

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945-GUELMA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et
l'Univers

Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement
Département d'Ecologie et Génie de l'Environnement



THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat 3^{ème} cycle en Sciences Biologiques

Option : Santé, Eau et Environnement

**Contribution à l'étude des Chironomidae (Insecta :
Diptera) des eaux courantes du Nord-Est Algérien :
Cas d'oued Charef et leur impact sur la santé**

Présentée par :

BENSAKHRI Zinette

Devant le jury :

Présidente :	SOUIKI L.	M.C.A	Université de Guelma
Directrice de thèse :	BENDJEDDOU D.	Prof	Université de Guelma
Examineur :	NECIB Y.	Prof	Université de Constantine
Examinatrice :	BERCHI S.	Prof	Université de Constantine
Examinatrice :	GRARA N.	M.C.A	Université de Guelma

Année Universitaire : 2014/2015

TABLE DE MATIERE

Dédicace	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1.1. Allergie.....	4
1.1.1. Définitions et historique	4
1.1.2. Classification des réactions allergiques.....	5
1.1.3. Les étapes de la réaction d'hypersensibilité de type I.....	7
1.1.3.1. La sensibilisation.....	7
1.1.3.2. La réaction allergique proprement dite	8
A. Les cellules effectrices de la réaction allergique respiratoire.....	9
a. Les cellules dendritiques	9
b. Les mastocytes	12
c. Les polynucléaires basophiles	12
d. Les polynucléaires éosinophiles.....	13
e. Les polynucléaires neutrophiles (PNN).....	13
f. Les lymphocytes B	14
g. Les lymphocytes T	14
h. Les cellules mono-macrophagiques, cellules présentatrices de l'antigène	15
i. Les cellules structurales des poumons	15
B. Médiateurs inflammatoires	17
a. Les médiateurs préformés.....	17
b. Les médiateurs néoformés.....	18
c. Les chimiokines.....	19
d. Les cytokines.....	19

1.1.4. Facteurs de risque.....	20
1.1.4.1. La prédisposition génétique	20
1.1.4.2. Facteurs environnementaux : Les allergènes	21
1. 2. Allergie aux Chironomidae	22
1.2.1. Les Chironomidae : Généralité	22
A. Morphologie des Chironomidae.....	22
a. Les œufs.....	23
b. Les larves.....	23
c. Les nymphes	25
d. Les adultes (l’imago)	27
B. Les caractères d’identification des Chironomidae.....	29
1.2.2. Allergie respiratoire aux Chironomidae.....	30
1.2.2.1. Historique de l’allergie aux Chironomidae	30
1.2.2.2. Allergène chironomidien : Description et nomenclature	31
1.2.2.3. Réactivités croisées	34
1.2.2.4. Syndromes cliniques de l’allergie aux Chironomidae.....	34

Chapitre 2 : Description de la zone d’étude

2.1. Présentation de la zone d’étude.....	36
2.1.1. Situation géographique.....	36
2.1.2. Description générale d’Oued Charef.....	37
2.2. Le réseau hydrographique	38
2.2.1. Le bassin de haut Charef	38
2.2.2. Le bassin de bas Charef.....	38
2.2.1.1. Le bassin de bas Charef.....	37
2. 3. Les caractères lithologiques et hydrogéologiques.....	39
2. 4. Végétation du bassin d’Oued Charef	40
2. 5. Climatologie	40
2.5.1. La température.....	41
A. Station de Guelma (2004-2013)	41
B. Station de Oum El Bouaghi (2004-2013)	42
C. Station de Souk Ahras (2004-2013)	43
2.5.2. Les précipitations	44

A. Station de Guelma (2004-2013)	44
B. Station de Oum El Bouaghi (2004-2013)	45
C. Station de Souk Ahras (2004-2013)	46
2.5.3. L'humidité (2004-2013)	47
2.6. Bioclimat	49
2.6.1. Diagramme Ombro-thermique de Bagnouls et Gausсен	49
A. Station de Guelma (2004-2013)	49
B. Station de Oum El Bouaghi (2004-2013)	50
C. Station de Souk Ahras (2004-2013)	50
2.6.2. Climagramme d'Emberger	51

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

3.1. Etude écologique	52
3.1.1. Sur le terrain	52
3.1.1.1. Choix des sites	52
3.1.1.2. Description des stations d'échantillonnage	52
A. Oued Charef amont	54
B. Oued Charef aval	56
3.1.1.3. Plan d'échantillonnage des Chironomidae	59
3.1.1.4. Variables mesurées in situ	59
3.1.2. Au laboratoire	61
3.1.2.1. Le tri des individus des Chironomidae	61
3.1.2.2. Montage des individus des Chironomidae	61
A. Les larves	62
B. Les nymphes	62
C. Les adultes	62
3.1.3. Analyse des données	63
3.1.3.1. L'organisation d'un peuplement	63
3.1.3.2. La structure d'un peuplement	64
3.1.3.3. Analyse factorielle des correspondances (AFC)	65
3.2. Etude immunologique	65

3.2.1. Matériel biologique	65
A. Les larves de <i>Phaenopsectra flavipes</i>	66
B. Le modèle animal	66
3.2.2. Méthode d'étude.....	66
3.2.2.1. Sur le terrain	66
A. Choix de la station d'échantillonnage	66
B. Plan d'échantillonnage	67
3.2.2.2. Au laboratoire.....	67
A. Préparation de l'extrait brut.....	67
B. Dosage des protéines	67
C. Fractionnement des protéines par précipitation au sulfate d'ammonium.....	68
D. Sensibilisation des animaux	69
E. Les paramètres immunologiques étudiés	70
a. Lavage nasal	70
b. Lavage broncho-alvéolaire	71
c. La formule numération sanguine.....	71
d. Etude histologique.....	72
e. Isolement des splénocytes	73
3.2.3. Analyse statistique des données	73

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4.1. Etude écologique	74
4.1.1. Etude des variables abiotiques des écosystèmes	74
4.1.1.1. La température.....	74
4.1.1.2. L'oxygène dissous	74
4.1.1.3. La conductivité.....	76
4.1.1.4. Le pH.....	77
4.1.1.5. L'altitude	78
4.1.2. Check-list des espèces des Chironomidae au cours du période d'étude	79
4.1.3. Description des espèces de Chironomidae d'Oued Charef	82
4.1.4. Relation des espèces de Chironomidae avec les sites d'étude	94
4.1.4.1. Check-liste des espèces de Chironomidae dans les stations d'étude	94
4.1.4.2. Répartition spatiale des espèces de Chironomidae	100
4.1.4.3. La richesse spécifique	103

4.1.4.4. Les indices de diversité	103
4.1.5. La répartition temporelle des espèces de Chironomidae.....	105
4.1.6. L'étude de l'abondance de Chironomidae d'oued Charef	109
4.1.7. Discussion	117
4.2. Etude immunologique	122
4.2.1. Description de l'espèce allergisante	122
4.2.2. Dosage des protéines de l'extrait brut	122
4.2.3. Effet de l'extrait larvaire de <i>P. flavipes</i> sur un modèle murin	123
4.2.3.1. Effet de l'extrait brut de <i>P. flavipes</i> sur un modèle murin	123
4.2.3.2. Effet des fractions de l'extrait larvaire de <i>P. flavipes</i> sur un modèle murin	129
4.2.4. Discussion	135
Conclusion.....	140
Références bibliographiques	142
Résumés	
Annexes	

DEDICACE

Grâce à Dieu

J'ai pu finir ce travail

Et je le dédie

À la mémoire de mon père

Qui n'a pu voir les fruits de ce travail...

À ma mère

Qui je souhaiterais une longue vie...

Mes parents, merci pour votre amour et votre soutien inconditionnels quels que soient mes choix. Merci pour tout.

Je vous aime...

À mes frères

À ma sœur et sa famille

Qui a toujours été là pour moi, dans les bons et les mauvais moments... Merci d'être là,

Tout simplement, Je t'aime.

À ma famille...

À mes amis...

Un grand merci à toutes les autres personnes avec qui j'ai partagé un moment de bonheur et de joie, un café ou un trajet...

Zinette...

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail de thèse, je saisis cette occasion pour exprimer mes sincères remerciements à toute personne ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent également à tous mes responsables de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

L'expression de ma haute reconnaissance s'adresse à ma promotrice de thèse Madame BENDJEDDOU D. (Professeur à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma) de sa gentillesse et sa rigueur scientifique. Je vous remercie pour votre disponibilité à mon égard et votre dévouement à chaque instant où j'ai sollicité votre aide.

Vos orientations, vos conseils et vos suggestions m'ont été très utiles pour ma formation et ont permis à ce que ce travail de thèse soit agréable et très fructifiant. Je vous serai reconnaissante toute ma vie.

Mes vifs remerciements s'adressent également à ma co-promotrice de thèse, Madame ZERGUINE K. (Docteur à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma) pour m'avoir proposé ce thème, pour votre simplicité et votre patience. Vous avez toujours su me guider, me montrer le bon chemin et me soutenir à surmonter toutes mes difficultés quelles qu'elles soient. C'était et c'est toujours très agréable, pour moi, de travailler à vos côtés.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à Monsieur HOUHAMDI M. (Professeur à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma) de m'avoir accueilli dans son laboratoire de recherche : Biologie, Eau et Environnement, pour sa gentillesse et sa grande humanité.

Merci à Dr. L. SOUIKI, maître de conférences (A) à l'Université de Guelma d'avoir accepté d'honorer cette soutenance comme présidente de jury. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma plus haute considération.

J'exprime également ma grande gratitude à Monsieur Pr. NECIB Y. « Université de Constantine », à Pr. BERCHI S. « Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie de Constantine » et à Dr. GRARA N. « université de Guelma » pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de participer à ce jury et d'examiner mon travail.

Mon grand remerciement s'adresse à Monsieur TAHAR Ali (Professeur à l'Université Badji Mokhtar, Annaba).

Mes remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire d'analyses médicales Dr Kaci (Annaba), le laboratoire d'Horizon (Annaba), l'institut de pharmacie

(Constantine), le service d'anatomie- pathologique de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma et le laboratoire de chimie appliqué (Guelma), pour l'accueil et l'aide lors de la réalisation de notre travail pratique.

Egalement, mon sincère remerciement à Monsieur BOUCHELAGHEM EL Hadi (Université 8 Mai 1945 de Guelma), Monsieur ROUIBI Abdelhakim, à Mademoiselle ABBES Leila (Ingénieur du laboratoire de recherche : Biologie, Eau et Environnement), BOUGUENOUN Iman (Doctorantes à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma), REGGAM Asma (Doctorantes à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma), tous les membres du laboratoire de recherche : Biologie, Eau et Environnement et toutes les techniciennes des laboratoires pédagogiques de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

Enfin, une thèse est une période avec de bons moments. D'autres le sont moins et ce sont dans ces derniers que l'on reconnaît le véritable soutien. Je souhaite donc remercier tous mes proches, qui étaient toujours là pour me soutenir et m'encourager lors de la réalisation de cette thèse qui demeure la plus merveilleuse expérience humaine et scientifique que je porterai toujours dans mon cœur.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour mener à terme cet humble travail.

Merci à tous.

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 1

Figure 1 : Nouvelle nomenclature des réactions d’hypersensibilité7
Figure 2: Mécanisme schématique de la réaction allergique9
Figure 3 : Capture des allergènes par les cellules dendritiques et induction de la réponse immunitaire10
Figure 4 : La synapse immunologique entre les cellules dendritiques et les cellules T11
Figure 5 : Cycle de vie des Chironomidae (Insecta : Diptera)23
Figure 6: Forme générale d’une larve de Chironomidae.....24
Figure 7 : Anatomie de la larve26
Figure 8: Forme générale de la nymphe de Chironomidae26
Figure 9 : Anatomie de la nymphe27
Figure 10 : forme générale de l’adulte femelle de Chironomidae.....28
Figure 11 : Anatomie de l'adulte29
Figure 12 : L’appareil respiratoire et les voies aériennes33

CHAPITRE 2

Figure 13 : Evolution des températures moyennes mensuelles de la station de Guelma (2004-2013).....42
Figure 14 : Evolution des températures moyennes mensuelles de la station d’Oum El Bouaghi (2004- 2013)43
Figure 15 : Evolution des températures moyennes mensuelles de la station de Souk Ahras (2004- 2013).44
Figure 16 : Variations saisonnières des précipitations de la station météorologique de Guelma (2004-2013)45
Figure 17 : Variations saisonnières des précipitations (Station météorologique d’Oum El Bouaghi (2004-2013).46
Figure 18 : Variations saisonnières des précipitations de la station météorologique de Souk Ahras (2004-2013)47
Figure 19 : Diagramme ombrothermique de la station de Guelma (2004- 2013)49

Figure 20 : Diagramme Ombrothermique d'Oum El Bouaghi (2004-2013)50
Figure 21 : Diagramme Ombrothermique de la station de Souk Ahras (2004- 2013).50
Figure 22 : Situation de la région de Guelma, Oum El Bouaghi et Souk Ahras dans le climagramme d'Emberger (2004-2013).....52

CHAPITRE 3

Figure 23 : Variation altitudinale des stations d'étude.....53
Figure 24 : Description de la station d'oued Tifeche.....54
Figure 25 : Description de la station d'oued Crabe.....54
Figure 26 : Description de la station d'oued Dehmane.....55
Figure 27 : Description de la station d'oued Nile55
Figure 28 : Description de la station d'oued El Aar.....56
Figure 29 : Description de la station d'oued Charef à Ain Makhoulf.....56
Figure 30 : Description de la station d'oued Chaniour57
Figure 31 : Description de la station d'oued Charef à Houari- Boumediene.....57
Figure 32 : Description de la station d'oued Charef à Medjez Amar58
Figure 33 : Les principales végétations dans les stations d'échantillonnage58
Figure 34 : un appareil multiparamétrique de terrain modèle HANNA60
Figure 35 : Les différents substrats61
Figure 36 : Exemples de disposition des pièces anatomiques pour l'étude systématique63
Figure 37 : Mode opératoire de la préparation de l'extrait brut des larves de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae).....68
Figure 38 : Le protocole expérimental utilisé pour la sensibilisation intranasale des souris témoins et traitées70
Figure 39 : Technique de la sensibilisation intranasale ; lavage nasal ; dissection et lavage bronchoalvéolaire des souris.....71

CHAPITRE 4

Figure 40 : Variation mensuelle moyenne de la température de l'eau dans les stations d'étude.....74

Figure 41 : Variation mensuelle moyenne de l’oxygène dissous dans les stations étudiées (Charef amont)	75
Figure 42 : Variation mensuelle moyenne de l’oxygène dissous dans les stations étudiées (Charef aval)	75
Figure 43 : Corrélation établie entre la température et l’oxygène dissous dans les stations d’étude.....	76
Figure 44 : Les variations mensuelles moyennes de la conductivité des stations étudiées (Charef amont)	77
Figure 45 : Les variations mensuelles moyennes de la conductivité des stations étudiées (Charef aval)	77
Figure 46 : Variation moyenne mensuelle du pH au niveau des stations étudiées du Charef amont	78
Figure 47 : Variation moyenne mensuelle du pH au niveau des stations étudiées du Charef aval	78
Figure 48 : Variation altitudinale des stations prospectées	79
Figure 49 : Le pourcentage des quatre sous familles de Chironomidae dans les stations d’étude.....	82
Figure 50 : Larve de <i>Procladius choreus</i> (x100)	83
Figure 51 : Larve de <i>Prodiamesa olivacea</i> (x400).....	84
Figure 52 : Larve de <i>Chironomus plumosus</i> (x400).....	85
Figure 53 : Larve de <i>Cryptochironomus sp</i> (x400).....	86
Figure 54 : Larve de <i>Harnishia sp</i> (x100).....	87
Figure 55 : Larve de <i>Microtendipes sp</i> (x400).....	88
Figure 56 : Larve de <i>Phaenopsectra flavipes</i> (x400)	89
Figure 57 : Larve de <i>Polypedilum sp</i> (x400).....	90
Figure 58 : Larve de <i>Tanytarsus sp</i> (x400)	93
Figure 59 : <i>Cricotopus bicinctus</i> (x400)	94
Figure 60 : Analyse Factorielle des Correspondances. Plan 1 x 2. 09 sites x 30 espèces	101
Figure 61 : Analyse Factorielle des Correspondances. Plan 3x4. 09 sites x 30 espèces	102
Figure 62 : Variation de la richesse spécifique des stations d’étude au cours du cycle d’étude.....	103

Figure 63 : Valeurs de l'indice d'Equitabilité des espèces de Chironomidae au cours de l'année d'étude.....	104
Figure 64 : Valeurs de l'indice de Shannon des espèces de Chironomidae au cours de l'année de l'étude.....	105
Figure 65 : Pourcentage de l'abondance moyenne des différents groupes de Chironomidae dans les stations d'échantillonnage au cours de l'année d'étude	109
Figure 66 : L'évolution mensuelle de l'abondance des Chironomidae au cours de l'année d'étude	109
Figure 67 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Procladius choreus</i> au cours de l'année d'étude	110
Figure 68 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Tanytus punctipennis</i> au cours de l'année d'étude	111
Figure 69 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Prodiamesa olivacea</i> au cours de l'année d'étude	111
Figure 70 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Chironomus plumosus</i> au cours de l'année d'étude	112
Figure 71 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Cryptochironomus sp</i> , <i>Cryptochironomus obreptans</i> et <i>Cryptochironomus supplicans</i> au cours de l'année d'étude.....	113
Figure 72 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Harnishia sp</i> et <i>Harnishia fuscimana</i> au cours de l'année d'étude	113
Figure 73 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Microtendipes sp</i> , <i>Microtendipes chloris</i> , <i>Microtendipes confinis</i> et <i>Microtendipes pedellus</i> au cours de l'année d'étude	114
Figure 74 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Phaenopsectra flavipes</i> au cours de l'année d'étude	114
Figure 75 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Polypedilum sp</i> , <i>Polypedilum convictum</i> , <i>Polypedilum cultellatum</i> , <i>Polypedilum nubifer</i> et <i>Polypedilum sordens</i> au cours de l'année d'étude.....	115
Figure 76 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Paratanytarsus sp</i> et <i>Paratanytarsus dissimilis</i> au cours de l'année d'étude.	115
Figure 77 : Evolution mensuelle de l'abondance de <i>Tanytarsus sp</i> et <i>Tanytarsus sylvaticus</i> au cours de l'année d'étude	116

Figure 78 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Cricotopus bicinctus* au cours de l'année d'étude116

Figure 79 : la courbe d'étalonnage de la solution de BSA selon la méthode de Bradford123

Figure 80 : Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles des souris témoins et traitées124

Figure 81 : Variation du taux des éosinophiles et des monocytes des souris témoins et traitées.125

Figure 82 : Variation du taux des plaquettes des souris témoins et traitées.....125

Figure 83 : Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées126

Figure 84 : Frottis des lavages nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées (×400).126

Figure 85 : Variation du poids de la rate des souris témoins et traitées.....127

Figure 86 : Variation du nombre des splénocytes des souris témoins et traitées128

Figure 87 : Variation du poids des poumons des souris témoins et traitées128

Figure 88 : Coupes histologiques des poumons des souris témoins et traitées (x100)129

Figure 89 : Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles des souris témoins et traitées130

Figure 90 : Variation du taux des monocytes, des éosinophiles et des basophiles des souris témoins et traitées131

Figure 91 : Variation du taux des plaquettes des souris témoins et traitées.....132

Figure 92 : Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées132

Figure 93 : Variation du poids de la rate des souris témoins et traitées133

Figure 94 : Variation du nombre des splénocytes des souris témoins et traitées134

Figure 95 : Variation du poids des poumons des souris témoins et traitées134

Figure 96 : Coupes histologiques pulmonaires des souris traitées par les quatre fractions de l'extrait brut larvaire de *F. flavipes* (x100).....135

LISTE DES CARTES

Carte 1 : Situation géographique de la zone d'étude dans le bassin versant de la Seybouse..36

Carte 2 : Présentation des sous-bassins de la Seybouse.....37

Carte 3 : Localisation des stations étudiées dans le bassin de la Seybouse.....53

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1

Tableau 1 : Classification de Gell et Coombs (1963) des phénomènes allergiques6

CHAPITRE 2

Tableau 2 : Répartition des sous-bassins de l'Oued Charef.....37

Tableau 3 : Données sur le réseau hydrographique du bassin d'oued Charef39

Tableau 4 : Moyenne mensuelle des températures de la station de Guelma (2004- 2013).....41

Tableau 5 : Moyenne mensuelle des températures de la station d'Oum El Bouaghi (2004- 2013).....42

Tableau 6 : Moyenne mensuelle des températures de la station de Souk Ahras (2004- 2013).....43

Tableau 7 : Précipitations moyennes mensuelles et annuelles de la station de Guelma (2004-2013).....44

Tableau 8 : Précipitations moyennes mensuelles et annuelles de la station d'Oum El Bouaghi (2004-2013)45

Tableau 9 : Précipitations moyennes mensuelles et annuelles de la station de Souk Ahras (2004-2013)47

Tableau 10 : Variation moyenne mensuelle de l'humidité relative de la station de Guelma (2004-2013).48

Tableau 11 : Variation moyenne mensuelle de l'humidité relative de la station d'Oum El Bouaghi (2004-2013).....48

Tableau 12 : Variation moyenne mensuelle de l'humidité relative de la station de Souk Ahras (2004-2013)48

CHAPITRE 3

Tableau 13 : Classification de *Phaenopsectra flavipes*66

Tableau 14 : Tableau de saturation du sulfate d'ammonium à 0°C.....70

CHAPITRE 4

Tableau 15 : Check-list des espèces des Chironomidae au cours de l'année d'étude..81

Tableau 16 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Tifech	96
Tableau 17 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Crabe	97
Tableau 18 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Dehmen.	98
Tableau 19 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Nile...	98
Tableau 20 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Elaar..	98
Tableau 21 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Charef à Ain Makhoulf	99
Tableau 22 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Chanior	100
Tableau 23 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Charef à Houari- Boumedienne	101
Tableau 24 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'Oued Charef à Medjez Amar.....	101

LISTE DES ABREVIATIONS

ABH : Agence des bassins hydrographiques

AFC : Analyse factorielle des correspondances

B reg : B régulateur

BSA : Sérum albumine bovine

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : Cellule présentatrice de l'antigène

CTMC : Connective-type tissue mast cells

DAMP : Danger Associated Molecular Pattern

DC : Cellules dendritiques

ECFA : Eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis

ECP : Eosinophil cationic protein

EDN : Eosinophil derived neurotoxin

EDTA : Ethylène-diamine- tétra-acétique

EPO : Eosinophil peroxidase

FNS : Analyse de la formule numération sanguine

GM-CSF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

HES : Hématéine- éosine-safran

ICAM : Inter Cellular Adhesion Molecule

IgE : Immunoglobulines E

LT : Leucotriène

MBP : Major basic protein

MGG : May-Grünwald–Giemsa

MMC : Mucosal mast cells

NCFA : Neutrophil chemotactic factor of anaphylaxis

OMS : Organisation mondiale de la santé

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

PAF : Plaquette activating factor

PAMP : Pathogen-associated molecular patterns

PBS : Phosphate buffered saline

PG : Prostaglandines

PNN : Polynucléaires neutrophiles

RANTES : Regulated on activation normal T cell expressed and secreted

SCF : Stem cell factor

T reg : T régulateur

TCR : T-cell receptor

TGF β : Transforming growth factor β

Th : T helpers

TLR : Toll-like receptors

TNF : Tumor necrosis factor

TX : Thromboxane

VCAM : Vascular cell adhesion molecule

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies allergiques constituent un problème majeur de santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) les classe au quatrième rang mondial des pathologies, dont les allergies respiratoires, essentiellement la rhinite allergique, l'asthme et les dermatites allergiques sont les manifestations les plus fréquentes. La prévalence mondiale de ces allergies a été évaluée grâce à deux grandes enquêtes épidémiologiques, une chez l'adulte (étude ECRHS "*European Community Respiratory Health Survey*", ECRHS-I, 1996; ECRHS-II, 2002) et l'autre chez l'enfant (étude ISAAC "*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*", ISAAC, 1998a; ISAAC, 1998b).

La première enquête réalisée en Algérie (en 1991) dans la région d'Alger a permis d'évaluer la prévalence de l'asthme à 1,3% (Belhocine & Ait-Khaled 1991 In Khemili S., 2013). La prévalence de la rhinite allergique était de 9,5% (ECRHS-I, 1996). En 2010, une étude de l'environnement allergique d'une population d'enfants asthmatiques a été réalisée à Annaba (située au Nord-Est de l'Algérie) (Boumendjel et *al.*, 2010). Cette étude a montré que, sur les 75 patients allergiques testés, la prédisposition génétique basée sur les critères familiaux est très fréquente (74%) (Boumendjel et *al.*, 2010). Aujourd'hui, l'Algérie compte plus d'un million d'asthmatiques et près de trois millions de malades souffrant de rhinites allergiques (Douagui, 2007).

L'apparition d'une réaction inflammatoire d'origine allergique est la conséquence d'un état d'hypersensibilité ; dont le but initial est de lutter contre une agression spécifique déclenchée lors de l'exposition à des allergènes. En fait, on distingue les allergènes ingérés (aliments) qui engendrent des réactions générales (choc anaphylactique) ou cutanées (urticaire). On trouve d'autre allergènes sous forme des substances injectées (venins d'hyménoptères, médicament) à l'origine du choc anaphylactique. Enfin, les allergènes inhalés ou « pneumallergènes » qui sensibilisent par voie respiratoire, et qui sont responsables de l'asthme et des rhinites allergiques. Les pneumallergènes les plus fréquemment impliqués dans la rhinite et l'asthme allergique sont issus du pollen, moisissures, acariens et animaux domestiques. Egalement, on peut trouver des pneumallergènes rares dans l'environnement dont l'apparition des allergies dépend de la période et le lieu.

Pour cela, cette présente recherche vise à étudier l'un de ces pneumallergènes rares de l'environnement ; c'est l'allergène larvaire des Chironomidae (Insecta : Diptera) ; dont la

source d'exposition est principalement environnementale. L'inhalation de fragments allergéniques aéroportés de ces larves, 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.

Cette famille de Diptères « Chironomidae » faisant partie du groupe morphologique des culiciformes, est divisée en 11 sous familles : Telmatogetoniinae, Usambaromyiinae, Podonominae, Tanypodinae, Buchonomyiinae, Diamesinae, Prodiamesinae, Orthocladiinae, Chironominae, Chilomyiinae et les Aphroteniinae (Zerguine, 2010). Par ailleurs, les larves de ces insectes ; surtout celles appartenant à la sous famille des Chironominae ; possèdent de l'hémoglobine dans leur hémolymphe ; qui leur confère une coloration rougeâtre. La présence de l'hémoglobine joue un rôle primordial dans leur respiration parce qu'il a une grande affinité pour l'oxygène (Walshe, 1950). En effet, chez certaines espèces, l'hémoglobine larvaire représente l'allergène responsable de manifestations d'hypersensibilité immédiate, médiée par des IgE, distribuée à travers le monde (Raymond & Breuil, 1991).

Généralement, ces insectes sont des habitants communs de la plupart des habitats aquatiques, dont ils existent sur tous les continents (Ferrington, 2008); ils sont encore mal connus (Boulaaba *et al.*, 2014). En effet ; parmi les références les plus récentes ; on peut citer : Kettani & Langton (2011) pour le Maroc, et Boulaaba et ses collaborateurs (2014) pour la Tunisie. Concernant l'Algérie, des résultats préliminaires ont été fournis par (Lounaci *et al.*, 2000 ; Moubayed *et al.*, 2007 ; Zerguine *et al.*, 2009; Chaib *et al.*, 2011 ; Chaib *et al.*, 2013 et Zerguine, 2014).

Par conséquent, dans le cadre de l'étude faunistique des Chironomidae d'Afrique du Nord ; zone de passage entre les régions paléarctique et afro-tropicale ; nous nous sommes proposé dans le présent travail d'étudier la communauté chironomidienne dans le Nord-Est algérien. Cette recherche porte sur l'étude des trois stades du peuplement chironomidien (larvaire, nymphal et imaginal). En fait, notre zone d'étude représente l'un des sous bassins versant de la Seybouse appelé le bassin d'Oued Charef. Ce travail vise à suivre l'évolution des paramètres physico-chimiques du milieu, les changements climatiques et leur corrélation avec la structure de la communauté chironomidienne.

Par ailleurs, cette première étude écologique de la communauté chironomidienne est suivie d'une autre approche de recherche immunologique afin de valoriser l'effet de ces insectes sur la santé respiratoire, en utilisant des souris BALB/c comme modèle biologique, et

un extrait brut des larves prélevées des stations d'échantillonnages, comme le pneumallergène recherché.

Pour cela ; cette moderne recherche vise plusieurs objectifs :

- ▶ Une étude systématique de cette famille de diptères pour la réalisation de la phénologie des espèces de Chironomidae et la précision de leur abondance et répartition dans l'air d'étude.
- ▶ Une étude écologique en décrivant les variations spatio-temporelles des principaux des facteurs qui contrôlent la distribution des espèces identifiées tout de long d'Oued Charef.
- ▶ La détermination et l'évaluation de l'allergénicité des espèces existantes dans la zone d'étude.
- ▶ Caractérisation immunologique de l'extrait larvaire des Chironomidae.

Pour répondre à ces objectifs ; notre thèse s'articule autour de deux axes. L'une écologique porte sur l'étude de la population chironomidien, et une autre immunologique consiste à une étude de l'effet allergique des pneumallergènes larvaire des Chironomidae sur un modèle murin. Pour cela, ce présent travail est structuré en quatre chapitres interdépendants:

- Le premier consiste à une synthèse bibliographique, qui aborde les points essentiels à la compréhension de la biologie et l'écologie des Chironomidae, ainsi que la physiopathologie de la réponse inflammatoire allergique liés à l'inhalation des allergènes larvaires de ces insectes ;
- Le deuxième chapitre est consacré à la présentation générale de la zone d'étude ;
- Le troisième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés pour cette étude ;
- Le quatrième chapitre présente les résultats ainsi que leur discussion.

Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE 1 : **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

1.1.Allergie

1.1.1. Définition et historique

L'allergie est définie comme une réponse exagérée à médiation immunitaire vis-à-vis d'une substance étrangère à l'organisme. Les symptômes des allergies sont multiples : cutanés (urticaire, eczéma, œdème localisé), respiratoires (asthme, rhinite, gêne laryngée), gastro-intestinaux (vomissement, douleurs abdominales, diarrhée) et oculaires (conjonctivite). Les plus graves des manifestations sont l'anaphylaxie, l'asthme aigu et l'œdème de Quincke (Khemili, 2013).

En 1902, l'anaphylaxie chez le chien a été décrite par deux français : Richet et Portier. En effet, le terme allergie créé en 1906 par Von Pirquet, dérive du grec Allos (autre, différent) et Ergon (réaction) qui signifie d'une façon large, un ensemble de manifestations cliniques liées à une réponse anormale de l'organisme à l'introduction de substance(s) non toxique(s), faisant intervenir une réponse immunitaire excessive et/ou inadaptée spécifique de la (des) substance (s) en cause, et ne survenant que chez un nombre limité d'individus. Ce mot est devenu ensuite synonyme d'hypersensibilité, principalement d'hypersensibilité immédiate, et l'antigène en cause est appelé allergène (Lifrani, 2006).

Le terme « maladie allergique » a été utilisé pour la première fois en 1911 par Coca et Coke. La maladie allergique est spontanée. Elle est provoquée par certaines substances dont les voies d'introduction dans l'organisme sont variées (inhalation, ingestion, contact cutané, injection). La population souffrante de maladie allergique est dite allergique. Le terme « atopie » a également été proposé par Coca et Coke en 1920 pour caractériser la prédisposition héréditaire à se sensibiliser à certaines substances de l'environnement selon un mécanisme d'hypersensibilité précoce provoqué par l'intermédiaire des immunoglobulines E (IgE) (Lifrani, 2006).

Quelques années plus tard, en 1978, on a mis en évidence la liaison des IgE à des récepteurs membranaires de haute affinité liant la partie Fc des IgE, portés par les basophiles et les mastocytes.

Selon le classement de la fréquence des maladies chroniques par l'OMS (organisation mondiale de la santé), l'allergie arrive au 4^{ème} rang, dont son incidence a doublé depuis les dernières années (Khemili, 2013). Elle représente un sérieux problème de santé publique et

ses conséquences peuvent être fatales. En revanche, il est compréhensible que ce domaine ; un peu particulier de l'allergie ; soit resté pendant près d'un siècle extrêmement flou, entaché d'ambiguïtés tant en clinique (symptôme ubiquitaire, et médecine pluridisciplinaire) qu'en science (mécanismes complexes et imprécis). C'est grâce aux progrès considérables apportés par l'immunologie que peu à peu les idées sont clarifiées sur la genèse de la pathologie d'origine allergique (David, 2002).

On peut désormais affirmer que l'apparition d'une réaction inflammatoire d'origine allergique est la conséquence d'un état d'hypersensibilité ; dont le but initial est de lutter contre une agression spécifique. Cette réaction de défense de l'organisme échappe, chez certains individus, au contrôle des mécanismes immunophysiologiques, sous l'effet de facteurs variés tels que l'environnement spécifique (allergènes), et non spécifique (tabagisme passif), la génétique de l'individu, l'implication des cellules et des médiateurs concernés par l'inflammation. Cet emballement du système immunitaire avec une réponse exacerbée crée alors de véritables syndromes (parfois un choc mortel) affectant de multiples organes (poumons, peau, sphère ORL, systèmes oculaire, digestif).

En fait, l'allergie met en jeu un mécanisme immunologique correspondant aux quatre grands types de la classification de Gell et Coombs, classification qui reste d'actualité et a eu son utilité ; même si les connaissances acquises montrent que les mécanismes sont plus complexes (Kanny & Jacquenet, 2006 ; Rancé & Deschildre, 2006). Cependant, Au cours des deux dernières décennies, il est apparu une tendance à utiliser le mot « allergie » pour décrire non seulement l'allergie telle qu'elle est définie ci-dessus, mais également toutes sortes de réactions inattendues de la peau et des muqueuses. Pour cela, le terme « hypersensibilité » est utilisé comme terme général dont sa définition soit la suivante : « *L'hypersensibilité provoque des symptômes ou des signes cliniques reproductibles objectivement, initiés par une exposition à un stimulus défini, à une dose tolérée par des sujets normaux* » (Johansson et al., 2004).

1.1.2. Classification des réactions allergiques

En 1963, Gell et Coombs décrivent une classification en quatre groupes des réactions d'hypersensibilité en fonction de la chronologie des réactions et de leurs mécanismes physiologiques (Tableau 1) (Mondulet, 2005). Plus récemment, une nouvelle nomenclature des réactions d'hypersensibilité a été réalisée dont elle est fondée sur les connaissances

actuelles des mécanismes responsables de l’initiation et de la médiation des réactions allergiques (Figure 1) (Johansson *et al.*, 2004).

Tableau 1 : Classification de Gell et Coombs (1963) des phénomènes allergiques (Mondulet, 2005).

Type d'hypersensibilité	I	II	III	IV
Type de réactions	Médiée par les IgE	Cytotoxique	Complexes immuns	Cellulaire
Délai de déclenchement	Immédiat	Semi-retardé (4 à 8 heures)	Semi-retardé (quelques heures)	Retardé (1 à 3 j)
Maladies et phénomènes courants	Anaphylaxie, asthme, rhinite, eczéma atopique, choc anaphylactique	Destruction des Cellules sanguines par allergie médicamenteuse	Maladie sérique, pneumopathies à précipines	Dermatites, eczéma de contact, allergie microbienne, rejet de greffes
Effecteurs	IgE, mastocytes, basophiles	IgG ou IgM, cellules K	IgG, IgM	Lymphocytes T, macrophages
Médiateurs	Histamine, leucotriènes, Plaquette Activating Factor (PAF)	Protéines du complément	Anticorps, complément, plaquettes, neutrophiles	Lymphokines

Selon la classification de Gell et Combs, l’allergie est souvent assimilée à une réaction d’hypersensibilité de type I, dite immédiate, IgE-dépendante. Cette réaction a pour origine l’activation, par un antigène spécifique, des mastocytes sensibilisés par des IgE, aboutissant à la libération des médiateurs chimiques de l’inflammation.

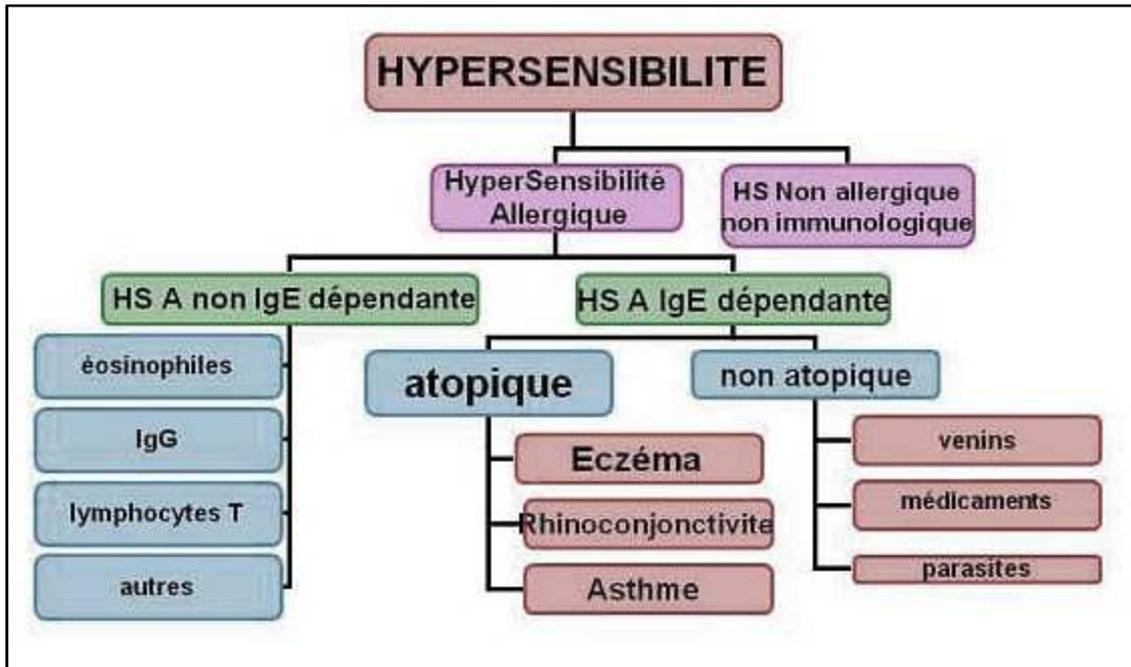


Figure 1 : Nouvelle nomenclature des réactions d'hypersensibilité

(Johansson *et al.*, 2004)

1.1.3. Les étapes de la réaction d'hypersensibilité de type I

En effet, les allergènes ne constituent pas un danger pour l'organisme, à la différence des virus et bactéries, mais le système immunitaire de certains individus les considère à tort comme tel et déclenche une réaction de défense de l'organisme contre cet intrus, réaction à l'origine de la symptomatologie clinique. La réaction allergique immédiate IgE-dépendante de type I s'effectue classiquement en deux étapes: une phase de sensibilisation suivie de la réaction allergique proprement dite (Figure 2).

1.1.3.1. La sensibilisation

Le premier contact de l'allergène avec le système immunitaire conduit à la production des IgE spécifiques. L'allergène est pris en charge et apprêté par des cellules présentatrices de l'antigène (CPA). Les épitopes de l'allergène sont présentés aux lymphocytes T auxiliaires (T helpers, Th), en association à des molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Les lymphocytes Th reconnaissant le complexe CMH-épitope, sont alors activés et sécrètent des cytokines dont le rôle est, entre autres, de réguler la réaction en modulant les coopérations cellulaires et moléculaires. Les lymphocytes T sont de deux types, Th1 et Th2, qui sécrètent des profils de cytokines différents. Les Th2 sont plus

particulièrement impliqués dans les réactions d'hypersensibilité. Les cytokines sécrétées par les Th2 (TCD4+ spécifiques de l'antigène), notamment l'IL-4, induisent, au niveau des lymphocytes B, la commutation isotypique des IgD membranaires spécifiques de l'allergène vers les IgE spécifiques. Les lymphocytes B sont activés et se transforment en plasmocytes sécréteurs d'IgE spécifiques. Ces IgE sont retrouvées pour une part dans la circulation sanguine. Les autres se fixent, par leur fragment Fc, sur les FcεRI des mastocytes et les basophiles, ces cellules sont alors dites « sensibilisées ». Cette première étape appelée phase de sensibilisation, muette cliniquement, prépare l'organisme à réagir de façon immédiate lors d'un second contact avec l'allergène (Moneret-Vautrin *et al.*, 1998).

1.1.3.2. La réaction allergique proprement dite

Le second contact avec l'allergène (ou un allergène de structure proche dans le cas des allergies croisées) entraîne une réaction qui s'accompagne de manifestations cliniques. L'allergène va se fixer sur les IgE immobilisées sur les mastocytes et les basophiles. Cette fixation induit le pontage des IgE à la surface des cellules. Les récepteurs aux IgE vont alors se rapprocher et s'agréger entraînant une désorganisation de la membrane cellulaire et l'exocytose des granules contenant des médiateurs chimiques dont le principal est l'histamine ainsi que d'autres médiateurs (PGD₂, leucotriènes, PAF) et des cytokines pro-inflammatoires. Outre leurs effets directs provoquant la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire, ces médiateurs attirent d'autres cellules (granulocytes éosinophiles) dans le tissu lésé et favorisent les réponses allergiques. C'est au cours de ce deuxième contact avec l'allergène que le sujet déclenche une manifestation clinique de nature allergique plus ou moins grave. Les IgE sont ainsi le support de la réaction d'hypersensibilité de type I (Mameri, 2012).

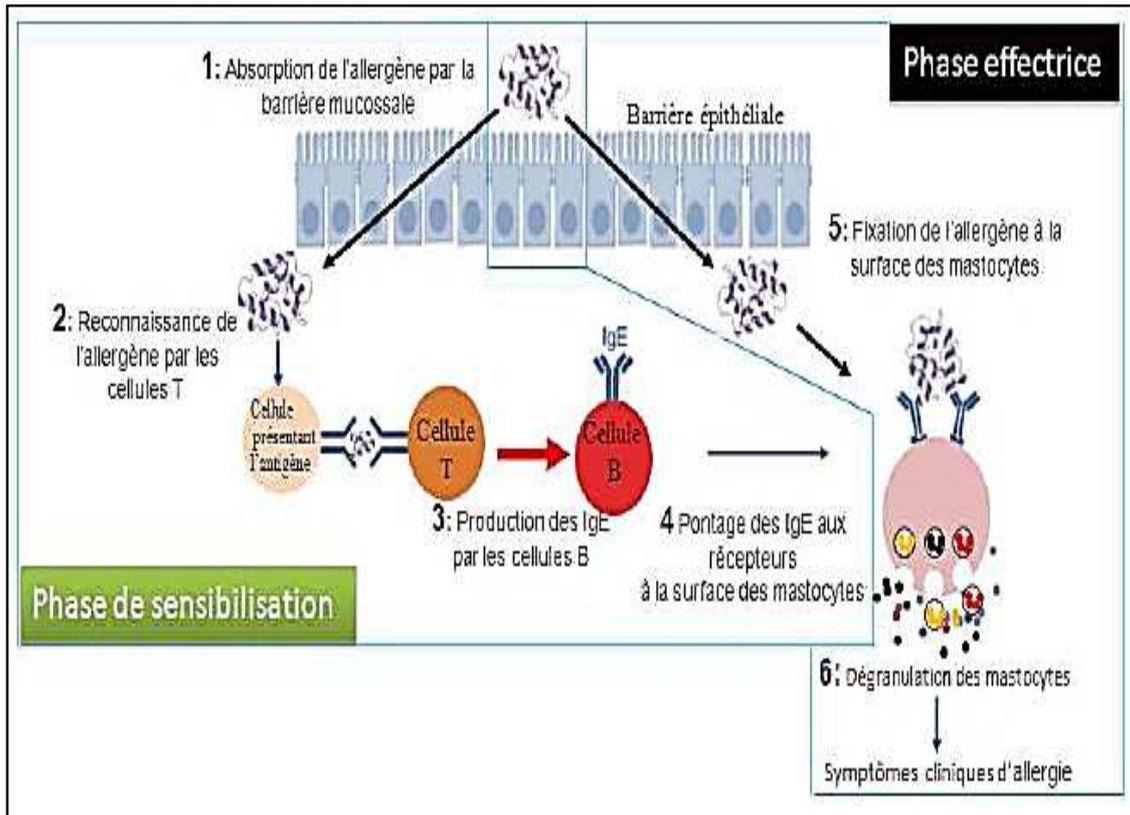


Figure 2: Mécanisme schématisé de la réaction allergique (Mameri, 2012).

A. Les cellules effectrices de la réaction allergique respiratoire

L'activation des mastocytes et des basophiles dépendante des IgE par un allergène, provoque la libération brutale de médiateurs vaso-actifs et constricteurs des fibres musculaires lisses, à l'origine des symptômes aigus. Les organes et les tissus cibles de l'allergie immédiate sont également l'objet d'une réaction inflammatoire (phase tardive), entretenue et exacerbée par les expositions aux allergènes de l'environnement. Classiquement, les principales cellules qui produisent les médiateurs de l'allergie immédiate sont les polynucléaires basophiles et les mastocytes. D'autres cellules (polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, monocytes et macrophages, cellules endothéliales, cellules des épithéliums muqueux et lymphocytes T) jouent également un rôle important dans la pathogénie de ces réactions (Besnard, 2010).

a. Les cellules dendritiques

En 1868, Langerhans décrivait dans la peau des cellules hérissées de très nombreux prolongements cytoplasmiques : les cellules dendritiques (DC). Au niveau pulmonaire, les DC sont situées sous l'épithélium bronchique et dans les tissus parenchymateux du poumon. L'expression de protéines de jonctions serrées de type claudine-1, claudine-2 ou zonula-

occludine-1 (ZO-1) permet aux DC d'envoyer leurs dendrites ou de migrer à travers l'épithélium, et ainsi de sonder le contenu de la lumière bronchique tout en préservant l'intégrité de l'épithélium (Lambrecht & Hammad, 2009 *in* Besnard, 2010).

Les DC pulmonaires capturent les antigènes inhalés et migrent vers les ganglions lymphatiques par un processus faisant intervenir les récepteurs CCR7 et CCR8 (Figure 3).

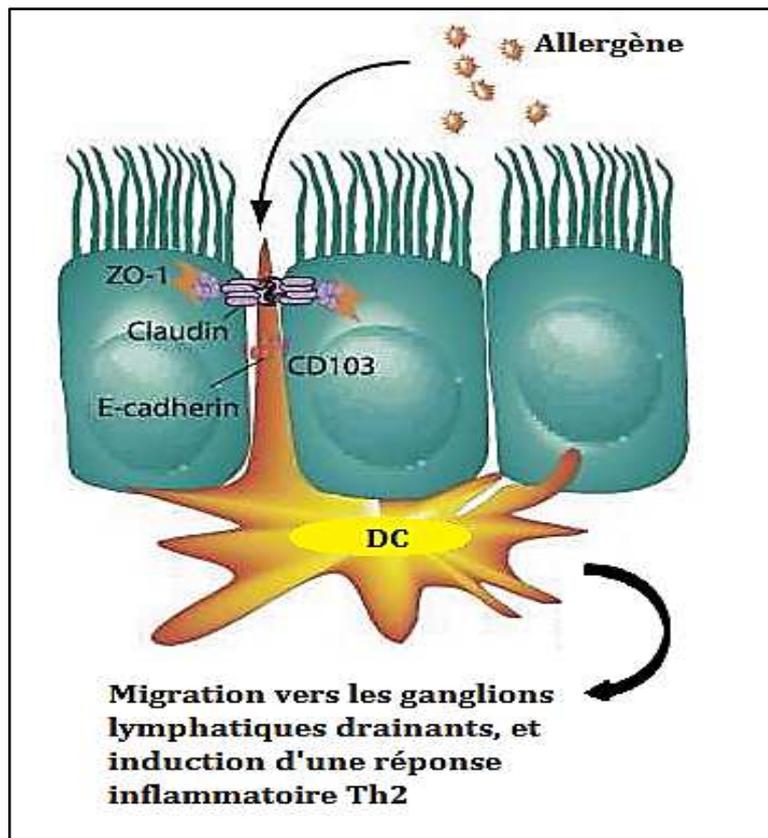


Figure 3 : Capture des allergènes par les cellules dendritiques et induction de la réponse immunitaire (Besnard, 2010).

Au cours de leur migration, les DC catabolisent les antigènes capturés et présentent les peptides antigéniques à leur surface grâce au CMH de classe II. Dans le paracortex des ganglions, l'engagement du TCR induit l'expression du CD40L à la surface des lymphocytes T, qui interagit alors avec le CD40 exprimé à la surface des DC. Cette interaction conduit à l'expression de molécules de co-stimulation de la famille B7 à la surface des DC, et plus particulièrement du CD86 (Banchereau *et al.*, 2000 ; Jaiswal *et al.*, 1996) interagissant avec le CD28 et le CTLA-4 à la surface des cellules T (Figure 4).

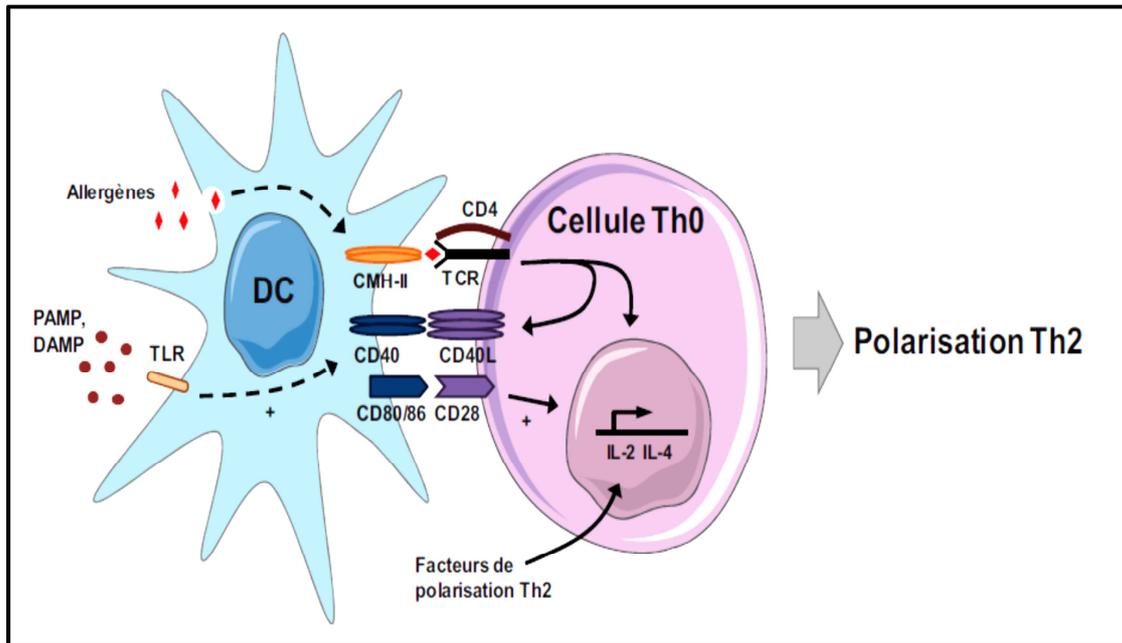


Figure 4 : La synapse immunologique entre les cellules dendritiques et les cellules T (Besnard, 2010).

Les DC pulmonaires expriment de nombreux récepteurs, tels que les récepteurs TLR ou des récepteurs de la famille des lectines de type C, et ils sont ainsi capables de reconnaître les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) et les signaux de danger ou de stress libérés par les cellules endommagées (DAMP). Ces signaux jouent le rôle d'adjuvants dans la réponse en entraînant l'augmentation de l'expression des molécules de co-stimulation sur les cellules DC et la production des chimiokines telles CCL17 et CCL22 qui recrutent les cellules T, les granulocytes éosinophiles et basophiles au niveau pulmonaire (Besnard, 2010).

En effet, une étude a montré que le transfert à des souris naïves, des cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse préalablement stimulées avec l'allergène, était suffisant pour induire une inflammation pulmonaire allergique après provocation avec le même allergène (Bedoret *et al.*, 2009). Ces résultats indiquent que les DC pulmonaires sont les principales cellules présentatrices d'antigènes (CPA) pulmonaires et sont nécessaires à la mise en place d'une réponse Th2.

b. Les mastocytes

Chez les rongeurs, ils sont de deux types : les mastocytes muqueux (MMC : mucosal mast cells), très abondants au niveau des muqueuses respiratoires et digestives et dont le développement est thymo-dépendant, et les mastocytes du tissu conjonctif (CTMC : connective-type tissue mast cells) abondants dans le péritoine et la peau, la sous-muqueuse digestive et respiratoire, les organes lymphoïdes centraux et périphériques (Snider *et al.*, 1994). Chez l'homme, les mastocytes peuvent aussi être classés en deux catégories, selon leur contenu en protéases. Les mastocytes T, qui se rapprochent des MMC murins, ne contiennent que de la tryptase et sont prédominants au niveau de la muqueuse intestinale, gastrique et nasale, et forment environ un tiers des mastocytes pulmonaires. Leur nombre est significativement augmenté dans la muqueuse nasale des malades atteints de rhinite allergique et dans la paroi et les sécrétions bronchiques des asthmatiques. Les mastocytes TC, dont les granulations contiennent à la fois de la tryptase et de la chymase, sont prédominants dans la peau et la sous muqueuse intestinale. Dans la muqueuse nasale de patients allergiques au pollen, on observe une augmentation saisonnière du nombre des mastocytes T, par contre le nombre des mastocytes TC ne varie pas et reste identique à celui retrouvé chez des sujets normaux. De même, les mastocytes T, qui constituent environ 1 % des cellules recueillies lors d'un lavage bronchoalvéolaire chez l'individu sain, passent à 5 % chez l'atopique (Ito *et al.*, 1997). Les mastocytes sont recrutés au niveau pulmonaire par le facteur de croissance SCF (aussi connu sous le nom de Kit-ligand) libéré par les cellules épithéliales, qui se lie au récepteur c-Kit (CD117) exprimé par les mastocytes (Reber *et al.*, 2006).

En plus de la libération d'histamine et de leucotriènes, les mastocytes produisent une multitude de cytokines (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-16, TNF et TGF β) et des chimiokines (CXCL8, CCL1, CCL5, CCL-2, CCL3) (Galli *et al.*, 2005).

c. Les polynucléaires basophiles

Ce sont des cellules essentiellement circulantes, dont la durée de vie est de 2 à 3 semaines. La formule leucocytaire d'un sujet normal comporte moins de 0,5 % de basophiles. Une augmentation significative est observée chez les individus allergiques, notamment pendant les phases d'exposition à l'allergène. A l'instar des mastocytes, les basophiles

amplifient la réaction d'hypersensibilité immédiate en sécrétant l'histamine préformée dans les granules et en produisant de larges quantités d'IL-4 (Besnard, 2010).

d. Les polynucléaires éosinophiles

Ce sont probablement les principales cellules effectrices secondaires de l'allergie immédiate chez l'homme. Une hyper-éosinophilie est retrouvée dans l'atopie, les rhinites allergiques, la dermatite atopique et l'asthme (Dearman *et al.*, 2001). Ce sont des cellules à localisation essentiellement tissulaire dont l'activation est assurée par l'IL-5. Après leur activation, les éosinophiles circulants sont recrutés sur le site de l'inflammation grâce aux cytokines telles que le GM-CSF, le TNF α , l'IL-13 et l'IL-4 et à certaines chimiokines telles CCL11 et CCL24, CCL3, CCL22 (Besnard, 2010).

Après activation et recrutement au niveau pulmonaire, les éosinophiles exercent leur rôle pro-inflammatoire en relâchant des cysteinyl leucotriènes mais également des cytokines Th1 (IFN γ et IL-2) et Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 et TNF α) (Besnard, 2010).

Chez la souris, dans un modèle d'asthme induit par l'ovalbumine, le transfert d'éosinophiles préalablement chargés avec l'antigène est suffisant pour induire une production d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 par les lymphocytes Th2 (Mackenzie *et al.*, 2001).

e. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

Ils jouent un rôle clé dans l'immunité innée et la protection contre les agents infectieux. Ils peuvent également être responsables de dommages locaux lorsqu'ils s'accumulent au niveau du site inflammatoire.

Ce sont des cellules qui produisent de nombreux médiateurs pro-inflammatoires, histamino-libérateurs et vaso-actifs et des protéases, tous susceptibles de participer à la réaction allergique. Des taux élevés de neutrophiles ont été notés notamment dans l'asthme nocturne (Martin *et al.*, 1991), dans les expectorations au cours des crises d'asthme (Fahy *et al.*, 1995), dans les lavages bronchiques de patients intubés pour asthme sévère (Lamblin *et al.*, 1998) et dans des examens d'autopsie où l'asthme était la cause du décès (Sur *et al.*, 1993).

f. Les lymphocytes B

Les taux d'IgE circulantes sont considérablement augmentés chez les patients allergiques (Postma & Ledowitz, 1995). La production d'IgE par les lymphocytes B activés ou les plasmocytes est une étape essentielle dans la pathogénèse de l'allergie respiratoire.

L'activation des lymphocytes B nécessite deux signaux. Dans un premier temps, l'IL-4 stimule la synthèse de la chaîne lourde des IgE. Puis, l'interaction du CD40L exprimé par les lymphocytes T activés, avec le CD40 exprimé par les lymphocytes B, active un réarrangement spécifique permettant la production d'IgE spécifiques de l'allergène.

Depuis quelques années, l'existence d'une population de lymphocytes B régulateurs (B reg), produisant de l'IL-10, a été mentionnée. Des travaux récents ont révélé un rôle bénéfique des B reg dans l'asthme allergique induit par l'ovalbumine. Dans cette étude, le transfert de cellules B reg à des souris immunisées à l'ovalbumine réduit l'inflammation allergique pulmonaire par un mécanisme dépendant de l'IL-10 et des Treg (Amu *et al.*, 2010). Cependant, les mécanismes d'action des B reg et leur implication chez l'homme restent à éclaircir (Besnard, 2010).

g. Les lymphocytes T

Ce sont des cellules qui jouent probablement un rôle non négligeable dans la pathogénie des réactions allergiques tardives du type immédiat. En effet, on observe couramment un infiltrat riche en lymphocytes T durant la phase tardive, de type inflammatoire des réactions allergiques. Il existe une augmentation significative de la proportion des lymphocytes T activés dans le sang et la muqueuse bronchique des sujets atteints d'asthme sévère (Pham Van, 2010).

En effet, chez les sujets asthmatiques, on observe une infiltration pulmonaire de type CD4+ dotés d'un profil cytokinique de type Th2. Ces cellules jouent un rôle pivot dans la pathogénèse de l'asthme en orchestrant le recrutement et l'activation des cellules effectrices primaires (mastocyte et éosinophiles) à travers la sécrétion de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 (Besnard, 2010).

Egalement, les lymphocytes T régulateurs ont de nombreuses fonctions immunosuppressives dans l'allergie respiratoire. Les T reg se caractérisent par la forte

expression du marqueur de surface CD25 (chaîne β du récepteur à l'IL-2), et par la production d'IL-10 et de TGF β (Palomares *et al.*, 2010).

Dans un modèle murin de sensibilisation et de provocation allergénique par l'ovalbumine, le transfert par voie intratrachéale des cellules TCD4⁺ CD25⁺ avant la provocation allergique, réduit l'hyperréactivité bronchique, le recrutement d'éosinophiles et la production de cytokines Th2 dans le lavage bronchoalvéolaire et le tissu pulmonaire, par un mécanisme dépendant de l'IL-10 et du TGF β (Joetham *et al.*, 2007).

Plus récemment, une nouvelle catégorie de cellules T effectrices, distincte des Th1 et Th2 ; a été mise en évidence : les Th17 (Harrington *et al.*, 2005). *In vitro*, il est possible de différencier des cellules CD4⁺ naïves humaines ou murines en Th17 en les cultivant en présence d'IL-6, de TGF β et d'IL-1 β .

En fait, il a été démontré que l'axe IL-23/Th17 participait au recrutement des cellules Th2 et à l'inflammation éosinophilique au cours de l'asthme allergique. Le transfert de cellules Th17 spécifiques de l'antigène à des souris préalablement immunisées, augmente l'inflammation éosinophilique pulmonaire par un mécanisme dépendant des Th2 (Wakashin *et al.*, 2008 In Besnard, 2010).

h. Les cellules mono-macrophagiques, cellules présentatrices de l'antigène

Ce sont des cellules qui jouent un rôle important dans la physiopathologie des réactions allergiques. D'importantes quantités de macrophages sont présentes à la surface de l'épithélium bronchique et dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire des asthmatiques (Pham Van, 2010).

Les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) sont essentiellement les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans, ou les macrophages. Une fois activés, les macrophages libèrent des médiateurs, directement et indirectement, impliqués dans les réactions allergiques. La production de ces différents médiateurs est significativement plus importante chez les personnes allergiques (Besnard, 2010).

i. Les cellules structurales des poumons

Le développement du poumon humain débute au 26^{ème} jour de gestation et la maturation continue après la naissance et n'est achevée qu'à l'âge de 8 ans. En effet, le

développement pulmonaire chez la souris ou le rat suit les mêmes stades de développement que ceux de l'homme, mais dans une période beaucoup plus restreinte (Raoul, 2005).

En effet, dans les poumons, les cellules structurales comprennent les cellules épithéliales bronchiques, les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses.

- ***Les cellules épithéliales bronchiques***

Si les cellules épithéliales des voies aériennes sont connues pour jouer un rôle important dans l'immunité innée comme barrière physique, elles sont maintenant reconnues comme des cellules fondamentales dans le développement des réponses allergiques. En effet, elles sont en contact direct avec les allergènes aériens. Egalement, ces cellules structurales expriment des récepteurs de surface capables de reconnaître de nombreux antigènes (Chapel, 2004).

Dans des circonstances normales, l'épithélium forme une barrière très stricte presque imperméable et présente une grande capacité de réparation en cas de blessure. En effet, l'inhalation concomitante d'allergènes avec une forte quantité, favorise l'activation de ces récepteurs, entraînant ainsi une cascade d'évènement aboutissant à la production de molécules chimio-attractantes pour les neutrophiles, les monocytes ou les cellules dendritiques (Besnard, 2010). Egalement, la perméabilité de l'épithélium est augmentée, facilitant d'une part, l'accès des cellules dendritiques vers la lumière bronchique et la capture de l'allergène, et d'autre part, conduisant à un meilleur accès des allergènes inhalés, des polluants et d'autres irritants aux cellules basales et aux tissus des voies respiratoires sous-jacentes (Besnard, 2010).

En fait, les cellules épithéliales des voies aériennes, quand elles sont enflammées et donc activées, produisent l'IL-8 et RANTES et recrutent les éosinophiles qui viennent infiltrer la muqueuse (Chapel, 2004).

En cas d'un asthme allergique, l'épithélium bronchique devient plus fragile, avec une perte facile de cellules cylindriques en raison des perturbations à la fois des jonctions serrées et des desmosomes. Une fois les cellules épithéliales endommagées, le processus de réparation se déclenche. Toutefois, la réparation entraîne la production d'une variété de cytokines et de facteurs de croissance dont les effets cumulatifs constituent les changements

structuraux caractéristiques de l'asthme, surtout dans les formes plus chroniques et sévères (Pham Van, 2010).

- ***L'endothélium vasculaire***

Les cellules endothéliales contribuent au recrutement et à l'activation des basophiles, éosinophiles et des lymphocytes dans les voies aériennes par l'expression des molécules d'adhésion (ICAM et VCAM) et la sécrétion de molécules chimio-attractantes (Besnard, 2010).

- ***Les cellules musculaires lisses bronchiques***

En plus de leur rôle direct dans la pathogénèse de l'allergie respiratoire, plus précisément l'asthme, par la bronchoconstriction et l'obstruction des voies aériennes, ces cellules secrètent de nombreux médiateurs chimiques responsables de l'inflammation bronchique et du dysfonctionnement des voies aériennes comme la fibronectine et l'élastine (Besnard, 2010).

B. Médiateurs inflammatoires

De nombreux médiateurs sont impliqués dans la physiopathologie de l'inflammation allergique respiratoire. Ils sont sécrétés généralement par différentes populations cellulaires, et inversement chaque population cellulaire sécrète plusieurs médiateurs. Ces molécules ont des effets multiples et souvent redondants sur les voies aériennes et sur les cellules présentes localement pour induire des modifications pathologiques caractéristiques de l'inflammation respiratoire comme l'hypersécrétion de mucus, le recrutement des cellules immunitaires, les lésions tissulaires et l'hyperréactivité bronchique (Jamet *et al.*, 2006).

a. Les médiateurs préformés

➤ **Histamine** : elle peut se définir comme l'un des principaux médiateurs impliqués dans la physiopathologie de l'allergie. Chimiquement, cette molécule est formée par décarboxylation de l'histidine, acide aminé naturel ; dont cette réaction se fait sous l'action d'une enzyme spécifique, l'histidine décarboxylase. L'histamine est alors stockée dans sa quasi-totalité dans les mastocytes et les basophiles. Elle sera libérée dans l'organisme pendant la phase précoce d'une réaction allergique. Une fois libérée dans l'organisme, l'histamine

diffuse très rapidement dans les tissus environnants. Lors de sa diffusion, ce médiateur se fixe sur des récepteurs spécifiques et la dépolarisation membranaire, qui suit l'activation du complexe histamine-récepteur, permet la transmission de l'information. Ces récepteurs sont des glycoprotéines présentes dans les membranes cellulaires de différents organes (les bronches, la peau et les capillaires). L'histamine est un puissant vasodilatateur, qui, outre l'augmentation de la perméabilité capillaire, elle provoque une bronchoconstriction et active les cellules inflammatoires (Jamet *et al.*, 2006).

La réaction allergique qui vient de se déclencher ne dure pas, car l'histamine s'élimine progressivement, atténuant ainsi les effets d'une crise allergique. Environ 2 à 3 % de l'histamine sont excrétés inchangés dans les urines. Le reste est métabolisé selon deux voies principales: 50 à 70 % sont transformés en N-méthyl-histamine par une N-méthyl-transférase, les 30 à 40 % restant seront transformés en acide imidazole-acétique par une diamine-oxydase ou histaminase (Lifrani, 2006).

➤ **Les enzymes protéolytiques** : telles que la tryptase, la cathepsine G et la superoxyde-dismutase sont libérées par les mastocytes et les basophiles et ont un rôle dans la réponse inflammatoire.

D'autres médiateurs sont présents dans les granules des basophiles, tels que l'ECFA (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis) et le NCFA (neutrophil chemotactic factor of anaphylaxis), et dans les granules des éosinophiles comme le MBP (major basic protein), l'ECP (eosinophil cationic protein), l'EPO (eosinophil peroxidase) et l'EDN (eosinophil derived neurotoxin) (Prin, 1996).

b. Les médiateurs néoformés

Les plus importants sont les médiateurs lipidiques : les leucotriènes (LT), les thromboxanes (TX) et les prostaglandines (PG). Ils sont issus du métabolisme de l'acide arachidonique. Le PAF (plaquette activating factor), provenant du métabolisme des lysophospholipides, est produit par un grand nombre de cellules (macrophages, neutrophiles, éosinophiles et plaquettes) (Molina, 1997). Ces médiateurs jouent un rôle dans la bronchoconstriction, la vasoconstriction, le recrutement des plaquettes et l'agrégation plaquettaire.

c. Les chimiokines

Ce sont des cytokines chimiotactiques. Les chimiokines sont impliquées dans les réactions allergiques et inflammatoires, en particulier dans le recrutement leucocytaire, notamment des basophiles, éosinophiles, monocytes, au niveau du site inflammatoire.

Le recrutement de cellules inflammatoires dans les voies respiratoires par des chimiokines est un processus essentiel au développement de l'allergie respiratoire. Les chimiokines sont sécrétées par les cellules structurales ou les cellules inflammatoires après stimulation par un allergène, un pathogène ou d'autres molécules pro-inflammatoires (cytokines ou chimiokines). De nombreuses chimiokines sont sur-exprimées chez les patients asthmatiques (Borishet *al.*, 1996) où elles contribuent à la réaction inflammatoire locale en recrutant et activant les leucocytes, et en induisant la sécrétion de médiateurs inflammatoires par les basophiles, les mastocytes, les neutrophiles et les éosinophiles (Ponathet *al.*, 1996).

CCL17 et CCL5 sont les chimiokines les plus importantes dans l'inflammation pulmonaire allergique. CCL17 se lie exclusivement au récepteur CCR3 présent sur les éosinophiles, alors que CCL5 peut interagir avec plusieurs récepteurs tels CCR1, CCR3 et CCR5. Ces chimiokines participent au recrutement des éosinophiles au niveau pulmonaire (Ponathet *al.*, 1996).

De nombreuses études utilisant des animaux déficients pour ces récepteurs ont prouvé l'importance de ces molécules dans différents modèles d'asthme allergique.

En effet, des anticorps dirigés contre CCL17 et CCL22 (ligands de CCR4) ont été efficaces pour diminuer l'inflammation dans des modèles animaux d'asthme (Medina-Tato et al., 2006). En fait, les souris déficientes en CCR8 (exprimé sur les cellules Th2) ont une forte réduction de l'infiltration des éosinophiles et une diminution de l'hyperréactivité bronchique induite par les allergènes (Pham Van, 2010).

d. Les cytokines

La communication entre les différents types cellulaires est assurée par des facteurs solubles : les cytokines qui sont des polypeptides et des glycoprotéines (Besnard, 2010).

Les fonctions des cytokines dérivées des lymphocytes Th2 dans l'asthme allergique, telles l'IL-4, l'IL-5, l'IL-13, l'IL-9, l'IL-25 et l'IL-33 ont été décrites dans la littérature.

En effet, la famille des cytokines IL-17 comprend cinq membres : l'IL-17A (IL-17), l'IL-17B, l'IL-17C, l'IL-17D, l'IL-17E et l'IL-17F. Les lymphocytes Th17 sont la principale source d'IL-17A et F, bien que les lymphocytes CD8+, les neutrophiles et les éosinophiles sont aussi capables d'en produire. L'IL-17A reste la forme la plus étudiée de ces cytokines. Sa liaison à son récepteur, IL-17RA exprimé par les cellules endothéliales et épithéliales, induit l'expression de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1 β , IL-6, GM-CSF) et de chimiokines (CXCL1, CXCL8, CXCL10) (Korn *et al.*, 2009).

D'autre part, des travaux ont mis en lumière les fonctions immunosuppressives de l'IL-10 et son rôle dans le contrôle du processus inflammatoire. Cette cytokine est produite par les lymphocytes Th1, Th2, Treg, les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques (Besnard, 2010).

En effet, dans le poumon sain, l'IL-10 est constitutivement exprimé par les macrophages alvéolaires permettant ainsi de maintenir la tolérance vis-à-vis des antigènes aériens non pathogènes. Chez les individus asthmatiques, la quantité d'IL-10 est inversement proportionnelle à la sévérité de la maladie (Besnard, 2010).

1.1.4. Facteurs de risque

Les allergies respiratoires sont typiquement des manifestations multifactorielles qui résultent à la fois de facteurs génétiques prédisposants et de facteurs environnementaux. D'autres facteurs favorisants, tels que la pollution atmosphérique (polluants gazeux et particulaires) et le style de vie (médicaments, obésité, tabagisme...) entreraient aussi en jeu dans le développement des manifestations allergiques. Egalement, des facteurs déclenchants (effort physique, climat, stress, irritants...) seraient directement impliqués dans les phases initiales des allergies, en particulier les crises d'asthme.

1.1.4.1. La prédisposition génétique

Le facteur de risque le plus important prédisposant au développement des allergies respiratoires, y compris l'asthme, est l'existence d'autres cas familiaux. Avoir au moins un parent asthmatique multiplie par deux le risque d'être soi-même asthmatique. Des études portant sur des jumeaux ont démontré que les taux de concordance de l'asthme et la rhinite allergique sont substantiellement plus élevés chez les vrais jumeaux que chez les faux jumeaux, suggérant ainsi une forte contribution génétique (Abou Chakra, 2009).

1.1.4.2. Facteurs environnementaux : Les allergènes

Les allergènes sont des composants naturels de l'environnement. L'identification des sources d'allergènes responsables de la symptomatologie est un préalable indispensable pour initier des conseils et des traitements spécifiques. Les allergènes, qui sont pour la plupart des protéines, sont des antigènes qui réagissent avec des IgE spécifiques.

En effet, on distingue les allergènes ingérés (aliments) qui engendrent des réactions générales (choc anaphylactique) ou cutanées (urticaire). D'autre part, on trouve les substances injectées (venins d'hyménoptères, médicament) à l'origine de choc anaphylactique. Enfin, les allergènes inhalés, ou « pneumallergènes », qui sensibilisent par voie respiratoire et sont responsables de l'asthme et des rhinites allergiques. Parmi de très nombreux allergènes, ceux les plus fréquemment impliqués dans la rhinite et l'asthme allergique (pneumallergènes) sont issus de : pollen, moisissures, acariens et animaux domestiques (Mondoulet, 2005).

En revanche, parmi les pneumallergènes, on peut trouver des allergènes rares de l'environnement dont l'apparition de telles allergies dépend, à la fois, de la capacité génétique d'un individu à se sensibiliser à ces allergènes et des concentrations aériennes de ces mêmes allergènes, et d'autre part ; à des caractéristiques de temps et de lieux bien précis. En effet, cette division arbitraire entre allergènes fréquents et rares ne signifie pas nécessairement que les allergènes rares aient une importance clinique négligeable. Chez un individu donné, ils peuvent provoquer une symptomatologie sévère et leur éviction complète peut entraîner une réduction drastique, voire une disparition de la symptomatologie (Bessot, 2008).

En fait, cette présente recherche vise à étudier l'un de ces pneumallergènes rares de l'environnement ; l'allergène larvaire de Chironomidae (Insecta : Diptera) ; dont la source d'exposition aux allergènes est principalement environnementale, on excluant l'allergie professionnelle aux larves de l'insecte ; dont certaine population, qui est en contact avec ces larves dans son milieu de travail, a présentée des réactions d'hypersensibilité immédiates telles que la rhinite et l'asthme (Mairesse & Ledent, 2002). Dans l'ensemble, on a basé sur les allergies respiratoires provoquées par ces insectes ; plus précisément à la maladie asthmatiques parce qu'elle est la plus dominante comme aspect clinique de ce type d'allergie.

1.2. Allergie aux Chironomidae

Les matériaux inhalables des plantes et des animaux sont connus comme substances très irritantes pour l'être humain et peuvent provoquer une rhinite, conjonctivite ou l'asthme allergique chez les personnes sensibles.

En effet, les arthropodes constituent 75% des espèces animales connues et ils peuvent constituer la source de la plus grande quantité de matière organique aéroportée dans l'air. Il a été estimé qu'il y a six millions d'espèces dans l'embranchement des arthropodes. Parmi les espèces identifiées, 90% appartenaient à la classe des insectes (Kagen, 1990). Les aéroallergènes provenant de cette classe ont été décrits comme des allergènes de l'environnement extérieur, pouvant être à l'origine d'asthmes épidémiques (Bessot & Pauli, 2008). Parmi ces insectes, la famille des Chironomidae représente souvent le groupe de macroinvertébrés le plus abondant, en nombre d'espèces et d'individus, rencontré dans tous les milieux aquatiques d'eaux douces. 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 (Raymond & Breuil, 1991).

1.2.1. Les Chironomidae : Généralité

Les Chironomidae sont des insectes non piqueurs qui appartiennent à l'ordre des Diptères dans le sous-ordre des Nématocères. Ces insectes peuplent les zones humides avec environ 10000 espèces existant dans le monde entier (Ferrington, 2008). Ils sont appelés communément « *les moucherons non piqueurs* » ou « *Non Biting Midges* » des anglophones au stade adulte et « *bloodworms* » ou « *ver de vase* » au stade larvaire (Zerguine, 2010).

A. Morphologie des Chironomidae

L'aspect général des Chironomidae est celui d'un moustique avec des antennes longues. Leur appareil buccal est très régressé et l'atrophie des mandibules au stade adulte ne leur permet pas de piquer. Leur cycle de développement comporte trois états morphologiquement très différents qui, tout en ayant un aspect général identique d'une sous-famille à l'autre, présentent des variations anatomiques qui constituent des bases essentielles de la systématique (Figure 5).

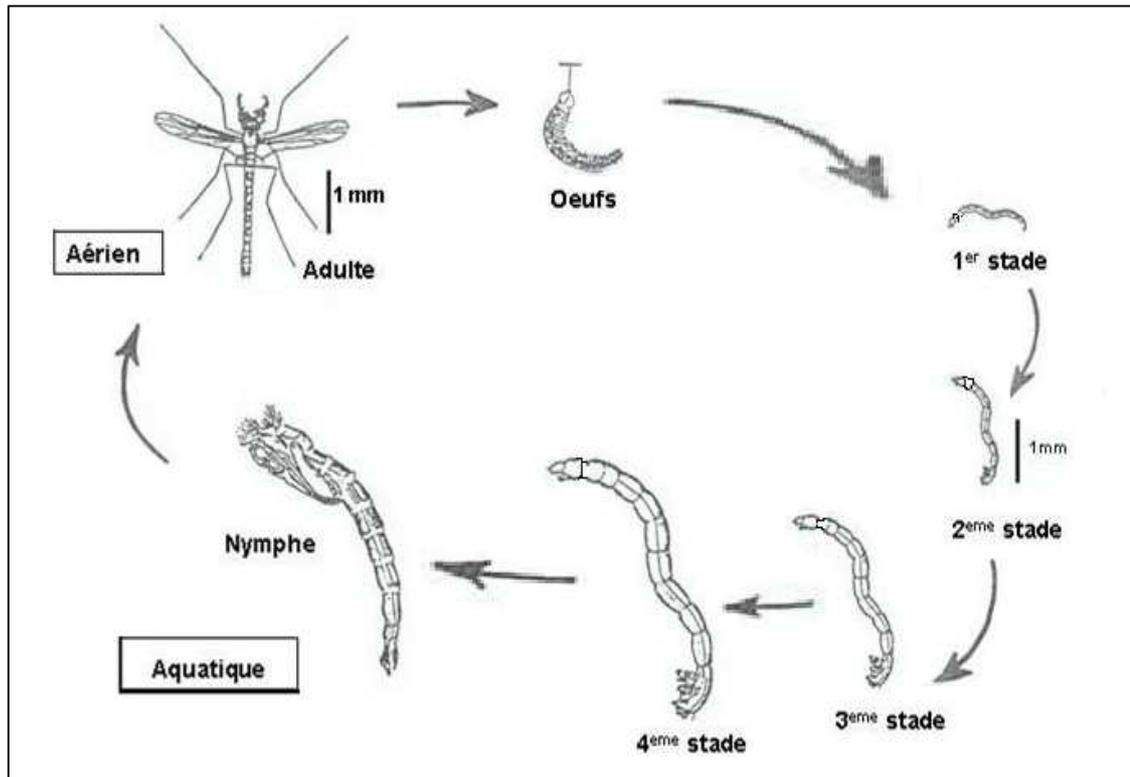


Figure 5 : Cycle de vie des Chironomidae (Insecta : Diptera) (Zerguine, 2010).

a. Les œufs :

L'œuf des Chironomidae, comme tous les insectes, est de type centrolécithe, riche en vitellus qui constitue une masse centrale de réserves nutritives. Le cytoplasme contenant plusieurs noyaux est périphérique (Beaumont & Cassier, 1983). Les masses d'œufs des Chironomidae contiennent approximativement 20 à 30 œufs. Ce nombre peut s'étendre jusqu'à plus de 3000 chez les espèces de grande taille (Davies, 1976). Le temps nécessaire à l'éclosion des œufs est influencé par les facteurs environnementaux surtout la température (Kokkinn, 1990).

b. Les larves :

La larve des Chironomidae est aquatique, elle est constituée de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. La tête est bien individualisée et présente un appareil buccal de structure complexe, morphologiquement variable, d'une part, selon les sous-familles considérées mais aussi selon les espèces, ce qui rend sa dissection nécessaire pour la détermination larvaire (Armitage *et al.*, 1995). En effet, la capsule céphalique est bien individualisée, développée, exposée, complète et non rétractile ; et le corps est segmenté, étroit et allongé (Cranston, 1995a) (Figure 6).

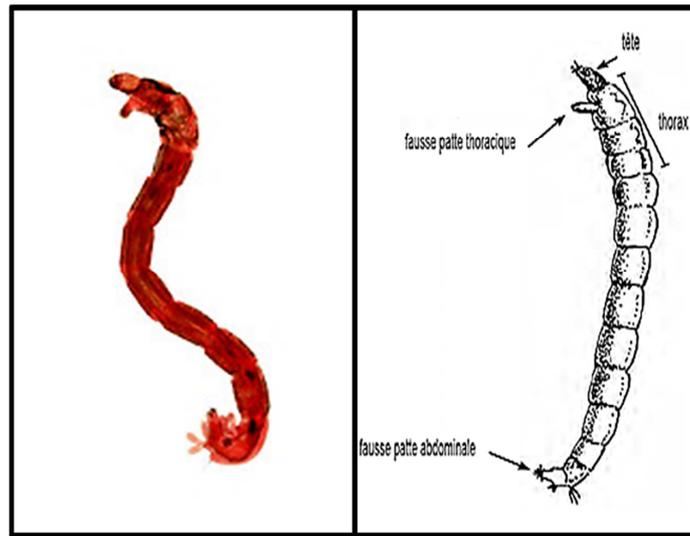


Figure 6: Forme générale d'une larve de Chironomidae (1)

Le thorax n'est généralement pas différencié, les segments étant seulement un peu plus courts que ceux de l'abdomen qui les suivent. Le premier segment porte une paire de pseudopodes, généralement courts et trapus (sauf chez les Tanypodinae où ils sont plus allongés), garnis à leur base de crochets spiculiformes.

Chez toutes les espèces, le dernier segment porte dorsalement des grandes soies en nombre variable, rassemblées sur deux pédoncules plus ou moins développés (les procerques). Les branchies anales sont toujours présentes mais leur nombre et leur forme sont variables. Les pseudopodes postérieurs, également portés par le dernier segment, sont armés de crochets chitineux (Dejoux, 1970).

Les larves des Chironomidae diffèrent des autres larves Nématocères par la combinaison des caractères suivants :

- L'absence des stigmates (larves apneustiques).
- La présence de deux paires de pseudopodes sur le premier segment thoracique et le dernier segment abdominal.
- Le segment abdominal terminal porte une paire de procerques qui supportent chacun une touffe de soies plus ou moins longs.

Les larves des Chironomidae ont une longueur de presque 3 jusqu'à 25-30 mm. Leur coloration est variable allant du jaune blanchâtre au rouge en passant par le vert ou le bleu.

Elles peuvent être également brunâtres, violets ou oranges. Des fois, on note des ornements sur les segments du corps (Zerguine, 2010).

Pour l'identification des larves de Chironomidae, il est nécessaire de connaître les détails morphologiques posés surtout sur la tête (Figure 7) et la région périanale.

c. Les nymphes :

Le stade nymphal est très court, puisqu'il ne dure que quelques jours (Hamr, 1997). Les pupes des Chironomidae ont la forme de virgule avec un céphalothorax renflé et un abdomen aplati dorso-ventralement (Figure 8). Leur longueur varie d'un peu moins de 3 à 18 mm. La coloration suit, le plus souvent, celle de la larve. Les nymphes présentent deux parties bien individualisées : le céphalothorax et l'abdomen ; dont le premier regroupe comme son nom l'indique la tête et le thorax accolés l'un à l'autre, où le cou n'étant à ce stade pas encore individualisé. Le thorax porte les organes respiratoires de la nymphe ou cornes thoraciques. Ces organes servent dans un premier temps à la respiration aquatique puis ensuite à la respiration aérienne dans les derniers moments de la vie nymphale quand la nymphe se tient au niveau de l'interface air-eau. En effet, l'abdomen est formé de 9 segments articulés dont seul le dernier est différencié et constitue les palettes natatoires de la nymphe. Outre un certain nombre de soies, l'exuvie nymphale présente au niveau de l'abdomen des ornements variables, formés par la présence de petites dents chitineuses. La forme, la disposition, le nombre de ces dents peuvent être des critères spécifiques de détermination (Figure 9) (Langton, 1991).

Les caractères des nymphes (ou pupes) des Chironomidae 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 & Wisser, 2003).

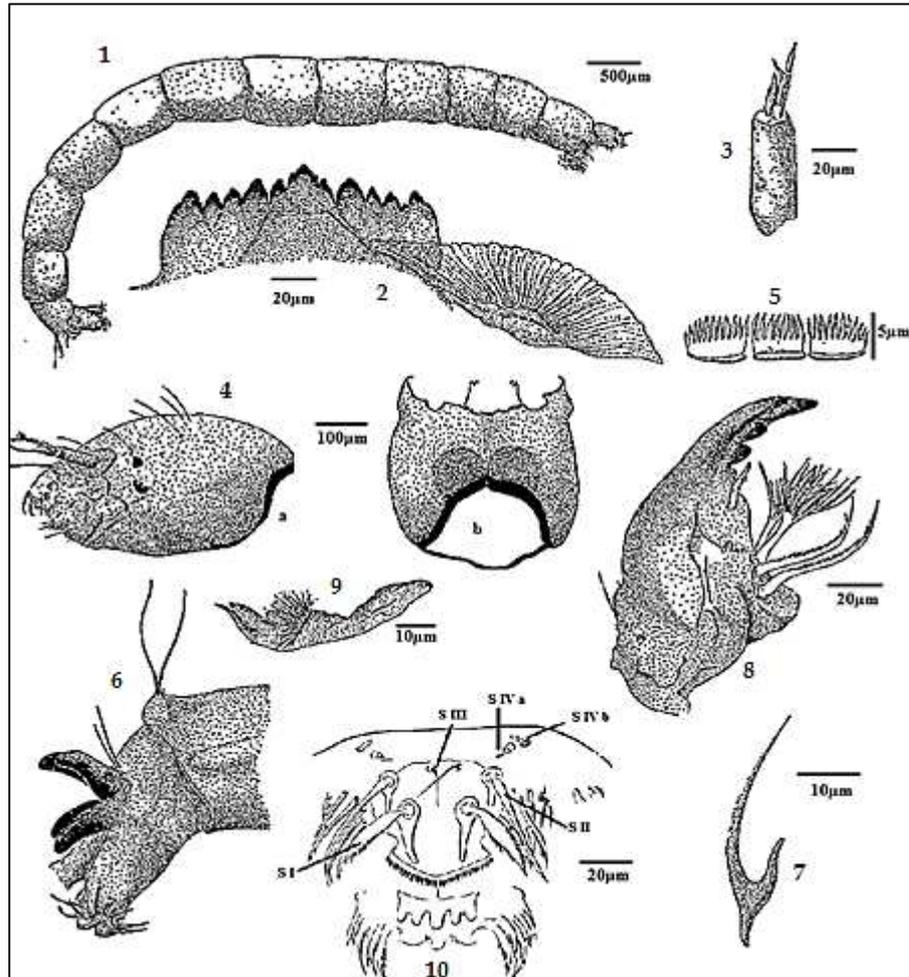


Figure 7 : Anatomie de la larve (Dejoux, 1970). *1* : vue latérale d'ensemble de la larve de *Cryptochironomus deribae*. *2* : mentum (plaque labiale) et ventermentum (plaques parabiales) (même espèce). *3* : antenne (même espèce). *4* : tête de *Polypedilm fuscipenne* ; *a* : vue latérale, *b* : vue ventrale. *5* : pecten epipharyngis (même espèce). *6* : derniers segments abdominaux et branchies anales (même espèce). *7* : crochets des pseudopodes postérieurs. *8* : mandibule de *Cryptochironomus deribae*. *9* : prémandibule de la même larve. *10* : soies du labium.

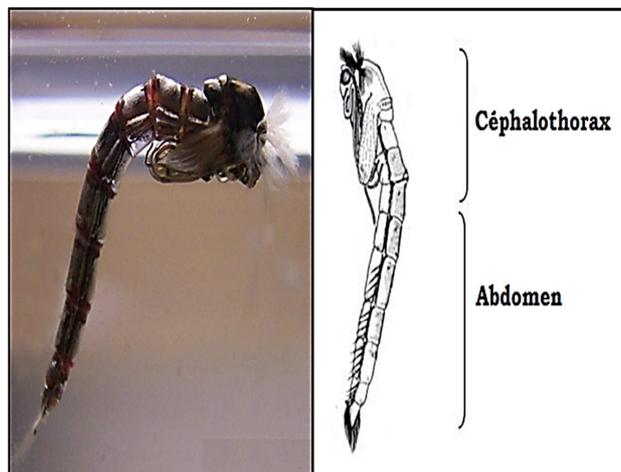


Figure 8: Forme générale de la nymphe de Chironomidae (2)

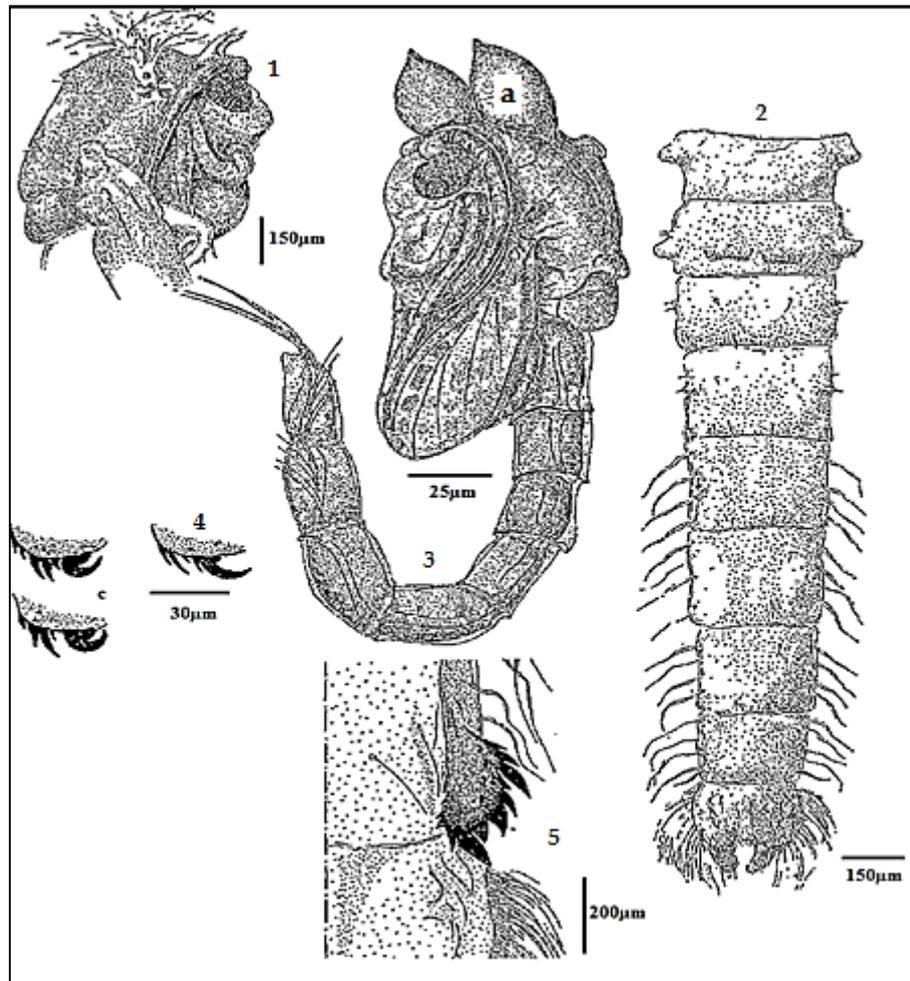


Figure 9 : Anatomie de la nymphe (Dejoux, 1970). **1 :** vue latérale d'une nymphe de Chironominae *Polypedilum fuscipenne* (céphalothorax) ; **a :** cornes thoraciques. **2 :** vue dorsale de l'abdomen de la même nymphe. **3 :** vue latérale de la nymphe de *Tanypus fuscus* (Tanypodinae) ; **a :** cornes thoraciques. **4 :** variations morphologiques de l'armature chitineuse latérale du 8ème segment abdominal (*Rheotanytarsus ceralophylli*). **5 :** même armature chitineuse chez *Polypedilum fuscipenne*.

d. L'adulte (l'imago) :

Le corps de l'adulte Chironomidae est constitué de trois parties : La tête, le thorax et l'abdomen (Figure 10). La tête est sub-globuleuse et porte des antennes longues et plumeuses chez le mâle et moniliformes chez la femelle. Le nombre des segments et leur forme varient en fonction des espèces, ce caractère est utilisé pour la détermination (Armitage *et al.*, 1995). Le thorax est bien développé, il comporte trois parties d'inégale importance. Le pronotum, immédiatement en arrière du cou, dont la forme représente un caractère systématique important pour la différenciation. Le mésonotum présente dorsalement, outre des rangées de soies caractéristiques, des bandes longitudinales plus ou moins renflées et dont la pigmentation qui tranche généralement sur la coloration de fond du thorax est un caractère

systematique souvent utilisé. Le métanotum est très réduit, de même que les pleures et le sternum ; sa structure et sa coloration sont rarement utilisées dans la classification des espèces (Dejoux, 1970). En effet, l'abdomen est composé de 10 segments dont le dernier a une structure très caractéristique chez le mâle : les genitalia. La partie dorsale présente une coloration ou bien des ornements souvent utiles au systématien (Figure 11).

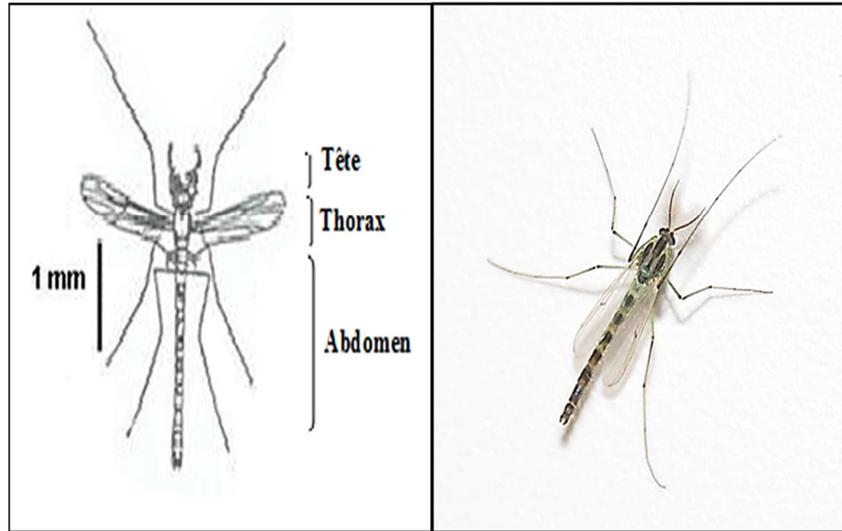


Figure 10 : forme générale de l'adulte femelle de Chironomidae (3).

En effet, tous les stades ; de l'œuf à l'adulte ; peuvent coexister durant l'été et l'automne, les adultes n'étant présents que de mai à septembre. En effet, on observe chez les chironomes, 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 ; donc 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 durant ces phases d'émergences (Milard, 2001).

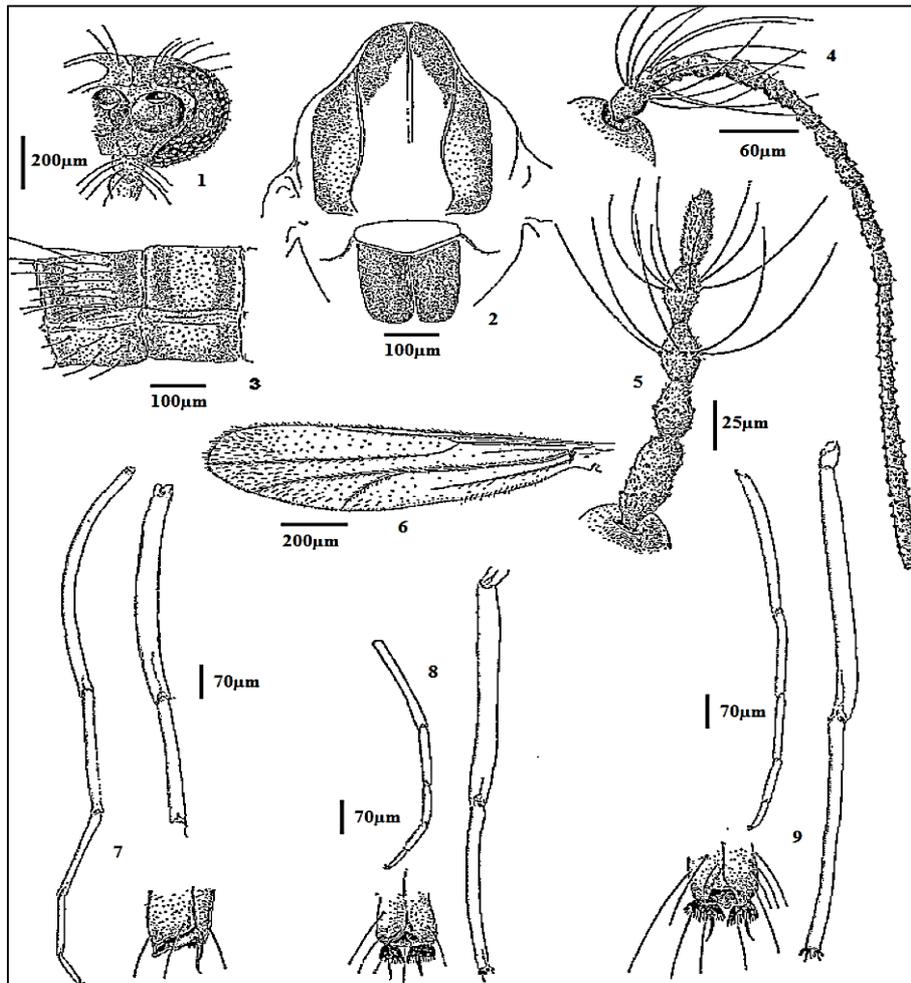


Figure 11 : Anatomie de l'adulte. *Rheotanytarsus ceratophylli* (Dejoux, 1970). 1 : tête vue de face. 2 : vue dorsale du thorax et pigmentation des bandes mésonotales. 3 : vue latérale des segments abdominaux. 4 : antenne du mâle. 5 : antenne de la femelle. 6 : nervation alaire. 7 : patte antérieure et écaille tibiale (avec éperon). 8 et 9 : patte médiane et patte postérieure avec les peignes tibiaux.

B. Les caractères d'identification des Chironomidae

Généralement, les gros caractères de la morphologie externe sont examinés, par exemple chez l'adulte l'innervation des ailes, la présence de soies et la couleur sont des caractères importants. Avec l'évolution des techniques microscopiques plus de caractères subtiles, comme la structure des génitalia des adultes et les arrangements des soies, sont tenus en compte pour la discrimination des espèces (Pinder, 1978).

Concernant les stades immatures, il a été trouvé que les exuvies nymphales offrent des caractères discriminatoires très importants au niveau spécifique. Les larves ont également une signification similaire mais avec plus de difficultés. Les larves sont peu utilisées pour la discrimination des espèces dont les caractères sont proches (Nolte, 1993).

1.2.2. Allergie respiratoire aux Chironomidae

1.2.2.1. Historique de l'allergie aux Chironomidae

Les Chironomidae sont des insectes qui peuplent les zones humides avec environ 10 000 espèces existant dans le monde entier (Ferrington, 2008). Pendant le stade larvaire de leur cycle biologique, ces insectes sont pourvus d'hémoglobine responsable des manifestations d'hypersensibilité immédiate (Raymond & Breuil, 1991).

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.

Les premiers rapports de Lewis (1956) en Afrique, ont souligné la capacité de Chironomidae à provoquer des symptômes allergiques chez les populations extrêmement exposées. Un questionnaire qui a été fait par Lewis en 1956, afin de comparer les taux de prévalence de la rhinite allergique et de l'asthme chez les personnes exposées aux *Cladotanytarsus lewisi* ; avec ceux chez les villageois soudanais non exposés, a montré un taux quatre fois plus élevé chez la population exposée.

Cela a été confirmé par des études réalisées par Kay et ces collaborateurs (1978), Gad el Rab et ces collaborateurs (1980), et Cranston et ces collaborateurs (1981) au Soudan, où la prévalence de la rhinite et de l'asthme a été trouvée plus élevée chez les villageois les plus exposés aux moucheron non piqueurs.

Aux États-Unis, une espèce appelée *Chironomus plumosus*, était responsable d'allergie respiratoire chez 45% des patients atopiques fortement exposés (Kagen *et al.*, 1984) in (Kagen, 1990).

Une autre étude a confirmé que le corps de l'insecte, que ce soit larve ou bien adulte, contient l'allergène majeur de l'insecte (Kagen, 1986). Ceci est confirmé plus tard par l'étude de Prelicz et ces collaborateurs (1986).

Au Japon, l'étude d'Ito et ces collaborateurs en 1986 a affirmé que 38% des 303 asthmatiques de Tokyo, possèdent un test cutané positif aux allergènes de ces moucheron.

D'autre part, 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 (Mairesse &

Ledent, 2002). 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-oedème a été mis en évidence (Cabrerizo Ballestero *et al.*, 2006). 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 (CabrerizoBallestero *et al.*, 2006).

En résumé, l'allergie aux Chironomidae peuvent être de différentes origines ; en fonction de la source d'exposition.

- ✓ Allergie environnementale : dans les agglomérations près des lacs tels que au Soudan, Venise et certaines régions du Japon (Suzuki *et al.*, 1995).
- ✓ Allergie professionnelle: chez les gestionnaires de la nourriture de poissons dans le lieu du travail (usines de nourriture pour les poissons, les pêcheurs, les animaleries ...) comme dans certains pays européens (Liebers *et al.*, 1993 ; Tautz *et al.*, 1994).
- ✓ Allergie liée aux loisirs: dans les pays où les larves de ces moucheron sont commercialisés (*Ch. Thummi thummi*) comme nourriture de poissons (Galindo *et al.*, 1998 ; Liebers *et al.*, 1994), dont cette dernière est préparée avec des poissons, mollusques, crustacés, algues, la viande, produits céréaliers et les larves des Chironomidae (Aldunate *et al.*, 1999).

1.2.2.2. Allergène chironomidien : Description et nomenclature

Les larves de certaines espèces de Chironomidae possèdent de l'hémoglobine dans leur hémolymphe qui leur confère une coloration rougeâtre. La présence de l'hémoglobine joue un rôle primordial dans leur respiration. L'hémoglobine trouvée dans l'hémolymphe des Chironomidae a une grande affinité pour l'oxygène et sert à stocker l'oxygène absorbé à travers la cuticule jusqu'à ce qu'il soit utilisé (Weber *et al.*, 2001). L'hémoglobine est également impliquée dans le transport de l'oxygène aux différents tissus. En fait, la quantité de l'hémoglobine dans l'hémolymphe et son efficacité varient toutefois selon les espèces, la saison et le poids corporel de l'animal.

En effet, la concentration maximale de l'hémoglobine se trouve au stade larvaire et diminue progressivement pour atteindre le minimum au stade adulte (Cabrerizo Ballestero *et al.*, 2006).

En effet, l'inhalation de fragments allergéniques aéroportés des larves, 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.

L'allergène principal de ces insectes, persiste à la fois chez les moucheron non piqueurs morts ou vivants. Pour cela, les personnes sensibilisées doivent éviter ces moucheron même après leur mort (Cranston *et al.*, 1981). Cela est particulièrement important pour les personnes résidantes à proximité des cours d'eau et des zones humides permanentes, où se trouve ces insectes (Jeong *et al.*, 2004).

Egalement, cette allergie peut survenir après l'exposition à la poussière des larves (Arlian, 2002) ; parce que commercialement, ces larves dénommées les larves rouges ou vers du sang, sont généralement conservées sous forme congelées ou lyophilisées (Nguyen *et al.*, 2007).

Les déterminants antigéniques responsables de cette sensibilisation ont été identifiés comme les hémoglobines (Galindo *et al.*, 1998), qui montrent un grand polymorphisme en fonction de l'environnement et le stade de développement de l'insecte (Matsuoka *et al.*, 1990). Ces allergènes représentent l'un des pneumallergènes les plus courants (Suzuki, 1995).

En fait, chez l'espèce *C. thummi thummi*, 11 formes d'hémoglobines sont produites, avec une structure primaire différente de 16 à 48% des résidus d'acides aminés (Baur *et al.*, 1982). Bien que Chi t 1 soit l'allergène le plus important de *C. thummi*, ses niveaux varient probablement en fonction de son stade de développement. L'évaluation de l'allergène équivalent chez une autre espèce appelée *C. yoshimatsui* et *Tokunaga yusurika akamusi* révèle que des extraits de larves et des nymphes de *C. yoshimatsui* n'ont pas inhibé les anticorps de type IgE spécifiques à l'adulte de la même espèce (Matsuoka *et al.*, 1990).

Dans une autre étude, des échantillons de sérums de 229 japonais, 17 taiwanais, et 92 patients suédois ont été testés pour doser les anticorps anti-Chi-t 1 et les anticorps spécifiques aux extraits bruts des moucheron japonais *Tokunaga yusurika akamusi* et *Cricotopus sylvestris*. En effet, 27 (29,3%) des Suédois et 113 (45,9%) des sujets japonais ont montré une réactivité à IgE au moins avec l'un des allergènes de Chironomidae testés, principalement au *C. sylvestris*. D'autre part, parmi les échantillons de sérum japonais, seulement 4,1% contenaient des IgE spécifiques contre Chi t 1. Aucun sujet taiwanais n'était positif pour Chi t

1. Parmi les patients suédois, 10,9% avaient des anticorps anti Chi t 1, comparativement à 5,4% pour *T. akamusi*. Presque tous les échantillons de sérum japonais testés ont montré une réactivité croisée entre Chi t 1 et *C. sylvestris* (Van Kampen *et al.*, 1994).

Il est important de noter que les allergènes chironomidiens trouvés dans l'air, varient de 6,8 jusqu'à 0,3 ng / m³ ; avec un diamètre inférieur à 10 µm (Kino *et al.*, 1987). Pour cela, l'inhalation de ces allergènes conduit au dépôt de ces particules aéroportées sur l'épithélium du tractus respiratoire de l'individu, en atteignant les voies aériennes inférieures intrapulmonaires (bronches et bronchioles) (Figure 12). Ensuite, les cellules dendritiques pulmonaires existantes sous l'épithélium bronchique capturent ces allergènes inhalés et migrent vers les ganglions lymphatiques pour induire une inflammation pulmonaire allergique.

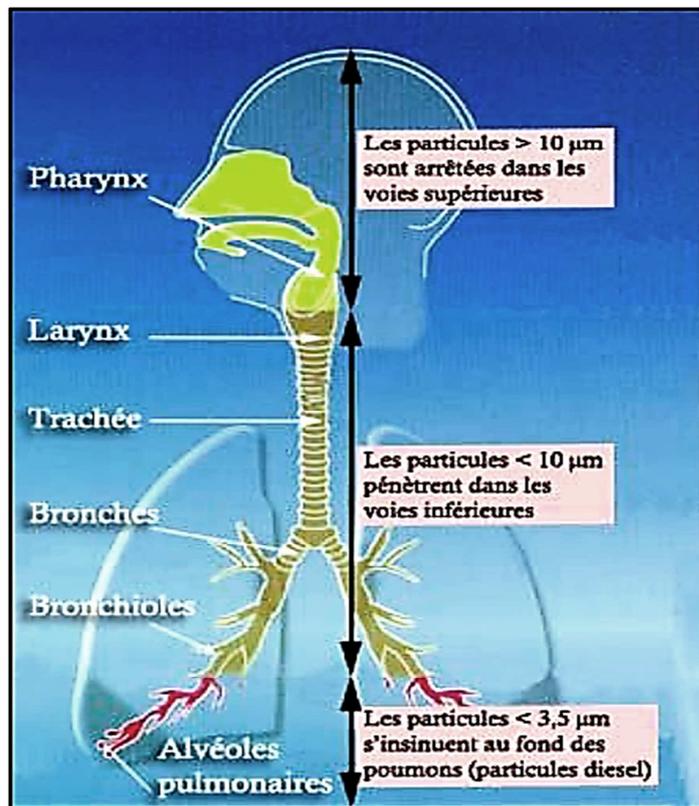


Figure 12 : L'appareil respiratoire et les voies aériennes (4)

À Toyama et au Japon, les fluctuations saisonnières de l'allergène de Chironomidae dans l'air ont montré des pics importants en été (juin à août), avec une tendance à diminuer en hiver. D'autre part, une corrélation significative a été établie entre cet allergène aéroporté et

le poids sec de ces moucheron dans une période précédant l'échantillonnage de l'air (Matsuno *et al.*, 1991).

1.2.2.3. Réactivités croisées

Une réactivité croisée entre les espèces de Chironomidae a été largement mise en évidence (Baur *et al.*, 1982 ; Baur *et al.*, 1991 ; Brasch *et al.*, 1992 ; Van Kampen *et al.*, 1994).

En outre, la réactivité croisée avec d'autres allergènes, tels que les moustiques, (Galindo *et al.*, 1998 ; Cabrerizo Ballesteros *et al.*, 2006), les papillons (Komase *et al.*, 1997), les acariens de poussière de maison (Nagano *et al.*, 1992), les crevettes, les Anisakis et les cafards, (Pascual *et al.*, 1997) a été rapporté.

Au Japon, une fréquence élevée de sensibilisations IgE-dépendantes vis-à-vis de nombreux insectes (mouches, papillons, Chironomidae, phrygane) a été mise en évidence chez des sujets ayant de l'asthme. Les prélèvements atmosphériques effectués à domicile de ces patients, ont montré la présence des allergènes de ces insectes sous forme de particules d'un diamètre inférieur à 10 µm (Kino *et al.*, 1987).

1.2.2.4. Syndromes cliniques de l'allergie aux Chironomidae

La réponse immunitaire de l'homme aux arthropodes dépend principalement de la manière dont l'antigène est délivré au système immunitaire.

En fait, il a été signalé que l'hypersensibilité aux larves chironomidiennes provoque l'urticaire, la rhino-conjonctivite, l'asthme, l'œdème de Quincke et même l'anaphylaxie (Cabrera-Freitag *et al.*, 2011).

En Europe, particulièrement en Espagne, l'allergie aux Chironomidae est rare. En effet, elle a été décrite dans un lieu de travail chez les patients qui manipulent ces larves rouges (*Chironomus thummi thummi*) comme nourriture de poissons, où un cas d'urticaire/angio-œdème a été mis en évidence (Cabrerizo Ballesteros *et al.*, 2006). Donc, ce type d'allergie est beaucoup plus professionnel qu'environnemental.

En effet, les principales manifestations de l'allergie aux Chironomidae sont l'asthme et la rhinite allergiques représentant un problème au Soudan depuis 1927 (Freeman, 1950 ;

Cranston *et al.*, 1981). Dans les pays tels que le Soudan, les Etats-Unis, l'Egypte et le Japon, ces moucherons sont à l'origine de graves allergies environnementales, en particulier dans les colonies à proximité des lacs, comme au Soudan, à Venise et dans certaines régions du Japon (Cabrerizo Ballesteros *et al.*, 2006). En revanche, l'allergie aux Chironomidae a une recrudescence saisonnière lorsqu'elle est purement associée à l'émergence de l'insecte.

En fait, la prévalence de la sensibilisation aux allergènes des Chironomidae est sous la dépendance des caractéristiques géographiques et climatiques de l'implantation de l'habitat et les modes de vie des habitants (Cabrerizo Ballesteros *et al.*, 2006). Donc, il est bon de se rappeler que cet aspect allergique répond à des caractéristiques de temps et de lieux bien précis, dont des pics importants de cet allergène ont été remarqués dans des zones humides riches en espèces allergisantes, et d'autre part, en saison d'émergence (juin à août), avec une tendance à diminuer en hiver.

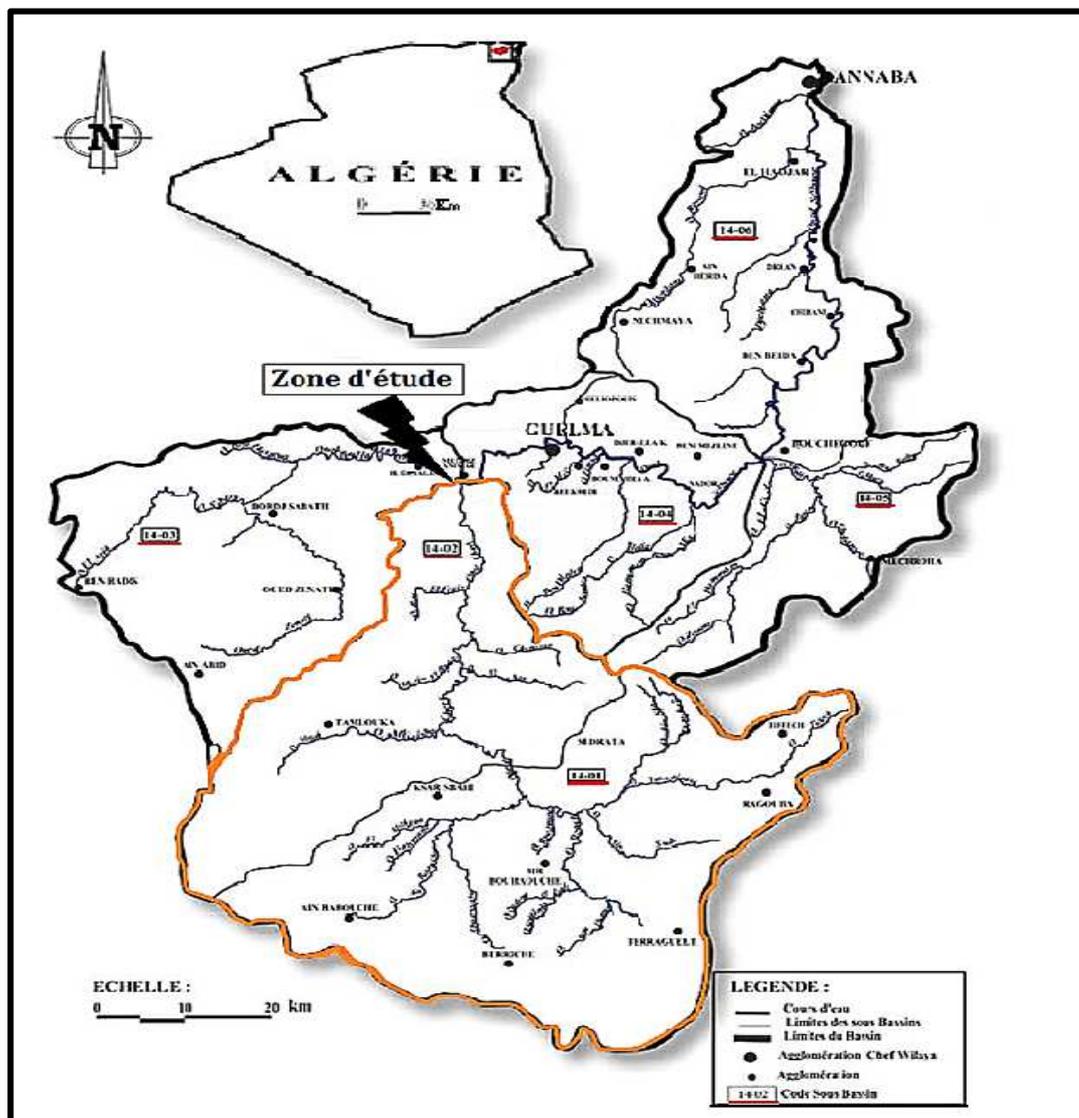
CHAPITRE 2 :

DESCRIPTION DE LA ZONE D'ETUDE

2.1. Présentation de la zone d'étude

2.1.1. Situation géographique

Notre zone d'étude représente le bassin d'oued Charef ; faisant partie du bassin versant de la Seybouse. Le bassin d'Oued Charef est situé dans la partie Nord-Est du territoire algérien, selon l'agence des bassins hydrographiques (ABH) (Carte 1). Il constitue la région limitrophe de trois wilayas : Guelma, Souk Ahras et Oum El Bouaghi avec une superficie de 2900 Km² et une longueur de 88,61 Km (ABH, 1999). Oued Charef se réunit avec oued Bouhamdan (37.49Km) à Medjez Amar (36 ° 26'35 .82 "N, 7 ° 18'39 .36" E) pour donner naissance à l'oued Seybouse (134.74Km), celui-ci se termine dans la mer méditerranée au Nord algérien, après un parcours de 160Km (Mouchara, 2009).



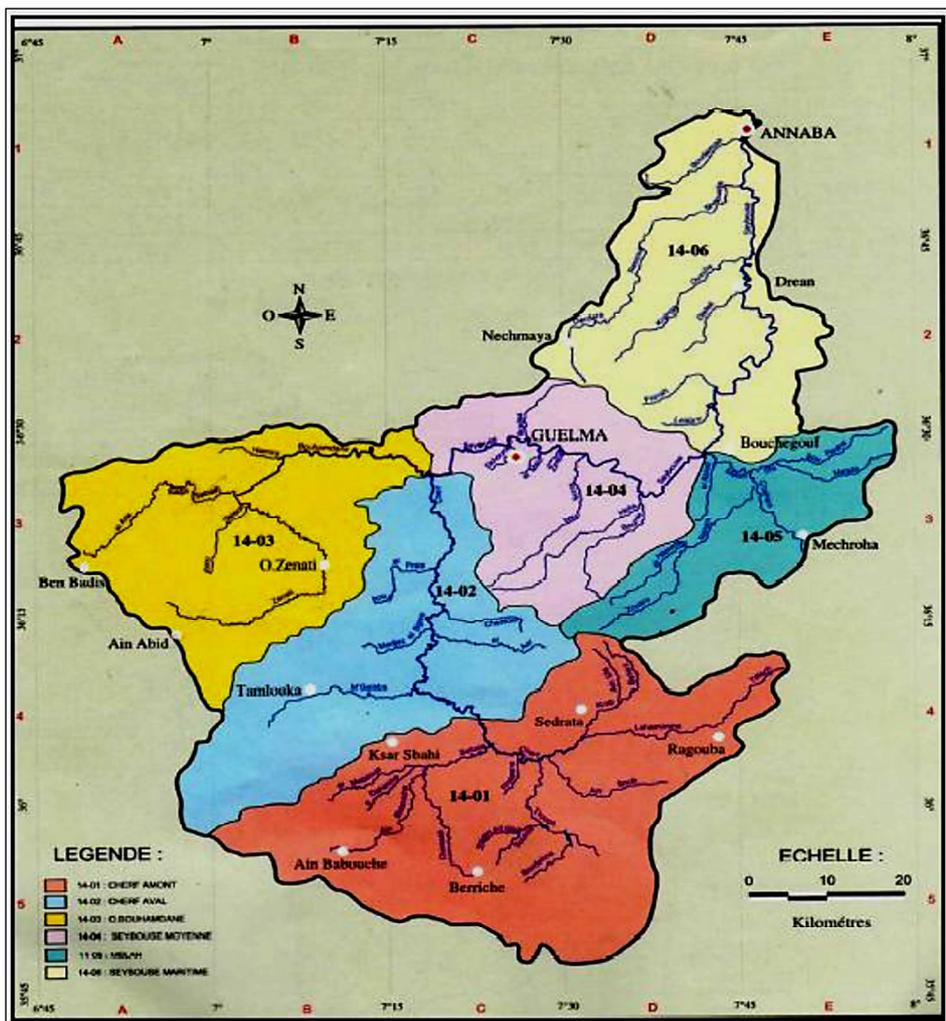
Carte 1 : Situation géographique de la zone d'étude dans le bassin versant de la Seybouse (Louamri, 2013).

2.1.2. Description d'Oued Charef

Le bassin du Charef est divisé en deux sous-bassins : le bassin haut Charef qui porte le code (14.01) et le bassin bas Charef représenté par le code (14.02) (ABH, 1999) (Tableau 2, Carte 2). Pour le bassin de l'oued Charef amont, la classe d'altitude dominante est celle de 800 à 1100 m, qui couvre 98% de la surface du bassin. En effet, dans le bassin du Charef aval, la classe d'altitude de 600 à 800 m domine, et elle couvre 56 % de sa surface (Louamri, 2013).

Tableau 2 : Répartition des sous-bassins de l'Oued Charef (ABH, 1999)

Nom	Position	Sous bassin (Code)	Superficie (Km ²)	Longueur (Km)
Oued Charef amont	Haut Charef	14,01	1739	25
Oued Charef aval	Bas Charef	14,02	1166	32



Carte 2 : Présentation des sous-bassins de la Seybouse (ABH, 1999).

2.2. Le réseau hydrographique

Il est constitué principalement du cours d'eau principal d'oued Charef et ses majeurs affluents, dont l'écoulement général est du Sud vers le Nord.

2.2.1. Le bassin de haut Charef

Dans le bassin haut Charef, les différents oueds et leurs affluents convergent tous vers l'exutoire où la station hydrométrique Moulin Rochefort est installée (Mouchara, 2009) (Tableau 3). Parmi les oueds drainant ces régions, on mentionne l'oued Tifeche situant à l'Est du bassin qui suit l'axe de la plaine synclinale du même nom. D'autre part, le synclinal qui forme la plaine de Khamissa est arrosé par oued Krab, grossi de l'oued Behez, de l'oued Ain Sfa, et de l'oued Esouk vers lesquels s'écoulent les eaux provenant du versant sud de la chaîne Atlasique (Halimi, 2008). En fait, oued Tifeche-Lahmimime et oued Krab prennent leurs sources sur le piémont Sud des monts de la Medjerda et forment l'oued Charef ; après leur rencontre (Louamri, 2013).

De direction Sud-Ouest Nord-Est, on trouve l'oued Settara ; un autre affluent qui prend sa source de la réunion des deux oueds, dont le premier oued Bou Atmane ; issu de la rencontre des oueds Dhimine et Mebdoua et le second oued Dehmane ; issu des oueds Ain Babouch et Ousseh. Tous ces cours d'eau sont alimentés à partir de cours d'eau secondaires assez denses issus du Djebel Sidi Reghiss et de la chaîne des Sellaoua (Louamri, 2013).

Dans l'ensemble, tous ces petits oueds des hautes plaines ont un débit faible, parfois nul en période estivale. En revanche ; au moment des pluies ; ces oueds se gonflent démesurément et changent souvent de lits (Ghachi, 1986).

2.2.2. Le bassin de bas Charef

Ce bassin est sous la forme d'une gouttière où de nombreux petits oueds orientés Est-Ouest suivent l'axe des principaux plis. Sur la côté droite d'oued Charef, on trouve oued Nil, oued El Aar, oued Chaniour, et oued Sebt et d'autre cours d'eau. En effet, sur l'autre côté gauche, il existe l'oued Mgaisba, oued Mjaz Bgar, oued Bou Frais, l'oued Khmoudja et l'oued Anouna puis une série de petits ruisseaux sans importance, descend des flancs de la Mahouna (Bouhala, 2012).

Dans l'ensemble, le réseau hydrographique n'est pas dense ; dont les affluents de la rive droite du Charef se réunissent assez rapidement par rapport à ceux de l'autre rive.

Tableau 3 : Données sur le réseau hydrographique du bassin d'oued Charef (ABH, 1999).

Bassin	Oued	Longueur (km)
Bassin de l'oued Charef amont	<i>Oued Mebdoua</i>	15.76
	<i>Oued Ain Snob</i>	21.04
	<i>Oued Tifeche</i>	16.76
	<i>Oued Behez</i>	15.82
	<i>Oued Souinia</i>	11.16
	<i>Oued Ousseh</i>	22.07
	<i>Oued Dhimine</i>	10.66
	<i>Oued Trouch</i>	20.84
	<i>Oued Ain Babouch</i>	17.45
	<i>Oued El Khouidjel</i>	10.93
	<i>Oued Lahmimine</i>	19.44
	<i>Oued Krab</i>	10.13
	<i>Oued Charef amont</i>	24.13
	<i>Oued Settara</i>	14.14
Bassin de l'oued Charef aval	<i>Oued Charef aval</i>	64.48
	<i>Oued El Aar</i>	18.73
	<i>Oued Chaniour</i>	13.53
	<i>Oued Bou Frais</i>	10.97
	<i>Oued Mgaisba</i>	15.74
	<i>Oued Nile</i>	12.74
	<i>Oued Maleh</i>	10.28
	<i>Oued El Bgare</i>	12.33

2.3. Les ensembles lithologiques et hydrogéologiques

La présentation des caractères lithologiques et hydrogéologiques du bassin permet d'une part de mettre en relation le transport solide et la dégradation spécifique avec la

lithologie ; d'autre part d'obtenir l'influence des eaux souterraines sur l'écoulement de surface (Bouhala, 2012).

En effet, le Charef amont est situé en totalité dans les Hautes Plaines (Louamri, 2013). Cette région est formée essentiellement d'une suite d'anticlinaux et de synclinaux. Ces derniers sont remplis d'argiles, de sables et des formations phréatiques. Généralement, les marno-calcaires du crétacé moyen alternant avec des marnes forment un terrain très peu perméable (Bouhala, 2012). Dans l'ensemble, le bassin du haut Charef présente des terrains non perméables et renferme des petites nappes aquifères. Par contre, le bassin du bas Charef présente des terrains semi-perméables qui renferment peu de nappe aquifère (Adjissi, 2009).

2.4. La végétation du bassin d'Oued Charef

La couverture végétale protège le sol contre l'érosion, améliore la capacité d'infiltration des eaux dans le sol, diminue le ruissellement superficiel et apporte au sol des matières organiques (feuilles, branches,...etc.) (Halimi, 2008).

En effet, la zone des hautes plaines est caractérisée par le domaine de la céréaliculture associée à l'élevage. Le bassin amont de l'oued Charef est très dénudé (Louamri, 2013). Seuls Djebel Reghiss et Djebel Tiffech sont recouverts de vastes forêts de type Atlasique constituées surtout de pins d'Alep et de genévriers rouges, ils sont en expansion par les reboisements récents en pin d'Alep mais aussi en cyprès et en Eucalyptus (Halimi, 2008).

En revanche, dans le Bas-Charef ; la zone de transition avec le Tell ; la végétation est plus diversifiée (Louamri, 2013).

Dans l'ensemble, les terrains agricoles occupent plus de 65 % de la totalité du bassin versant. Pour les cultures pratiquées ; on peut citer : céréale ; cultures maraîchères ...etc. (Halimi, 2008).

2.5.Climatologie

Le facteur du milieu le plus important est le climat parce qu'il a une influence directe sur la faune et la flore (Dajoz, 1985), dont la description du climat tient principalement compte de certains paramètres essentiels, tels la température, les précipitations et l'humidité. En effet, pour caractériser le climat de notre zone d'étude, nous avons tenu compte des

données météorologiques récoltées de la station de Guelma, Souk Ahras et Oum El Bouaghi sur 10 années (2004-2013).

2.5.1. La température

La température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne ; de ce fait ; la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants (Ramade, 1984). Ce facteur dépend de l'altitude, de la distance du littoral et de la topographie (Dajoz, 1985). Les données de températures moyennes mensuelles récoltées des stations météorologiques de Guelma, d'Oum El Bouaghi et de Souk Ahras (2004-2013) sont représentées respectivement dans les figures 13, 14 et 15.

A. Station de Guelma (2004-2013)

Dans cette région, les mois les plus froids sont janvier et février, alors que juillet et août constituent les mois les plus chauds (Tableau 4, Figure 13).

Tableau 4 : Moyenne mensuelle des températures de la station de Guelma (2004- 2013).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Aout	Sep	Oct	Nov	Déc
T (°C)	8,94	9,05	12,70	16,57	20,31	25,23	29,09	28,70	24,00	19,94	13,61	9,26
TM (°C)	14,34	14,36	18,55	21,87	26,04	31,25	35,87	35,09	29,62	25,92	18,73	13,75
Tm (°C)	3,54	3,74	6,84	11,26	14,58	19,22	22,31	22,30	18,37	13,95	8,49	4,76

T : Température moyenne mensuelle (°C) ;

TM : Moyenne des maxima des températures ;

Tm : Moyenne des minima des températures.

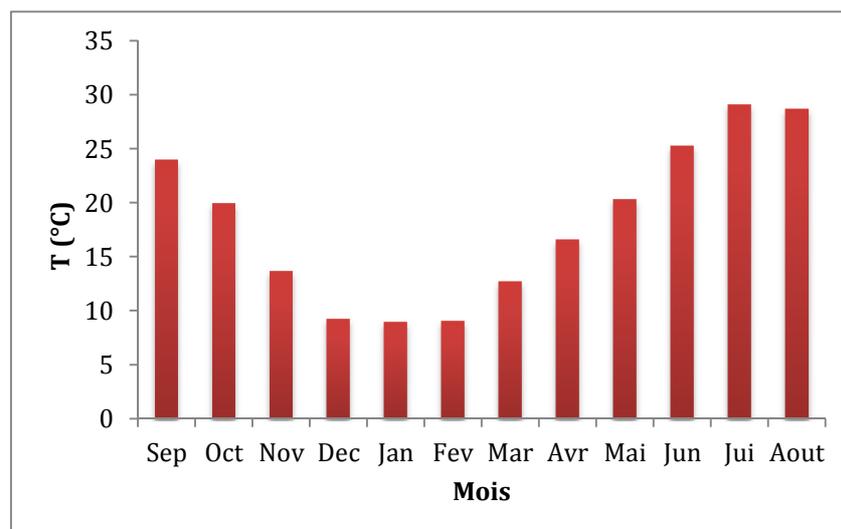


Figure 13 : Evolution des températures moyennes mensuelles de la station de Guelma (2004-2013).

B. Station de Oum El Bouaghi (2004-2013)

D'après les histogrammes de variation des températures moyennes mensuelle de la station d'Oum El Bouaghi, la température est maximale au mois de juillet avec 35,10 °C. Pour la température minimale, elle est marquée au mois de Janvier avec une valeur de 1,01 °C (Tableau 5, Figure 14).

Tableau 5 : Moyenne mensuelle des températures de la station d'Oum El Bouaghi (2004-2013).

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec
T (°C)	6,72	6,54	10,23	13,49	17,41	23,60	26,70	25,98	21,36	17,50	11,03	7,16
TM (°C)	11,75	12,17	16,32	19,96	24,62	31,01	35,10	34,22	28,38	24,16	16,70	12,34
Tm (°C)	1,01	1,13	4,23	7,06	10,20	14,75	17,98	17,85	14,42	10,97	5,36	2,19

T : Température moyenne mensuelle (°C) ;

TM : Moyenne des maxima des températures ;

Tm : Moyenne des minima des températures.

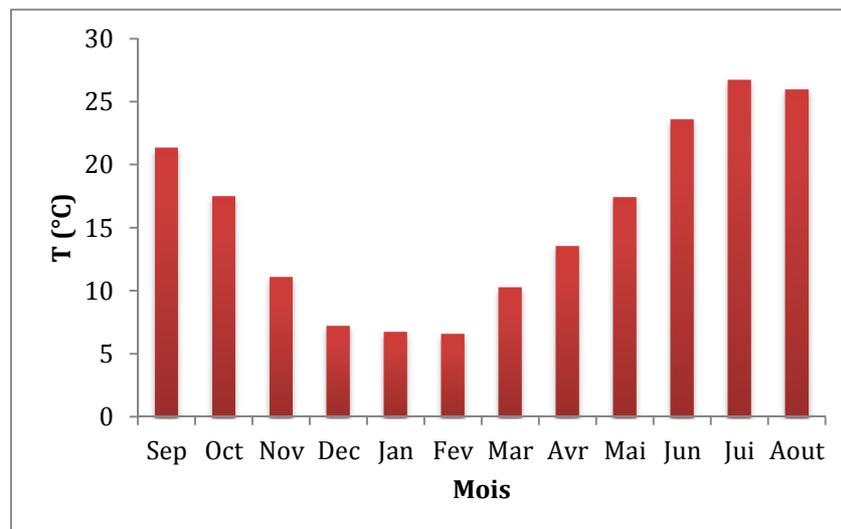


Figure 14 : Evolution des températures moyennes mensuelles de la station d'Oum El Bouaghi (2004- 2013).

C. Station de Souk Ahras (2004-2013)

Les moyennes mensuelles des températures les plus élevées sont observées pendant la période d'été (juin à septembre), avec des températures variantes de 21,06 à 26,14 °C. Par contre les températures les plus basses de 7,09 à 8,21 °C sont observées pendant la période hivernale (décembre à février). En effet, la température maximale a été enregistrée au mois de juillet avec 33,25 °C. Pour la température minimale, elle est marquée au mois de février avec une valeur de 3,35°C (Tableau 6, Figure 15).

Tableau 6 : Moyenne mensuelle des températures de la station de Souk Ahras (2004- 2013).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc
T (°C)	7,32	7,09	10,26	13,29	17,04	22,10	26,14	25,60	21,06	17,72	11,84	8,21
TM (°C)	11,50	11,58	15,51	18,82	23,01	28,69	33,25	33,21	27,80	23,94	16,69	12,29
Tm (°C)	3,77	3,35	5,86	8,55	11,47	15,66	19,33	19,24	15,96	12,98	8,12	4,93

T : Température moyenne mensuelle (°C) ;

TM : Moyenne des maxima des températures ;

Tm : Moyenne des minima des températures.

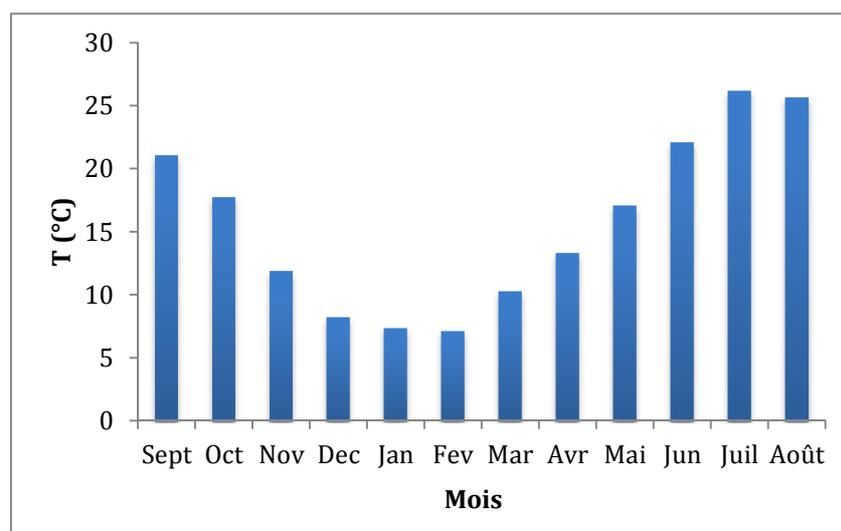


Figure 15 : Evolution des températures moyennes mensuelles de la station de Souk Ahras (2004- 2013).

2.5.2. Précipitations

Les précipitations sont un facteur climatique très important qui conditionnent l'écoulement saisonnier et par conséquent le régime des cours d'eau ainsi que celui des nappes aquifères (Chibani, 2009). En effet, les précipitations sont elles-mêmes sous la dépendance de la température qui règle l'intensité de l'évaporation au niveau des surfaces marines (Ozenda, 1982). Elles sont régulées par trois autres facteurs : l'altitude, la longitude (elles augmentent de l'Ouest vers l'Est) et la distance à la mer (Chakri, 2007 ; Touati, 2008).

A. Station de Guelma (2004-2013)

Les données récoltées de la station météorologique de Guelma (2004-2013) montrent que la saison hivernale est la plus pluvieuse avec une moyenne de 89,31 mm/ mois. Tandis que l'été est sec avec une faible recharge de 12,68 mm/mois (Tableau 7, Figure 16).

Tableau 7 : Précipitations moyennes mensuelles et annuelles de la station de Guelma (2004-2013).

Saisons	Automne			Hiver			Printemps			Eté		
Mois	Sept	Oct	Nov	Déc	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Août
Pmm(mm)	48,36	43,37	68,42	85,11	106,85	75,97	81,54	73,00	42,99	19,65	3,13	15,25
Ps (mm)	160,15			267,94			197,53			38,03		
P	53,38			89,31			65,84			12,68		

Pmm: Moyenne des précipitations mensuelles (mm);

Ps : Précipitation saisonnière (mm); *P* : Moyenne de précipitations saisonnières (mm).

D'après le tableau 7, la plus grande valeur de précipitation moyenne mensuelle, correspond au mois de janvier (106,85 mm), par contre la plus faible valeur correspond au mois de juillet avec 3,13 mm. En effet, la distribution des précipitations est inégalement répartie durant les saisons, dont le maximum des précipitations est observé en hiver où il peut atteindre les 267,94 mm (Figure 16).

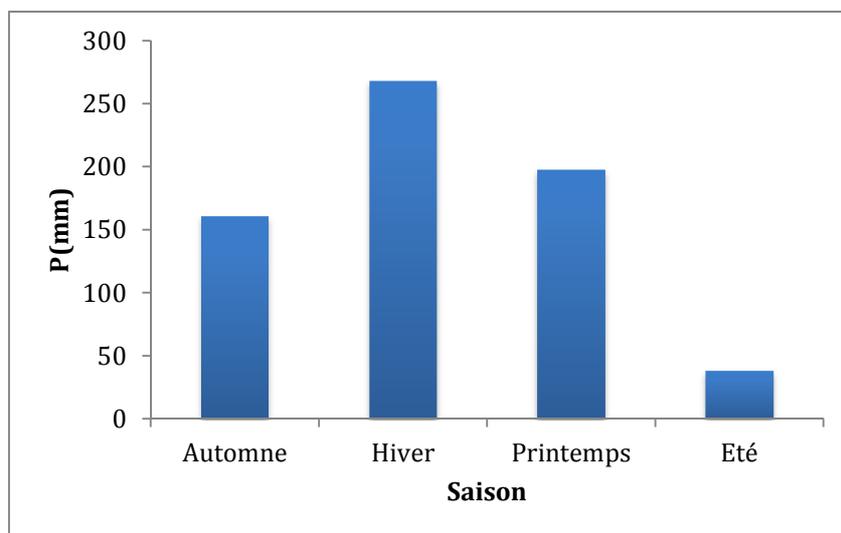


Figure 16 : Variations saisonnières des précipitations de la station météorologique de Guelma (2004-2013)

B. Station de Oum El Bouaghi (2004-2013)

Les hauteurs des précipitations moyennes de la station de mesure sont présentées dans le tableau 8. Ces données sont récoltées sur 10 ans (2004-2013).

Tableau 8 : Précipitations moyennes mensuelles et annuelles de la station d’Oum El Bouaghi (2004-2013).

Saisons	Automne			Hiver			Printemps			Eté		
Mois	Sept	Oct	Nov	Déc	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aoû
Pmm(mm)	43,92	28,62	21,83	30,82	36,77	36,21	37,82	44,37	60,73	19,84	13,14	21,44
Ps (mm)	94,37			103,80			142,92			54,43		
P (mm)	31,45			34,60			47,64			18,14		

Pmm: Moyenne des précipitations mensuelles (mm);

Ps : Précipitation saisonnière (mm);

P : Moyenne de précipitations saisonnières (mm).

Selon le tableau 8, la variation des précipitations moyennes mensuelles de la station de Oum El Bouaghi montre la persistance du caractère irrégulier du régime pluviométrique avec

un maximum enregistré au mois de mai atteignant le 60,73 mm. Un minimum est enregistré au mois de juillet 13,14 mm.

En fait, la distribution des précipitations est inégalement répartie durant les saisons, le maximum des précipitations est observé au printemps ou il peut atteindre les 142,92 mm. En revanche, le minimum des précipitations est remarqué en été atteignant 54,43 mm (Figure 17).

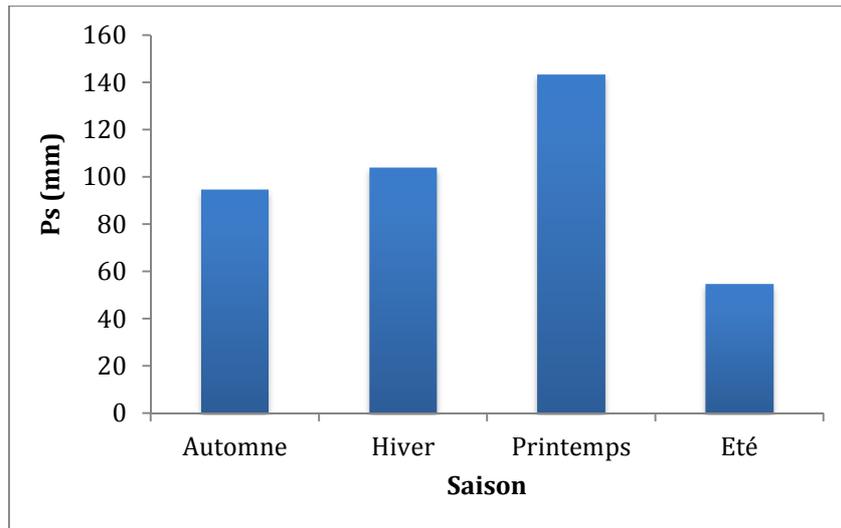


Figure 17 : Variations saisonnières des précipitations (Station météorologique d’Oum El Bouaghi 2004-2013).

C. Station de Souk Ahras (2003-2013)

Les données récoltées de la station météorologique de Souk Ahras (2004-2013) montrent que la saison hivernale est la plus pluvieuse avec une moyenne de 119,79 mm/ mois. Par contre, l’été est sec caractérisé par une faible précipitation de 16,45 mm/mois (Figure 18).

D’après le tableau 9, la plus grande valeur de précipitation moyenne mensuelle, correspond au mois de janvier (122,59 mm), par contre la plus faible valeur correspond au mois de juillet avec 6,67 mm.

Tableau 9 : Précipitations moyennes mensuelles et annuelles de la station de Souk Ahras (2004-2013).

Saisons	Automne			Hiver			Printemps			Eté		
Mois	Sept	Oct	Nov	Déc	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aoû
Pmm(mm)	43,11	65,46	88,92	120,38	122,59	116,39	93,82	88,23	63,81	23,04	6,67	19,65
Ps (mm)	197,49			359,36			245,86			49,36		

P (mm)	65,83	119,79	81,95	16,45
---------------	-------	--------	-------	-------

Pmm: Moyenne des précipitations mensuelles (mm);

Ps : Précipitation saisonnière (mm);

P : Moyenne de précipitations saisonnières (mm).

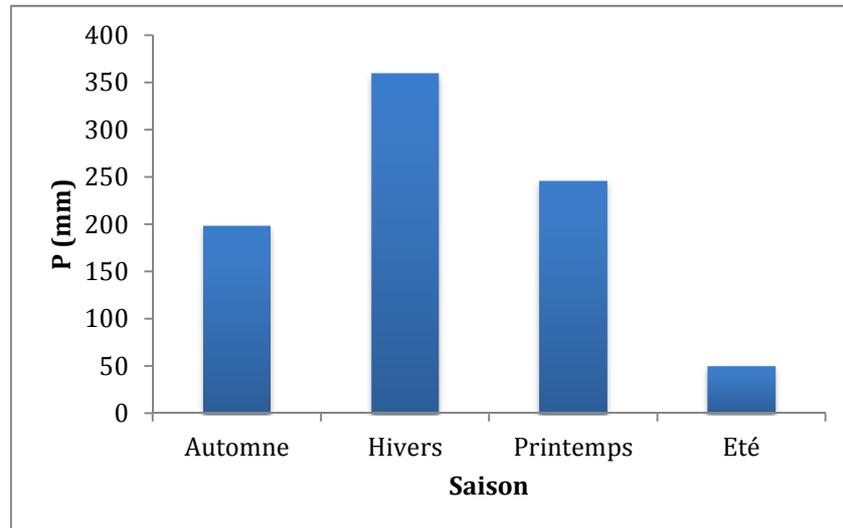


Figure 18 : Variations saisonnières des précipitations de la station météorologique de Souk Ahras (2004-2013).

Egalement, la distribution des précipitations est inégalement répartie durant les saisons, le maximum des précipitations est observé en hiver ou il peut atteindre les 359,36 mm (Figure 18).

2.5.3. L’humidité (2004-2013)

La forte humidité de la région est causée par la forte évaporation de nombreuses zones humides et la proximité des barrages (Meziane, 2009). Elle est invariable au cours de l’année.

En effet, les données de l’humidité récoltées de la région de Guelma, Oum El Bouaghi et Souk Ahras ; pour 10 années (2004-2013) ; sont récapitulées respectivement dans le tableau 10, 11 et 12.

Tableau 10 : Variation moyenne mensuelle de l'humidité relative de la station de Guelma (2004-2013).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Déc
Humidité relative (%)	78,49	75,57	75,10	73,83	69,80	61,11	55,92	57,47	68,29	70,49	74,06	76,85

Tableau 11 : Variation moyenne mensuelle de l'humidité relative de la station d'Oum El Bouaghi (2004-2013).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Déc
Humidité relative (%)	76,10	72,30	67,50	68,80	64,10	53,20	48,20	49,35	61,77	65,78	74,49	79,37

Tableau 12 : Variation moyenne mensuelle de l'humidité relative de la station de Souk Ahras (2004-2013).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Jui	Août	Sep	Oct	Nov	Déc
Humidité relative (%)	80,60	79,20	76,00	74,20	69,90	60,80	53,30	55,6	67,2	69,80	76,50	80,80

Dans la région de Guelma (Tableau 10); l'humidité est invariable au cours de l'année, dont les valeurs minimales sont observées pendant les mois de juillet et août. Par contre, les valeurs maximales sont observées pendant le mois de décembre et le mois de janvier.

Egalement, l'humidité de la région d'Oum El Bouaghi et de la région de Souk Ahras peut atteindre le maximum pendant les mois de décembre et janvier. En revanche, ces régions ont présenté des valeurs minimales pendant les mois de juillet et août (Tableau 11 et 12).

2.6. Bioclimat

Les différents facteurs climatiques n'agissent pas indépendamment les uns sur des autres. Pour en tenir compte divers indices ont été proposés, principalement dans le but

d'expliquer la répartition des êtres vivants. Les indices les plus employés font intervenir la température et la pluviosité qui sont les facteurs les plus importants et les mieux connus (Dajoz, 2003).

2.6.1. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен

Ce diagramme permet de calculer la durée de la saison sèche en portant la pluviométrie moyenne annuelle sur des axes où l'échelle de la pluviométrie est double de celle de la température. D'après Bagnouls et Gausсен (1957), il n'y a sécheresse que lorsque la courbe de précipitation rencontre celle des températures et passe au-dessus d'elle. Le but est de déterminer la période sèche et la période humide. Les courbes ombrothermiques (Figure 19, 20 et 21) établies, nous ont permis de visualiser deux saisons distinctes :

A. Station de Guelma (Figure 19)

- ✓ Une saison sèche étalée sur cinq mois, de mai jusqu'à septembre
- ✓ Une saison humide étalée sur sept mois, d'octobre jusqu'au mois d'avril

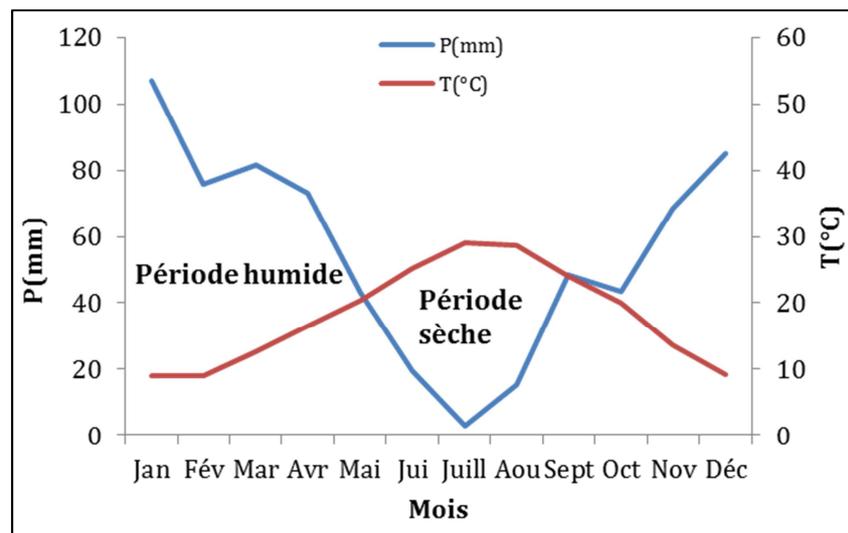


Figure 19 : Diagramme ombrothermique de la station de Guelma (2004- 2013).

B. Station d'Oum El Bouaghi (Figure 20)

- ✓ Une saison humide de novembre à mai
- ✓ Une saison sèche de juin à octobre

C. Station de Souk Ahras (Figure 21)

- ✓ Une saison sèche de mai à septembre
- ✓ Une saison humide d'octobre à avril

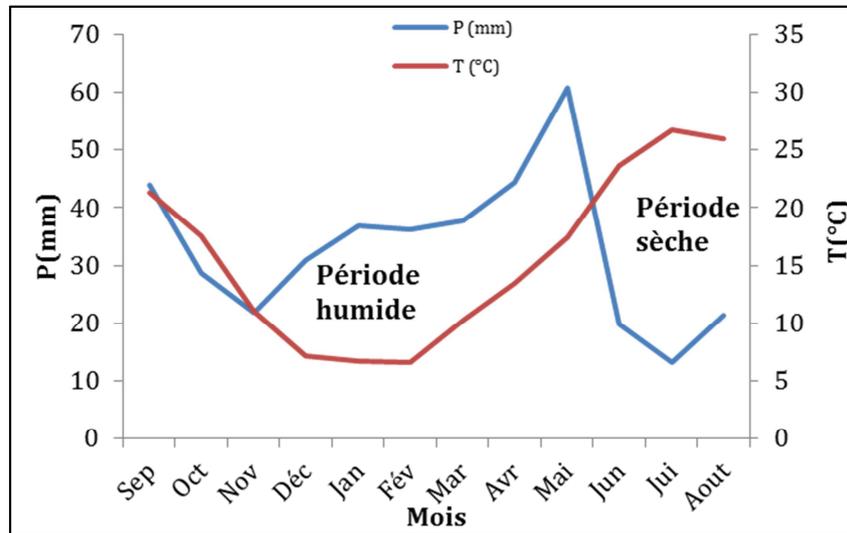


Figure 20 : Diagramme Ombrothermique d'Oum El Bouaghi (2004-2013).

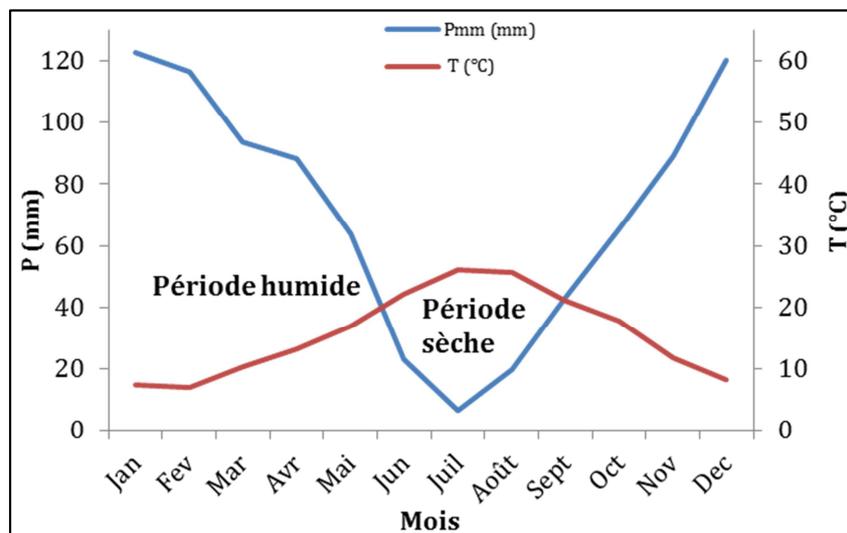


Figure 21 : Diagramme Ombrothermique de la station de Souk Ahras (2004- 2013).

2.6.2. Climagramme d'Emberger :

Selon Emberger (1963), la région méditerranéenne est subdivisée en cinq étages bioclimatiques, en faisant intervenir deux facteurs essentiels : les précipitations et la

température. En effet, pour déterminer l'étage bioclimatique de la zone d'étude, il faut procéder au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger Q_2 selon la relation suivante :

$$Q_2 = 1000 \cdot P / \frac{(M+m) \cdot (M+m)}{2}$$

D'où :

M : Moyenne des maxima du mois le plus chaud (° K) ; m : Moyenne des minima du mois le plus froid (° K) ; P : Précipitation moyenne annuelle (mm).

En fait, notre région (Guelma) présente un quotient pluviométrique $Q_2 = 64,98$; ce qui la classe dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver tempéré. En effet, la région d'Oum El Bouaghi occupe l'étage bioclimatique semi-aride avec un quotient pluviométrique $Q_2 = 51,57$. Egalement, la région de Souk Ahras est classée dans l'étage bioclimatique semi-aride, dont le $Q_2 = 42,72$ (Figure 22).

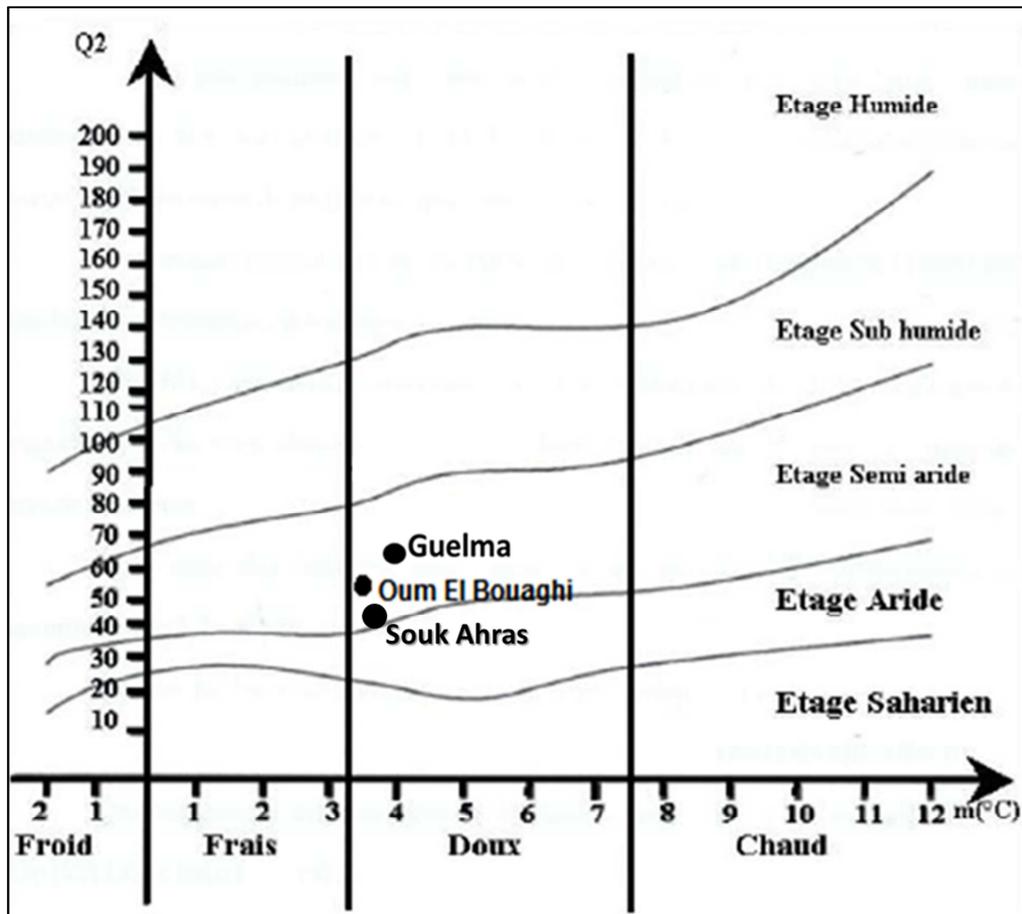


Figure 22 : Situation de la région de Guelma, Oum El Bouaghi et Souk Ahras dans le climagramme d'Emberger (2004-2013).

CHAPITRE 3 :

MATERIEL ET METHODES

Dans notre présent travail, l'étude systématique des Chironomidae ainsi que les tests immunologiques ont été réalisés dans le laboratoire de recherche : Biologie, Eau et Environnement et les laboratoires pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

3.1. Etude écologique

3.1.1. Sur le terrain

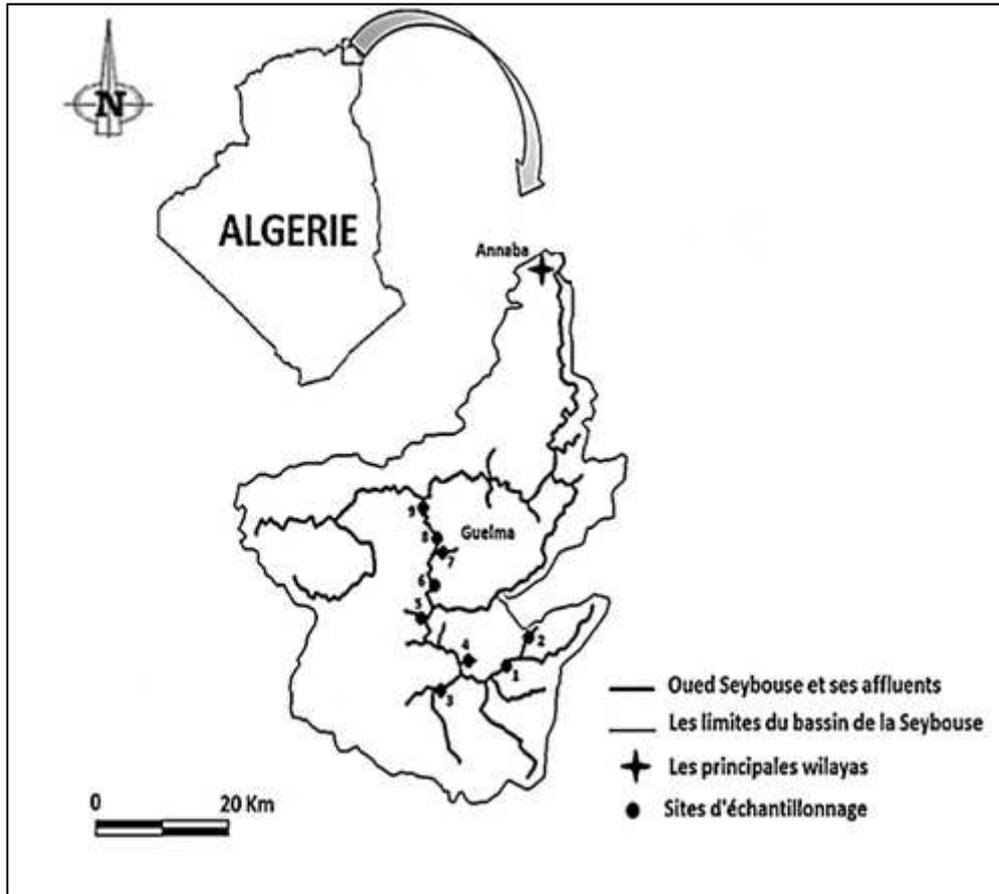
3.1.1.1. Choix des sites

Pour réaliser notre étude écologique, on a choisi les eaux courantes du Nord-Est algérien pour étudier les communautés chironomidiennes. Pour cela, neuf stations d'étude ont été sélectionnées sur la base de plusieurs paramètres et critères :

- Les neuf stations d'échantillonnage partagent des conditions climatiques semblables parce qu'elles appartiennent à la même région (Nord-Est algérien).
- Accessibilité du site (proximité de la route, sécurité, végétation peu dense) permettant une visite régulière.
- La diversité et la richesse biologique qui caractérisent ces stations.
- Les stations sont des cours d'eaux qui ne partagent pas les mêmes caractéristiques : substrat, débit et vitesse du courant...etc.

3.1.1.2. Description des stations d'échantillonnage

Pour un échantillonnage plus représentatif du cours d'eau, nous avons choisis neuf stations sur le cours d'eau principal d'oued Charef (trois stations) et quelques affluents (six stations) en amont et en aval de l'oued, dans un intervalle d'altitude qui varie principalement entre 267 et 800 m (Carte 3, Figure 23). Parmi ces stations d'étude, la station d'oued Tifeche, oued Crabe, oued Dehmane et oued Nile sont les quatre stations situant dans le Charef amont. En fait, les stations d'oued El Aar, oued Charef au pont d'Ain Makhoulouf, oued Chaniour, oued Charef à Houari- Boumediene et oued Charef à Medjez Amar ; représentent celles du Charef aval. Ces sites d'étude sont ; en totalité ; des cours d'eau à écoulement permanent, à l'exception d'une seule station appelé oued Nile ; qui représente un affluent à assèchement complet en période estivale.



Carte 3 : Localisation des stations étudiées dans le bassin de la Seybouse.

1 : oued Tifeche ; 2 : oued Crabe ; 3 : oued Dehmane ; 4 : oued Nile ; 5 : oued El Aare ; 6 : Pont Ain Makhlouf ; 7 : oued Chaniour ; 8 : Houari Boumediène ; 9 : Medjez Amar

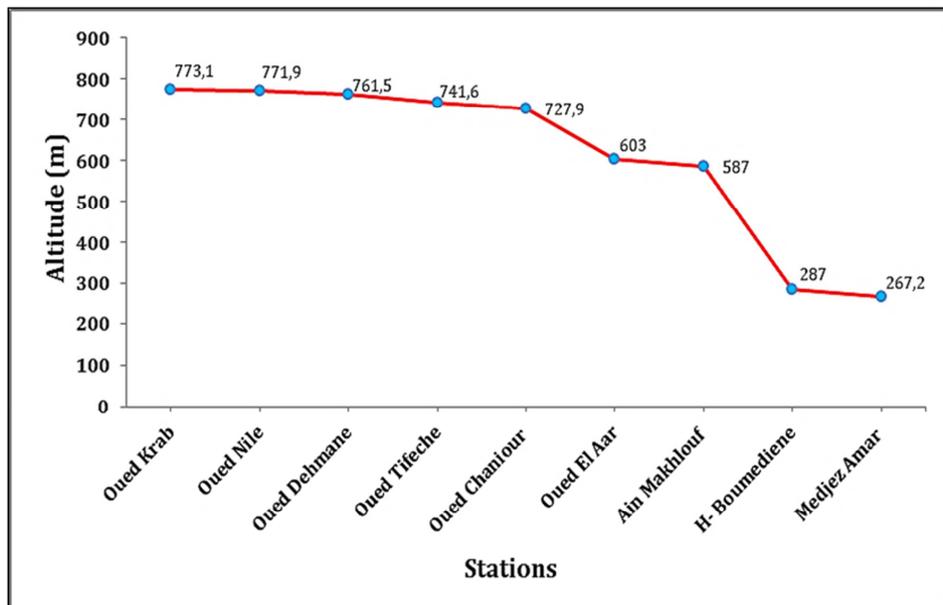


Figure 23 : Variation altitudinale des stations d'étude.

A. Oued Charef amont

❖ Oued Tifeche (Affluent)



Figure 24 : Description de la station d'oued Tifeche.

Cette station est limitée au Nord par Ain Sandel, à l'Est par Khmissa et Raggouba, au Sud par Bir Bouhouche, à l'Ouest par Zouabi. La station se trouve sous un pont avant le village de Sedrata, dont le substrat est constitué de limons et d'argile (Figure 24). Le lit est de faible largeur avec une vitesse d'eau lente (Annexe 1). La végétation principale du lit constitue principalement de *Juncus sp.*, *Typha sp.* et *phragmite sp.* (Figure 33).

❖ Oued Crabe (Affluent)



Figure 25 : Description de la station d'oued Crabe.

Limité au Nord par Ain Sandel, à l'Est par Khmissa et Raggouba, au sud par Bir Bouhouche, à l'Ouest par Zouabi (Figure 25). A cause des irrigations, la vitesse du courant d'eau devient presque nulle (Annexe 1). Le substrat est constitué de limons et d'argile. La végétation principale du lit regroupe *Juncus sp.*, *Typha sp.* et *phragmite sp.* (Figure 33).

❖ Oued Dehmane (Affluent)

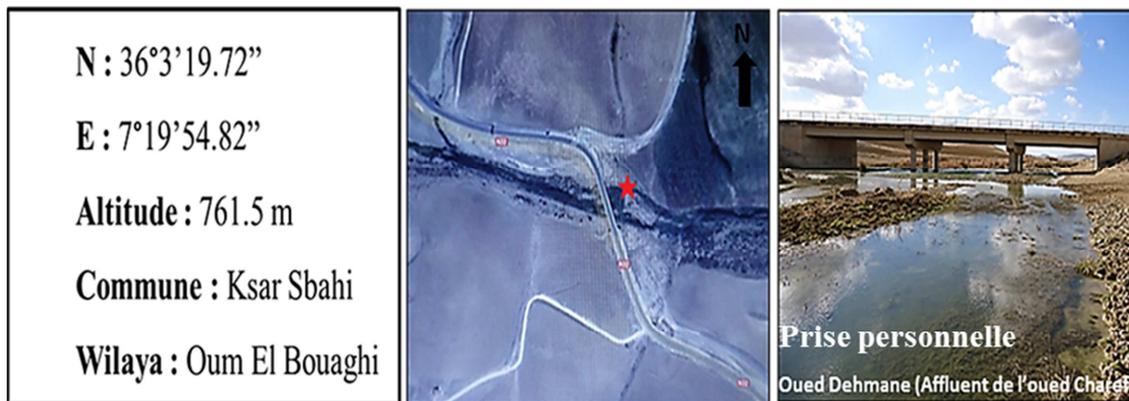


Figure 26 : Description de la station d'oued Dehmane.

Limité au Nord par Ain Makhoulf, à l'Est par Zouabi et Bir Bouhouche, au Sud par Briche et Ain Babouche, à l'Ouest par Tamlouka. La station se trouve sous un pont, elle est située dans une zone très ensoleillée (Figure 26). Egalement, elle est caractérisée par une vitesse d'eau très lente (Annexe 1) et un substrat constitué de limons et d'argile. La végétation du lit est principalement : *Typha sp.*, *Phragmite australis*, *Juncus sp.* (Figure 33).

❖ Oued Nile (Affluent)

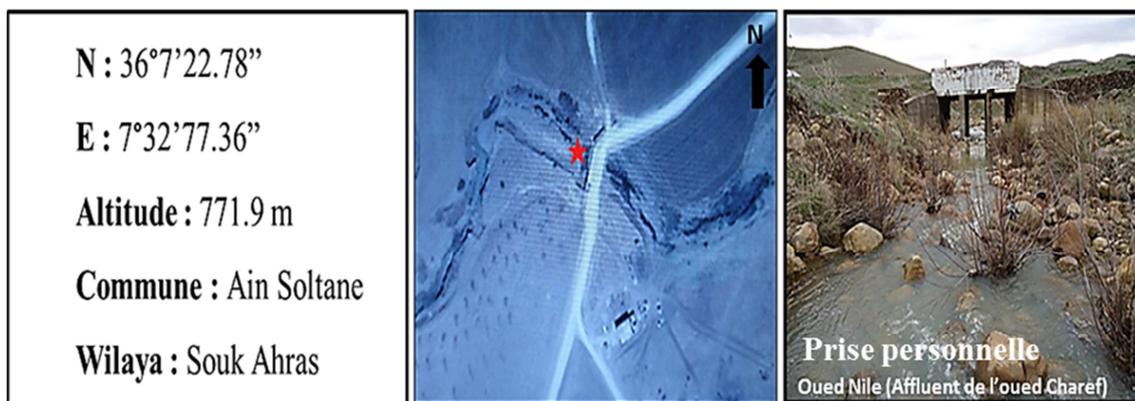


Figure 27 : Description de la station d'oued Nile.

Limité au Nord par Ain Sandel, à l'Est par Sedrata, au Sud par Zouabi et à l'Ouest par Ain Makhoulf (Figure 27). La station se trouve dans une zone très ensoleillée, avec un lit de faible largeur et courant d'eau rapide (Annexe 1). Le substrat est formé des cailloux rugueux, de graviers et de blocs. Elle est caractérisée par une de végétations très faible ; constituée principalement de *Juncus sp.* (Figure 33).

B. Oued Charef aval

❖ Oued El Aar (Affluent)



Figure 28 : Description de la station d'oued El Aar.

Oued El Aar constitue un affluent d'oued Charef (Figure 28). La station se trouve sous un pont, dont le substrat est constitué de blocs et de gravies et le lit est de faible largeur avec une vitesse de courant rapide (Annexe 1). La végétation du lit est constituée de : *Nerium oleander* (Figure 33).

❖ Charef à Ain Makhlouf (Oued Charef)



Figure 29 : Description de la station d'oued Charef à Ain Makhlouf.

Limité au Nord par Sellaoua Anouna, à l'Est par Ain Larbi et Ain Soltane, au Sud par Ksar Sbahi, à l'Ouest par oued Zenati et Tamlouka. La station se trouve sous un pont, elle est entièrement exposée au soleil. Les sols sont occupés par des jardins de grenades, figues, abricots (Figure 29). Le fond du lit est formé de sable et de pierres. La station subit un fort impact lié à une intense fréquentation par l'homme et les animaux. Cette station est caractérisée par une vitesse d'eau modérée (Annexe 1) avec un lit un peu large. La végétation

est principalement : *Tamarix sp.*, *Nerium oleander*, *Juncus sp.*, *Typha sp.*, *Phragmite australis* (Figure 33).

❖ Oued Chaniour (Affluent)

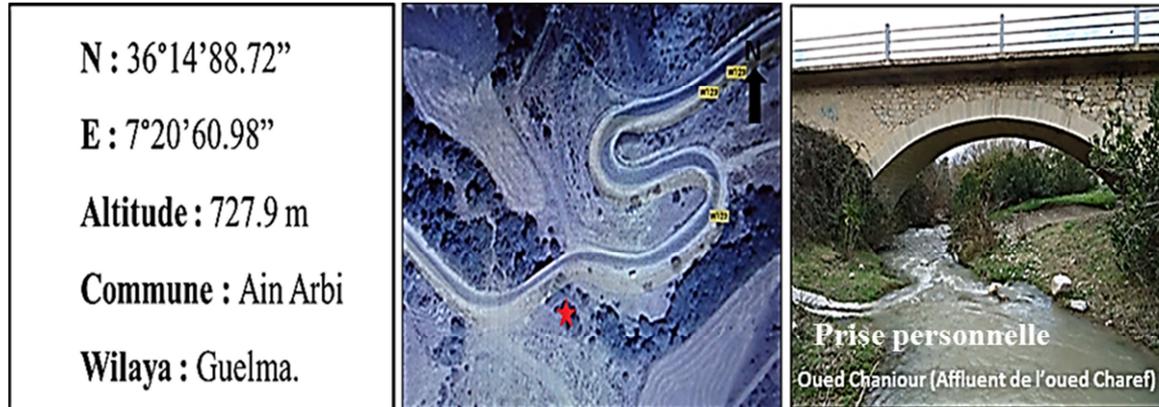


Figure 30 : Description de la station d'oued Chaniour.

Limité au Nord par Bendjerah et Sellaoua Announa et Belkheir, à l'Est par Khezaras et Bouhachana, au Sud par Ain Soltane, à l'Ouest par Ain Makhlouf. Le ruisseau est un affluent qui se jette dans l'oued Charef à Ain Makhlouf (Figure 30). Il a une largeur n'excède pas 6 m, où l'eau coule rapidement (Annexe 1) avec un substrat de de sable grossier, de graviers et de cailloux de volume variable par endroits. Cette station se caractérisé par une végétation aquatique et riveraine diversifiée et abondante tel que : *Tamarix sp.*, *Typha sp.*, *Phragmite sp.* (Figure 33).

❖ Charef à Houari- Boumediene (Oued Charef)

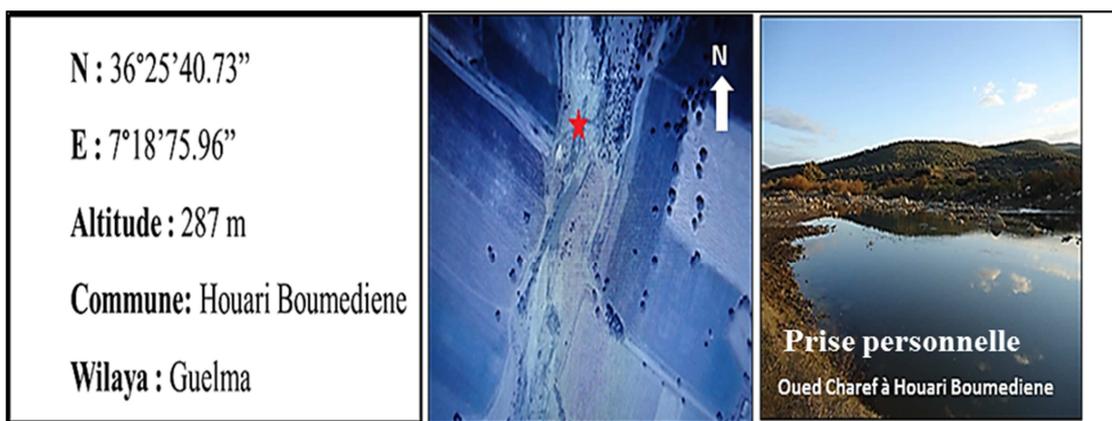


Figure 31 : Description de la station d'oued Charef à Houari- Boumediene.

Limité au Nord par Medjez Amar, à l'Est par Bendjerrah, au Sud par Sellaoua Anouna, à l'Ouest par Houari Boumediene et Ras El Agba. On prend une piste à peu près 5

Km qui mènent à l’oued Charef (Figure 31). Le substrat est constitué par du sable fin et de limons, le lit est très large avec une vitesse moyenne du courant d’eau (Annexe 1). La végétation comprend surtout : *Nerium oleander*, *Juncus sp.*, *Tamarix sp.* (Figure 33).

❖ Charef à Medjez Amar (Oued Charef)



Figure 32 : Description de la station d’oued Charef à Medjez Amar.

Elle est limitée au Nord par El Fedjoudj, à l’Est par Guelma, au Sud par Houari Boumediene et Bendjerrah, à l’Ouest par Hammam Debagh. Cette station se trouve avant le point de confluence d’oued Charef et oued Bouhamdan (Figure 32). Le substrat est constitué de sable et de limons, le lit est large. Elle est caractérisée par un courant d’eau modéré (Annexe 1). La végétation comprend surtout : *Typha sp.* ; *Tamarix sp.* ; *Juncus sp.* ; *Nerium oleander* ; *Olea europaea*. (Figure 33).



Figure 33 : Les principales végétations dans les stations d’échantillonnage.

1 : *Juncus sp.* ; 2 : *Nerium oleander* ; 3 : *Tamarix sp.* ; 4 : *Typha sp.* ; 5 : *Phragmites sp.* ; 6 : *Olea europaea*.

3.1.1.3. Plan d'échantillonnage des Chironomidae

Pour un échantillonnage plus représentatif du cours d'eau, nous avons choisi neuf stations sur le cours d'eau principal d'oued Charef et quelques affluents en amont et en aval. La durée de cette étude s'étalait sur une année du mai 2012 jusqu'à avril 2013 avec une fréquence d'échantillonnage mensuelle.

Notre échantillonnage consiste à collecter les peuplements imaginaires, nymphaux et larvaires au niveau de chaque site visité. La technique de récolte repose sur l'utilisation d'un filet entomologique pour les imagos et un autre pour les larves et les nymphes, de 0,3 mm de vide de maille (Zerguine, 2010). L'échantillonnage s'étalait sur une surface de 1 m². Dix coups de filet, en vue d'aboutir à un échantillon homogène représentatif, ont été effectués en bordure des berges dans les parties à forte végétation aquatique ainsi qu'au fond, où le cadre métallique du filet est déposé sur le fond contre la dérive, en raclant le substrat. Egalement, des récoltes de spécimens accrochés aux rochers humides et à la végétation immergée qui longent le cours d'eau ; ont été réalisées en utilisant une pince souple. Les spécimens recueillis, larves, exuvies et imagos, sont conservés immédiatement dans des tubes contenant du formaldéhyde à 5%. D'autre part, le contenu des filets est pré-trié sur place (éliminations des grands éléments minéraux et végétaux), puis récupéré dans des flacons en plastique sur lesquels les noms et les dates des prélèvements sont inscrits, en vue d'un tri ultérieur au laboratoire et remise définitive des spécimens dans le formaldéhyde à 5%.

✓ Remarque

Dans les mêmes stations, la présence et l'abondance des espèces végétales, la profondeur, la largeur du lit et la vitesse de l'eau ont été notées.

3.1.1.4. Variables mesurées *in situ*

La physico-chimie des eaux est d'une importance majeure dans la dynamique des espèces. Pour cela, quatre paramètres physico-chimiques ont été enregistrés mensuellement sur le terrain en utilisant un appareil multiparamétrique de terrain modèle HANNA (Figure 34). Le premier paramètre est la température de l'eau en degré Celsius, elle détermine la présence ou l'absence de certaines espèces par ses variations quotidiennes ou saisonnières. Le second est l'oxygène dissous exprimé en mg/l, dont la présence de matières organiques réduit la teneur en oxygène dissous dans l'eau par oxydation à travers un procédé microbiologique (Khetar, 2009). Enfin, le pH qui confère le caractère acide ou basique de

l'eau, et la conductivité électrique, exprimée en microsimens/cm, qui nous indique le degré de minéralisation des eaux (Bounaceur, 1997 *In* Touati, 2008).



Figure 34 : un appareil multiparamétrique de terrain modèle HANNA.

Egalement, d'autres paramètres abiotiques ont été mesurés, telle l'altitude qui influence le réchauffement des eaux et donc la répartition de la vie animale dans les eaux courantes. La mesure de l'altitude a été effectuée sur site à l'aide d'un GPS. Le type de substrat a été noté, parce qu'il est considéré comme un facteur important dans l'abondance des Chironomidae, dont la plupart de ses espèces vivent dans le fond ou la vase où se trouvent les feuilles des plantes en décomposition mélangées avec le sol (Zerguine, 2010). Pour cela, on détermine le substrat à partir des éléments les plus externes jusqu'au fond (Figure 35).

En fait, la vitesse d'eau a été estimée à l'aide d'une technique simple, telle la durée de déplacement d'un objet flottant sur une distance connue. Elle représente un facteur conditionnant la dynamique des populations de macroinvertébrés dulcicoles (Boulaaba, 2015).

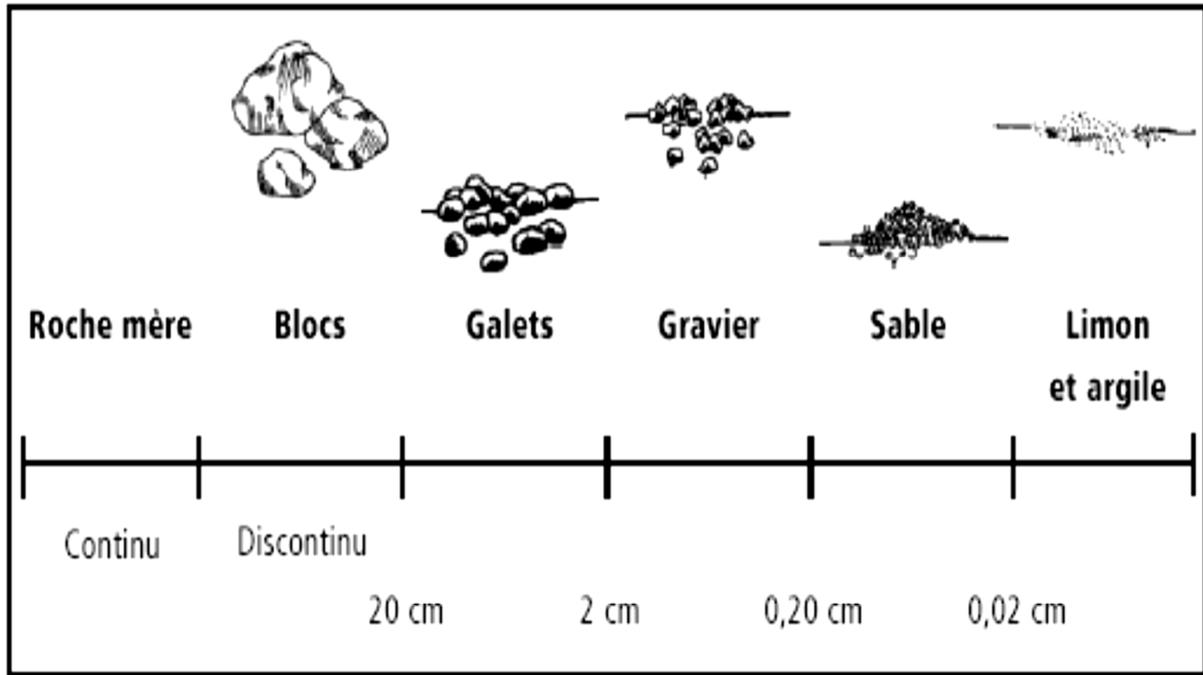


Figure 35 : Les différents substrats (Gagnon et Pedneau, 2006 *In* Meziane, 2009).

3.1.2. Au laboratoire

Au laboratoire, les organismes ont été triés sous loupe binoculaire dans des boîtes de Pétri en utilisant des pinces et pinceaux. Seuls les Chironomidae ont été recueillis et montés entre lames et lamelles dans un milieu de montage approprié pour l'observation et la conservation de l'individu. Dans notre cas on a utilisé le Baume de Canada ou l'Euparal (Wirth & Marston, 1968).

3.1.2.1. Le tri des individus des Chironomidae

Le tri des individus (essentiellement les larves) a été réalisé pour éviter de monter tous les individus des Chironomidae surtout si un grand nombre a été collecté. Il se fait selon la forme générale de l'individu, la couleur du corps et les structures de la capsule céphalique des larves en utilisant la loupe binoculaire.

3.1.2.2. Montage des individus des Chironomidae

Le montage des individus des Chironomidae (larves, nymphes et adultes) consiste à cuire les individus directement sur la flamme d'un bec Bénédict dans la solution de KOH (10%) pendant 1 à 3 minutes. Le passage dans la solution de l'hydroxyde de potassium sert à digérer les tissus musculaires internes et laisser les parties sclérifiées du corps (exosquelette).

Ensuite, les individus des Chironomidae sont laissés dans un bain d'eau distillée pendant 3 à 10 minutes, puis dans un bain d'acide acétique glacial pendant 5 à 10 minutes.

L'étape suivante consiste à mettre les individus des Chironomidae dans un bain de propanol à 95% pendant 3 à 10 minutes. Le propanol peut être substitué par l'alcool butylique ou le phénol. Cette étape permet de chasser l'eau ; d'éclaircir et de faciliter l'inclusion dans un milieu de montage (Zerguine, 2010).

Enfin, on termine par la dissection et le montage des individus de Chironomidae en appliquant plusieurs gouttes de milieu de montage (Baume de Canada ou Euparal) sur la lame étiquetée et on procède de la manière suivante :

A. Les larves

Elles sont placées sur la partie ventrale dans une goutte du milieu de montage et sont couvertes avec une lamelle en appliquant une pression légère pour étaler les pièces buccales (les mandibules, les pré-mandibules, le labium et les plaques para-labiales ...), les antennes, et les restes de la capsule céphalique ; pour une meilleure visualisation (Zerguine, 2010) (Figure 36).

B. Les nymphes

Après avoir séparé l'abdomen du céphalothorax, elles sont positionnées de telle sorte que l'abdomen est monté sur sa face dorsale et le céphalothorax sur le côté, pour mieux visualiser les cornes thoraciques et les ptérothèques et les podothèques.

Les exuvies nymphales ont le céphalothorax et l'abdomen séparés. Le céphalothorax est disséqué sur sa ligne médiane, les deux côtés sont positionnés différemment (l'un sur sa face dorsale et l'autre sur sa face ventrale). L'abdomen est positionné sur sa face dorsale (Figure 36). Dans le cas d'une nymphe proche de la métamorphose et allant libérer un individu, il est bon d'extraire l'imago de l'exuvie nymphale qui le recouvre ; et d'effectuer sur la même lame un montage des génitalia qui permettra avec sécurité une identification de la nymphe (Boulaaba, 2015).

C. Les adultes

Toutes les parties de l'adulte sont disséquées soigneusement et montées sur lame : les pattes, les antennes, l'abdomen et la tête positionnés dorsalement et le thorax sur le côté

(Zerguine, 2010) (Figure 36). Enfin, les échantillons sont observés sous un microscope optique.

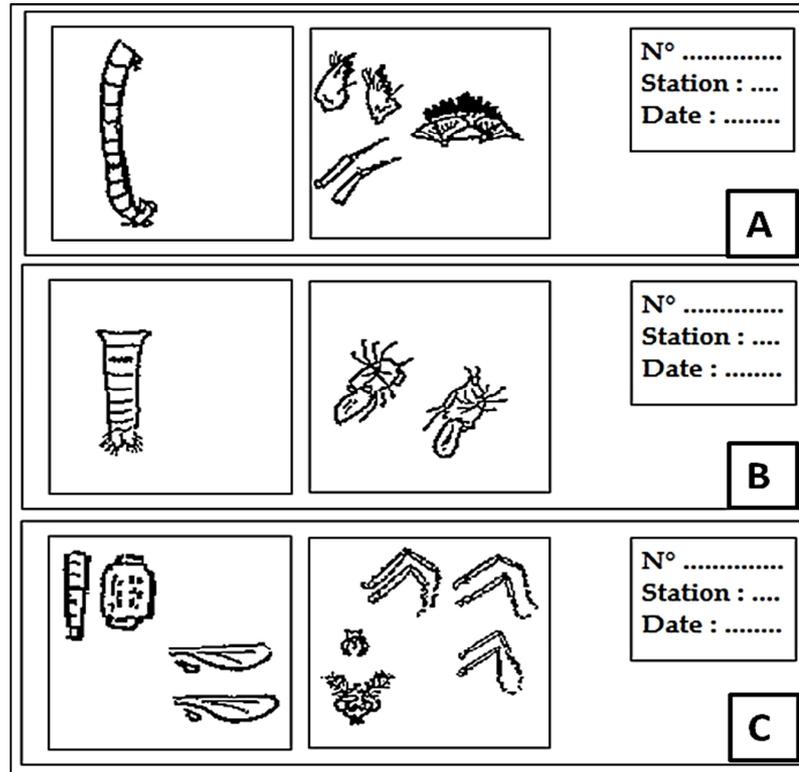


Figure 36 : Exemples de disposition des pièces anatomiques pour l'étude systématique (Boulaaba, 2015). *A : larve ; B : nymphe ; C : adulte.*

❖ **Remarque**

On note que la durée des bains dépend de la taille des individus et qu'il faut contrôler l'éclaircissement du corps chaque minute, sous la loupe binoculaire.

3.1.3. Analyse des données

3.1.3.1. L'organisation d'un peuplement

Les divers peuplements qui constituent une biocénose peuvent se définir quantitativement par un ensemble de descripteurs. Il est possible de décrire la structure de la biocénose toute entière à travers des paramètres tels que la richesse spécifique, l'abondance, la dominance, la diversité spécifique (Ramade, 1994). Dans notre étude, on a opté pour l'étude de l'abondance, dont :

- **L'abondance :** correspond au nombre d'individus échantillonnés.

3.1.3.2. La structure d'un peuplement

Elle exprime le mode de distribution des individus parmi les espèces qui composent le peuplement, c'est-à-dire l'organisation du tableau espèces-relevés. Parmi les indices de diversité permettant la comparaison des peuplements dans l'espace et le temps, nous avons :

- **Indice de Shannon**

Cet indice a l'avantage d'intervenir l'abondance des espèces. Il mesure le niveau de complexité d'un peuplement. Si cet indice est élevé, ça correspond à un peuplement à grand nombre d'espèce pour un petit nombre d'individus. Il se calcule par la formule suivante :

$$H = \sum_{i=1}^n -p_i \log_2(p_i)$$

Avec :

- ✓ p_i : l'abondance relative de chaque espèce, dont $p_i = n_i / N$
- ✓ n_i : effectif de l'espèce i
- ✓ N : effectif total du peuplement

- **Equitabilité**

Les valeurs de l'indice de diversité connaissent des déséquilibres qui peuvent être appréciés par l'indice d'équitabilité ou (régularité), afin de comparer les diversités de deux peuplements ayant des richesses spécifiques différentes, comme étant le rapport :

$$E = H / H_{\max}$$

Dont :

- ✓ H : indice de diversité.
- ✓ H_{\max} : étant la diversité maximale ($H_{\max} = \log_2 .S$).
- ✓ S : la richesse spécifique.

Une valeur de E proche de 1 traduit un peuplement plus équilibré.

3.1.3.3. Analyse factorielle des correspondances (AFC)

Cette méthode permet de rechercher les caractéristiques du milieu qui règlent la répartition des organismes. C'est une méthode descriptive d'ordination où une

correspondance est réalisée entre les relevés représentés par colonnes et les espèces par lignes ou l'inverse. Le nuage des points représenté soit par les relevés soit par les espèces dans l'espace multidimensionnel original, est caractérisé par des directions d'allongements privilégiées. Il s'agit d'axes factoriels qui contiennent une certaine proportion de l'information totale des données, les axes sont donc extraits par l'AFC (Chessel & Bernaud, 1987).

Les espèces rares présentent moins de trois fois dans les sites sont éliminées de l'analyse (Mekki, 1998). En effet, cette méthode a été réalisée à l'aide du logiciel de l'ADE-4.

3.2. Etude immunologique

3.2.1. Matériel biologique

Notre approche immunologique consiste à étudier l'effet de l'extrait brut larvaire d'une espèce allergisante sur le système immunitaire d'un modèle murin. Par conséquent, nous avons intégré l'un des résultats obtenus dans l'approche écologique ; qui ont montré une abondance remarquable d'une espèce dite *Phaenopsectra flavipes* dans une seule station d'étude. En fait, l'abondance de cette espèce allergisante (Cranston, 1988) dans notre zone d'étude nous laisse penser qu'une hypersensibilité aux Chironomidae existe dans cette région sans qu'elle soit étudiée. Suite à notre objectif de travail, nous nous sommes intéressés par les larves beaucoup plus que les autres stades de vie de l'insecte.

A. Les larves de *Phaenopsectra flavipes*

L'espèce de *Phaenopsectra flavipes* (Meigen, 1818) appartient à la famille des Chironomidae et à la sous famille des Chironominae (Tableau 13). Elle représente un indicateur de l'eau qui coule lentement ou stagnante (Hawtin, 1998).

Tableau 13 : Classification de *Phaenopsectra flavipes* (5).

<u>CLASSIFICATION</u>	<u>DENOMINATION</u>
Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta

Ordre	Diptera
Sous ordre	Nematocera
Famille	Chironomidae
Sous famille	Chironominae
Tribu	Chironomini
Genre	<i>Phaenopsectra</i>
Espèce	<i>Flavipes</i>

B. Le modèle animal

Des 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 environnement propre où les conditions d'hygiène sont respectées.

3.2.2. Méthode d'étude

3.2.2.1. Sur le terrain

A. Choix de la station d'échantillonnage

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 (368 30 12,4200 N, 78 190 33,4200 E) près de la région d'Oum El Bouaghi, à courant lent et en amont d'oued Charef (Carte 3). Cet affluent est caractérisé par une richesse et une dominance de l'espèce *Phaenopsectra flavipes*. A cause de l'abondance remarquable de cette espèce allergisante (Cranston, 1988) dans cette station d'étude, nous avons la sélectionné pour la collecte des larves afin de préparer l'extrait brut larvaire de l'insecte.

B. Plan d'échantillonnage

L'échantillonnage de l'espèce allergisante 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 (Wiederholm, 1983, 1986, 1989 ; Langton, 1991 ; Pinder, 1978). 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 (Cranston *et al.*, 1983).

3.2.2.2. Au laboratoire

A. Préparation de l'extrait brut

Les larves de *Phaenopsectra flavipes* ont été dégraissées par l'éther diéthylique pendant 24 heures avec trois changements d'éther (Cranston *et al.*, 1983). 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) à une concentration 1:20 (p/v) (Annexe 1) (Yong *et al.*, 1999 ; Shahali *et al.*, 2007) ont été réalisées, suivies par une incubation à 4°C pendant 10 heures (Yong *et al.*, 1999). 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* (Baur *et al.*, 1983) (Figure 37).

B. Dosage des protéines

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.

Cette méthode est une méthode d'analyse spectrophotométrique utilisée pour déterminer la concentration des protéines en solution. En fait, il s'agit d'un dosage colorimétrique au bleu de Commassie, dont l'absorbance va changer selon la couleur de l'échantillon, et il sera possible de déterminer la concentration de l'échantillon en comparant ce dernier avec des échantillons standardisés (BSA).

Pour cela, une série de tubes qui contiennent un volume identique et des quantités croissantes et connues de la protéine de référence (BSA) est préparée ce qui nous a permis de constituer une gamme étalon à partir de laquelle on peut tracer un droit étalon ; dont :

$$\text{Absorbance} = f(\text{Quantité})$$

D'autre part, une autre série de tubes, contenant des différentes dilutions de notre extrait protéique, est préparée. Enfin, l'absorbance des solutions dans les différents tubes est mesurée afin de comparer ce dernier avec celui du BSA.

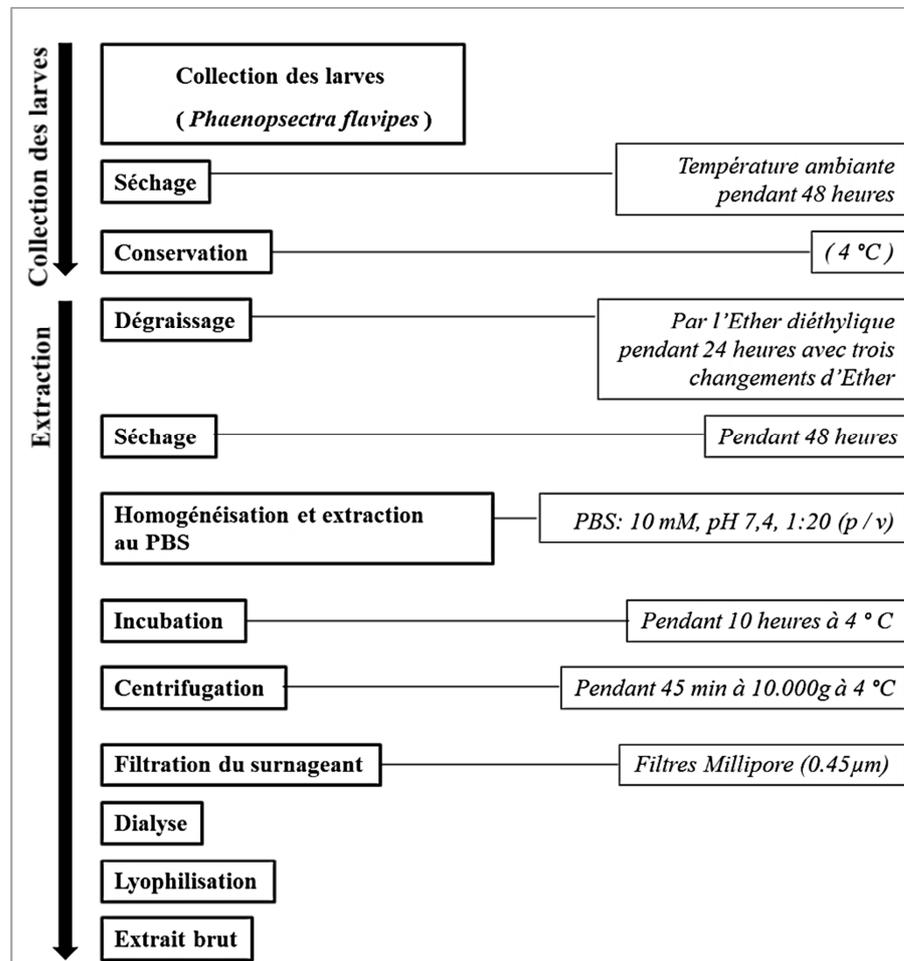


Figure 37 : Mode opératoire de la préparation de l'extrait brut des larves de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae) (Bensakhri *et al.*, 2014).

C. Fractionnement des protéines par précipitation au sulfate d'ammonium

La purification des protéines débute par une précipitation au sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Le tableau (14) ci-dessous donne les quantités de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ requises pour atteindre le niveau de saturation à 0°C et indique la quantité de sel à ajouter à une solution qui en contient déjà.

La procédure suivie est de préparer quatre précipitats avec des concentrations croissantes de sulfate (qu'on peut ajouter directement à la solution protéique) pour déterminer la fraction protéique la plus active de l'extrait brut. La première fraction protéique (F1) est

précipitée par addition de 106 g de sulfate d’ammonium par litre de solution (correspondant à une concentration finale de 20% de solution saturée). Après 48 h d’incubation à 4°C, le précipité est séparé du surnageant par centrifugation à 10 000 g pendant 45 min (à 4°C). En suivant le même protocole expérimental, la fraction F2 (40%), la fraction F3 (60%) et la fraction F4 (80%) sont récupérées respectivement après l’addition de 113 g, 120 g et 129 g de sulfate d’ammonium par litre de solution (Mondoulet, 2005). En fait, notre extrait brut a été fractionné en quatre fractions F1 (20%), F2 (40%), F3 (60%) et F4 (80%).

Tableau 14 : Tableau de saturation du sulfate d'ammonium à 0°C (6).

% de saturation en sulfate d'ammonium à 0°C																	
20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
grammes de sulfate d'ammonium à ajouter à un litre de solution:																	
106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697	0
79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662	5
53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627	10
26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592	15
0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557	20
	0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522	25
		0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488	30
			0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453	35
				0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	40
					0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383	45
						0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348	50
							0	30	61	93	127	161	197	235	273	313	55
								0	31	62	95	129	164	201	239	279	60
									0	31	63	97	132	168	205	244	65
										0	32	65	99	134	171	209	70
											0	32	66	101	137	174	75
												0	33	67	103	139	80
													0	34	68	105	85
														0	34	70	90
															0	35	95
																0	100

❖ **Remarque**

Les culots de protéines peuvent alors être resuspendus. Ils contiendront cependant encore une grande quantité de sulfate dont il faut se débarrasser par la dialyse contre le PBS 10 mM (pH 7,4) pendant 48 heures, avec 5 changements de bain (Mondoulet, 2005).

D. Sensibilisation des animaux

Les souris ont été divisées au hasard en six lots, chacun comprenant 6 souris. Les souris du premier lot ont reçu des instillations intranasales de 100 mg de l’extrait brut des larves de *P. flavipes*. Cet extrait est préparé préalablement dans 10 ml de la solution de PBS, passé sur des filtres Millipore (0,45 µm) et introduit à raison de 5 ml 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 des autres lots, en utilisant les quatre fractions de l'extrait brut (Fraction 1, 2, 3 et 4) respectivement pour le deuxième, le troisième, le quatrième et le cinquième lot des animaux. Enfin, le même traitement a été effectué pour les souris du sixième 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 (Fischer *et al.*, 2005) (Figure 38).

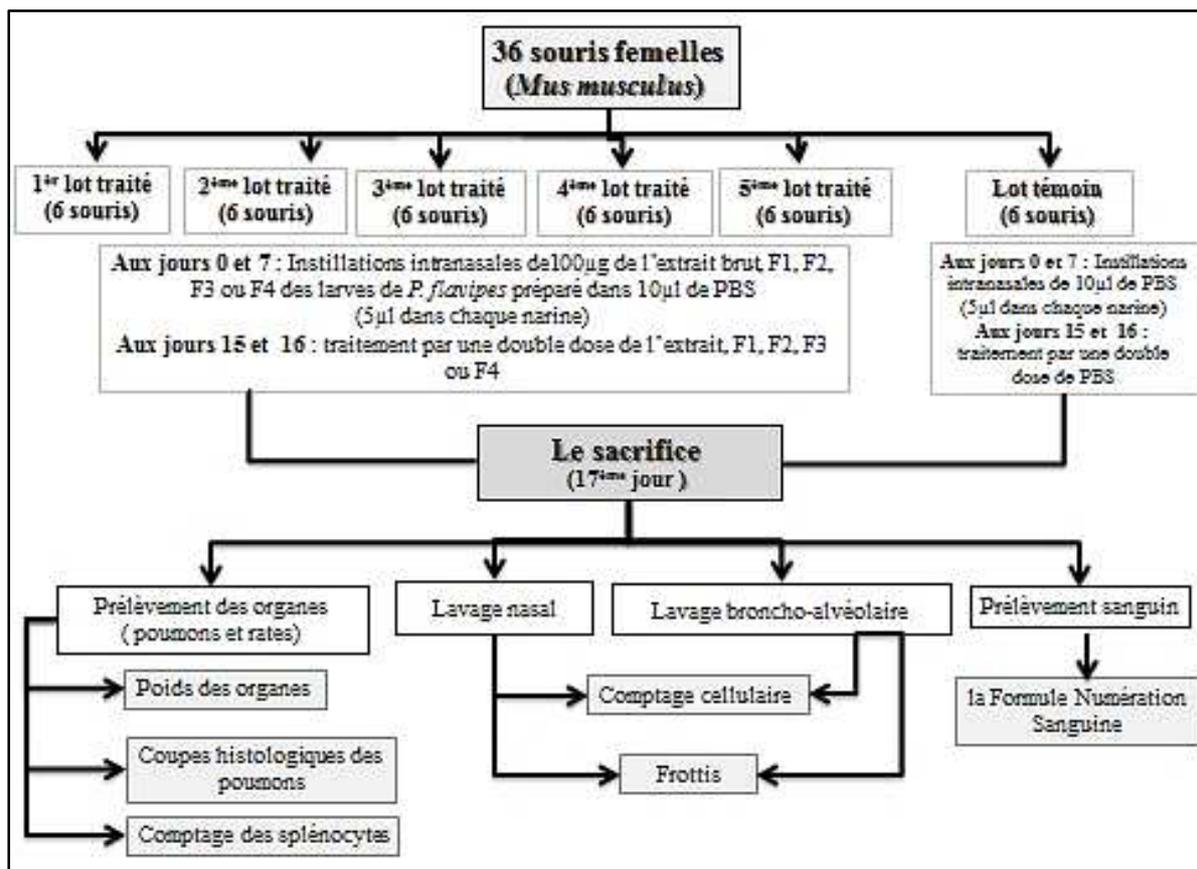


Figure 38 : Le protocole expérimental utilisé pour la sensibilisation intranasale des souris témoins et traitées.

E. Les paramètres immunologiques étudiés

a. 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 (Urbain *et al.*, 1994) (Figure 39).

b. Lavage broncho-alvéolaire

Au 17^e jour, les souris euthanasiées par l'exposition au chloroforme ont subi des lavages broncho-alvéolaires (Figure 39). 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) (Dorion, 2005). 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) (Li *et al.*, 2010). Des frottis des deux liquides nasal et bronchoalvéolaire 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 %) (Annexe 2) et en utilisant la cellule de Malassez. Les résultats sont exprimés en leucocytes par litre du liquide récolté.

c. 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).

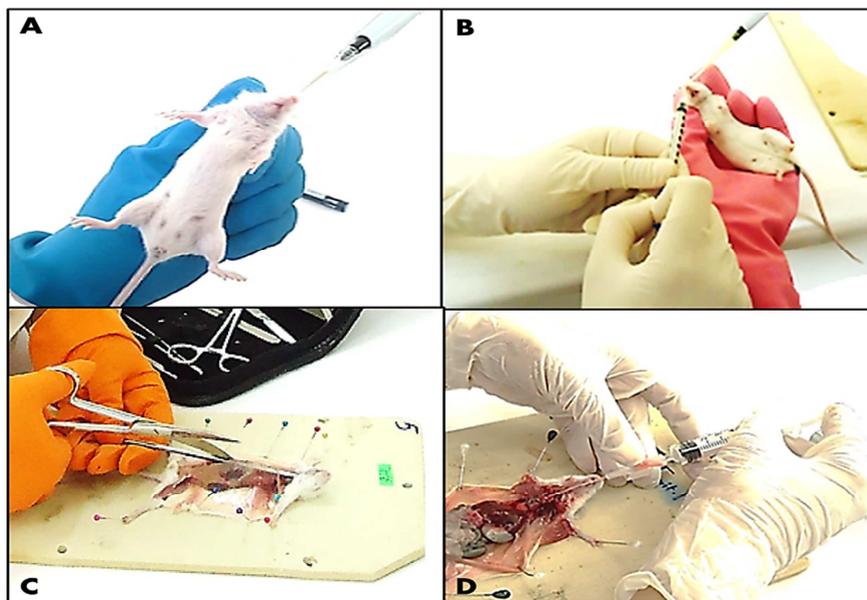


Figure 39 : Technique de la sensibilisation intranasale (A) ; lavage nasal (B) ; dissection (C) et lavage bronchoalvéolaire des souris (D).

d. Etude histologique

Après dissection des souris, les poumons ont été pesés afin d'étudier la variation de son poids après la sensibilisation par l'extrait brut. D'autre part, ces organes ont été fixés au formol (1 %) pour une étude histologique après la coloration d'HES (Hématoxyline-Eosine-Safran).

➤ **Fixation**

Les poumons ont été fixés au formol (1 %) pour la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement(7).

➤ **L'inclusion : réalisation du bloc en paraffine**

Dès que les organes achèvent leur fixation, ils sont découpés en fragments de petite taille (en moyenne 2x2x 0.3cm) et déposés dans des cassettes en plastique. Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de solvant « xylène ». Les tissus déshydratés sont coulés dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse. Ces étapes sont automatisées dans des appareils à inclusion(7).

➤ **Coupes et colorations : réalisation de la lame**

Le bloc de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à un microtome ; permettant d'obtenir des coupes de 3 à 5 μm d'épaisseur. Ces coupes sont étalées sur des lames de verre puis séchées afin d'assurer une bonne adhésion des tissus à la lame avant la coloration. La coloration usuelle HES (Hématoxyline-Eosine-Safran) associe un colorant basique nucléaire (hémateïne, hématoxyline) et un colorant acide cytoplasmique (éosine érythroisine. ou phloxine) on y ajoute souvent du safran qui se fixe sur le collagène. L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé, l'éosine colore le cytoplasme en rose et le safran colore les fibres collagènes en jaune.

La coupe colorée est protégée par une lamelle. Elle est analysée au microscope optique par un médecin anatomo-pathologiste qui établit un compte rendu (7).

e. Isolement des splénocytes

Après avoir pesé la rate pour évaluer la variation de son poids, elle est déposée dans une boîte de pétri contenant 3ml de solution de PBS et débarrassée de la graisse. A l'aide de deux pinces, la capsule est vidée de son contenu cellulaire. La suspension cellulaire est ensuite filtrée à travers une gaze, puis centrifugée pendant 10 min à 1500 rpm. Le culot est remis en suspension dans 3 ml de PBS. Pour un bon comptage, une étape de lyse est nécessaire afin d'éliminer les globules rouges précipités avec le culot. Cette technique consiste à incuber la suspension cellulaire avec un volume de 4.5ml de solution de lyse (voir l'annexe) ; pendant 10 min. Ensuite, la suspension est centrifugée 10 min à 1500 rpm, puis le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS. Cette dernière étape est répétée jusqu'à l'élimination des globules rouges (Daun *et al.*, 1995), (Ducan *et al.*, 1995).

A la fin du dernier lavage, le culot cellulaire est repris dans 3ml de PBS. Un comptage des splénocytes a été réalisé après avoir dilué 100µl de la suspension cellulaire dans 900µl de bleu de trypan (0,2%) (Annexe 2), en utilisant la cellule de malassez.

3.2.3. Analyse statistique des données

Notre étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique Minitab. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm un écart-type. Les résultats sont analysés par le test Anova univarié suivi du test Dunnett. Ce test est utilisé pour comparer les moyennes de plusieurs lots à la moyenne du lot témoin ou de référence pour chacun des 12 paramètres immunologiques mesurés. Les valeurs de $p \leq 0,05$ sont considérées statistiquement significatives.

CHAPITRE 4 :

RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Etude écologique

4.1.1. Etude des variables abiotiques des écosystèmes

4.1.1.1. La température

La courbe de l'évolution mensuelle moyenne de la température de l'eau dans les stations d'oued Charef, a montré que la température moyenne la plus basse de l'eau a été notée au mois de janvier (8.78°C). En plus, la température la plus élevée a été enregistrée au mois d'août avec une valeur de 22.12°C (Figure 40). En revanche, on a évité d'étudier la variation spatiale de la température en fonction du temps, à cause des fluctuations de température pendant la même journée. On note que oued Nile est caractérisé par une période sèche du mois de juin jusqu'au mois de janvier.

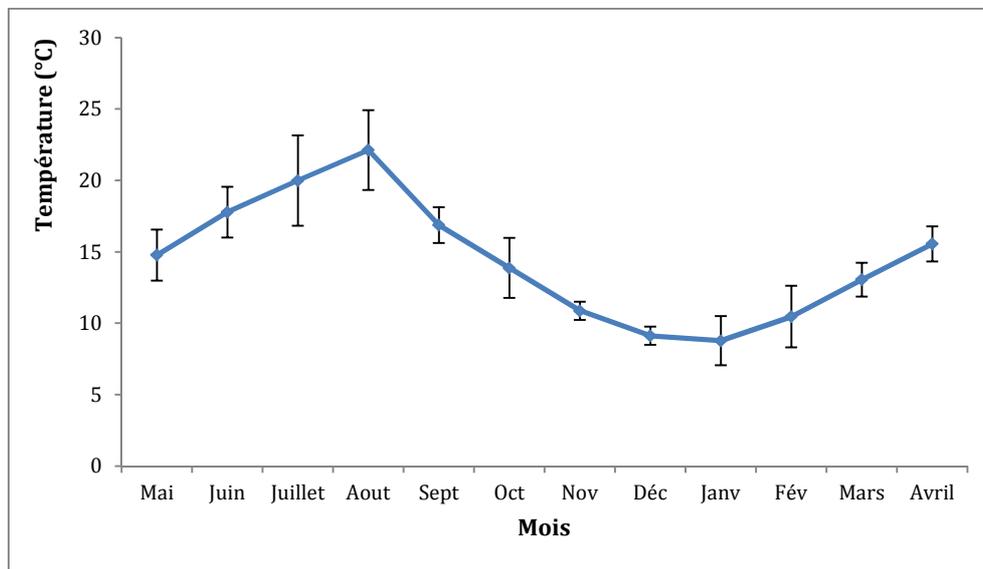


Figure 40 : Variation mensuelle moyenne de la température de l'eau dans les stations d'étude.

4.1.1.2. L'oxygène dissous

Les teneurs les plus élevées en oxygène dissous sont enregistrées dans la station de Ain Makhoulf, Medjez Amar, oued Chaniour et oued Dehmane durant le mois de janvier, qui sont respectivement de l'ordre de 8,1 ; 9,6 ; 8,4 et 9,2 mg/l. Par contre, les valeurs les plus basses sont observées au niveau de la station d'oued Crabe et oued Tifeche avec une valeur de 1,2 mg/l pour ces deux stations (Figure 41 et 42).

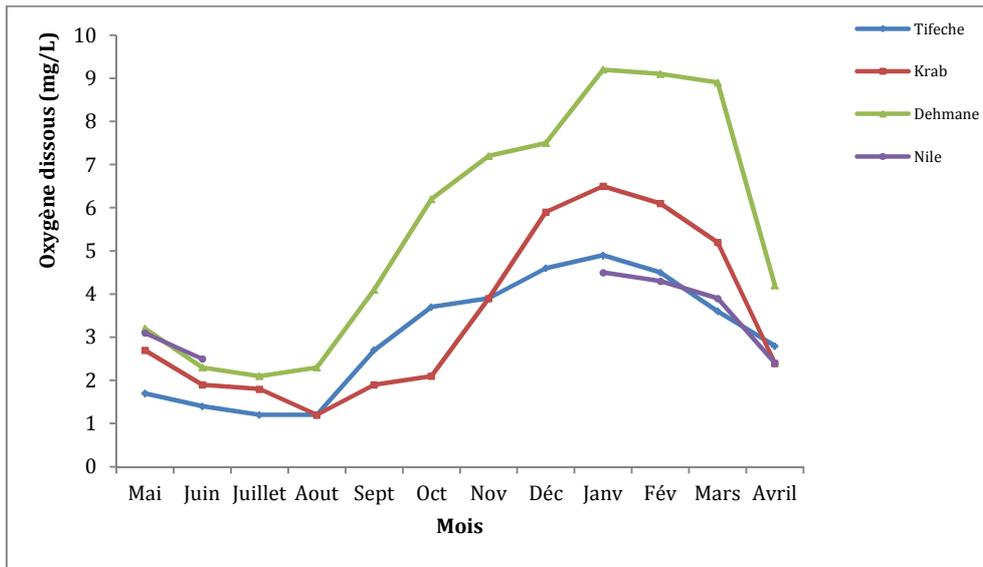


Figure 41 : Variation mensuelle moyenne de l’oxygène dissous dans les stations étudiées (Charef amont)

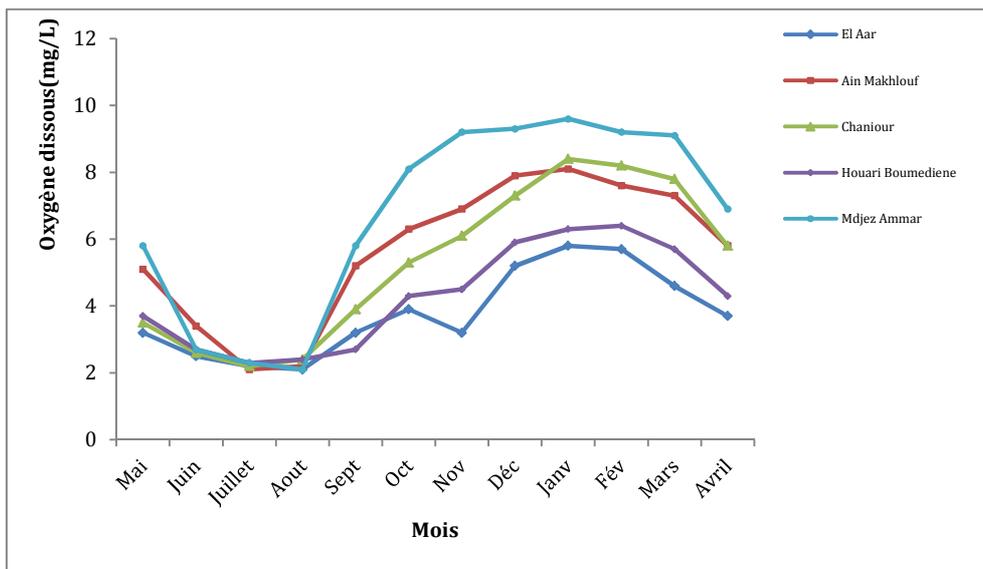


Figure 42 : Variation mensuelle moyenne de l’oxygène dissous dans les stations étudiées (Charef aval)

Par ailleurs, l'analyse des résultats obtenus montre que l'oxygène dissous est bien corrélé négativement avec la température de l'eau : lorsque la température augmente en été ; l'oxygène chute ; et suit une tendance inverse en augmentant lorsque celle-ci baisse ($r = -0,71$, $p=0,032$) (Figure 43).

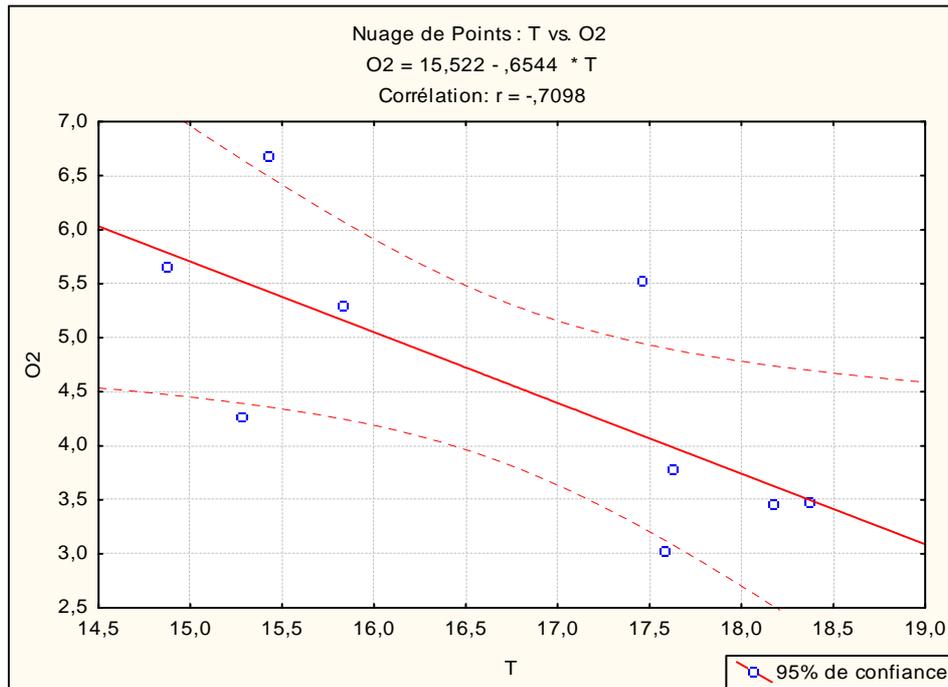


Figure 43 : Corrélation établie entre la température et l'oxygène dissous dans les stations d'étude.

4.1.1.3.La conductivité

Ce paramètre est influencé par la température car la mobilité des ions augmente avec l'augmentation de la température (Rejsek, 2002). Les courbes d'évolution mensuelle de la conductivité, au niveau des stations étudiées ont montré un taux très élevé de la conductivité pendant la période estivale, dans la station d'oued Dehmane (Charef amont) et dans la station d'Ain Makhlouf (Charef aval) ; respectivement de 1986 $\mu\text{s}/\text{cm}$ de 2983 $\mu\text{s}/\text{cm}$. Par contre, la conductivité atteint des faibles valeurs au cours de la période pluvieuse. En fait, une stabilité de la conductivité a été remarquée au niveau des autres stations avec une légère diminution dans les stations du Charef amont (Figure 44) par rapport au Charef aval (Figure 45).

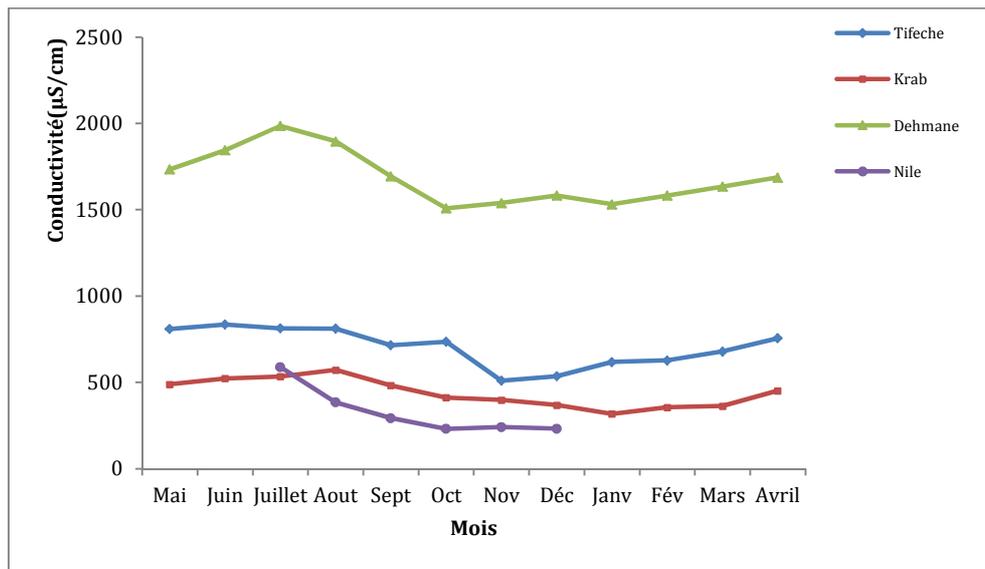


Figure 44 : Les variations mensuelles moyennes de la conductivité des stations étudiées (Charef amont)

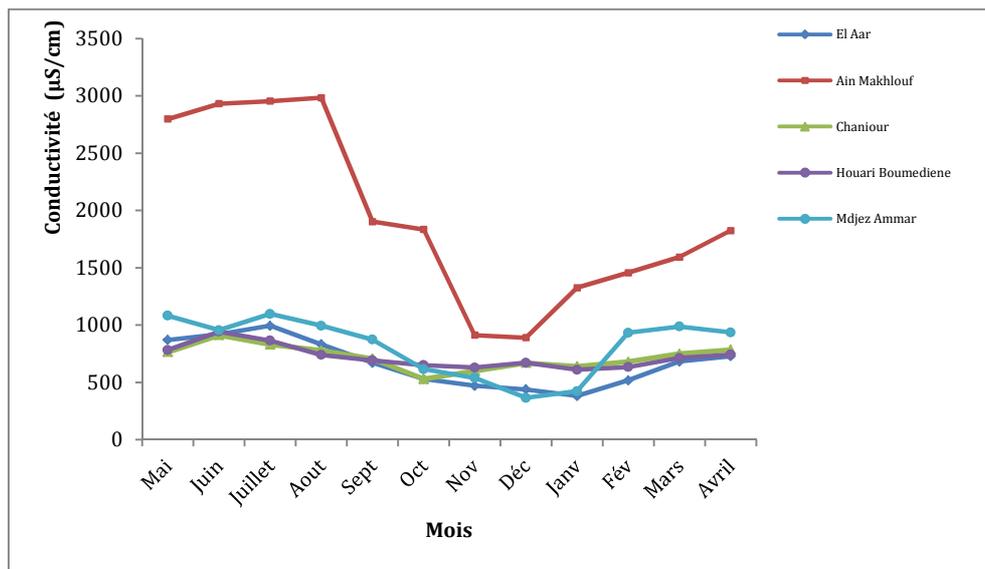


Figure 45 : Les variations mensuelles moyennes de la conductivité des stations étudiées (Charef aval)

4.1.1.4. Le pH

Les fluctuations du pH sont peu marquées dans nos stations, dont les valeurs de pH varient entre un minimum de 7,1 pendant la période estivale ; et un maximum de 8,3 pendant la période hivernale (Figure 46 et 47). Ces valeurs ne dépassent pas les valeurs habituelles des eaux naturelles et compatibles à la vie aquatique.

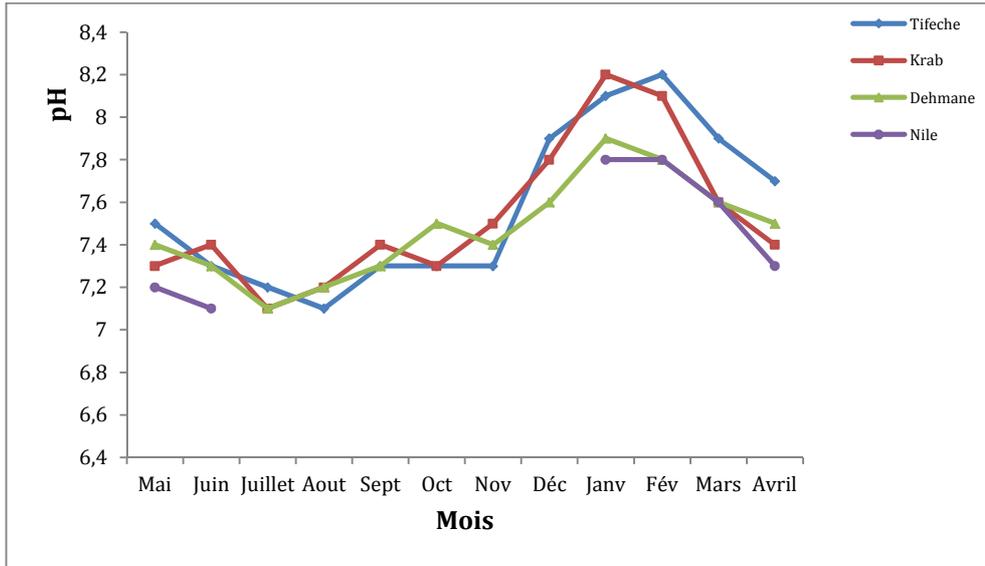


Figure 46 : Variation moyenne mensuelle du pH au niveau des stations du Charef amont.

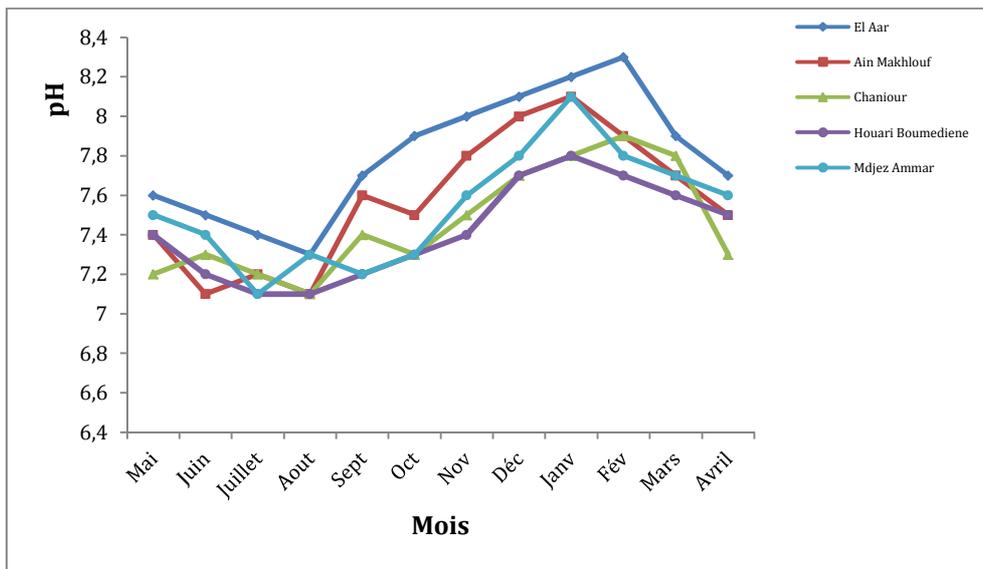


Figure 47 : Variation moyenne mensuelle du pH au niveau des stations du Charef aval.

4.1.1.5.L'altitude

Les stations d'étude sont réparties selon un intervalle altitudinal très hétérogène; varié principalement entre 270 à 780 m (figure 48). Les sites de haute altitude situant au niveau du bassin du Charef amont, sont oued Crabe (773,1m), oued Nile (771,9m), oued Dehmane (761,5m), oued Tifeche (741,6m). Tandis que les sites de faible altitude localisés au bassin du Charef aval ; sont oued Chaniour (727,9m), oued El Aar (603m), oued Charef à Ain Makhlouf (587m), oued Charef à Houari Boumediene (287m), oued Charef à Medjez Ammar

(267,2m). Cette hétérogénéité altitudinale influe sur la diversité et la répartition des macroinvertébrés (Garrido *et al.*, 1994 a).

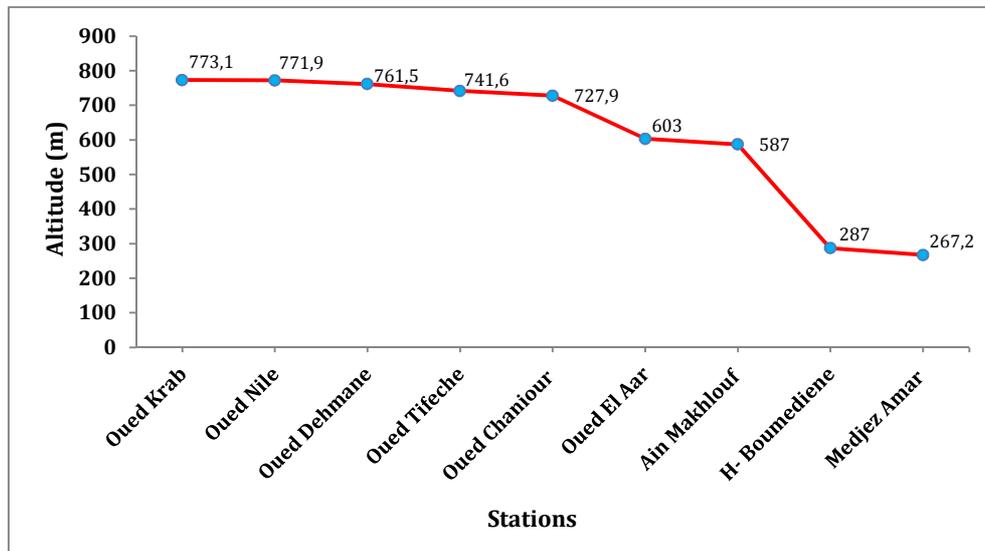


Figure 48 : Variation altitudinale des stations prospectées.

4.1.2. Check-list des espèces des Chironomidae au cours de la période d'étude

Le tableau 15 présente le check-list des espèces de Chironomidae dans les neuf stations d'étude sur le cours d'eau principal d'oued Charef (Nord-Est algérien) et quelques affluents en amont et en aval, au cours de l'année d'étude qui s'étalait du mois de mai 2012 jusqu'à avril 2013. Ce tableau nous montre que dans ces sites 75 espèces de Chironomidae sont présentes. Ces espèces sont réparties sur 04 sous familles, la sous famille des Chironominae englobe la majorité des espèces avec 35 espèces, suivie par celle des Orthocladiinae (24 espèces), puis la sous famille des Tanypodinae qui englobe 15 espèces et enfin la sous famille des Prodiamesinae qui contient une (01) seule espèce. D'après ce tableau, on remarque également que les Chironomidae sont représentés par tous les stades de leur cycle de vie : larvaire, nymphal et imaginal.

Les Chironomini présents dans les stations d'étude sont représentés par les genres suivants : *Chironomus*, *Cladotanytarsus*, *Cryptochironomus*, *Cryptotendipes*, *Dicrotendipes*, *Einfeldia*, *Endochironomus*, *Harnishia*, *Microchironomus*, *Microtendipes*, *Phaenopsectra*, *Parachironomus*, *Polypedilum* et *Stictochironomus*. Egalement, les tanytarsisni sont représentés par les genres suivants : *Krenopsectra*, *Micropsectra*, *Paratanytarsus*, *Rheotanytarsus* et *Tanytarsus*. Les Orthocladiinae ont englobé les genres suivants : *Cricotopus*, *Chaetocladius*, *Eukiefferiella*, *Heterotrissocladius*, *Limnophyes*, *Nanocladius*,

Orthocladius, *Paratrichocladius*, *Psectrocladius*, *Rheocricotopus*, *Rheotanytarsus*, *Pseudosmittia* et *Smittia*. Les Tanypodinae sont représentés par ces genres : *Ablabesmyia*, *Larsia*, *Macropelopia*, *Natarsia*, *Paramerina*, *Procladius*, *Tanytus*, *Thienemannimyia*, *Trissopelopia* et *Zavreliomyia*. Enfin, la sous famille des Prodiamesinae est représentée par un seul genre : *Prodiamesa*.

Tableau 15 : Check-list des espèces des Chironomidae au cours de l'année d'étude.

Sous famille	Espèce	Stade
Tanypodinae	<i>Ablabesmyia logistyla</i>	Ex
	<i>Ablabesmyia phatta</i>	L, P, Ex
	<i>Larsia sp</i>	L
	<i>Macropelopia nebulosa</i>	L, Ex
	<i>Natarsia sp</i>	L
	<i>Paramerina vaillanti</i>	P, Ex
	<i>Paramerina berkana</i>	M
	<i>Paramerina sp</i>	L
	<i>Procladius choreus</i>	L, Ex, P
	<i>Procladius lugens</i>	Ex
	<i>Tanytus punctipennis</i>	L, Ex, P
	<i>Thienemannimyia zousfana</i>	M
	<i>Trissopelopia longimana</i>	L, P
	<i>Trissopelopia sp</i>	L
	<i>Zavreliomyia berberi</i>	M
Prodiamesinae	<i>Prodiamesa olivacea</i>	L, P
Chironominae-chironomini	<i>Chironomus plumosus</i>	L, P, Ex, M
	<i>Cladotanytarsus vanderwulpi</i>	P
	<i>Cryptochironomus obreptans</i>	L, P
	<i>Cryptochironomus sp</i>	L
	<i>Cryptochironomus supplicans</i>	L, P
	<i>Cryptotendipes sp</i>	L
	<i>Cryptotendipes usmaensis</i>	P
	<i>Dicrotendipes nervosus</i>	L, P
	<i>Einfeldia pagana</i>	L, P
	<i>Endochironomus tendans</i>	L, P, Ex
	<i>Harnishia sp</i>	L
	<i>Harnishia curtilamellatus</i>	L, P
	<i>Harnishia fuscimana</i>	L, Ex
	<i>Microchironomus sp</i>	L
	<i>Microtendipes sp</i>	L
	<i>Microtendipes chloris</i>	L, P
	<i>Microtendipes confinis</i>	P

	<i>Microtendipes pedellus</i> <i>Phaenopsectra flavipes</i> <i>Parachironomus sp</i> <i>Polypedilum sp</i> <i>Polypedilum convictum</i> <i>Polypedilum cultellatum</i> <i>Polypedilum nubifer</i> <i>Polypedilum sordens</i> <i>Stictochironomus sp</i>	L, P L, P, Ex, M L L L, Ex L, Ex, P L, P, Ex, M P L
Chironominae-tanytarsini	<i>Cladotanytarsus sp</i> <i>Krenopsectra fallax</i> <i>Micropsectra contracta</i> <i>Micropsectra sp</i> <i>Paratanytarsus dissimilis</i> <i>Paratanytarsus sp</i> <i>Rheotanytarsus sp</i> <i>Tanytarsus sp</i> <i>Tanytarsus sylvaticus</i>	L L, P P L P L L L L, P
Orthoclaadiinae	<i>Cricotopus bicinctus</i> <i>Cricotopus tibialis</i> <i>Cricotopus trifasciatus</i> <i>Cricotopus fuscus</i> <i>Cricotopus sylvestris</i> <i>Cricotopus trifasciatus</i> <i>Chaetocladius insolitus</i> <i>Chaetocladius piger</i> <i>Eukiefferiella claripennis</i> <i>Eukiefferiella rectangularis</i> <i>Eukiefferiella gracei</i> <i>Heterotrissocladius subpilosus</i> <i>Limnophyes sp</i> <i>Limnophyes gurgicola</i> <i>Limnophyes minimus</i> <i>Nanocladius bicolor</i> <i>Orthocladius (Euorthocladius)</i> <i>Paratrithocladius sp</i> <i>Psectrocladius sordidellus</i> <i>Rheocricotopus fuscipes</i> <i>Rheocricotopus sp</i> <i>Rheotanytarsus distinctissimus</i> <i>Pseudosmittia sp</i> <i>Smittia sp</i>	L, Ex, P L, P P L, P L, P L, P P L, P P L, P P P L P P Ex, P L L L, P P L P L L

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

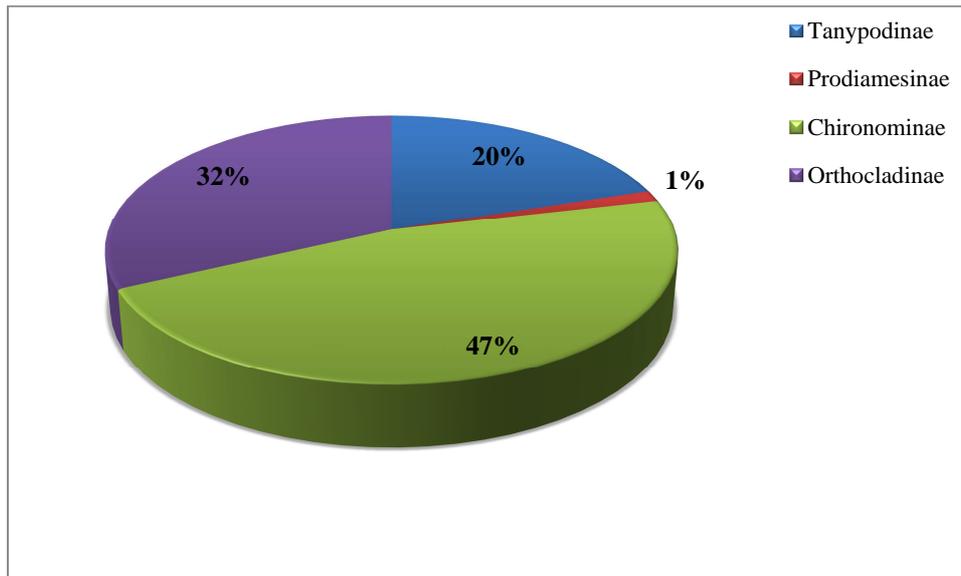


Figure 49: Le pourcentage des quatre sous familles de Chironomidae dans les stations d'étude.

La figure 49 représente le pourcentage des sous familles de Chironomidae. D'après cette figure, la sous famille la plus riche en espèces est celle des Chironominae (47%), suivie par celle des Orthocladinae (32%), puis celle des Tanypodinae (20%) et, et enfin la sous famille des Prodiamesinae (1%).

4.1.3. Description des espèces de Chironomidae d'oued Charef

1. *Procladius choreus* (Meigen, 1804)

Cette espèce appartient à la sous famille des Tanypodinae, tribu des Procladiini, elle a été capturée dans les sites d'étude aux stades : larvaire et nymphal. La larve de cette espèce est de taille moyenne (9-11mm), la capsule céphalique est de forme ovale. Elle est caractérisée par une antenne aussi longue que les mandibules avec un AR : 3.5-5. La mandibule est caractérisée par une dent apicale sombre et une seule dent interne. Le dorsomentum a 6 dents brunâtres de chaque côté. La ligule présente une marge antérieure concave, formée de 5 dents noires. Le corps est muni d'une frange natatoire et de 4 tubules anaux (Figure 50) (Wiederholm, 1986).

La nymphe de *P. choreus* est d'une couleur souvent jaunâtre, elle est caractérisée par une corne thoracique en forme d'une trompette avec une surface couverte de spinules, la plaque criblée est ovale et communique avec l'atrium respiratoire (Langton, 1991).

Les adultes de *P. choreus* montrent un abdomen noir, ils sont caractérisés par une membrane des ailes recouverte de macrotriches. La partie distale de l'aile est noirâtre et le processus postérieur du gonostyle est deux fois plus long que large.

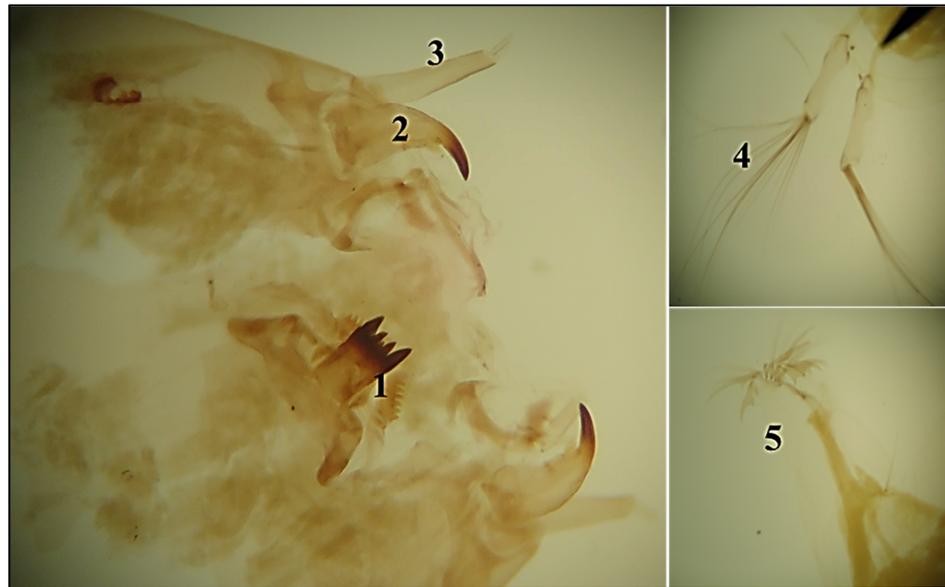


Figure 50 : Larve de *Procladius choreus* (x100) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : antenne (x400) ;
4 et 5 : partie anale de la larve)

2. *Tanypus punctipennis* (Meigen, 1818)

Cette espèce appartient à la sous famille des Tanypodinae, elle n'a été capturée qu'aux stades nymphal et larvaire dans les sites d'étude. La larve de cette espèce est de grande taille (10-12 mm), la capsule céphalique est de forme ovale. La larve est caractérisée par une mandibule courte et comprimée, des dents du dorsomentum transversés. La pseudoradula est absente.

La paraligule montre des petites dents longues et pointues. Le corps est muni d'une frange natatoire, avec 6 tubules anaux et des procerques 5 fois plus longs que larges.

La nymphe de *T. punctipennis* est caractérisée par des segments III-VIII avec une frange latérale de filaments. Un lobe anal court et arrondi. Le segment VIII s'étend postérieurement de chaque côté du lobe anal. Une Corne thoracique de 645-1010 µm de long et en forme de D, couverte de petits points sans plastron (Langton, 1991).

3. *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818)

C'est la seule espèce appartenant à la sous famille des Prodiamesinae échantillonnée dans les sites d'étude. Les larves de cette espèce sont caractérisées par :

- ✓ Antennes constituées de quatre segments. Le segment basal est beaucoup plus grand que les trois successifs. A l'apex du deuxième segment il y a deux organes de Lauterborn.
- ✓ Le labrum présente généralement une paire de peignes labrales et un groupe de grosses soies diversement développées.
- ✓ Les soies labrales sont profondément modifiées : les SI sont dentés à leur apex, les SII et SIII sont simples.
- ✓ Le mentum présente des plaques paralabiales allongées et toujours munies de longues soies (barbe).
- ✓ Le prémentum présente une seule touffe de soies (Figure 51) (Wiederholm, 1983).

Les nymphes de cette espèce ressemblent beaucoup à celles des Orthoclaadiinae, mais elles se distinguent par la combinaison des caractères suivants (Langton, 1991) :

- ✓ Corne thoracique toujours présentes mais avec connexion indirecte avec les stigmates de l'adulte.
- ✓ Le lobe anal avec soit une frange complète constituée de longues soies et souvent 4-5 macrosetae marginales ou, 3 macrosetae marginales ; ou une frange constituée de courtes soies.
- ✓ Sur les tergites abdominaux il n'y a jamais de grosses épines.
- ✓ Les trois ébauches de pattes sont recourbées en S.
- ✓ Les marges antérieures des segments abdominaux sont munies de fines bandes noires.



Figure 51 : Larve de *Prodiamesa olivacea* (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre

4. *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758)

Cette espèce appartient à la sous famille des Chironominae, tribu des Chironomini. Elle a été échantillonnée aux stades : larvaire, nymphal et adulte.

La larve de *C. plumosus* est de grande dimension (25 à 30 mm de longueur), très reconnue par la présence de longs tubules ventraux au niveau du 8^{ème} segment. Elle est caractérisée par une antenne de 5 segments. Prémantibules souvent avec 2 dents. Les mandibules sont caractérisées par une dent dorsale pale, une dent apicale noire et toujours 3 dents internes présentes. Le mentum est formé d'une dent trifide et 12 autres latérales (Figure 52) (Wiederholm, 1983).

La nymphe de *C. plumosus* est caractérisée principalement par :

- ✓ Une grande taille (13-19 mm) de couleur dorée (très rarement brunâtre).
- ✓ Corne thoracique plumeuse.
- ✓ Sternites III et IV sans spinules.
- ✓ Des peignes formées de longues soies à la fin du segment VIII.

L'adulte de *C. plumosus* est caractérisé par :

- ✓ Couleur du corps pale et claire.
- ✓ Gonostyle fin et long, ainsi que le point anal.
- ✓ Tarse antérieure avec une barbe distincte.

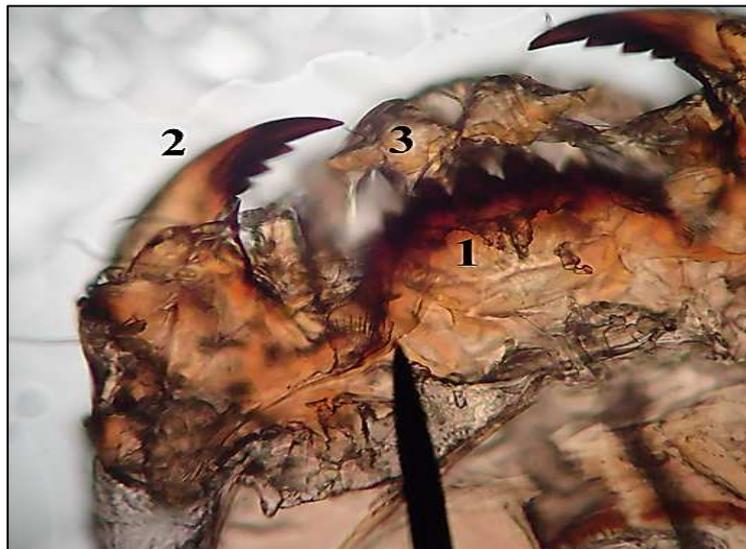


Figure 52 : Larve de *Chironomus plumosus* (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre

5. Genre *Cryptochironomus* (Kieffer)

5.1. *Cryptochironomus sp*

La larve a un corps fusiforme, de couleur rouge et de longueur inférieure à 15 mm. Les segments abdominaux sont plus robustes du côté antérieur que postérieur ; les tubules anaux sont au nombre de 4, courts et pointus. La capsule céphalique est très petite, par rapport au reste du corps avec une forme ovale. Le mentum caractéristique de ce genre, présente 5 dents latérales sombres et une dent médiane claire, large et de couleur jaunâtre. Les plaques labiales du ventrementum sont larges du côté du mentum et plus étroites à l'extérieur, avec des striations bien visibles. L'antenne est formée de 5 segments dont le 2^{ème} et le 3^{ème} sont de même longueur. Le segment basal porte dans le tiers distal supérieur un organe annelé. Les soies antérieures SI sont courtes et simples ; les soies postérieures SII sont longues et épaisses. La pectine épipharyngis porte 6 à 7 dents disposées en forme de V. La prémandibule s'élargit vers la partie apicale où se présentent 4 dents dont la plus grande se trouve dans la partie distale. La mandibule porte une dent apicale longue et deux dents latérales à pointes ; la coiffe interne porte 4 soies. Le palpe maxillaire montre à son sommet 5 petites soies simples et de longueur 3 à 4 fois sa largeur (Figure 53) (Wiederholm, 1983).

L'identification des nymphes a permis de déterminer 2 espèces : *Cryptochironomus supplicans* et *Cryptochironomus obreptans*.



Figure 53 : Larve de *Cryptochironomus sp* (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre ; 4 : antenne

5.2. *Cryptochironomus obreptans* (Walker, 1856)

Les nymphes de cette espèce sont caractérisées par :

- ✓ Les excroissances thoraciques postérieures sont coniques, granulaires ou lisses.
- ✓ Les tubercules céphaliques sont crochus à leur apex (Langton, 1991).

5.3. *Cryptochironomus supplicans* (Meigen, 1830)

Les nymphes de cette espèce sont caractérisées par :

- ✓ Les excroissances thoraciques postérieures sont tronquées.
- ✓ Les tubercules céphaliques courbés, courts moins de 200µm de long (Langton, 1991).

6. Genre *Harnishia*

6.1. *Harnishia* sp (Kiffer, 1921)

Les larves de cette espèce sont caractérisées par : Deuxième segment antennal sclérifié, de longueur égale à celle du troisième. Pectine epipharyngis composée de 3 dents d'égale longueur (Figure 54) (Wiederholm, 1983).

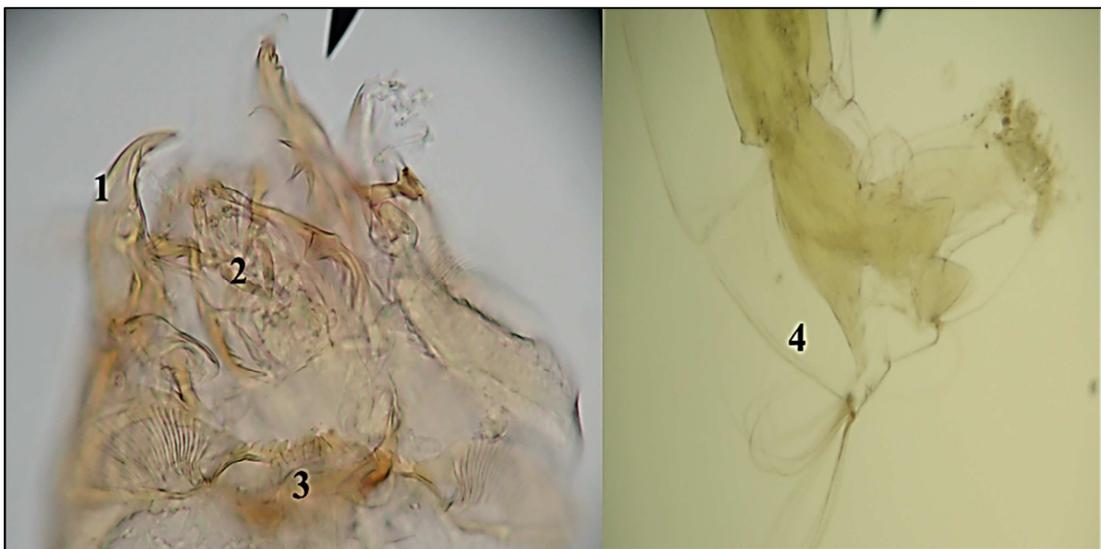


Figure 54 : Larve de *Harnishia* sp (x100) : 1 : mandibule ; 2 : labre; 3 : mentum (x400) ; 4 : partie anale de la larve

6.2. *Harnishia fuscimana* (Kiffer, 1921)

L'exuvie de cette espèce est de 4,5 à 6,7 mm de long. Sternite I avec des champs de points arqués et bien développés. Tergite VI sont rongés de points transverses (Langton, 1991).

7. Genre *Microtendipes* (Kieffer, 1915)

7.1. *Microtendipes* sp

La larve est de grande dimension (12-13 mm de longueur), les pseudopodes postérieurs sont larges et les tubules anaux pointus. La capsule céphalique est de couleur brunâtre avec une pigmentation plus sombre dans la partie postérieure que dans la région ventrale (Figure 55) (Wiederholm, 1983).

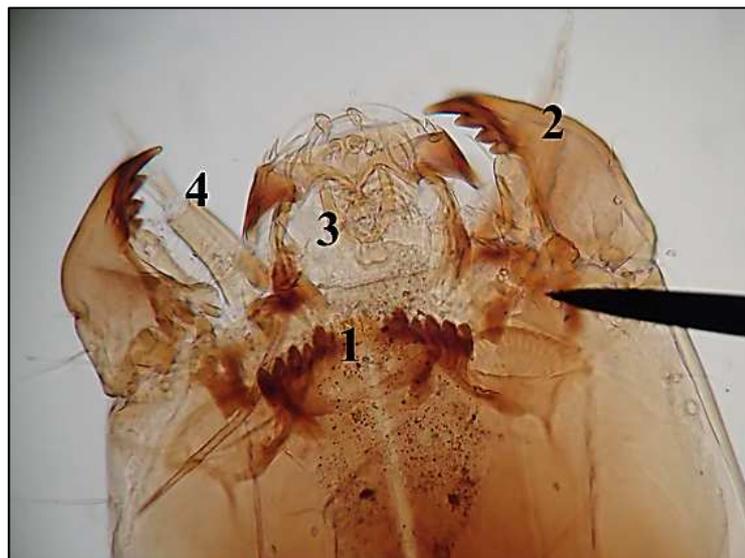


Figure 55 : Larve de *Microtendipes* sp (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre ; 4 : antenne

7.2. *Microtendipes chloris* (Meigen 1818)

Les nymphes sont caractérisées par des tubercules céphaliques coniques et longs. Sternite I avec des nuages de points restreints. Thorax faiblement rugueux ou lisse (Langton, 1991).

7.3. *Microtendipes confinis*

Armature des tergites abdominaux des nymphes est faible et s'étendant antérieurement et latéralement (Langton, 1991).

8. *Phaenopsectra flavipes* (Meigen, 1818)

La larve est de couleur rouge, mesurant 5 à 7 mm de longueur. Elle a des tubules anaux plus courts que les pseudopodes postérieurs. L'antenne est formée de 5 segments : le 1^{er} segment est légèrement plus long que la lame antennale. Les soies antérieures SI du labrum sont larges et de marge inférieure dentelée, les soies postérieures SII sont longues et de menus de soies dans la partie métadistale. La pectine épipharyngis est formée de 3 plaques portant chacune 3 à 4 dents, de dimension variable.

La prémandibule est bifide avec 2 dents terminales et avec une coiffe de soies dans sa partie ventrale. La mandibule a une dent apicale et 3 dents latérales dont la médiane est la plus petite ; elle présente aussi une dent dorsale plus petite que la dent apicale. Cette mandibule se caractérise surtout par une large entaille de la base des dents latérales. Le mentum est constitué de 2 dents médianes bien séparées les unes des autres et 6 paires de dents latérales, toutes très sombres, les plus externes (la 5^{ème} et la 6^{ème}) sont fortement réduites. La 1^{ère} dent latérale est plus large que la médiane, avec une longueur supérieure ou quasi égale à celle-ci. La complexité du mentum est similaire avec celle de l'espèce *Endochironomus dispar*. Pour la larve *Phaenopsectra*, les plaques du ventremmentum sont plus larges par rapport à *Endochironomus* et ayant une forme triangulaire. Cette espèce peut être distinguée d'*Endochironomus dispar* par la disposition des dents de la pectine épipharyngis (Figure 56) (Langton, 1991).

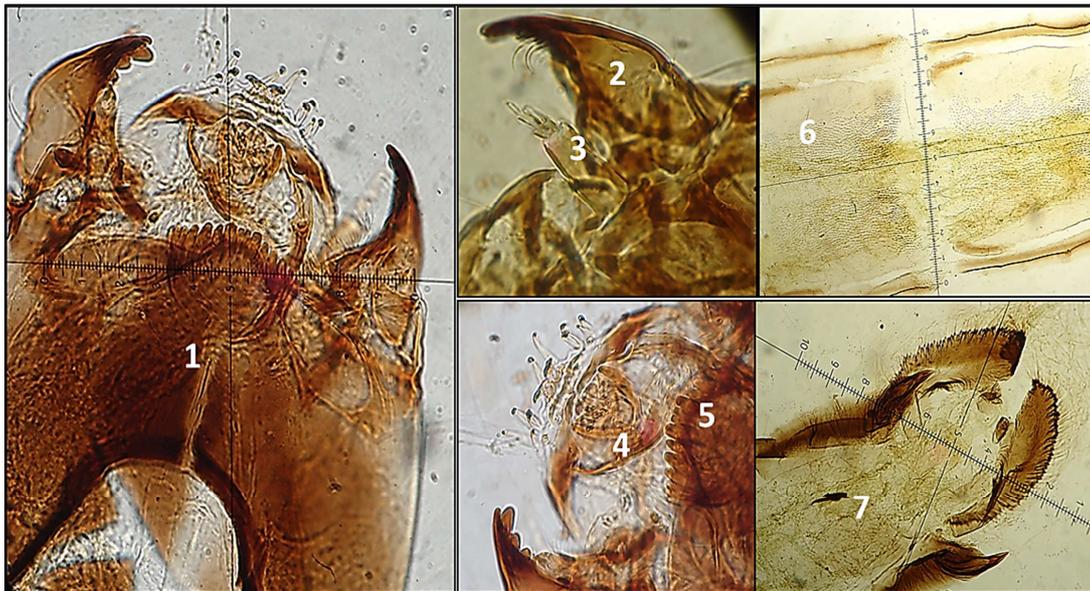


Figure 56 : Larve de *Phaenopsectra flavipes* (x400) : 1 : tête ; 2 : mandibule ; 3 : antenne ; 4 : labre ; 5 : mentum ; 6 : abdomen nymphal ; 7 : partie anale de la nymphe.

9. Genre *Polypedilum* (Kieffer)

9.1. *Polypedilum* sp

C'est un genre bien connu dans les eaux courantes et représenté par plusieurs espèces, toutes décrites au stade larvaire. A l'intérieur de ce genre, la larve montre des caractéristiques morphologiques très similaires au niveau du labrum, la pectine épipharyngis et la prémandibule. Le labrum a des soies antérieures SI plus larges que les postérieures et les soies SII portent des dents longues à la bordure interne. La pectine épipharyngis est formée de 3 lobes plus ou moins séparés. La plaque centrale porte généralement 3 dents, les 2 latérales de 3 à 5. La prémandibule se termine avec 3 dents, parmi lesquelles la plus interne est fortement réduite. Toutefois, la larve montre une forte variabilité en ce qui concerne les dimensions et quelques caractères d'antenne, de la mandibule et du mentum. En se basant sur ces différences morphologiques, il est possible de séparer les espèces du genre *Polypedilum* à l'échelle larvaire (Figure 57) (Wiederholm, 1983).



Figure 57 : Larve de *Polypedilum* sp (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre

9.2. *Polypedilum convictum* (Walker, 1856)

La larve est moyennement grande (8-9 mm) avec des tubules anaux longs et pointus. La capsule céphalique est de couleur jaune brunâtre et se distingue de celle de *Polypedilum nubeculosum* par la morphologie de l'antenne. Le 2^{ème} segment a une longueur égale ou

légèrement inférieure au complexe des segments 3-4-5 ; le 3eme segment est légèrement plus court que le 4^{ème}. La morphologie du mentum et du ventrementum est la même que celle de l'espèce *Polypedilum nubeculosum* (Nocentini, 1985).

9.3. *Polypedilum cultellatum* (Goetghebuer, 1931)

Exuvie moins de 6 mm de long. Segment III et IV armés avec des bandes apicales de points formant des bandes transverses (Langton, 1991).

9.4. *Polypedilum nubifer* (Skuse 1889)

La nymphe de *P. nubifer* est caractérisée par :

- ✓ des bandes de points apicales sont présentes sur les segments III, IV et V
- ✓ des bandes de points médians sont également présentes sur les tergites II et III.
- ✓ Tubercules céphaliques sont longs, coniques
- ✓ Corne thoracique très branchée
- ✓ Peigne sur le segment VIII en forme de crochet denté avec des dents additionnelles
- ✓ Lobe anal avec des soies dorsales (Langton, 1991).

L'adulte de *P. nubifer* est caractérisé :

- ✓ Tubercules frontaux présents
- ✓ Une soie sur la volcella médiane
- ✓ Des tâches sur les ailes (Pinder, 1978).

9.5. *Polypedilum sordens* (Wulp, 1874)

Exuvie de 5,4 à 6,6 mm de long. Lobe anal avec 43 à 64 filaments. Plus de 55 crochets dans la rangée de crochets de segment II (Langton, 1991).

10. Genre *Paratanytarsus* (Thienemann et Bause)

10.1. *Paratanytarsus dissimilis* (Johannsen, 1905)

La larve mesure 5 à 7 mm de longueur et présente des pseudopodes postérieurs munis de griffes de nombre variable entre 15 et 20 et de dimensions diverses. La capsule céphalique est de couleur variable entre jaune claire et brune. Le rapport entre la longueur du segment basal et de la somme des segments 2 à 5, oscille entre 1,9 et 2,4. L'organe de Lauterborn est

bien inséré dans la partie distale du 2eme segment. La morphologie des soies médianes (SI et SII) est similaire. La pectine epipharyngis est formée de 3 à 6 dents.

La prémandibule est bifide, à deux dents terminales, la plus interne est la plus large et la plus arrondie avec une coiffe de soies qui couvre toute la marge ventrale. La mandibule a une dent apicale, 2 à 3 dents latérales et une dorsale, toutes de couleur brunâtre. Le mentum est formé d'une dent médiane simple et 5 paires de dents latérales sombres. Les deux plaques du ventrementum ont des longueurs variables entre 4 et 4,3 fois la largeur et touchant à peine le centre (Langton, 1991).

11. Genre *Tanytarsus* (Vander Wulp)

11.1. *Tanytarsus* sp

Chez les Tanytarsini, *Tanytarsus* est le genre le plus riche en espèces, distribuées dans divers milieux d'eau calme et courante. La larve a une longueur comprise entre 4 et 8 mm, avec des pseudopodes postérieurs qui portent des griffes de diverses dimensions. L'antenne est plus courte par rapport à la longueur de la capsule céphalique. Le segment 2 porte dans l'extrémité de sa partie distale l'organe de Lauterborn. Les soies antérieures SI ont une marge inférieure dentelée. Les soies postérieures SII ont une extrémité lisse ou dentelée. La pectine epipharyngis est constituée de 3 lobes, constituées de 5 à 6 dents longues. La prémandibule porte une touffe de soies à la marge interne. La mandibule a une dent apicale et 3 à 4 dents latérales ; la dent dorsale est présente ou absente selon les espèces. Le mentum est formé d'une dent médiane et 5 paires de dents latérales plus sombres que la médiane (Figure 58) (Wiederholm, 1983).



Figure 58 : Larve de *Tanytarsus sp.* (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre ; 4 : antenne

11.2. *Tanytarsus sylvaticus* (Van Der Wulp, 1859)

La nymphe de cette espèce est caractérisée par une corne thoracique large à sa base, les filaments latéraux des segments V-VIII sont comme suit : 0, 0, 1, (1-2). En plus, l'ornementation des tergites III et IV est munie de points aussi bien que des épines (Langton, 1991).

12. *Cricotopus bicinctus* (Meigen, 1818)

La larve de *C. bicinctus* est caractérisée par un abdomen muni de soies courtes et simples. Le mentum est formé d'une dent médiane nettement plus large que les autres dents latérale. Prémandibules simples (Figure 59).

Chez la nymphe, la corne thoracique est trois fois plus long que large, elle n'est pas tronquée. Les soies dorso-centrales de même longueur, la 2^{ème} est plus mince que les autres (Langton, 1991).



Figure 59 : Larve de *Cricotopus bicinctus* (x400) : 1 : mentum ; 2 : mandibule ; 3 : labre

4.1.4. Relation des espèces de Chironomidae avec les sites d'étude

4.1.4.1. Check-list des espèces de Chironomidae dans les stations d'étude et leur fréquence pendant la période d'étude (12 mois)

Les tableaux de 16 à 24 représentent les check-lists des espèces ainsi que leur fréquence pour chaque station étudiée. Ceci nous permet de comparer le bagage spécifique entre les sites au cours la période d'étude.

A. Check-list des espèces de Chironomidae dans les stations d'étude (Charef amont)

Tableau 16 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Tifeche.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Ablabesmyia logistyla</i>	01/12
	<i>Natarsia sp</i>	01/12
	<i>Procladius choreus</i>	02/12
	<i>Procladius lugens</i>	01/12
	<i>Trissopelopia sp</i>	01/12
Chironominae-chironomini	<i>Chironomus plumosus</i>	09/12
	<i>Cryptotendipes sp</i>	01/12
	<i>Dicrotendipes nervosus</i>	04/12
	<i>Einfeldia pagana</i>	01/12
	<i>Harnishia sp</i>	01/12
	<i>Microchironomus sp</i>	01/12
	<i>Microtendipes sp</i>	03/12
	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	05/12

	<i>Parachironomus sp</i>	01/12
	<i>Polypedilum sp</i>	10/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Cladotanytarsus sp</i>	02/12
	<i>Paratanytarsus sp</i>	03/12
	<i>Tanytarsus sp</i>	01/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	5/12
	<i>Cricotopus sylvestris</i>	02/12
	<i>Limnophyes minimus</i>	01/12
	<i>Pseudosmittia sp</i>	01/12
	<i>Smittia sp</i>	01/12

Tableau 17 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Crabe.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Chironominae-chironomini	<i>Chironomus plumosus</i>	12/12
	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	1/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus tibialis</i>	2/12
	<i>Cricotopus trifasciatus</i>	1/12
	<i>Cricotopus sylvestris</i>	1/12
	<i>Cricotopus fuscus</i>	1/12

Tableau 18 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Dehmane.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Procladius choreus</i>	4/12
	<i>Trissopelopia longimana</i>	1/12
	<i>Tanypus punctipennis</i>	5/12
	<i>Trissopelopia sp</i>	1/12
	<i>Paramerina vaillanti</i>	2/12
	<i>Paramerina berkana</i>	1/12
	<i>Thienemannimyia zousfana</i>	1/12
	<i>Zavrelimyia berberi</i>	1/12
	Chironominae-chironomini	<i>Chironomus plumosus</i>
<i>Polypedilum sp</i>		4/12
<i>Phaenopsectra flavipes</i>		11/12
<i>Endochironomus tendans</i>		1/12
<i>Microtendipes pedellus</i>		1/12
<i>Microtendipes chloris</i>		1/12
<i>Microtendipes sp</i>		1/12
<i>Stictochironomus sp</i>		2/12
<i>Harnishia sp</i>		1/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Paratanytarsus sp</i>	2/12

	<i>Micropsectra contracta</i>	1/12
	<i>Tanytarsus sp</i>	1/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	7/12
	<i>Cricotopus sylvestris</i>	2/12
	<i>Cricotopus fuscus</i>	2/12
	<i>Limnophyes sp</i>	1/12
	<i>Psectrocladius sordidellus</i>	3/12
	<i>Nanocladius bicolor</i>	1/12

Tableau 19 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Nile.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Macropelopia nebulosa</i>	1/12
Chironominae-chironomini	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	01/12
	<i>Polypedilum sp</i>	01/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Cladotanytarsus sp</i>	01/12
	<i>Paratanytarsus sp</i>	01/12
	<i>Tanytarsus sp</i>	01/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	01/12
	<i>Eukifferiella gracei</i>	01/12

B. Check-list des espèces de Chironomidae dans les stations d'étude du Charef aval

Tableau 20 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued El Aar.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Procladius choreus</i>	2/12
	<i>Tanytus punctipennis</i>	1/12
	<i>Paramerina sp</i>	1/12
Chironominae-chironomini	<i>Cryptochironomus sp</i>	9/12
	<i>Cryptochironomus supplicans</i>	2/12
	<i>Cryptotendipes sp</i>	2/12
	<i>Polypedilum sp</i>	7/12
	<i>Endochironomus tendans</i>	1/12
	<i>Microtendipes sp</i>	4/12
	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	4/12
	<i>Harnishia fuscimana</i>	1/12
	<i>Harnishia sp</i>	6/12
	<i>Cryptochironomus obreptans</i>	1/12
	<i>Microtendipes confinis</i>	1/12
	<i>Chironomus plumosus</i>	1/12

	<i>Cladotanytarsus vanderwulpi</i>	1/12
	<i>Stictochironomus sp</i>	2/12
	<i>Harnishia curtilamellatus</i>	1/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Cladotanytarsus sp</i>	4/12
	<i>Rheotanytarsus sp</i>	2/12
	<i>Paratanytarsus sp</i>	2/12
	<i>Tanytarsus sp</i>	4/12
	<i>Tanytarsus sylvaticus</i>	1/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	5/12
	<i>Cricotopus fuscus</i>	1/12

Tableau 21 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Charef à Ain Makhoulouf.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Tanypus punctipennis</i>	3/12
	<i>Procladius choreus</i>	3/12
Prodiamesinae	<i>Prodiamesa olivacea</i>	1/12
Chironominae-chironomini	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	7/12
	<i>Polypedilum sp</i>	7/12
	<i>Chironomus plumosus</i>	3/12
	<i>Cryptochironomus sp</i>	5/12
	<i>Harnishia sp</i>	4/12
	<i>Polypedilum nubifer</i>	1/12
	<i>Polypedilum cultellatum</i>	1/12
	<i>Einfeldia pagana</i>	1/12
	<i>Microtendipes sp</i>	1/12
	<i>Cryptotendipes sp</i>	2/12
	<i>Cryptotendipes usmaensis</i>	1/12
	<i>Harnishia curtilamellatus</i>	1/12
	<i>Stictochironomus sp</i>	4/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Paratanytarsus sp</i>	1/12
	<i>Tanytarsus sylvaticus</i>	1/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	8/12
	<i>Rheocricotopus sp</i>	1/12
	<i>Rheocricotopus fuscipes</i>	1/12

Tableau 22 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Chaniour.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Natarsia sp</i>	1/12
	<i>Procladius choreus</i>	5/12
	<i>Trissopelopia longimana</i>	2/12
	<i>Ablabesmyia phatta</i>	2/12
	<i>Paramerina vaillanti</i>	1/12
	<i>Larsia sp</i>	1/12
Prodiamesinae	<i>Prodiamesa olivacea</i>	3/12
Chironominae-chironomini	<i>Chironomus plumosus</i>	2/12
	<i>Cryptochironomus sp</i>	6/12
	<i>Polypedilum sp</i>	9/12
	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	3/12
	<i>Microtendipes pedellus</i>	1/12
	<i>Polypedilum nubifer</i>	2/12
	<i>Microtendipes sp</i>	4/12
	<i>Microtendipes chloris</i>	1/12
	<i>Microtendipes confinis</i>	1/12
	<i>Harnishia sp</i>	4/12
	<i>Polypedilum cultellatum</i>	1/12
	<i>Endochironomus tendans</i>	1/12
	<i>Polypedilum convictum</i>	2/12
	<i>Stictochironomus sp</i>	1/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Cladotanytarsus sp</i>	1/12
	<i>Krenopsectra fallax</i>	2/12
	<i>Micropsectra sp</i>	1/12
	<i>Paratanytarsus sp</i>	3/12
	<i>Tanytarsus sp</i>	3/12
	<i>Tanytarsus sylvaticus</i>	2/12
Orthocladiinae	<i>Cricotopus trifasciatus</i>	1/12
	<i>Cricotopus bicinctus</i>	6/12
	<i>Rheocricotopus sp</i>	2/12
	<i>Paratrithocladius sp</i>	1/12
	<i>Eukiefferiella rectangularis</i>	2/12
	<i>Orthocladius (Euorthocladius)</i>	1/12
	<i>Eukiefferiella claripennis</i>	1/12
	<i>Cricotopus sylvestris</i>	1/12
	<i>Limnophyes sp</i>	3/12
	<i>Heterotrissocladius subpilosus</i>	1/12
	<i>Limnophyes gurgicola</i>	1/12
	<i>Chaetocladius insolitus</i>	1/12
	<i>Chaetocladius piger</i>	1/12

Tableau 23 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Charef à Houari-Boumediene.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Trissopelopia longimana</i>	1/12
	<i>Procladius choreus</i>	1/12
	<i>Tanypus punctipennis</i>	7/12
Prodiamesinae	<i>Prodiamesa olivacea</i>	1/12
Chironominae-chironomini	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	6/12
	<i>Cryptochironomus sp</i>	4/12
	<i>Polypedilum sp</i>	9/12
	<i>Harnishia sp</i>	3/12
	<i>Microtendipes sp</i>	1/12
	<i>Cryptochironomus obreptans</i>	1/12
	<i>Polypedilum sordens</i>	1/12
	<i>Chironomus plumosus</i>	5/12
	<i>Polypedilum nubifer</i>	1/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Cladotanytarsus sp</i>	2/12
	<i>Micropsectra contracta</i>	1/12
	<i>Paratanytarsus sp</i>	2/12
	<i>Tanytarsus sp</i>	1/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	5/12
	<i>Psectrocladius sordidellus</i>	2/12
	<i>Paratrichocladus sp</i>	1/12
	<i>Cricotopus fuscus</i>	1/12
	<i>Rheotanytarsus distinctissimus</i>	1/12
	<i>Cricotopus sylvestris</i>	2/12

Tableau 24 : Check-list des espèces de Chironomidae dans la station d'oued Charef à Medjez Amar.

Sous famille	Espèce	Fréquence
Tanypodinae	<i>Procladius choreus</i>	4/12
	<i>Tanypus punctipennis</i>	5/12
Chironominae-chironomini	<i>Phaenopsectra flavipes</i>	6/12
	<i>Cryptotendipes sp</i>	4/12
	<i>Harnishia sp</i>	3/12
	<i>Cryptochironomus sp</i>	1/12
	<i>Polypedilum sp</i>	10/12
	<i>Endochironomus tendans</i>	1/12
	<i>Dicrotendipes nervosus</i>	2/12
	<i>Chironomus plumosus</i>	6/12

	<i>Microchironomus sp</i>	2/12
	<i>Stictochironomus sp</i>	1/12
Chironominae-tanytarsini	<i>Paratanytarsus sp</i>	2/12
	<i>Paratanytarsus dissimilis</i>	1/12
Orthocladinae	<i>Cricotopus bicinctus</i>	7/12
	<i>Nanocladius bicolor</i>	2/12
	<i>Cricotopus sylvestris</i>	3/12

4.1.4.2. Répartition spatiale des espèces de Chironomidae

Pour comprendre la répartition spatiale des espèces de Chironomidae au sein des stations d'échantillonnage, nous avons procédé à la réalisation de l'analyse factorielle des correspondances (l'AFC) qu'a été réalisé par le logiciel ADE-4.

Dans cette analyse, nous avons retenu trois axes qui contribuent respectivement à 31,46 %, 27,01 % et 18,26% de l'inertie totale. Les figures (60a et 61a) représentent la projection des espèces dans les plans factoriels (1x2) et (1x3) respectivement. Les figures (60b et 61b) représentent la projection des sites dans les mêmes plans factoriels. Les espèces rares, c'est-à-dire celles qui ne sont échantillonnées qu'une ou deux fois au cours de l'étude ont été éliminées de l'analyse.

❖ **Plan 1x2** : Désigne les deux premiers axes factoriels (figure 60 a et b). Ce plan met en évidence l'effet de la conductivité

-L'Axe1 : Il nous sépare un site à conductivité faible : Oued Crabe et les espèces : *Procladius choreus*, *Phaenopsectra flavipes* et *Psectrocladius sordidellus*.

-L'Axe2 : Il nous sépare des sites à conductivité forte : Oued Dehmane, oued Charef à Ain Makhoul et les espèces : *Chironomus plumosus*, *Cricotopus fuscus*, *Cricotopus sylvestris*, *Tanytus punctipennis* et *C. tibialis*

❖ **Plan 1x3** L'examen du plan factoriel 3x4 révèle l'influence du substrat (Figure 61 a et b).

-L'Axe 1 : Il sépare les sites à substrats lourds (alluvions, éléments fins, vase, argile) : Oued Dehmane, et l'espèce : *Tanytus punctipennis*.

-L'Axe 3 : Il sépare les sites dont le substrat est limon-sableux : Oued Chaniour, oued Charef à Houari Boumedienne et à Medjez Amar, et les espèces *Cladotanytarsus sp*, *Harnishia curtilamellatus*, *Cryptochironomus sp*, *Endochironomus tendans*, *Cryptotendipes sp* et *Cricotopus sylvestris*.

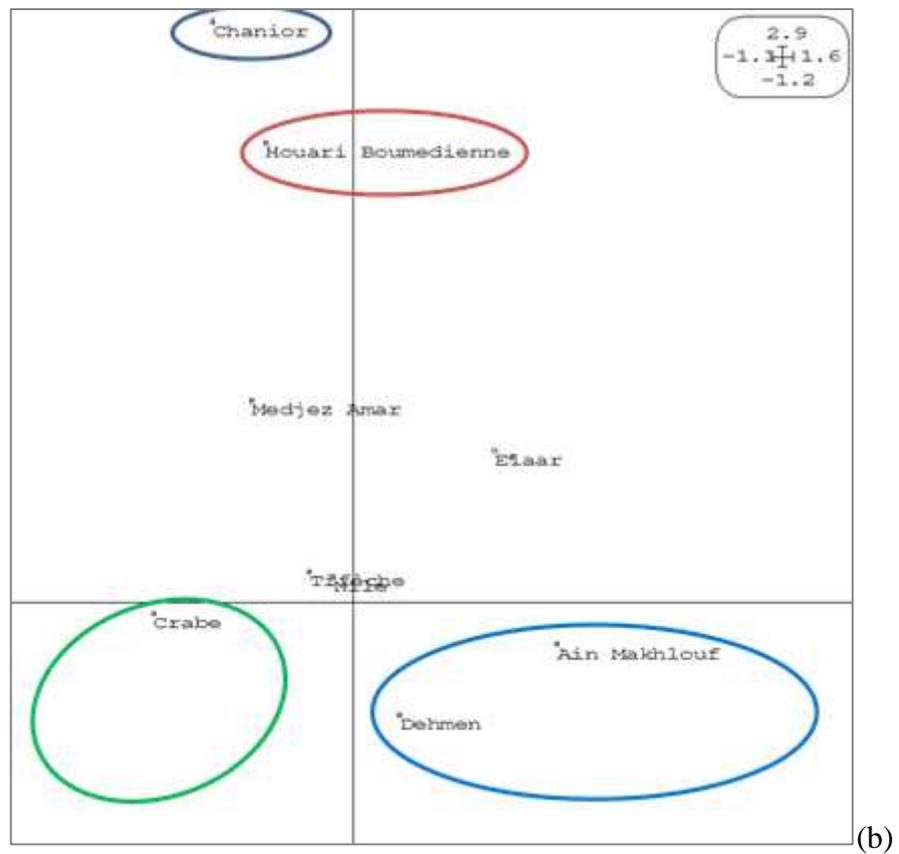
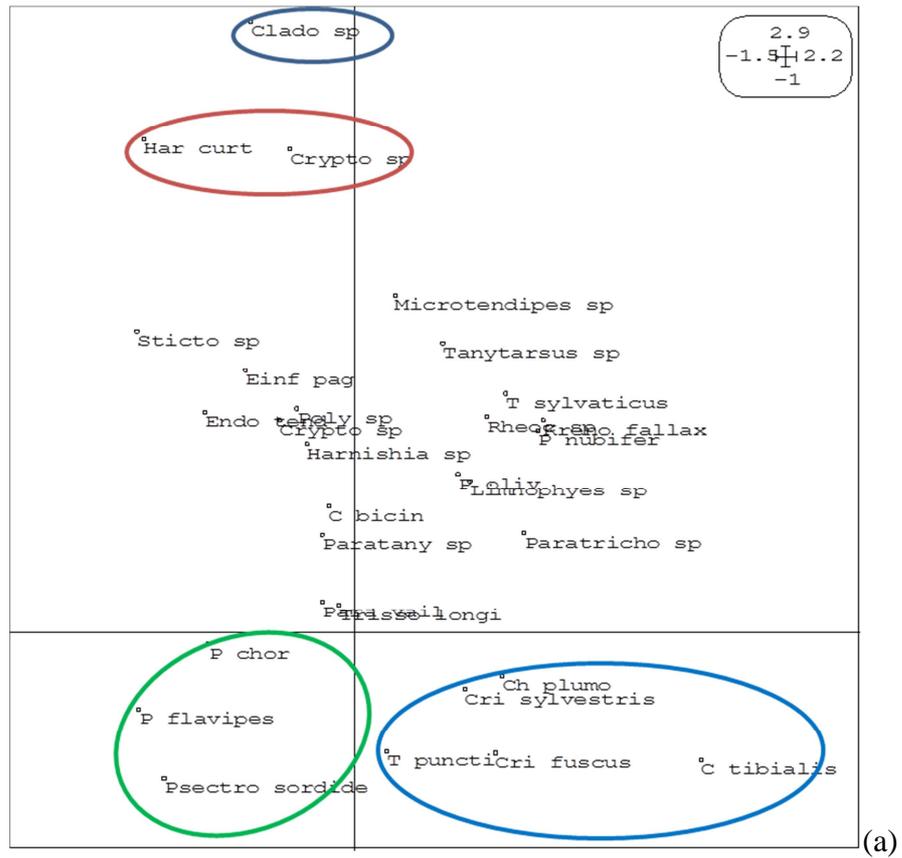


Figure 60 : Analyse Factorielle des Correspondances. Plan 1x2. 09 sites x 30 espèces.

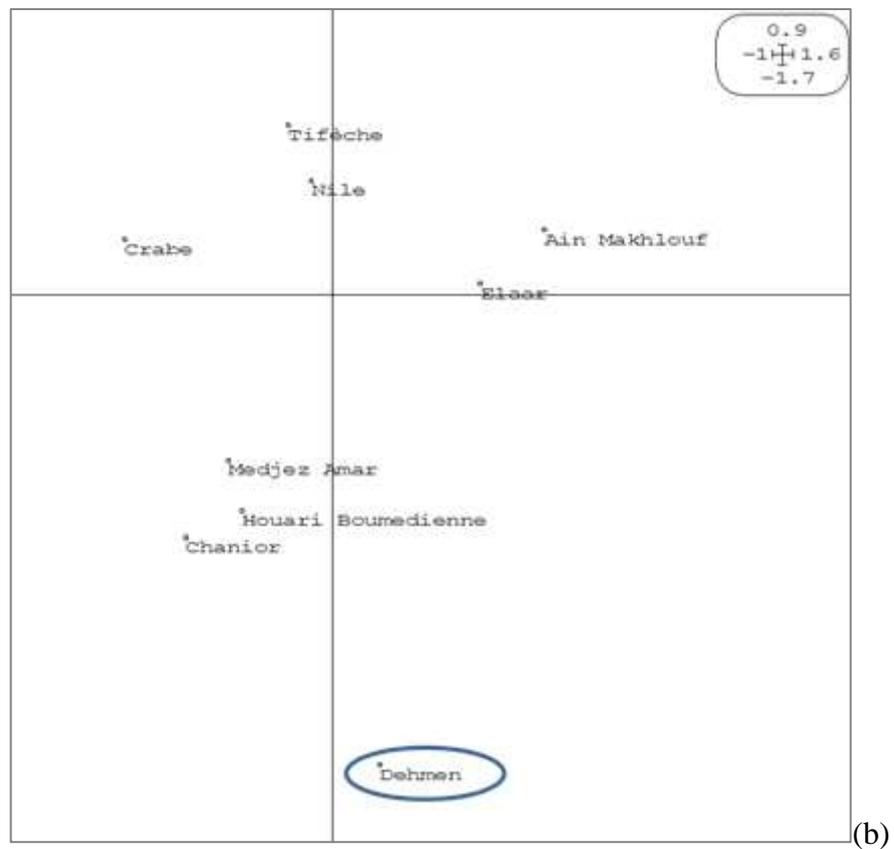
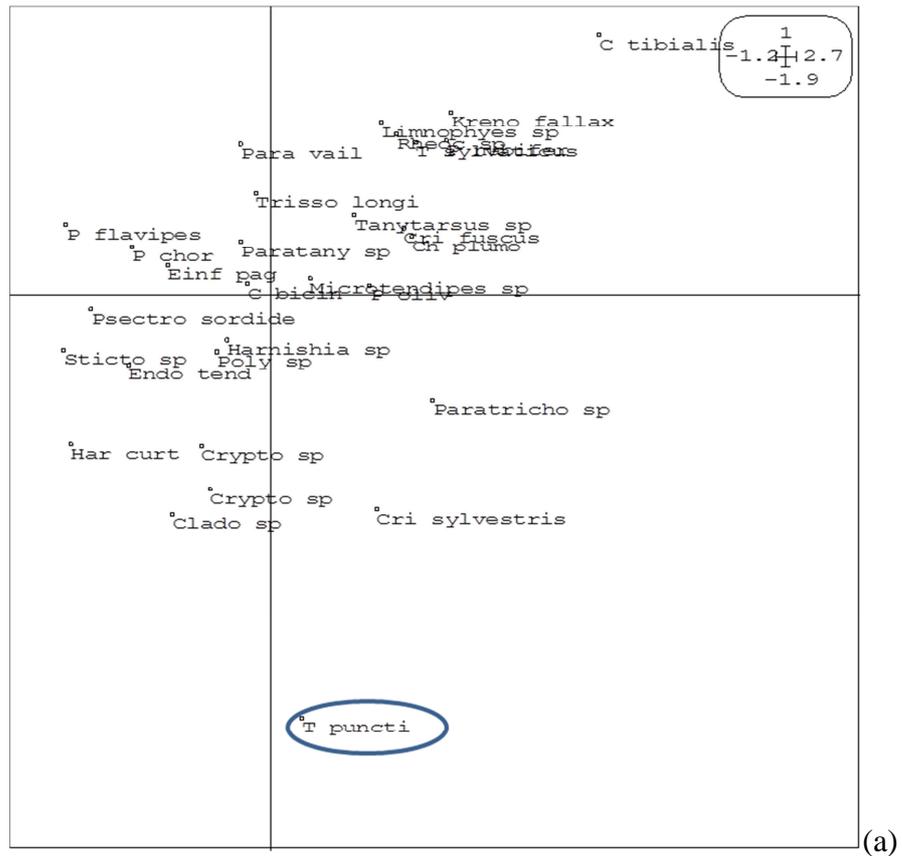


Figure 61 : Analyse Factorielle des Correspondances. Plan 3x4. 09 sites x 30 espèces.

4.1.4.3. La richesse spécifique

L'évolution mensuelle de la richesse spécifique des neuf stations d'échantillonnage au cours de l'année d'étude est représentée par la figure 62.

Pendant la période d'étude, la richesse spécifique la plus élevée a été enregistrée au niveau de la station d'oued Chaniour. Ce site est suivi par ceux de Houari Boumediene, El Aar, Dehmane, Tifèche, Ain Makhoulouf et Medjez Amar. Les sites les moins riches en espèces sont ceux d'oued Crabe et oued Nile.

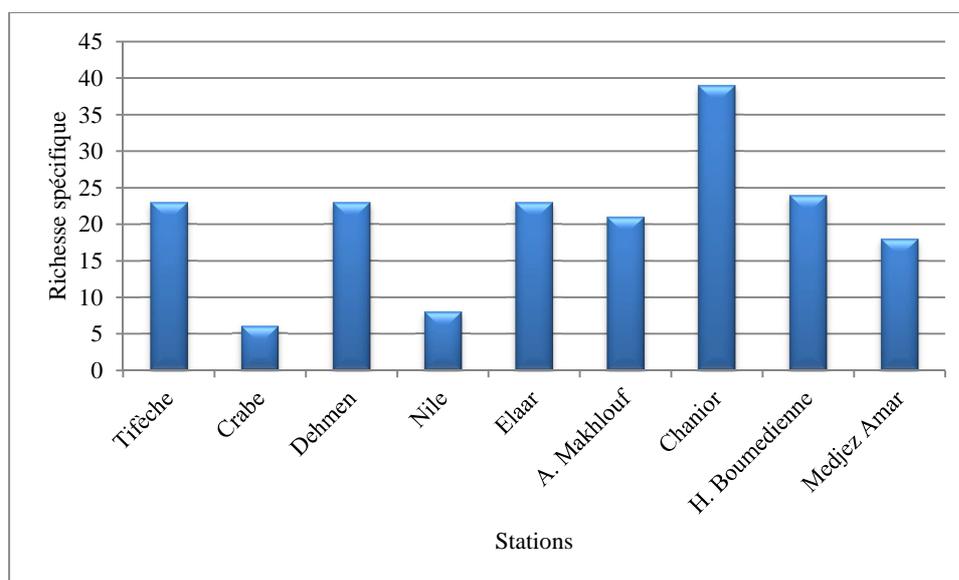


Figure 62 : Variation de la richesse spécifique des stations d'étude au cours du cycle d'étude.

4.1.4.4. Indices de diversité

Les indices de diversité, l'équitabilité ainsi que l'indice de Shannon, ont été calculés pour pouvoir comparer entre la diversité des différents peuplements.

a. L'équitabilité

L'équitabilité E varie entre 0 et 1, elle tient compte de la richesse spécifique et sert à comparer les diversités de deux peuplements. On rappelle qu'une valeur de E proche de 1 traduit un peuplement plus équilibré.

Dans ce travail, on a calculé l'équitabilité des différentes stations au cours de la période d'étude pour pouvoir comparer entre eux. Selon la figure 63, on peut dire que l'équitabilité des stations d'étude d'oued Charef en espèces de Chironomidae est généralement élevée. En effet, on note un maximum de 0,791, 0,761 et 0,666 pour les stations de oued El Aar, oued Nile et oued Tifèche et un minimum de 0,208 dans la station d'oued Crabe.

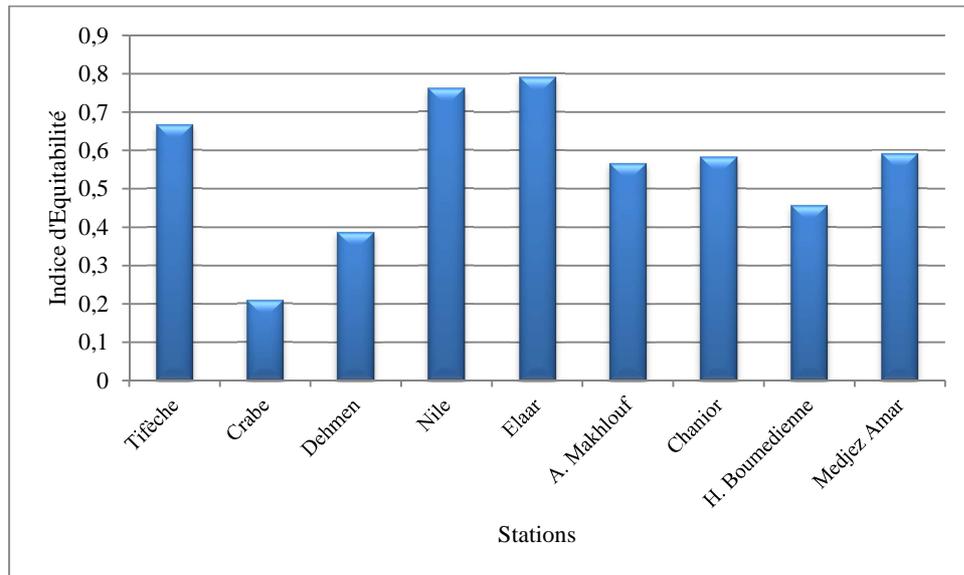


Figure 63 : Valeurs de l'indice d'Equitabilité des espèces de Chironomidae au cours de l'année d'étude

b. Indice de Shannon

On rappelle qu'un indice de Shannon plus élevé correspond à un peuplement diversifié et équilibré.

Au cours de notre étude nous avons calculé l'indice de Shannon pour chaque station d'étude au cours de la période d'étude, afin de pouvoir comparer la diversité des sites échantillonnés.

Selon la figure 64, on remarque que les valeurs maximales de l'indice de Shannon est de 3,578, 3,081 et 3,014 pour les stations d'oued El Aar, oued Chanior et oued Tifèche.

Selon la même figure on note que le minimum de l'indice de Shannon a été enregistré dans la station d'oued Crabe avec une valeur de 0,537. Ceci est conforme avec les valeurs de l'équitabilité calculées.

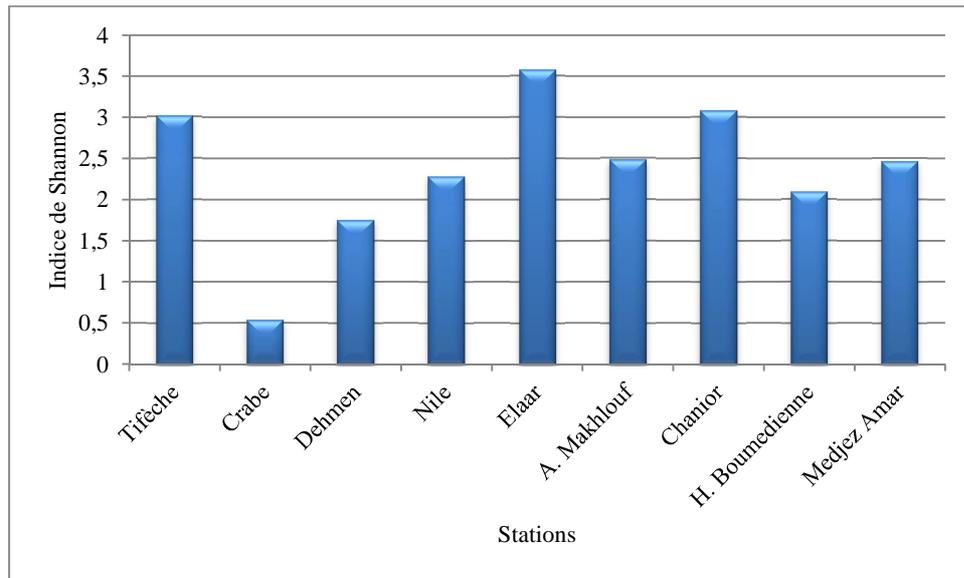


Figure 64 : Valeurs de l'indice de Shannon des espèces de Chironomidae au cours de l'année de l'étude

4.1.5. La répartition temporelle des espèces des Chironomidae

4.1.5.1. Phénologie des Chironomidae pendant la période d'étude

Le tableau 25 montre la phénologie ou la répartition temporelle des espèces chironomidiennes au cours du cycle d'étude (Mai 2013-Avril 2013). Selon les données de ce tableau, on remarque qu'il y a plusieurs groupes d'espèces :

- Celles qui apparaissent pendant toute la période d'étude. Ces espèces sont généralement opportunistes et s'accoutument avec un large spectre de températures et de conductivité de l'eau :

Cricotopus bicinctus, *Procladius choreus*, *Tanytus punctipennis*, *Chironomus plumosus*, *Cladotanytarsus sp*, *Cryptochironomus sp*, *Cryptotendipes sp*, *Harnishia sp*, *Microtendipes sp*, *Phaenopsectra flavipes*, *Polypedilum sp* et *Tanytarsus sp*,

- Le deuxième groupe d'espèces englobe celles qui apparaissent pendant une période restreinte de l'année :

Trissopelopia longimana : cette espèce apparaît dans le mois de juin, juillet et août sous forme d'une larve et de nymphe. *Dicrotendipes nervosus* : elle apparaît du Juin jusqu'à Septembre sous forme larvaire et nymphale. *Einfeldia pagana* : apparaît dans le mois de juillet et août sous forme larvaire et nymphale. *Microtendipes chloris* : apparaît dans le mois

de juin et juillet en tant que larve et nymphe. *Polypedilum convictum* : dans le mois de mars et avril sous forme nymphale et exuvie nymphale. *Stictochironomus sp* et *Micropsectra contracta*, apparaissent également que pendant les mois de janvier, février mars et avril. *Nanocladius bicolor* : apparait pendant le mois de décembre et janvier

- Le troisième groupe d'espèces englobe celles qui n'apparaissent qu'une seule fois, elles sont très restreintes dans leur phénologie :

Ablabesmyia logistyla : sous forme d'exuvie nymphale dans le mois de janvier. *Larsia sp* : sous forme de larve dans le mois de février. *Macropelopia nebulosa* : au mois de juin en tant qu'une larve. *Natarsia sp* : sous forme larvaire dans le mois de mai. *Paramerina berkana*, *Zavrelimyia berberi* et *Thienemannimyia zousfana* : sous forme d'un adulte male en décembre. *Trissopelopia sp* : au mois de juillet sous forme de larve. *Cladotanytarsus vanderwulpi* et *Cryptotendipes usmaensis* : sous forme nymphale dont la première en juillet et la deuxième en octobre.

Harnishia fuscimana : apparait dans le mois de mai en tant que larve et exuvie nymphale. *Microtendipes confinis* : sous forme de nymphe dans le mois de juillet. *Polypedilum cultellatum* : sous forme de larve, nymphe et exuvie nymphale dans le mois de novembre. *Polypedilum sordens* et *Krenopsectra fallax* : apparaissent dans le mois de juillet dont la première sous forme de nymphe, et la deuxième sous forme de larve et nymphe.

Paratanytarsus dissimilis, *Chaetocladius insolitus* et *C. trifasciatus* : sous forme de nymphe dont la première et la deuxième espèce dans le mois de janvier et la troisième en juillet. *Cricotopus trifasciatus* sous forme de larve et nymphe et *Eukiefferiella claripennis* sous forme de nymphe dans le mois de mai. Enfin, *Eukiefferiella gracei*, *Heterotrissocladius subpilosus*, *Limnophyes gurgicola*, *Limnophyes minimus*, *Rheocricotopus fuscipes*, *Rheotanytarsus distinctissimus*, sous forme des nymphes respectivement dans les mois février, juillet, novembre, février, juillet et décembre

Tableau 25 : Phénologie des espèces de Chironomidae échantillonnées dans les stations d'étude d'Oued Charef au cours de l'année d'étude

(— : larve ; — ; nymphe ; — : exuvie ; — : adulte)

Espèce	Mai	Juin	Juillet	Août	Sep	Oct	Nov	Déc	Janv	Fév	Mars	Avril
<i>Ablabesmyia logistyla</i>									—			
<i>Ablabesmyia phatta</i>				—			—					
<i>Larsia sp</i>										—		
<i>Macropelopia nebulosa</i>		—										
<i>Natarsia sp</i>	—											
<i>Paramerina berkana</i>								—				
<i>Paramerina vaillanti</i>							—	—				—
<i>Paramerina sp</i>										—		
<i>Procladius choreus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Procladius lugens</i>										—		
<i>Tanytus punctipennis</i>		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Thienemannimyia zousfana</i>								—				
<i>Trissopelopia longimana</i>		—	—	—								
<i>Trissopelopia sp</i>			—									
<i>Zavrelimyia berberi</i>								—				
<i>Prodiamesa olivacea</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chironomus plumosus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Cladotanytarsus sp</i>	—		—		—		—		—		—	—
<i>Cladotanytarsus vanderwulpi</i>			—	—								
<i>Cryptochironomus obreptans</i>			—	—								
<i>Cryptochironomus sp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Cryptochironomus supplicans</i>	—	—										
<i>Cryptotendipes sp</i>	—	—	—	—		—					—	—
<i>Cryptotendipes usmaensis</i>						—						
<i>Dicrotendipes nervosus</i>		—	—	—	—							
<i>Einfeldia pagana</i>			—	—								
<i>Endochironomus tendans</i>	—	—						—				
<i>Harnishia curtilamellatus</i>							—					—
<i>Harnishia fuscimana</i>	—	—										
<i>Harnishia sp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Microchironomus sp</i>				—	—		—					
<i>Microtendipes chloris</i>		—	—									
<i>Microtendipes confinis</i>			—	—								
<i>Microtendipes pedellus</i>		—	—									
<i>Microtendipes sp</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phaenopsectra flavipes</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

4.1.6. L'étude de l'abondance des Chironomidae d'oued Charef

4.1.6.1. Abondance des différents groupes de Chironomidae

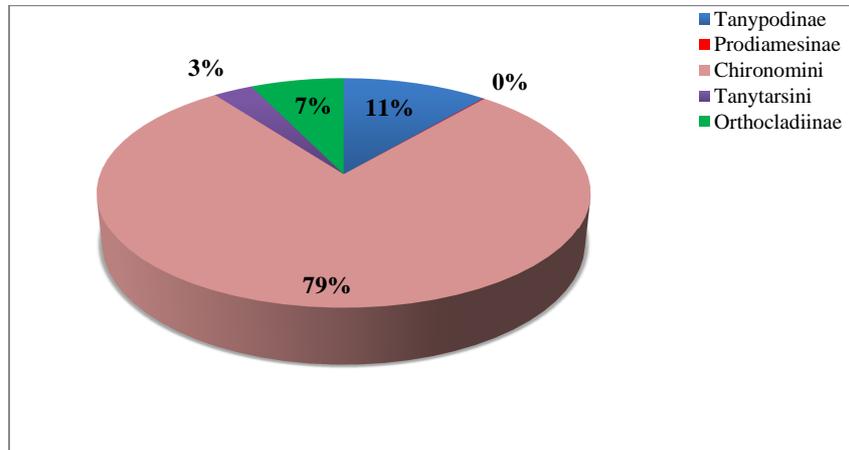


Figure 65 : Pourcentage de l'abondance moyenne des différents groupes de Chironomidae dans les stations d'échantillonnage au cours de l'année d'étude.

D'après la figure 65 ci-dessus, on remarque que la sous famille des Chironominae est celle qui englobe l'effectif le plus élevé des Chironomidae avec un pourcentage de 82% du nombre total des Chironomidae.

4.1.6.2. L'évolution mensuelle de l'abondance des espèces chironomidiennes au cours de l'année d'étude

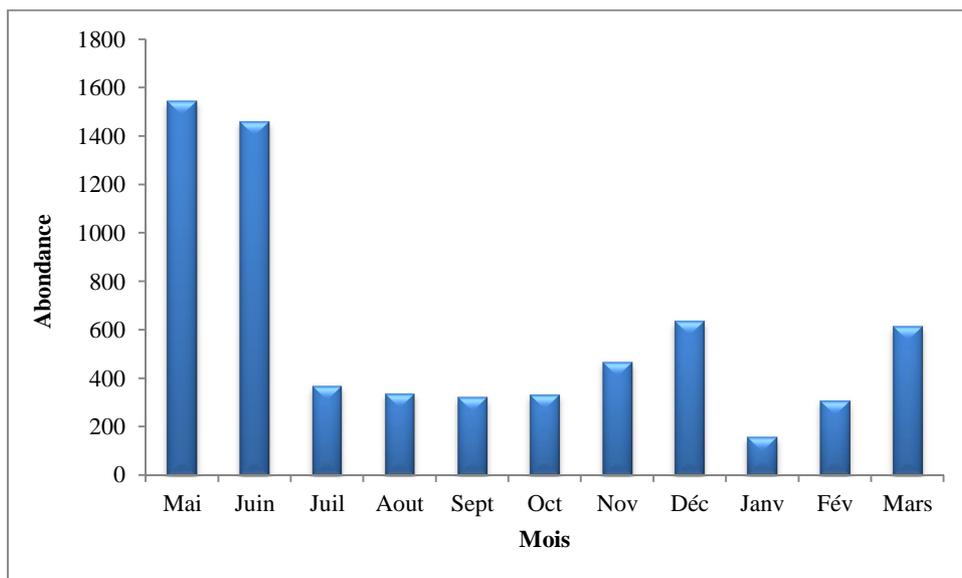


Figure 66 : L'évolution mensuelle de l'abondance des Chironomidae au cours de l'année d'étude

Les figures de 66 à 78 représentent l'évolution mensuelle de l'abondance des espèces chironomidiennes « les plus abondantes » au cours de l'année d'étude. Ces figures nous permettent de comparer l'abondance de ces espèces entre les saisons.

Les figures 67 et 68 nous montrent que parmi les Tanypodinae, *Procladius choreus* et *Tanypus punctipennis* sont les espèces les plus abondantes dans les stations d'étude avec une abondance maximale de 30 individus dans le mois de juin pour *P. choreus* et de 164 individus dans le mois d'octobre pour *T. punctipennis*. Egalement, on remarque que la première espèce est caractérisée par une présence estivale au contraire de la deuxième qui est dominante durant la période hivernale.

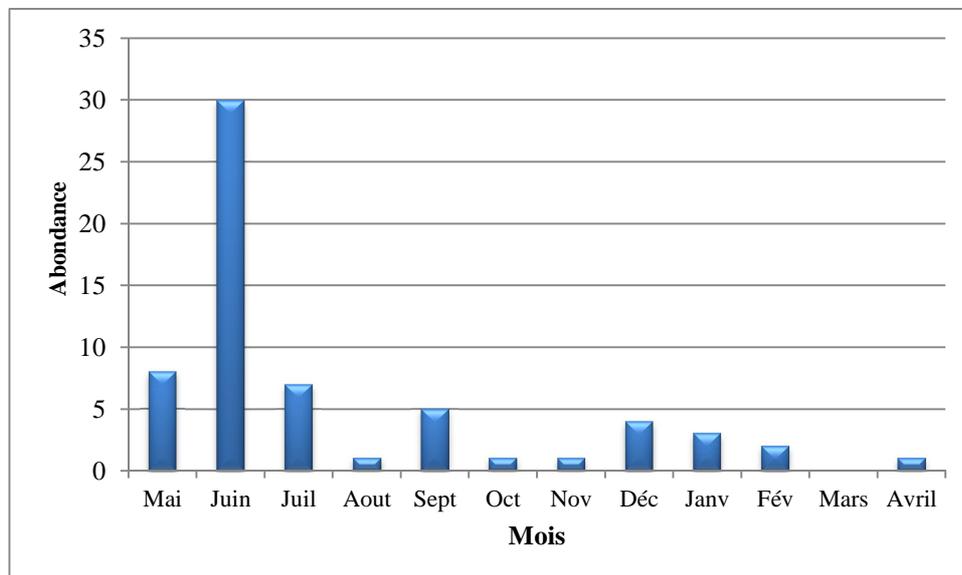


Figure 67 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Procladius choreus* au cours de l'année d'étude.

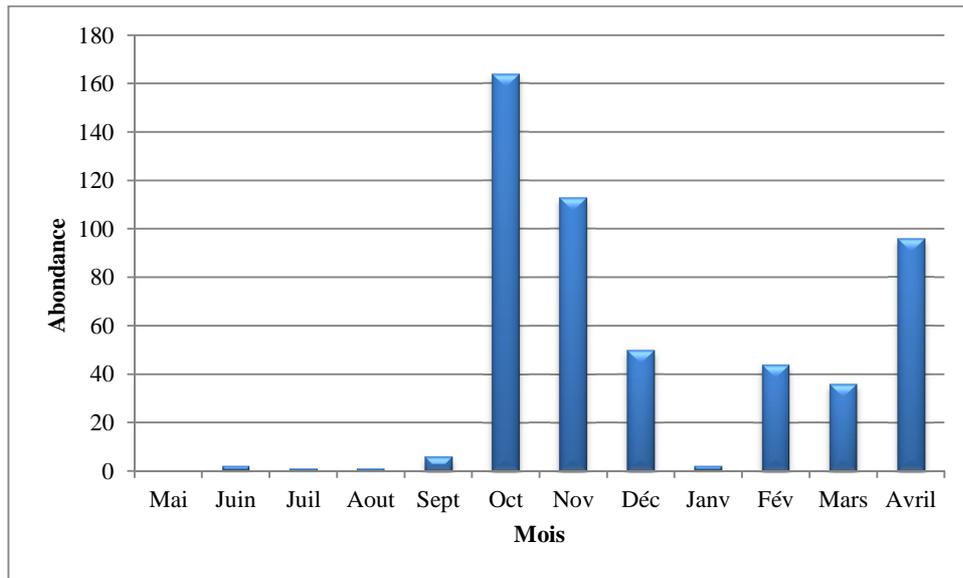


Figure 68 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Tanypus punctipennis* au cours de l'année d'étude.

La figure 69 nous présente l'évolution mensuelle d'une espèce appartenant à la sous famille des Prodiamesinae dite *Prodiamesa olivacea*. En effet, selon cette figure on peut noter que cette espèce est plus abondante du mai jusqu'à aout et durant le mois de janvier et février.

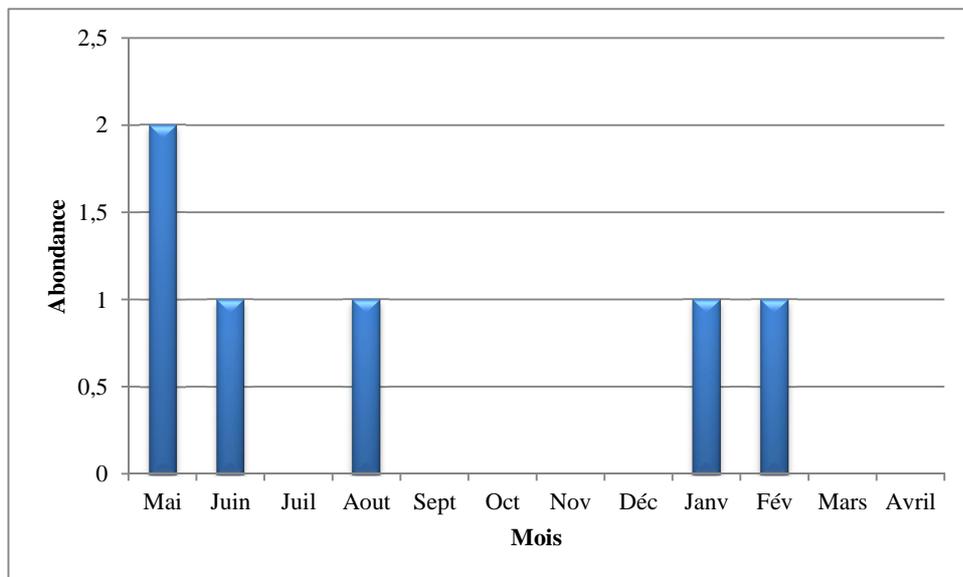


Figure 69 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Prodiamesa olivacea* au cours de l'année d'étude.

La sous famille des Chironominae est celle qui renferme les espèces les plus abondantes. En effet, *C. plumosus* présente une abondance maximale de 656 individus dans le mois de mai pour l'année 2012 (Figure 70). L'espèce *Phaenopsectra flavipes* est également assez importante avec une abondance maximale de 735 individus pendant le mois de juin (Figure 74). Le genre *Cryptochironomus* est également assez important dont l'espèce *Cryptochironomus sp* montre un maximum d'individus (36) enregistré durant le mois de juin (Figure 71). On a enregistré une abondance assez importante pour *Harnishia sp* (25 individus) pendant le mois de mars (Figure 72), *Microtendipes sp* (12 individus) durant le mois de juillet (Figure 73), *Polypedilum nubifer* (116 individus) pendant les mois de septembre (Figure 75). En fait, l'espèce *Paratanytarsus sp* et *Tanytarsus sp* a montré respectivement un maximum d'abondance de 27 individus pendant le mois de mai, et 62 individus pendant le mois de novembre (Figure 76, 77). Enfin, pour la sous famille des orthocladinae, on a enregistré une abondance assez importante pour *C. bicinctus* durant le mois de novembre avec 73 individus (Figure 78).

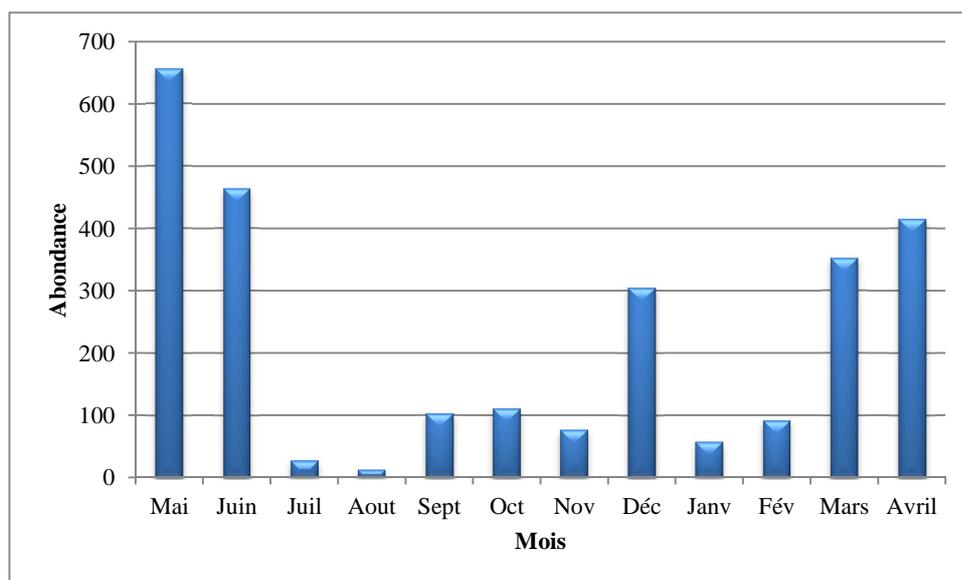


Figure 70 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Chironomus plumosus* au cours de l'année d'étude.

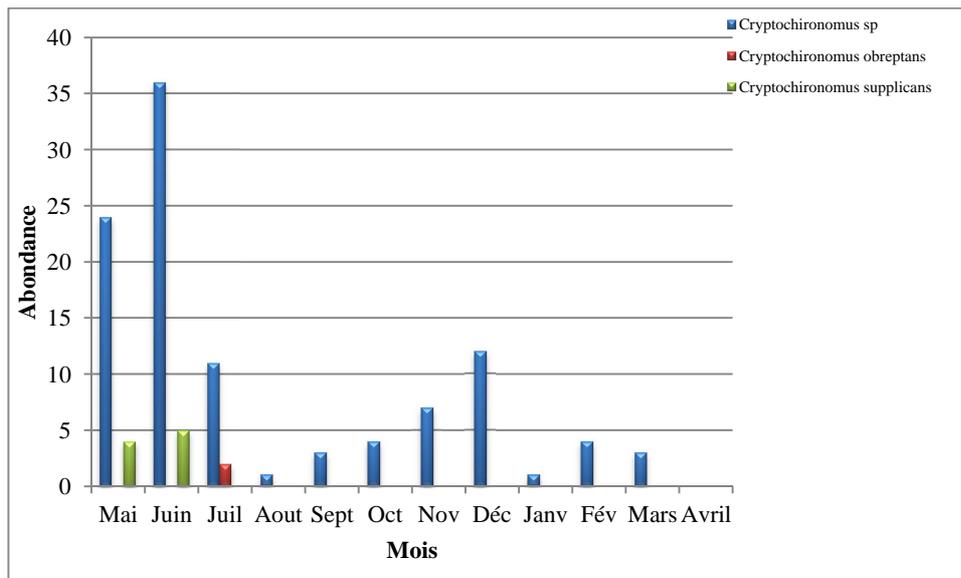


Figure 71 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Cryptochironomus sp*, *Cryptochironomus obreptans* et *Cryptochironomus supplicans* au cours de l'année d'étude.

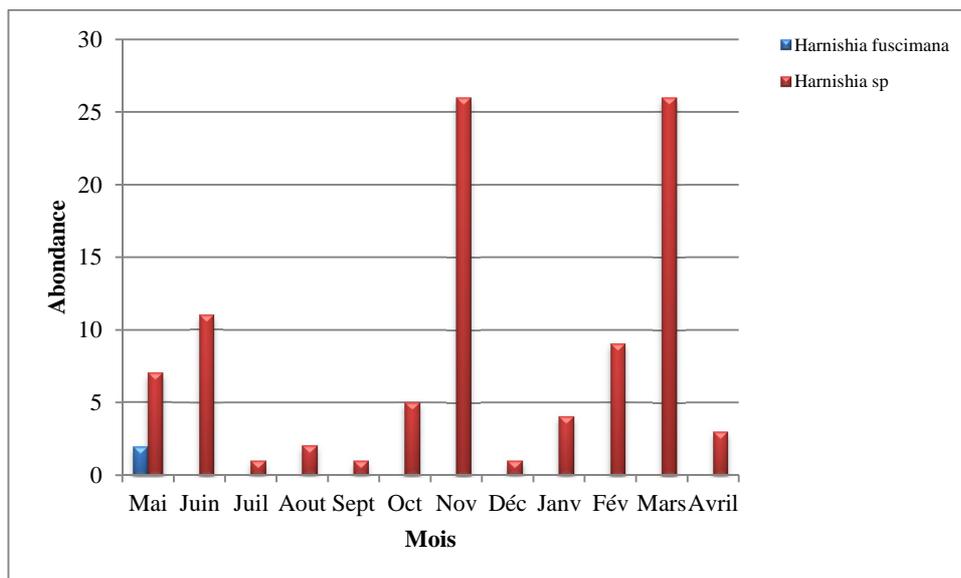


Figure 72 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Harnishia sp* et *Harnishia fuscimana* au cours de l'année d'étude.

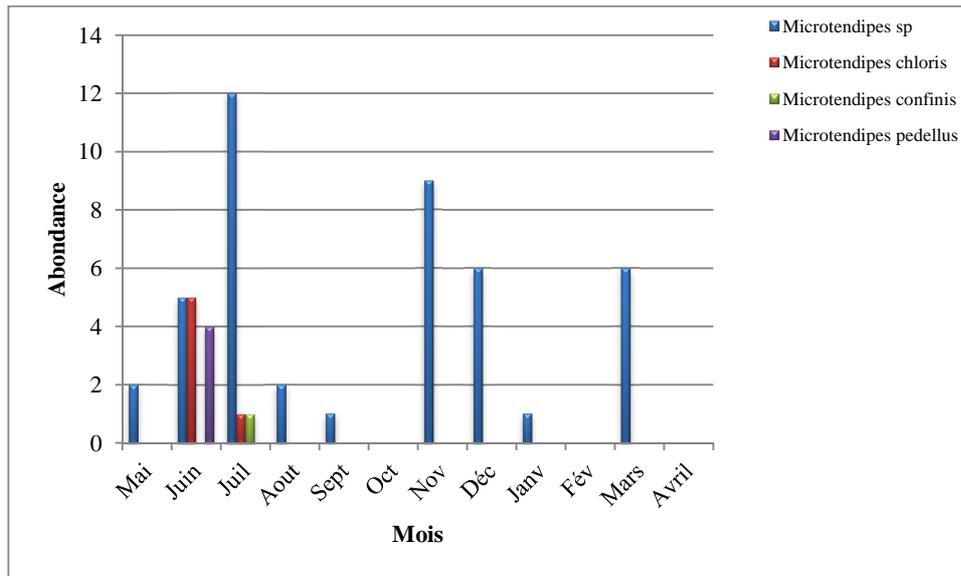


Figure 73 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Microtendipes sp*, *Microtendipes chloris*, *Microtendipes confinis* et *Microtendipes pedellus* au cours de l'année d'étude.

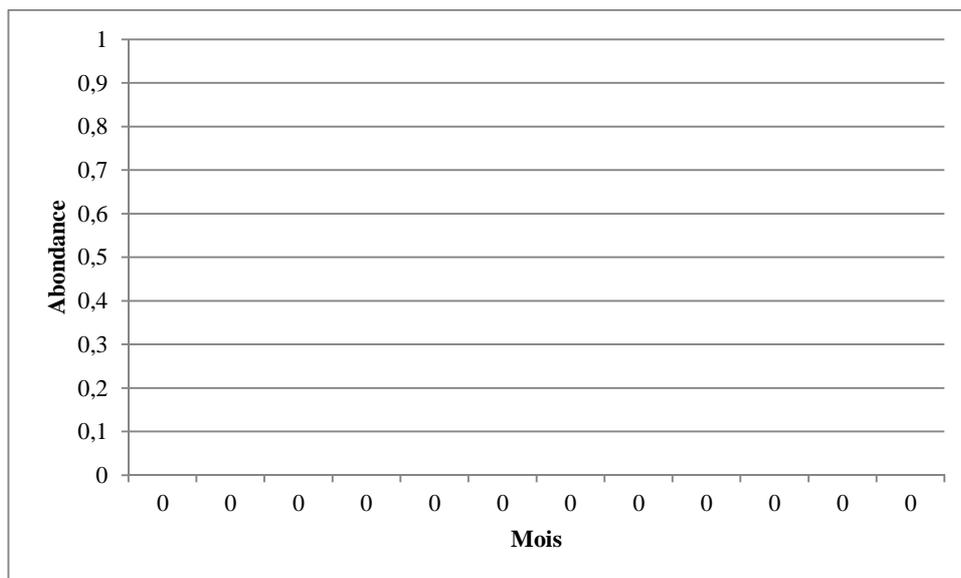


Figure 74 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Phaenopsectra flavipes* au cours de l'année d'étude.

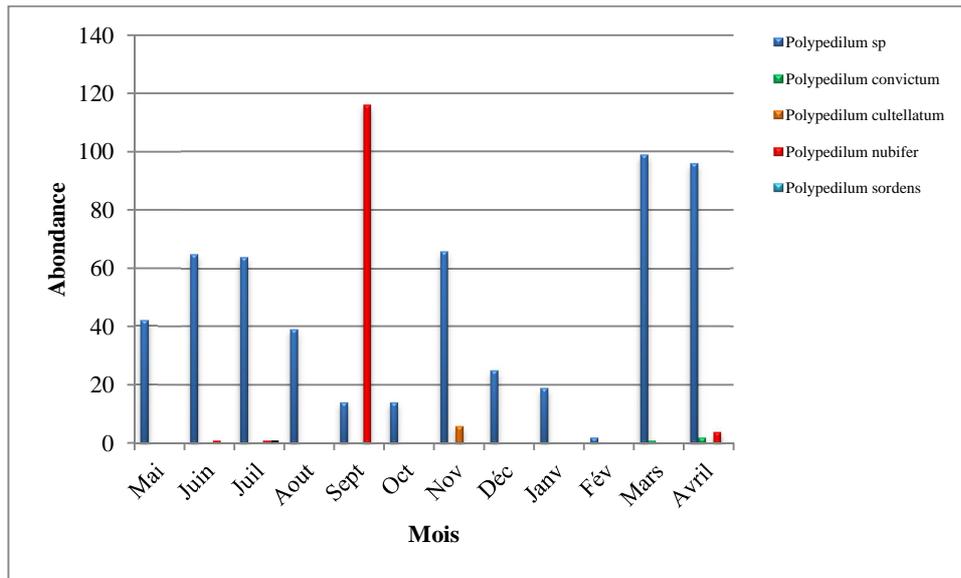


Figure 75 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Polypedilum sp*, *Polypedilum convictum*, *Polypedilum cultellatum*, *Polypedilum nubifer* et *Polypedilum sordens* au cours de l'année d'étude.

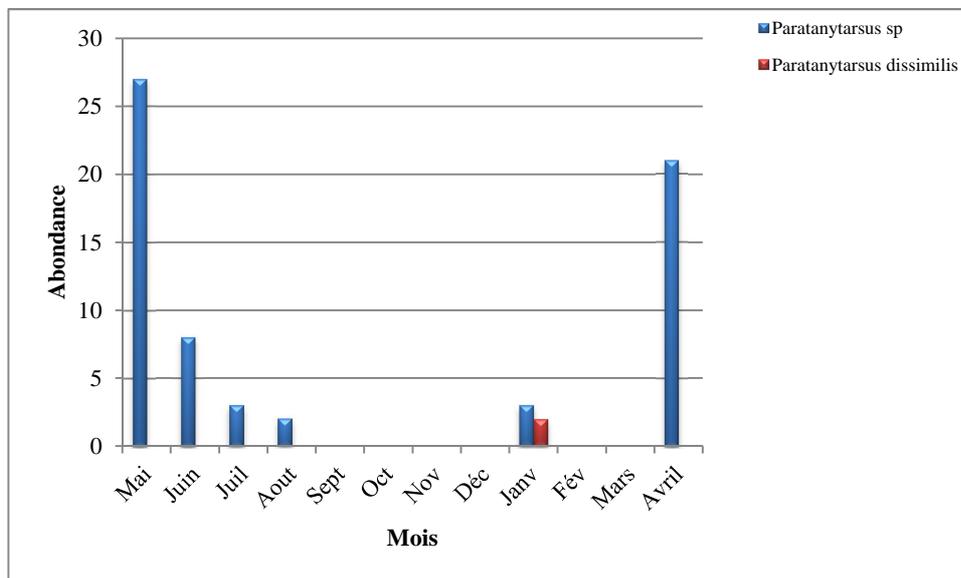


Figure 76 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Paratanytarsus sp* et *Paratanytarsus dissimilis* au cours de l'année d'étude.

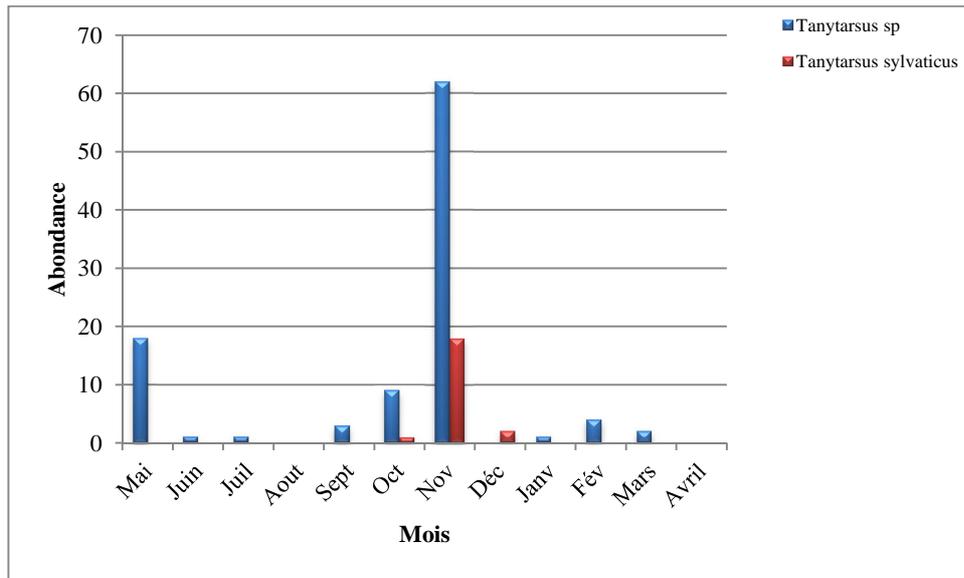


Figure 77 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Tanytarsus sp* et *Tanytarsus sylvaticus* au cours de l'année d'étude.

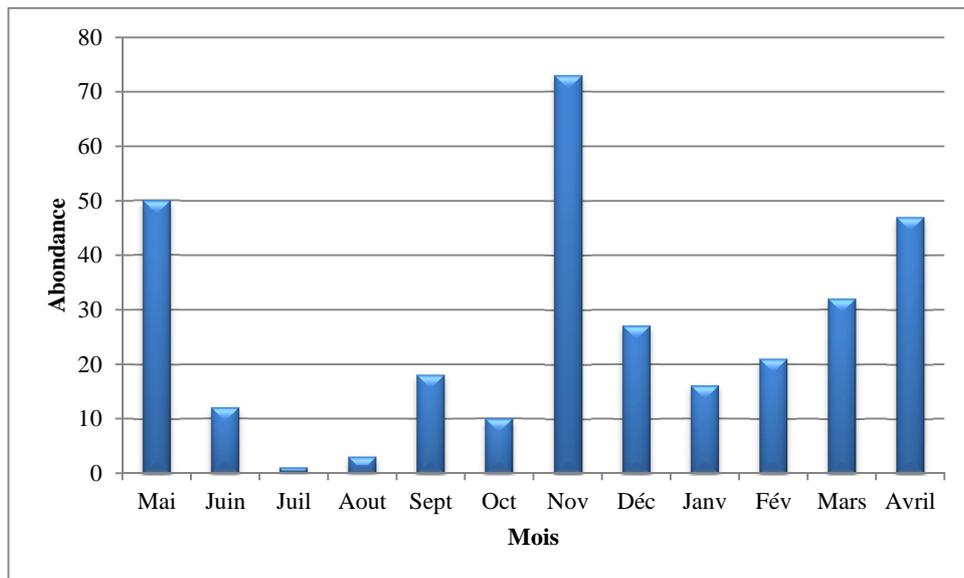


Figure 78 : Evolution mensuelle de l'abondance de *Cricotopus bicinctus* au cours de l'année d'étude.

4.1.7. Discussion

Les Chironomidae sont des habitants communs de la plupart des habitats aquatiques, souvent ils sont les communautés d'insectes les plus dominantes dans leur abondance et leur richesse spécifique. Ces formes vivantes offrent des adaptations à la fois aquatique et terrestre.

Les Chironomidae sont représentés actuellement par 3700 espèces, mais on estime que cela représente 30 à 35 % de la faune mondiale pour cette famille de Diptères. Le Paléarctique comprend 1300 espèces et constitue la région biogéographique la plus riche, suivi par le Néarctique avec 1000 espèces. Dans le Paléarctique, la famille des Chironomidae est composée ainsi : Telematogetoninae (5 espèces), Tanypodinae (116 espèces), Budonomyiinae (1 espèce), Podonominae (13 espèces), Diamesinae (99 espèces), Prodiamesinae (11 espèces), Orthocladinae (500 espèces) et Chironominae (540 espèces) (Boulaaba, 2015).

Les données sur les Chironomidae de la méditerranée étaient très restreintes avant la publication de Reiss (1977) sur les espèces Paléarctiques ; dans laquelle ; une liste des espèces endémiques de la région Méditerranéenne a été fournie. Malgré que les Chironomidae d'Afrique du Nord prennent une part importante dans la biodiversité des eaux douces; ils sont encore mal connus (Boulaaba *et al.*, 2014). En effet ; parmi les références les plus récentes ; on peut citer : Kettani & Langton (2011) pour le Maroc, et Boulaaba et ces collaborateurs (2014) pour la Tunisie. Concernant l'Algérie, des résultats préliminaires ont été fournis par (Lounaci *et al.*, 2000 ; Moubayed *et al.*, 2007 ; Chaib *et al.* (2011, 2013)).

Les premières classifications des Chironomidae sont basées sur les caractères macroscopiques, puis avec l'avancement des techniques microscopiques, d'autres critères plus minuscules sont utilisés comme l'appareil génital de l'adulte et l'arrangement des soies des tergites des pupes. Récemment, une nouvelle approche de classification s'est ajoutée, prenant en considération les stades vitaux associés (Wiederholm, 1983, 1986 et 1989), ce qui implique une nouvelle nomenclature plus efficace.

Notre étude a été réalisée dans un sous bassin versant de la Seybouse appelé le bassin d'oued Charef (Nord-Est algérien). Nous avons choisis neuf stations sur le cours d'eau principal d'oued Charef (trois stations) et quelques affluents (six stations) en amont et en aval de l'oued afin d'étudier la communauté de Chironomidae au cours d'une année d'étude (Mai 2012- Avril 2013).

Dans notre travail, la plupart des espèces capturées sont très largement connues dans le Paléarctique. En effet, cette étude a mis en évidence 75 espèces de Chironomidae. Ces espèces sont réparties sur 04 sous familles, la sous famille des Chironominae contient la majorité des espèces avec 35 espèces, suivie par celle des Orthoclaadiinae (24 espèces), puis la sous famille des Tanypodinae qui englobe 15 espèces et enfin la sous famille des Prodiamesinae qui contient une (01) seule espèce. En effet, la sous famille des Chironominae est la plus riche en espèces et en nombre d'individus.

D'après l'évolution mensuelle de l'abondance des Chironomidae au cours de l'année d'étude (Figure 66), on a remarqué que les valeurs maximales sont enregistrées pendant le mois de mai et de juin. Ceci peut être expliqué par l'installation des conditions abiotiques favorables, permettant une meilleure prolifération de la faune chironomidienne. Au contraire, le reste de l'année (fin d'automne et l'hiver) montre une nette fluctuation de la densité avec parfois des valeurs très faibles, suite à l'instabilité des facteurs environnementaux et la détérioration des niches écologiques notamment par la forte diminution du niveau thermique des eaux et l'instabilité continue de la nature des substrats (lieu de croissance des larves de Chironomidae) (Boulaaba, 2015).

Egalement, l'analyse de la faune de chironomidienne du bassin d'oued Charef a permis recenser certaines espèces qui apparaissent pendant toute la période d'étude (Tableau 25). Parmi ces espèces on trouve *C. plumosus*, *Cladotanytarsus sp*, *Cryptochironomus sp*, *Cryptotendipes sp*, *Harnishia sp*, *Microtendipes sp*, *Phaenopsectra flavipes* et *Polypedilum sp*. Ces espèces sont appartenant à la sous-famille de Chironominae-chironomini qui est caractérisée par son adaptation comportementale aux différentes variations des facteurs environnementaux (Zerguine, 2014). La présence et l'abondance des Chironomini dans les stations d'étude peuvent être expliquées par le fait que ces stations sont eutrophiques et pollués par la matière organique. Cette dernière indispensable pour la survie de ces espèces (Oliver, 1971). D'autre part, *P. choreus* est une espèce abondante presque pendant toute la période d'étude (Figure 67), ceci peut être expliqué par l'utilisation des stratégies d'adaptations à la sécheresse telles que la construction de cocons et la recolonisation (Sæther, 1962 ; Frouz *et al.*, 2003).

Les Chironomini présents dans notre zone d'étude englobent 27 espèces. Parmi les Chironomini rares on a noté *C. vanderwulpi*, *C. obreptans*, *C. usmaensis*, *E. tendans*, *H. curtilamellatus*, *H. fuscimana*, *M. chloris*, *M. confinis*, *Parachironomus sp*, *P. convictum*, *P. cultellatum*, *P. sordens*. Généralement, les espèces de Chironomini sont soit des

collecteurs- rassembleurs se nourrissant principalement par le détritus sédimenté comme : les espèces de *Chironomus*, *Dicrotendipes*..., ou des collecteurs-filtreurs se nourrissant des particules organiques en suspension dans l'eau comme : *Endochironomus*, *Glyptotendipes*, *Polypedilum*... (Oliver, 1971 ; Henriques-Oliveira *et al.*, 2003).

Egalement, les Tanytarsini englobent 8 espèces qui sont : *K. fallax*, *M. contracta*, *Micropsectra sp*, *P. dissimilis*, *Paratanytarsus sp*, *Rheotanytarsus sp*, *Tanytarsus sp* et *T. sylvaticus*.

Les Tanypodinae présents dans notre zone d'étude sont représentés par 15 espèces qui sont : *A. logistyla*, *A. phatta*, *Larsia sp*, *M. nebulosa*, *Natarsia sp*, *P. vaillanti*, *P. berkana*, *Paramerina sp*, *P. choreus*, *P. lugens*, *T. punctipennis*, *T. zousfana*, *T. longimana*, *Trissopelopia sp* et *Z. berberi*.

En effet, les Orthoclaadiinae sont représentés par les 24 espèces suivantes : *C. bicinctus*, *C. tibialis*, *C. trifasciatus*, *C. insolitus*, *C. piger*, *C. fuscus*, *C. sylvestris*, *C. trifasciatus*, *E. claripennis*, *E. rectangularis*, *E. gracei*, *H. subpilosus*, *L. gurgicola*, *L. minimus*, *Limnophyes sp*, *N. bicolor*, *Orthocladus (Euorthocladus)*, *Paratrichocladus sp*, *P. sordidellus*, *R. fuscipes*, *Rheocricotopus sp*, *R. distinctissimus*, *Pseudosmittia sp* et *Smittia sp*.

L'abondance des Orthoclaadiinae dans les stations d'étude peut être expliquée par leur mode de vie, dont la plus part des espèces appartenant à cette sous famille sont des grattoirs, c'est-à-dire qu'ils grattent les particules à la surface des plantes submergées, rochers..., à ce mode de nutrition appartiennent surtout les espèces de *Cricotopus* (Oliver, 1971).

Les sites échantillonnés dans notre travail sont des eaux courantes, c'est-à-dire des milieux lotiques. Selon Coffman (1989), la richesse spécifique est plus élevée dans les eaux lotiques que celle enregistrée dans les eaux stagnantes. Ainsi, les facteurs environnementaux les plus importants qui contrôlent la densité des insectes sont : la température, la turbidité, le substrat, les ressources trophiques, la compétition et la conductivité de l'eau (Ross *et al.*, 1982). Egalement, le type de substrat est l'un des majeurs facteurs déterminant la distribution des Chironomidae dans les milieux aquatiques. La structure et la densité des populations sont conditionnées par les caractéristiques du sédiment dans lequel elles vivent (Lencioni & Rossaro, 2005).

Dans cette étude, l'hétérogénéité du substrat est l'un des facteurs majeurs affectant la distribution des Chironomidae dans les stations d'échantillonnage. Ceci est confirmé par l'analyse multi-variée réalisée par l'ADE-4, qui nous a permis de mieux comprendre les facteurs écologiques qui contrôlent la distribution des Chironomidae.

L'espèce de *Cladotanytarsus sp* est très abondante dans la station d'oued Chaniour. Cette station est caractérisée par une conductivité moyenne, ce qui explique l'abondance de cette espèce qui préfère les zones mésotrophiques (ou eutrophiques modérés) (Zerguine, 2010). Également, l'espèce *H. curtilamellatus* et *Cryptochironomus sp* sont abondantes dans la station de Houari Boumediene, qui est caractérisée par une pollution domestique d'Ain Hssainia (Mouchara, 2009). La première espèce est polluosensible et rhéophile, peuple les eaux fraîches et limpides des hautes montagnes, à l'abri d'une anthropisation active (Boulaaba, 2015). Les espèces *P. choreus*, *P. flavipes* et *P. sordidellus* sont présentes dans la station d'oued Crabe qui se caractérise par des eaux polluées d'origine organique. Ces espèces vivent dans des substrats limon-argileux qui caractérisent cette station d'étude.

En revanche, les espèces *C. plumosus*, *C. fuscus*, *C. sylvestris*, *T. punctipennis* et *C. tibialis* sont abondantes dans les stations d'oued Charef à Ain Makhoulf et oued Dehmane. L'espèce *C. plumosus* est une espèce de Chironomini très répandue ce qui confirme sa tolérance aux conditions de l'eutrophie dans ces deux milieux. Elle a été détectée presque pendant toute l'année dans les sites pollués.

En résumé, cette analyse multi-variée nous a permis de proposer une corrélation préliminaire basée sur les taxons faunistiques des Chironomidae et les variables abiotiques caractérisant les stations visitées principalement: la conductivité et la nature de substrat et la pollution organique des stations d'étude.

Selon la figure 64, on remarque que la valeur maximale de l'indice de Shannon est enregistrée dans la station d'oued El Aar, suivie par celle d'oued Chaniour et d'oued Tifèche. Ces valeurs indiquent que ces trois stations sont caractérisées par un peuplement chironomidien diversifié et équilibré. Également, l'équitabilité des stations d'étude d'oued Charef est généralement élevée. En effet, on a noté un maximum d'équitabilité pour les stations de oued El Aar, oued Nile et oued Tifèche et un minimum dans la station d'oued Crabe. Pour cela, la station d'oued El Aar qui renferme un peuplement plus équilibré de Chironomidae.

Sur le plan phénologique, les espèces sont rangées en trois groupes selon leur chronologie d'émergence. Des espèces qui apparaissent pendant toute la période d'étude, elles sont généralement opportunistes et s'accommodent avec un large spectre de températures de l'eau. Autre groupe d'espèces qui englobe celles qui apparaissent pendant une période restreinte de l'année. Enfin, le groupe d'espèces qui globe celles qui n'apparaissent qu'une seule fois, elles sont très restreintes dans leur phénologie.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus de cette étude concernant la richesse taxonomique et l'abondance révèlent que le haut Charef ne montre pas des différences remarquables de celle du bas Charef. Ceci est lié probablement du fait que les stations d'étude ne présentent pas des variations importantes entre les deux sous bassins.

D'autre part, dans notre travail, la plupart des espèces capturées sont largement connues dans le Paléarctique. En revanche, on a noté 35 nouvelles espèces qui sont décrites pour la première fois pour la faune algérienne, parmi lesquelles 8 espèces de Tanypodinae : *Macropelopia nebulosa*, *Paramerina vaillanti*, *Paramerina berkana*, *Procladius lugens*, *Thienemannimyia zousfana*, *Trissopelopia longimana*, *Trissopelopia sp* et *Zavrelimyia berberi*, 15 nouvelles espèces de Chironominae : *Cladotanytarsus vanderwulpi*, *Cryptochironomus obreptans*, *Cryptochironomus supplicans*, *Cryptotendipes usmaensis*, *Harnishia curtilamellatus*, *Harnishia sp*, *Microtendipes chloris*, *Microtendipes confinis*, *Polypedilum convictum*, *Polypedilum sordens*, *Stictochironomus sp*, *Krenopsectra fallax*, *Micropsectra contracta*, *Paratanytarsus dissimilis* et *Tanytarsus sylvaticus*, ainsi que 12 espèces d'Orthocladinae : *Cricotopus fuscus*, *Cricotopus tibialis*, *Cricotopus trifascia*, *Chaetocladius insolitus*, *Chaetocladius piger*, *Eukiefferiella rectangularis*, *Heterotrissocladius subpilosus*, *Limnophyes gurgicola*, *Nanocladius bicolor*, *Rheotanytarsus distinctissimus*, *Pseudosmittia sp* et *Smittia sp*.

A l'échelle de l'Afrique de Nord, 25 nouvelles espèces sont signalées pour la 1^{ère} fois, parmi lesquelles 7 espèces de Tanypodinae : *Paramerina vaillanti*, *Paramerina berkana*, *Procladius lugens*, *Thienemannimyia zousfana*, *Trissopelopia longimana*, *Trissopelopia sp* et *Zavrelimyia berberi*, 8 nouvelles espèces de Chironominae : *Cladotanytarsus vanderwulpi*, *Cryptochironomus obreptans*, *Cryptochironomus supplicans*, *Cryptotendipes usmaensis*, *Polypedilum sordens*, *Krenopsectra fallax*, *Micropsectra contracta* et *Tanytarsus sylvaticus*, ainsi que 10 espèces d'Orthocladinae : *Cricotopus tibialis*, *Chaetocladius insolitus*, *Chaetocladius piger*, *Eukiefferiella rectangularis*, *Heterotrissocladius subpilosus*,

Limnophyes gurgicola, *Nanocladius bicolor*, *Rheotanytarsus distinctissimus*, *Pseudosmittia sp* et *Smittia sp* (Lounaci *et al.*, 2000 ; Moubayed *et al.*, 2007 ; Zerguine *et al.*, 2009; Chaib *et al.*, 2011 ; Kettani & Langton, 2011 ; Chaib *et al.*, 2013 ; Zerguine, 2014 et Boulaaba *et al.*, 2014). Ces résultats obtenus nous permettent de conclure que nos connaissances sur la faune Chironomidienne sont encore incomplètes.

4.2. Etude immunologique

4.2.1. Description de l'espèce allergisante

L'espèce de *Phaenopsectra flavipes* appartient à la famille des Chironomidae. La larve de cette espèce est de couleur rouge, mesurant 5 à 7 mm de longueur. Elle a des tubules anaux plus courts que les pseudopodes postérieurs. L'antenne est formée de 5 segments : le 1^{er} segment est légèrement plus long que la lame antennale. Les soies antérieures SI du labrum sont larges et de marge inférieure dentelée, les soies postérieures SII sont longues et de menues de soies dans la partie métadistale.

Cette espèce est holarctique, diffuse dans toute l'Europe et l'Amérique du Nord (Lehmann, 1979), en France dans le massif central (Verneaux, 1968 b), dans les Alpes (étangs de Chamonix) (Reiss, 1968 a), les Pyrénées (Laville, 1980), la Corse (Delettre, 2001) et en Italie (Nocentini, 1985). En Afrique du Nord, cette espèce a été signalée en Algérie (Chaib *et al.*, 2013) et dans le Nord de la Tunisie (Boulaaba *et al.*, 2014).

Dans cette étude, cette espèce est très abondante du mai jusqu'à aout 2015 dans la station d'oued Dehmane (Nord-Est algérien) avec un maximum de 735 individus pendant le mois de juin (Figure 67). Après l'extraction de ses larves, on a obtenu un extrait brut de 3,28 g du poids qui a été fractionné ultérieurement en quatre fractions F1, F2, F3 et F4 dont leur poids est respectivement de 0,231g, 0,153g, 0,095g et 0,077g.

4.2.2. Dosage des protéines de l'extrait brut

La solution de concentration connue (BSA) nous a permis de constituer une gamme étalon (Figure 79) ; à partir de laquelle on a tracé ce droit étalon ; dont :

$$Y = 0,0597 X + 0,0012$$

$$R^2=0,998$$

D'autre part, on a mesuré l'absorbance de notre échantillon ($x=0,052$) après une dilution ; dont le facteur de dilution $F=10$.

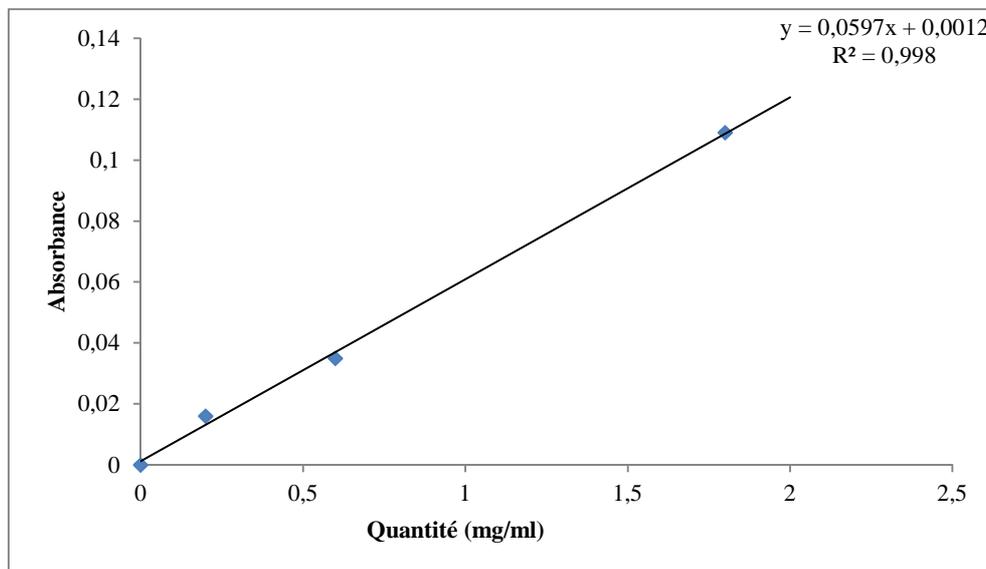


Figure 79 : la courbe d'étalonnage de la solution de BSA selon la méthode de Bradford.

En effet, cette proportionnalité a permis de révéler la teneur totale en protéines dans l'extrait brut larvaire, dont la concentration de protéines était 0,52 mg/ml.

4.2.3. Effet de l'extrait larvaire de *P. flavipes* sur un modèle murin

4.2.3.1. Effet de l'extrait brut de *P. flavipes* sur un modèle murin

A. L'effet 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 $6,18 \pm 2,61 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris témoins) à $4,9 \pm 0,5 \cdot 10^3$ cellules/ μl (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 $2,85 \pm 1,18 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris témoins) à $0,475 \pm 0,21 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris traitées). Par contre, le nombre de lymphocytes a augmenté de $3,2 \pm 1,41 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à $4,2 \pm 0,42 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris traitées (Figure 80).

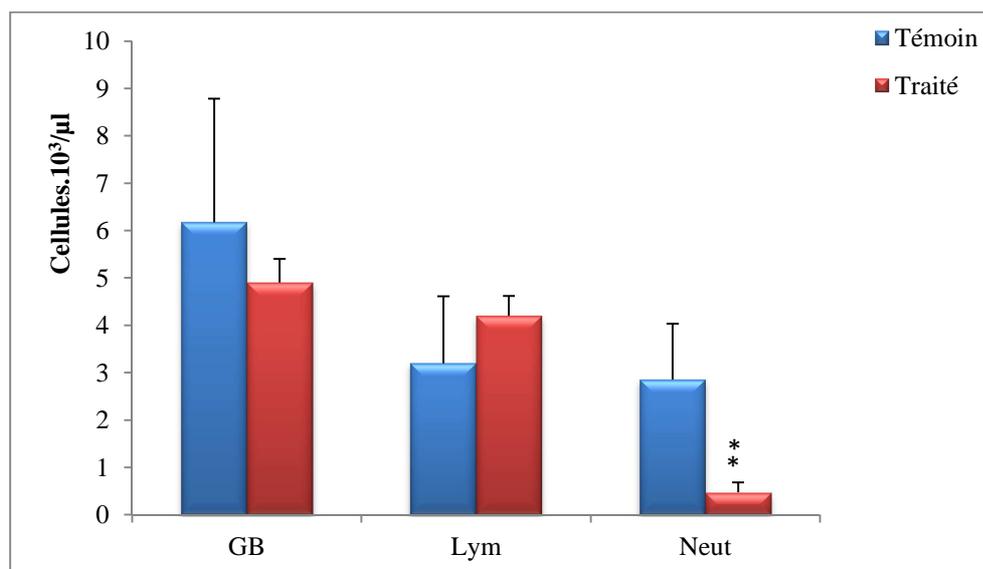


Figure 80 : Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles des souris témoins et traitées.

***Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,01$).*

GB : globule blanc ; Lym : lymphocyte ; Neut : neutrophile.

D'autre part, une augmentation significative ($P = 0,017$) du nombre des monocytes après l'exposition a été enregistrée de $0,025 \pm 0,05 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à $0,15 \pm 0,06 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les animaux traités. D'autre part, le nombre des éosinophiles a diminué de $0,1 \pm 0 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris témoins) à $0,075 \pm 0,05 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris traitées) (Figure 81). Egalement, le taux moyen des plaquettes a augmenté significativement ($P = 0,001$) de $313,5 \pm 200,85 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris témoins) à $912 \pm 66,62 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris traitées) (Figure 82).

B. Effet de l'extrait brut 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 $26,81 \pm 11,8 \cdot 10^9$ cellules/L (les souris témoins) à $60,68 \pm 18,26 \cdot 10^9$ cellules/L (les souris traitées) (Figure 83).

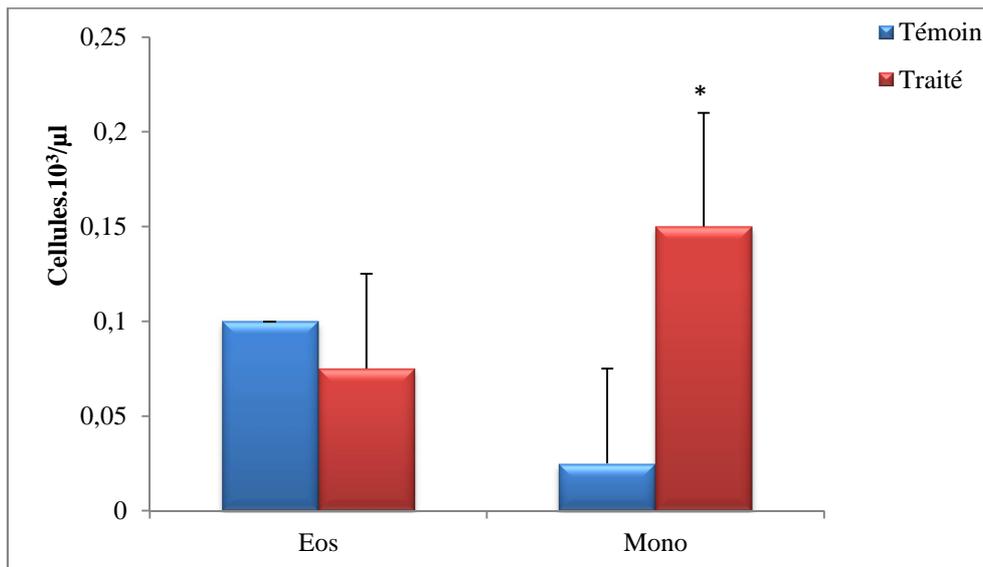


Figure 81 : Variation du taux des éosinophiles et des monocytes des souris témoins et traitées.

*Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,05$).

Eos : éosinophile ; Mon : monocyte.

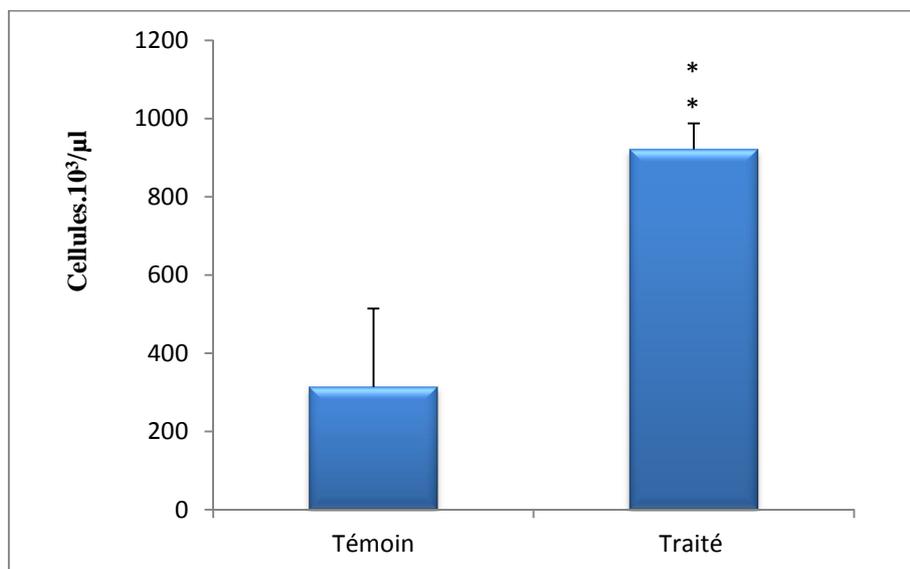


Figure 82 : Variation du taux des plaquettes des souris témoins et traitées.

** Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,01$).

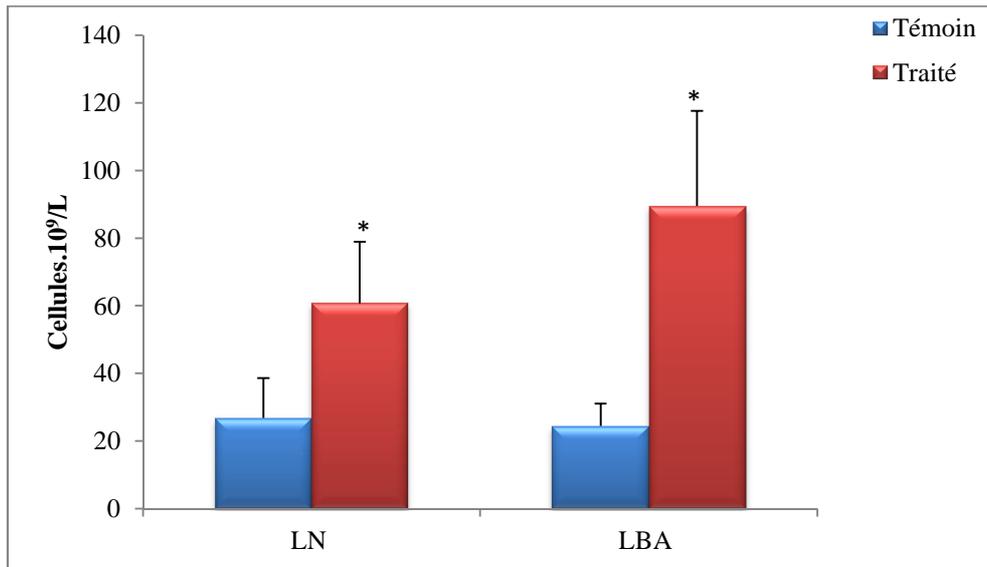


Figure 83 : Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées.

* Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,05$).

LN : lavage nasal ; LBA : lavage broncho-alvéolaire.

D'autre part, les frottis réalisés et observés au microscope optique ($\times 400$), ont montré une richesse et une augmentation du nombre des cellules chez les souris traitées par rapport aux souris témoins, notamment les polynucléaires neutrophiles (Figure 84).

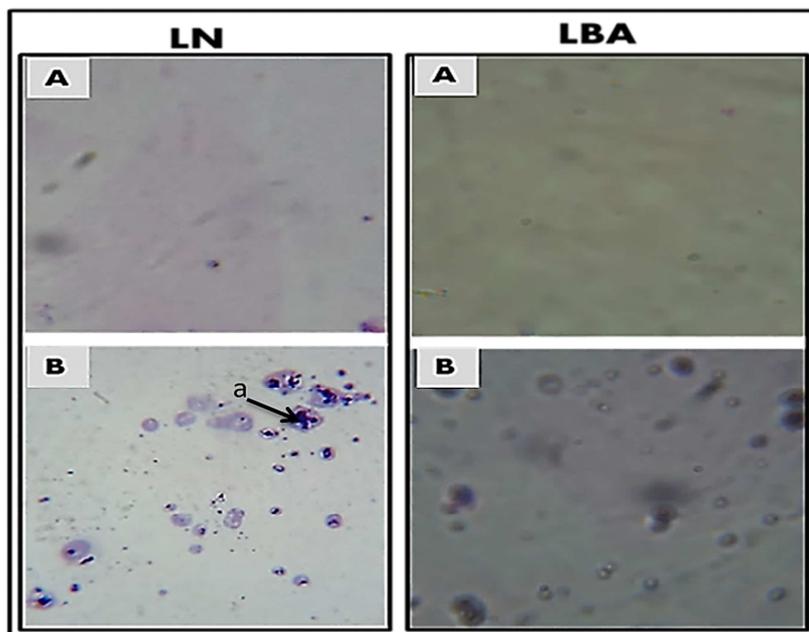


Figure 84 : Frottis des lavages nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées ($\times 400$). LN : lavage nasal, LBA : lavage broncho-alvéolaire, A : témoins, B : traitées, a : polynucléaire neutrophile.

C. Effet de l'extrait brut 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 changé de $24,5 \pm 6,62 \cdot 10^9$ cellules/L (les souris témoins) à $89,43 \pm 28,21 \cdot 10^9$ cellules/L (les souris traitées) (Figure 83).

Quant aux frottis réalisés et observés au microscope optique ($\times 400$), une augmentation du nombre des leucocytes des souris traitées par rapport aux témoins et une richesse en polynucléaires neutrophiles et en macrophages alvéolaires ont été enregistrées (Figure 84).

D. Effet de l'extrait brut sur la rate

L'exposition à l'extrait larvaire est accompagnée par 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 traitées), mais cette augmentation reste non significative (Figure 85).

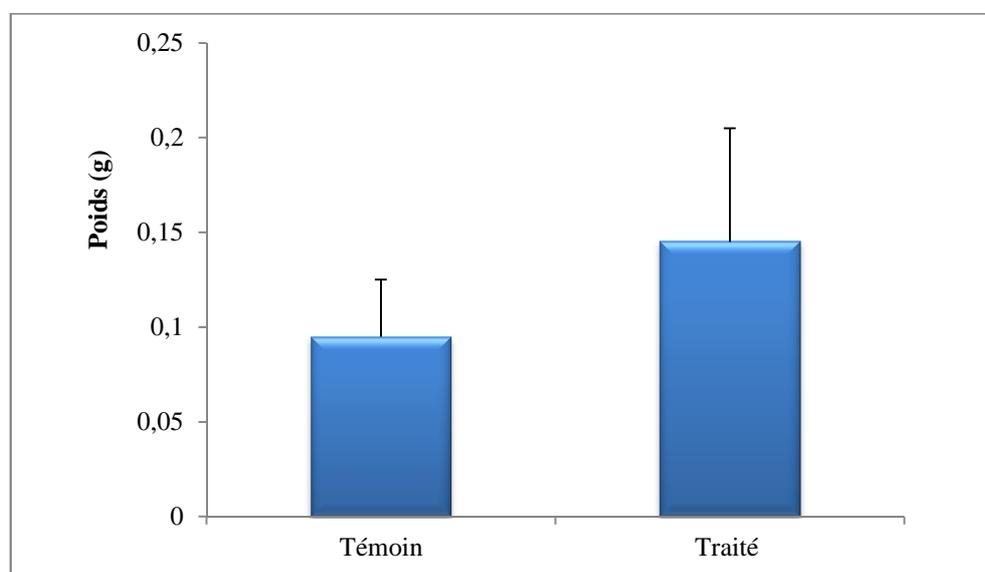


Figure 85 : Variation du poids de la rate des souris témoins et traitées.

D'autre part, le nombre des splénocytes a connu une augmentation significative ($P = 0,023$) de $15,25 \pm 2,88 \cdot 10^9$ cellules/L (les souris témoins) à $28,31 \pm 8,09 \cdot 10^9$ cellules/L (les souris traitées) (Figure 86).

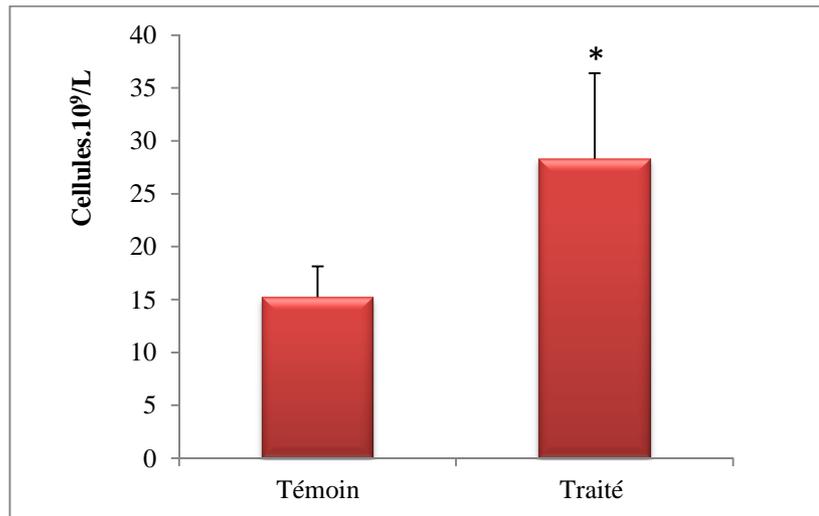


Figure 86 : Variation du nombre des splénocytes des souris témoins et traitées.

*Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,05$).

E. Effet de l'extrait brut 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 (Figure 87).

En outre, l'examen microscopique des coupes histologiques des poumons des souris témoins a montré une structure normale (Figure 88). 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 (Figure 88). Egalement, une diminution du diamètre alvéolaire a été observée et qui pourrait être dû à un épaissement de la paroi alvéolaire suite à une prolifération des fibres conjonctives.

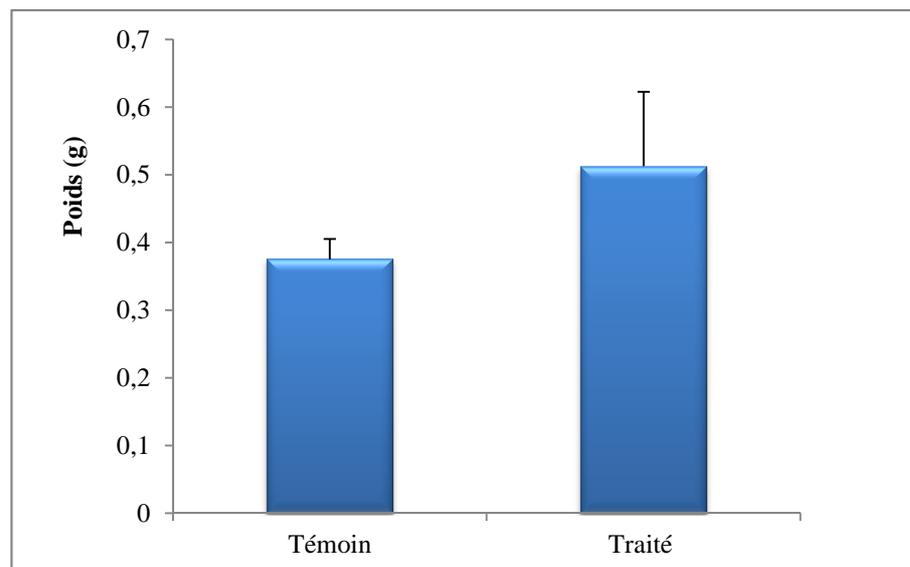


Figure 87 : Variation du poids des poumons des souris témoins et traitées.

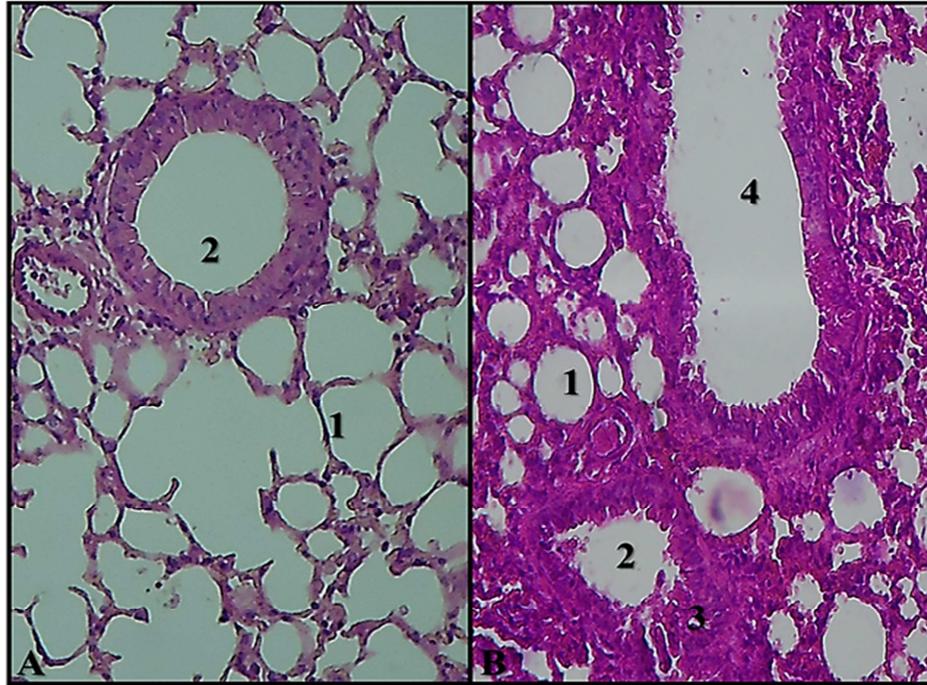


Figure 88 : Coupes histologiques des poumons des souris témoins et traitées (x100).

A : Poumon du témoin, B : Poumon après traitement

1-Alvéole, 2-Bronchiole, 3-Infiltrat cellulaire, 4-Vaisseaux sanguin

4.2.3.2. Effet des fractions de l'extrait larvaire de *P. flavipes* sur un modèle murin

A. L'effet sur le nombre leucocytaire du sang périphérique

La formule leucocytaire a présenté des variations après l'exposition aux fractions 1, 2, 3 et 4 de l'extrait larvaire de l'insecte. Le taux global des globules blancs présents dans le sang, a diminué après le traitement par les quatre fractions de $6,14 \pm 1,02 \cdot 10^3$ cellules/ μl (témoins) à $6,07 \pm 0,62 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1), $5,85 \pm 0,59 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F2), $5,77 \pm 0,84 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3) et $5,45 \pm 1,22 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F4) (Figure 89). Ces variations du taux global des globules blancs sont expliquées par les variations du nombre des différentes sous populations cellulaires dans le sang périphérique des animaux, après l'exposition au traitement.

Le nombre de neutrophiles a diminué, après le traitement par les quatre fractions, de $2,37 \pm 1,23 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à $1,30 \pm 0,35 \cdot 10^3$ cellules/ μl (f1), $0,40 \pm 0,07 \cdot 10^3$ cellules/ μl (f2) d'une façon significative ($P = 0,0001$), $1,07 \pm 0,66 \cdot 10^3$ cellules/ μl ($P = 0,016$) (F3) et $1,13 \pm 0,73 \cdot 10^3$ cellules/ μl ($P = 0,022$) (F4) (Figure 89).

En revanche, une augmentation du nombre de lymphocytes, après l'exposition aux quatre fractions, a été enregistrée de $3,65 \pm 0,68 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à

$4,54 \pm 0,84 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1), $5,25 \pm 0,56 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F2) d'une façon significative ($P=0,0001$), et $4,50 \pm 0,48 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3), $4,22 \pm 0,63 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F4) (Figure 89).

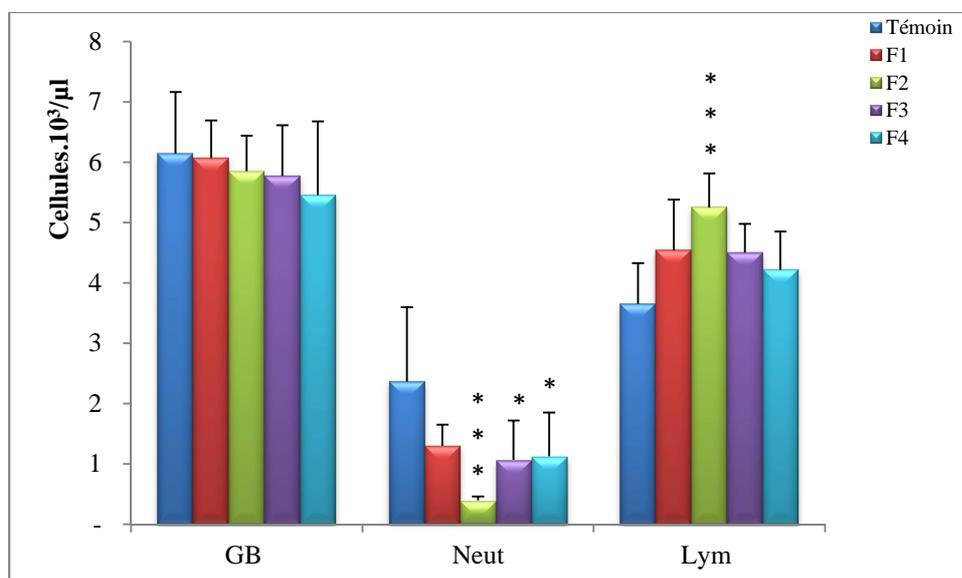


Figure 89 : Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles des souris témoins et traitées.

GB : globule blanc ; Lym : lymphocyte ; Neut : neutrophile.

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

*Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin * ($P < 0,05$) ; *** ($P < 0,001$)*

D'autre part, une augmentation du nombre des monocytes, après l'exposition aux fractions mentionnées ci-dessus, a été enregistrée de $0,03 \pm 0,03 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à $0,06 \pm 0,02 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1), $0,09 \pm 0,02 \cdot 10^3$ cellules/ μl ($P = 0,0001$) (F2), $0,05 \pm 0,03 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3) et $0,06 \pm 0,02 \cdot 10^3$ cellules/ μl ($P = 0,04$) (F4) (Figure 90).

D'autre part, le nombre des éosinophiles a diminué de $0,08 \pm 0,05 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris témoins) à $0,07 \pm 0,07 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1), $0,01 \pm 0,01 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F2), $0,04 \pm 0,04 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3), $0,04 \pm 0,03 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F4) (Figure 90).

Idem pour le taux moyen des basophiles où une augmentation hautement significative ($P = 0,0001$) a été remarquée après le traitement par les trois fractions (F1, F2, F3), de $0,02 \pm 0,04 \cdot 10^3$ cellules/ μl (les souris témoins) à $0,11 \pm 0,01 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1), $0,11 \pm 0,01 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F2), $0,11 \pm 0,01 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3). Par contre, un résultat presque similaire à celui du témoin, a été enregistré après l'exposition à la fraction 4 ($0,01 \pm 0,00 \cdot 10^3$ cellules/ μl) (Figure 90).

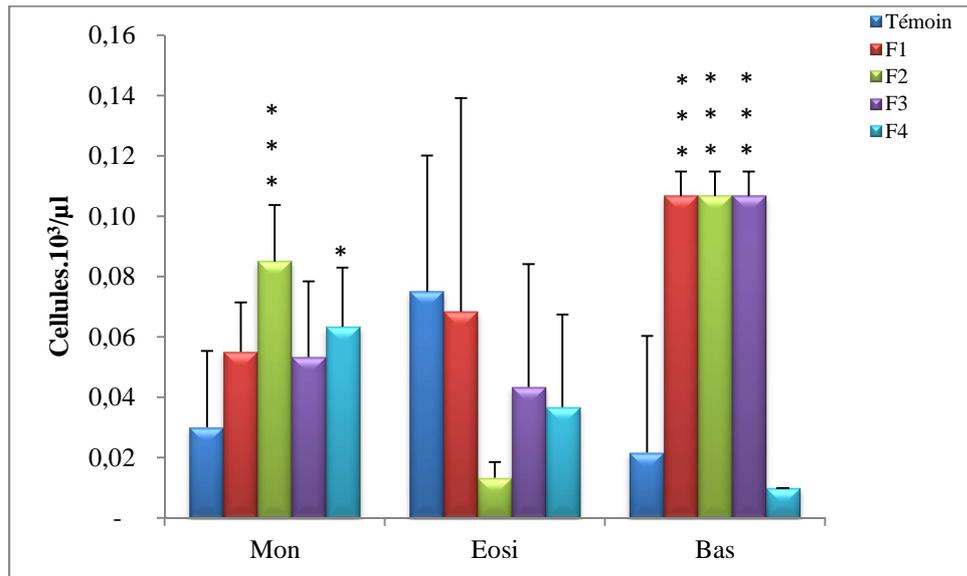


Figure 90 : Variation du taux des monocytes, des éosinophiles et des basophiles des souris témoins et traitées.

MONO: monocyte; EOS: éosinophile; BASO: basophile.

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,05$) ; * ($P < 0,001$)*

D'autre part, une augmentation du taux des plaquettes a été enregistrée, après l'exposition aux fractions 1 et 2 : de $518 \pm 87,57 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à $856,5 \pm 209,01 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1) ($p=0,011$) ; et $685,5 \pm 287,21 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F2). Par contre, le même taux a présenté une diminution après le traitement par la fraction 3 et 4 ; à $497,17 \pm 157,45 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3) et significativement ($P = 0,031$) à $226,67 \pm 39,28 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F4) (Figure 91).

B. Effet sur la composition du liquide de lavage nasal

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

Une augmentation du nombre des leucocytes a été enregistrée dans le liquide de lavage nasal des souris traitées par la fraction 1 et 2, qui a changé de $32,36 \pm 13,49 \cdot 10^3$ cellules/ μl chez les souris témoins à $40,83 \pm 34,41 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F1) et significativement ($P=0,029$) à $105,33 \pm 91,07 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F2). En revanche, ce taux a diminué après l'exposition aux fractions 3 et 4 à $17,33 \pm 3,61 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F3) et $29,17 \pm 10,28 \cdot 10^3$ cellules/ μl (F4) par rapport au groupe témoin (Figure 92).

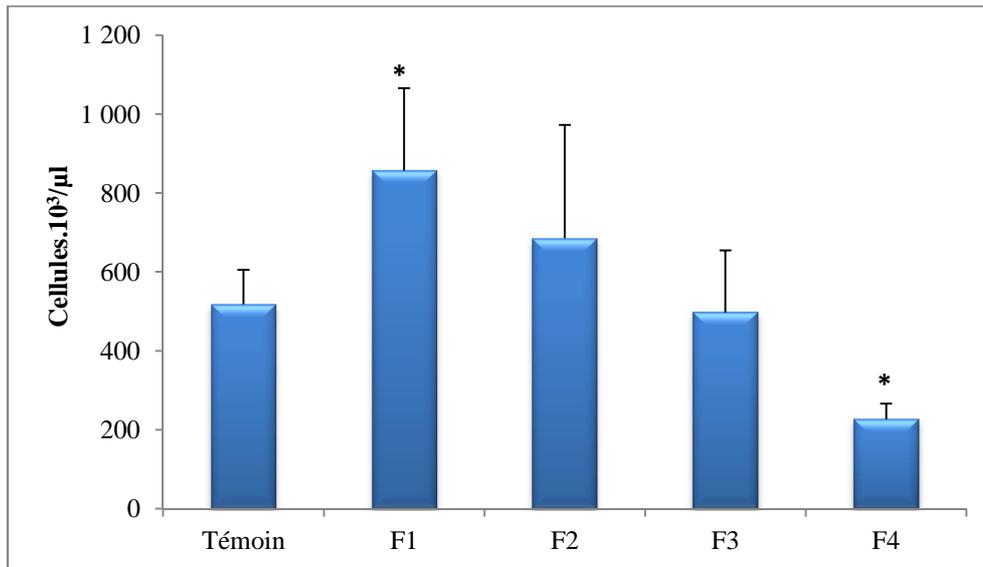


Figure 91 : Variation du taux des plaquettes des souris témoins et traitées.

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

*Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,05$)

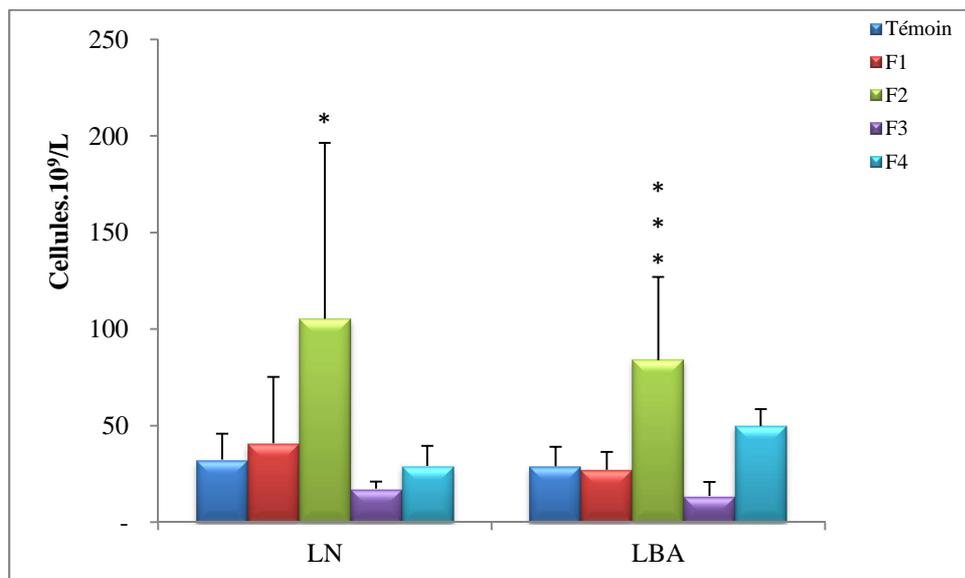


Figure 92 : Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées.

* Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,05$). *** ($P < 0,001$)

LN : lavage nasal ; LBA : lavage broncho-alvéolaire.

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

C. L'effet sur la composition du liquide de lavage broncho-alvéolaire

L'exposition des souris aux différentes fractions de l'extrait larvaire a agi sur le nombre des leucocytes dans le liquide ainsi que sur les différentes populations cellulaires. Le nombre des leucocytes dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire a augmenté après l'exposition aux fractions F2 et F4 ; de $28,98 \pm 10,09.10^3$ cellules/ μ l chez le groupe témoin à $83,83 \pm 43,09.10^3$ cellules/ μ l (F2) ($P=0,000$) et $49,83 \pm 8,61.10^3$ cellules/ μ l (F4). Par contre, le traitement par les fractions 1 et 3 a provoqué une diminution du nombre des leucocytes dans ce liquide respectivement à $27,17 \pm 9,17.10^3$ cellules/ μ l et $13,5 \pm 7,34.10^3$ cellules/ μ l, par rapport au groupe témoin (Figure 92).

D. L'effet sur la rate

L'exposition aux quatre fractions de l'extrait larvaire est accompagnée par une variation du poids de la rate de $0,10 \pm 0,02$ chez le groupe témoin, à $0,09 \pm 0,02$ g (F1), $0,07 \pm 0,11$ g (F2), $0,09 \pm 0,10$ g (F3), $0,04 \pm 0,08$ g (F4) (Figure 93). En effet, cette variation reste non significative et d'une façon aléatoire selon le poids corporel de l'animal.

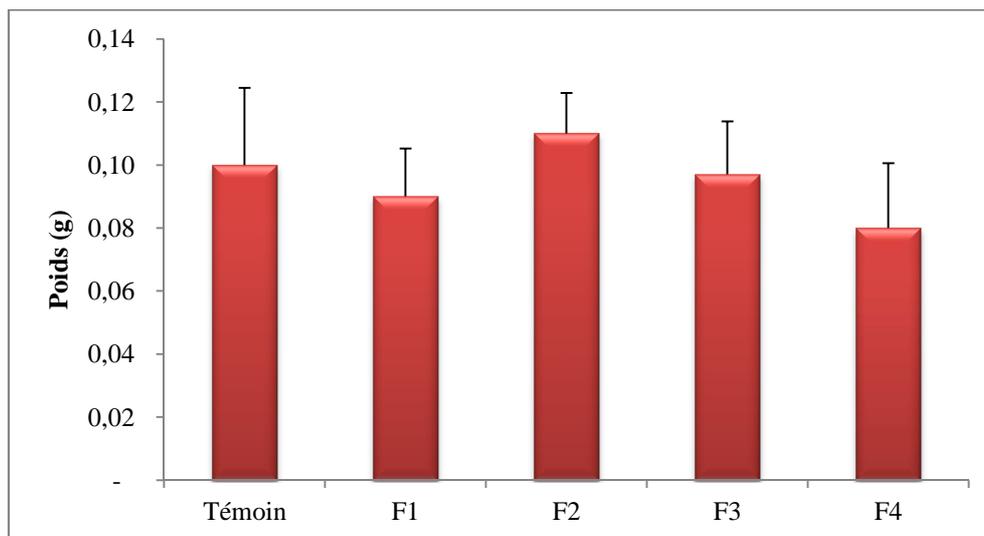


Figure 93 : Variation du poids de la rate des souris témoins et traitées.

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

Le nombre des splénocytes a connu une augmentation très significative ($P=0,007$) après l'exposition à la fraction 2 de $20,03 \pm 7,87.10^3$ cellules/ μ l chez les souris témoins à $41,67 \pm 20,61.10^3$ cellules/ μ l et une simple augmentation après traitement par la fraction F3 à $20,83 \pm 4,75.10^3$ cellules/ μ l. Par contre, le traitement par les fractions 1 et 4 a induit une

diminution des cellules spléniques respectivement à $18 \pm 4,56 \cdot 10^3$ cellules/ μ l et $19 \pm 7,69 \cdot 10^3$ cellules/ μ l par rapport au groupe témoin (Figure 94).

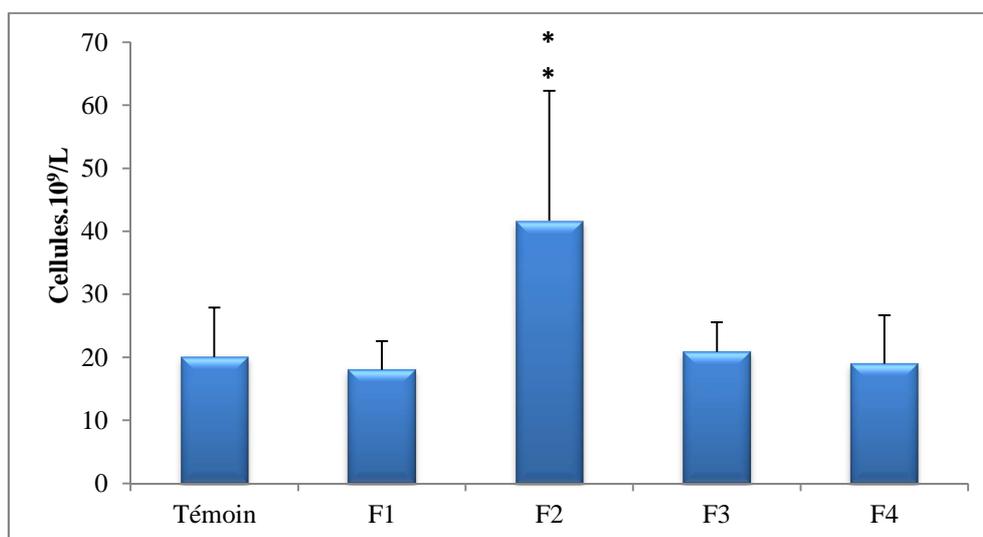


Figure 94 : Variation du nombre des splénocytes des souris témoins et traitées.

**Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($P < 0,01$).

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

E. L'effet sur les poumons

L'instillation intra-nasale des différentes fractions de l'extrait larvaire chez les souris a induit une variation non significative du poids des poumons de $0,37 \pm 0,03$ chez les souris témoins à $0,31 \pm 0,10$ g (F1), $0,34 \pm 0,07$ g (F2), $0,38 \pm 0,09$ g (F3) et $0,25 \pm 0,32$ g (F4) (Figure 95).

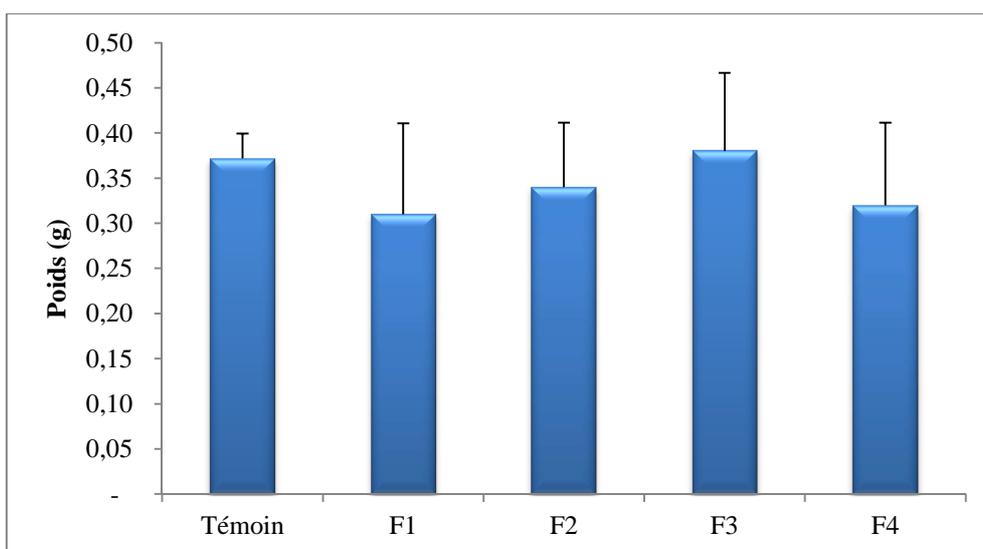


Figure 95 : Variation du poids des poumons des souris témoins et traitées.

F1 : fraction 1 ; F2 : fraction 2 ; F3 : fraction 3 ; F4 : fraction 4.

En outre, l'examen microscopique des coupes histologiques pulmonaires des souris traitées par les trois fractions (F1, F3 et F4) de l'extrait brut, a montré une structure normale (Figure 96). Par contre, un changement structural pulmonaire a été signalé chez les animaux traités par la fraction 2 (F2) sous forme d'infiltrat inflammatoire intra-épithéliale et péri-bronchique, ainsi qu'un œdème illustrant la migration cellulaire (Figure 96). De plus, un rétrécissement de la paroi bronchiolaire a été observé.

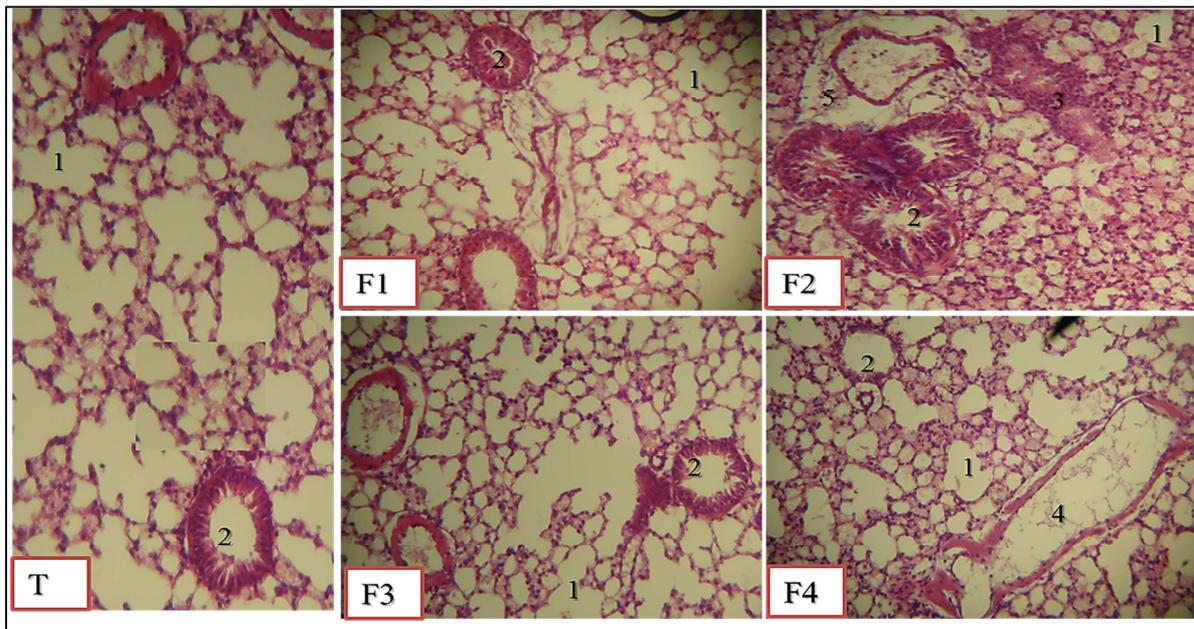


Figure 96 : Coupes histologiques pulmonaires des souris traitées par les quatre fractions de l'extrait brut larvaire de *F. flavipes* (x100).

T : Témoin, F1 : Fraction 1, F2 : Fraction 2, F3 : Fraction 3, F4 : Fraction 4.
1-Alvéole, 2-Bronchiole, 3-Infiltrat cellulaire, 4-Vaisseaux sanguins, 5-Œdème

4.2.4. Discussion

Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules qui produisent de nombreux médiateurs pro-inflammatoires susceptibles de participer à la réaction allergique. Elles représentent les premières cellules à migrer du sang circulant vers un foyer inflammatoire (Chapel *et al.*, 2004). Après le traitement par l'extrait brut larvaire et par les quatre fractions (principalement la fraction 2), la diminution du taux des neutrophiles (Figure 80 et 89), responsable de la diminution du taux global des globules blancs peut être expliquée par leur migration orientée (chimiotactisme) à travers la paroi des vaisseaux en direction des foyers infectieux ou inflammatoires pour exercer leur rôle phagocytaire (Vaubourdolle, 2007). Cette migration survient sous l'effet des cytokines sécrétées principalement par les macrophages telles que l'IL8 (Van Goethem, 2010), ou sous l'effet des agents chimiotactiques déjà produits

dans le foyer inflammatoire (Chapel *et al.*, 2004), comme l'histamine et la sérotonine. Ces amines biologiquement actives sont secrétées principalement par les plaquettes. L'histamine favorise la contraction des muscles lisses, augmente la perméabilité vasculaire et recrute les granulocytes éosinophiles et neutrophiles et la sérotonine entraîne la vasodilatation capillaire (Cuccuini, 2005). Dans le cas d'allergie aux acariens, l'activation de ces polynucléaires est susceptible d'induire des dommages tissulaires responsables d'inflammation bronchique allergique (Bessot & Pauli, 2011). Egalement, des taux élevés de neutrophiles ont été notés notamment dans les expectorations au cours des crises d'asthme (Fahy *et al.*, 1995), dans les lavages bronchiques de patients intubés pour asthme sévère (Lamblin *et al.*, 1998) et dans des examens d'autopsie où l'asthme était la cause du décès (Sur *et al.*, 1993), suite à leur recrutement vers ces foyers inflammatoires. Dans le cas d'allergie aux acariens, l'activation de ces polynucléaires est susceptible d'induire des dommages tissulaires responsables d'inflammation bronchique allergique (Bessot & Pauli, 2011).

L'augmentation des lymphocytes (Figure 80 et 89), après le traitement par l'extrait brut et les fractions (F1, F2, F3 et F4) est probablement le résultat d'une réponse immunitaire spécifique vis-à-vis de l'allergène étudié. Au cours de cette réponse, une activation lymphocytaire est installée au niveau des organes lymphoïdes après le contact avec l'antigène. Cette activation lymphocytaire est suivie par une prolifération et différenciation en plusieurs sous populations provoquant l'augmentation du taux des lymphocytes dans la circulation sanguine (Vaubourdolle, 2007). Il existe une augmentation significative de la proportion des lymphocytes T activés dans le sang et la muqueuse bronchique des sujets atteints d'asthme sévère (Pham Van, 2010). En effet, dans une phase tardive de la maladie asthmatique, une infiltration pulmonaire de type CD4⁺ dotée d'un profil cytokinique de type Th2 a été enregistrée chez les sujets asthmatiques, où ces cellules jouent un rôle essentiel dans la pathogénèse de l'asthme en orchestrant le recrutement et l'activation des cellules effectrices primaires (mastocytes et éosinophiles) à travers la sécrétion de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 (Besnard, 2010).

Egalement, le traitement des animaux provoque augmentation des monocytes (Figure 81 et 90), ce qui confirme le développement d'un processus inflammatoire, au cours duquel la production de ces cellules circulantes est contrôlée principalement par un facteur humoral, FIM (factor increasing monocytopoiesis), protéine synthétisée et secrétée par les macrophages activés au site de l'inflammation (Van Furth, 1985). Généralement, cette prolifération

monocytaire est suivi par une migration ultérieure d'une grande proportion de ces cellules vers les sites de l'inflammation (l'épithélium bronchique) où elles se différencient en macrophages afin d'exercer leur activité phagocytaire et d'amplifier la réaction inflammatoire allergique. En effet, d'importantes quantités de macrophages sont trouvées à la surface de l'épithélium bronchique et dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire des asthmatiques (Pham Van, 2010).

La diminution remarquable des éosinophiles (Figure 81 et 90), après le traitement par l'extrait brut et les quatre fractions peut être expliquée par leur recrutement vers un foyer inflammatoire (les voies respiratoires) suite à l'introduction intranasale de notre allergène, sous l'effet de certains facteurs chimiotactiques particuliers à l'éosinophiles tels que l'histamine, l'ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis) et la prostaglandine D2, libérés par les basophiles et les mastocytes au cours de la réaction d'hypersensibilité immédiate (Vaubourdolle, 2007). Egalement, les éosinophiles circulants activés sont recrutés sur le site de l'inflammation grâce aux cytokines telles que le GM-CSF, le TNF α , l'IL-13 et l'IL-4 et à certaines chimiokines telles que CCL11 et CCL24, CCL3, CCL22 (Besnard, 2010). L'infiltration des éosinophiles vers les voies respiratoires conduit à une diminution du taux globale de ces granulocytes dans le sang des animaux traités. En effet, l'inflammation qui se produit dans l'allergie respiratoire, plus précisément dans l'asthme, est souvent décrite comme éosinophilique (Pham Van, 2010). 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 (Bessot & Pauli, 2011).

L'augmentation significative des basophiles (Figure 90) après le traitement par les trois fractions F1, F2 et F3 est souvent accompagnée par une inflammation allergique ce que a été observé chez les individus allergiques, notamment, pendant les phases d'exposition à l'allergène (Besnard, 2010). En effet, ces cellules amplifient la réaction d'hypersensibilité immédiate en sécrétant l'histamine préformée dans les granules et en produisant de larges quantités d'IL-4 (Besnard, 2010). En revanche, le traitement par la fraction F4, conduit à une simple diminution du taux moyen des basophiles circulants.

L'augmentation significative des plaquettes (Figure 82 et 91), suite à l'introduction de la fraction (F1) et l'extrait brut, peut-être expliquée par leur activation par le facteur PAF sécrété par les macrophages activés afin d'amplifier la réaction inflammatoire. En effet, grâce à la présence des récepteurs de faible affinité à la surface des plaquettes, ces dernières jouent

un rôle très important dans la pathogénèse de l'allergie respiratoire (Tossa, 2009). En revanche, leur diminution après l'exposition à la fraction F4, peut être le résultat de leur recrutement vers le foyer inflammatoire pulmonaire parce qu'elles ont la capacité de s'accumuler dans les zones inflammatoires (Berthet, 2010).

D'une façon générale, les souris traitées par la fraction 1, 3 et 4 (Figure 92) ne présentent pas une variation remarquable du taux des cellules dans les deux liquides de lavage. Par contre, le traitement par l'extrait brut comme la fraction 2, induit une augmentation significative du taux moyen de cellules dans les deux liquides de lavage (Figure 83 et 92). Ceci peut être expliqué par le recrutement massif des granulocytes neutrophiles et éosinophiles du sang périphérique vers le site inflammatoire. Dans une autre étude, le nombre des mastocytes est significativement augmenté dans la muqueuse nasale des malades atteints de rhinite allergique et dans la paroi et les sécrétions bronchiques des asthmatiques (Ito *et al.*, 1997). Egalement, l'activation des cellules épithéliales par un allergène provoque un état inflammatoire pulmonaire conduisant au recrutement des mastocytes au niveau du foyer de l'inflammation (Reber *et al.*, 2006). D'autre part, l'activation des cellules dendritiques pulmonaires par un allergène recrute les cellules T, les granulocytes éosinophiles et basophiles au niveau pulmonaire, suite à la production des chimiokines (Besnard, 2010). Toutes ces cellules recrutées vers le foyer inflammatoire pulmonaire peuvent être responsables à l'augmentation du taux des leucocytes des deux liquides de lavage, ce qui est en accord avec le résultat obtenu. 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 périvasculaires et péri-bronchiques (Fischer *et al.*, 2005).

L'augmentation significative des splénocytes (Figure 86 et 94) après le traitement par l'extrait brut et la fraction F2 confirme l'état inflammatoire déclenché, dont une activation et prolifération lymphocytaire sont installées au niveau de la rate comme un organe lymphoïde secondaire, afin de déclencher une réponse adaptative vis-à-vis de l'allergène introduit. D'autre part, les lymphocytes B producteurs d'IgE sont recrutés préférentiellement dans la rate au contraire des lymphocytes TCD4, responsables des infiltrats cellulaires pulmonaire dans le cas d'un asthme allergique, ce qui agit directement sur le nombre des splénocytes (Besnard, 2010).

Dans l'ensemble, les résultats obtenus ont montrés que la fraction 2 a un effet presque similaire à celui de l'extrait brut sur l'inflammation des voies respiratoires des animaux traités. Ceci est confirmé par le changement structural pulmonaire signalé chez les animaux traités par la fraction 2 (F2) (Figure 96). Pour cela, on peut conclure que l'effet inflammatoire de l'extrait de *P. flavipes* est dû à la présence d'un ou de plusieurs allergènes se trouvant dans la fraction 2 de l'extrait de l'insecte, ce qui nécessite d'autres études plus approfondies afin d'étudier les effets des allergènes purifiés de cette espèce allergisante.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les Chironomidae sont des insectes non piqueurs qui appartiennent à l'ordre des Diptères dans le sous-ordre des Nématocères. En effet, dans des pays comme le Soudan, les États-Unis, l'Égypte et le Japon, ces moucheron sont à l'origine de graves allergies environnementales. Cependant, en Algérie cette hypersensibilité n'est pas encore vérifiée malgré que ce pays soit riche en zones humides d'importance internationale.

Dans le cadre de l'étude faunistique des Chironomidae dans les eaux lotiques du Nord-Est algérien, neuf stations d'échantillonnage ont été visitées sur le cours d'eau principal d'Oued Charef (Nord-Est algérien) et quelques affluents en amont et en aval, au cours d'une année d'étude. En effet, le présent travail a permis d'identifier 7617 spécimens formant une liste de 75 espèces réparties en 04 sous familles. La sous famille des Chironominae contient la majorité des espèces avec 35 espèces, suivie par celle des Orthoclaadiinae (24 espèces), puis la sous famille des Tanypodinae qui englobe 15 espèces et enfin la sous famille des Prodiamesinae qui contient une (01) seule espèce. Un total de 35 espèces sont nouvelles pour l'Algérie, parmi lesquelles 25 sont également nouvelles pour le Nord de l'Afrique. Ces résultats obtenus nous ont permis de conclure que notre connaissance sur la faune Chironomidienne est encore incomplète.

Cette première approche écologique a montré une abondance remarquable d'une espèce dite *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae). L'abondance de cette espèce allergisante dans notre zone d'échantillonnage nous a permis d'étudier les effets de l'inhalation des pneumallergènes chironomidiens de *P. flavipes* chez les souris sous forme d'extrait brut et ses fractions. Dans l'ensemble, l'extrait larvaire de *P. flavipes* est susceptible d'induire une inflammation nasale et bronchique. Ce processus inflammatoire est capable d'évoluer, dans des conditions particulières, en un processus inflammatoire allergique chez la population la plus exposée.

En fait, nos perspectives d'avenir se résument à deux axes principaux :

- Sur le plan de la taxinomie, il est important de compléter l'inventaire des Chironomidae dans tout le territoire algérien en prospectant les milieux lotiques et lentiques.
- Sur le plan de la santé humaine, il est souhaitable de procéder à des études plus approfondies afin d'étudier les effets des allergènes purifiés de cette espèce

allergisante. Egalement, les enquêtes épidémiologiques sur l'asthme et les allergies respiratoires chez la population à haut risque d'allergie « vivante à proximité des sources de ces insectes », nous permettra de valoriser la prévalence de l'asthme allergique afin de sensibiliser les gens et donc la prévention du développement de cette allergie.

En effet, les allergies respiratoires posent un important problème de santé publique ce qui nécessite une collaboration sérieuse entre notre domaine de recherche scientifique, le domaine d'allergologie médicale et le domaine sanitaire et social.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABH : Agence des Bassins hydrographiques –Constantinois - Seybouse – Mellegue, 1999. Cahiers de l'agence (ministère de l'équipement et de l'aménagement du territoire).

Abou Chakra O., 2009. Allergénicité des Granules Cytoplasmiques de Pollen. Thèse de doctorat. Université Paris Diderot, Paris. 196 p.

Adjissi, O., 2009. Etude hydro-climatique de l'écoulement moyen intrannuel du bassin de Seybouse. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar, Annaba. 187 p.

Aldunate MT., Echechipía Gómez B., García BE., Olaguibel JM., Rodríguez A., Moneo I. & Tabar AI., 1999. Quironómidos y otras causas de alergia a comida de peces. *Rev. Alergol. Inmunol. Clin.* **14(3)**, 140-145.

Amu S., Saunders SP., Kronenberg M., Mangan NE., Atzberger A. & Fallon PG., 2010. Regulatory B cells prevent and reverse allergic airway inflammation via FoxP3-positive T regulatory cells in a murine model. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **125 (5)**, 1114-1124.

Arlian LG., 2002. Arthropod allergens and human health. *Annu. Rev. Entomol.* **47**, 395-433.

Armitage P., Cranston PS. & Pinder LCV., 1995. Chironomidae - Biology and ecology of non-biting midges. Chapman & Hall, London. 572 p.

Bagnouls S. & Gaussen H., 1957. Les climats biologiques et leurs classifications. *Ann. Géogr. Fr.* **355**, 193-220.

Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu YJ., Pulendran B. & Palucka K., 2000. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* **18**, 767-811.

Barbato A., Turato G., Baraldo S., Bazzan E., Calabrese F., Panizzolo C., Zanin ME., Zuin R., Maestrelli P., Fabbri LM., & Saetta M., 2006. Epithelial damage and angiogenesis in the airways of children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* **174 (9)**, 975-981.

Baur X., Dewair M., Fruhmann G., Aschauer H., Pflutschinger J. & Braunitzer G., 1982. Hypersensitivity to chironomids (non-biting midges): localization of the antigenic

determinants within certain polypeptide sequences of hemoglobins (erythrocytins) of *Chironomus thummi thummi* (Diptera). *J. Allergy. Clin. Immunol.* **69** (1), 66-76.

Baur X., Dewair M., Haegele K., Prelicz H., Scholl A. & Tichy H., 1983. 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.* **54** (2), 599-607.

Baur X., Liebers V., Mazur G., Becker WM., Kagen SL. & Kawai K., 1991. Immunological cross-reactivity of hemoglobins in the Diptera family Chironomidae. *Allergy.* **46** (6), 445-451.

Beaumont A. & Cassier P., 1983. Biologie animale des Protozoaires aux Métazoaires épithéloneuriens. Bordas, Paris, France. 954 p.

Bedoret D., Wallemacq H., Marichal T., Desmet C., Quesada Calvo F., Henry E., Closset R., Dewals B., Thielen C., Gustin P. *et al.*, 2009. Lung interstitial macrophages alter dendritic cell functions to prevent airway allergy in mice. *J. Clin. Invest.* **119** (12), 3723-3738.

Berthet J., 2010. Rôle fonctionnel du Toll-Like Receptor 4 exprimé par les plaquettes sanguines en tant que cellules inflammatoires de l'immunité. Thèse de doctorat, l'Université Jean Monnet de Saint-Etienne, Lyon. 216 p.

Besnard AG., 2010. Etude des mécanismes immunitaires dans un modèle d'inflammation pulmonaire allergique chez la souris : Rôles de l'interleukine-22. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, France. 188 p.

Bessot JC. & Pauli G., 2008. Allergènes rares de l'environnement intérieur. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* **48** (2), 95-101.

Bessot JC, Pauli G., 2011. Les acariens domestiques et leurs allergènes. *Rev. Mal. Respir.* **28**, 475-495.

Borish L., Aarons A., Rumbyrt J., Cvietusa P., Negri J. & Wenzel S., 1996. Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **97**, 1288-1296.

- Bouhala Z., 2012. Contribution à l'étude des macroinvertébrés de Oued Charef (Oued Seybousse). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 136 p.
- Boulaaba S., 2015. Taxinomie, Ecologie et Biogéographie des Chironomidae (Insecta, Diptera, Nematocera) de la Tunisie Septentrionale. Thèse de doctorat. Université de Carthage, Bizerte. 304 p.
- Boulaaba S., Zrelli S., Pióciennik M. & Boumaiza M., 2014. Diversity and distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera) of protected areas in North Tunisia. *Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst.* **6**, 415.
- Boumaiza, M. & Laville, H., 1988. Premier inventaire faunistique des Chironomidae (Diptera: Chironomidae) des eaux courantes de Tunisie. *Annals Limnol.* **24**, 173-181.
- Boumendjel A., Tridon A. & Ughetto S., 2010. Environnement allergénique d'une population d'enfants asthmatiques à Annaba (Algérie). *Ann. Biol. Clin.* **68 (3)**, 317-324.
- Brasch J., Brüning H. & Paulke E., 1992. Allergic contact dermatitis from chironomids. *Contact Dermatitis.* **26 (5)**, 317-320.
- Cabrera-Freitag P., Ferrer M., Martínez R., Javaloyes G. & Sanz ML., 2011. The basophil activation test as a promising diagnostic tool in hypersensitivity to chironomid larvae. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **21 (2)**, 158-159
- Cabrerizo Ballesteros S., de Barrio M., Baeza ML. & Rubio Sotés M., 2006. Allergy to chironomid larvae (red midge larvae) in non professional handlers of fish food. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **16 (1)**, 63-68.
- Callisto M., Moreno P., Gonçalves JFJ., Leal JJF & Esteves FA., 2002. Diversity and biomass of Chironomidae (Diptera) larvae in an impacted coastal lagoon in Rio De Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.* **62 (1)**, 77-84.
- Chaib N., Bouhala Z., Fouzari L., Marziali L., Samraoui B. & Rossaro B., 2013. Environmental factors affecting the distribution of Chironomid larvae of the Seybouse wadi, North-Eastern Algeria. *J. Limnol.* **72 (2)**, 203-214.

Chaib N., Samraoui B., Marzialli L. & Rossaro B., 2011. Chironomid taxocenosis in a South Mediterranean wadi, the Kebir-East (Algeria). *Studi. Trent. Sci. Nat.* **88**, 61-75.

Chakri K., 2007. Contribution à l'étude écologique de *Daphnia magna* (Branchiopoda : Anomopoda) dans la Numidie, et inventaire des grands Branchiopodes en Algérie. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 171 p.

Chapel H., Haeney M., Misbah S. & Snowden N., 2004. Immunologie clinique : de la théorie à la pratique, avec cas cliniques. Oxford: De Boeck éditions. 323 p.

Chessel D. & Bernaud M., 1987. Progrès récent en analyse des données écologiques. Communication au 4ème colloque l'AFIE. « La gestion des systèmes écologiques ».

Chibani, S., 2009. Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et microbiologique des eaux de surface et souterraine de la région de Ain Makhlof (Wilaya de Guelma). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 104 p.

Coffman W. P., 1989. Factors that determine the species richness of lotic communities of Chironomidae. *Acta Biologica Debrecina Oecologica Hungarica* 3: 95–100.

Cranston PS., 1988. Allergens of non-biting midges (Diptera: Chironomidae): a systematic survey of chironomid haemoglobins. *Med. Vet. Entomol.* **2** (2), 117-127.

Cranston PS., 1995 a. 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.

Cranston PS., Gad El Rab MO. & Kay AB., 1981. Chironomid midges as a cause of allergy in the Sudan. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **75** (1), 1-4.

Cranston PS., Gad El Rab MO., Tee RD. & Kay AB., 1983. 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.* **77** (5), 527-533.

Dajoz R., 1985. Précis d'écologie. 5^{ème} édition. Dunod, Paris. 517 p.

Dajoz R., 2003. Précis d'écologie. Cours et exercices résolus. Dunod, Paris.

- Daun JR., Shepherd DM. & Noelle JN., 1995. 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.* p. 469-481.
- Davies BR., 1976. Wind distribution of the egg masses of *Chironomus anthracinus* (Zetterstedt) (Diptera: Chironomidae) in a shallow, wind-exposed lake (Loch Leven, Kinross). *Fresh. Bio.* **6**, 421- 424.
- Dearman RJ., Caddick H., Stone S., Basketter DA., Kimber I., 2001. Characterization of antibody responses induced in rodents by exposure to food proteins: influence of route of exposure. *Toxicology*. **167 (3)**, 217-231.
- Dejoux C., 1970. Contribution à l'étude des premiers états des Chironomides du Tchad (3^e note). Description comparée des nymphes de *Nilodorum brevipalpis*, *N. brevivucca* et *N. fractilobus*. *Bull. Mus. Hist. Nat.* **1**, 175-184.
- Delettre YR., 2001. An annotated checklist of Chironomidae (Diptera) trapped in Brittany (France) since 1975. *Ann. Limnol. Int. J. Lim.* **37 (2)**, 143-149.
- Dorion G., 2005. Mécanismes et structures impliqués dans l'effet anti-inflammatoire et broncho-relaxant du 1,1-diméthylphényl-4pipérazinium. Thèse de doctorat. Université Laval, Québec. 101 p.
- Douagui, H., 2007. Projet d'application du programme « Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases » (GARD) en Algérie. *Rev. Fr. Allergol.* **47**, 248-249.
- Ducan DD. & Lawrence DA., 1995. T cells and cloned and transformed T cell lines to assess immune function. In: Burleson GR., Dean JH., Munson AE., editors. *Methods in immunotoxicology*. New York, Chichester, Toronto, Singapore: *Wiley liss Inc.* p. 483 - 505.
- ECRHS-I, The European Community Respiratory Health Survey I Steering Committee, 1996. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *Eur. Respir. J.* **9**, 687-695.

ECRHS-II, The European Community Respiratory Health Survey II Steering Committee, 2002. The European Community Respiratory Health Survey II. *Eur. Respir. J.* **20**, 1071-1079.

Emberger L., 1955. Une classification biogéographique des climats. *Rev. Trac. Bot. Geol. Aool. Fasc. Scie.* Montpellier, Série botanique. 343 p.

Erman DC. & Helm WT., 1970. Estimating oxygen consumption from body length for some chironomid larvae. *Hydrobiologia.* **36**, 505-512.

Fahy JV., Kim KW., Liu J. & Boushey HA., 1995. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **95** (4), 843-852.

Ferrington LCJ., 2008. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Hydrobiologia.* **595**, 447-455.

Fischer R., McGhee JR., Vu HL., Atkinson TP., Jackson RJ., Tomé D., *et al.*, 2005. Oral and nasal sensitization promote distinct immune responses and lung reactivity in a mouse model of peanut allergy. *Am. J. Pathol.* **167**, 1621-1630.

Freeman PA., 1950. Species of chironomid (Diptera) from Sudan suspected of causing asthma. *Proc. Royal. Entomol. Soc. London.* **19**, 58-59.

Frouz J., Matena J. & Ali A., 2003. Survival strategies of Chironomids (Diptera: Chironomidae) living in temporary habitats: a review. *Eur. J. Entomol.* **100**: 459-465.

Gad El Rab MO. & Kay AB., 1980. Widespread immunoglobulin E-mediated hypersensitivity in the Sudan to the "green nimitti" midge, *Cladotanytarsus lewisi* (diptera: Chironomidae). *J. Allergy. Clin. Immunol.* **66** (3), 190-207.

Galindo PA., Feo F., Gómez E., Borja J., Melero R., Lombardero M., Barber D. & García Rodríguez R., 1998. Hypersensitivity to chironomid larvae. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* **8**, 219-225.

Galindo PA., Gómez E., Borja J., Feo F., García R., Lombardero M. & Barber D., 1998. Mosquito bite hypersensitivity. *Allergol. Immunopathol. (Madr).* **26** (5), 251-254.

Galli SJ., Nakae S. & Tsai M., 2005. Mast cell in the development of adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* **6** (2), 135-142.

Garrido J., Alaez MF. & Cueto JAR., 1994 a. Geographical distribution of Adepfaga and Polyphaga (Coleoptera) in the Cantabrian Mountains (Spain): Specific richness and analysis of the altitude factor. *Arch. Hydrobiol.* **131**, 353-380.

Ghachi, A., 1986. Hydrologie et utilisation de la ressource en eau en Algérie. Le bassin de la Seybouse. Office des Publications Universitaires 1. Place centrale de Ben Aknoun. Alger. 508 p.

Halimi, S., 2008. Ressources et essai et gestion intégrée des eaux du bassin versant d'Oued Charef/Sedrata (Nord-est algérien). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar, Annaba. 125 p.

Hamr P., 1997. Méthodes d'essai biologique : essai de survie et de croissance des larves dulcicoles de chironomes (*Chironomus tentans* ou *Chironomus riparius*) dans les sédiments. Environnement Canada, Ottawa. 133p.

Harrington LE., Hatton RD., Mangan PR., Turner H., Murphy TL., Murphy KM. & Weaver CT., 2005. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.* **6** (11), 1123-1132.

Hawtin E., 1998. Chironomid communities in relation to physical habitat. In: Bretschko G. & Helesic J. (eds.): Advances in river bottom ecology: 175-184. Backhuys, Leiden.

Henriques-Oliveira A. L., Nessimian J. L. & Dorvillé L. F. M., 2003. Feeding habits of chironomid larvae (Insecta: Diptera) from a stream in the Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Biol.* **63** (2): 269-281.

Huguette T., 2006. Adoption du ruisseau plein champ par les étudiants de Sciences de la nature. Document du Département de Biologie et révisé par le Réseau des cégeps riverains complices en environnement de l'organisme Union Saint-Laurent Grands Lacs (USGL), Paris.

ISAAC, The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISSAC) Steering Committee, 1998a. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur. Respir. J.* **12**, 315-335.

ISAAC, The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering committee, 1998b. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma , allergic rhinoconjunctivitis , and atopic eczema : ISAAC. *The Lancet*. **351**, 1225-1232.

Ito K., Inagaki-Ohara K., Murosaki S., Nishimura H., Shimokata T., Torii S., *et al.*, 1997. Murine model of IgE production with a predominant Th2-response by feeding protein antigen without adjuvants. *Eur. J. Immunol.* **27**, 3427-3437.

Ito K., Miyamoto T., Shibuya T., Kamei K., Mano K., Taniai T. & Sasa M., 1986. Skin test and radioallergosorbent test with extracts of larval and adult midges of *Tokunagayusurika akamusi Tokunaga* (Diptera: Chironomidae) in asthmatic patients of the metropolitan area of Tokyo. *Ann. Allergy.* **57 (3)**, 199-204.

Jaiswal AI., Dubey C., Swain SL., & Croft M., 1996. Regulation of CD40 ligand expression on naïve CD4 T cells: a role for TCR but not co-stimulatory signals. *Int. Immunol.* **8**, 275-285.

Jamet A., Botturi K., Diquet B. & Mollimard M., 2006. Histamine : le rôle du médiateur. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* **46**, 474-479.

Jeong KY., Yum HY., Lee IY., Ree HI., Hong CS., Kim DS. & Yong TS., 2004. Molecular cloning and characterization of tropomyosin, a major allergen of *Chironomus kiiensis*, a dominant species of nonbiting midges in Korea. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **11 (2)**, 320-324.

Jeyasingham K. & Ling N., 1997. Head capsule deformities in *Chironomus zealandicus* (Diptera, Chironomidae): influence of site and substrate. *New. Zeal. J. Mar. Fresh.* **31**, 175-184.

Joetham A., Takeda K., Taube C., Miyahara N., Matsubara S., Koya T., Rha YH., Dakhama A. & Gelfand EW., 2007. Naturally occurring lung CD4 (+) CD25 (+) T cell regulation of airway allergic responses depends on IL-10 induction of TGF-beta. *J. Immunol.* **178 (3)**, 1433-1442.

Johansson SGO., Hourihane JOB., Bousquet J., Brujnzeel-Koomen C., Dreborg S., Haahtela T., Kowalski ML., Mygind N., Ring J., Van Cauwenberge P., Van Hage-Hamsten M. & Wüthrich B., 2004. Révision de la nomenclature de l'allergie (version longue) Prise de position de l'EAACI par le groupe de l'EAACI chargé de la nomenclature. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* **44 (2)**, 218-230.

Kagen SL., 1990. Inhalant allergy to arthropods : Insects, Arachnids, and Crustaceans. *Clin. Rev. Allergy.* **8 (1)**, 99-125.

Kagen SL., Yunginger JW. & Johnson R., 1984. Lake fly allergy: Incidence of chironomid sensitivity in an atopic population. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **73**, 187.

Kagen, SL., 1986. Inhalant Insect Allergy In Monograph on Insect Allergy (Levin, M. I. and Lockey, R. F. edso), D. Lambert Associates, Pittsburgh, PA, 93-102.

Kanny G. & Jacquenet S., 2006. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le traitement des allergies. *Rev. Med. Interne.* **27**, 66-69.

Kay AB., Gad El Rab MO., Stewart J. & Erwa HH., 1978. Widespread IgE-mediated hypersensitivity in Northern Sudan to the chironomid *Cladotanytarsus lewisi* ('green nimitti'). *Clin. Exp. Immunol.* **34 (1)**, 106-110.

Kettani K. & Langton P., 2011. New data on the Chironomidae (Diptera) of the Rif (Northern Morocco). *Polish Journal of Entomology.* **80 (2)**, 587-599.

Khemili S., 2013. Prédiction des épitopes B de l'allergène *Der p 5* et étude in silico de la structure et de l'état oligomérique des allergènes d'acariens des familles 5 et 21. Thèse de doctorat. Université M'hamed Bougara, Boumerdes. 150 p.

Khettar S., 2009. Etude des peuplements de macroinvertébrés et des conditions de milieu de l'oued El Hammam (W. Mascara et Saida). Thèse de Magister. Université Houari Boumediene, Alger. 89 p.

Kino T., Chihara J., Fukuda K., Sasaki Y., Shogaki Y. & Oshima S., 1987. Allergy to insects in Japan. III. High frequency of IgE antibody responses to insects (moth, butterfly, caddis fly, and chironomid) in patients with bronchial asthma and immunochemical quantification of the insect-related airborne particles smaller than 10 microns in diameter. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **79**, 857-66.

Kokkinn MJ., 1990. Is the Rate of Embryonic Development a Predictor of Overall Development Rate in *Tanytarsus barbitarsis* Freeman (Diptera : Chironomidae). *Austr. J. Mar. Fresh. Res.* **41**, 575-579.

Komase Y., Sakata M., Azuma T., Tanaka A. & Nakagawa T., 1997. IgE antibodies against midge and moth found in Japanese asthmatic subjects and comparison of allergenicity between these insects. *Allergy*. **52** (1), 75-81.

Korn T., Bettelli E., Oukka M., Kuchroo VK., 2009. IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol.* **27**, 485-517.

Kutty AA., 2006. The biodiversity of larval Chironomidae within limestone springs. Thèse de doctorat. Université de Loughborough, Angleterre. 269 p.

Lamblin C., Gosset P., Tillie-Leblond I., Saulnier F., Marquette CH., Wallaert B., *et al.*, 1998. Bronchial neutrophilia in patients with noninfectious status asthmaticus. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* **157** (2), 394-402.

Lambrecht BN. & Hammad H., 2009. Biology of lung dendritic cells at the origin of asthma. *Immunity* 31, 412-424. In : Etude des mécanismes immunitaires dans un modèle d'inflammation pulmonaire allergique chez la souris : Rôles de l'interleukine-22. Thèse de doctorat. Université d'Orléans, France. 189 p.

Langton PH. & Visser H. 2003. Chironomidae exuviae. A key to pupal exuviae of the west Palaearctic region. Amsterdam : Biodiversity Center of ETI.

Langton PH., 1991. A key to pupal exuviae of the west Palaearctic Chironomidae. England : Huntingdon.

Langton PH., 1991. A key to pupal exuviae of the west Palaearctic Chironomidae. Privately published : Huntingdon, PE 17 1YH, England.

Laville, H., 1980. Inventaire 1980 des Chironomidae (Diptera) connues des Pyrénées. *Annls Limnol.* **15** (2), 155-180.

Lehmann, J., 1979. Chironomidae (Diptera) aus Fließgewässern Zentralafrikas (Systematik, Ökologie, Verbreitung und Produktionsbiologie). Teil I: Kivu-Gebiet, Ostzair. *Spixiana.*, Supplement. **3**, 1-144.

Lencioni V. & Rossaro B., 2005. Microdistribution of chironomids (Diptera: Chironomida) in Alpine streams: an autoecological perspective. *Hydrobiologia.* **533**, 61-76.

- Lencioni V. & Rossaro B., 2005. Microdistribution of chironomids (Diptera: Chironomida) in Alpine streams: an autoecological perspective. *Hydrobiologia*. **533**, 61-76.
- Lewis DJ., 1956. Chironomidae as a pest in the Northern Sudan. *Acta. Tropica*. **13**, 142-158.
- Li Y., Zhang M., Lu J., Liu Y., Yang X. & Sun X., 2010. Establishment of a mouse model of Humulus pollen allergen-induced allergic asthma. *J. Xi'an. Jiaotong. Univ. (Medical Sciences)*. **31**, 562-565.
- Liebers V. & Baur X., 1994. Chironomidae hemoglobin Chi t I – characterization of an important inhalant allergen. *Clin. Exp. Allergy*. **24 (2)**, 100-108.
- Liebers V., Hoernstein M. & Baur X., 1993. Humoral immune response to the insect allergen Chi t 1 in aquarists and fish-food factory workers. *Allergy*. **48 (4)**, 236-239.
- Liebers V., Raulf M. & Baur X., 1994. Allergen induced expression of cell surface markers on lymphocytes of Chi t I-sensitized patients. *Allergy*. **49 (3)**, 163-169.
- Lifrani A., 2006. Etude du risque allergique à différentes protéines alimentaires. Mise au point de modèle de souris allergiques à l'arachide, à l'albumine, à la caséine et à la colle de poisson. Thèse de doctorat. Institut National Agronomique Paris-Grignon, France. 123 p.
- Louamri A., 2013. Le bassin-versant de la Seybouse (Algérie orientale): Hydrologie et aménagement des eaux. Thèse de Doctorat. Université de Constantine. 300 p.
- Lounaci A., Brosse S., Mouloud SA., Lounaci-Daoudi D., Mebarki N. & Thomas A., 2000. Current knowledge of benthic macroinvertebrate diversity in Algerian stream, a species check list of the Sébaou river basin (Tizi Ouzou). *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*. **136**, 43-55.
- Mackenzie JR., Mattes J., Dent LA. & Foster PS., 2001. Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4(+) Th2 lymphocyte function. *J. Immunol*. **167**, 3146-3155.
- Mairesse M. & Ledent C., 2002. Allergy and fishing activities. *Allerg. Immunol*. **34 (7)**, 245-247.
- Mameri H., 2012. Caractérisation moléculaire, immunologique et structurale d'allergènes de blé. Thèse de doctorat. Université De Nantes, France. 248 p.

Martin RJ., Cicutto LC., Smith HR., Ballard RD. & Szeffler SJ., 1991. Airways inflammation in nocturnal asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* **143** (2), 351-357.

Matsuno M., Murakami G., Adachi Y., Adachi Y., Kayahara M., Okada T., Arakawa R., Kawai K. & Igarashi T., 1991. Immunochemical quantification of the airborne chironomid allergen. [*Japanese*] *Arerugi*. **40** (1), 51-59.

Matsuoka H., Ishii A., Kimura JY. & Noono S., 1990. Developmental change of Chironomid allergen during metamorphosis. *Allergy*. **45** (2), 115-120.

Medina-Tato DA., Watson ML., & Ward SG., 2006. Leukocyte navigation mechanisms as targets in airway diseases. *Drug. Discov. Today*. **11**, 866-879.

Mekki M., 1998. Etude comparative de l'écologie de quatre dépressions dunaires du Nord-Est algérien. Mémoire d'ingénieur. Université Badji Mokhtar, Annaba. 56 p.

Meziane N., 2009. Contribution à l'étude des macroinvertébrés de l'Oued Seybouse : Ephemeroptera, Trichoptera, Plecoptera et Bivalva. Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 169 p.

Milard L., 2001. Déformation des larves de chironomes et qualité des sédiments. Premières applications d'un indice basé sur l'observation des déformations du mentum, en Artois-Picardie. Institut Pasteur de Lille.

Molina C., 1995. L'allergie à l'aube du troisième millénaire, Paris: John Libbey Eurotext.

Mondoulet L., 2005. Diversité de la réponse IgE dans l'allergie à l'arachide. Caractérisation des allergènes et devenir de leur potentiel allergénique lors des traitements thermiques et des processus digestifs. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées INSA, Toulouse. 249 p.

Moneret-Vautrin DA., Rance F., Kanny G., Olsewski A., Gueant J.L., Dutau G., *et al.*, 1998. Food allergy to peanuts in France-evaluation of 142 observations. *Clin. Exp. Allergy*. **28**, 1113-1119.

Moubayed J., Lounaci A. & Lounaci-Daoudi D., 2007. Non-biting midges from Algeria, north Africa (Diptera, Chironomidae). *Ephemera*. **8** (2), 93-99.

- Mouchara N., 2009. Impacts des lâchées de barrage Hammam Debagh sur la qualité des eaux de la vallée de la Seybouse dans sa partie amont (Nord-Est algérien). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar, Annaba. 123 p.
- Nagano T., Ohta N., Okano M., Ono T. & Masuda Y., 1992. Analysis of antigenic determinants shared by two different allergens recognized by human T cells: house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) and chironomid midge (*Chironomus yoshimatsui*). *Allergy*. **47** (5), 554-559.
- Nguyen M., Paradis L., Des RA., Primeau MN. & Paradis J., 2007. Adverse reactions resulting from skin testing in the diagnosis of red grubs (*Chironomides*) allergy. *Allergy*. **62**, 1470-1481.
- Nocentini, A., 1985. Chironomidi, 4 (Diptera, Chironomidae: Chironominae, larve). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane C.N.R. AQ/1/233, 29;186 p.
- Nolte U., 1993. Egg masses of Chironomidae (Diptera). A review, including new observations and a preliminary key. *Entomol. Scand. Suppl.* **43**, 1-75.
- Oliver D. R., 1971. Life history of the Chironomidae. *Ann. Rev. Entomol.* **12**: 211-230.
- Ozenda P., 1982. Les végétaux dans la biosphère. Doin, Paris.
- Palomares O., Yaman G., Azkur AK., Akkoc T., Akdis M. & Akdis CA., 2010. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur. J. Immunol.* **40**, 1232-1240.
- Pascual CY., Crespo JF., San Martin S., Ornia N., Ortega N., Caballero T., Muñoz-Pereira M. & Martin-Esteban M., 1997. Cross-reactivity between IgE-binding proteins from *Anisakis*, German cockroach, and chironomids. *Allergy*. **52** (5), 514-520.
- Pham Van L., 2010. Modulation de la réponse immunitaire par des agonistes de la voie de signalisation TLR/IL-1R dans le modèle d'asthme. Thèse de doctorat. Université Paris Descartes, Paris. 251 p.
- Pinder LCV., 1978. A key to adult males of the British Chironomidae (Diptera). *Sci. Publ. Freshw. Biol. Assoc.* **37**, 1-169.

- Ponath PD., Qin S., Post TW., Wang J., Wu L., Gerard NP., Newman W., Gerard C. & Mackay CR., 1996. Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. *J. Exp. Med.* **183** (6), 2437-2448.
- Postma DS. & Lebowitz MD., 1995. Persistence and new onset of asthma and chronic bronchitis evaluated longitudinally in a community population sample of adults. *Arch. Intern. Med.* **155** (13), 1393-1399.
- Prelicz H., Baur X., Dewair M., Tichy H., Kay AB., Tee R. & Cranston PS., 1986. Persistence of Hemoglobin allergenicity and antigenicity during metamorphosis of Chironomidae. *Int. Archs. Allergy. appl. Immun.* **79**, 72-76.
- Prin L., 1996. Mastocytes, basophiles, éosinophiles Analyse des marqueurs biologiques. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* **36**, 889-896.
- Ramade F., 1984. Élément d'écologie. Écologie fondamentale. Graw, Paris.
- Ramade F., 1994. Eléments d'écologie : écologie fondamentale. Dunod, Paris. 517 p.
- Rancé F. & Deschildre A., 2006. Test de provocation par voie orale aux aliments chez l'enfant. Quand, pour qui et comment? Introduction, définitions, lexique. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* **46**, 604-609.
- Raoul W., 2005. Effet des facteurs angiogéniques et des cellules progénitrices dans la réparation de la barrière alvéolo-capillaire au cours des agressions pulmonaires aiguës. Thèse de doctorat, Université Paris XII-Val de Marne, France. 193 p.
- Raymond F. & Breuil K., 1991. L'allergie aux chironomides. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* **31**, 52-55.
- Reber L., Da Silva CA. & Frossard N., 2006. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases. *Eur. J. Pharmacol.* **533**, 327-340.
- Reiss F., 1977. Verbreitungsmuster bei palaarktischen Chironomidenarten (Diptera, Chironomidae). *Spixiana.* **1** (1), 85-97.
- Reiss, F., 1968 a: Verbreitung lakustrischer Chironomiden (Diptera) des Alpengebietes. *Ann. Zool. Fenn.* **5**, 119-125.

- Reiss, F., 1977. Vier neue Chironomus-Arten (Chironomidae, Diptera) und ihre ökologische Bedeutung für die Benthosfauna zentralamazonischer Seen und Überschwemmungswälder. *Amazoniana*. **5**, 3-23.
- Rejsek F., 2002. Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. Scérén, France.
- Ross HH., Ross CA. & Ross JRP., 1982. A textbook of Entomology, Fourth Edition, John Wiley and Sons, Inc. Singapore.
- Ross, H.H., Ross C.A. & Ross J.R.P., 1982. A textbook of Entomology, Fourth Edition, John Wiley and Sons, Inc. Singapore.
- Sæther AO., 1980. A Glossary of chironomid morphology terminology (Diptera: Chironomidae). *Entomol. Scand. Suppl.* **14**, 1-51.
- Sæther O.A., 1962. Larval overwintering cocoons in *Endochironomus tendens*. *Hydrobiologia*. **20**, 377-381.
- Shahali Y., Majd A., Pourpak Z., Tajadod G., Haftlang M. & Moin M., 2007. Comparative study of the pollen protein contents in two major varieties of *Cupressus arizonica* planted in Tehran. *Iran. J. Allergy. Asthma. Immunol.* **6 (3)**, 123-127.
- Snider DP., Marshall JS., Perdue MH. & Liang H., 1994. Production of IgE antibody and allergic sensitization of intestinal and peripheral tissues after oral immunization with protein Ag and cholera toxin. *J. Immunol.* **153 (2)**, 647-657.
- Sur S., Crotty TB., Kephart GM., Hyma BA., Colby TV., Reed CE., *et al.* 1993. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am. Rev. Respir. Dis.* **148 (3)**, 713-719.
- Suzuki M., Itoh H., Sugiyama K., Takagi I., Nishimura J., Kato K., Mamiya S., Baba S., Ahya Y., Itoh H., Yokota A., Itoh M. & Ohta N., 1995. Causative allergens of allergic rhinitis in Japan with special reference to silkworm moth allergen. *Allergy*. **50**, 23-27.
- Tachet H., 2000. Invertébrés d'eau douce, systématique, biologie, écologie. CVRS édition, Paris, 588p.

Tautz C., Rihs HP., Thiele A., Freidhoff L., Marsh D. & Baur X., 1994. Association of class II sequences encoding DR1 and DQ5 specificities with hypersensitivity to chironomid allergen Chi t 1. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **93**, 918-925.

Tossa MP., 2009. Marqueurs précoces non invasifs de l'inflammation des voies aériennes dans les métiers à risque d'asthme professionnel : Etude dans une population d'apprentis boulangers, pâtisseries et coiffeurs. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, France. 154p.

Touati L., 2008. Distribution spatio-temporelle des Genres *Daphnia* et *Simoncephalus* dans les mares temporaires de la Numidie. Mémoire de Magister. Université 08 Mai 1945, Guelma. 127 p.

Urbain B., Gustin P., Prouvost JF. & Ansay M., 1994. Quantitative assessment of aerial ammonia toxicity to the nasal mucosa by use of the nasal lavage method in pigs. *Am. J. Vet. Res.* **55 (9)**, 1335-1340.

Van Kampen V., Liebers V., Czuppon A. & Baur X., 1994. Chironomidae hemoglobin allergy in Japanese, Swedish, and German populations. *Allergy.* **49 (1)**, 9-12.

Verneaux V. & Aleya L., 1999. Comparaison des peuplements chironomidiens du lac de l'Abbaye obtenus par différentes méthodes d'échantillonnage. Intérêts de la récolte des exuvies nymphales. *Rev. Sci. Eau.* **12**, 45-63.

Verneaux, J., 1968 b. Contribution à l'étude d'une rivière de plaine, les Doulonnes (Jura). Références particulières au Diptères chironomidae. *Annl. Scient. Univ. Besancon (Zool).* **3**, 29-40.

Wakashin H., Hirose K., Maezawa Y., Kagami S., Suto A., Watanabe N., Saito Y., Hatano M., Tokuhisa T., Iwakura Y. *et al.*, 2008. IL-23 and Th17 cells enhance Th2-cell-mediated eosinophilic airway inflammation in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* **178 (10)**, 1023-1032.

Weber RE & Vinogradov SN., 2001. Nonvertebrate Hemoglobins: Functions and Molecular Adaptations. *Physiol. Rev.* **81 (2)**, 569-628.

Wene G., 1940. The soil as an ecological factor in the abundance of aquatic Chironomid larvae. *O. J. Sci.* **40 (4)**, 193-199.

Wiederholm T., 1983. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part I. Larvae. *Entomol. Scand. Suppl.* **19**, 1-457.

Wiederholm T., 1986. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part II. Pupae. *Entomol. Scand. Suppl.* **28**, 1-482.

Wiederholm T., 1989. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part III. Adult. *Entomol. Scand. Suppl.* **34**, 1-532.

Wilson RS. & Ruse LP., 2005. A guide to the identification of genera of chironomid pupal exuviae occurring in Britain and Ireland and their use in monitoring lotic and lentic freshwaters. Special Publication no.13. Freshwater Biological Association Scientific Publ., Windermere. 176 p.

Wirth W.W. & Marston N., 1968. A method for mounting small insects on microscope slides in Canada Balsam. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **61 (3)**, 783-784.

Yong TS., Lee JS., Lee IY., Park SJ., Park GM., Ree HI., *et al.* 1999. Identification of *Chironomus kiiensis* allergens, a dominant species of non-biting midges in Korea. *Korean. J. Parasitol.* **37 (3)**, 171-179.

Zerguine K., 2010. Contribution à l'étude des Chironomidae (Diptera, Insecta) des mares temporaires de la Numidie Orientale. Aspect de Biologie, Ecologie et Systématique. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 319 p.

Références Internet

1. Image téléchargé à partir de :

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0d/Chironomide-larve.jpg>.

2. Laubaine M. 2011. Portraits de larves, de nymphes et de pupes aquatiques. <http://www.beneluxnaturephoto.net/forumf/index.php?topic> (Consulté le 04/01/2015).

3. De Mercueil C. 2014. Biodiversité. <http://catherine-de-mercueil.over-blog.fr/6-categorie-10097186.html> (Consulté le 17/09/2014).

4. Bernard N. 2011. L'appareil respiratoire : Les organes des voies respiratoires supérieures. <http://www.coursmedecine.com/physiologie/cours-physiologie/lappareil-respiratoire-les-organes-des-voies-respiratoires-superieures/> (Consulté le 19/11/2014).

5. EOL Encyclopedia of life. 2012. Phaenopsectra flavipes. <http://eol.org/pages/744984/names?all=1> (Consulté le 21/06/2014).

6. Leblanc B. 2004. Biochimie des protéines : La purification des protéines. <http://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/5e.html> (Consulté le 12/02/2014).

7. Morice V. 2010. Matériel et méthodes de l'histologie médicale. Le concept de tissu. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/POLY.Chp.1.1.2.html> (Consulté le 06/08/2014).

RESUMES

RÉSUMÉ

Dans le cadre de l'étude faunistique des Chironomidae dans les eaux lotiques du Nord-Est algérien, neuf stations d'échantillonnage ont été visitées mensuellement dans le bassin d'Oued Charef, au cours d'un cycle d'étude. Le présent travail a permis d'identifier 7617 spécimens formant une liste de 75 espèces réparties en 04 sous familles, dont un total de 35 espèces sont nouvelles pour l'Algérie, parmi lesquelles 25 sont également nouvelles pour le Nord de l'Afrique. De même, cette étude a permis de déterminer les facteurs qui contrôlent la distribution des Chironomidae en fonction du site et de la saison d'étude.

D'autre part, une approche immunologique a permis d'évaluer l'effet de l'extrait brut larvaire d'une espèce allergisante dite *Phaenopsectra flavipes* présente dans notre zone d'étude, sur un modèle animal. Les résultats obtenus ont montré un pouvoir inflammatoire de l'extrait larvaire traduit par une inflammation localisée au niveau des voies respiratoires. Ce processus inflammatoire est capable d'évoluer, dans des conditions particulières, en un processus inflammatoire allergique chez la population la plus exposée, ce qui nécessite une étude approfondie afin de compléter cette recherche.

Summary

As part of the faunal study of Chironomidae in lotic waters of the North-East of Algeria, nine sampling stations were visited monthly in the Oued Charef basin during a cycle of study. This work allowed us to identify of 7617 specimens forming a list of 75 species distributed in 04 families. A total of 35 species are new for Algeria, where 25 of them are new for the North of Africa. In addition, this study allowed the identification of the factors that control the distribution of Chironomidae depending on the site and the season of study.

On the other hand, an immunological approach was used to assess the effect of the crude extract of larval allergenic species *Phaenopsectra flavipes* present in our study area, on an animal model. The results showed an inflammatory power of larval extract appears as a localized inflammation in the airways. This inflammatory process can evolve under specific conditions, for allergic inflammatory process in the most exposed population, which requires further study in order to complete this research.

المخلص

في اطار القيام بدراسة لعائلة Chironomidae في المياه الجارية بشمال شرق الجزائر، قمنا بأخذ عينات بصفة شهرية من تسعة أودية واقعة في حوض واد الشارف و ذلك لمدة سنة كاملة، حيث تم التعرف على 7617 فردا والتي صنفت إلى 75 نوعا مقسمة إلى 04 فصائل، من بينها 35 نوعا جديدا بالنسبة للجزائر و 25 نوعا جديدا بالنسبة لشمال أفريقيا. بالإضافة الى ذلك، سمحت لنا هذه الدراسة بتحديد العوامل التي تتحكم في توزيع عائلة Chironomidae وفقا لموقع وموسم الدراسة.

من جانب آخر، سمحت لنا الدراسة المناعية بتقييم تأثير مستخلص يرقة حشرة *Phaenopsectra flavipes* المسببة للحساسية، والمتواجدة في منطقة الدراسة على حيوان التجارب. وقد بينت النتائج المتحصل عليها قدرة مستخلص اليرقة على التسبب في التهاب على مستوى الشعب الهوائية، و الذي يمكن أن يتطور عند السكان الأكثر عرضة، وفي ظروف خاصة، إلى حالة حساسية، و هذا ما يتطلب مزيدا من الدراسة من أجل إتمام هذا البحث.

ANNEXES

ANNEXES

Tableau 1 : L'hétérogénéité de la vitesse du courant dans les différents sites d'étude.

Bassin	Station	Vitesse d'eau (cm/s)	Nature du courant
Bassin de l'oued Charef amont	Oued Tifeche	7,89	Lent
	Oued Krab	6,72	Lent
	Oued Dehmane	9,76	Lent
	Oued Nile	21,83	Rapide
Bassin de l'oued Charef aval	Oued El Aar	13,81	Modéré
	Oued Charef à Ain Makhlouf	17,56	Modéré
	Oued Chaniour	19,61	Rapide
	Oued Charef à Houari Boumediene	16,29	Modéré
	Oued Charef à Mdjez Ammar	16,47	Modéré

Tableau 2 : Préparation des solutions utilisées

Nom de la solution	Composition	Quantité des réactifs
<i>Phosphate Buffer Saline ou PBS (10Mm) pH7,4</i>	Na Cl	9 g
	Na ₂ HPO ₄	1.09 g
	Na H ₂ PO ₄	0.32 g
	Eau distillée	1000 ml
<i>Solution de lyse</i>	NH ₄ Cl	0.83 g
	Eau distillée	100 ml
<i>Tampon phosphaté pH7</i>	Phosphate monopotassique	1 g
	Phosphate disodique	5 g
	Eau distillée	5000 ml
<i>Eau tamponnée</i>	Tampon phosphaté	30 ml
	Eau distillée	570 ml
	Giensa-R	84 ml

<i>Giemsa dilué</i>	Eau tamponnée	516 ml
<i>Bleu de trypan (0,2%)</i>	Bleu de trypan	0.2 g
	Eau distillé	100 ml

Tableau 3 : Listes des espèces analysées par Analyse factorielle des correspondances (AFC) et leurs abréviations

Espèce	Abréviation
<i>Ablabesmyia logistyla</i>	<i>Abla logi</i>
<i>Ablabesmyia phatta</i>	<i>Abla pha</i>
<i>Larsia sp</i>	<i>Larsia sp</i>
<i>Macropelopia nebulosa</i>	<i>Macro neb</i>
<i>Natarsia sp</i>	<i>Natarsia sp</i>
<i>Paramerina vaillanti</i>	<i>Para vail</i>
<i>Paramerina sp</i>	<i>Para sp</i>
<i>Procladius choreus</i>	<i>P. chor</i>
<i>Procladius lugens</i>	<i>P. lugens</i>
<i>Tanytus punctipennis</i>	<i>T. puncti</i>
<i>Trissopelopia longimana</i>	<i>Trisso longi</i>
<i>Trissopelopia sp</i>	<i>Trissopelopia sp</i>
<i>Prodiamesa olivacea</i>	<i>P. oliv</i>
<i>Chironomus plumosus</i>	<i>Ch. plumo</i>
<i>Chironomus sp</i>	<i>Chironomus sp</i>
<i>Cladotanytarsus sp</i>	<i>Clado sp</i>
<i>Cladotanytarsus vanderwulpi</i>	<i>Clado vander</i>
<i>Cryptochironomus obreptans</i>	<i>Crypto obrep</i>
<i>Cryptochironomus sp</i>	<i>Crypto sp</i>
<i>Cryptochironomus supplicans</i>	<i>Crypto suppl</i>
<i>Cryptotendipes sp</i>	<i>Crypto sp</i>
<i>Cryptotendipes usmaensis</i>	<i>Crypto usm</i>
<i>Dicrotendipes nervosus</i>	<i>Dicro nerv</i>
<i>Einfeldia pagana</i>	<i>Einf pag</i>
<i>Endochironomus tendans</i>	<i>Endo tend</i>
<i>Harnishia curtilamellatus</i>	<i>Har curt</i>
<i>Harnishia fuscimana</i>	<i>Har fus</i>
<i>Harnishia sp</i>	<i>Harnishia sp</i>
<i>Microchironomus sp</i>	<i>Micro sp</i>
<i>Microtendipes chloris</i>	<i>Microt chloris</i>
<i>Microtendipes confinis</i>	<i>Microt confinis</i>

<i>Microtendipes pedellus</i>	<i>Microt pedellus</i>
<i>Microtendipes sp</i>	<i>Microtendipes sp</i>
<i>Phaenopsectra flavipes</i>	<i>P. flavipes</i>
<i>Parachironomus sp</i>	<i>Parachir sp</i>
<i>Polypedilum convictum</i>	<i>P. conv</i>
<i>Polypedilum cultellatum</i>	<i>P. cult</i>
<i>Polypedilum nubifer</i>	<i>P. nubifer</i>
<i>Polypedilum sordens</i>	<i>P. sordens</i>
<i>Polypedilum sp</i>	<i>Poly sp</i>
<i>Stictochironomus sp</i>	<i>Sticto sp</i>
<i>Krenopsectra fallax</i>	<i>Kreno fallax</i>
<i>Micropsectra contracta</i>	<i>Micro contracta</i>
<i>Micropsectra sp</i>	<i>Micropsectra sp</i>
<i>Paratanytarsus dissimilis</i>	<i>P. dissimilis</i>
<i>Paratanytarsus sp</i>	<i>Paratany sp</i>
<i>Rheotanytarsus sp</i>	<i>Rheotany sp</i>
<i>Tanytarsus sp</i>	<i>Tanytarsus sp</i>
<i>Tanytarsus sylvaticus</i>	<i>T. sylvaticus</i>
<i>C. bicinctus</i>	<i>C. bicin</i>
<i>C. tibialis</i>	<i>C. tibialis</i>
<i>C. trifasciatus</i>	<i>C. trifas</i>
<i>Chaetocladius insolitus</i>	<i>Chaeto insolitus</i>
<i>Chaetocladius piger</i>	<i>Chaeto piger</i>
<i>Cricotopus fuscus</i>	<i>Cri fuscus</i>
<i>Cricotopus sylvestris</i>	<i>Cri sylvestris</i>
<i>Cricotopus trifascia</i>	<i>Cri trifascia</i>
<i>Eukiefferiella claripennis</i>	<i>Euki claripennis</i>
<i>Eukiefferiella rectangularis</i>	<i>Euki rectangularis</i>
<i>Eukiefferiella gracei</i>	<i>Euki gracei</i>
<i>Heterotrissocladius subpilosus</i>	<i>Hetero sub</i>
<i>Limnophyes gurgicola</i>	<i>Limno gur</i>
<i>Limnophyes minimus</i>	<i>Limno mini</i>
<i>Limnophyes sp</i>	<i>Limnophyes sp</i>
<i>Nanocladius bicolor</i>	<i>Nano bicolor</i>
<i>Orthocladius (Euorthocladius)</i>	<i>Orthocladius</i>
<i>Paratrachocladius sp</i>	<i>Paratricho sp</i>
<i>Psectrocladius sordidellus</i>	<i>Psectro sordide</i>
<i>Rheocricotopus fuscipes</i>	<i>Rheoc fuscipes</i>
<i>Rheocricotopus sp</i>	<i>Rheoc sp</i>
<i>Rheotanytarsus distinctissimus</i>	<i>Rheotanyt distinc</i>
<i>Pseudosmittia sp</i>	<i>Pseudosmittia sp</i>
<i>Smittia sp</i>	<i>Smittia sp</i>



ELSEVIER
MASSON



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie 54 (2014) 485–493

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}

^aLaboratoire de biologie, eau et environnement, université 8-Mai-1945, Guelma, Algérie

^bDépartement d'écologie et génie de l'environnement, université 8-Mai-1945, Guelma, Algérie

^cDépartement de biologie, université 8-Mai-1945, Guelma, Algérie

Reçu le 23 décembre 2013 ; accepté le 9 avril 2014

Disponible sur Internet le 28 mai 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 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

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, neutrophils 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).

the pulmonary structure represented by a peri-bronchiolary inflammation. Thus, these results proved an inflammatory effect of the larval extract in respiratory tracts.

© 2014 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

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 moucheron 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

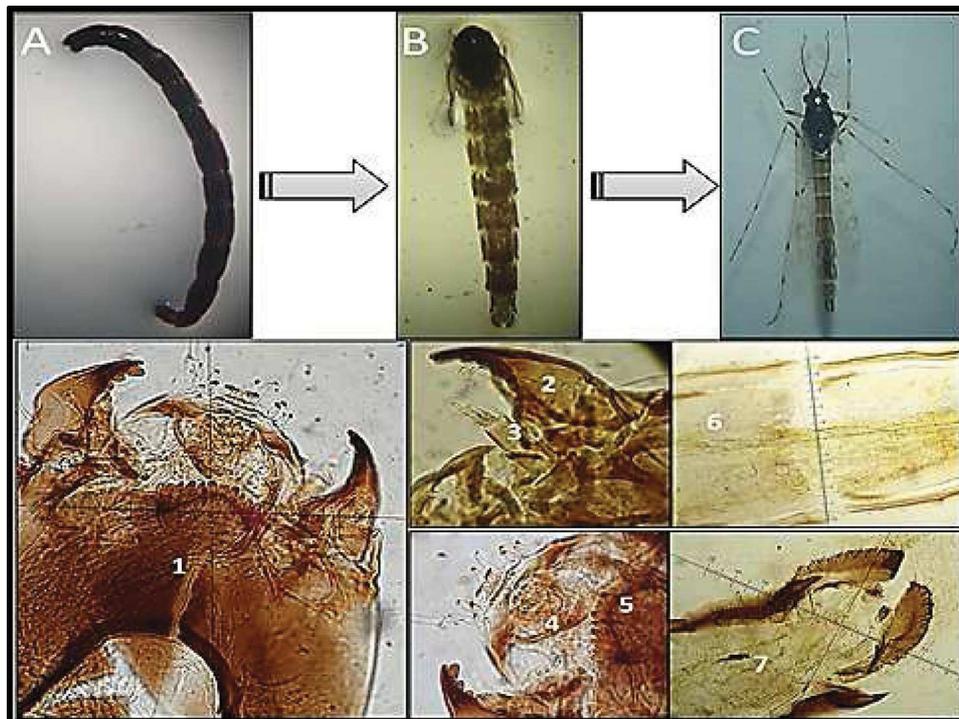


Fig. 1. Photos de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae). A. Larve (1 : tête ; 2 : mandibule ; 3 : antenne ; 4 : labre ; 5 : mentum) (× 400). B. Nymphe (6 : abdomen nymphal ; 7 : partie anale de la nymphe) (× 100). C. Adulte.

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

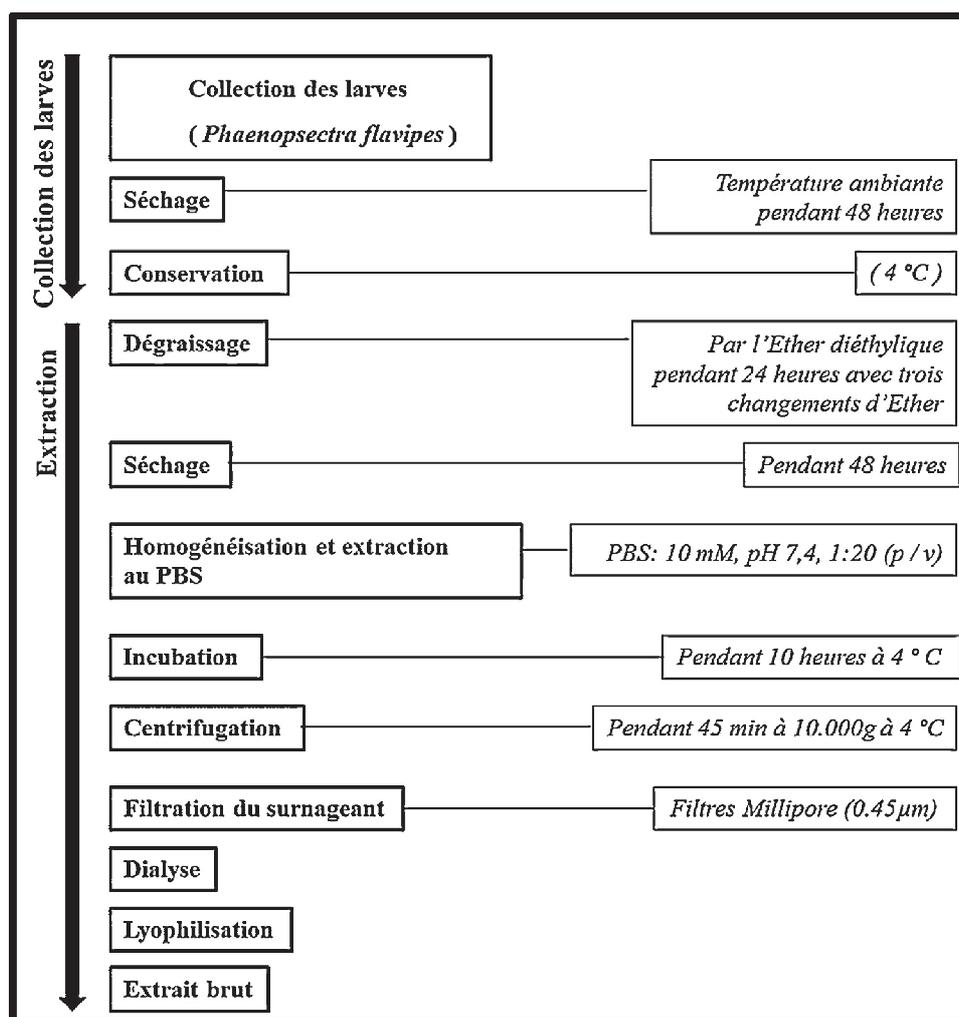


Fig. 2. Mode opératoire de la préparation de l'extrait brut des larves de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera : Chironomidae).

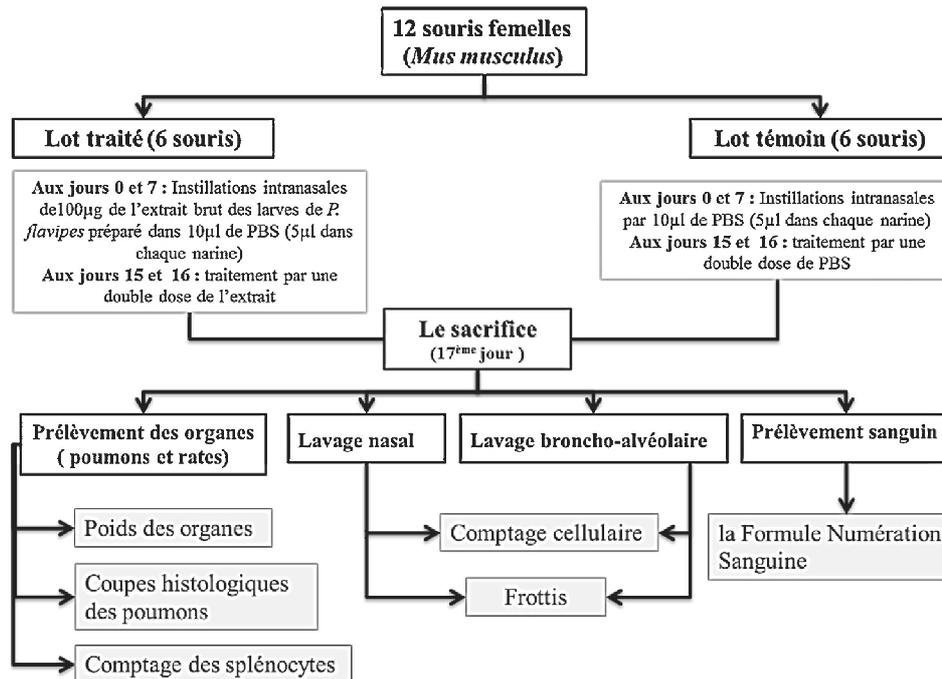


Fig. 3. Le protocole expérimental utilisé pour la sensibilisation intranasale des souris témoins et traitées.

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 $p < 0,05$.

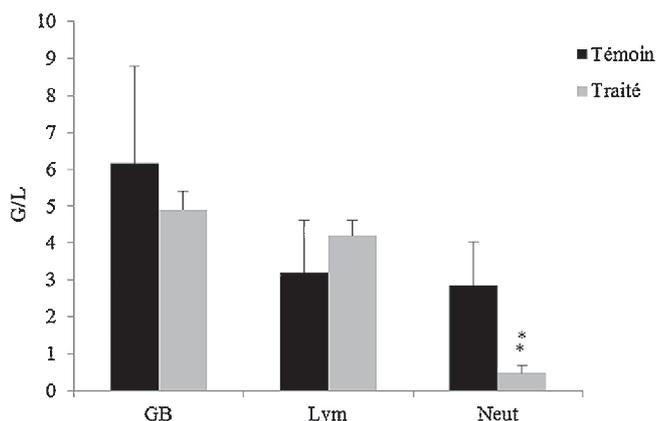


Fig. 4. Variation du taux des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles des souris témoins et traitées. **Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0,01$). GB : globule blanc ; Lym : lymphocyte ; Neut : neutrophile.

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).

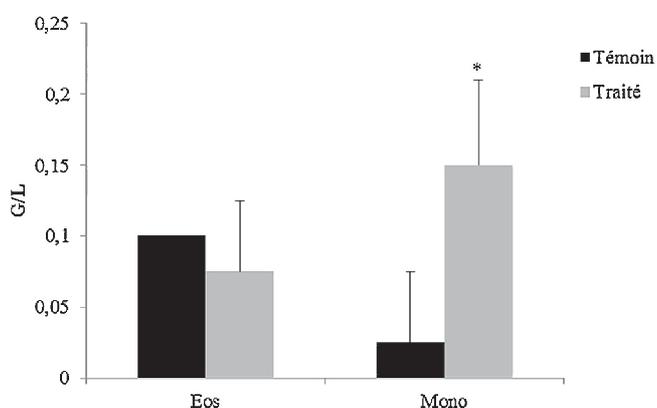


Fig. 5. Variation du taux des éosinophiles et des monocytes des souris témoins et traitées. *Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0,05$). Eos : éosinophile ; Mon : monocyte.

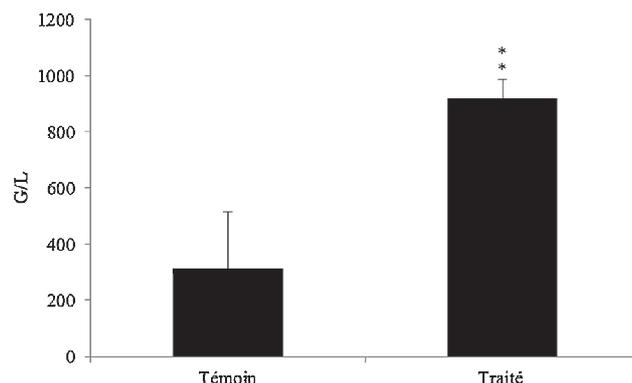


Fig. 6. Variation du taux des plaquettes des souris témoins et traitées. ** Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0,01$).

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 $0,1 \pm 0,05$ 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).

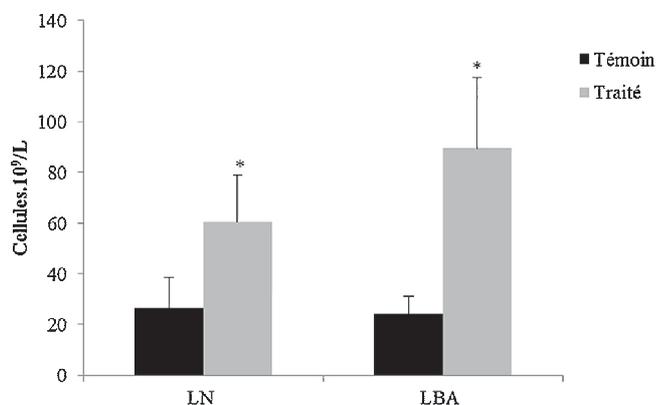


Fig. 7. Variation du nombre des cellules du liquide nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées. * Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0,05$). LN : lavage nasal ; LBA : lavage broncho-alvéolaire.

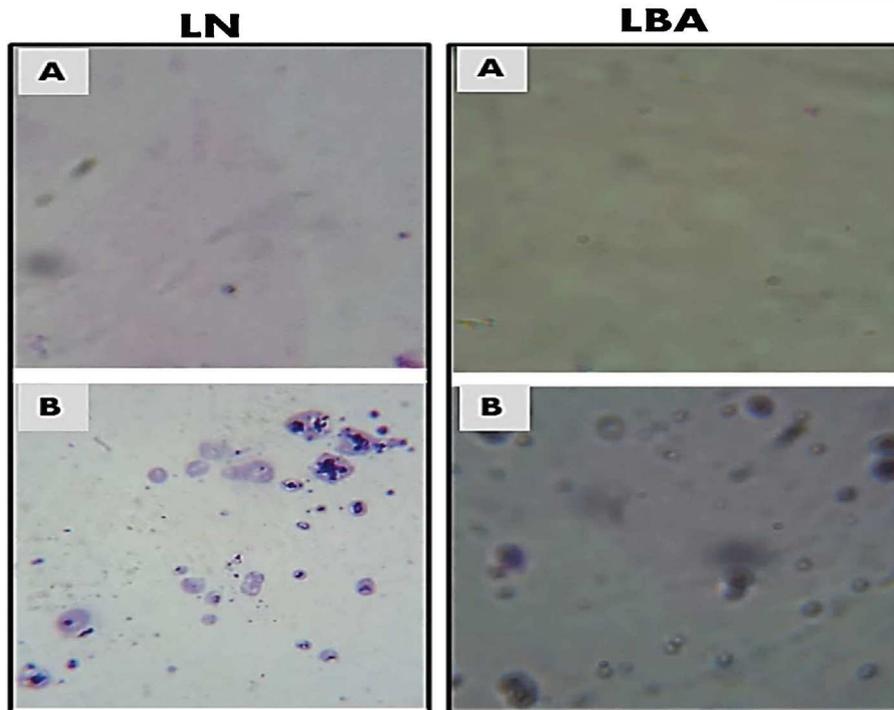


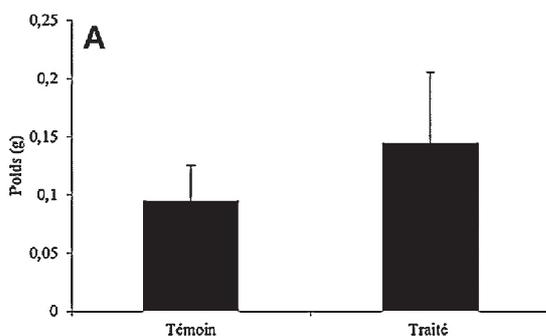
Fig. 8. Frottis des lavages nasal et broncho-alvéolaire des souris témoins et traitées ($\times 400$). LN : lavage nasal ; LBA : lavage broncho-alvéolaire ; A : témoins ; B : traitées.

D'autre part, les frottis réalisés et observés au microscope optique ($\times 400$) 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 ($\times 400$), 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 traitées), 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).

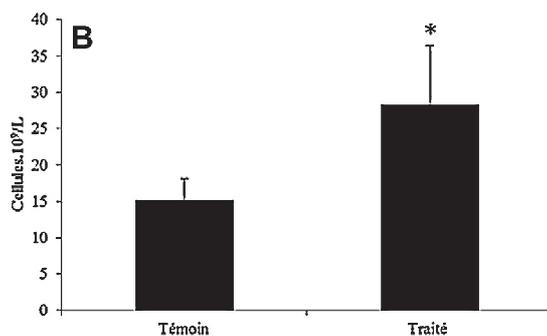


Fig. 9. Variation du nombre du poids de la rate (A) et des splénocytes (B) des souris témoins et traitées. *Valeur significativement différente de celle enregistrée dans le groupe témoin ($p < 0,05$).

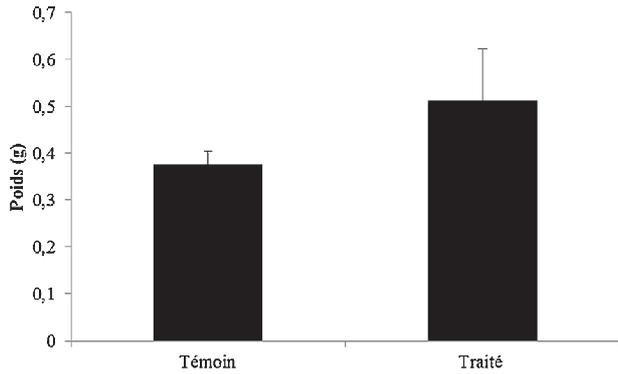


Fig. 10. Variation du poids des poumons des souris témoins et traitées.

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 rhinoconjonctivite, 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].

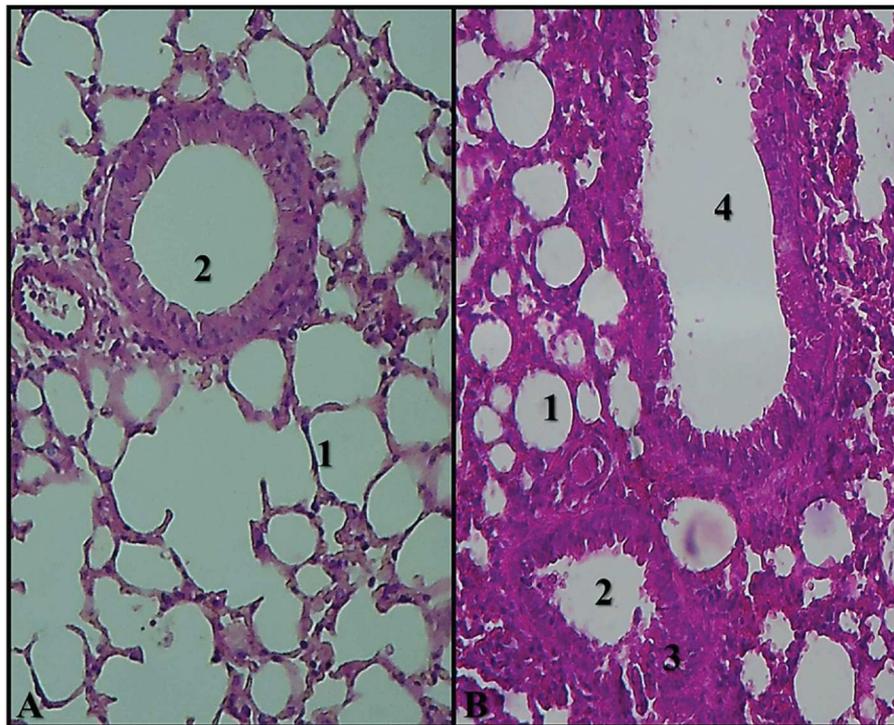


Fig. 11. Coupes histologiques des poumons des souris témoins et traitées ($\times 100$). A. Poumon du témoin. B. Poumon après traitement. 1 : alvéole ; 2 : bronchiole ; 3 : infiltrat cellulaire ; 4 : vaisseaux sanguins.

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 Ballesteros 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.

- [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-diméthylphényl-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.