fish food: red midge larva, freshwater shrimp, and earthworm. A clinical and immunological study. J Investig Allergol Clin Immunol 2013;23:462–70.
[24] Galindo PA, Feo F, Gómez E, Borja J, Melero R, Lombardero M, et al. Hypersensitivity to chironomid larvae. J Investig Allergol Clin Immunol 1998;8:219–25.
[25] Matsuoka H, Ishii A, Kimura JY, Noono S. Developmental change of Chironomid allergen during metamorphosis. Allergy 1990;45:115–20.
[26] Van Goethem E. Caractérisation de la migration trans-matricielle des phagocytes humains.[thèse] Toulouse: Université de Toulouse; 2010.
[27] Bessot JC, Pauli G. Les acariens domestiques et leurs allergènes. Rev Mal Respir 2011;28:475–95.
[28] Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. Annu Rev Immunol 2009;27:669–92.
[29] Vaubourdolle M. Biochimie hématologie. Paris: Le Moniteur éditions; 2007.
[30] Garraud O, Damien P, Berthet J, Arthaud CA, Hamzeh-Cognasse H, Cognasse F. Plaquettes sanguines, réponses aux signaux de danger infectieux et inflammation : vers un nouveau paradigme ? Transfus Clin Biol 2011;18:165–73.

Pour citer cet article : Bensakhri Z, et al. L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). Rev Fr Allergol (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.04.005