



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences
de la Terre et de l'Univers



Département DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE APPLIQUEE ET
IMMUNOLOGIE – BIOMOLIM

MEMOIRE

Présenté par
MAHI Zoulikha

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

EN Immunologie

Thème

*Effet de la vitamine D et des fibres alimentaires sur les
éosinophiles salivaires au cours de l'Asthme Allergique
non contrôlé chez l'enfant*

Soutenu le 28 juillet 2019.

Sous la direction du Professeur Mourad ARIBI

Présidente	BRAHAMI Nabila	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	EL MEZOUAR Chahrazed	MAA	Université de Tlemcen
Examinatrice	NOUARI Wafa	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	HADDOUCHE Mustapha	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2018/2019

Résumé

Introduction : L'asthme allergique est une maladie la plus fréquent durant l'enfance et c'est inflammation chronique des voies aériennes caractérisée par une infiltration leucocytaire et éosinophile intense accompagnée d'hypersécrétion de mucus et d'hyperréactivité tissulaire.

Objectif : Démontrer que la combinaison vitamine D / fibre alimentaire peut avoir un effet bénéfique sur les éosinophiles salivaires chez l'enfant asthmatique.

But : Montrer l'effet bénéfique de la combinaison de la vitamine D avec les fibres alimentaires sur les éosinophiles salivaires au cours de l'asthme allergique non contrôlé chez l'enfant.

Matériels et méthode : Nous procédons au recrutement de quatre groupes d'enfants asthmatiques d'âge scolaire de 4 ans à 17 ans, en consultation spécialisée au niveau du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie de l'Université de Tlemcen. Ces enfants sont classés selon les critères GINA en partiellement à non contrôlés. Le nombre d'éosinophiles a été réalisé à partir des frottis salivaires par la méthode May-Grünwald Giemsa.

Résultats : J'ai réussie d'identifier et pour la première fois des éosinophiles salivaires et essayai de comparer l'aspect avant et après la supplémentation en vitamine D et les fibres alimentaires.

Conclusion : Le changement du nombre d'éosinophile, favorisent l'apparition et le développement de l'asthme allergique chez les enfants qui entraîne une inflammation bronchique et un déséquilibre immunitaire.

Mots clés : asthme, fibre alimentaire, éosinophile salivaire, enfants asthmatiques, vitamineD.

Abstract

Introduction: Allergic asthma is the most common childhood disease and is a chronic inflammation of the airways characterized by intense leukocyte and eosinophilic infiltration accompanied by hypersecretion of mucus and tissue hyperreactivity.

Objectives: Demonstrate that the vitamin D / dietary fiber combination can have a beneficial effect on salivary eosinophils in asthmatic children.

Aim : To show the beneficial effect of the combination of vitamin D with dietary fiber on salivary eosinophils during uncontrolled allergic asthma in children.

Materials and methods: We are recruiting four groups of asthmatic children of school age from 4 years to 17 years, in specialized consultation at the Laboratory of Molecular Applied Biology and Immunology of the University of Tlemcen. These children are classified according to the GINA criteria in partially to uncontrolled. The number of eosinophils was obtained from salivary smears by the May-Grünwald Giemsa method.

Results: I have successfully identified salivary eosinophils for the first time and tried to compare the appearance before and after supplementation with vitamin D and dietary fiber.

Conclusion: The change in the number of eosinophils, promote the onset and development of allergic asthma in children that causes bronchial inflammation and immune imbalance.

Keywords: asthma, dietary fiber, salivary eosinophil, children with asthma, vitamin D.

ملخص

المقدمة: الربو التحسسي هو أكثر أمراض الطفولة شيوعاً وهو التهاب مزمن في الشعب الهوائية يتميز بتسلل كثيف للكريات البيض والايوزيني المصحوب بفرط إفراز المخاط وفرط نشاط الأنسجة.

أهداف الدراسة: إثبات أن تركيبة الألياف الغذائية بفيتامين (د) يمكن أن يكون لها تأثير مفيد على الحمضات اللعابية عند الأطفال المصابين بالربو.

الغاية من الدراسة: إظهار التأثير المفيد لمزيج من فيتامين (د) مع الألياف الغذائية على الحمضات اللعابية أثناء الربو التحسسي غير المنضبط عند الأطفال.

المواد و الأساليب: نقوم بتجنيد أربع مجموعات من الأطفال المصابين بالربو في سن المدرسة من 4 سنوات إلى 17 عاماً ، وذلك بالتشاور المتخصص في مختبر البيولوجيا التطبيقية الجزيئية والمناعة بجامعة تلمسان. يتم تصنيف هؤلاء الأطفال وفقاً لمعايير GINA بشكل جزئي وغير مراقب. تم الحصول على عدد من الحمضات من مسحات اللعاب باستخدام طريقة May-Grünwald Giemsa.

النتائج: لقد حددت بنجاح الحمضات اللعابية لأول مرة وحاولت مقارنة المظهر قبل وبعد المكملات بفيتامين د والألياف الغذائية.

الاستنتاج: التغيير في عدد الحمضات ، يشجع على ظهور وتطور الربو التحسسي عند الأطفال الذي يسبب التهاب الشعب الهوائية واختلال المناعة.

الكلمات المفتاحية: الربو ، الألياف الغذائية ، الحمضية اللعابية ، الأطفال المصابين بالربو ، فيتامين د.

Remerciement

Je commence par remercier ALLAH le tout puissant

De m'avoir donnée le courage, la volonté, et surtout la patience

Pour pouvoir produire ce mémoire

Je tiens particulièrement à adresser mes remerciement à

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de Biologie Moléculaire

*Appliquée et Immunologie,
sous la direction de Pr. Mourad ARIBI qui m'a ouvert les portes de son
laboratoire.*

je vous adresse mes plus sincères remerciements.

Que se travail soit le témoignage de ma reconnaissance

et de mon profond respect.

Je tiens à remercier les membres du jury, d'avoir accepté de juger ce

travail, malgré leurs obligations professionnelles.

*Mes remerciements s'adressent également à médecin Elmezouar
Chahrazad, pour son soutien. Sa clairvoyance et ses compétences m'ont
été d'une aide inestimable.*

*Enfin je remercie tous ceux qui ont collaboré de pré ou de loin à la
réalisation de ce mémoire .*

Dédicace

*Je dédie ce mémoire
Aux êtres les plus chers: Mes parents,*

*A ma mère,
Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son
écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus
difficiles de ma vie.*

*A mon père,
Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller
toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pours son
enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie
Et pour ses précieux conseils. J'espère que ce mémoire sera à la hauteur
de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

*A mes frères et mes sœurs,
surtout ma grande sœur qui m'on encouragé
et aidé moralement.*

*A Radouane,
Qui m'a tant aidé et soutenu et pour l'irremplaçable soutien
encouragement et compréhension.*

*je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à Sid Ahmed Youcef.
Merci vivement pour votre aide, votre disponibilité,
vos parole et vos précieux conseils. Je suis très chanceuse de vous avoir
et de connaitre.*

*A mes chères amies Asmaa, Imane, Aida, Fatima et à toute la
promotion de l' Immunologie 2018-2019 .*

Table des matière

Résumé	iii
Abstract	iv
Résumé en arabe	v
Avant-propos	vi
Table des matières	vii
Listes des figures	viii
Liste des tableaux	ix
Liste des abréviations	x
Introduction	1
Chapitre 1 : Revue de la littérature	2
1.1. Asthme	2
1.1.1. Définition	2
1.2. Asthme allergique chez l'enfant	2
1.2.1. Définition	2
1.2.3. Epidémiologie	2
1.2.4. Étiologie	2
1.2.5. Classification d'asthme allergique	3
1.2.6. Evaluation du contrôle de l'asthme GINA	4
1.2.7. Classification de la cris d'asthme	4
1.2.8. Symptômes et Caractérisation de l'asthme chez l'enfant	5
1.2.8.1. Symptômes	5
1.2.8.2. Diagnostiques	5
1.2.8.2.1 Examen physique	5
1.2.8.2.1.1. Spirométrie	5
1.2.8.3. Traitement	5

1.3. Asthme et système immunitaire	6
1.3.1. Thérapies immunitaires actuelles contre l'asthme allergique	6
1.3.2. Principaux médiateurs inflammatoires et leurs effets biologiques dans l'asthme allergique	7
1.3.3. Cellules immunitaires impliquées dans l'asthme allergique	7
1.4. Vitamine D et rôle immunomodulateurs dans les allergies inflammatoires	8
1.4.1. Associations entre la vitamine D et l'asthme	8
1.4.2. Vitamine D et l'asthme	8
1.4.3. Vitamine D est comme immunomodulateure	9
1.5. Microbiotes, fibre alimentaire et maturation des cellules immunitaires	11
1.5.1. Microbiote et l'asthme	11
1.5.2. Microbiome intestinal et asthme allergique chez l'enfant	11
1.5.3. Effets des antibiotiques sur la composition de microbiote	12
1.5.4. Relation entre la composition du microbiome des voies respiratoires et les caractéristiques de la maladie	13
1.5.5. Risque d'exacerbation de l'asthme	13
1.5.6. Fibre alimentaire et ma maturation des cellules immunitaires	13
1.5.7. Axe nutrition-microbiome intestinal-physiologie et la maladie d'asthme	14
1.5.8. Métabolites liés aux régimes et aux microbiotes pour des réponses immunes	15
1.5.9. Incidence de l'asthme et relation avec le régime alimentaire et les métabolites	16
1.6. Éosinophile salivaire	17
1.6.1. Asthme allergique et éosinophile salivaire	17
1.6.2. Éosinophile protéine cationique (ECP) et inflammation des voies respiratoires	18
1.6.3. Corrélation entre l'éosinophilie salivaire et la fonction pulmonaire	18
1.7. Problématique et objectif	19

1.7.1. Problématique	19
1.7.2. Objectif	19
1.7.3. But	19
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	20
2.1. Patients et sujets.	20
2.2. Prélèvement salivaire	21
2.3. Mise en évidence des cellules (éosinophile)	21
2.3.1. Préparation de frottis salivaire	21
2.3.2. Coloration des frottis	22
2.3.2.1. Principe de la coloration MGG	22
2.3.2.2. Technique	22
Chapitre 3 : Résultat	24
Chapitre 4 : Discussions	25
Chapitre 5 : Conclusion et perspective	26
Chapitre 6 : Bibliographie	27

Liste des figures

Figure.1.1. Mécanismes immunitaire et inflammatoires et progression de l'asthme	6
Figure.1.2. Effets de la vitamine D sur les cellules de la réponse immunitaire innée et adaptative	9
Figure.1.3. Effets immunomodulateurs de la vitamine D sur les cellules inflammatoires dans l'asthme allergique	10
Figure.1.4. Facteurs influençant le microbiome pulmonaire	12
Figure.1.5. Différence entre un régime riche en fibres ou sans fibres	14
Figure.1.6. Relation entre le régime alimentaire, le microbiome intestinal et les réponses allergiques	15
Figure.1.7. Influences nutritionnelles ayant un effet métabolique et immunitaire.	16
Figure.1.8. Éosinophiles et progression de l'asthme.	18
Figure.2.1. Echantillons de la salive	21
Figure.2.2. Préparation de frottis	22
Figure.2.3. Coloration de frottis à l'étapes eau tamponné 3min	23
Figure .2.4. Frottis après coloration MGG	23
Figure .3.1. Observation Microscopique d'Eosinophile (x40)	24

Table des tableaux

Tableau 1.1. Facteurs influençant le développement de l'asthme chez les enfants	3
Tableau 1.2. Classification de la maladie asthmatique	3
Tableau 1.3. Médiateurs inflammatoires et leurs rôles possibles dans l'asthme	7
Tableau 1.4. Cellules immunitaires impliquées dans l'asthme allergique	8
Tableau 2.1. Critère d'inclusion, non inclusion et d'exclusion de l'étude	20

Listes des abréviations

C

CD: cellules dendritiques

CSI : corticostéroïdes inhalés

CS : corticostéroïdes

CR : corticorésistants

CMH II : complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : cellules présentatrices d'antigènes

E

EOS: éosinophiles

ECP : protéine cationique éosinophile

EPO : éosinophile peroxidase

ELAM-1 : Endothélial leucocyte adhésion molécule 1

EDN :neurotoxine dérivée des éosinophiles

G

GCs : glucocorticoïdes

GINA : Global Initiative for Asthma (l'initiative mondiale pour l'asthme)

GM-CSF :facteur de stimulation des colonies de monocytes degranulocytes

I

IFNs : interférons

ILC2 : cellules lymphoïdes innées de type 2

IgE : immunoglobuline E

IL : interleukine

ICAALL : collaboration internationale pour asthme, allergie et immunologie

L

LTRA : antagoniste des récepteurs des leucotriènes

LPS : lipopolysaccharide

LT : lymphocyte T

LB : Lymphocyte B

R

RV: rhinovirus

RSV: virus respiratoire syncytial

T

Treg : cellules T régulatrices

TGF- β : transforming growth factor Beta

TH2: cellules T helper 2

TH1 : lymphocyte T helper de type 1

TH17 : Lymphocyte T helper de type 17

TNF α : tumor necrosis factor

TSLP: lymphopoéïte stromale thymique

TSLPR : récepteur TSLP

T CD4 + : cellules T naïves



INTRODUCTION

Introduction

L'asthme est un problème majeur de santé et l'une des maladies les plus courantes de l'enfance avec une hétérogénéité marquée dans l'évolution clinique, considéré comme une maladie respiratoire et inflammatoire chroniques non transmissibles. (Liu et al., 2018; Papi et al., 2018).

L'asthme allergique pose un réel problème de santé, étudier le profil clinique, allergologie, respiratoire, et thérapeutique. C'est une affection répandue qui touche essentiellement le sujet jeune en pleine activité (Joobeur et al., 2015) et généralement associés à une hyperactivation du bras T helper 2 (Th2) de l'immunité adaptative, (Fujimura and Lynch, 2015) De nombreuses cellules du système immunitaire inné telles que les mastocytes, les neutrophiles, les éosinophiles jouent également un rôle important dans la pathogenèse de la maladie (Lambrecht and Hammad, 2013).

L'asthme à éosinophiles ont été considérées comme des cellules de protection contre l'inflammation allergique. Ce phénotype peut être présent à tout âge, ainsi joue un rôle dans la cascade inflammatoire. (Schleich and Louis) Tandis que l'inflammation des voies respiratoires à éosinophiles est présenté dans un sous-ensemble de patients asthmatique. (Singh et al., 2019).

Le microbiome intestinal est un facteur important pour la santé humaine, (Pisi et al., 2017) à cause de leur ensemble qui résident dans l'interaction avec son corps. De nouvelles preuves relie l'asthme à la fonction, et à la composition du microbiome (Fujimura and Lynch, 2015) Qui peut être dérégulé chez les personnes asthmatique. (Pisi et al., 2017).

L'asthme est lié au régime alimentaire car la nutrition et les métabolites bactériens ont un impact sur l'immunologie. (Thorburn et al., 2014) tandis que la consommation accrue de fibres solubles réduirait l'inflammation des voies respiratoires dans l'asthme (Halnes et al., 2017).

Le but de ce travail est de montrer que la salive contient des cellules éosinophiles à l'aide de la numération, et analyse des résultats par imagerie cellulaire sur microscope optique (Primo star).



CHAPITRE 1.

Revue de la littérature

Chapitre 1 : Revue de la littérature

1.1. Asthme

1.1.1. Définition

L'asthme est un trouble inflammatoire chronique associé à une obstruction des voies respiratoires et à une hypersensibilité bronchique (Halnes et al., 2017) La maladies la plus fréquente chez les enfants (Papi et al., 2018) dans lequel, nombreuses cellules jouent un rôle en particulier les mastocytes, les éosinophiles, les lymphocytes T (Mims, 2015).

1.2. Asthme allergique chez l'enfant

1.2.1. Définition

L'asthme allergique est une maladie hétérogène, définie cliniquement comme une obstruction réversible des flux d'air. Immunologiquement par hyper-activation du bras T helper 2 (Th2) de la réponse immunitaire adaptative et la surexpression des cytokines anti-inflammatoires IL-4, IL- 5,IL-9 et l'IL-13 (Tong and Wesemann, 2015) Causés par une réaction inflammatoire médiée par les IgE. (Miraglia Del Giudice et al., 2017).

1.2.3. Épidémiologie

Environ 14% des 2,2 milliards d'enfants dans le monde sont susceptibles de présenter des symptômes de l'asthme(Ellwood et al., 2017). la respiration sifflante puisse avoir plusieurs étiologies chez les enfants et ne pas être directement en corrélation avec un diagnostic d'asthme, sa présence est un outil sensible pour estimer la prévalence de l'asthme dans divers contextes mondiaux avec un accès limité aux technologies de diagnostic ou aux thérapies respiratoires (Tan, 2008)La prévalence mondiale de l'asthme semble augmenter, notamment dans les pays à industrialisation rapide. (Jassal, 2015).

1.2.4. Étiologie

Les facteurs de risque de l'asthme ont été identifiés, mais la cause spécifique n'est pas connue. (Ali and Nanji, 2017; Ober and Yao, 2011) Les jeunes enfants en particulier peuvent présenter des présentations cliniques qui se chevauchent parmi différents processus de maladies respiratoires. (Ducharme et al., 2014).

Tableau 1.1. Facteurs influençant le développement de l'asthme chez les enfants (Ali and Nanji, 2017; Burke et al., 2012; Mims, 2015).

Facteurs environnementaux	Facteurs de risque de l'hôte
<p>Allergènes: la dose, la durée d'exposition et l'âge de l'enfant.</p> <p>Infections: principalement virales.</p> <p>Fumée de tabac: l'exposition au tabac avant et après la naissance augmente le risque de développer l'asthme.</p> <p>Polluants extérieurs / intérieurs: aggraver les symptômes de l'asthme.</p> <p>Régime alimentaire.</p>	<p>Génétique:</p> <ul style="list-style-type: none"> • production d'anticorps IgE. • hyper-réactivité des voies aériennes. • médiateurs de l'inflammation. • facteurs de croissance. <p>Sexe.</p> <p>Obésité.</p>

1.2.5. Classification d'asthme allergique

Tous les rapports de GINA recommandaient de classer les asthmatiques en quatre niveaux.

Une autre classification de l'asthme par niveau de contrôle: "contrôle" peut indiquer une prévention des maladies. (Boussoffara et al., 2017;).

Tableau1.2. Classification de la maladie asthmatique (Do et al., 2018)

Classification de l'asthme en fonction de la gravité des signes cliniques	Classification de l'asthme en fonction du contrôle de l'asthme
<ul style="list-style-type: none"> • asthme intermittent. • asthme persistant léger. • asthme persistant modéré. • asthme persistant sévère. 	<ul style="list-style-type: none"> • asthme contrôlé. • asthme partiellement contrôlé . • asthme non contrôlé.

1.2.6. Evaluation du contrôle de l'asthme GINA

La gestion et la prévention de l'asthme examine les recherches et formule des recommandations fondées sur des preuves par le comité scientifique GINA pour: soins aux patients dans un rapport annuel. Ce rapport comportait un programme de gestion:

- 1) Dans la gestion de l'asthme, les patients éduquer à développer un partenariat.
- 2) Évaluer et surveiller la gravité de l'asthme à l'aide des rapports de symptôme et, autant que possible, des mesures de la fonction pulmonaire.
- 3) éviter ou contrôler les déclencheurs d'asthme.
- 4) Établir des plans de médicaments individuels pour la gestion à long terme.
- 5) Établir des plans pour gérer les exacerbations.
- 6) Fournir des soins de suivi réguliers.

Le rapport conclut par des recommandations dans quatre domaines: Services de santé; Formation; Recherche; Prévention. (Lin et al., 2018).

1.2.7. Classification de la crise d'asthme

Il est très difficile de prédire une crise d'asthme car elle est en quelques minutes. Afin de classer la sévérité de l'asthme: les patients doivent suivre leurs symptômes pendant deux à quatre semaines. Ces informations incluent:

1. l'âge.
2. la mesure dans laquelle les symptômes d'asthme affectent ses activités normales.
3. combien de fois le patient se réveille la nuit à cause de ces symptômes.
4. la fréquence à laquelle le patient a pris des médicaments de secours, c'est-à-dire des bêta-agonistes à courte durée d'action, pour contrôler les exacerbations aiguës.
5. la fréquence à laquelle le patient a présenté des symptômes d'asthme (Dieffenderfer et al., 2016; Do et al., 2018; Roberts et al., 2018).

1.2.8. Symptômes et Caractérisation de l'asthme chez l'enfant

1.2.8.1. Symptômes

Chez les individus prédisposés, cette inflammation provoque des épisodes récurrents de respiration sifflante, d'essoufflement, d'oppression thoracique et de toux, en particulier la nuit ou tôt le matin. (Ali and Nanji, 2017; Mims, 2015) Tandis que la cause la plus fréquente de ces symptômes est l'infection respiratoire virale et une hypersensibilité bronchique et une inflammation sous-jacente. (Thompson et al., 2013).

1.2.8.2. Diagnostiques

L'asthme est difficile à diagnostiquer en raison de son hétérogénéité inhérente parmi les populations de patients asthmatiques et de multiples facteurs contributifs (Fujimura and Lynch, 2015).

1.2.8.2.1 Examen physique

Est une respiration sifflante lors d'une auscultation thoracique. On peut trouver un thorax silencieux en raison de la limitation du débit d'air (Boulet et al., 2012).

1.2.8.2.1.1. Spirométrie

Il s'agit de la méthode privilégiée de diagnostic de l'obstruction des voies respiratoires. Les mesures de débit de pointe seules ne doivent pas être utilisées pour diagnostiquer l'asthme en raison de la grande variabilité des valeurs de référence expiratoires maximales prévues. (Haines et al., 2015).

1.2.8.3. Traitement.

La gravité de l'asthme persistant nécessite une approche progressive des doses croissantes de corticostéroïdes inhalés (CSI), avec éventuellement l'ajout d'un antagoniste des récepteurs des leucotriènes (LTRA). et un traitement par un agoniste B2 (Wu et al., 2015) les asthmatiques Th2-high et Th2-low ne diffèrent pas par la gravité de la maladie, ils réagissent distinctement aux stéroïdes inhalés (Fujimura and Lynch, 2015) La vitamine D peut être également efficace en tant que traitement dans l'asthme. (Ali and Nanji, 2017).

1.3. Asthme et système immunitaire

1.3.1. Thérapies immunitaires actuelles contre l'asthme allergique

L'asthme est trop souvent considéré comme une entité monolithique. (National Asthma Education and Prevention Program, 2007). La mécanisme qui régit l'expression de TH17 dans l'asthme est une forte association entre l'expression des cellules PMN des voies aériennes et la présence et la concentration d'IL-17 (Borish, 2016; Moore et al., 2014).

En effet, l'asthme est régulé par les cellules lymphoïdes innées (ILC) (Spits and Cupedo, 2012) qui définissent un univers de cellules parallèle à l'univers des cellules T adaptatives, comprend les cellules TH1 (comparables aux cellules ILC1 / NK), les cellules TH2 (comparables aux ILC2) et les cellules TH17 et TH22 (comparables aux ILC3) (Monticelli et al., 2011; Wong et al., 2012; Zhou, 2012) il a été démontré que les ILC2 existent dans les poumons et jouent un rôle dans la physiopathologie de l'asthme.(Chang et al., 2011) les ILC3 producteurs d'IL-17A qui est exacerbat l'asthme allergique,(Kim et al., 2014; Wenzel, 2012).les ILC2 activé par la libération de l'IL-33 et sécréter IL-13 et IL-5. En outre, l'activation des ILC2 par une infection entraînant une accumulation progressive d'éosinophiles après la clairance virale (Gorski et al., 2013) c'est la mécanismes par lesquels l'infection virale cause l'asthme,(Bartlett et al., 2008) Pouvaient contrôler le développement d'une inflammation allergique des voies respiratoires à éosinophiles, alors la détermination du rôle spécifique des cellules NK / ILC1 chez les patients asthmatiques nécessite des études approfondies. (Barnig et al., 2013).

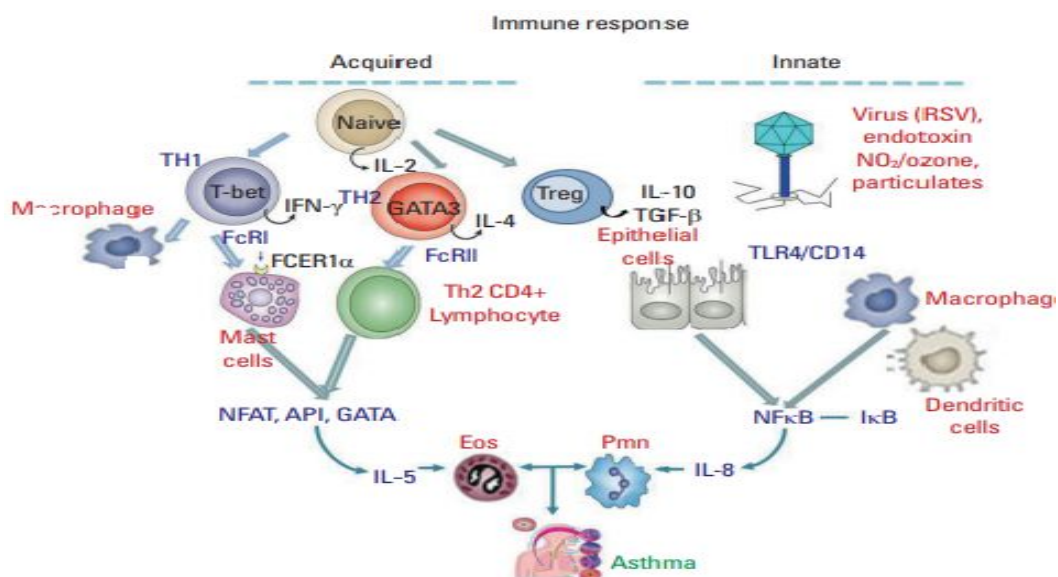


Figure.1.1. Mécanismes immunitaire et inflammatoires et progression de l'asthme (Lee et al., 2015)

1.3.2. Principaux médiateurs inflammatoires et leurs effets biologiques dans l'asthme allergique

Tableau 1.3. Médiateurs inflammatoires et leurs rôles possibles dans l'asthme (Borish, 2016; Gupta et al., 2014; Kim et al., 2014)

Médiateur de l'asthme	Activité biologique
IL-9	Régulation de l'hypersensibilité des voies respiratoires, qualifiée de gène candidat pour l'asthme.
IL-5	Maturation, différenciation, prolifération, et la survie des éosinophiles.
IL-4	Différenciation des cellules Th2, production de mucus dans les poumons, Infiltration de mastocytes dans les voies respiratoires.
IL-13	Hyperréactivité bronchique, Production d'IgE.
TNF-α	Remodelage des voies respiratoires.
Histamine	Hyper réactivité des voies respiratoires.
Chimiokines	Recrutement des cellules inflammatoires dans la muqueuse des voies Aériennes.

1.3.3. Cellules immunitaires impliquées dans l'asthme allergique

Ces nouveaux mécanismes de thérapies immunitaires actuelles contre l'asthme, ciblent les cellules dendritiques (CD), les cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2), les cellules T régulatrices (Treg) et le muscle lisse des voies respiratoires, ou potentiellement tous. (Weiss, 2017).

Tableau 1.4. Cellules immunitaires impliquées dans l'asthme allergique (Fujimura and Lynch, 2015; Gorski et al., 2013; Kim et al., 2014)

Cellules	Définitions
Eosinophiles	Caractérisés par leur teneur en granules intracellulaires, Chez les patients asthmatiques, sont présents en plus grand nombre
Mastocytes	Jouent un rôle central dans les réactions allergiques inflammatoires et immédiates.
Basophiles	Infiltrent dans les sites d'inflammation allergique, pourraient représenter une source importante de cytokines de type Th2.
Neutrophiles	la capacité de synthétiser différents médiateurs comme les prostaglandines.
ILC2s	Produisent plusieurs cytokines de type 2 et peuvent ainsi affecter diverses cellules impliquées dans la pathogenèse de l'asthme allergique.

1.4. Vitamine D et rôle immunomodulateurs dans les allergies inflammatoires

1.4.1. Associations entre la vitamine D et l'asthme

Les vitamines sont des composés organiques nécessaires au maintien de la santé physiologique, Les vitamines D sont les plus importantes sur le plan immunitaire, (vitamine D (1,25(OH)2D3). (Hall and Agrawal, 2017). Aussi joue un rôle dans les infections respiratoires (Chambers and Hawrylowicz, 2011). D'autre part, les suppléments de la vitamine D soient responsables de l'épidémie d'asthme. (Ali and Nanji, 2017) Donc est un puissant modulateur et agit comme un rhéostat sur la réponse immunitaire.(Himes et al., 2015).

1.4.2. Vitamine D et l'asthme

L'asthme, un problème majeure de santé publique et la vitamine D présente un intérêt particulier dans l'asthme en raison de ses effets immunomodulateurs, l'hydroxyvitamine D sérique 25 était associée à un large éventail de maladies pulmonaires.(Baeke et al., 2010). augmente également l'absorption du corticostéroïde par inhalation dans l'épithélium des voies respiratoires(Xystrakis et al., 2006) Les essais cliniques menés récemment ont montré l'influence protectrice de la supplémentation en vitamine D (Urashima et al., 2010), a été

la recherche pionnière en concluant que les taux sériques de vitamine D étaient les plus bas chez les enfants asthmatiques résistants aux stéroïdes (STRA) une fonction pulmonaire réduite, une utilisation accrue de corticostéroïdes et des exacerbations de l'asthme (Gupta et al., 2014). La raison probable est que de faibles niveaux de vitamine D augmentent le muscle lisse des voies respiratoires et réduisent la fonction pulmonaire dans les cas d'asthme sévère. (Ali and Nanji, 2017) Il existe de nombreuses preuves suggérant que la vitamine D agit sur les cellules structurelles des voies respiratoires ainsi que sur les cellules de systèmes immunitaires innés et adaptatifs (Barragan et al., 2015; Hall and Agrawal, 2017).

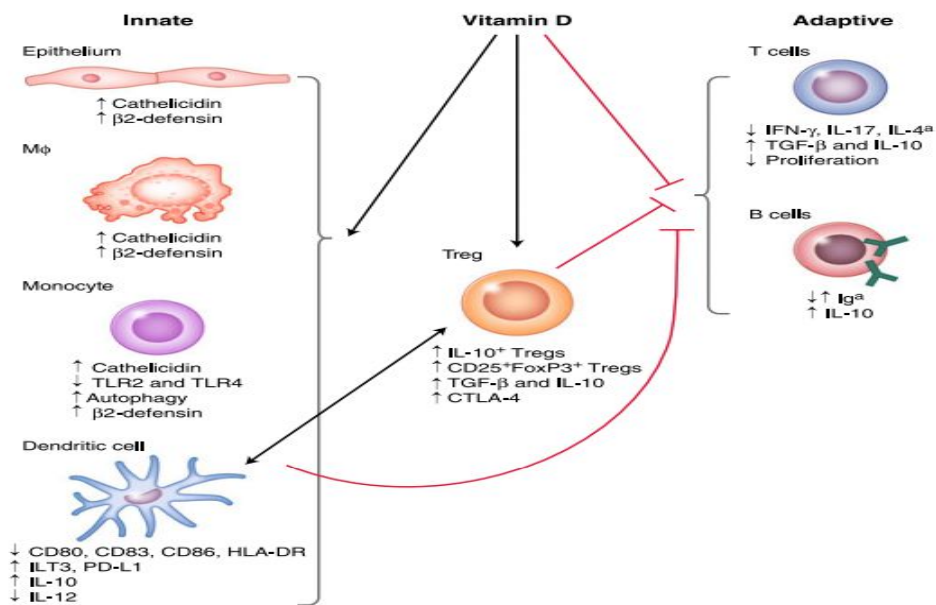


Figure.1.2. Effets de la vitamine D sur les cellules de la réponse immunitaire innée et adaptative .(Chambers and Hawrylowicz, 2011)

1.4.3. Vitamine D est comme immunomodulateur

L'expression des récepteurs nucléaires de la vitamine D (VDR) et des enzymes hydroxylase conduit à une vague de recherches sur le rôle potentiel de la vitamine D sur les cellules présentatrices d'antigène (APC) telles que les macrophages et les cellules dendritiques dans le maintien de l'homéostasie immunitaire et la prévention du développement de processus auto-immuns. (Hughes and Norton, 2009) c'est à dire un rôle important dans l'immunité innée et adaptative (Mak and Hanania, 2011). et un rôle paracrine pour 1,25 (OH)₂ D₃ a été proposé que les cellules mononucléées du sang périphérique libèrent des enzymes liées à l'activation et à la dégradation de la forme active de la vitamine D (Correale et al., 2009) Le mécanisme d'action de la vitamine D a été lié à la liaison de 1,25 (OH)₂ D₃ aux VDR. Ce

complexe se lie aux éléments sensibles à la vitamine D dans la région promotrice, ce qui influe sur le taux de transcription induite par l'ARN polymérase II. (van Etten and Mathieu, 2005) L'asthme est provoqué par une activité accrue des cellules Th2 qui induisent la production d'IgE et favorisent l'inflammation et l'hypersensibilité des voies respiratoires à éosinophiles .(Hughes and Norton, 2009) Tandis que la suppression de la réponse immunitaire Th2 explique l'effet protecteur de la vitamine D parallèlement à l'asthme.(Ali and Nanji, 2017) l'augmentation des cellules T CD41 prévient de la vitamine D et diminue la création de cytokines Th1 IL-17 (Chambers and Hawrylowicz, 2011). Les preuves suggèrent que l'immunité innée est activée par la production de peptide antimicrobien par les macrophages. Le système immunitaire adaptatif augmente la production de cellules T et modifie les fonctions des cellules présentatrices d'antigène (APC), des cellules dendritiques. De plus, il a été démontré que la vitamine D améliore et inhibe la production d'IL-4 par les lymphocytes T naïfs.(Baeke et al., 2010) l'interleukine (IL) -1a, l'IL-1b et le facteur de nécrose tumorale (TNF) -a] sont également inhibés par la vitamine D de la libération d'IL-12 par les cellules dendritiques a un effet profond sur la différenciation des lymphocytes T. (D'Ambrosio et al., 1998) La vitamine D a également de puissants effets antiprolifératifs sur les cellules T, principalement les cellules T auxiliaires, et supprime la production d'anticorps des cellules B directement et indirectement in vitro.(Adams and Hewison, 2008)

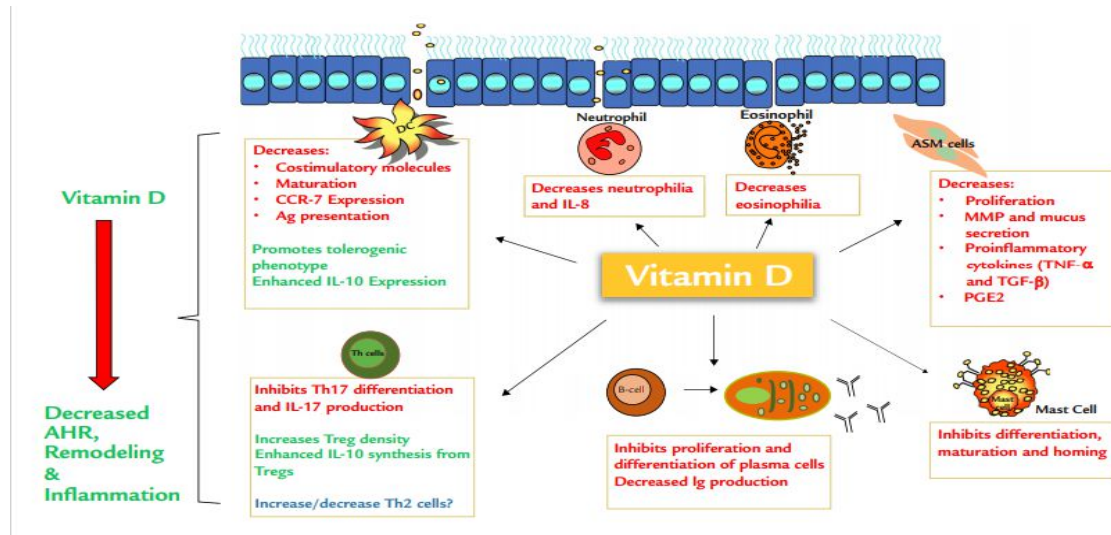


Figure.1.3. Effets immunomodulateurs de la vitamine D sur les cellules inflammatoires dans l'asthme allergique (Hall and Agrawal, 2017)

1.5. Microbiotes, fibre alimentaire et maturation des cellules immunitaires

1.5.1. Microbiote et l'asthme

La perturbation de la composition du microbiote intestinal est suggéré son rôles dans l'apparition de l'asthme(Ertesvag et al., 2002). tandis que les asthmatiques présentent une charge bactérienne et une diversité significativement plus élevées dans leurs voies respiratoires.(Kang et al., 2017) Le développement du microbiome nasopharyngé au cours de la première année de vie a été lié au risque de l'asthme, ils ont été identifiés six types de microbiote, Chacun était caractérisé par la présence d'un genre dominant particulier: Moraxella, Streptococcus, Corynebacterium, Staphylococcus, Haemophilus ou Alloicoccus. Ces microbiotes sont généralement enrichis pour les membres des Protéobactéries (Fujimura and Lynch, 2015)

1.5.2. Microbiome intestinal et asthme allergique chez l'enfant

Le microbiome intestinal est un facteur important pour la santé humaine, (Clemente et al., 2012) en raison de son rôle dans le comportement de l'hôte, et le développement de l'immunité (Cabreiro and Gems, 2013; Erkosar et al., 2013) Ce microbiome peut être dérégulé est altéré dans les voies respiratoires asthmatiques(Hilty et al., 2010; Sze et al., 2012) une série d'événements bien établis qui se produisent lors de la colonisation initiale d'un environnement auparavant vierge, Cela soulève la possibilité d'une colonisation microbienne aberrante dans l'intestin alors le développement d'un microbiome en début de vie peut s'avérer un facteur déterminant pour la maturation immunitaire et le développement de maladies allergiques chez l'enfant (Fujimura and Lynch, 2015; Kang et al., 2017).

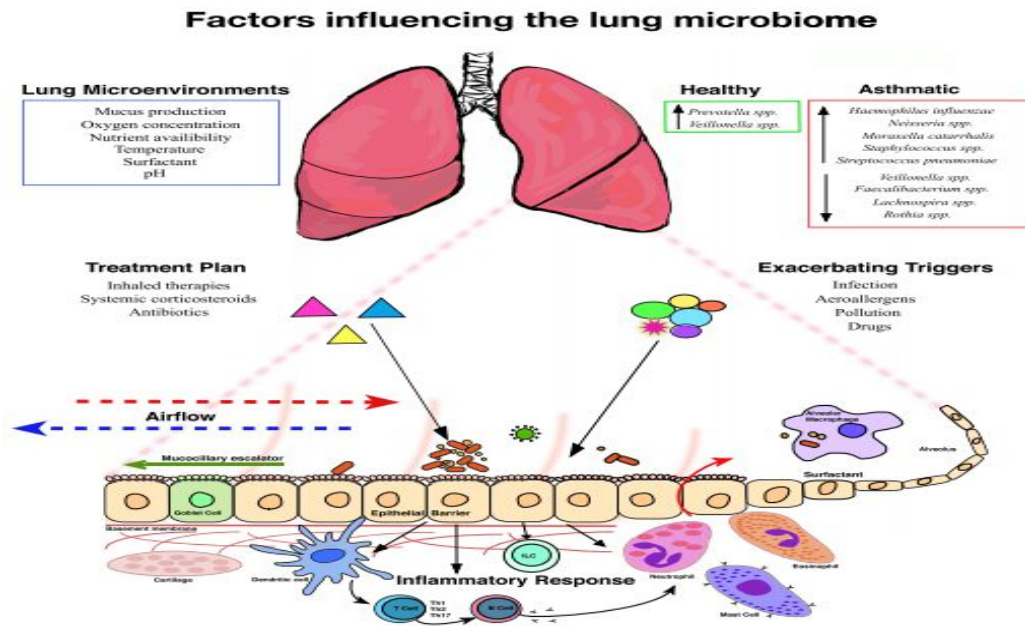


Figure.1.4. Facteurs influençant le microbiome pulmonaire.

Schéma illustrant les facteurs complexes affectant le microbiome pulmonaire dans l'asthme. Le microenvironnement pulmonaire sélectionne d'infection et des microbes spécifiques qui changent d'asthme en raison de facteurs environnementaux, et d'options de traitement qui modulent la cascade inflammatoire à l'interface épithéliale et le microbiome correspondant. (Sullivan et al., 2016)

1.5.3. Effets des antibiotiques sur la composition de microbiote

Les antibiotiques sont l'un des facteurs principaux pouvant perturber la composition du microbiotes. Il existe maintenant des preuves irréfutables d'altérations majeures du microbiote après un traitement aux antibiotiques.(Dethlefsen et al., 2008; Jernberg et al., 2007; Sullivan et al., 2001)Bien que les taxons particuliers affectés varient selon les individus, en général, il existe une diminution à long terme de la diversité bactérienne. Après un traitement aux antibiotiques, la communauté bactérienne établie se remodèle dans l'intestin, ce qui permet aux microbes étrangers qui peuvent se dissocier de devenir des bactéries commensales de causer des modifications permanentes de la structure du microbiote et divers états pathologiques c'est -à -dire la résistance à la colonisation est réduite.(Sommer et al., 2009).

1.5.4. Relation entre la composition du microbiome des voies respiratoires et les caractéristiques de la maladie

Cette relation provient d'une étude menée chez des patients sensibles aux corticostéroïdes (CS) ou résistants (CR). (Goleva et al., 2013) qui ont démontré la présence de microbiomes pulmonaires. Pour les patients corticorésistant, on a observé une augmentation de lipopolysaccharide (LPS), et on a observé une prédominance de protéobactéries avec de courtes chaînes acyles, dont la capacité de déclencher le récepteur de type Toll 4, et l'activité endotoxique est élevée, et conduisant à la production d'IL-8 pro-inflammatoire. Et pour les patients atteints de CS, les microbiomes étaient principalement constitués de membres de *Bradyrhizobium* et de *Fusobacterium*, possédant un LPS à chaîne acyle plus longue censé conférer une capacité réduite à induire des réponses immunitaires innées de l'hôte et une endotoxicité relativement plus faible. (Fujimura and Lynch, 2015; Tomosada et al., 2013).

1.5.5. Risque d'exacerbation de l'asthme

RV était détectée simultanément avec les microbiomes des voies respiratoires, donc ce risque augmentait significativement, par rapport aux enfants n'ayant aucun agent pathogène bactérien ou viral. La présence de RV ne permettait pas de prévoir la détection d'agents pathogènes des voies respiratoires, mais sa découverte augmentait les chances de détecter ces agents pathogènes bactériens (Bisgaard et al., 2010). ce qui suggère que le RV pourrait modifier l'environnement des voies respiratoires et les perturbations observées au début de la vie dans cette communauté ont été liées au développement de l'asthme chez les enfants. (Fujimura and Lynch, 2015).

La vitamine D n'est utilisée que pour la prévention primaire de l'asthme, mais elle joue également un rôle dans l'exacerbation de l'asthme. Les niveaux élevés de vitamine D étaient liés à une réduction des exacerbations de l'asthme (Brehm et al., 2009) et une autre relations de causalité entre les taux sériques de vitamine D et les exacerbations. Donc cette étude a confirmé que moins de niveaux de vitamine D avaient un risque accru d'exacerbations de l'asthme. En outre, l'étude a également conclu que les enfants présentant une insuffisance en vitamine D présentaient un risque plus élevé d'exacerbation. Donc la vitamine D joue un rôle protecteur contre les exacerbations de l'asthme. (Brehm et al., 2010)

1.5.6. Fibre alimentaire et maturation des cellules immunitaires

Les fibres alimentaires sont des glucides complexes présents dans les aliments. Ils se présentent sous des formes solubles et insolubles. Les fibres solubles sont partiellement ou complètement fermentées par des bactéries commensales dans le côlon pour produire des sous-produits physiologiquement actifs, notamment les acides gras à chaîne courte (SCFA).

(Roberfroid, 2005) Un régime pauvre en fibres s'est révélé associé à une augmentation de l'inflammation des voies respiratoires, par conséquent, un faible apport en fibres peut contribuer à la physiopathologie de l'asthme. (Berthon et al., 2013; Wood, 2017) les facteurs alimentaires pendant l'enfance jouent un rôle important dans la détermination de l'expression de la maladie (Hijazi et al., 2000) des études suggèrent que le microbiote produisant des SCFA pourrait être important pour la protection contre l'allergie alimentaire. (McKenzie et al., 2017) les bases cellulaires de l'asthme s'est concentré sur les réponses aberrantes des cellules T, en particulier les cellules Th2, un rôle important est apparu pour d'autres types de cellules, notamment l'épithélium pulmonaire et les T regs. (Lambrecht and Hammad, 2012) ainsi l'asthme alimentaire implique des réponses chroniques des cellules Th2 qui conduisent à une inflammation allergique et peut être fatal lorsque les réponses conduisent à l'anaphylaxie. (Flohr and Mann, 2014) et se caractérise par une barrière épidermique altérée conduisant à une réponse aberrante de Th2, Th17 ou Th22 aux allergènes (Eyerich and Noth and Novak, 2013).



Figure.1.5. Différence entre un régime riche en fibres ou sans fibres (Thorburn et al., 2015).

1.5.7. Axe nutrition-microbiome intestinal-physiologie et la maladie d'asthme

Les réponses immunitaires sont influencées par les métabolites alimentaires et bactériens. La fibre est fermentée en acides gras à chaîne courte, alors que le microbiome intestinal est contenu dans ce mélange, est distribué dans les tissus du corps. Donc l'axe nutrition-microbiome intestinal-physiologie sous-tend au moins une partie de l'influence du mode de vie sur l'asthme, il est alors tout à fait possible de le corriger avec des probiotiques, et des aliments sains et des prébiotiques. (Alvarez-Curto and Milligan, 2016) Ces métabolites

favorisent également les effets à long terme par le biais de mécanismes épigénétiques, L'asthme est probablement lié au régime car la nutrition et les métabolites bactériens ont un impact sur l'immunologie, tous été associés à la consommation d'un régime alimentaire, généralement riche en graisses et en sucres et pauvre en fibres. (Thorburn et al., 2014).

1.5.8. Métabolites liés aux microbiotes et aux régimes alimentaires pour des réponses immunes

L'énergie est extraite de notre alimentation soit par absorption de métabolites secondaires produits par des bactéries intestinales soit par métabolisme direct des aliments consommés. Les quatre principaux mécanismes qui seront développés sont: (McKenzie et al., 2017).

- l'intégrité épithéliale et le rôle des mécanismes de détection des métabolites, notamment les GPCR et l'inhibition des HDAC. par métabolites.
- influence des métabolites sur la biologie CD103 + / Treg.
- métabolites et équilibre IgA / IgE.
- détection du proton (pH) par les GPCR et effets sur les leucocytes allergiques tels que les éosinophiles.

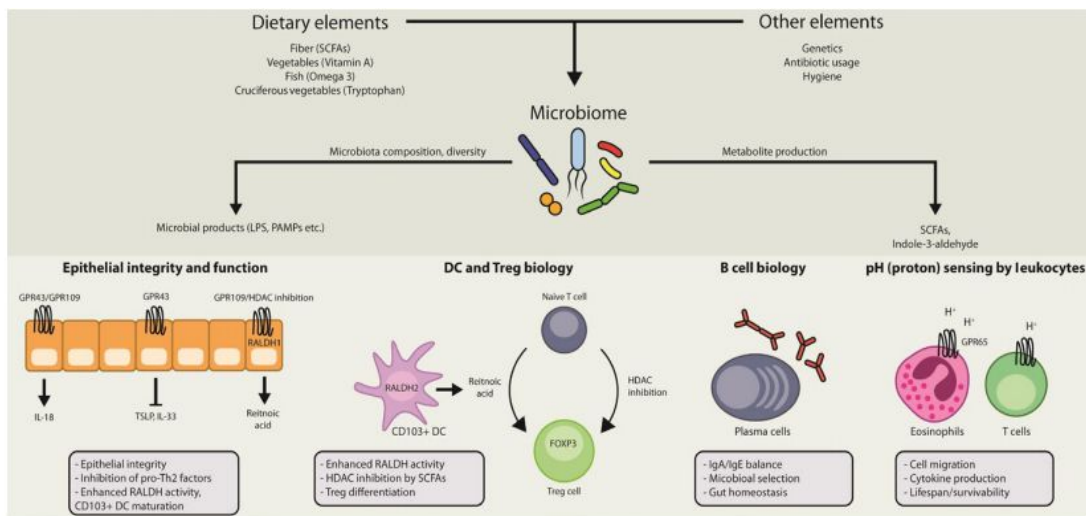


Figure.1.6. Relation entre le régime alimentaire, le microbiome intestinal et les réponses allergiques. Le contact entre le microbiote et le système immunitaire peut se produire directement par le biais de produits microbiens tels que le LPS ou indirectement par le biais de produits métaboliques comme les SCFA. (McKenzie et al., 2017).

1.5.9. Incidence de l'asthme et relation avec le régime alimentaire et les métabolites

Le risque accru de développer l'asthme a été associé avec une valeur nutritionnelle médiocre généralement riche en graisses et en sucres et pauvre en fibres. (Ellwood et al., 2013) Les aliments non transformés qui ont une valeur nutritionnelle élevée sont associés à un risque réduit d'asthme, c'est-à-dire un régime riche fibres. (Garcia-Marcos et al., 2013) Il est nécessaire de noter que les Tregs et l'épithélium sont étroitement associés au régime alimentaire et au microbiote intestinal, alors que les fibres alimentaires ont également réduit le sérum IgE (Lambrecht and Hammad, 2012). Une consommation insuffisante de métabolites explique l'asthme. (McKenzie et al., 2017) ainsi le régime alimentaire agissant sur le microbiote intestinal influe profondément sur la réponse des voies respiratoires et peut constituer une approche de prévention de l'asthme. (Thorburn et al., 2015).

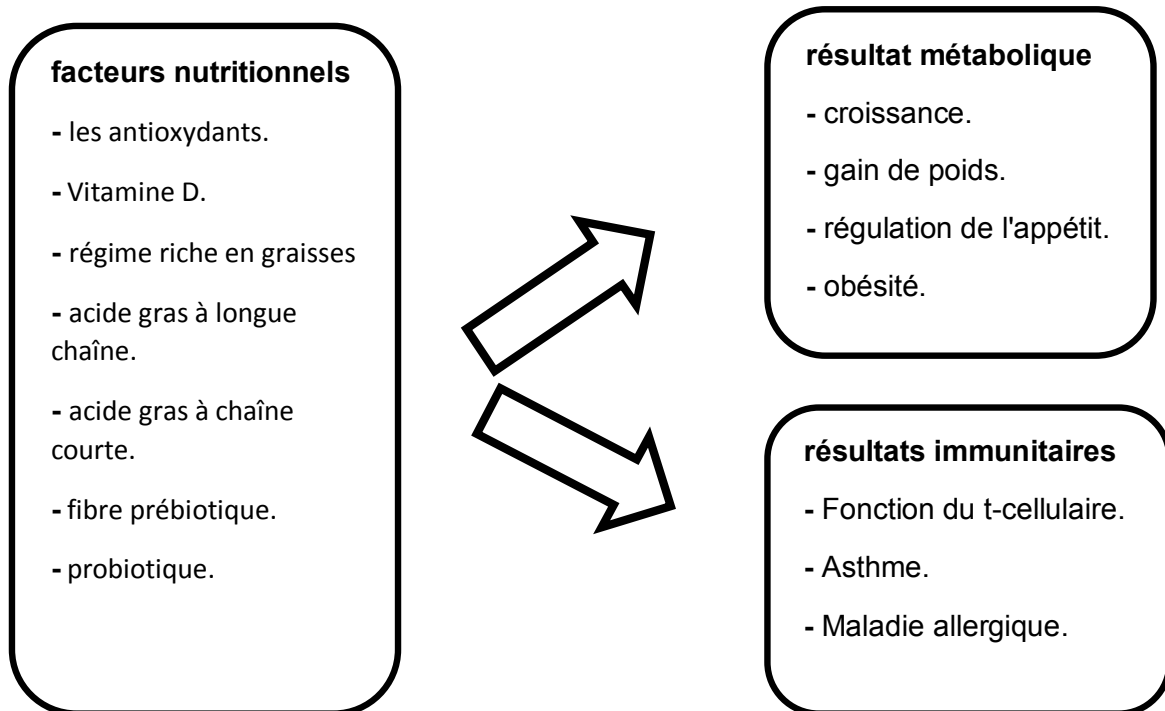


Figure.1.7. Influences nutritionnelles ayant un effet métabolique et immunitaire.

(Palmer et al., 2014)

1.6. Eosinophile salivaire

Les éosinophiles ont été considérées comme des cellules de protection contre l'inflammation allergique, parce qu'elles libèrent de l'histaminase, pouvant neutraliser les effets de certains médiateurs libérés par d'autres cellules. Ces cellules sont libèrent des protéines cationique et généralement sont à l'état activé, Bien que la plupart des asthmatiques présentent des éosinophiles dans leurs bronches donc les éosinophiles jouer un rôle majeur dans l'asthme. (Bousquet et al., 1994).

1.6.1. Asthme allergique et éosinophile salivaire

Tout asthme était considéré comme éosinophile. Ce phénotype peut être présent à tout âge. (Lötvall et al., 2011) L'interaction complexe entre les médiateurs inflammatoires et les cellules et l'altération de la tolérance immunogène favorisent les lésions des voies respiratoires (Ali and Nanji, 2017) ce risque accru de développement récurrent de la respiration sifflante et de l'asthme, des taux significativement plus élevés d'éosinophiles et de sérum total IgE (Fujimura and Lynch, 2015) donc l'asthme est typiquement conduit à un changement de classe IgE, à la production d'IgE à partir de plasmocytes et à un recrutement éosinophile dans les poumons et une réponse Th2 par laquelle la libération des cytokines Th2, IL-4, IL-5 et IL-13 (Azad et al., 2013) La production d'IL-13 à partir de cellules Th2 stimule la production d'IgE à partir de cellules B, ce qui active les éosinophiles et les mastocytes qui peuvent ensuite dégrader et libérer de l'histamine. (McKenzie et al., 2017) l'infiltration des éosinophiles entraînent un épaissement des cellules épithéliales, une production accrue de mucus, et donc une hyperréactivité des voies aériennes (Wittke et al., 2004) la technique d'induction de crachats qui a permis de caractériser des populations de patients plus diverses a révélé une relation complexe entre l'inflammation à éosinophiles et d'autres marqueurs de l'asthme c'est à dire les éosinophiles jouent un rôle important dans la pathogenèse de l'asthme. (Brightling, 2006).

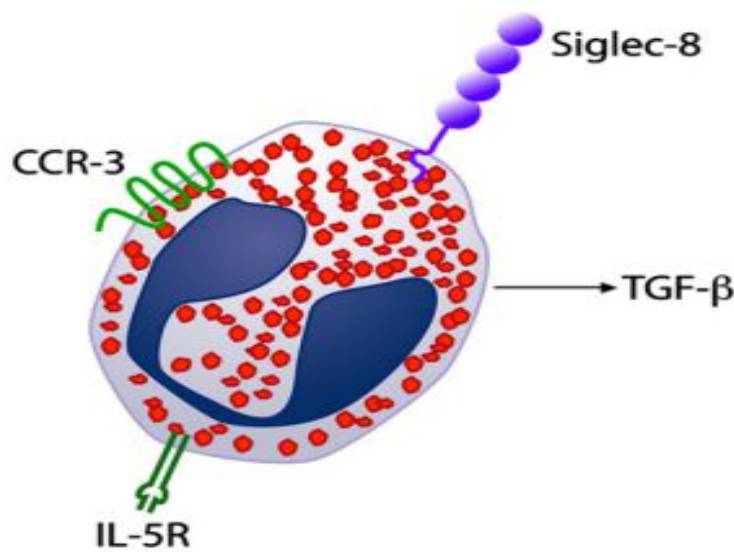


Figure.1.8. Éosinophiles et progression de l'asthme.

Les éosinophiles expriment des récepteurs qui induisent leur prolifération (récepteur de l'IL-5), leur chimioattraction dans les tissus (CCR-3) et leur apoptose (Siglec-8). (Broide, 2008).

1.6.2. Eosinophile protéine cationique (ECP) et inflammation des voies respiratoires

Chez les enfant asthmatiques, la ECP sérique s'est également révélée être un marqueur plus sensible de la sévérité de l'asthme que le nombre d'éosinophiles, potentiellement utile pour mesurer les biomarqueurs de l'asthme (Koh et al., 2003) Il augmente lors d'exacerbations de l'asthme causées par des infections des voies respiratoires supérieures. (Yasuda et al., 2005).

1.6.3. Corrélation entre l'éosinophilie salivaire et la fonction pulmonaire

L'association entre éosinophilie et asthme a été observée pour la première fois peu de temps après la découverte des éosinophiles. Chez les patients asthmatiques, les éosinophiles sont constitués un facteur de risque pour des modifications irréversibles de la fonction pulmonaire et le développement du remodelage, et sont présentent en plus grand nombre (Lieberman, 2007) la différenciation et l'activation des éosinophiles principalement impliqués par L'IL-3, l'IL-5, et le GM-CSF, aussi induisent la différenciation des progéniteurs et favorisent la survie locale des éosinophiles, et augmentent leur pool disponibles dans la circulation. Traditionnellement, les éosinophiles ont été considérés comme des cellules effectrices dans le développement de la réponse inflammatoire (Coumou and Bel, 2016). L'IL-9 produite par les éosinophiles entre-temps pouvait également favorise sa maturation en synergie avec IL-5 (Horka et al., 2012) .Lors de l'activation, les éosinophiles peuvent libérer des protéines

dérivées de granulocytes, dont les plus toxiques sont la protéine cationique éosinophile (ECP) et la protéine de base majeure (MBP) (Koh et al., 2007) Des concentrations de marqueur salivaire montre que IL-5, IL-6, plus élevées dans la salive recueillies chez les asthmatiques(Little et al., 2014) Cependant, ont postulé que la PCE de la salive reflétait une conséquence physiopathologique des éosinophiles présents dans toute l'étendue des voies respiratoires et de la muqueuse buccale.(Malm-Erfjält et al., 2005).

1.7. Problématique et objectifs

1.7.1. Problématique

L'asthme est un trouble chronique courant des voies respiratoires, causer une large gamme inflammatoire non transmissibles. Cependant, ce phénotype peut déjouer le système immunitaire .Par ailleurs, la vitamine D joue un rôle clé dans la modulation de la maladie asthmatique, du fait de son action directe sur des cellules variées du système immunitaire, notamment les éosinophiles qui sont considérées comme des cellules de protection contre l'inflammation allergique. Dans cette optique, nous avons évalué l'effet de la vitamine D combiné ou non aux fibres alimentaires sur les éosinophiles salivaires pour le profil inflammatoire et le contrôle de l'asthme chez l'enfant.

1.7.2. Objectif

Evaluation du taux d'éosinophiles salivaires avant et après la suppléments en vitamine D combiné ou non aux fibres alimentaires chez l'enfant asthmatique.

1.7.3. But

Prouver l'effet bénéfique de la supplémentation en vitamine D et/ou fibre alimentaire sur le contrôle de l'asthme allergique non contrôlé chez l'enfant.et Identifier la présence des éosinophiles dans la salivaire.



CHAPITRE 2.

MATERIELS ET METHODES

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

2.1. Patients et sujets.

On a mené une étude sur 83 enfants asthmatiques d'âge scolaire de 4 ans à 17 ans et nous procédons au recrutement de quatre groupes suivis en consultation spécialisée au niveau du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie de l'Université de Tlemcen. les parents des patients doivent signer un consentement éclairé. Cette étude a été réalisée durant une période de 1 mois.les enfants sont classés selon les critères GINA en partiellement à non contrôlés malgré une bonne observance thérapeutique, matchés pour l'âge, le sexe et l'Indice de Masse Corporelle, et sont répartis comme suit:

tirage au sort des patients pour constituer les 4 groupes de l'étude.

Groupe 1 : Enfants asthmatiques, non supplémentés ni en vitamine D ni en fibres alimentaires.

Groupe 2 : Enfants asthmatiques supplémentés en vitamine D.

Groupe 3 : Enfants asthmatiques supplémentés en fibres alimentaires .

Groupe 4 : Enfants asthmatiques supplémentés en vitamine D et en fibres alimentaires.

Tableau 2.1. Critère d'inclusion, non inclusion et d'exclusion de l'étude

Critère d'inclusion	Critères non inclusion	Critères d'exclusion
<ul style="list-style-type: none"> • Enfants asthmatique entre 04 et 17 ans. • Enfants prenant correctement leur traitement de fond. • Enfants recevant une éducation thérapeutique correcte. • Enfants bien suivis, classés comme partiellement à non contrôlés malgré une bonne observance thérapeutique. • Enfants eutrophiques sur le plan staturopondéral. 	<ul style="list-style-type: none"> • Enfants sous antibiothérapie ou ayant été sous antibiotiques durant le mois précédent l'étude. • Enfants présentant une autre maladie. • Enfants obèse. • Enfants asthmatiques partiellement contrôlés non observants au traitement de fond. 	<ul style="list-style-type: none"> • Enfants qui vont développer une autre maladie. • Enfants qui ne suivront pas le protocole de notre intervention : refus ou oublie de la VD ou manquement au régime alimentaire prescrit. • Enfants perdus de vue pour raison de déménagement ou autres. • Enfants ayant pris des antibiotiques durant l'étude.

2.2. Prélèvements salivaires

Les échantillons salivaires ont été recueillis dans des pots stériles puis transféré dans des tubes Eppendorfs et conservés à -20°C.



Figure.2.1. Echantillons de la salive.

2.3. Mise en évidence des cellules (éosinophile)

2.3.1. Préparation de frottis salivaire

Les étapes de réalisation d'un frottis salivaire sont les suivantes :

- Marquer les frottis.
- Déposer une petite goutte de salive de l'extrémité d'une lame propre.
- Maintenir cette lame d'une main et de l'autre, incliner à 45° une deuxième lame à bords rodés, juste à l'avant de la goutte.
- L'amener au contact sans l'y faire pénétrer.
- Sécher rapidement par agitation à l'air.

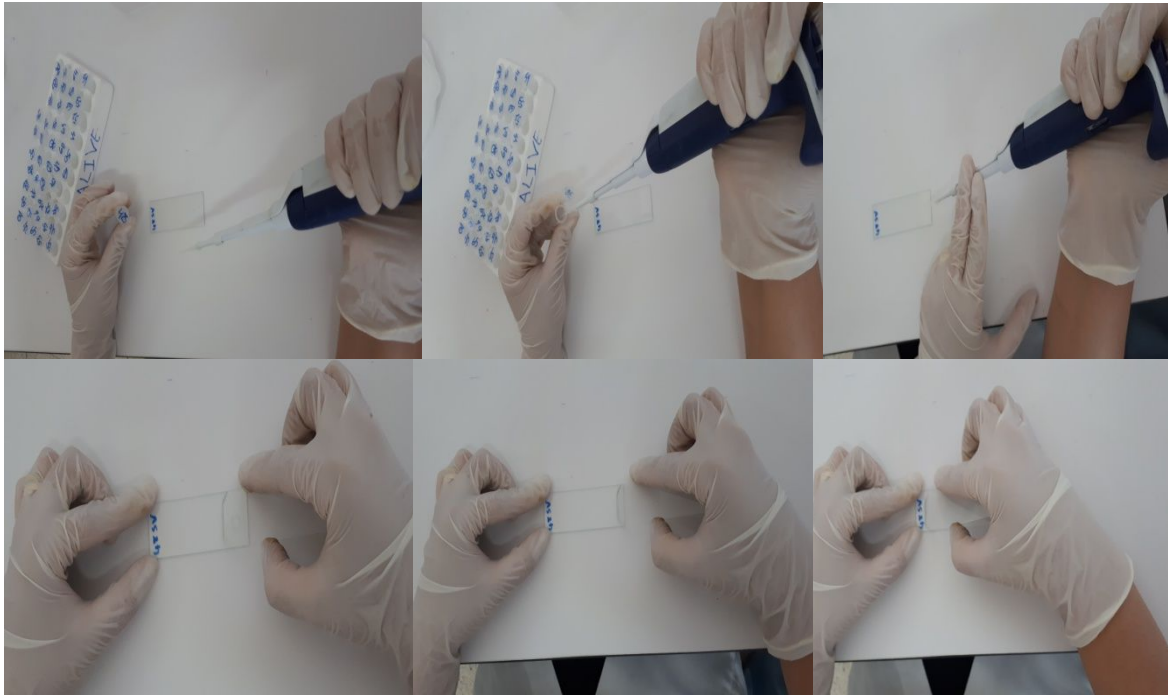


Figure.2.2. Préparation de frottis.

2.3.2. Coloration de frottis

La coloration de frottis a été réalisée selon la méthode May-Grünwald Giemsa.

2.3.2.1. Principe de la coloration MGG

La méthode panoptique décrite en 1908 Par Pappenheim consiste à faire agir successivement deux colorants neutres, le mélange de May-Grünwald (1902) issu du mélange de Romanowsky (1891) et le mélange de Giemsa (1904).

Sur Des préparations fixées par dessiccation rapide, la méthode de Pappenheim colore les cellules de façon très nuancée, mettant particulièrement en évidence le caractère basique ou acide des cytoplasmes et les granulations des leucocytes (Piaton et *al.*, 2015).

2.3.2.2. Technique

La coloration s'effectue par immersion des lames fraîchement préparées dans des bacs a Coloration.

Le passage d'un bac à l'autre s'effectue à la main, ou sur l'appareil automatique dont le Programme est établi pour les séquences suivants :

- 1) May Grunwald pure pendant 2 min.

2) May Grunwald dilué au $\frac{1}{2}$ pendant 3min.

3) Giemsa dilué au 1/10 pendant 5min.

4) Giemsa dilué au 1/10 pendant 5min.

5) Giemsa dilué au 1/10 pendant 5 min.

6) Eau tamponnée PH=7 pendant 2 min.

7) Eau tamponnée PH=7 pendant 3min.

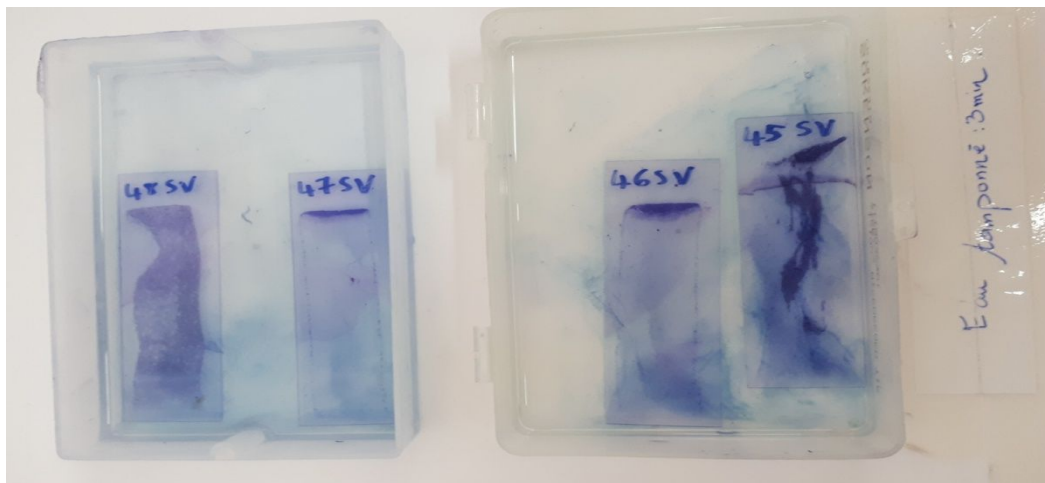


Figure.2.3. Coloration de frottis à l'étapes eau tamponné 3min.

Les lames sont ensuite égouttées et séchées à l'air avant de lire les frottis.

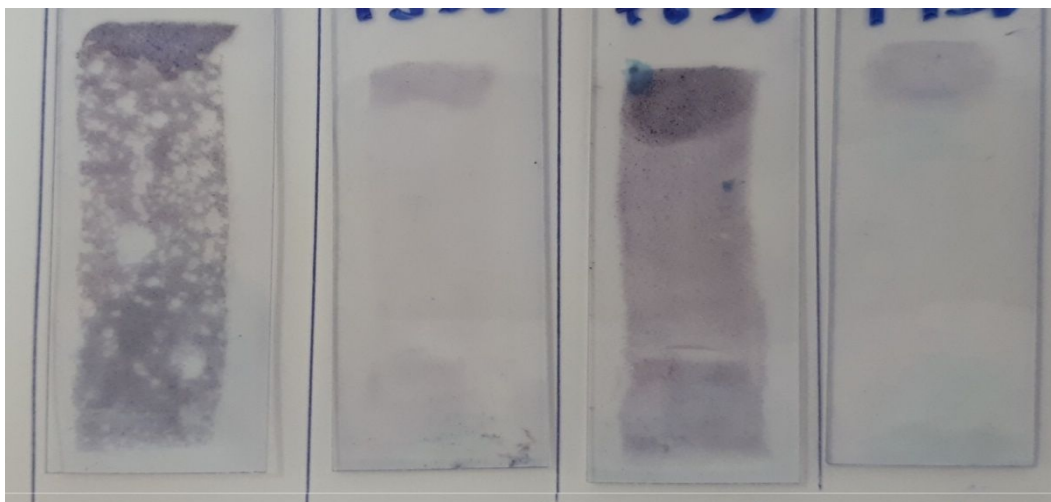


Figure .2.4. Frottis après coloration MGG.



CHAPITRE 3.
RESULTATS ET INTERPRETATION

3. Résultat

Nos résultats ont montré pour la première fois par la méthode May-Grünwald Giemsa, la présence des éosinophiles salivaires chez 03 patients asthmatiques supplémentés en vitamine D uniquement cependant la différence d'aspect microscopique chez les mêmes malades a été détectée après la supplémentation en vitamine D et on a rien trouvé. Dans le groupe supplémenté seulement en fibre alimentaire on a trouvé une seule personne qui a eu l'éosinophile avant la supplémentation, et deux malades dans le groupe témoin, et on a rien trouvé dans le groupe supplémenté par les deux, mais après la supplémentation les éosinophiles sont disparus dans les 04 groupes.

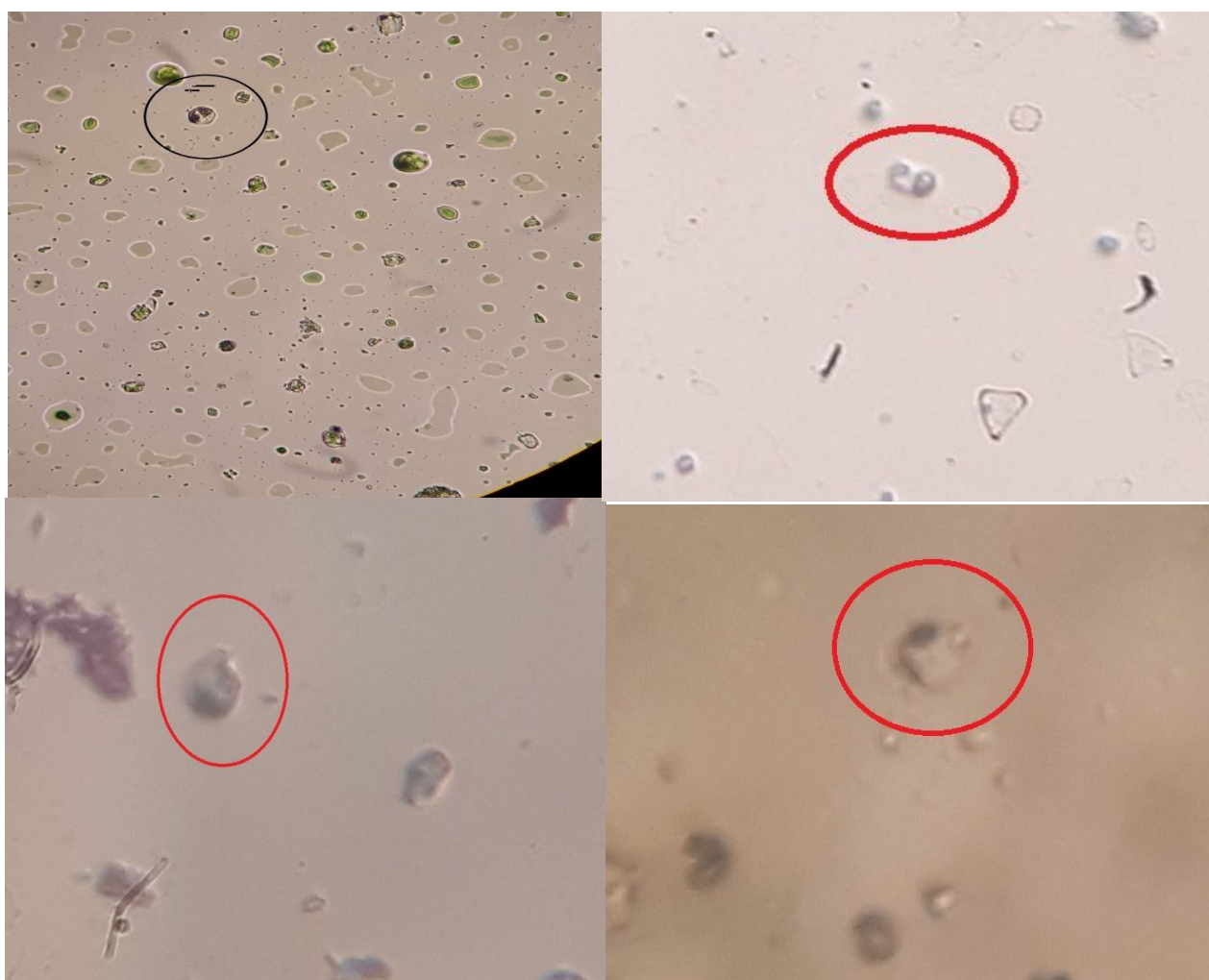


Figure 3.1. Observation Microscopique d'Eosinophile salivaire (x40) avant la supplémentation en VitD+/FA-, VitD-/FA+, VitD-/FA-



CHAPITRE 4

Discussion

4. Discussion

L'asthme allergique est une maladie hétérogène, définie cliniquement comme une obstruction réversible des flux d'air ; Immunologiquement par l'hyper-activation des lymphocytes T helper 2 (Th2) et la surexpression des cytokines anti-inflammatoires IL-4, IL-5, IL-9 et l'IL-13 (Tong and Wesemann, 2015) Causés par une réaction inflammatoire médiée par les IgE (Miraglia Del Giudice et al., 2017). Plusieurs cellules immunitaires jouent un rôle très important au cours de l'asthme allergique y compris les éosinophiles (Miraglia Del Giudice et al., 2017) qui sont considérées comme des cellules de protection contre l'inflammation allergique, parce qu'elles libèrent de l'histaminase. (Bousquet et al., 1994).

la vitamine D est associée à un large éventail de maladies pulmonaires et présente un intérêt particulier dans l'asthme en raison de ses effets immunomodulateurs (Baeke et al., 2010) Les fibres alimentaires sont des glucides complexes présents dans les aliments. Ils se présentent sous des formes solubles et insolubles (Roberfroid, 2005) Un régime pauvre en fibres s'est révélé associé à une augmentation de l'inflammation des voies respiratoires, par conséquent, un faible apport en fibres peut contribuer à la physiopathologie de l'asthme. (Berthon et al., 2013; Wood, 2017) Dans cette optique, nous avons testé l'effet de suppléments en fibres alimentaires et/ou la vitamine D sur l'aspect microscopique des éosinophiles au cours de l'asthme.

Nos résultats ont montré pour la première fois par la méthode May-Grünwald Giemsa, la présence des éosinophiles salivaires chez 03 patients asthmatiques supplémentés en vitamine D uniquement cependant la différence d'aspect microscopique a été détectée après la supplémentation en vitamine D et fibres alimentaires et on a rien trouvé. Dans le groupe supplémenté seulement en fibre alimentaire on a trouvé un seul patient qui a eu l'éosinophile avant la supplémentation. et deux malades dans le groupe témoin. et on a rien trouvé dans le groupe supplémenté par les deux, mais après la supplémentation les éosinophiles sont disparus dans les 04 groupes.

Ce n'est pas possible de discuter nos résultats en les comparant avec d'autres études, il y a un seul article qui parle sur les éosinophiles salivaires mais pas avec notre méthode. parce que on a pas l'habitude dans le monde entier d'identifier les éosinophiles salivaires par la méthode May-Grünwald Giemsa, Nous enquêtons pour la première fois l'effet de la supplémentation en fibres alimentaires et/ou la vitamine D sur l'aspect microscopique des éosinophiles au cours de l'asthme et c'était la première fois qu'une étude révèle la présence des éosinophiles salivaires effectivement on a pris que 3 lames avant la supplémentation où on a trouvé les éosinophiles, et on a pris chez les mêmes malades après la supplémentation les éosinophiles sont disparus.



CHAPITRE 5.
CONCLUSION

Chapitre 5 : Conclusion et perspectives

L'asthme allergique est la maladie chronique la plus fréquente chez les enfants, ces derniers influencent l'expression de plusieurs cellules y compris les éosinophiles qui sont considérées comme des cellules de protection contre l'inflammation respiratoire.

L'asthme est un problème majeur de santé qui ne peut pas être guéri, mais peut être contrôlée. Associé à une obstruction des voies respiratoires et à une hypersensibilité bronchique.

De plus, certaines molécules bioactives telle que la vitamine D connue par son effet modulateur des réponses immunitaires dans la régulation et la modulation de la maladie asthmatique.

A l'issu de ce travail, portant sur l'effet de la vitamine D combiné ou non aux fibres alimentaires sur les éosinophiles salivaires au cours de l'asthme allergique non contrôlé chez l'enfant on a identifier et pour la première fois par la méthode **May-Grünwald Giemsa** des éosinophiles salivaires et essai de comparer l'aspect avant et après la supplémentsations en vitamine D et les fibres alimentaires.

En terme de perspectives, Il serait intéressant d'augmenté la taille des échantillons et de chercher l'impact et les approches à venir pour montrer que la salive contient des cellules à éosinophiles

Enfin, il faudrait également faire des études approfondie et amélioré l'échantillon pour explorer si des avantages thérapeutiques dans l'asthme fourniront un marqueur utile et peuvent être dérivés par la manipulation des éosinophiles salivaire.



BIBLIOGRAPHIE

Bibliographies

A

Adams, J.S., and Hewison, M. (2008). Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 4, 80–90.

Ali, N.S., and Nanji, K. (2017). A Review on the Role of Vitamin D in Asthma. *Cureus* 9, e1288.

Alvarez-Curto, E., and Milligan, G. (2016). Metabolism meets immunity: The role of free fatty acid receptors in the immune system. *Biochem. Pharmacol.* 114, 3–13.

Azad, M.B., Konya, T., Maughan, H., Guttman, D.S., Field, C.J., Sears, M.R., Becker, A.B., Scott, J.A., and Kozyrskyj, A.L. (2013). Infant gut microbiota and the hygiene hypothesis of allergic disease: impact of household pets and siblings on microbiota composition and diversity. *Allergy Asthma Clin Immunol* 9, 15

B

Baeke, F., Takiishi, T., Korf, H., Gysemans, C., and Mathieu, C. (2010). Vitamin D: modulator of the immune system. *Current Opinion in Pharmacology* 10, 482–496.

Barnig, C., Cernadas, M., Dutilleul, S., Liu, X., Perrella, M.A., Kazani, S., Wechsler, M.E., Israel, E., and Levy, B.D. (2013). Lipoxin A4 regulates natural killer cell and type 2 innate lymphoid cell activation in asthma. *Sci Transl Med* 5, 174ra26.

Barragan, M., Good, M., and Kolls, J.K. (2015). Regulation of Dendritic Cell Function by Vitamin D. *Nutrients* 7, 8127–8151.

Bartlett, N.W., Walton, R.P., Edwards, M.R., Aniscenko, J., Caramori, G., Zhu, J., Glanville, N., Choy, K.J., Jourdan, P., Burnet, J., et al. (2008). Mouse models of rhinovirus-induced disease and exacerbation of allergic airway inflammation. *Nat. Med.* 14, 199–204.

Berthon, B.S., Macdonald-Wicks, L.K., Gibson, P.G., and Wood, L.G. (2013). Investigation of the association between dietary intake, disease severity and airway inflammation in asthma. *Respirology* 18, 447–454.

Bisgaard, H., Hermansen, M.N., Bønnelykke, K., Stokholm, J., Baty, F., Skytt, N.L., Aniscenko, J., Kebabdz, T., and Johnston, S.L. (2010). Association of bacteria and viruses with wheezy episodes in young children: prospective birth cohort study. *BMJ* 341, c4978.

Borish, L. (2016). The immunology of asthma: Asthma phenotypes and their implications for personalized treatment. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 117, 108–114.

Boulet, L.-P., FitzGerald, J.M., Levy, M.L., Cruz, A.A., Pedersen, S., Haahtela, T., and Bateman, E.D. (2012). A guide to the translation of the Global Initiative for Asthma (GINA) strategy into improved care. *Eur Respir J* 39, 1220–1229.

Bousquet, J., Chanez, P., Vignola, A.M., Lacoste, J.Y., and Michel, F.B. (1994). Eosinophil inflammation in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 150, S33-38.

Boussoffara, L., Keskes Boudawara, N., Loukil, M., Touil, I., and Knani, J. (2017). [Asthma control and quality of life]. *Rev Pneumol Clin* 73, 225–230.

Brehm, J.M., Celedón, J.C., Soto-Quiros, M.E., Avila, L., Hunninghake, G.M., Forno, E., Laskey, D., Sylvia, J.S., Hollis, B.W., Weiss, S.T., et al. (2009). Serum Vitamin D Levels and Markers of Severity of Childhood Asthma in Costa Rica. *Am J Respir Crit Care Med* 179, 765–771.

Brehm, J.M., Schuemann, B., Fuhlbrigge, A.L., Hollis, B.W., Strunk, R.C., Zeiger, R.S., Weiss, S.T., and Litonjua, A.A. (2010). Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the Childhood Asthma Management Program study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 126, 52-58.e5.

Brightling, C.E. (2006). Clinical applications of induced sputum. *Chest* 129, 1344–1348.

Broide, D.H. (2008). Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 121, 560–570.

Burke, H., Leonardi-Bee, J., Hashim, A., Pine-Abata, H., Chen, Y., Cook, D.G., Britton, J.R., and McKeever, T.M. (2012). Prenatal and Passive Smoke Exposure and Incidence of Asthma and Wheeze: Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatrics* 129, 735–744.

C

Cabreiro, F., and Gems, D. (2013). Worms need microbes too: microbiota, health and aging in *Caenorhabditis elegans*: The *C. elegans* -microbe holobiont. *EMBO Mol Med* 5, 1300–1310.

Chambers, E.S., and Hawrylowicz, C.M. (2011). The Impact of Vitamin D on Regulatory T Cells. *Curr Allergy Asthma Rep* 11, 29–36.

Chang, Y.-J., Kim, H.Y., Albacker, L.A., Baumgarth, N., McKenzie, A.N.J., Smith, D.E., Dekruyff, R.H., and Umetsu, D.T. (2011). Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-reactivity independently of adaptive immunity. *Nat. Immunol.* *12*, 631–638.

Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., and Knight, R. (2012). The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell* *148*, 1258–1270.

Correale, J., Ysraelit, M.C., and Gaitán, M.I. (2009). Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis. *Brain* *132*, 1146–1160.

Coumou, H., and Bel, E.H. (2016). Improving the diagnosis of eosinophilic asthma. *Expert Rev Respir Med* *10*, 1093–1103.

D

Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M.L., and Relman, D.A. (2008). The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing. *PLoS Biol* *6*, e280.

Dieffenderfer, J., Goodell, H., Mills, S., McKnight, M., Yao, S., Lin, F., Beppler, E., Bent, B., Lee, B., Misra, V., et al. (2016). Low-Power Wearable Systems for Continuous Monitoring of Environment and Health for Chronic Respiratory Disease. *IEEE J Biomed Health Inform* *20*, 1251–1264.

Do, Q.T., Doig, A.K., Son, T.C., and Chaudri, J.M. (2018). Personalized Prediction of Asthma Severity and Asthma Attack for a Personalized Treatment Regimen. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* *2018*,1–5.

Ducharme, F.M., Tse, S.M., and Chauhan, B. (2014). Diagnosis, management, and prognosis of preschool wheeze. *Lancet* *383*, 1593–1604.

E

Ellwood, P., Asher, M.I., Billo, N.E., Bissell, K., Chiang, C.-Y., Ellwood, E.M., El-Sony, A., García-Marcos, L., Mallol, J., Marks, G.B., et al. (2017). The Global Asthma Network rationale and methods for Phase I global surveillance: prevalence, severity, management and risk factors. *Eur. Respir. J.* *49*.

Erkosar, B., Storelli, G., Defaye, A., and Leulier, F. (2013). Host-Intestinal Microbiota Mutualism: “Learning on the Fly.” *Cell Host & Microbe* *13*, 8–14.

Ertesvag, A., Engedal, N., Naderi, S., and Blomhoff, H.K. (2002). Retinoic acid stimulates the cell cycle machinery in normal T cells: involvement of retinoic acid receptor-mediated IL-2 secretion. *J. Immunol.* *169*, 5555–5563.

van Etten, E., and Mathieu, C. (2005). Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *97*, 93–101.

Eyerich, K., and Novak, N. (2013). Immunology of atopic eczema: overcoming the Th1/Th2 paradigm. *Allergy* *68*, 974–982.

F

Flohr, C., and Mann, J. (2014). New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis. *Allergy* *69*, 3–16.

for the Center for Childhood Asthma in the Urban Environment, Bose, S., Breyse, P.N., McCormack, M.C., Hansel, N.N., Rusher, R.R., Matsui, E., Peng, R., Curtin-Brosnan, J., and Diette, G.B. (2013). Outdoor exposure and vitamin D levels in urban children with asthma. *Nutr J* *12*, 81.

Fujimura, K.E., and Lynch, S.V. (2015). Microbiota in Allergy and Asthma and the Emerging Relationship with the Gut Microbiome. *Cell Host & Microbe* *17*, 592–602.

G

Garcia-Marcos, L., Castro-Rodriguez, J.A., Weinmayr, G., Panagiotakos, D.B., Priftis, K.N., and Nagel, G. (2013). Influence of Mediterranean diet on asthma in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol* *24*, 330–338.

Goleva, E., Jackson, L.P., Harris, J.K., Robertson, C.E., Sutherland, E.R., Hall, C.F., Good, J.T., Gelfand, E.W., Martin, R.J., and Leung, D.Y.M. (2013). The Effects of Airway Microbiome on Corticosteroid Responsiveness in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* *188*, 1193–1201.

Gorski, S.A., Hahn, Y.S., and Braciale, T.J. (2013). Group 2 innate lymphoid cell production of IL-5 is regulated by NKT cells during influenza virus infection. *PLoS Pathog.* *9*, e1003615.

Gupta, A., Dimeloe, S., Richards, D.F., Chambers, E.S., Black, C., Urry, Z., Ryanna, K., Xystrakis, E., Bush, A., Saglani, S., et al. (2014). Defective IL-10 expression and in vitro steroid-induced IL-17A in paediatric severe therapy-resistant asthma. *Thorax* *69*, 508–515.

H

Haines, A., Davies, E., Higgins, B., Menzies-Gow, A., Thomas, M., Masoli, M., and Gaillard, E. (2015). Identifying The Most Cost-Effective Way of Diagnosing Asthma In Adults Using Multiple Tests – A Cost-Utility Analysis From The Nice Asthma Guideline. *Value in Health* 18, A361.

Hall, S.C., and Agrawal, D.K. (2017). Vitamin D and Bronchial Asthma: An Overview of Data From the Past 5 Years. *Clin Ther* 39, 917–929.

Halnes, I., Baines, K.J., Berthon, B.S., MacDonald-Wicks, L.K., Gibson, P.G., and Wood, L.G. (2017). Soluble Fibre Meal Challenge Reduces Airway Inflammation and Expression of GPR43 and GPR41 in Asthma. *Nutrients* 9.

Hijazi, N., Abalkhail, B., and Seaton, A. (2000). Diet and childhood asthma in a society in transition: a study in urban and rural Saudi Arabia. *Thorax* 55, 775–779.

Hilty, M., Burke, C., Pedro, H., Cardenas, P., Bush, A., Bossley, C., Davies, J., Ervine, A., Poulter, L., Pachter, L., et al. (2010). Disordered Microbial Communities in Asthmatic Airways. *PLoS ONE* 5, e8578.

Himes, B.E., Koziol-White, C., Johnson, M., Nikolos, C., Jester, W., Klanderman, B., Litonjua, A.A., Tantisira, K.G., Truskowski, K., MacDonald, K., et al. (2015). Vitamin D Modulates Expression of the Airway Smooth Muscle Transcriptome in Fatal Asthma. *PLoS ONE* 10, e0134057.

Horka, H., Staudt, V., Klein, M., Taube, C., Reuter, S., Dehzad, N., Andersen, J.F., Kopecky, J., Schild, H., Kotsyfakis, M., et al. (2012). The tick salivary protein sialostatin L inhibits the Th9- derived production of the asthma-promoting cytokine IL-9 and is effective in the prevention of experimental asthma. *J. Immunol.* 188, 2669–2676.

Hughes, D.A., and Norton, R. (2009). Vitamin D and respiratory health. *Clin. Exp. Immunol.* 158, 20–25.

J

Jassal, M.S. (2015). Special considerations-asthma in children: Pediatric asthma. *International Forum of Allergy and Rhinology* 5, S61–S67.

Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., and Jansson, J.K. (2007). Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 1, 56–66.

Joobeur, S., Mhamed, S.C., Ben Saad, A., Mribah, H., Dekhil, A., Rouatbi, N., and El Kamel, A. (2015). [Allergic asthma in central Tunisia]. *Pan Afr Med J* 20, 133.

K

Kang, Y.B., Cai, Y., and Zhang, H. (2017). Gut microbiota and allergy/asthma: From pathogenesis to new therapeutic strategies. *Allergologia et Immunopathologia* 45, 305–309.

Kim, H.Y., Lee, H.J., Chang, Y.-J., Pichavant, M., Shore, S.A., Fitzgerald, K.A., Iwakura, Y., Israel, E., Bolger, K., Faul, J., et al. (2014). Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nat. Med.* 20, 54–61.

Koh, Y.Y., Kang, H., and Kim, C.K. (2003). Ratio of serum eosinophil cationic protein/blood eosinophil counts in children with asthma: comparison between acute exacerbation and clinical remission. *Allergy Asthma Proc* 24, 269–274.

Koh, G.C.-H., Shek, L.P.-C., Goh, D.Y.-T., Van Bever, H., and Koh, D.S.-Q. (2007). Eosinophil cationic protein: is it useful in asthma? A systematic review. *Respir Med* 101, 696–705.

L

Lambrecht, B.N., and Hammad, H. (2012). The airway epithelium in asthma. *Nat. Med.* 18, 684–692.

Lee, J.-U., Kim, J.D., and Park, C.-S. (2015). Gene-Environment Interactions in Asthma: Genetic and Epigenetic Effects. *Yonsei Med. J.* 56, 877–886.

Lieberman, P. (2007). Objective measures of asthma control: sputum eosinophils, nitric oxide, and other inflammatory mediators. *Allergy Asthma Proc* 28, 510–513.

Lin, J., Zhou, X., Wang, C., Liu, C., Cai, S., and Huang, M. (2018). Symbicort® Maintenance and Reliever Therapy (SMART) and the evolution of asthma management within the GINA guidelines. *Expert Rev Respir Med* 12, 191–202.

Little, F.F., Delgado, D.M., Wexler, P.J., Oppenheim, F.G., Mitchell, P., Feldman, J.A., Walt, D.R., Peng, R.D., and Matsui, E.C. (2014). Salivary inflammatory mediator profiling and correlation to clinical disease markers in asthma. *PLoS ONE* 9, e84449.

Lötvall, J., Akdis, C.A., Bacharier, L.B., Bjermer, L., Casale, T.B., Custovic, A., Lemanske, R.F., Wardlaw, A.J., Wenzel, S.E., and Greenberger, P.A. (2011). Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 127, 355–360.

Liu, Y., Zhang, S., Chen, R., Wei, J., Guan, G., Zhou, M., Dong, N., and Cao, Y. (2018). Meta-analysis of randomized controlled trials for the efficacy and safety of anti-interleukin-13 therapy with lebrikizumab in patients with uncontrolled asthma. *Allergy Asthma Proc* 39, 332–337.

M

Mak, G., and Hanania, N.A. (2011). Vitamin D and asthma: Current Opinion in Pulmonary Medicine 17, 1–5.

Malm-Erfjält, M., Greiff, L., Ankerst, J., Andersson, M., Wallengren, J., Cardell, L.-O., Rak, S., Persson, C.G.A., and Erfjält, J.S. (2005). Circulating eosinophils in asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis lack morphological signs of degranulation. *Clin. Exp. Allergy* 35, 1334–1340.

McKenzie, C., Tan, J., Macia, L., and Mackay, C.R. (2017). The nutrition-gut microbiome-physiology axis and allergic diseases. *Immunol. Rev.* 278, 277–295.

Mims, J.W. (2015). Asthma: definitions and pathophysiology: Asthma: definitions and pathophysiology. *International Forum of Allergy and Rhinology* 5, S2–S6.

Miraglia Del Giudice, M., Indolfi, C., Capasso, M., Maiello, N., Decimo, F., and Ciprandi, G. (2017). Bifidobacterium mixture (B longum BB536, B infantis M-63, B breve M-16V) treatment in children with seasonal allergic rhinitis and intermittent asthma. *Ital J Pediatr* 43, 25.

Monticelli, L.A., Sonnenberg, G.F., Abt, M.C., Alenghat, T., Ziegler, C.G.K., Doering, T.A., Angelosanto, J.M., Laidlaw, B.J., Yang, C.Y., Sathaliyawala, T., et al. (2011). Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nat. Immunol.* 12, 1045–1054.

Moore, W.C., Hastie, A.T., Li, X., Li, H., Busse, W.W., Jarjour, N.N., Wenzel, S.E., Peters, S.P., Meyers, D.A., Bleecker, E.R., et al. (2014). Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis. *J. Allergy Clin. Immunol.* *133*, 1557-1563.e5.

N

National Asthma Education and Prevention Program (2007). Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma-Summary Report 2007. *J. Allergy Clin. Immunol.* *120*, S94-138.

Nwaru, B.I., Takkinen, H.-M., Niemelä, O., Kaila, M., Erkkola, M., Ahonen, S., Haapala, A.-M., Kenward, M.G., Pekkanen, J., Laheesmaa, R., et al. (2013). Timing of infant feeding in relation to childhood asthma and allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* *131*, 78–86.

O

Ober, C., and Yao, T.-C. (2011). The genetics of asthma and allergic disease: a 21st century perspective. *Immunol. Rev.* *242*, 10–30.

P

Palmer, D.J., Huang, R.-C., Craig, J.M., and Prescott, S.L. (2014). Nutritional influences on epigenetic programming: asthma, allergy, and obesity. *Immunol Allergy Clin North Am* *34*, 825–837.

Papi, A., Brightling, C., Pedersen, S.E., and Reddel, H.K. (2018). Asthma. *Lancet* *391*, 783–800.

Pisi, G., Fainardi, V., Aiello, M., Bertorelli, G., Crisafulli, E., and Chetta, A. (2017). The role of the microbiome in childhood asthma. *Immunotherapy* *9*, 1295–1304.

Piaton, E., Fabre, M., Goubin-Versini, I., Bretz-Grenier, M.-F., Courtade-Saïdi, M., Vincent, S., Belleannée, G., Thivolet, F., Boutonnat, J., Debaque, H., et al. (2015). [Technical recommendations and best practice guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining: literature review and insights from the quality assurance]. *Ann Pathol* *35*, 294–305.

R

Roberfroid, M.B. (2005). Introducing inulin-type fructans. *Br. J. Nutr.* *93 Suppl 1*, S13-25.

Roberts, C., Sage, A., Geryk, L., Sleath, B., and Carpenter, D. (2018). Adolescent Preferences and Design Recommendations for an Asthma Self-Management App: Mixed-Methods Study. *JMIR Form Res* 2, e10055.

S

Schleich, F., and Louis, R. Les éosinophiles dans l'asthme : une cible thérapeutique ? 3.

Singh, D., Agusti, A., Anzueto, A., Barnes, P.J., Bourbeau, J., Celli, B.R., Criner, G.J., Frith, P., Halpin, D.M.G., Han, M., et al. (2019). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: the GOLD science committee report 2019. *Eur. Respir. J.* 53.

Sommer, M.O.A., Dantas, G., and Church, G.M. (2009). Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science* 325, 1128–1131.

Spits, H., and Cupedo, T. (2012). Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annu. Rev. Immunol.* 30, 647–675.

Sullivan, A., Edlund, C., and Nord, C.E. (2001). Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 1, 101–114.

Sze, M.A., Dimitriu, P.A., Hayashi, S., Elliott, W.M., McDonough, J.E., Gosselink, J.V., Cooper, J., Sin, D.D., Mohn, W.W., and Hogg, J.C. (2012). The Lung Tissue Microbiome in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 185, 1073–1080.

T

Tan, W.C. (2008). Asthma management in the developing world: achievements and challenges. *Expert Rev Respir Med* 2, 323–328.

Thompson, M., Vodicka, T.A., Blair, P.S., Buckley, D.I., Heneghan, C., Hay, A.D., and TARGET Programme Team (2013). Duration of symptoms of respiratory tract infections in children: systematic review. *BMJ* 347, f7027.

Thorburn, A.N., Macia, L., and Mackay, C.R. (2014). Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases. *Immunity* 40, 833–842.

Thorburn, A.N., McKenzie, C.I., Shen, S., Stanley, D., Macia, L., Mason, L.J., Roberts, L.K., Wong, C.H.Y., Shim, R., Robert, R., et al. (2015). Evidence that asthma is a developmental origin disease influenced by maternal diet and bacterial metabolites. *Nat Commun* 6, 7320.

Tomosada, Y., Chiba, E., Zelaya, H., Takahashi, T., Tsukida, K., Kitazawa, H., Alvarez, S., and Villena, J. (2013). Nasally administered *Lactobacillus rhamnosus* strains differentially modulate respiratory antiviral immune responses and induce protection against respiratory syncytial virus infection. *BMC Immunol* 14, 40.

Tong, P., and Wesemann, D.R. (2015). Molecular Mechanisms of IgE Class Switch Recombination. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 388, 21–37.

U

Urashima, M., Segawa, T., Okazaki, M., Kurihara, M., Wada, Y., and Ida, H. (2010). Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *The American Journal of Clinical Nutrition* 91, 1255–1260.

W

Wu, A.C., Butler, M.G., Li, L., Fung, V., Kharbanda, E.O., Larkin, E.K., Vollmer, W.M., Miroshnik, I., Davis, R.L., Lieu, T.A., et al. (2015). Primary adherence to controller medications for asthma is poor. *Ann Am Thorac Soc* 12, 161–166.

Weiss, S.T. (2017). Emerging mechanisms and novel targets in allergic inflammation and asthma. *Genome Med* 9, 107.

Wenzel, S.E. (2012). Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat. Med.* 18, 716–725.

Wittke, A., Weaver, V., Mahon, B.D., August, A., and Cantorna, M.T. (2004). Vitamin D receptor-deficient mice fail to develop experimental allergic asthma. *J. Immunol.* 173, 3432–3436.

Wong, S.H., Walker, J.A., Jolin, H.E., Drynan, L.F., Hams, E., Camelo, A., Barlow, J.L., Neill, D.R., Panova, V., Koch, U., et al. (2012). Transcription factor ROR α is critical for nuocyte development. *Nature Immunology* 13, 229–236.

Wood, L.G. (2017). Diet, Obesity, and Asthma. *Ann Am Thorac Soc* 14, S332–S338.

X

Xystrakis, E., Kusumakar, S., Boswell, S., Peek, E., Urry, Z., Richards, D.F., Adikibi, T., Pridgeon, C., Dallman, M., Loke, T.-K., et al. (2006). Reversing the defective induction of IL-

10-secreting regulatory T cells in glucocorticoid-resistant asthma patients. *J. Clin. Invest.* *116*, 146–155.

Y

Yasuda, H., Suzuki, T., Zayasu, K., Ishizuka, S., Kubo, H., Sasaki, T., Nishimura, H., Sekizawa, K., and Yamaya, M. (2005). Inflammatory and bronchospastic factors in asthma exacerbations caused by upper respiratory tract infections. *Tohoku J. Exp. Med.* *207*, 109–118.

Yawn, J., Lawrence, L.A., Carroll, W.W., and Mulligan, J.K. (2015). Vitamin D for the treatment of respiratory diseases: is it the end or just the beginning? *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *148*, 326–337.

Z

Zhou, L. (2012). Striking similarity: GATA-3 regulates ILC2 and Th2 cells. *Immunity* *37*, 589–591.

Résumé.

Introduction : L'asthme allergique est une maladie la plus fréquente durant l'enfance et c'est inflammation chronique des voies aériennes caractérisée par une infiltration leucocytaire et éosinophile intense accompagnée d'hypersécrétion de mucus et d'hyperréactivité tissulaire.

Objectif : Démontrer que la combinaison vitamine D / fibre alimentaire peut avoir un effet bénéfique sur les éosinophiles salivaires chez l'enfant asthmatique.

But : Montrer l'effet bénéfique de la combinaison de la vitamine D avec les fibres alimentaires sur les éosinophiles salivaires au cours de l'asthme allergique non contrôlé chez l'enfant.

Matériels et méthode : Nous procédons au recrutement de quatre groupes d'enfants asthmatiques d'âge scolaire de 4 ans à 17 ans, en consultation spécialisée au niveau du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie de l'Université de Tlemcen. Ces enfants sont classés selon les critères GINA en partiellement à non contrôlés. Le nombre d'éosinophiles a été réalisé à partir des frottis salivaires par la méthode May-Grünwald Giemsa.

Résultats: J'ai réussie d'identifier et pour la première fois des éosinophiles salivaires et essayé de comparer l'aspect avant et après la supplémentation en vitamine D et les fibres alimentaires

Conclusion : Le changement du nombre d'éosinophile, favorisent l'apparition et le développement de l'asthme allergique chez les enfants qui entraîne une inflammation bronchique et un déséquilibre immunitaire.

Mots clés : asthme , fibre alimentaire, éosinophile salivaire, enfants asthmatiques, vitamine D

Abstract

Introduction: Allergic asthma is the most common childhood disease and is a chronic inflammation of the airways characterized by intense leukocyte and eosinophilic infiltration accompanied by hypersecretion of mucus and tissue hyperreactivity.

Objectives: . Demonstrate that the vitamin D / dietary fiber combination can have a beneficial effect on salivary eosinophils in asthmatic children.

Aim : To show the beneficial effect of the combination of vitamin D with dietary fiber on salivary eosinophils during uncontrolled allergic asthma in children.

Materials and methods: We are recruiting four groups of asthmatic children of school age from 4 years to 17 years, in specialized consultation at the Laboratory of Molecular Applied Biology and Immunology of the University of Tlemcen. These children are classified according to the GINA criteria in partially to uncontrolled. The number of eosinophils was obtained from salivary smears by the May-Grünwald Giemsa method.

Results: I have successfully identified salivary eosinophils for the first time and tried to compare the appearance before and after supplementation with vitamin D and dietary fiber.

Conclusion: The change in the number of eosinophils, promote the onset and development of allergic asthma in children that causes bronchial inflammation and immune imbalance.

Keywords: asthma, dietary fiber, salivary eosinophil, children with asthma, vitamin D

ملخص

المقدمة: الربو التحسسي هو أكثر أمراض الطفولة شيوعاً وهو التهاب مزمن في الشعب الهوائية يتميز بتسلل كثيف للكريات البيض والايوزيني المصحوب بفرط إفراز المخاط وفرط نشاط الأنسجة.

أهداف الدراسة: إثبات أن تركيبة الألياف الغذائية بفيتامين (د) يمكن أن يكون لها تأثير مفيد على الحمضات اللعابية عند الأطفال المصابين بالربو.

الغاية من الدراسة : إظهار التأثير المفيد لمزيج من فيتامين (د) مع الألياف الغذائية على الحمضات اللعابية أثناء الربو التحسسي غير المنضبط عند الأطفال.

المواد و الأساليب : نقوم بتجنيد أربع مجموعات من الأطفال المصابين بالربو في سن المدرسة من 4 سنوات إلى 17 عاماً ، وذلك بالتشاور المتخصص في مختبر البيولوجيا التطبيقية الجزئية والمناعة بجامعة تلمسان. يتم تصنيف هؤلاء الأطفال وفقاً لمعايير GINA بشكل جزئي وغير مراقب. تم الحصول على عدد من الحمضات من مسحات اللعاب باستخدام طريقة May-Grünwald .Giemsa.

النتائج: لقد حددت بنجاح الحمضات اللعابية لأول مرة وحاولت مقارنة المظهر قبل وبعد المكملات بفيتامين د والألياف الغذائية.

الاستنتاج: التغير في عدد الحمضات ، يشجع على ظهور وتطور الربو التحسسي عند الأطفال الذي يسبب التهاب الشعب الهوائية واختلال المناعة.

الكلمات المفتاحية : الربو ، الألياف الغذائية ، الحمضية اللعابية ، الأطفال المصابين بالربو ، فيتامين د.