

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté Science de la nature et la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de la Biologie Animale

قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Étude comparative du pouvoir allergique de différentes
fractions de l'arachide**

Présenté par : Ferhati Amira

Jury de l'évaluation :

Encadrant : Elouar Ibtissem

Pr

Université Frères Mentouri Constantine 1

Examineur 1 : Latrèche Asma

MCB

Université Frères Mentouri Constantine 1

Examineur 2 : Ramli Imène

MAA

Université Frères Mentouri Constantine 1

Année Universitaire

2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Je remercie, en premier lieu, Dieu pour le courage, la patience et la santé qu'il m'a donnée pour suivre mes études.

اللهم لك الحمد والشكر

*Tout d'abord, je tiens à remercier infiniment les membres de mon jury **Madame Latrèche et Madame Ramli** De me faire l'honneur de juger ce travail.*

*J'exprime mes plus vifs remerciements à **Madame Elouar**, qui en tant que professeur encadrante, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de mon projet. Ainsi je la remercie pour l'aide, pour son accueil au sein de son équipe, pour avoir accompagné ces travaux avec intérêt et pour la confiance. Merci d'avoir pris le temps de m'encadrer.*

*J'adresse également mes sincères remerciements à tous mes enseignants pour leur disponibilité et leur précieux enseignements nous ont été d'une grande utilité durant notre parcours universitaire et en particulier **Madame Elouar, Madame Mehati, Madame Haddad, Madame Tebibel, Madame Aggoun, Madame Zerizer, Madame Chaib, Madame Aribi.***

☞ Les plus grandes leçons ne sont pas tirées d'un livre mais d'un enseignant tels que vous ☞

*J'adresse mes derniers mots à **Monsieur Dehimat Laid, Monsieur Noredine Kacem Chaouche et Monsieur Fares Khelef** « Paix a son âme que dieu l'accueille dans son vaste paradis » qui m'ont toujours soutenu après le décès de mon père, je leur suis très reconnaissante.*

Merci à tous et à toutes



Dédicaces

A mon Cher Papa

Un grand homme toujours là pour sa petite fille, un grand homme qui a joué son rôle de papa à la perfection. Merci de m'avoir donné le gout de la Biologie, d'avoir su me donner la motivation, merci pour ta gentillesse, ton soutien, ton humour et ton originalité et merci de m'avoir tant aimée, tu m'as guidé jusqu'à la dernière minute et c'est grâce à toi que je suis presque arrivé au sommet, merci pour le Papa que tu as été. S'il est une douleur, qui à jamais, ne peut se renfermer en mon cœur, c'est de t'avoir perdu mon Cher Papa, je voulais profiter encore plus et a maximum d'être à tes côtés, j'aurais aimé que tu sois là avec moi pour ce jour, mais le destin a décidé autrement. Parti trop tôt, parti trop jeune, parti avant son heure le destin nous a séparé mais moi je te sens encore, bien au chaud dans mon cœur, les larmes ne cessent jamais de couler, des vides qui ne comblent pas et une personne que je ne la remplace jamais, rien n'a comblé ton absence Papa les mots ne seront jamais assez forts pour exprimer ma peine et le vide que tu laisses derrière toi. Papa tu es dans mon cœur je pense à toi chaque seconde. Repose en paix meilleur PAPA.

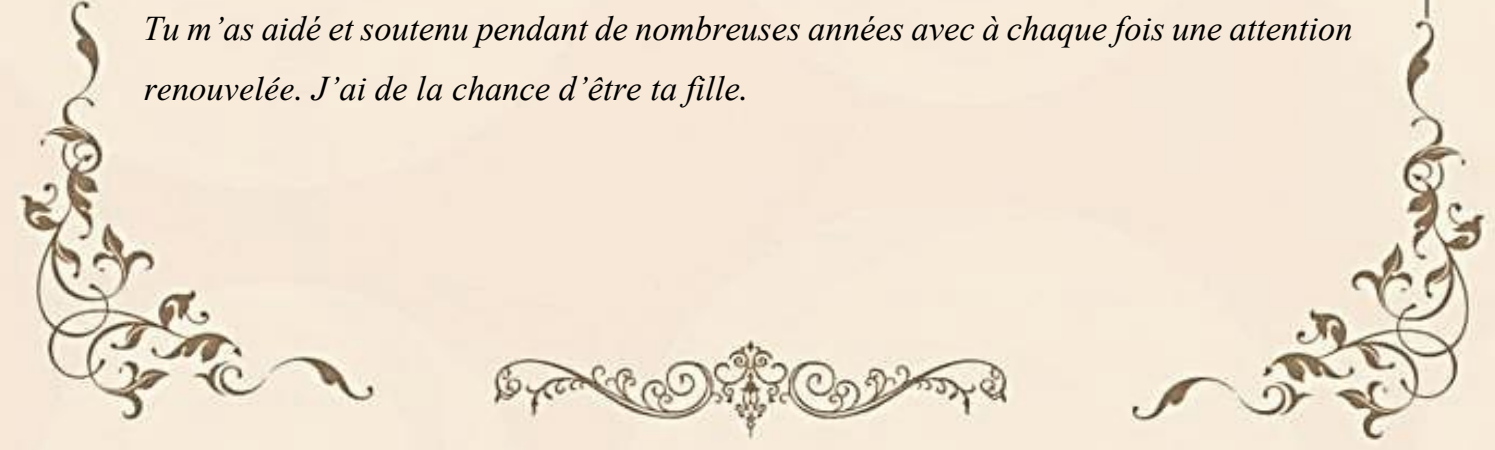
FERHATI LAÏD, je suis honorée et fière d'être ta fille.

A ma Maman chérie

Ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde. Tu as toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir.

Tu es et tu restes pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Merci pour l'encouragement et le soutien.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu m'as aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. J'ai de la chance d'être ta fille.





A mes grands-parents maternels

A la mémoire de mon grand-père Djelali Rachid, puisse dieu t'avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âme.

Je vous dédie ce mémoire pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel. Merci pour tout. A ma grand-mère que dieu te donne la bonne santé et longue vie parmi nous. Je vous aime Mami et Papi.

A mes tantes et oncles et leurs conjoints

A mes cousins et cousines

Je profite de la présente occasion pour vous remercier pour la sympathie et l'amour que vous m'accordez, que dieu, le tout puissant vous comble de santé de bonheur et une longue vie pleine de joie.

A mes Amies et collègues

NADA NOUR MADJDA

AMANI LAMIS SOUMIA

Vous avez partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie, vous étiez toujours à mes côtés. Je vous remercie de ne m'avoir jamais déçu et je remercie le bon dieu qui a croisé nos chemins.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION	- 1 -
I. LES ALLERGIES	- 3 -
1. DEFINITION	- 3 -
2. CLASSIFICATION DE GELL ET COOMBS	- 3 -
3. ACTEUR DE L'HYPERSENSIBILITE TYPE I	- 6 -
3.1 <i>IgE et récepteurs aux IgE</i>	- 6 -
4. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ALLERGIE IGE DEPENDANTE ET INDEPENDANTE	- 8 -
5. L'HYPERSENSIBILITE DE TYPE II	- 12 -
6. L'HYPERSENSIBILITE DE TYPE III	- 12 -
7. L'HYPERSENSIBILITE DE TYPE IV	- 13 -
II. LES ALLERGIES ALIMENTAIRES	- 14 -
1. DEFINITION	- 14 -
2. LES TROPHALLERGENES	- 14 -
3. INTOLERANCE ALIMENTAIRE	- 14 -
4. ALLERGIE A L'ARACHIDE	- 16 -
4.1 <i>Les allergènes de l'arachide</i>	- 17 -
5. MECANISME CELLULAIRE ET MOLECULAIRE DE L'ALLERGIE A L'ARACHIDE	- 17 -
5.1 <i>Phase de sensibilisation</i>	- 19 -
5.2 <i>Phase de déclenchement</i>	- 20 -
6. SYMPTOMATOLOGIE VARIEE	- 22 -
6.1 <i>Symptômes gastro-intestinaux</i>	- 22 -
6.2 <i>Symptômes cutanés</i>	- 22 -
6.3 <i>Symptôme respiratoire</i>	- 22 -
6.4 <i>Anaphylaxie généralisé</i>	- 22 -
7. TEST DE DIAGNOSTIC DE L'ALLERGIE ALIMENTAIRE	- 23 -
7.1 <i>Test in vivo</i>	- 23 -
7.1.1 <i>Test cutané (Prick test)</i>	- 23 -

7.1.2 Test de provocation	- 25 -
7.2 <i>Test in vitro : Dosage des IgE spécifiques</i>	- 25 -
III. PARTIE EXPERIMENTALE	- 26 -
1. MATERIEL BIOLOGIQUE	- 26 -
1.1 <i>Condition d'élevage</i>	- 27 -
2. EXTRACTION DES PROTEINES D'ARACHIDE	- 27 -
3. EXTRACTION DE L'HUILE D'ARACHIDE	- 27 -
4. DOSAGE DES PROTEINES D'ARACHIDE	- 29 -
5. INDUCTION DE L'INTOLERANCE A L'ARACHIDE CHEZ LES SOURIS	- 29 -
5.1 <i>Répartition et traitement des souris</i>	- 29 -
5.1.1 Répartition des souris	- 29 -
5.1.2 Traitement des souris	- 29 -
5.2 <i>Phase d'immunisation</i>	- 29 -
5.3 <i>Phase de sensibilisation</i>	- 29 -
6. EVALUATION DE LA REACTION ALLERGIQUE	- 31 -
6.1 <i>Test cutané (Prick test)</i>	- 31 -
6.2 EVALUATION DES SCORES ALLERGIQUES.....	- 31 -
7. REALISATION DES LAMES HISTOLOGIQUES ET OBSERVATION AU MICROSCOPE	- 32 -
7.1 PREPARATION DES COUPES HISTOLOGIQUES	- 32 -
8. ÉLECTROPHORESE CAPILLAIRE	- 33 -
1. EVALUATION DES RESULTATS ALLERGIQUES : TEST CUTANE.....	- 36 -
2. LES STADES DE LA REACTION ALLERGIQUE.....	- 37 -
2.1 TRAITEMENT PAR LA FARINE D'ARACHIDE COMPLETE.....	- 37 -
2.2 TRAITEMENT PAR LA FARINE DEGRAISSEE.....	- 37 -
2.3 TRAITEMENT PAR L'HUILE D'ARACHIDE.....	- 37 -
3. PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES SERIQUES	- 40 -
3.1 ALBUMINE SERIQUE	- 40 -
3.2 FRACTION ALPHA-1	- 41 -
3.3 FRACTION ALPHA-2.....	- 42 -
3.4 FRACTION BETA-1	- 43 -
3.5 FRACTION BETA-2	- 44 -
3.6 FRACTION GAMMA GLOBULINE	- 45 -

4.	ETUDE DE L'EFFET DE TRAITEMENT SUR LA STRUCTURE DES ORGANES CHEZ LES SOURIS ATTEINTES D'UNE ALLERGIE ALIMENTAIRE	- 46 -
4.1	EFFET DE LA SENSIBILISATION A L'ARACHIDE SUR LA STRUCTURE INTESTINALE.....	- 46 -
4.1.1	<i>structure intestinale du lot contrôle</i>	- 46 -
4.1.2	<i>Structure intestinale des lots traités</i>	- 47 -
4.2	EFFET DE LA SENSIBILISATION A L'ARACHIDE SUR LA STRUCTURE HEPATIQUE.....	- 48 -
4.2.1	<i>Structure hépatique du lot contrôle</i>	- 48 -
4.2.2	<i>Structure hépatique des lots traités</i>	- 49 -
1.	EFFET DE L'ARACHIDE SUR LES SOURIS SENSIBILISEES	- 52 -
2.	LES STADES DE LA REACTION ALLERGIQUE.....	- 52 -
3.	EFFET DE L'ALLERGIE AUX ARACHIDES SUR LE PROFIL ELECTROPHORETIQUE.....	- 53 -
4.	OBSERVATION DES COUPES HISTOLOGIQUES.....	- 54 -
4.1	EFFET DE LA SENSIBILISATION A L'ARACHIDE SUR LES STRUCTURES INTESTINALES ET HEPATIQUES.....	- 54 -
	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	- 57 -
	RESUME	- 63 -
	ABSTRACT.....	- 64 -
	الملخص -	65 -

Liste des figures :

Figure 01 : Réaction d'hypersensibilité type I et le rôle des mastocytes .	- 5 -
Figure 02 : Schéma générale représente la structure de l'IgE.	- 7 -
Figure 03 : Représentation schématique des récepteurs FcεRI et FcεRII qui se lient à la région Fc de l'IgE.	- 7 -
Figure 04 : Classification allergique des IgE dépendante et indépendante .	- 9 -
Figure 05 : Représentation graphique du volume des granules externalisées dans le cadre d'une stimulation des mastocytes via MRGPRX2 ou FcεRI.	- 10 -
Figure 06 : Classification des réactions alimentaires indésirables .	- 15 -
Figure 07 : Aliments appartenant à la famille des légumineuses.	- 16 -
Figure 08 : Physiopathologie de l'allergie à l'arachide .	- 18 -
Figure 09 : Mécanisme immunologique de la phase de sensibilisation.	- 20 -
Figure 10 : Mécanisme immunologique de la phase de déclenchement.	- 21 -
Figure 11 : Illustration de prick test .	- 24 -
Figure 12 : Souris BALB/c.	- 26 -
Figure 13 : Schéma générale d'extraction d'huile d'arachide.	- 27 -
Figure 14 : Machine automatique à pression à froid.	- 28 -
Figure 15 : Extraction de l'huile d'arachide.	- 28 -
Figure 16 : Injection intrapéritonéale des souris.....	- 30 -
Figure 18 : Automate électrophorèse SEBIA CAPILLARYS2.....	- 34 -
Figure 19 : Présentation schématique d'un appareillage d'électrophorèse capillaire-	34
-	
Figure 20 : Profil électrophorétique normal montrant les 6 fractions : l'albumine, la fraction Alpha-1, la fraction Alpha-2, la fraction Bêta 1, la fraction Bêta2 et la fraction Gamma.....	- 35 -
Figure 21 : Rougeurs au niveau de l'oreille suite à une stimulation à l'arachide .	- 36 -
Figure 22 : Souris atteinte le stade 01 (Grattement autour du nez et la tête).	- 38 -
Figure 23 : Souris atteinte le stade 04 (Perte d'activité).....	- 39 -
Figure 24 : Taux d'Albumine sérique des lots : C (Contrôle), FC (Farine complète), FD (Farine Dégraissée), H (Huile).....	- 40 -

Figure 25 : Taux de la fraction alpha-1 des lots C (contrôle), FC (Farine complète), FD (Farine dégraissée) H (Huile).	- 41 -
Figure 26 : Taux de la fraction alpha-2 des lots C (contrôle), FC (Farine complète), FD (Farine dégraissée) H (Huile).	- 42 -
Figure 27 : Taux de la fraction beta-1 des lots C (contrôle) FC (Farine complète) FD (Farine dégraissée) H (Huile).	- 43 -
Figure 28 : Taux de la fraction Beta-2 des lots C (Contrôle), FC (Farine Complète), FD (Farine Dégraissée), H (Huile).....	- 44 -
Figure 29 : Taux de la fraction gamma globuline des lots C (Contrôle), FC (Farine Complète), FD (Farine Dégraissée), H (Huile).....	- 45 -
Figure 30 : coupe histologique de tissu de l'intestin chez les souris du lot contrôle. A et B : Gx40, C : Gx100.	- 46 -
Figure 31 : Coupe histologique des tissus de l'intestin chez les souris traitées. FD farine dégraissé, FC : farine complète, A, B et C : Gx40.	- 47 -
Figure 32 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris du lot contrôle. A : Gx40, B et C : Gx100.	- 48 -
Figure 33 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris traitées par la farine d'arachide complète. A1 : Gx40, A2 : Gx100	- 49 -
Figure 34 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris traitées par la farine dégraissée. B1 : Gx40, B2 : Gx100.	- 50 -
Figure 35 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris traitées par l'huile d'arachide. C1 : Gx40, C2 : Gx100.	- 51 -

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification Gell et Coombs.....-3-

Tableau 2 : Les afférents types d'allergies alimentaires-11-

Liste des abréviations

AA : Allergies alimentaires

ADCC: Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity.

Ag: Antigène

AC: anticorps

Ara h : Arachis Hypeogaea

CMH 2 : Complexe majeure d'histocompatibilité classe 2

C3a Complement factor 3a

C5a: Complement factor 5a

CPA: Cellule présentatrice d'antigène

CD: Cluster of differentiation (Molécule CD)

DC: Dendritic cell (cellule dendritique)

DTH: Delayed-type Hypersensitivity (Hypersensibilité type 4 retardé)

FC : Fragment cristallisable

FcRε I : Récepteur Fc de haute affinité pour les IgE

FcRε II : Récepteur Fc de faible affinité pour les IgE (CD 23)

GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

g : Gramme

HS : Hypersensibilité

Ig: Immunoglobulin

IgE: Immunoglobuline E

IgG: Immunoglobuline G

IgM: Immunoglobuline M

IL: Interleukin

IFN γ: Interferon gamma

KDa: Kilo dalton

Kg: Kilo gramme

LB: Lymphocyte B

LT: Lymphocyte T

MRGPRX2: Mast-related G protein coupled receptor X2

mg: milligramme

µl: microlitre

OVA: Ovalbumine

PRR: Pattern Recognition Receptor

SP: Neuropeptide substance P

TBA: Test d'activation des basophiles

TCR: T cell-receptor

Th 1: T helper type 1

Th 2: T helper type 2

TLR: Toll Like Receptor

TNF : Tumor necrosis factor (Facteur de nécrose des tumeurs)

TPO : Test de provocation orale

°C : degrés Celsius



Introduction



Introduction

Depuis plusieurs années les allergies ont causé un véritable problème de santé publique, actuellement la prévalence de l'allergie alimentaire augmente chaque année et affecte environ 4 % à 6 % des enfants en bas âge et aucune raison n'a encore été fermement établie. L'allergie alimentaire est définie comme une réponse immunitaire indésirable aux protéines alimentaires avec des symptômes allant de légers symptômes gastro-intestinaux à un choc anaphylactique sévère, des réactions graves voire même fatales peuvent survenir à tout âge suite à une exposition aux allergènes **(Greenhawt et al., 2016 ; Giovanna et al., 2018)**.

Il existe plusieurs types d'allergies alimentaires dont les réactions allergiques à l'arachide, cet aliment comme la plupart des plantes légumineuses à graines, occupe une place importante dans l'alimentation humaine, il est même considéré comme aliment à haute valeur nutritive. Des études menées aux Etats-Unis ont montré qu'une consommation bihebdomadaire d'arachide améliorerait la qualité des régimes alimentaires car elle assure une augmentation des apports en protéines, en matière grasse, en fibres, en vitamines E, en acides foliques et en sels minéraux. Par ailleurs d'autres études ont montré que la consommation de de l'arachide en particulier réduisait le risque de maladies cardiovasculaires **(Albert et al., 2002)**

En dépit de sa valeur nutritive, de ses effets positifs de la malnutrition, cet élément peut présenter un risque de santé publique plus ou moins important. L'arachide est l'un des nutriments qui entraîne des problèmes immunologiques et qui provoque une réponse exagérée du système immunitaire à un antigène normalement inoffensif et le fait que l'arachide est une plante légumineuse produite à grande échelle et consommé sous de nombreux produits alimentaires : graine, poudre, beurre et huile augmente le risque de développer une allergie alimentaire **(Griels et all., 2004)**.

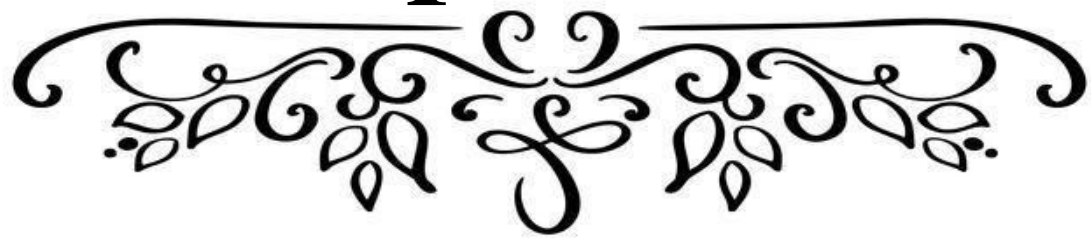
Le but de notre travail est de comparer l'effet allergique des différentes fractions de l'arachide vu qu'il a été récemment reporté que l'huile de l'arachide est dépourvue de pouvoir allergène. En conséquence, nous avons mené une étude où nous avons comparés le mécanisme de cette allergie alimentaire à travers la sensibilisation des souris BALB/c avec plusieurs fractions de l'arachide : farine de cacahuète complète, farine dégraissée et l'huile d'arachide, ainsi que nous avons met en évidence le rôle que tient l'arachide dans ce type de pathologie qui entraîne souvent des dommages tissulaires.

Le travail sera ainsi partagé en deux parties :

- ✚ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique définissant les allergies et les différents types d'hypersensibilité. En donnant, une particularité aux les allergies alimentaires précisément celle de l'arachide et les mécanismes impliquées dans le développement de ce type de pathologie.
- ✚ La deuxième partie est consacrée à l'étude de l'effet de l'arachide sur la réaction allergique chez les souris. Premièrement nous développons un modèle d'allergie à l'arachide chez la souris BALB/c, sur lequel nous allons étudier le pouvoir allergique de chaque fraction de l'arachide (farine dégraissée, et huile d'arachide). Différents paramètres seront évalués tels que les scores allergiques, le profil des protéines sérique et l'histologie.



Chapitre : I



I. Les Allergies

1. Définition

L'allergie est une réaction inadaptée et excessive, survenant chez un individu sensibilisé. Elle est due à un dérèglement du système immunitaire, appelée en général réaction d'hypersensibilité, se développent face à des substances étrangères à l'organisme (allergène) qui ne provoque pas des troubles chez la majorité des personnes (**Bertrand., 2020**).

2. Classification de Gell et Coombs

En 1963, Gell et Coombs ont proposé une classification en quatre groupes des réactions d'hypersensibilité. Ces réactions sont dues à des mécanismes immunologiques entraînant des lésions tissulaires (**Tableau 1**).

Tableau 01 : Classification Gell et Coombs.

Type d'hypersensibilité	I	II	III	IV
Facteur immunitaire en cause	Médié par IgE	Médié par IgG Cytotoxique	Médié par IgG Complexe immuns	Cellule T
Délai de déclenchement	Immédiat	Semi retardé (4 à 8 heures)	Semi retardé (quelques heures)	Retardé (1 à 3 jours)
Mécanisme effecteurs	Mastocytes Basophiles	Complément	Anticorps	Lymphocyte T
Exemple de réaction d'hypersensibilité	Rhinite allergique, asthme, eczéma, choc anaphylactique	Allergie à certains médicaments (Ex : pénicilline)	Maladie sérique, réaction d'Arthus	Dermatite de contact, Asthme chronique, rejet du greffe

Coombs et Gell ont défini que les trois premiers types d'hypersensibilité (I, II, III) se déroulent dans la branche humorale, le quatrième type d'hypersensibilité dite retardé à médiation cellulaire.

Une réaction d'HS I est induite par certains Ag appelés allergènes. Les allergies de ce type commencent à se faire sentir presque immédiatement après le contact avec l'allergène, le délai est très court parfois quelques minutes et les effets disparaissent habituellement environ une heure après l'exposition à l'allergène (**Pascal., 2005**).

En revanche, ce qui distingue une réponse d'HS I d'une réponse humorale normal est la sécrétion des IgE par les plasmocytes. Lors d'une réexposition, l'allergène est reconnu par les anticorps IgE liés aux mastocytes et basophiles. Ce qui libère un flot d'histamine, prostaglandine D2, leucotriènes D4 et tryptase, qui provoque des manifestations caractérisées par des contractions de fibres musculaires lisses, bronchoconstriction et vasodilatation, pouvant être soit systémique, soit localisé selon la quantité des médiateurs libérer et elles sont libérés au cours de la première phase : immédiate. La deuxième phase dite : phase retardée qui se produit après 4-8 heures et elle est marqué par la production des cytokines IL-1, TNF, IL-5, IL-13 et GM-CSF (**Figure 01**) (**Abbas et al., 2007 ; Agnihotri et McGrath., 2019**).

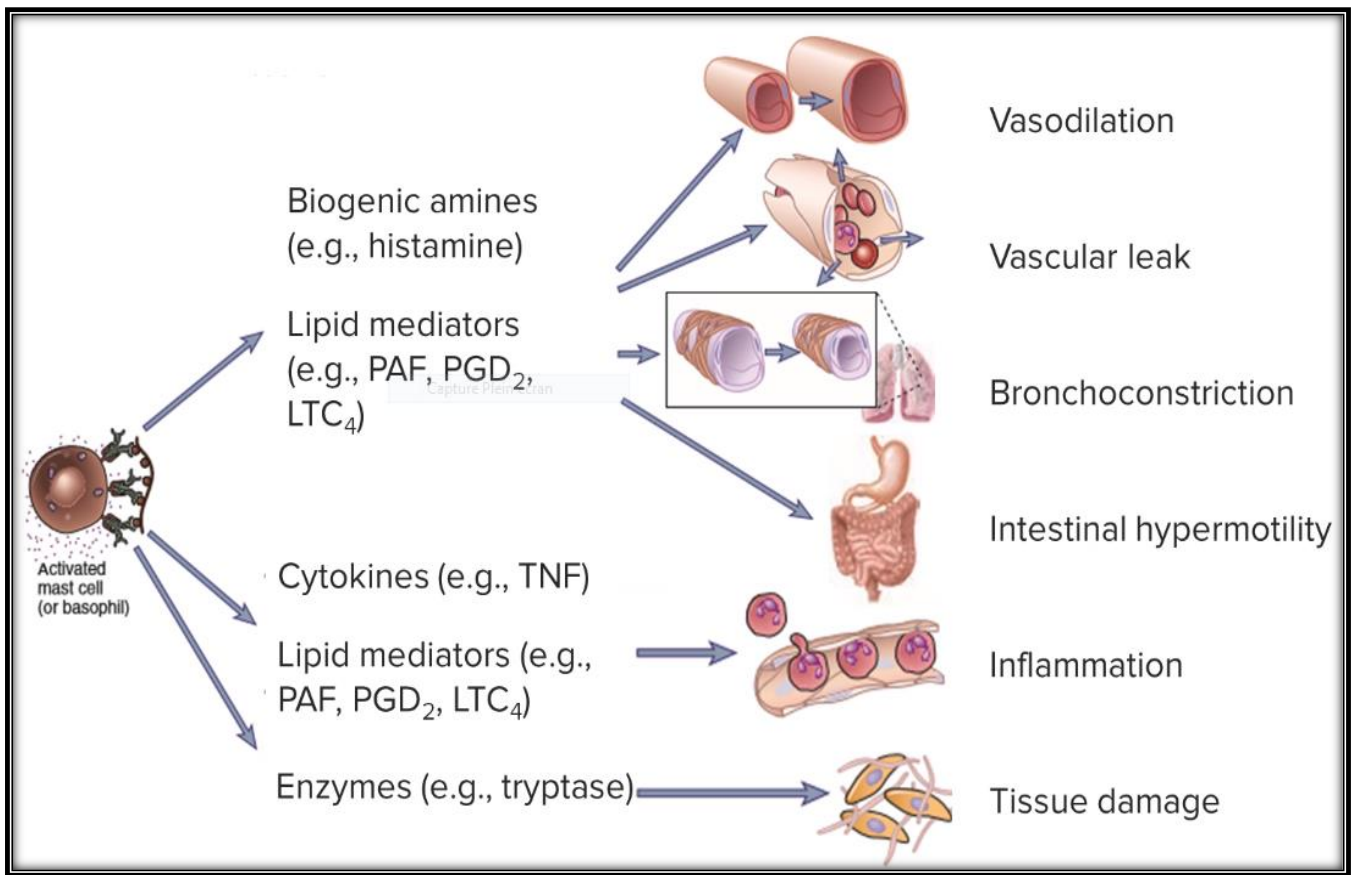


Figure 01 : Réaction d’hypersensibilité type I et le rôle des mastocytes (Baldo et Pham., 2013).

3. Acteur de l'hypersensibilité type I

Selon la classification de Gell et Coombs, l'allergie est une réaction d'HS I immédiate, IgE- dépendante dans ce type figurent certains asthmes et rhinites (**Boniface et Magnon., 2022**).

3.1 IgE et récepteurs aux IgE

Les immunoglobulines E sont impliquées dans les cas d'HS I, ils sont essentiellement produits au niveau de la peau, l'intestin et les poumons. Les IgE représentent la plus faible concentration sérique d'environ 50-200 μ l chez l'adulte, de plus la demi vie est très courte par rapport aux autres isotypes allant jusqu'aux deux jours. La structure des IgE est similaire à celle des quatre classes d'immunoglobulines, il s'agit d'une glycoprotéine composée de quatre chaînes, dont deux chaînes lourdes (type ϵ) et d'autres deux chaînes légères réunies entre eux par des ponts disulfures. (**Figure 02**) (**Dullaers et al., 2012**).

Il existe deux types de récepteurs des immunoglobulines E, un récepteur de haute affinité : Fc ϵ RI et un récepteur de faible affinité Fc ϵ RII connu sous le nom CD23. Le Fc ϵ RI est exprimé principalement sur les mastocytes et les basophiles mais aussi sur d'autres cellules comme les cellules dendritiques et les macrophages, son rôle est l'activation des cellules effectrices et la libération des médiateurs. Le Fc ϵ RII (CD23) est exprimé par les cellules B et également sur les macrophages et les cellules dendritiques (**Figure 03**) (**Gould et Sutton., 2008**) (**Kraft et Kinet., 2007**) (**Acharya et al., 2010**).

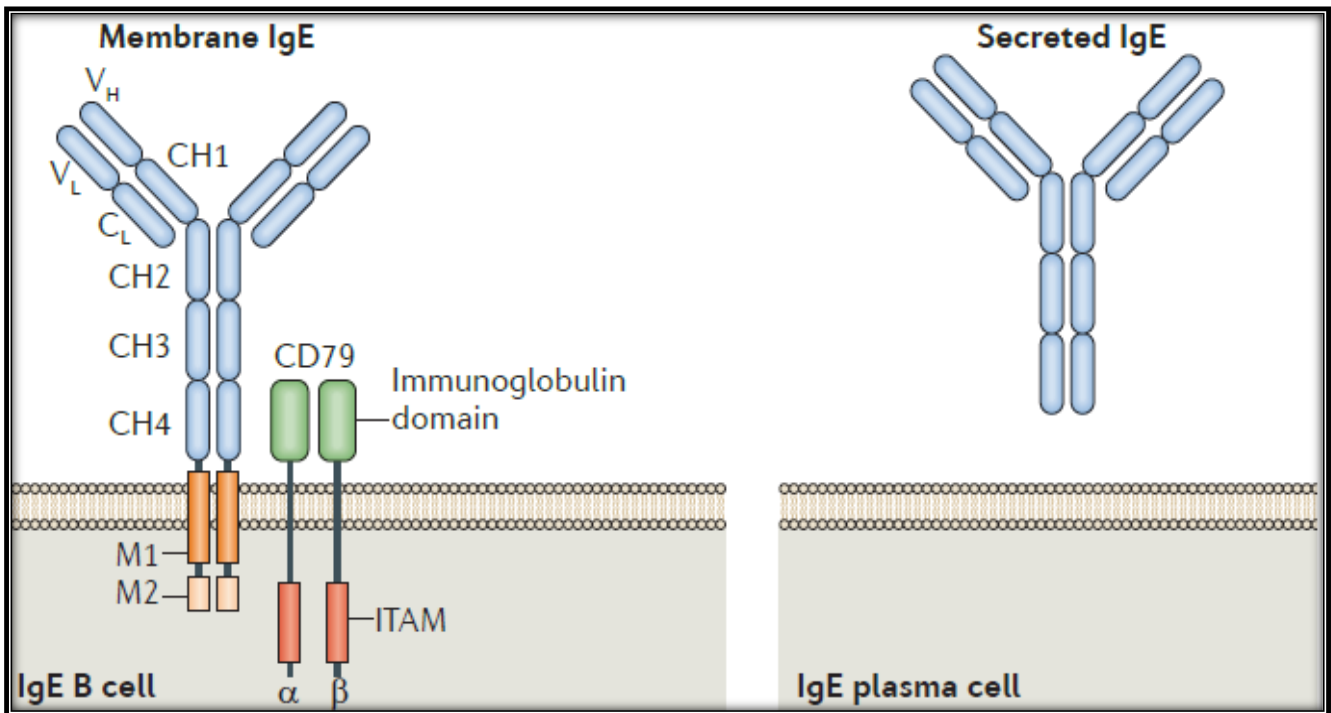


Figure 02 : Schéma générale représente la structure de l'IgE (Dullaers et al., 2012).

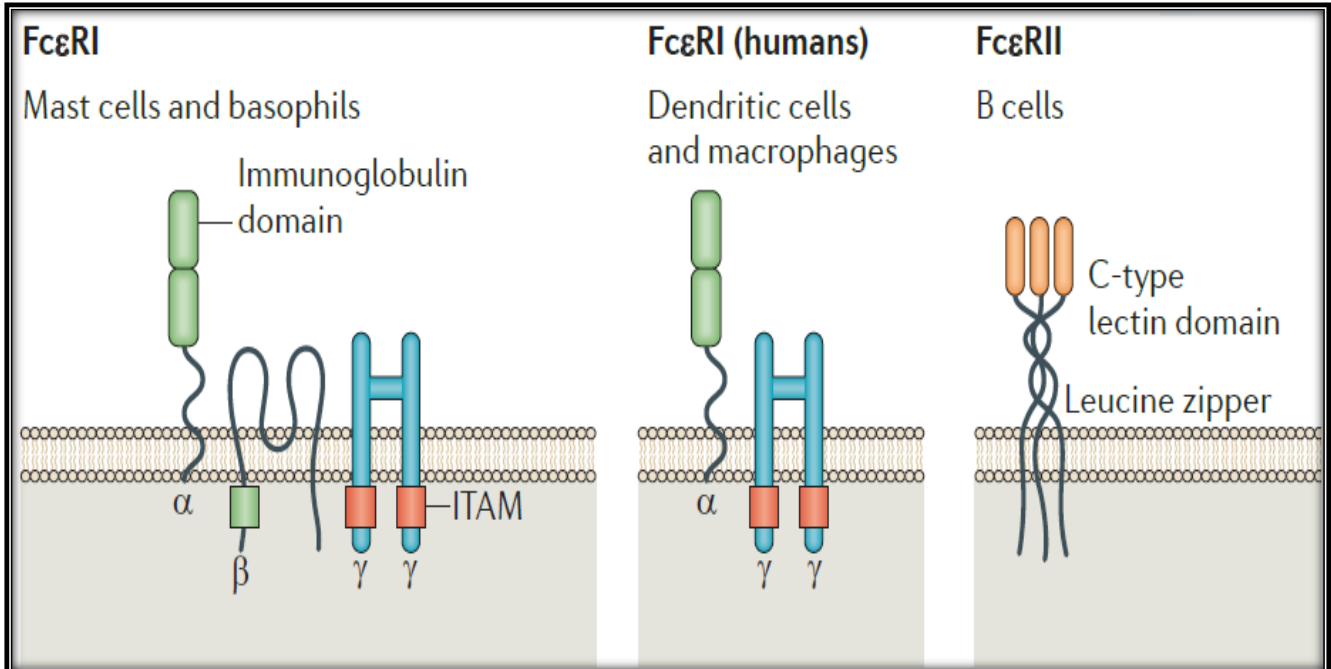


Figure 03 : Représentation schématique des récepteurs FcεRI et FcεRII qui se lient à la région Fc de l'IgE (Acharya et al., 2010) (Kraft et Kinet., 2007).

4. Physiopathologie de l'allergie IgE dépendante et indépendante

L'allergie est la forme la plus fréquemment observée dans la population, elle survient le plus souvent sur un terrain atopique. L'atopie est connue comme étant une prédisposition génétique qui apparaît généralement au début de l'âge de 2-3 ans. Cette catégorie de population, commence à se sensibiliser et à produire des IgE en excès. En conséquence, ces personnes font plus de maladies allergiques et développement des symptômes typiques d'asthme, de rhino conjonctivite ou d'eczéma (**Johansson et al., 2001**).

D'autres mécanismes sont alors variés, de son côté l'allergie IgE-indépendante met en jeu les cellules de l'immunité innée, comme son nom l'indique, la réaction IgE -indépendante est un cas particulier de la réaction inflammatoire, survenant chez un allergique en réponse à un allergène. Ce type d'allergie n'implique pas directement les IgE et leurs récepteurs, cependant le mécanisme d'IgE indépendant inclut d'autres acteurs tels que les IgG, qui implique le déclenchement de la libération de médiateurs par la réticulation du complexe IgG/antigène par leur récepteur FcγR sur les macrophages, les basophiles, les neutrophiles. Ainsi qu'il existe d'autres récepteurs membranaires participant à la dégranulation des cellules en particulier les mastocytes, via le récepteur MRGPRX2, ce dernier est un récepteur qui est spécifiquement exprimé par les mastocytes, qui est responsable de la pseudo-allergie et qui leur permet d'être activé par des substances cationiques telle que la neuropeptide substance P (**Finkelman et al., 2016 ; Subramanian et al., 2016 ; McNeil et al., 2014**).

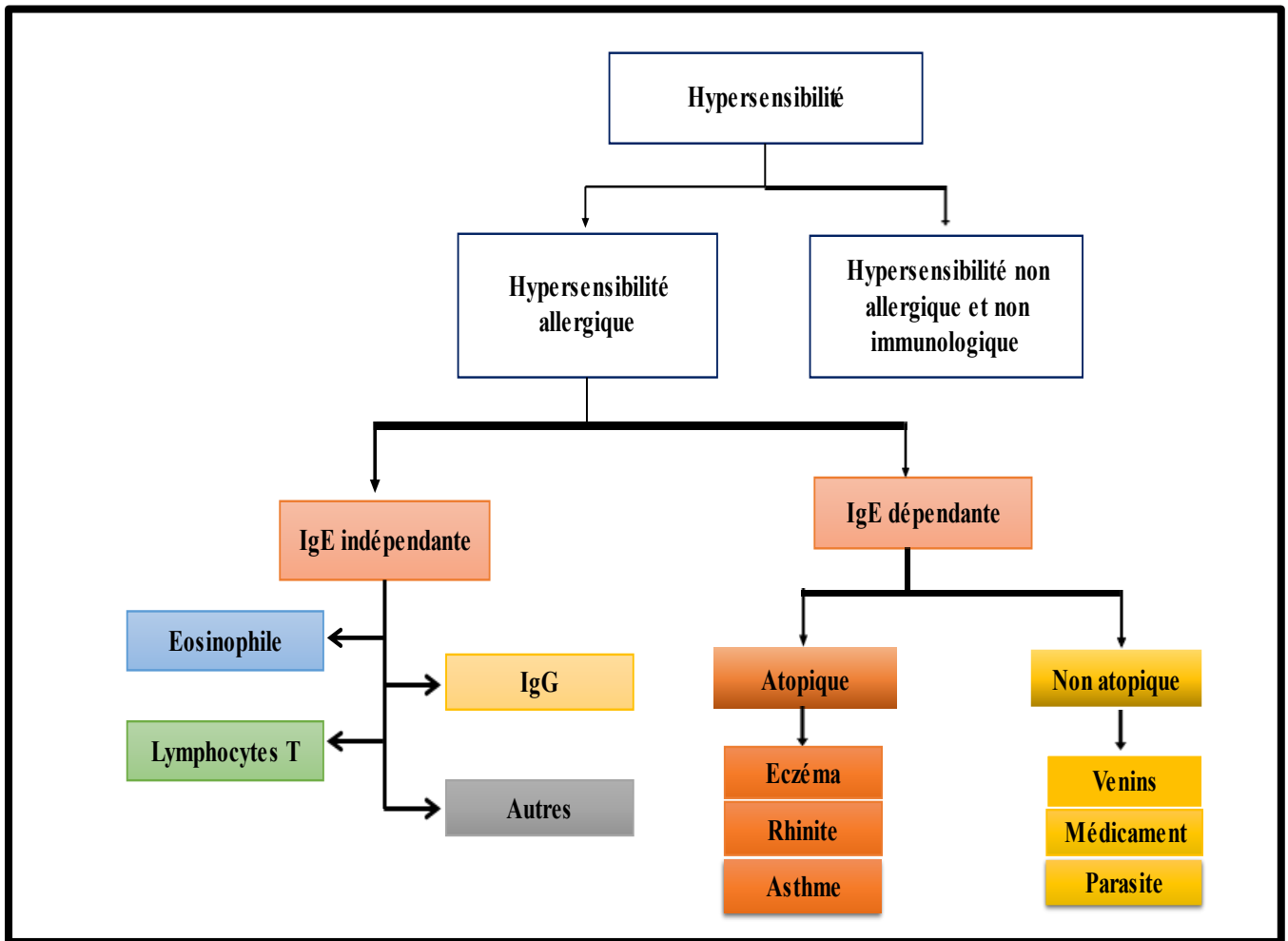


Figure 04 : Classification allergique des IgE dépendante et indépendante (Johansson., 2000).

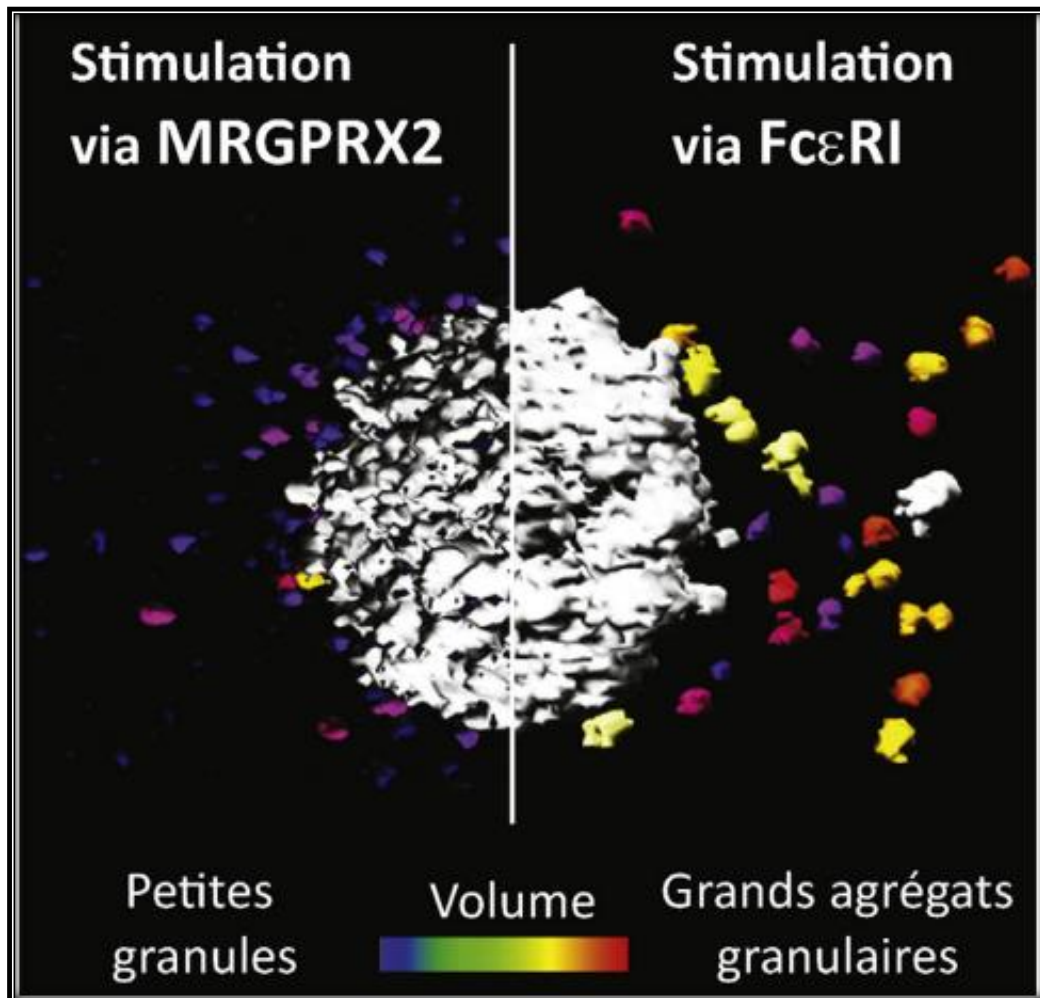


Figure 05 : Représentation graphique du volume des granules externalisées dans le cadre d'une stimulation des mastocytes via MRGPRX2 ou FcεRI(Gaudenzio et al.,2016).

Tableau 02 : Les afférents types d'allergies alimentaires.

Caractéristiques	Allergie IgE dépendante	Allergie IgE indépendante
Quantité d'aliment afin d'entraîner une réaction	Quelques traces	La dureté de la réaction et proportionnelle à la quantité d'aliment ingérée
Apparition des symptômes	Quelques minutes à quelques heures	Quelques heures à quelques jours
Sévérité de la réaction	Variable, mais la réaction peut même arriver à la mort de la personne (anaphylaxie)	Modéré à sévère
Symptômes	Gonflement des lèvres et de la langue, enflure de la gorge, respiration difficile, urticaire	Vomissement, diarrhée parfois sanguinolente, douleur abdominale, mucus ou sang dans les selles

5. L'hypersensibilité de type II

HS de type II aussi connue comme HS cytotoxique, elle peut également être divisé en deux sous types différents : réaction type II a et II b, cette réaction peut affecter une variété d'organes et tissus, ce qui conduit à des réactions graves et potentiellement mortelle. Elle se caractérise par la présence d'anticorps IgG ou IgM contre des antigènes présents à la surface des cellules telle que les globules rouges, les neutrophiles, les plaquettes et sur les cellules épithéliales, entraînant ainsi des dommages aux cellules (**Chinen et al., 2009**).

La réaction d'HS type II se déroule selon deux modalités :

- Les anticorps peuvent directement servir d'opsonine pour les cellules ou ils peuvent activer le système de complément, ce qui conduit à l'activation de la cascade du complément provoquant ainsi la lyse de la cellule (**Carr et Saltoun, 2012**).
- Les anticorps déposés dans les tissus recrutent par la suite des neutrophiles et des macrophages, ce qui entraîne des inflammations et des lésions tissulaires (**Carr et Saltoun., 2012 ; Carr et Saltoun., 2012**).

6. L'hypersensibilité de type III

Ce type d'HS, appelée aussi hypersensibilité semi-retardé ou à complexe immuns, résultent d'une association Ag-AC. L'importance de la réaction est en fonction du taux des complexes immuns, il se produit alors une réaction inflammatoire intense entraînant des lésions tissulaires. Les symptômes de cette réaction sont déterminés selon le dépôt des complexes immuns. Ils peuvent être déposés dans un tissu très proches du site d'entrée de l'antigène, la réaction qui se développe est appelée « réaction d'Arthus », lorsque les complexes sont formés dans le sang, une réaction généralisée se développe « réaction systémique ».

Le mécanisme de cette réaction de type III résulte lorsque les complexes immuns activent le réseau des molécules effectrices immunitaire du site de complément, le C3a et le C5a (des facteurs chimiotactiques). Ces derniers activent les neutrophiles qui libèrent par la suite des enzymes lytiques provoquant de graves lésions aux tissus (**Ashraf et Seong., 2012**).

7. L'hypersensibilité de type IV

La réaction de type IV décrite par Gell et Coombs appelée également hypersensibilité retardée (DTH), ce type implique les lymphocytes T. Elle se différencie des trois autres en sens qu'elle ne produit pas des anticorps. Après la réintroduction de l'antigène, un délai de 24 à 72 heures est nécessaire à l'apparition des manifestations.

Le développement d'une réaction DTH se déroule en deux phases : la première phase dite, phase de sensibilisation (initiale), après le premier contact avec l'antigène s'effectue une activation des LT après la présentation de l'antigène par les CPA, incluant les cellules de Langerhans et les macrophages par les molécules CMH de classe II et se dirige vers les ganglions lymphatiques les plus proches pour le présenter aux LT et générer une réponse adaptative de type Th1. Lors du second contact avec l'antigène (phase effectrice de la réponse DTH), des cytokines sont produites par les lymphocytes Th1 permettant la migration et l'activation des macrophages au site de l'infection, parmi ces cytokines l'IL-3, le GM-CSF et en particulier l'IFN γ et TNF β . Les macrophages s'accumulent et augmentent leur capacité de présentation de l'antigène entraînant une inflammation et des dommages tissulaires ainsi que d'autres lésions vasculaires aboutissant à une nécrose tissulaire (**Ditto et al.,2009**).



Chapitre : II



II. Les allergies alimentaires

1. Définition

C'est une allergie consécutive non seulement par ingestion alimentaire mais aussi par inhalation ou contact direct avec molécules alimentaires habituellement inoffensives. Elle se manifeste par une activation du système immunitaire, aboutissant à la libération des immunoglobulines. Ces AC libérés activent à leur tour la libération d'autres molécules entraînant l'apparition des symptômes cliniques (**Olivier., 2013**).

Les allergies alimentaires (AA) sont provoquées généralement par les IgE spécifiques et correspond à un état d'hypersensibilité immédiate de type I, n'empêche qu'il existe d'autres formes d'AA indépendante d'IgE. Ces dernières entrent dans la classe d'hypersensibilité de type III ou de type IV (**Wal.,2004**).

2. Les trophallergènes

Ce sont des allergènes alimentaires se présentant dans une variété d'aliments tels que les œufs, le poisson, les crustacés, les arachides et le lait de vache. Les trophallergènes sont des substances qui déclenchent une réaction allergique de type HS I. Il existe deux types de manifestations allergiques pouvant être liées à la prise d'aliments ; des manifestations extradiigestives (œdème, urticaire...etc.) et des manifestations digestives (vomissement, diarrhée...etc.) (**Jarlot et al., 2013**).

3. Intolérance alimentaire

Les réactions alimentaires indésirables peuvent être classé en deux catégories principales, selon la présence ou non d'un mécanisme immunologique. La première catégorie caractérisée par l'allergie alimentaire médiée par les IgE et la deuxième catégorie concerne les réactions non immunologiques : c'est l'intolérance alimentaire (**Maniu., 2014**).

À la différence de l'intolérance, l'allergie alimentaire requiert un premier contact avec l'antigène (phase de sensibilisation) avant le déclenchement de la réaction allergique. Par contre

l'intolérance alimentaire regroupe des entités cliniques variées dont l'origine peut être enzymatique ou pharmacologique ou intoxication...etc. (**Figure.06**) (**Kobayashi., 2000**).

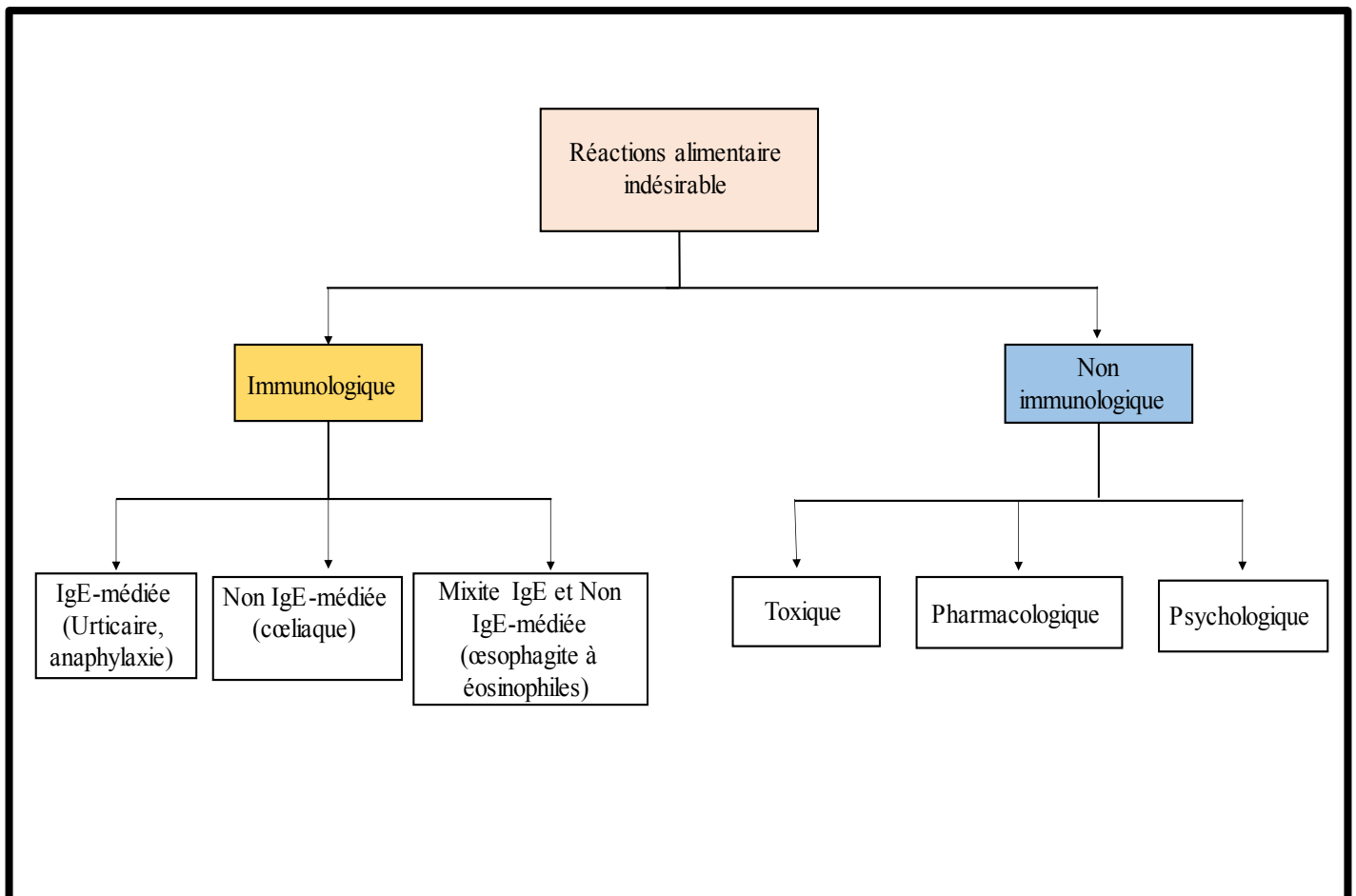


Figure 06 : Classification des réactions alimentaires indésirables (**Boettchor et Crowe.,2013**).

4. Allergie à l'arachide

L'arachide fait partie de la famille des *Fabaceae* ou les légumineuses comme le soja, les lentilles, les fèves, le lupin et les haricots (**Figure 07**). L'allergie à l'arachide a été classé parmi les allergies alimentaires dites sévères, vue qu'elle peut provoquer une anaphylaxie létale (**Bock et al., 2007**).

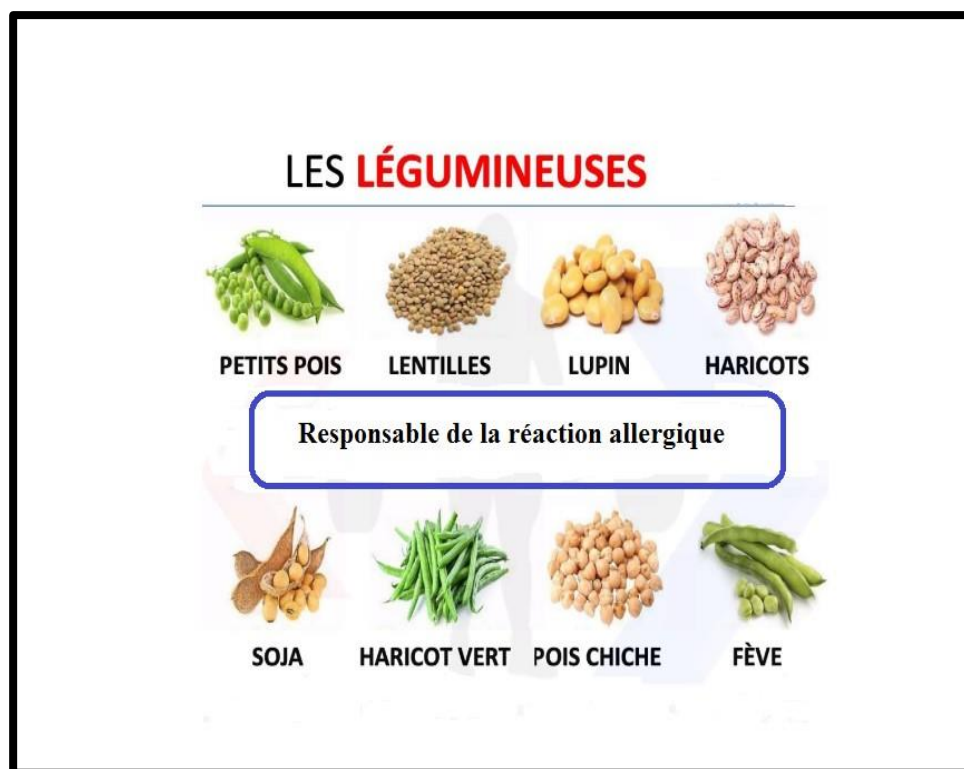


Figure 07 : Aliments appartenant à la famille des légumineuses.

L'allergie à l'arachide est une importante allergie alimentaire médiée par les IgE. Elle touche environ 1 % des enfants de moins de 5 ans. L'arachide est l'aliment le plus souvent impliqué dans les décès par anaphylaxie d'origine alimentaire (**Burks.,2008**).

4.1 Les allergènes de l'arachide

L'arachide contient un très grand nombre de protéines allergisantes, onze allergènes sont identifiés dans l'*Arachis Hypogaea* parmi lesquels quatre sont considérés comme allergènes majeurs. Il s'agit des allergènes Ara h 1, 2, 3 et 6 (**Bouquetet., 2016, Pouessel et al., 2019**).

La majorité 97 % des patients allergiques à l'arachide étant sensibilisés à au moins 1 des allergènes Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3,. Plus récemment, l'allergène Ara h 6 a également été identifiée comme un allergène majeur de l'arachide (**Shreffler et al., 2004**).

Les deux principaux allergènes de l'arachide sont de la famille viciline (Ara h1) et l'albumine 2S conglutine.

- Ara h 1, une protéine de masse moléculaire de 63.5 KDa, comportant 23 épitopes capables de se lier avec les IgE. Elle est responsable de la majorité des cas d'anaphylaxie (**Koppelman et al., 2016 ; Koid et al., 2014**).
- Ara h 2 est un allergène majeur de l'arachide, il appartient à la famille d'albumine 2S, avec un faible poids moléculaire de 17 KDa, il partage environ 60 % d'identité de séquence avec l'Ara h 6. Ces deux allergènes sont résistants aux températures élevées et à la digestion ainsi qu'ils sont considérés comme les allergènes d'arachide ayant la plus grande capacité à induire l'activation des cellules effectrices et les formes les plus sévères d'allergie aux arachides (**Kukkonen et al., 2015**).

5. Mécanisme cellulaire et moléculaire de l'allergie à l'arachide

Une cascade complexe d'événement se déroule entre le premier contact de la muqueuse avec l'allergène et l'apparition des symptômes allergiques liés au deuxième contact avec le même allergène.

La première introduction de l'allergène, c'est-à-dire la phase de sensibilisation immunitaire. Les protéines alimentaires sont absorbées par les cellules épithéliales spécialisées et transférées jusqu'aux cellules présentatrices de l'antigène comme les cellules dendritiques et puis transformées en fragment de peptides. Ces derniers sont présentés aux lymphocytes, cette première étape est asymptomatique, les manifestations allergiques proprement dites ne se

déclenchent que lors du second contact, donc au cours d'une nouvelle ingestion de l'arachide, le complexe antigène-anticorps se forme et entraînant la réaction allergique (Bentenni, 2013).

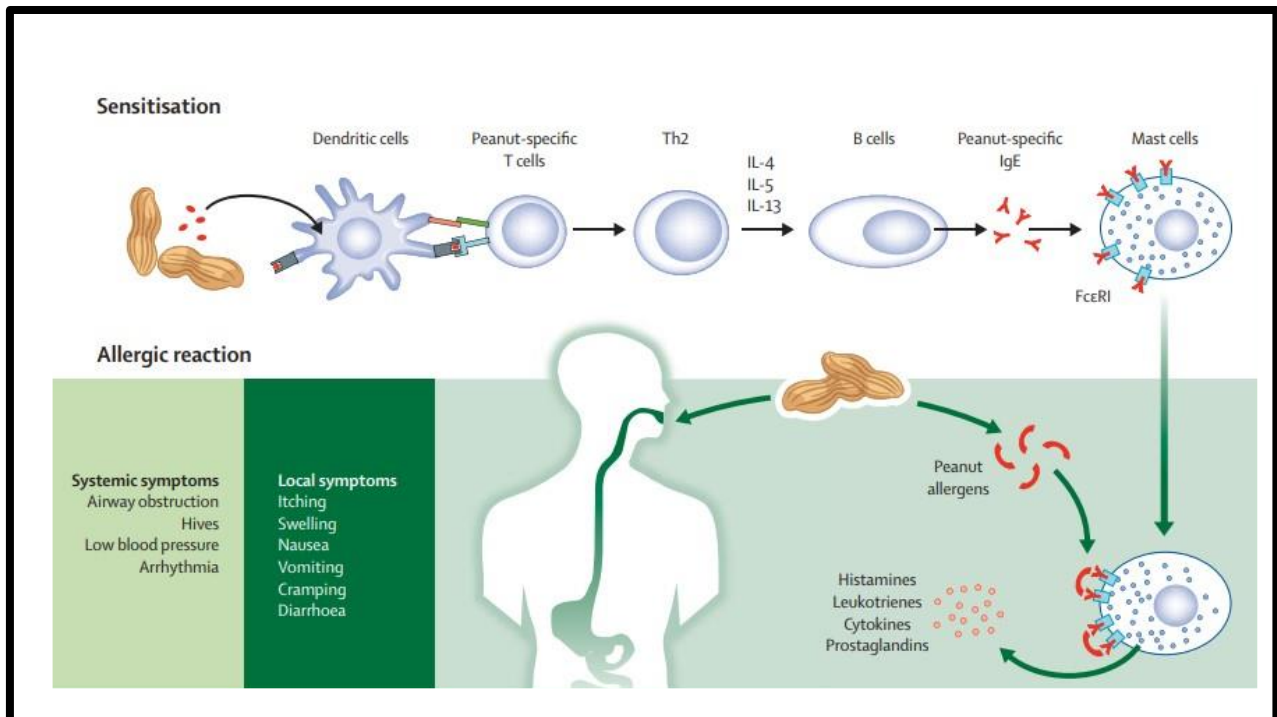


Figure 08 : Physiopathologie de l'allergie à l'arachide (Prioult et Nagler-Anderson., 2005) (Strobel et Mowat., 2006).

5.1 Phase de sensibilisation

C'est la phase de première rencontre avec l'allergène, lors du premier contact, l'allergène entre en contact avec le système immunitaire et elle se traduit par la production d'IgE spécifiques par les LB. Une fois l'allergène est dans la muqueuse, il se retrouve en contact avec de nombreuses cellules immunitaires, telles que les DC (**Sicherer et Sampson., 2018**).

Ces cellules dendritiques résident dans les tissus périphériques pour protéger l'organisme contre des envahisseurs étrangers ou dangereux notamment via des récepteurs de l'immunité innée comme les PRR's dont la famille la plus connue, celle des TLR's (**Chen et al., 2011**) (**Zakeri et Russo., 2018**).

Dès l'instant où, les allergènes sont dans les cellules, ils subissent un processus d'apprêtement. Le complexe peptide allergénique-CMH est exprimé à la surface de la cellule dendritique. Ensuite elle présente ces peptides allergéniques associés au CMH 2 au lymphocyte T CD4. Dans ce cas, l'hypersensibilité allergique IgE médiée, la cytokine importante est l'IL-4, car sa sécrétion oriente la différenciation des lymphocytes T CD4 en lymphocyte Th 2 (**Worbs et al., 2017 ; Chow et Gill., 2020**).

Une coopération est ensuite nécessaire entre le LB et Th 2 spécifiques du même allergène. L'interaction entre cellule B et cellule T notamment de la production d'IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et IL-13 par la cellule Th 2. Sous l'influence de ces cytokines le lymphocyte B subit une commutation de classe vers la synthèse d'IgE et se différencie ainsi en plasmocyte sécrétant des IgE (**Figure 09**) (**Gould et Sutton., 2008**).

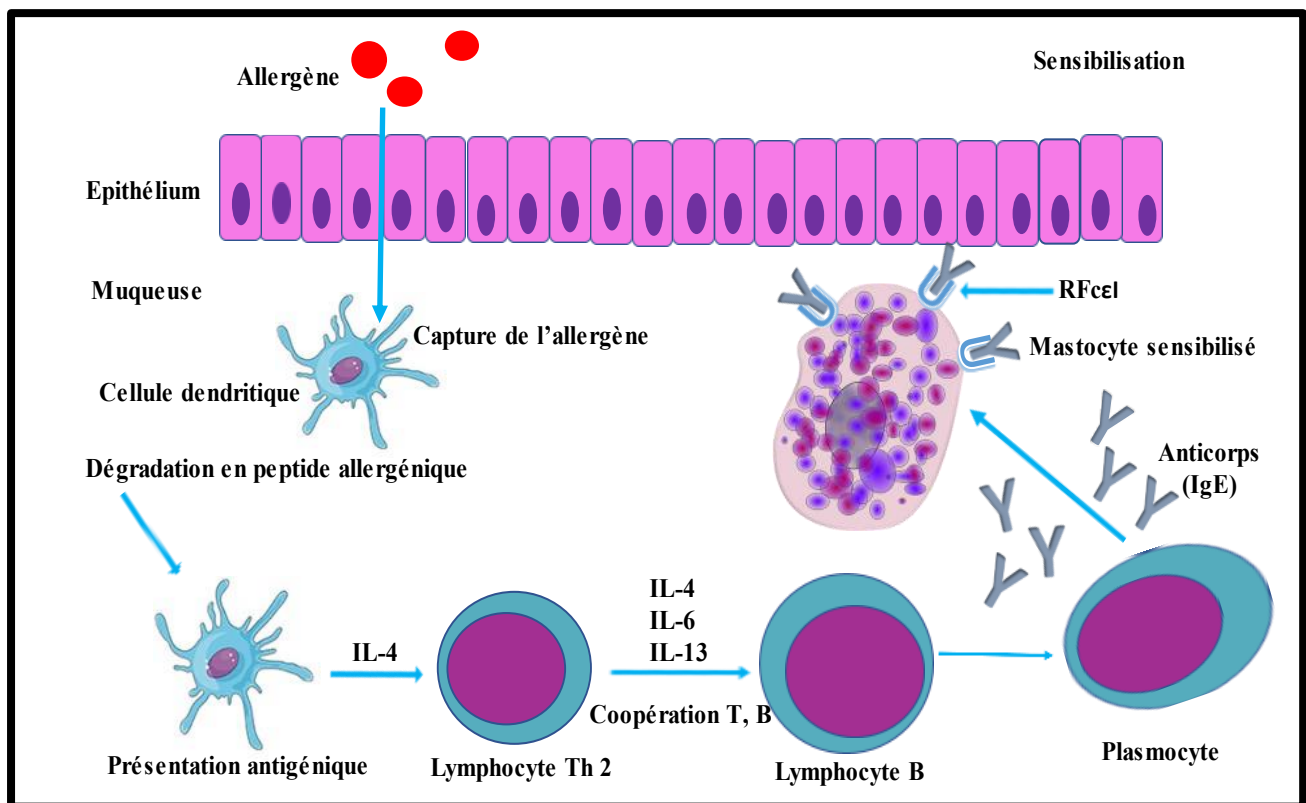


Figure 09 : Mécanisme immunologique de la phase de sensibilisation (**Schéma de synthèse**).

5.2 Phase de déclenchement

Au cours de cette phase, la réaction allergique est déclenchée lors du second contact avec le même allergène et elle sera responsable de la survenue des symptômes.

Cette fois l'allergène va être reconnu par les IgE fixés sur les récepteurs membranaires RFcεI des mastocytes, deux épitopes de l'allergène se lient avec deux IgE fixés sur les mastocytes, créant ainsi un pontage des IgE. Ce pontage induit l'activation des cellules effectrices (mastocytes et basophiles) par induction d'un flux calcique qui entraîne la libération d'un ensemble de médiateurs variés, mais le plus important est l'histamine (**Figure 10**) (**Oettgenet Burton., 2015**) (**Church., 2017**).

Des médiateurs préformés, en particulier l'histamine qui résulte de l'exocytose du contenu granulaire et des protéases.

Des médiateurs néoformés (Prostaglandine D2, leucotriène C4 et facteur d'activation des plaquettes) synthétisés à partir de l'acide arachidonique.

De nombreux effets sont alors responsable de l'apparition rapide de signe cliniques dont l'hypersécrétion de mucus, la bronchoconstriction, la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité capillaire et l'œdème de la muqueuse (Sirois., 2019) (Marone et al., 2019).

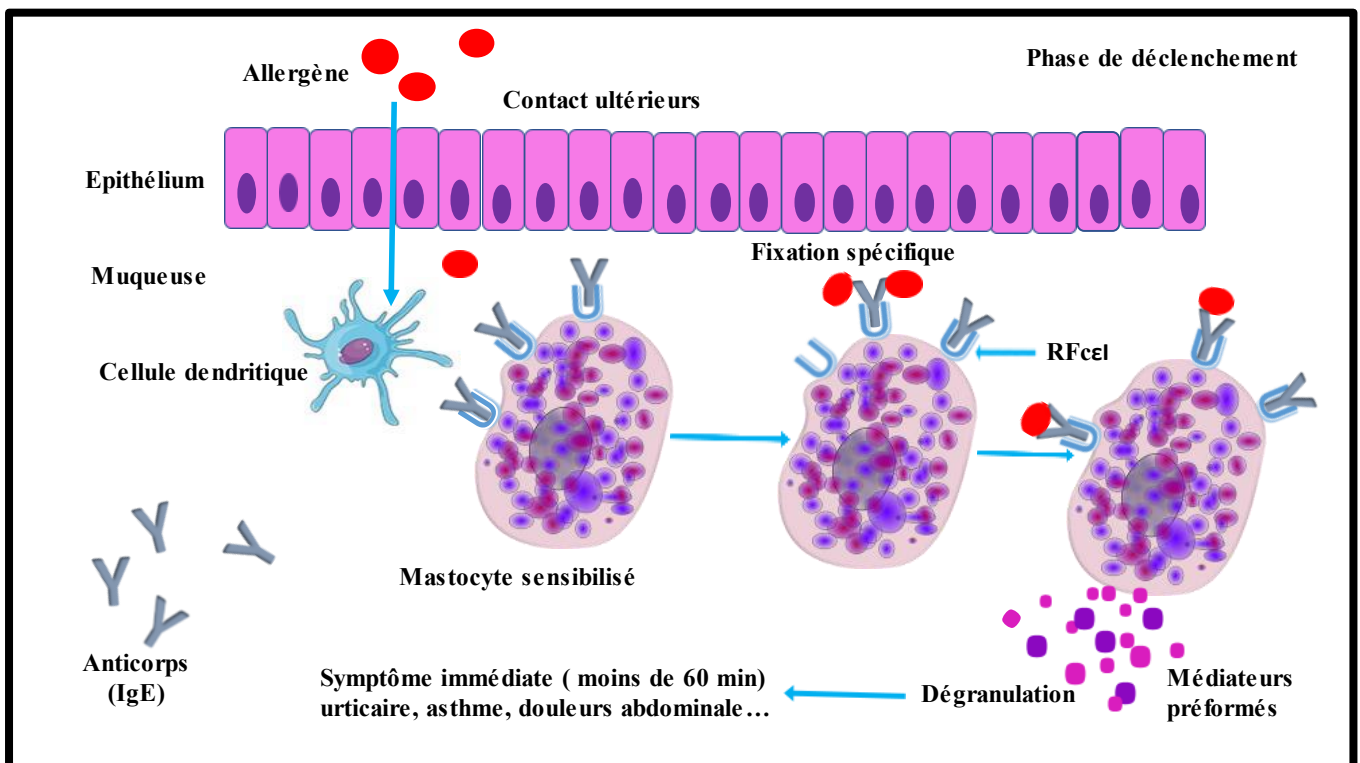


Figure 10 : Mécanisme immunologique de la phase de déclenchement (schéma desynthèse).

6. Symptomatologie variée

Les manifestations cliniques de l'allergie alimentaire sont diverses :

6.1 Symptômes gastro-intestinaux

Les vomissements, les diarrhées, les nausées et les douleurs abdominales sont les symptômes les plus fréquents. Bien que le premier signe soit souvent le syndrome oral comprend un picotement vélo palatin, œdème des lèvres et une dysphagie (**Lamireau et Enaud., 2020**).

6.2 Symptômes cutanés

Urticaire, œdème des paupières, prurit intense et poussé inflammatoire de lésion dermatite atopique (eczéma) (**Lamireau et Enaud., 2020**).

6.3 Symptôme respiratoire

Ils sont multiples, la détresse respiratoire est le plus exprimé d'une allergie alimentaire et il est plus fréquent chez l'adulte et peut même conduire à la mort. Rhino-conjonctivite, bronchite, malaise syncope et état de choc peuvent aussi se manifester (**Lamireau et Enaud., 2020**).

6.4 Anaphylaxie généralisé

L'anaphylaxie est la forme la plus grave d'allergie, le choc anaphylactique (symptômes précédents associés à une hypotension et des troubles neurologiques), les menaces de mort subite et les décès soudains. De nombreux cas d'anaphylaxies sont survenus suite à une ingestion alimentaire (**Mondoulet., 2005**).

7. Test de diagnostic de l'allergie alimentaire

Le diagnostic repose sur les éléments cliniques et sur l'identification des sensibilisations alimentaires, pour mettre en relation certains aliments avec la symptomatologie : la chronologie entre l'ingestion d'un aliment et l'apparition des symptômes. Les principaux outils de diagnostic sont les tests cutanés, dosage des IgE spécifiques et le TPO qui reste le test de diagnostic de référence pour les allergies alimentaires.

7.1 Test in vivo

Le diagnostic de l'allergie peut être enrichie par les tests in vivo afin de déterminer l'origine allergique des symptômes d'un patient et d'identifier l'allergène en cause tels que les tests cutanés avec une batterie d'allergène, ou test de provocation (**Averty., 2017**).

7.1.1 Test cutané (Prick test)

Les tests cutanés aussi appelés prick test, c'est un test qui vise à mettre l'allergène en contact direct avec la peau afin de déceler les IgE tissulaire, ceci est valable que pour les allergies dépendantes des IgE. La lecture du test d'effectue environ 20 minutes plus tard. Le test est considéré positif lorsqu'il y a une petite papule et est associée à un érythème périphérique. La réaction disparaît dans l'heure qui suit (**Averty., 2017**).

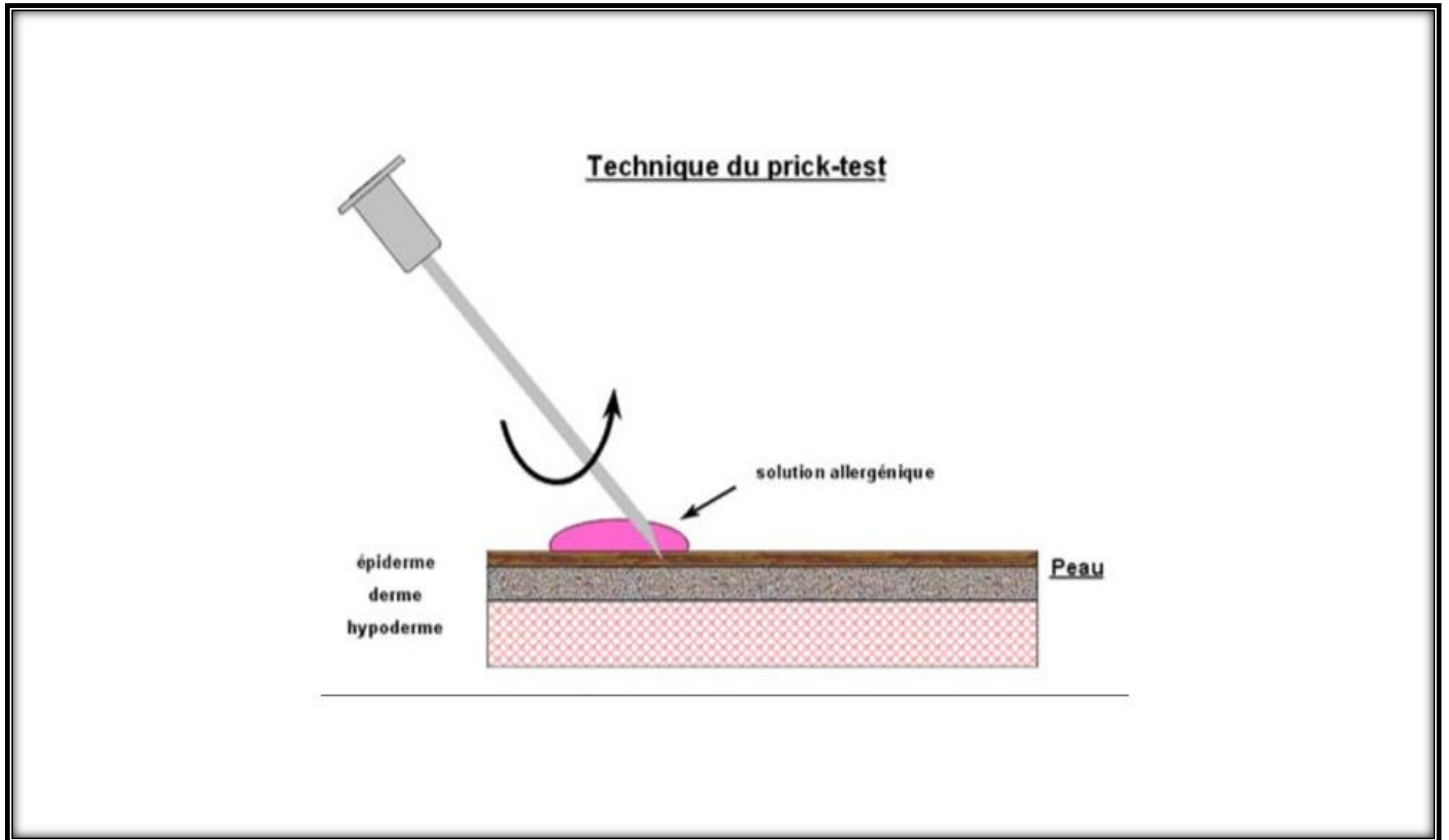


Figure 11 : Illustration de prick test (Averty., 2017).

7.1.2 Test de provocation

Seule le TPO reste à ce jour le test de diagnostic de référence pour les allergies alimentaires, il permet d'affirmer ou infirmer le diagnostic par contre il se déroule sous surveillance médicale avec l'ingestion de dose croissante d'allergène à l'intervalle de temps régulier environ trois heures, des doses sont progressivement croissante toutes les 20 minutes en absence de manifestation (**Rommel., 2012**).

7.2 Test in vitro : Dosage des IgE spécifiques

C'est un test biologique, permet de déceler une réaction allergique IgE-dépendante ou immédiate. La technique est simple, un extrait allergique ou allergène précis en présence de sérum du patient. S'il existe une réactivité entre le sérum du patient et l'allergène le test est considéré comme positif (**Averty., 2017**).

Il y a d'autres dosages comme le dosage de tryptase, une protéine sécrétée par les mastocytes pouvant être retrouvée dans le sérum dans les heures qui suivent une réaction anaphylactique (**Carine et al., 2002**).



Matériel et Méthodes



III. Partie expérimentale

Ce travail a été réalisé au niveau du centre de recherche en sciences pharmaceutiques CRSP pendant trois mois, durant la période Mars, Avril, Mai 2022. Pour notre expérimentation, nous avons utilisés des souris BALB/c ont été obtenues auprès de l'animalerie de l'institut pasteur Alger.

1. Matériel biologique

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisés 19 souris femelles âgées de 8 à 10 semaines, d'un poids moyen de 24g.

La souris BALB/c fait partie des modèles consanguines les plus largement utilisés dans tous les domaines de la recherche biologique et médicale, et est particulièrement utilisée dans la recherche en immunologie.



Figure 12 : Souris BALB/c.

1.1 Condition d'élevage

Les souris sont maintenues dans des cages en plastique, avec un couvercle en grille à une température de 24-25°C et un accès libre à l'eau et la nourriture dont l'alimentation journalière des souris lors de notre expérimentation était standard composée de petits bâtonnets à ronger accompagnés d'un litre d'eau.

2. Extraction des protéines d'arachide

Les graines d'arachide (commerciales) sont d'abord grossièrement pilées, ensuite broyées et finalisé jusqu'à l'obtention de la farine d'arachide.

3. Extraction de l'huile d'arachide

L'extraction d'huile d'arachide est réalisée avec une machine automatique à pression à froid avec contrôle de la température. Les graines sont décortiquées, broyées jusqu'à réduction en arachide concassé, puis soumise à de forte pression, après environ 5 minutes, l'huile commence à s'écouler et elle est recueillie et filtrée : c'est l'huile d'arachide brute.

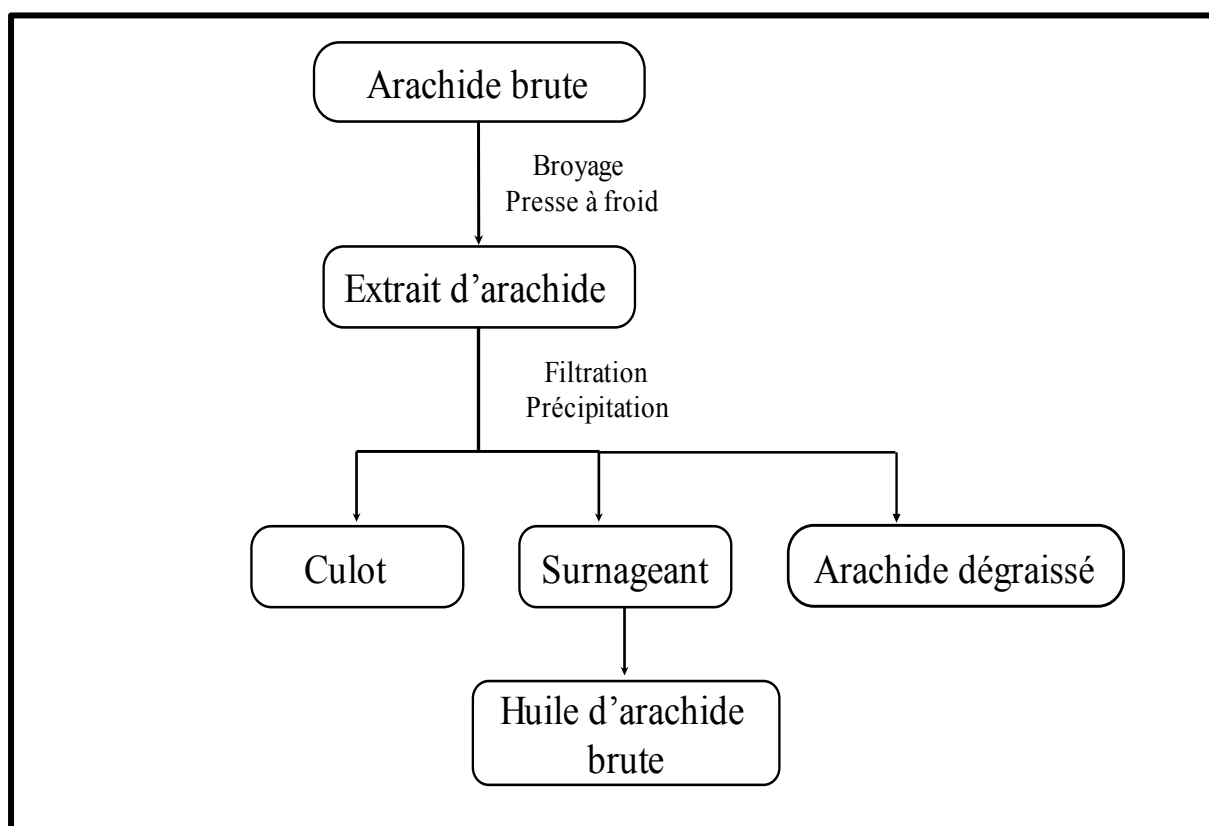


Figure 13 : Schéma générale d'extraction d'huile d'arachide.



Figure 14 : Machine automatique à pression à froid.



Figure 15 : Extraction de l'huile d'arachide.

4. Dosage des protéines d'arachide

Les dosages des protéines ont été réalisés selon la méthode de Bradford en mélangeant 200µl de l'extrait de la farine d'arachide avec 4 ml de la solution de Bradford. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur de 465 nm.

5. Induction de l'intolérance à l'arachide chez les souris

5.1 Répartition et traitement des souris

5.1.1 Répartition des souris

Lot 1 : contrôle

Lot 2 : Allergie + Farine complète.

Lot 3 : Allergie + Farine dégraissée.

Lot 4 : Allergie + l'huile.

5.1.2 Traitement des souris

Le développement d'un modèle d'allergie à l'arachide chez les souris a été réalisé en deux phases.

5.2 Phase d'immunisation

L'immunisation se fait principalement sur les souris afin de provoquer une réponse immunitaire contre les protéines d'arachides. La première immunisation est réalisée sur les souris des lots 2,3 et 4 par une dose d'OVA (2 mg/Kg) par voie intrapéritonéale, s'étalant sur quatre semaines, dont la deuxième injection est accompagnée d'une solution protéique (protéine d'arachide) de 0,5 mg/souris (**Figure 16**)

5.3 Phase de sensibilisation

Les souris des lots 2 et 3 reçoivent quotidiennement 10mg d'allergène par voie orale (gavage), pendant une semaine. Par contre le lot 4 reçoit seulement 200µl d'huile d'arachide (**Figure 17**).



Figure 16 : Injection intrapéritonéale des souris.

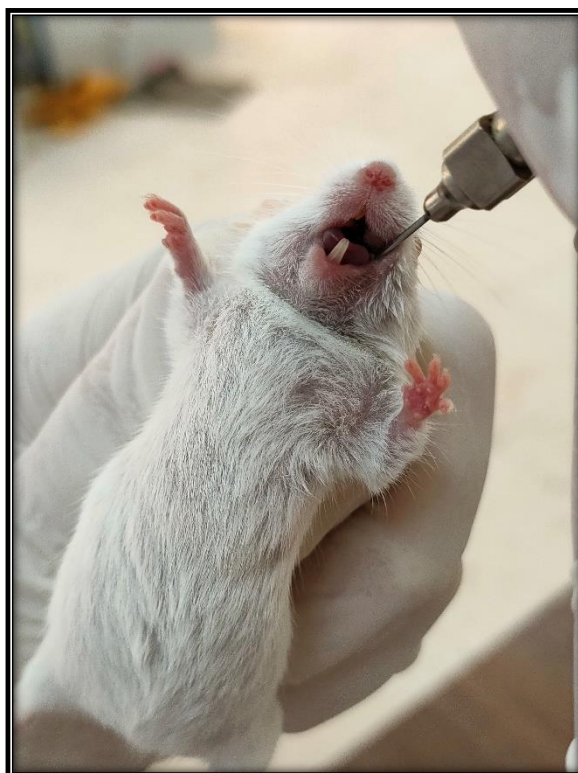


Figure 17 : Gavage des souris à l'aide d'une sonde.

6. Evaluation de la réaction allergique

6.1 Test cutané (Prick test)

Dans notre étude, nous avons utilisés l'arachide comme allergène, on le mettant en contact direct avec l'épiderme au niveau des oreilles. Les résultats sont observés au bout de 5-10 minutes.

6.2 Evaluation des scores allergiques

L'évaluation de la réaction allergique se fait tous les jours pendant la phase de sensibilisation, les souris restent sous surveillance durant les 60 minutes qui suivent la sensibilisation. Les stades allergiques suivants :

- 0- Aucun symptôme.
- 1- Grattement autour du nez et la tête.
- 2- Poche autour des yeux et de la bouche.
- 3- Respiration difficile et/ou cyanose autour de la bouche et de la queue.
- 4- Perte d'activité après ou tremblement et convulsion.
- 6- Décès de l'animale.

Après une semaine de sensibilisation, les souris ont été sacrifiées. Le sang est prélevé les sérums sont conservé et les organes foie, intestin sont conservés dans le formol 10% en vue d'une étude histologique.

7. Réalisation des lames histologiques et observation au microscope

7.1 Préparation des coupes histologiques

La réalisation de coupes histologiques comporte 8 étapes successives ; la déshydratation, l'inclusion ou l'enrobage, la coupe au microtome, fixation de la coupe sur la lame, le déparaffinage, la réhydratation, la coloration de la coupe et enfin le montage.

- **La déshydratation :**

Les fragments d'organes fixés précédemment sont placés des cassettes. Ces dernières sont immergées dans des bains d'alcool à concentration croissante (70°, 85°, 90°, 100° pendant 10, 30, 45 et 1h :30 min respectivement).

- **Inclusion et enrobage :**

Les cassettes sont enrobées dans de la paraffine fondue dans des moules métalliques (la paraffine est chauffée pendant 1h dans une étuve à 56°C et 60°C). Le moule est ensuite fermé et placé dans un congélateur pour refroidir la paraffine et faciliter le démoulage.

- **Coupe au microtome :**

Après refroidissement de la paraffine, les échantillons sont démoulés des cassettes. Les blocs de paraffine obtenue sont ensuite dégrossés à la main et coupé à l'aide d'un microtome en coupes fine de 3µm d'épaisseur. Enfin, les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

- **Fixation de la coupe sur la lame :**

Sur une plaque chauffante maintenant une température de 50°C, on place une lame sur laquelle on dispose une solution d'eau distillée albuminée à 1% en veillant à faire un dôme d'eau sur la lame pour éviter les bulles d'air. L'eau albuminé permet à la coupe de bien glisser sur la lame, on dépose alors la coupe histologique sur la lame. On égoutte la lame, en renversant simplement l'eau en excès sur un sopalin, on place la lame de façon droite pour bien la faire sécher puis on met la lame dans une étuve à 56°C pendant 1h. Cela permettra d'enlever le reste de la paraffine plus facilement et de bien fixer la coupe sur la lame.

- **Déparaffinage :**

Ce fait en passant les lames lame dans 2 bains successifs de toluène pendant 2 min.

- **Réhydratation :**

La réhydratation des coupes histologiques passe par plusieurs bains d'alcool avec une concentration décroissante 100°, 80°, 50° pendant 2 min chacun.

Pour terminer les lames sont rincées d'eau du robinet pendant quelques secondes.

- **Coloration des coupes histologiques :**

Les lames sont immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 5 min, puis rincer à l'eau. Elles sont de nouveau trempées dans un autre bain d'éosine pendant 3 min et laver à l'eau distillé. La première coloration permet de colorer les noyaux alors que la seconde colore le cytoplasme en rose.

2 autres bains d'alcool à 95% et 100% pendant 1 min chacun va permettre d'enlever les résidus de colorant restants dans les lames.

- **Montage et lecture des lames**
- **Observation au microscope**

8. Électrophorèse capillaire

L'électrophorèse des protéines sériques est une technique effectuée à l'aide d'un automate SEBIA CAPILLARYS 2, son principe est l'estimation de chaque fraction en pourcentage.

L'électrophorèse capillaire est réalisée dans un tampon de pH = 10 et sous un voltage élevé plus de 6000 volts. Elle permet d'identifier et de séparer les protéines par la soumission à l'action d'un champ électrique, la migration de ces protéines est selon leur charge dont 6 fractions protéiques sont dosées au cours de l'électrophorèse : Albumine, Alpha-1, Alpha-2, Beta-1, Beta-2 et Gamma globuline. Ces différentes fractions permettent d'identifier et repérer des anomalies et notamment pour confirmer le diagnostic de certaines pathologies liées à un mauvais fonctionnement et à une altération des défenses immunitaire en particulier celle concernant l'immunité humorale.

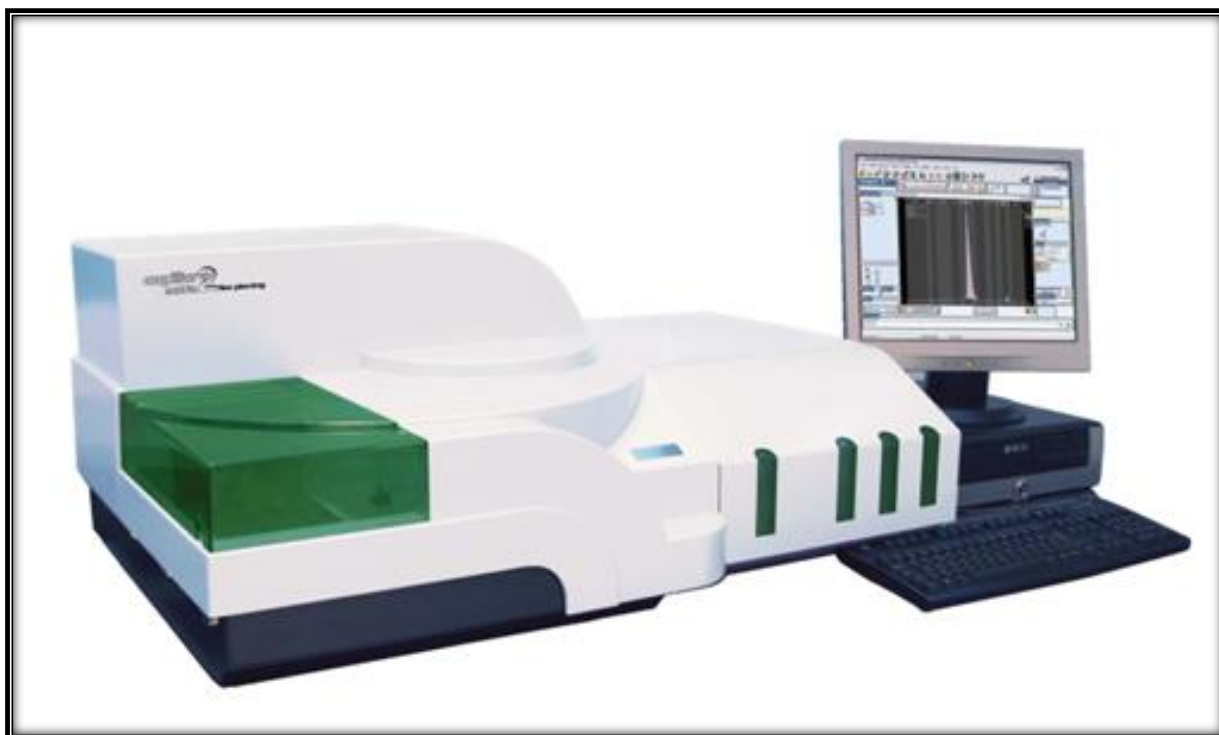


Figure 18 : Automate électrophorèse SEBIA CAPILLARYS 2.

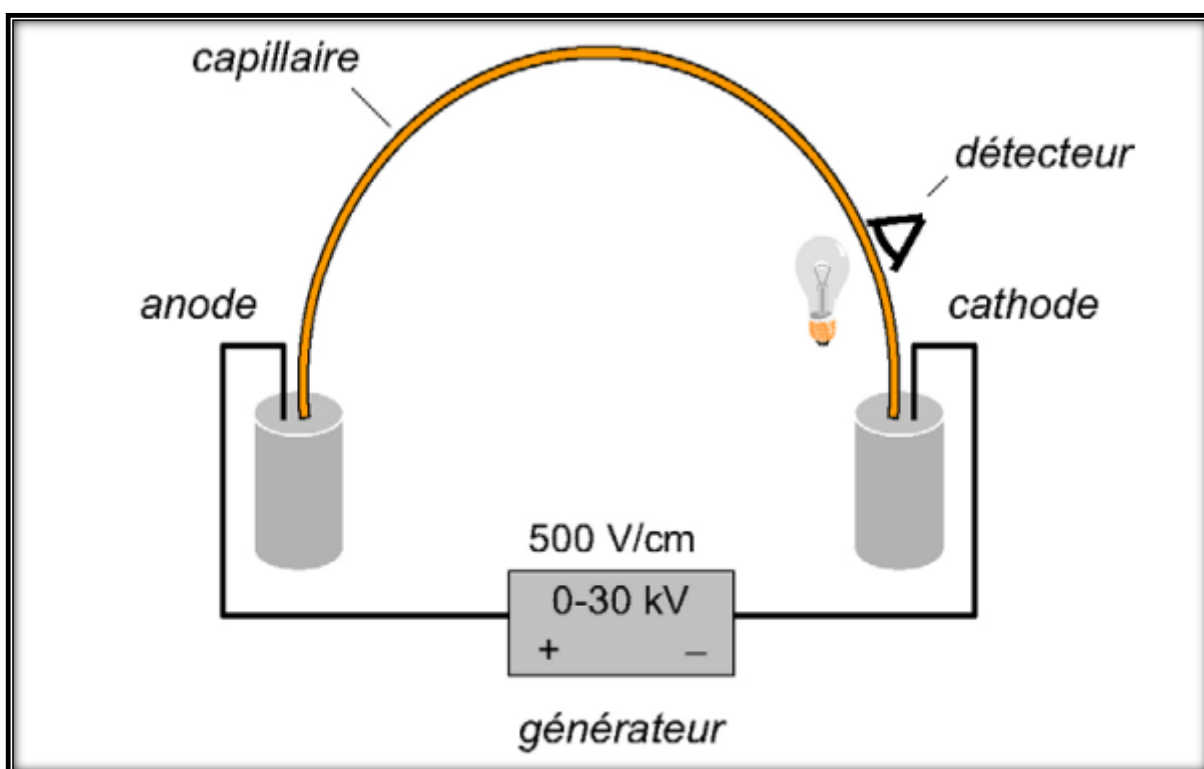


Figure 19 : Présentation schématique d'un appareillage d'électrophorèse capillaire (Cotton et al., 2006).

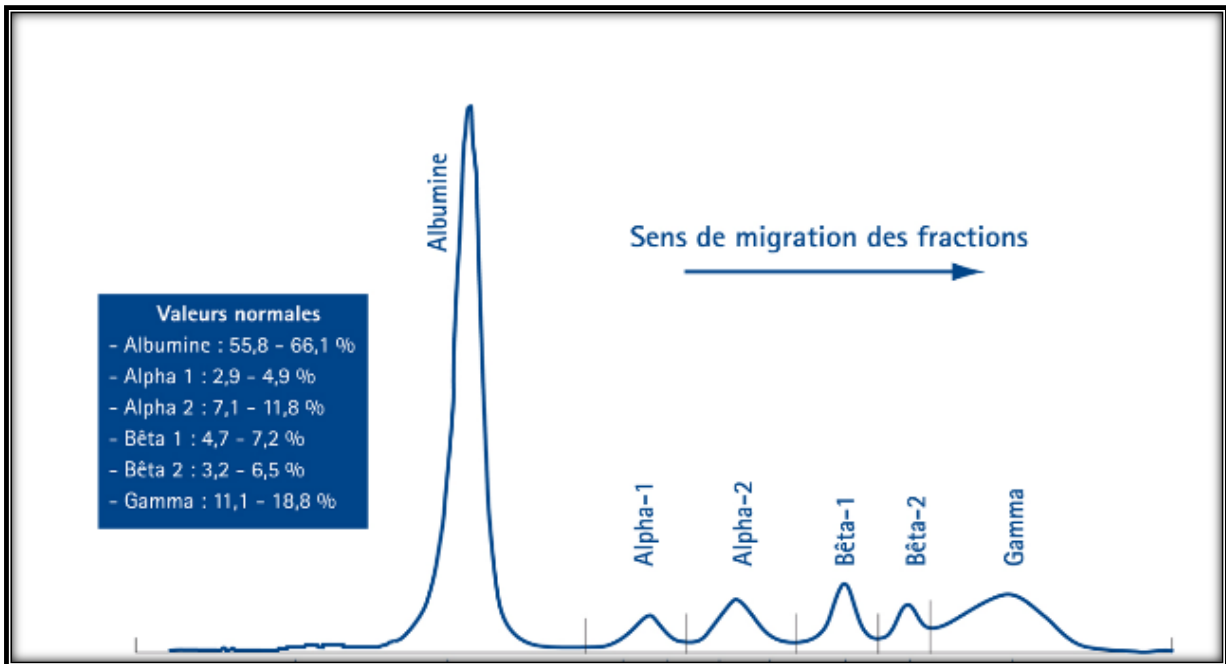
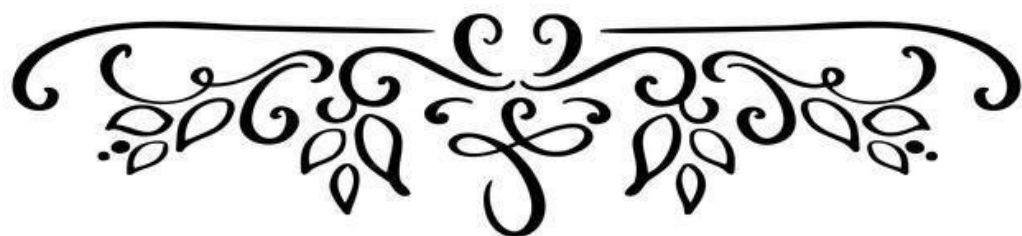


Figure 20 : Profil électrophorétique normal montrant les 6 fractions : l'albumine, la fraction Alpha-1, la fraction Alpha-2, la fraction Bêta 1, la fraction Bêta 2 et la fraction Gamma.



Résultats



1. Evaluation des résultats allergiques : test cutané

L'application de la farine d'arachide sur l'oreille de souris montre l'apparition des rougeurs témoignant le développement d'une réponse immunitaire dans les groupes immunisés par les différentes formes : farine complète, farine déshuilée et l'huile d'arachide.

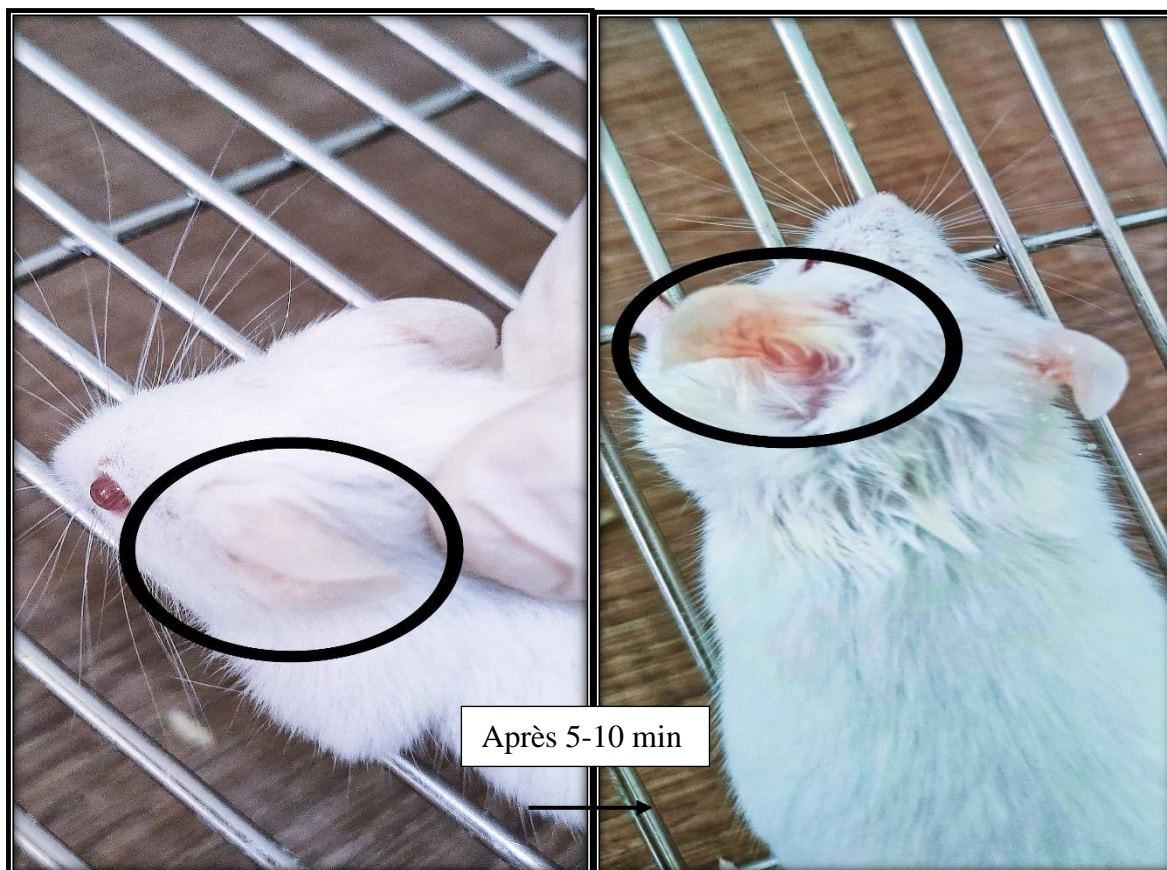


Figure 21 : Rougeurs au niveau de l'oreille suite à une stimulation à l'arachide (Prick test).

2. Les stades de la réaction allergique

2.1 Traitement par la farine d'arachide complète

Dès le premier jour les souris grattent autour de leurs nez et la tête (**stade 1**) pendant le premier 15 min et au fur et à mesure la durée de grattement s'augmente de 30 min jusqu'à 45 min avec l'apparition d'une poche autour des yeux (**stade 2**) plus le déclenchement d'éternuement. Les derniers jours de la sensibilisation (au bout du 4^{ème} jour) les souris commencent à perdre leur activité durant le dernier quart d'heure (**stade 4**).

2.2 Traitement par la farine dégraissée

Durant la semaine de la sensibilisation la majorité des souris perd leurs activités (**stade 4**) aucune activité n'est détectée après 15 min, parfois combiné par des grattements autour de la tête et le nez chez quelques souris (**stade 1**) mais la fréquence de grattement s'augmente après le 3^{ème} jour de la sensibilisation et l'apparition des rougeurs au niveau de l'oreille avec des éternuements répétés.

2.3 Traitement par l'huile d'arachide

Tout au long de la durée de sensibilisation, les souris atteintes directement le stade 4 : perte d'activité mais pendant les premiers jours de sensibilisation (jour 1, 2 et 4) le stade 1 se manifeste, des souris se grattent au niveau de la tête et le nez durant les 45 min.

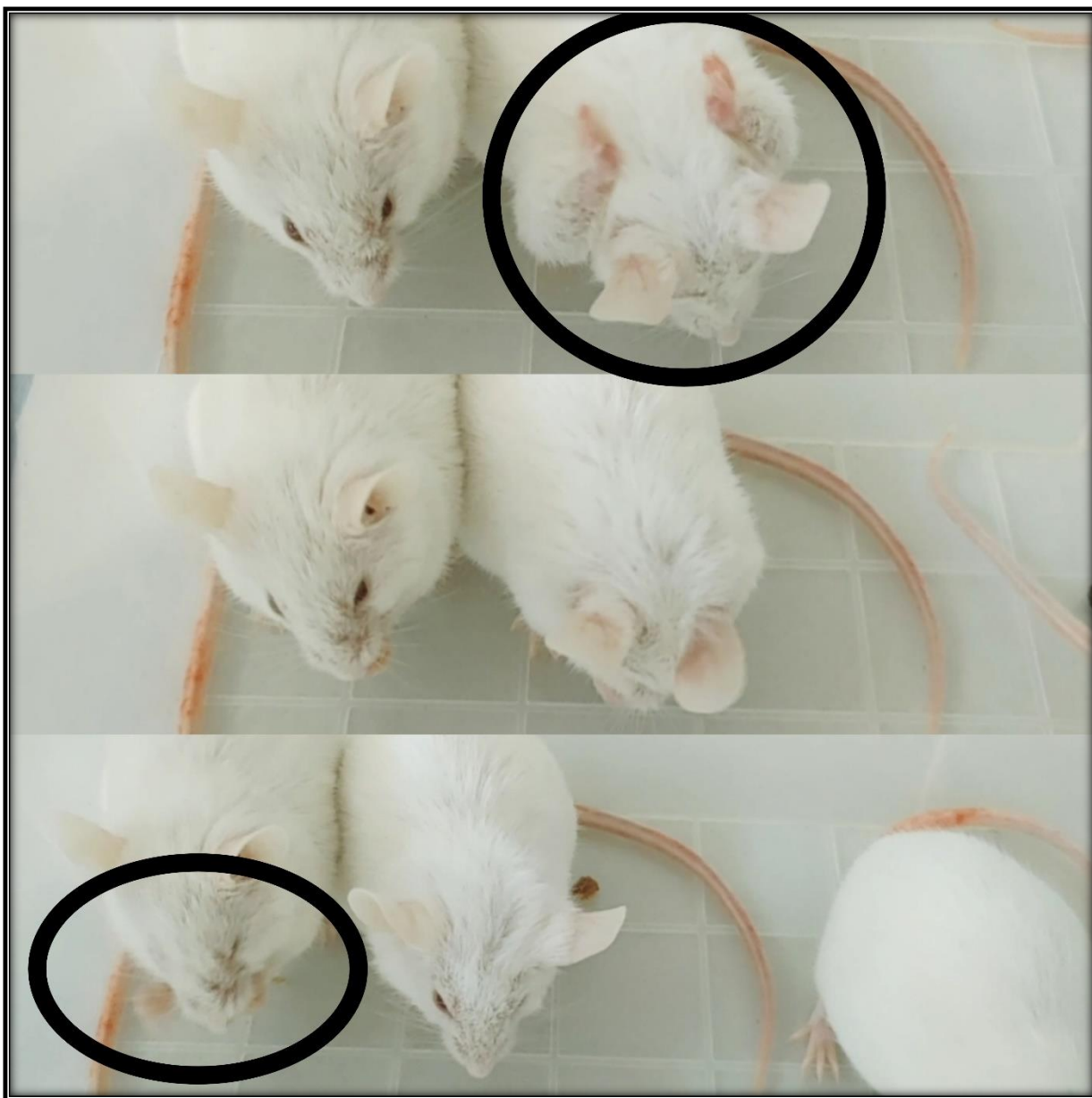


Figure 22 : Souris atteinte le stade 01 (Grattement autour du nez et la tête).



Figure 23 : Souris atteinte le stade 04 (Perte d'activité).

3. Profil électrophorétique des protéines sériques

3.1 Albumine sérique

Selon la (**figure 24**) les résultats montrent que le traitement avec les différentes fractions d'arachides entraîne une augmentation des taux d'Albumine dont la plus importante est celle d'arachide dégraissée (une augmentation de 8%) ainsi que l'administration d'arachide complet et l'huile présente une multiplication de 3% par rapport aux souris saines (lot contrôle).

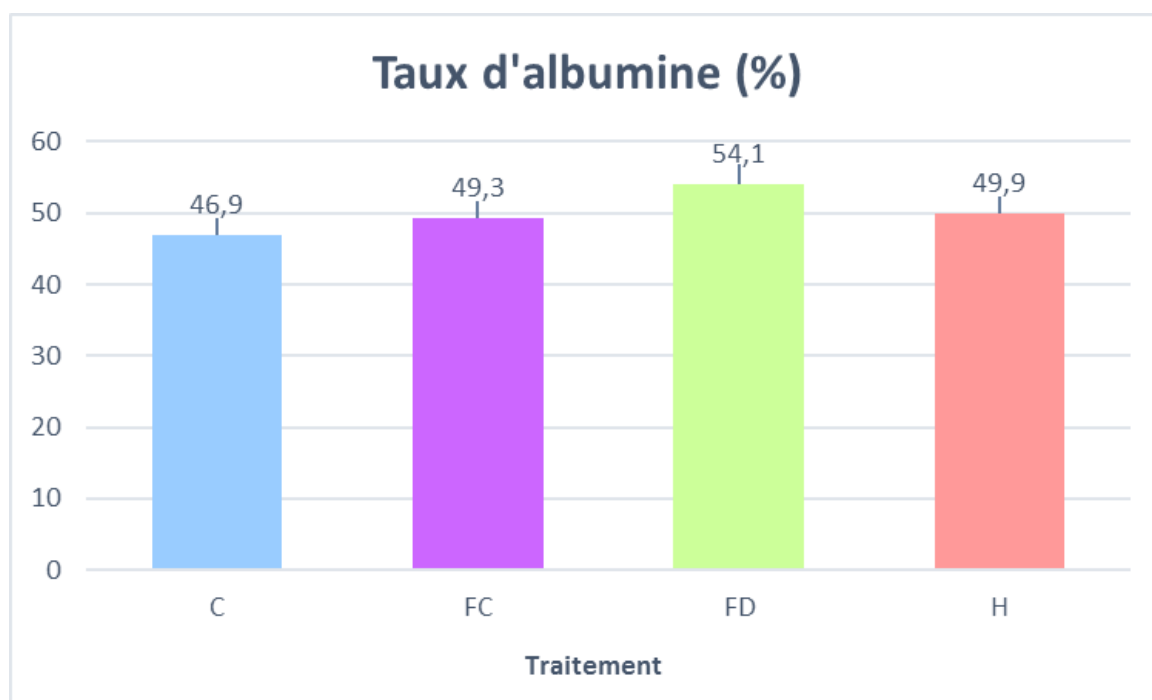


Figure 24 : Taux d'Albumine sérique des lots : C (Contrôle), FC (Farine complète), FD (Farine Dégraissée), H (Huile).

3.2 Fraction alpha-1

Les résultats (**figure 25**) montrent qu'il existe une élévation du taux alpha-1 dans les trois lots traités, le taux le plus marqué est celui de lot traité par la farine dégraissée.

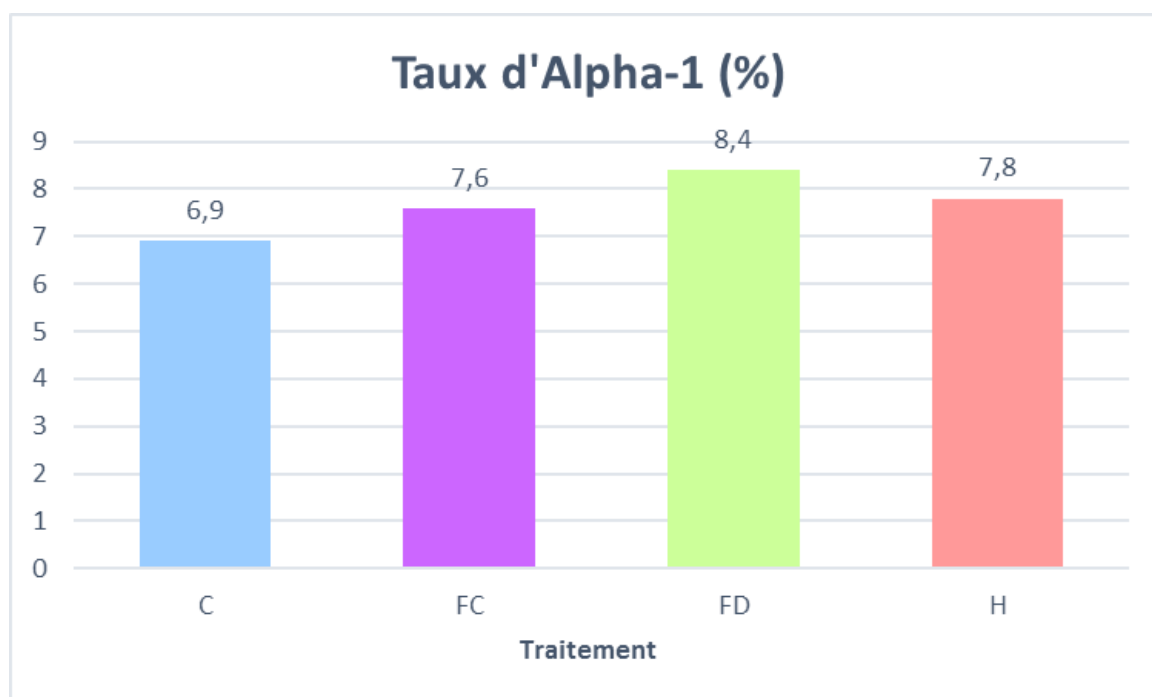


Figure 25 : Taux de la fraction alpha-1 des lots C (contrôle), FC (Farine complète), FD (Farine dégraissée) H (Huile).

3.3 Fraction alpha-2

Les résultats (**figure 26**) indiquent une diminution de la fraction alpha-2 dans les trois lots traités (une réduction de 1%) comparativement à celui du lot contrôle.

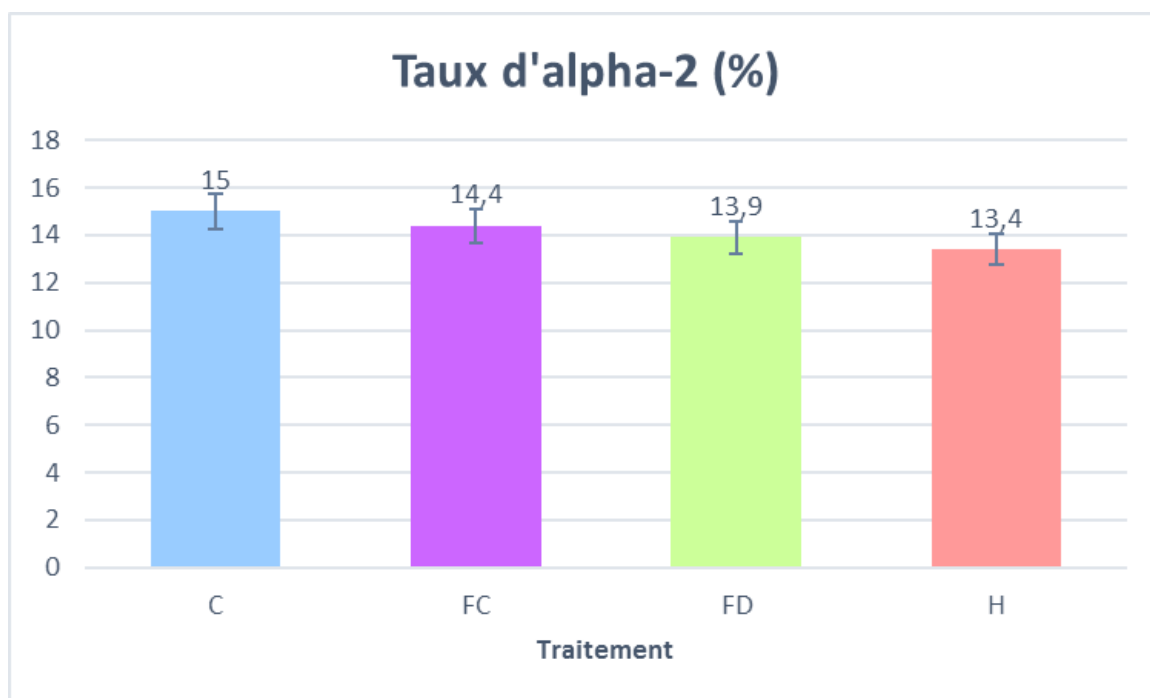


Figure 26 : Taux de la fraction alpha-2 des lots C (contrôle), FC (Farine complète), FD (Farine dégraissée) H (Huile).

3.4 Fraction beta-1

D'après les résultats (**figure 27**) la fraction beta-1 chez les souris traitées par les différentes fractions d'arachide est réduite (une réduction de 3%) comparativement au le lot contrôle.

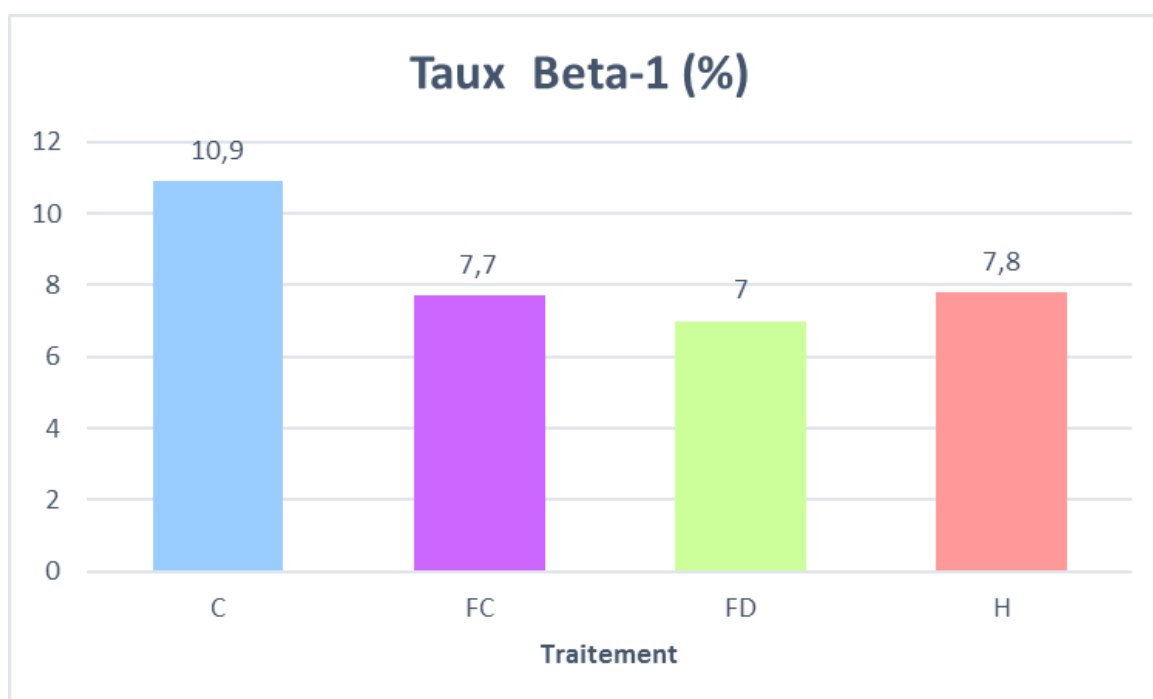


Figure 27 : Taux de la fraction beta-1 des lots C (contrôle) FC (Farine complète) FD (Farine dégraissée) H (Huile).

3.5 Fraction beta-2

Selon la (figure 28), les résultats révèlent une petite hausse de la fraction beta-2 chez les souris traitées par l'huile d'arachide (une élévation de 1%) proportionnellement au lot contrôle, d'autre part le lot traité par la farine d'arachide dégraissée présente une diminution de la fraction Beta-2, tandis que le lot traité par la farine complète est semblable au lot contrôle.

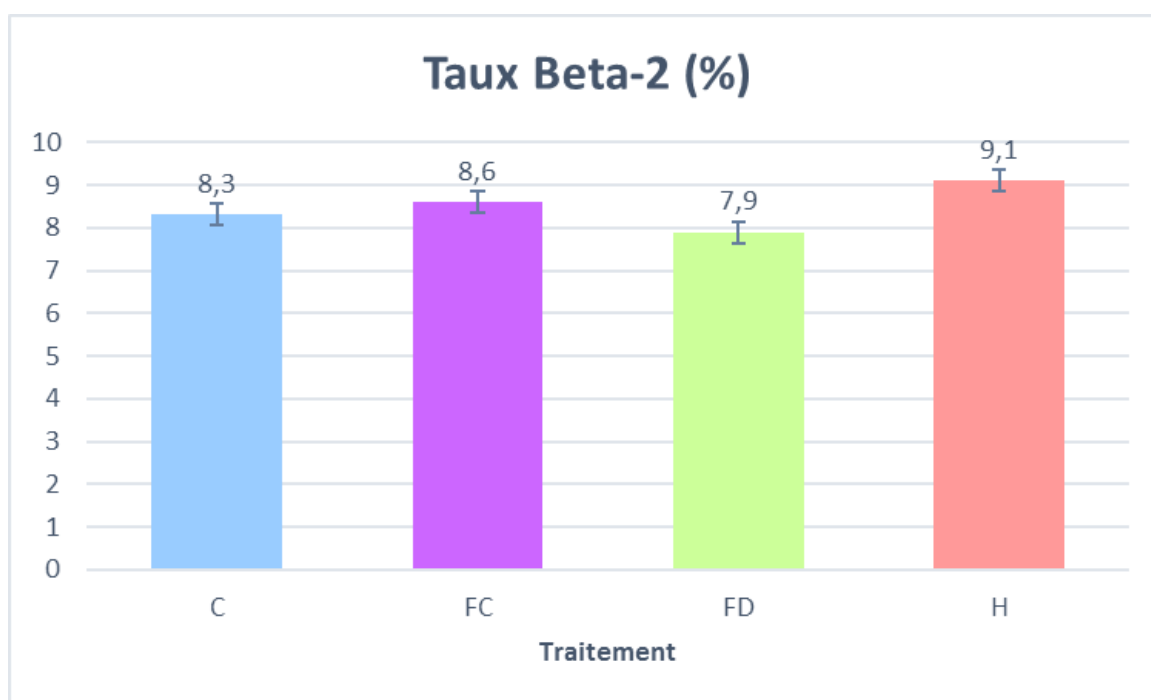


Figure 28 : Taux de la fraction Beta-2 des lots C (Contrôle), FC (Farine Complète), FD (Farine Dégraissée), H (Huile).

3.6 Fraction gamma globuline

Les résultats (**figure 29**) présentent un abaissement du taux de gamma globuline chez les souris traitées par l'arachide dégraissée (une diminution de 4%) contrairement aux deux autres lots (farine complète et huile) qui sont comparative au contrôle.

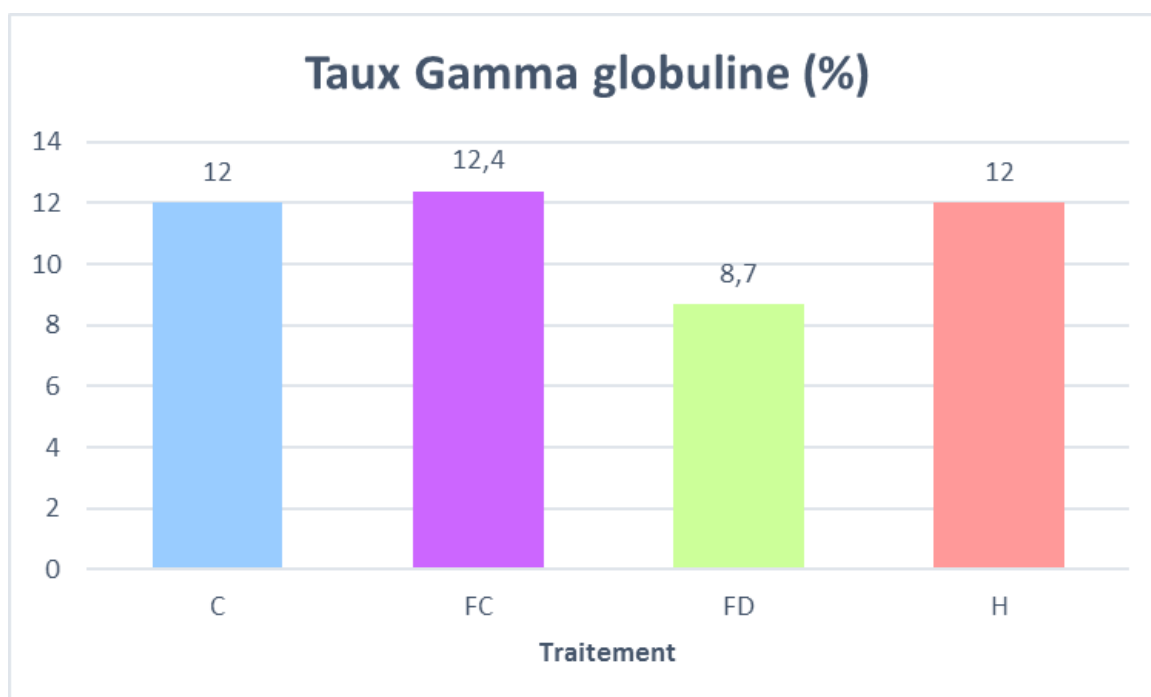


Figure 29 : Taux de la fraction gamma globuline des lots C (Contrôle), FC (Farine Complète), FD (Farine Dégraissée), H (Huile).

4. Etude de l'effet de traitement sur la structure des organes chez les souris atteintes d'une allergie alimentaire

4.1 Effet de la sensibilisation à l'arachide sur la structure intestinale

4.1.1 structure intestinale du lot contrôle

La coupe histologique de l'intestin chez une souris contrôle (**figure 30**) montrent une structure intestinale standard sans aucune lésion ou altération structurale, la figure présente les tissus intestinaux dont l'intestin est le lieu majeur de l'absorption des aliments, est l'organe d'où proviennent certaines allergies et intolérances alimentaires. Ces tissus se caractérisent par la présence des villosités, de la muqueuse intestinale, qui montre un épithélium unistratifié, constitué essentiellement par des cryptes et des glandes ainsi d'autres cellules intestinales : des cellules caliciformes et des entérocytes ... etc. Dont la surface la plus efficace c'est les villosités, le lieu de l'absorption des nutriments.

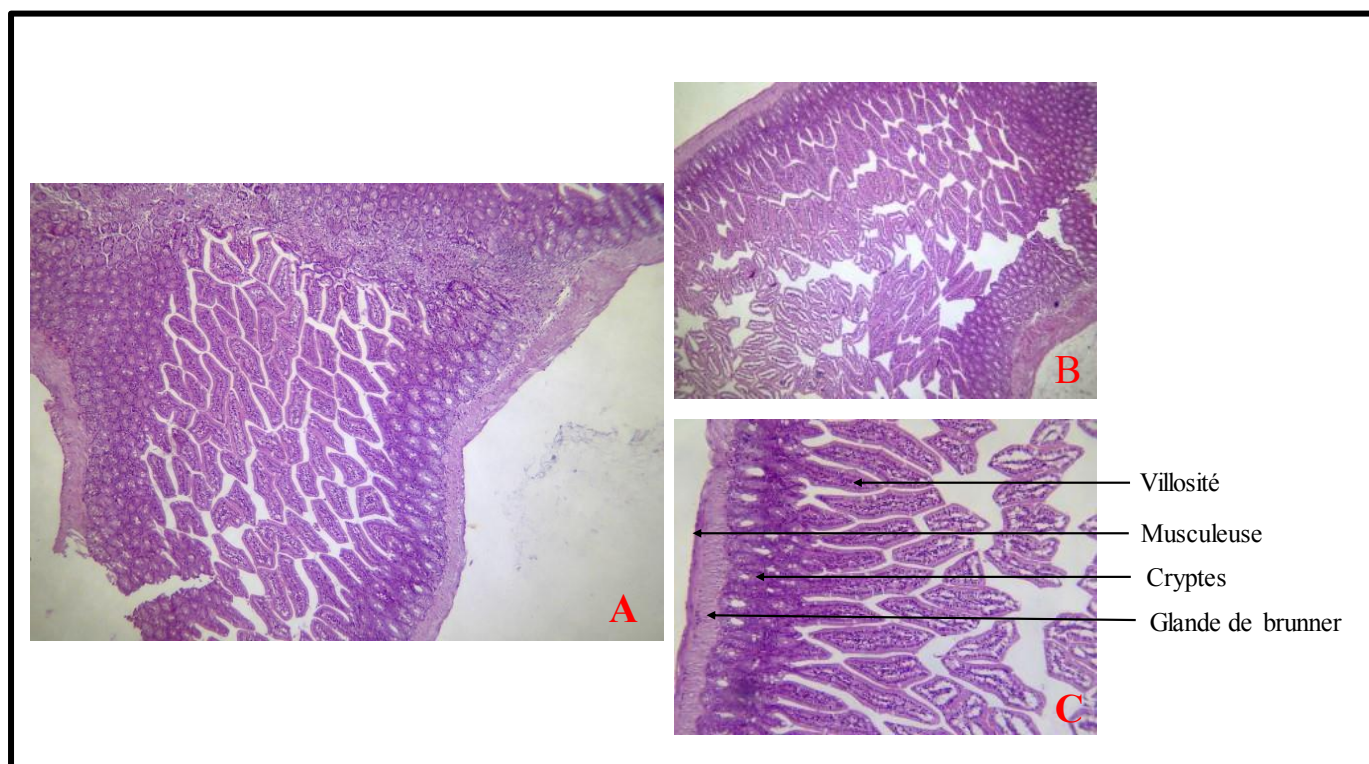


Figure 30 : coupe histologique de tissu de l'intestin chez les souris du lot contrôle. A et B : Gx40, C : Gx100.

4.1.2 Structure intestinale des lots traités

Selon (**la figure 31**), on observe les villosités sont élargies et dentelées avec des lésions. Elles sont bordées par un épithélium unistratifié et en effet on remarque une hyperplasie des cryptes ainsi qu'une atrophie villositaire dans les lots traités avec la farine complète et l'huile d'arachide comparativement au lot traité par la farine dégraissée ou les villosités apparaissent longues et très fine (contrairement à celle observé chez les souris contrôle).

On note aussi une diminution significative de la hauteur des villosités chez les souris traitées par l'huile d'arachide et la farine complète en comparaison avec les souris témoins.

Alors nos résultats suggèrent que la sensibilisation à l'arachide dans nos conditions expérimentales provoque une altération de la muqueuse qui se traduit par la modification de la structure de l'épithélium intestinal.

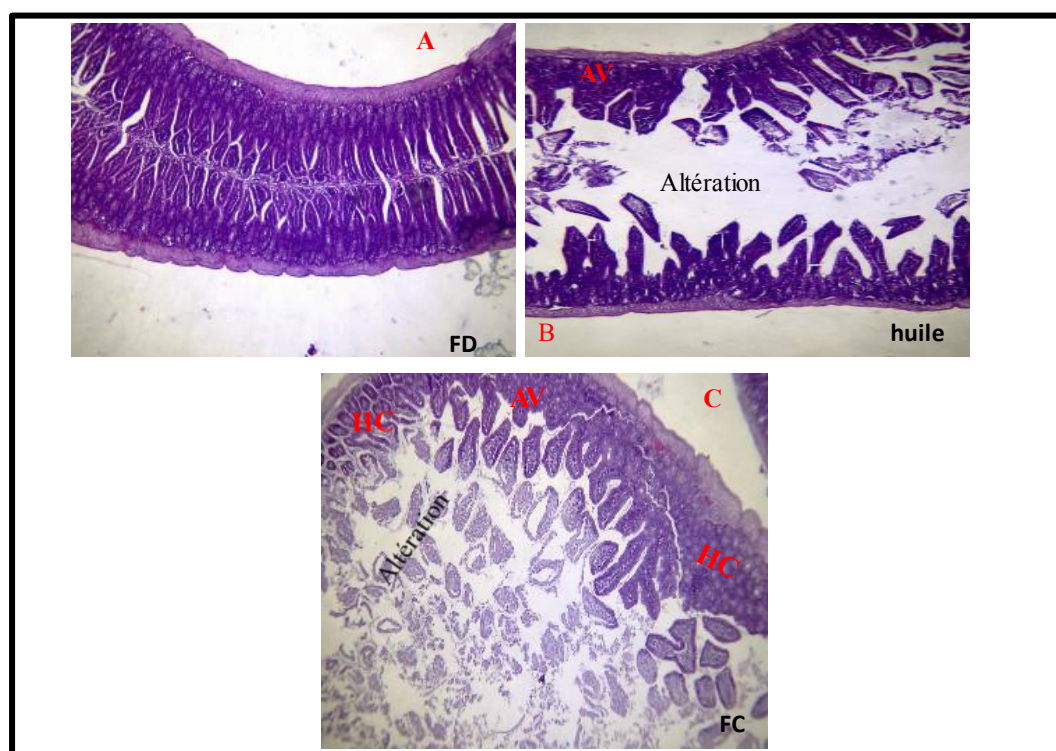


Figure 31 : Coupe histologique des tissus de l'intestin chez les souris traitées. FD farine dégraissée, FC : farine complète, A, B et C : Gx40.

HC : Hyperplasie des cryptes.

AV : Atrophie villositaire.

4.2 Effet de la sensibilisation à l'arachide sur la structure hépatique

4.2.1 Structure hépatique du lot contrôle

Selon la (la **figure 32**) on observe une structure des tissus hépatiques standard sans aucune altération. La veine porte de taille normale et les sinusoides sont visible et également de taille normale.

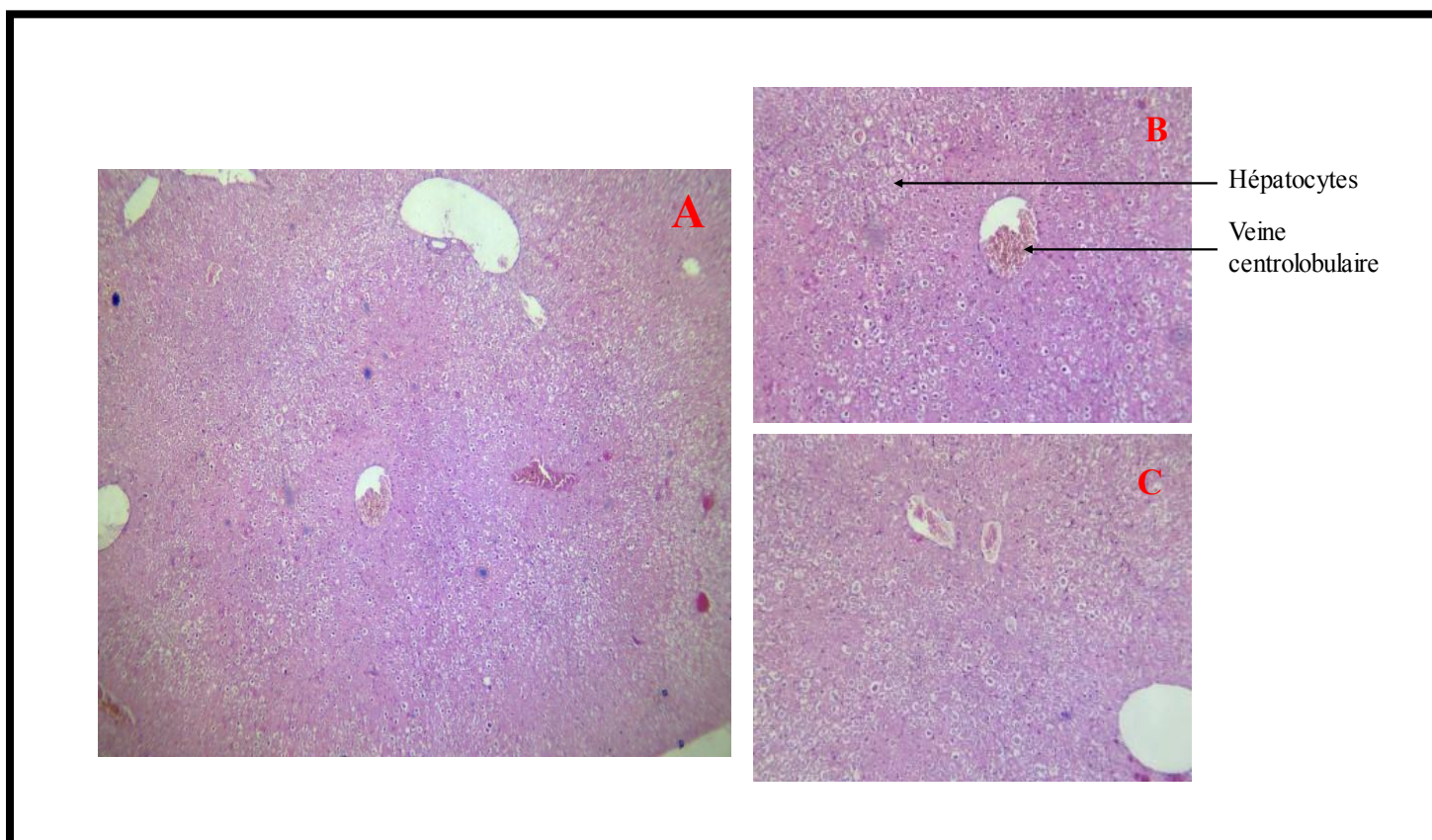


Figure 32 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris du lot contrôle. A : Gx40, B et C : Gx100.

4.2.2 Structure hépatique des lots traités

L'observation microscopique des coupes histologiques (**figure 33, 34, 35**) chez les souris traitées révèle des altérations et une nécrose cellulaire. On note également la présence de la stéatose (**figure 34**), quelques infiltrats inflammatoire (**figure 33**) ainsi l'apparition de la veine rétréci (**figure 34, 35**).

Une nécrose cellulaire modérée est caractérisée par la présence de noyau pycnotiques et vacuolisation des hépatocytes.

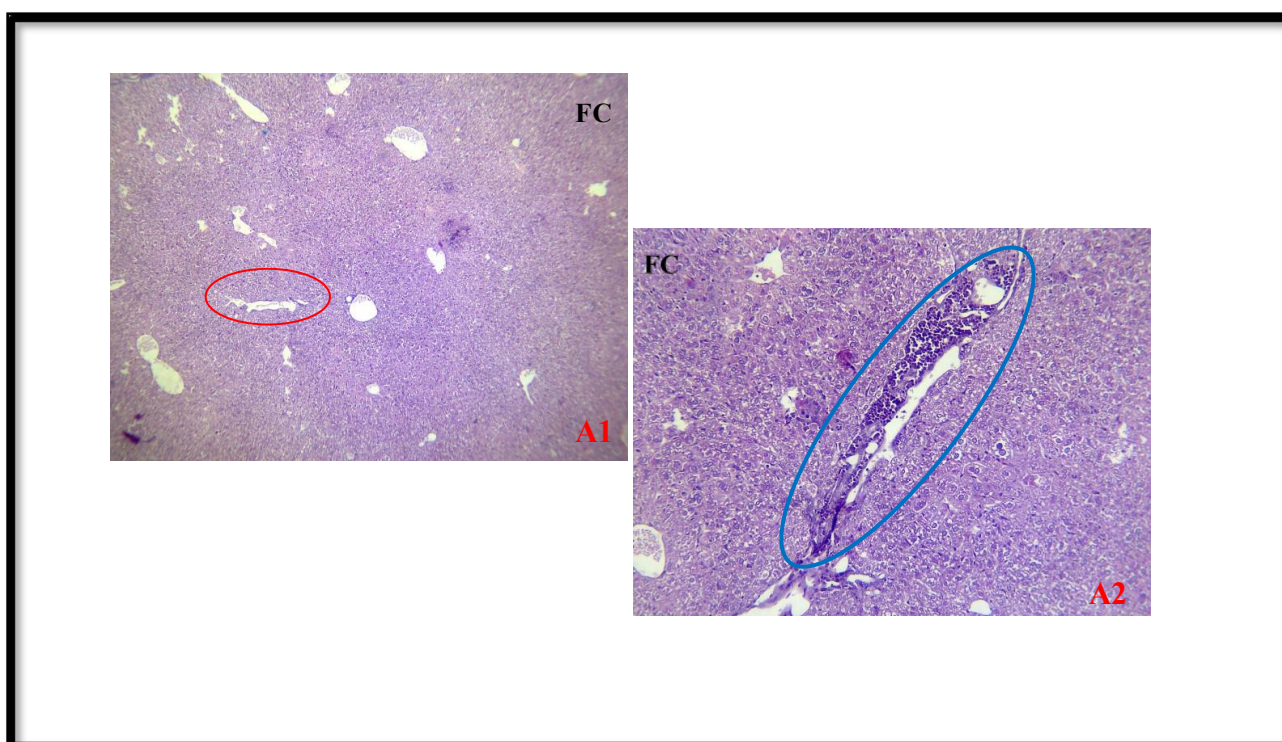


Figure 33 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris traitées par la farine d'arachide complète. A1 : Gx40, A2 : Gx100

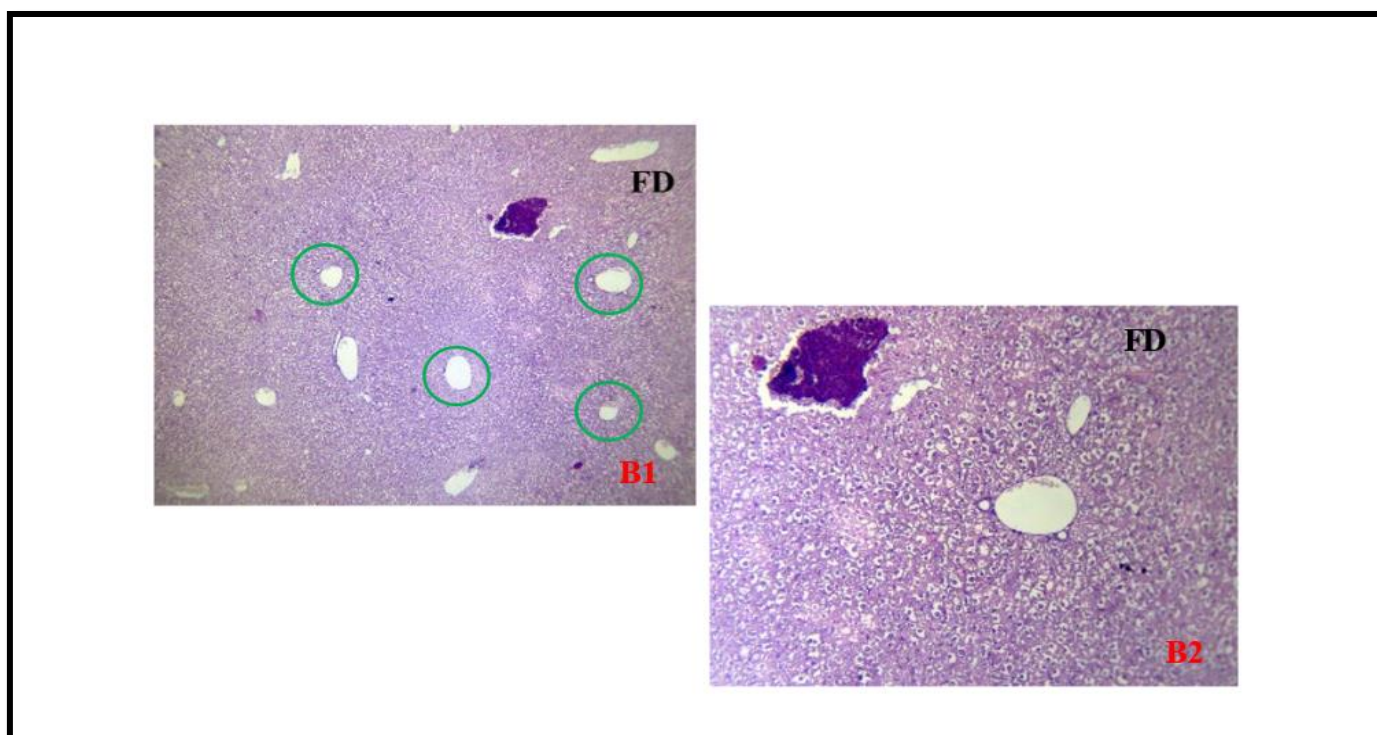


Figure 34 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris traitées par la farine dégraissée. B1 : Gx40, B2 : Gx100.

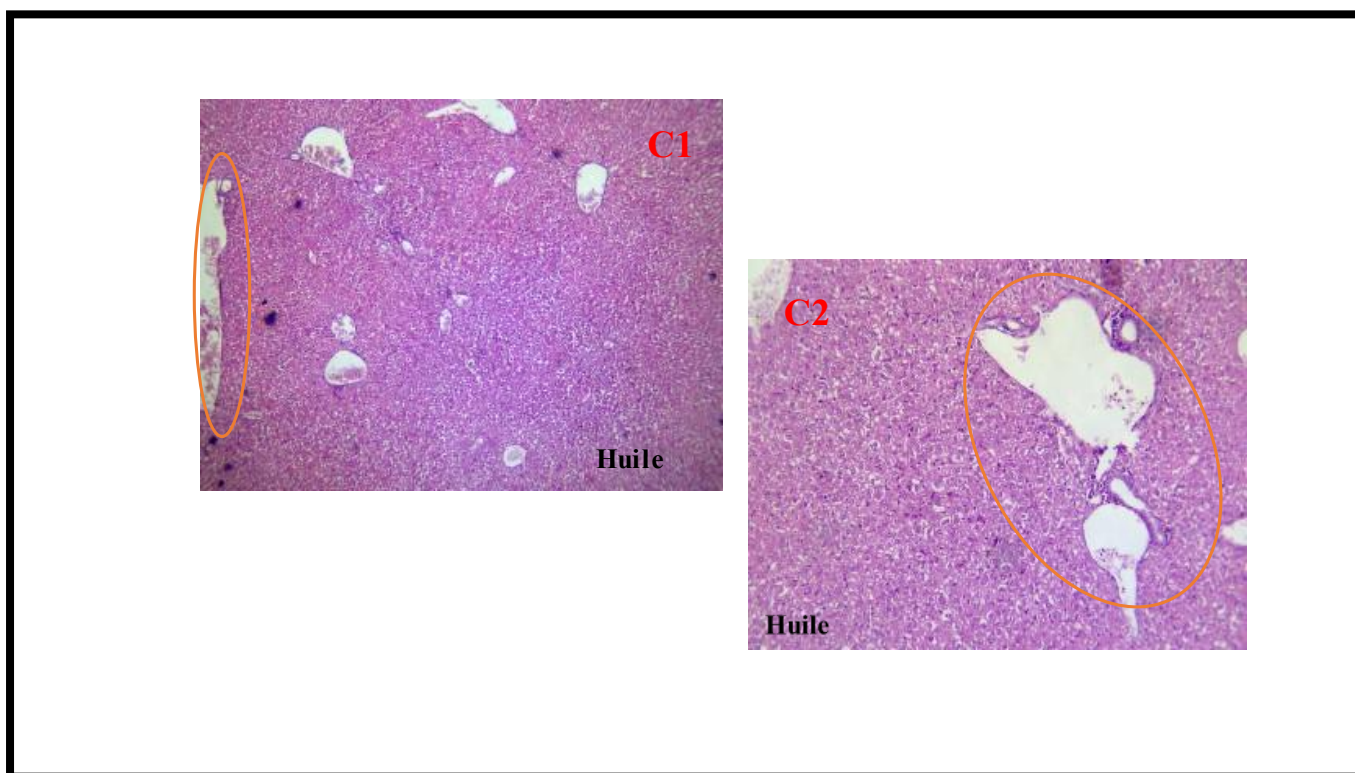
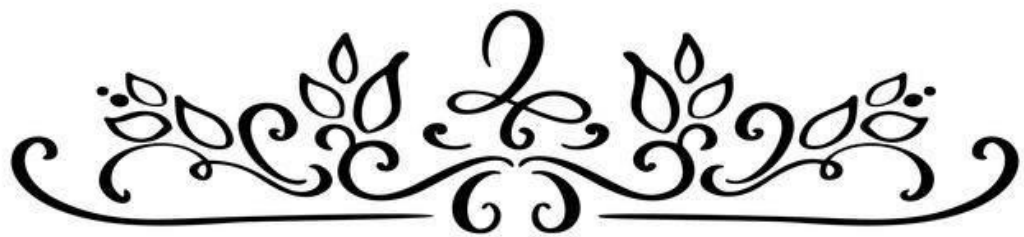
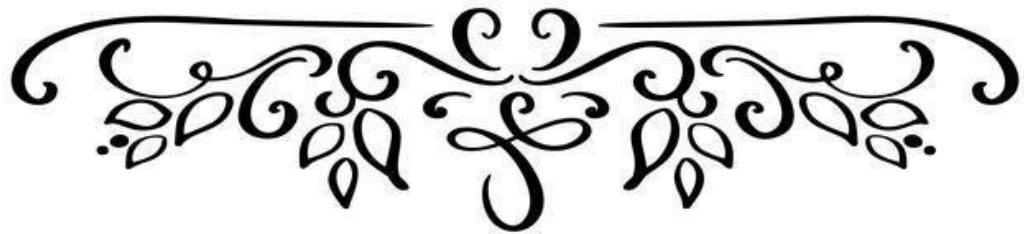


Figure 35 : coupe histologique des tissus hépatiques chez les souris traitées par l'huile d'arachide. C1 : Gx40, C2 : Gx100.



Discussion



Ce travail a été entrepris dans le but de comparer l'effet allergisant pour les trois types d'arachide, complet, dégraissé et l'huile d'arachide. Pour cela, nous avons immunisé des souris BALB/c par l'arachide (**Dearman et Kimber., 2001**) (**Chen et al., 2013**). Une sensibilisation par trois types d'allergène (arachide) par voie orale, ces protéines représentent des allergènes communs et très réponsus (**Melissa et al., 2018**).

Dans notre travail, nous avons utilisé des souris femelles BALB/c, une souche forte productrice des taux élevés d'IgE et imite le phénotype atopique humaine qui fait d'elle un moyen intéressant pour étudier la phase de sensibilisation aux allergènes (**Dearman et Kimber., 2001**).

1. Effet de l'arachide sur les souris sensibilisées

Lors d'un deuxième contact direct de l'arachide avec la couche superficielle de l'oreille des souris, afin de démontrer la présence des IgE fixés sur les cellules effectrices en particulier les mastocytes ce qui provoque leur pontage et la libération des médiateurs vasoactifs dont le principal est l'histamine. La libération de contenu mastocytaire entraîne une réaction locale, s'en suivent une réaction inflammatoire et la survenue des manifestations de l'allergie alimentaire notamment des petites papules rougeâtres, des picotements et le fait de gratter peut mener à l'urticaire (**Karleskind et Brigitte., 2016**).

2. Les stades de la réaction allergique

Cette partie a pour objectif d'étudier et d'évaluer l'effet allergique de l'arachide sous ses différentes formes chez des souris préalablement immunisées et traitées par les trois types d'arachide : complet, dégraissé et l'huile d'arachide.

Dans cette étude, l'observation des symptômes dus à l'ingestion de l'arachide correspond à une réponse allergique positive, dès le premier jour de la provocation, les souris atteintes le stade 1 concernant les lots qui ont reçu la farine d'arachide complète et dégraissée par contre le lot qui a reçu l'huile d'arachide atteint le stade 4 au premier jour de la stimulation. En effet l'arachide complet, dégraissé ainsi l'huile d'arachide présente une petite différenciation d'homologie. Récemment les chercheurs ont confirmé la responsabilité de l'huile d'arachide de provoqué une allergie vue qu'il était admis que l'huile ne contenait pas de protéine allergénique

(**mentis et al.,2009**) ainsi que les protéines d'arachide ont une grande capacité de se lier aux IgE ce qui entraîne une réaction allergique chez la majorité des souris (**Lucie., 2005**).

De ceci, nos résultats montrent que l'introduction de l'arachide représente une évolution rapide de la réaction allergique chez les souris traitées et ces animaux passe du premier stade au dernier stade allergique. D'une façon générale, les protéines d'arachide ont un potentiel allergisant très fort et peuvent même présenter des symptômes sévères (**Just et al., 2015**).

3. Effet de l'allergie aux arachides sur le profil électrophorétique

L'analyse de l'électrophorèse montre quelques changements dans les diverses fractions des protéines sériques dont l'huile et la farine d'arachide complète ont l'effet le plus important.

L'albumine est une protéine d'origine hépatique, c'est la plus importante dans l'ensemble des protéines plasmatiques dont ses principaux rôles physiologiques : le pouvoir osmotique, une fonction de réserve d'aide aminés et une fonction de transporteur (Calcium, acide gras, bilirubine, médicaments, ions métallique, vitamines et certaines hormones). L'albumine quitte le plasma à un rythme de 5 g/l et retourne dans le compartiment vasculaire par le système lymphatique et elle est dégradée dans le muscle, le foie et les reins ; ce qui assure en permanence le maintien de l'homéostasie (**Tamion., 2010**). Nos résultats prouvent que la sensibilité aux arachides chez les souris affecte les fractions sériques et par conséquent la production hépatique de l'albumine. Néanmoins, le traitement des souris avec les différents types d'allergènes (l'arachide) entraîne une augmentation des taux d'albumine sériques chez les souris dans les trois lots : farine complète, dégraissée et l'huile d'arachide. Cette élévation peut être expliquée par des lésions au niveau du foie, en revanche l'albumine est une protéine synthétisée par les hépatocytes, ce qui provoque effectivement l'augmentation de l'albumine, de nombreuses publications rapportent que l'albumine dépend principalement le bon fonctionnement du foie, de la qualité de l'alimentation et de l'absorption intestinale et du bon fonctionnement des reins. Toutefois en cas de dysfonctionnement hépatique, on observe donc un déficit de cette protéine dans le sang (**Ballmer., 2001**).

Durant la sensibilisation à l'arachide, nos résultats montrent également que le profil électrophorétique des quatre fractions alpha-1, alpha-2, bêta-2 et la gamma globuline ont été affecté chez les souris traitées.

Cependant, il s'avère que le traitement avec la farine d'arachide complète, dégraissée et l'huile d'arachide provoque une augmentation des taux α -1, α -2, β -2 et γ globuline, ces protéines sériques sont des protéines globulaires appartiennent de la même famille et chacun de ses éléments joue un rôle spécifique. Dans ce cas le taux d' α -1 et α -2 globulines anormalement élevé est relié à un phénomène inflammatoire, il peut s'agir d'une inflammation passagère ou d'une maladie inflammatoire chronique et cette étude est décrite par **Szymanowicz et al., 2006** qui démontre que l'augmentation du taux α -1 se rencontre essentiellement dans le syndrome inflammatoire en association avec une élévation des α -2 globulines. Ainsi la manifestation des gamma globulines avec des taux élevés est associées aux beta-2 globulines qui peut être à des inflammations massifs ou à des cholestases biliaires intra- ou extra-hépatique hépatique (**Szymanowicz et al., 2006**) ce qui entraîne l'augmentation de ces deux fractions.

D'autre part les résultats montrent une diminution de la fraction beta-1 globuline, peut notamment révéler une insuffisance hépatocellulaire due à des lésions au niveau du foie chez les souris sensibilisées (**Roland., 2006**).

4. Observation des coupes histologiques

4.1 Effet de la sensibilisation à l'arachide sur les structures intestinales et hépatiques

Tout d'abord, l'allergie à l'arachide est une entéropathie immunologiquement médiée causé par une sensibilité permanente à l'arachide, autrement dit c'est une hypersensibilité digestive avec une réponse immunitaire inappropriée aux arachides.

Les observations des coupes histologiques des lots traités (exposés aux protéines d'arachide) ont démontré des altérations et des lésions au niveau de l'intestin et le foie.

Au niveau intestinal :

L'analyse des fragments de l'intestin permet d'évaluer l'effet des allergènes sensibilisants (l'arachide) sur les altérations tissulaires. Nos résultats présentent que chez les groupes des souris sensibilisées par la farine complète et l'huile d'arachide une diminution significative de la hauteur villositaire qui se traduit par la présence d'une atrophie villositaire ou une hyperplasie des cryptes. Les mêmes effets ont été observé par (**Guendouz et al., 2017**).

D'après les chercheurs, les altérations au niveau de l'épithélium intestinal ainsi que la muqueuse ont un effet profond, nos résultats confirment cet effet d'une part et d'autre part le pouvoir immunogène élevé des protéines d'arachide et que ces animaux présentent un degré des sensibilisations à l'arachide (**Negaoui et al., 2009**).

Il est actuellement prouvé que les allergies alimentaires IgE-dépendante affectent un ou plusieurs organes tels que la peau, les voies respiratoires, le tube digestif et le système cardiovasculaire (**Sicherer et Sampson., 2014**).

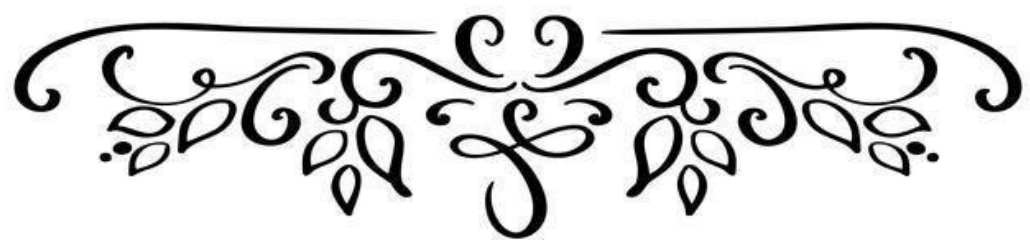
Au niveau hépatique

Nous avons montré que la sensibilisation aux arachides entraîne des modifications histologiques au niveau du foie. Ces changements se manifestent principalement par la dégénérescence cellulaire selon (**Morsiani et al., 2019**) et le premier signe de dégénérescence du foie est la suraccumulation de triglycéride qui entraîne la formation de petits ou gros globules gras dans le foie, provoquant ainsi une stéatose hépatique, souvent caractérisée par un processus de vieillissement du foie (**Gong et al., 2017**). Le développement de la stéatose-hépatite se favorise lorsque de grosses vacuoles fusionnent et causent des dommages irréversibles (**Yu et al., 2018**).

Récemment, (**Trinchese et al., 2018**) ont montré que la sensibilisation aux arachides, un puissant trophallergène entraîne des modifications des propriétés biochimiques du foie et selon les auteurs, ce changement se traduit par l'augmentation du taux des radicaux libres.



Conclusion et Perspectives



L'allergie notamment celle à l'arachide, comme il en est communément fait référence, correspond à la conséquence d'une réponse anormale, exagérée et spécifique de l'organisme lors du contact répété avec un allergène. Elle représente un réel problème de santé publique en affectant une part de plus en plus importante de la population mondiale. En réponse à cette inquiétude les chercheurs se sont mobilisés pour étudier ce phénomène.

Dans ce présent travail, notre étude a permis d'évaluer l'effet allergique de l'arachide et ses différentes fractions : farine d'arachide complète, dégraissée et l'huile d'arachide.

D'après nos résultats, nous avons démontrés que toutes les fractions de d'arachide provoquent une réaction allergique, ce qui prouve que toutes les fractions de l'arachide contiennent des molécules allergisantes, néanmoins la farine complète et l'huile d'arachide ont un potentiel plus important que la farine dégraissée.

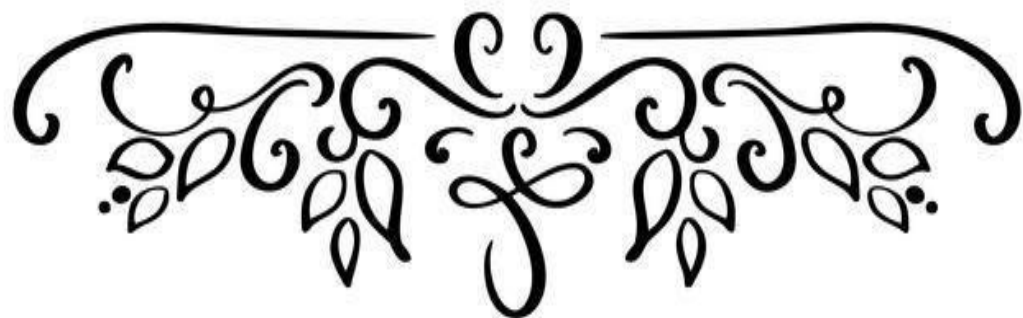
Ces résultats nous ouvrent la perspective d'aller plus loin dans des études élargis afin de mieux comprendre ce phénomène :

- Étude de l'effet antioxydant de l'huile d'arachide
- Allergie à l'arachide : de la nutrition vers l'immunothérapie, tester un protocole d'immunothérapie orale par l'arachide chez des sujets allergiques
- Étude biochimique de la structure des protéines d'arachides
- Etude des allergènes protéiques et lipidique contenus dans les différentes fractions
- Dosage d'autres paramètres immunologiques tels que les cytokines impliquées dans la réaction allergiques à l'arachide.



Références

bibliographiques



Référence bibliographique

Abbas. AK, Lichtman. AH., and Pillai S. (2007). Immediate hypersensitivity. *In Cellular and Molecular Immunology, Saunders*,441–461.

Agnihotri.NT.,McGrath. KG. (2019). Allergic and non-allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc*, 40,376–379.

Acharya. M., et al. (2010). CD23/FcεRII molecular multitasking. *Clin. Exp. Immunol*, 162, 12–23.

Ashraf uzzaman.,Seong.H. (2012). Classification of hypersensitivity reaction. *Allergy asthma proc*, 96-99.

Albert.C.M., Gaziano. J.M., Willett. W.C and Manson. J.A. (2002). Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death. *In the physician's Health study archives of Internal medicine*, 162-1382.

Averty. E. (2017). Allergies alimentaires chez l'enfant. Fiches conseils destinées au pharmacien d'officine, Nantes, université de Nantes, thèse doctorat, 50-51.

Bertrand Evrard. (2020). Physiopathologie de l'allergie IgE-dépendante. *Revue francophone des laboratoires. Elsevier Masson SAS*, 21-30.

Boniface. S., Magnon. A. (2022). Physiopathologie de la réaction IgE-dépendante dans l'allergie respiratoire. *Revue de pneumologie clinique*, 77-83.

Baldo. B. A., Pham. N. H. (2013). Mechanisms of Hypersensitivity. *Drug Allergy*, 87-742.

Boettcher. E., Crowe. SE. (2013). Dietary proteins and functional gastrointestinal disorders. *Am J Gastroenterol*, (108), 728-36.

Bock. SA., Munoz-Furlong. A., Sampson. HA. (2007). Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food. *J Allergy ClinImmunol*, (8), 119-1016.

Burks. AW. (2008). Peanut allergy. *The Lancet*, 371(23), 1538-46.

Bouquelet. S. (2016). Protéines alimentaires. Lille, Université des Sciences et Technologies de Lille, cours 5-17.

Bentenni. A. (2013). Caractérisation détection et aspects législatifs dans le cadre alimentaire. *Allergy clin*, 02-03.

- Ballmer. PE. (2001).** Causes and mechanisms of Albumine. *ClinNutr*, (20), 271–3.
- Carr. TF., and Saltoun. CA. (2012).** Urticaria and angioedema. *Allergy Asthma Proc*, (33), 70–72.
- Chinen. J., Fleisher. TA., and Shearer. WT. (2009).** The Immune system. *An overview. In Middleton's Allergy Principles & Practice*, 3–17.
- Cotton. F., Vertongen. F., Gulbis. B., (2006).** Stratégie d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique Électrophorèse capillaire et hémoglobinopathies. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée Elsevier*, (21), 45-50.
- Chen. K., Xiang. Y., Yao. X., et al. (2011).** The active contribution of Toll like receptors to allergic airway inflammation. *IntImmunopharmacol*, 11(10), 1391-8.
- Chow. TG., Gill. MA. (2020).** Regulation of allergic inflammation by dendritic cells. *CurrOpin Allergy ClinImmunol*, 20(1), 56-63.
- Church. MK. (2017).** Allergy Histamine and Antihistamines. *HandbExpPharmacol*, 241, 321-31.
- Carine. D., Sebastien. L.V., Ambroise. M. (2002).** Allergie alimentaire état de lieu et proposition d'orientation. *AFSSA*, 8, 18-22.
- Chen. C., Sun. N., Li. Y., Jia X. (2013)** A BALB/c mouse model for assessing the potential Allergenicity of proteins: Comparison of allergen dose, sensitization frequency. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 41–47.
- Dullaers. M., et al. (2012).** The who, where, and when of IgE in allergic airway disease. *J. Allergy Clin. Immunol*, 129,635–645.
- Ditto.AM, Grammer. LC., Williams. (2009).** Drug Allergy classification dor clinical hypersensitivity. *In clinical aspect of Immunology*, 238-275.
- Dearman. R.J., Kimber. I. (2001)** Determination of protein allergenicity studies in mice. *Toxicol Lett*, 120:181–6.
- Finkelman., Fred. D., Khodoun., Marat. V., Strait., Richard. (2016).** IgE-independent systemic anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical. Immunology Human*, 02-15.

Gould. H. J., Sutton. B. J. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nature Rev Immunol*, 8, 205–217.

Gaudenzio. N., et al. (2016). Different activation signals induce distinct mast cell degranulation strategies. *J Clin Invest*, 126 (10), 3981–98.

Greenhawt. M., Schultz. F., DunnGalvin. A. (2016). validated index to measure health-related quality of life in patients with food protein-induced enterocolitis syndrome. *J AllergyClinImmunol*, 137(4), 125-253.

Giovanna. T., Lorella. P., Rosita. A., Carmela. F., Michela. V., Rita. N., Maria. P. M., Roberto. B. C. (2018). Hepatic Mitochondrial Dysfunction and Immune Response in a Murine Model of Peanut Allergy. *In clinical aspect of Immunology*, (744), 10-3390.

Griel. A.E., Eissenstat. B., Juturu.V.,Hsieh.G., And Kris-Etherton. P.M.(2004). Improved diet quality with peanut consumption. *Journal of the American College of Nutrition*, (23), 660-668.

Gould. HJ., Sutton. BJ. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol*, 8(3), 205-17.

Guendouz. M., Haddi. A., Grar. H., Kheroua. O., Saidi D., Kaddouri H.(2017). Preventive effects of royal jelly against anaphylactic response in a murine model of cow's milk allergy. *Pharm Biol*, 55, 2145-52.

Gould. HJ., Sutton. BJ. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol*, 8(3), 205-17.

Guendouz. M., Haddi. A., Grar. H., Kheroua. O., Saidi D., Kaddouri H.(2017). Preventive effects of royal jelly against anaphylactic response in a murine model of cow's milk allergy. *Pharm Biol*, 55, 2145-52.

Gong. Z., Tas. E., Yakar. S., Muzumdar. R. (2017). Hepatic lipid metabolism and nonalcoholic fatty liver disease in aging. *Mol CellEndocrinol*,455, 115–130.

Johansson. SGO., Hourihane. JO., Bousquet. J et al. (2001). A revised nomenclature for allergy An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, 56(9), 813-24.

Jarlot. S., Hosotte. M., Dano. D., Kanny. G. (2013). Allergie alimentaire. *EMC – AKOS*, 8(4), 1–6.

Just. J., Elegbede. C., Deschildre.A.,Moneret-Vautrin., Crepet. A. (2015). Deux phénotypes d'allergie sévère à l'arachide provenant de la population de l'étude. *MIRABEL Revue Française d'Allergologie*, 55(3), 212–10.

Kraft. S., Kinet. J. P. (2007). New developments in FcεRI regulation, function and inhibition. *Nature RevImmunol*, 7, 365–378.

Kobayashi. H., Ishizuka. T., Okayama. Y. (2000). Human mast cells and basophils as source of cytokines. *ClinExp Allergy*, (30), 1205-12.

Koid. A.E., Chapman. M.D., Hamilton R.G., van Ree. R., Versteeg. S.A., Dreskin. S.C. (2014). Ara h 6 complements Ara h 2 as an important marker for IgE reactivity to peanut. *J Agric Food Chem*, 62, 206–213.

Koppelman. S.J., Jayasena. S., Luykx. D., Schepens. E., Apostolovic. D., de Jong. G.A.H. (2016).Allergenicity attributes of different peanut market types. *Food ChemToxicol*,91, 82–90.

Kukkonen. A.K., Pelkonen. A.S., Mäkinen-Kiljunen. S., Voutilainen. H., Mäkelä. M.J. (2015).Ara h 2 and Ara 6 are the best predictors of severe peanut allergy a double-blind placebo-controlled study. *Allergy*, 70, 1239–1245.

Karleskind., Brigitte.(2016). Prévenir et soulager les allergies saisonnières. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(555), 46–47.

Lamireau.T., Enaud. R. (2020). Les nouvelles formes d'allergie alimentaire. *Mise au point intensives-allergologie pédiatrique*, (25)6, 9-11.

Lucie Mondoulet. (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 en Microbiologie et biocatalyse industrielles.

McNeil. BD., et al. (2014). Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature*, 519(7542), 237–41.

Maniu. G., Buss. M., Maillard. H., Spertini. F., Ribi. S. (2014). Allergie ou intolérance alimentaire. *Revue Med Suisse*, (10), 846-53.

Marone. G., Galdiero. MR., Pecoraro. A., et al. (2019). Prostaglandin D2 receptor antagonists in allergic disorders safety, efficacy, and future perspectives. *Expert OpinInvestig Drugs*, 28(1), 73-84.

Melissa. L., Robinson. F., Bruce. J., Lanser M. (2018) The Role of Peanut in the Diets of Allergic Children., 38 (1): 65-76.

Montis.G., M. Truong., B. Toussaint., D. Berman., C. Toudoire (2009). Sensibilisation à l'arachide et préparations vitaminiques en solution huileuse, 2(1), 0–28.

Morsiani. C., Bacalinib. M. G., Santoroa. A., Garagnania. P., Colluraa. S., D'Erricoh. A., Eguileori. M., Graziij. G. L., Cesconk. M., Franceschia. C., Capria. M. (2019). The peculiar aging of human liver Ageroscience perspective within transplant context. *Ageing Research Reviews*, 51, 24–34.

Negaoui. H., Kaddouri. H., Kheroua. O., Saidi. D., (2009). A Model of Intestinal Anaphylaxis in Whey Sensitized Balb/c Mice. *Am J Immunol*, 2, 56-60.

Olivier. CE. (2013). Food Allergy. *J Allergy Ther*, (3), 4-10.

Oettgen. HC., Burton. OT. (2015). IgE receptor signaling in food allergy pathogenesis. *CurrOpinImmunol*, 36, 109-14.

Pascal E. (2005). Allergies et intolérances en implantologie de l'Attestation d'Etude et de Recherche Approfondies en Implantologie Orale, Bordeaux, université de bordeaux II, 4-5.

Prioult. G., Nagler-Anderson. C. (2005). Mucosal immunity and allergic responses lack of regulation and/or lack of microbial stimulation. *ImmunolRev*, 206, 204-18.

Pouessel. G., Beaudouin. E., Tanno. LK., Drouet. M., Deschildre. A., Labreuche. J., et al. (2019). Food related anaphylaxis fatalities. *Analysis of the Allergy Vigilance Network database Allergy* ,74(6), 1193-6.

Rommel. S. (2012). Hypersensibilité alimentaire allergique chez l'enfant : Diagnostique, traitement et conseils du pharmacien, Limoges, université de limoges, thèse doctorat, 42-62.

Roland Perrin. (2006). Interprétatif prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. *Amnbiolclin*, 122p.

Subramanian. H., Gupta. K., Ali. H. (2016). Roles of Mas-related G protein–coupled receptor X2 on mast cell–mediated host defense, pseudoallergic drug reactions, and chronic inflammatory diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(3),700-10.

- hreffler. W.G., Beyer. K., Chu. T.H.T., Burks. A.W., Sampson. H.A. (2004).** Microarray immunoassay association of clinical history in vitro IgE function and heterogeneity of allergenic peanut epitopes. *J Allergy Clin Immunol*, 113, 776–782.
- Strobel. S., Mowat. AM. (2006).** Oral tolerance and allergic responses to food proteins. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 6, 207–13.
- Sicherer. SH., Sampson. HA. (2018).** Food allergy A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J Allergy Clin Immunol*, 141(1), 41-58.
- Sirois. P. (2019).** Leukotrienes One step in our understanding of asthma. *Respiratory Investigation*, 57(2), 97-110.
- Szymanowicz. A., Cartier. B., Couaillac. JP., Gibaud. C., Poulin. G., Rivière. H. (2006).** Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques. *Le Carrer*,;64 (4),367-380.
- Sicherer. S.H., Sampson. H.A. (2014).** Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol*,133, 291- 307.
- Tamion.F. (2010).** Albumine dans les états infectieux graves. *j.annfar*, 29(9), 0–634.
- Trinchese. G., Paparo. L., Aitoro. R., Fierro. C., Varchetta. M., Nocerino. R., Pina-Molika. M., and Berni- Canani R. (2018).** Hepatic mitochondrial dysfunction and immune response in a murine model of peanut allergy, *Nutrients*,10, 2-12.
- Wal. J.M. (2004).** Allergies alimentaires mécanismes physiopathologiques, identification des allergènes alimentaires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, (18), 15-19.
- Worbs. T., Hammerschmidt. SI., Förster. R. (2017).** Dendritic cell migration in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 17(1), 30-48.
- Yu. Y., Liu. Y., An. W., Song. J., Zhang. Y., Zhao. X. (2018).** STING-mediated inflammation in Kupffer cells contributes to progression of nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Invest*, 129, 546–555.
- Zakeri. A., Russo. M. (2018).** Dual Role of Toll-like Receptors in Human and Experimental Asthma Models. *Front Immunol*, 9-1027.

Résumé

L'allergie alimentaire est actuellement inquiétante par sa fréquence, en effet l'allergie à l'arachide est parmi les plus importantes allergies dans le monde, elle est en augmentation or elle peut être sévère et potentiellement mortelle. Comme toute allergie c'est une réaction du système immunitaire qui identifie les protéines de l'arachide comme étant dangereuse, cependant c'est une hypersensibilité de type I impliquant généralement un mécanisme IgE dépendant ou indépendant conduisant à la libération des histamines et d'autres médiateurs, qui se manifestent par des symptômes modérés à graves. Notre étude a été pour objectif de tester le potentiel de l'arachide sous forme complète, dégraissée et l'huile d'arachide à provoquer des réactions allergiques chez les souris de la race BALB/c. De ceci nous avons provoqués une réponse immunitaire contre les protéines d'arachide, ensuite nous avons évalués plusieurs paramètres notamment les scores allergiques, suivi d'une électrophorèse des protéines sériques et une coupe histologique. A l'issue de ce travail, il ressort que toutes les variétés d'arachide sont pourvues de protéines allergisantes cependant que la farine complète d'arachide ainsi que l'huile d'arachide possèdent un potentiel allergisant plus important que la farine dégraissée.

Dans l'ensemble nos résultats confirment l'hypothèse que l'arachide possède une activité allergique considérable dans l'organisme vivant et qui peut être un sujet de choix pour des études concernant les allergies alimentaires.

Mots clés :

Allergies alimentaire, l'arachide, farine d'arachide complète, farine dégraissée, huile d'arachide, hypersensibilité type I, IgE, Histamine.

Abstract

Food allergy is presently worrying by its frequency, indeed Peanut allergy is one of the most important allergies in the world, it's not just increasing but also it can be severe and life-threatening.

As any allergy; it's a reaction of the immune system that identifies peanut proteins as dangerous, however, it is a type I hypersensitivity usually involving an IgE- mechanism dependent or independent leading to the release of histamines and other mediators, which manifests with moderate to severe symptoms.

Our study was aimed on testing the hole potential of peanuts and defatted one, peanut oil caused allergic reactions in mice of the BALB/c race.

From this we provoked an immune response against peanut proteins, then we evaluated several settings including allergy scores, followed by serum protein electrophoresis and histological section. This study resolved to all peanut varieties contain allergenic proteins, but wholemeal peanut flour and oil have an important allergenic potential rather than defatted flour.

Overall, our results confirm the hypothesis that Peanut within its different varieties have considerable allergic activity in the living organism which can be a subject chosen for studies concerning food allergies.

Keywords:

Food allergy, Peanut, wholemeal peanut flour, defatted flour, type I hypersensitivity, peanut oil, IgE, Histamine.

الملخص

تثير حاليا حساسية الطعام قلما كبيرا بسبب تواترها، حيث تعد حساسية الفول السوداني من بين أهم أنواع الحساسية في العالم، وهي آخذة في الازدياد ويمكن أن تكون شديدة كما قد تكون قاتلة. مثل أي حساسية، هي عبارة عن رد فعل للجهاز المناعي حيث يحدد بروتينات الفول السوداني على أنها خطيرة، إلى أنها تصنف ضمن النوع الأول من فرط الحساسية التي تتضمن بشكل عام آلية تعتمد على IgE أو آلية مستقلة تؤدي إلى إطلاق الهيستامين والوسيطات الأخرى، والتي تتجلى من خلال الأعراض المتوسطة إلى الشديدة. كان الهدف من دراستنا اختبار فعالية الفول السوداني بشكل كامل، منزوع الدهن وزيت الفول السوداني للتسبب في تفاعلات حساسية في الفئران BALB / c. ولهذا قمنا بإثارة استجابة مناعية ضد بروتينات الفول السوداني، ثم قمنا بتقييم العديد من العوامل بما في ذلك درجات الحساسية، يليها الفصل الكهربائي لبروتين المصل وتحضير مقطع نسيجي. في نهاية هذا العمل، يبدو أن جميع أنواع الفول السوداني تحتوي على بروتينات مسببة للحساسية، لكن دقيق الفول السوداني الكامل وزيت الفول السوداني يمتلكان امكانية افتعال الحساسية أكبر من الدقيق منزوع الدسم.

بشكل عام، تؤكد نتائجنا الفرضية القائلة بأن الفول السوداني وأنواعه المختلفة لها نشاط تحسسي كبير في الكائن الحي وقد تكون موضوعاً مهماً للدراسات المتعلقة بالحساسيات الغذائية.

الكلمات المفتاحية:

الحساسية الغذائية، الفول السوداني، دقيق الفول السوداني، الكامل، دقيق الفول السوداني منزوع الدسم، زيت الفول السوداني، فرط الحساسية من النوع الأول، الهيستامين، IgE

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : FERHATI Amira

Étude comparative du pouvoir allergique de différentes fractions de l'arachide

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Immunologie Moléculaire et Cellulaire.

Résumé :

L'allergie alimentaire est actuellement inquiétante par sa fréquence, en effet l'allergie à l'arachide est parmi les plus importantes allergies dans le monde, elle est en augmentation or elle peut être sévère et potentiellement mortelle. Comme toute allergie c'est une réaction du système immunitaire qui identifie les protéines de l'arachide comme étant dangereuse, cependant c'est une hypersensibilité de type I impliquant généralement un mécanisme IgE dépendant ou indépendant conduisant à la libération des histamines et d'autres médiateurs, qui se manifestent par des symptômes modérés à graves. Notre étude a été pour objectif de tester le potentiel de l'arachide sous forme complète, dégraissée et l'huile d'arachide à provoquer des réactions allergiques chez les souris de la race BALB/c. De ceci nous avons provoqués une réponse immunitaire contre les protéines d'arachide, ensuite nous avons évalués plusieurs paramètres notamment les scores allergiques, suivi d'une électrophorèse des protéines sériques et une coupe histologique. A l'issue de ce travail, il ressort que toutes les variétés d'arachide sont pourvues de protéines allergisantes cependant que la farine complète d'arachide ainsi que l'huile d'arachide possèdent un potentiel allergisant plus important que la farine dégraissée.

Dans l'ensemble nos résultats confirment l'hypothèse que l'arachide possèdent une activité allergique considérable dans l'organisme vivant et qui peut être un sujet de choix pour des études concernant les allergies alimentaires.

Mots clés :

Allergies alimentaire, l'arachide, farine d'arachide complète, farine dégraissée, huile d'arachide, hypersensibilité type I, IgE, Histamine.

Laboratoire de recherche :

Centre de Recherche en Science Pharmaceutique

Jury d'évaluation :

Encadrant : Elouar Ibtissem Pr Université Frères Mentouri Constantine 1

Examineur 1 : Latrèche Asma MCB Université Frères Mentouri Constantine 1

Examineur 2 : Ramli Imène MAA Université Frères Mentouri Constantine 1