

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

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 –



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

**Etude du polymorphisme HLA
au sein de la population algérienne**

Thèse d'exercice de fin d'études

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : septembre 2017.

Présentée par :

-MOKDAD Amina

-TAAZOUNT Nour el imane

Encadrée par :

Dr O. RENDJA

Maître assistant en immunologie, faculté de
médecine de Blida.

Devant le jury :

-Président : Pr Y. BOUCHEDOUB, Maître de conférences de classe « A » en immunologie,
faculté de médecine de Blida.

-Examinatrice : Dr N. HADDAD, Maître assistante en hématologie, faculté de médecine de
Blida.

-Examineur : Dr M.L. ZELTNI, Assistant en immunologie, CHU Blida.

D'abord nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné courage, santé, souffle et patience pour accomplir ce travail.

À Monsieur le Professeur MAGHLAOUI :

Cher Maître, Nous vous remercions de l'intérêt que vous portez à ce travail, pour nous accueillir au niveau de l'unité de l'immunologie et de mettre tous à notre disposition pour réaliser ce travail, ainsi pour votre sympathie et vos multiples encouragements.

Votre simplicité, vos qualités pédagogiques, votre grande culture scientifique font de vous un maître incontestable, admirable et exemple à suivre.

Veillez acceptez, toute notre reconnaissance et l'expression de notre plus profond respect.

À notre maître et président des jurys, Monsieur le professeur BOUCHEDOUB :

Vous nous faites l'honneur de présider le jury de notre thèse. Nous tenons à vous remercier pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail, ainsi que pour vos conseils pertinents tout au long de cette année.

À notre maître et directeur de la thèse, Monsieur le Docteur RENDJA :

Nous sommes flattés d'avoir appris à vos côtés. Votre richesse scientifique, votre amour pour le travail bien fait, votre rigueur et votre constante disponibilité ont cultivé en nous l'amour pour l'immunologie et nous servirons modèle. C'est pour nous un honneur de vous avoir comme encadreur. Nous tenons à vous exprimer nos remerciements pour vos précieux conseils.

Veillez trouver ici le témoignage de notre plus profond respect et de notre plus vive reconnaissance.

À Madame le Docteur HADDAD et Monsieur le Docteur ZELTNI

Nous vous présentons nos sincères remerciements, du grand honneur que vous nous faites, par votre contribution à l'examen de ce travail et d'y avoir apporté vos précieuses remarques.

À Monsieur KHARBECH et mademoiselle KHELIFATI Ahlem

À tout le personnel paramédical du laboratoire d'immunologie de l'UHU Hassiba Ben Bouali.

El hamdoulillah de m'avoir accordé la force et de m'avoir guidé tout au long de la réalisation de ce travail, j'espère que ce travail sera une cause pour avoir votre satisfaction.

*Je dédie ce travail à ceux qui m'ont donné la vie, qui se sont sacrifiés pour mon bonheur et ma réussite, à ma **chère mère**, à mon **cher père**, l'exemple du dévouement.*

Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond respect que je vous porte.

*À mes adorables soeurs **Asmae, Nour EL Houda, Fatima Zahra, Soumia** ;
En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A mon frère **Mohamed** ;*

Merci d'être là. Pour tous ces moments passés ensemble... Merci pour votre amour.

*A mes beaux-frères **AMINE, Adel, Mohamed**.*

*A mes nièces **Nerdjess, Lyna, Maria et Yassemine**.*

*A mes neveux **Abd EL Malek et Youssouf**.*

*À ma grand-mère **Bellal Khedaoudj** et à la mémoire de ma grand-mère **Othmani zohra**.*

À tous mes amies de longues dates ;

*À mes amies **Nour EL Imen, Kamilia, Ines, Djamila, Meriem, Rym, Malika, Loubna**.*

*À tous ceux qui me sont chers
Je dédie ce travail.*

À mes très chers Parents ; TAAZOUNT Ahmed et TAAZOUNT Badiaa

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Vos prières et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

À mes soeurs Nour el houda, Cherifa et Rofeida ;

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

À mon frère Youcef ;

Merci d'être là. Pour tous ces moments passés ensemble, je t'aime et je te dédie ce travail, avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Merci pour ton amour.

À mon petit cousin Youcef ;

Mon petit ange, je t'aime et je dédie ce travail, avec tous mes vœux de santé et de réussite.

À ma grand-mère ZOUGAI Malika et à la mémoire de mon grand-père TAAZOUNT Belkacem.

À toute la famille TAAZOUNT.

À ma chère amie MOKDAD Amina ;

C'était un plaisir d'accomplir ce travail avec toi, et en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je te dédie ce travail et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À tous mes amis

DASSA Loubna, ARIDJ Meriem, TOUAIMI Siham, CHIKH Meriem, HADOUDA Djamilâ, EL HADJ Mohamed Amine et RAHIM Amine.

À mes professeurs et mes maîtres de stage ;

À tous celles et ceux qui m'ont permis de m'ouvrir sur le monde pharmaceutique.

REMECIEMENTS	I
DEDICACES	II
SOMMAIRE	IV
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES GRAPHES	X
LISTE DES ABREVIATIONS	XI
GLOSSAIRE	XII
INTRODUCTION	1
PARTIE I : PARTIE THEORIQUE	
CHAPITRE I : Le système HLA	3
I. Historique	3
II. Définition du système HLA	3
III. Organisation génétique et structure moléculaire	4
III.1. HLA de classe I	4
III.1.1. Gènes	4
III.1.2. Molécules	5
III.2. HLA de classe II	9
III.2.1. Gènes	9
III.2.2. Molécules	11
III.3. HLA de classe III	13
IV. Fonction des molécules HLA	13
IV.1. Molécules HLA de classe I	14
IV.2. Molécules HLA de classe II	14
V. Applications cliniques	14
VI. Nomenclature	15
VII. Caractéristiques des gènes HLA	16
VII.1. Polymorphisme extrême	16
VII.2. Déséquilibre de liaison	16
VII.3. Liaison étroite	16
VII.4. Expression codominante	17
CHAPITRE II : Le polymorphisme et déséquilibre de liaison	
I. Polymorphisme	18
I.1. Définition	18
I.2. Degré de variabilité	19
I.3. supports de polymorphisme	19
I.3.1. HLA de classe I	19
I.3.2. HLA de classe II	20
I.4. Génération de polymorphisme	21
I.4.1. Les mutations ponctuelles	21
I.4.2. La conversion génique	21
I.4.3. Recombinaison homologue	22
I.5. Conséquences de polymorphisme	23

I.5.1.Structuralement	23
I.5.2.Fonctionnellement	23
I.6.Techniques d'étude du polymorphisme	23
I.6.1.Identification du polymorphisme des produits HLA exprimés	23
I.6.1.1.Techniques sérologiques	24
I.6.1.2.Techniques biochimiques	24
I.6.1.3.Techniques cellulaires	24
I.6.2. Identification du polymorphisme des gènes HLA	24
I.6.2.1. La PCR-SSO	24
I.6.2.2. La PCR-SSP	24
I.6.2.3. La PCR-SBT	24
II. Déséquilibre de liaison	24
II.1. L'équilibre de Hardy-Weinberg	24
II.2. Définition de déséquilibre de liaison	25
II.3. Déséquilibre de liaison en génétique	25
II.4. Causes du déséquilibre de liaison	25
II.5. Caractéristiques et implication de déséquilibre de liaison	26
CHAPITRE III : Génétique des populations	
I. Génétique des populations	27
I.1. Définition	27
I.2. La notion de population	27
I.3. La variabilité génétique	27
I.4. Les forces évolutives	27
II.HLA et population	28
III. Apports de l'étude du polymorphisme HLA à l'anthropologie moléculaire	28
IV. Historique de la population Nord-Africaine	29
PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
I. Objectifs de l'étude	32
II. Description de l'étude	32
III. Matériels et méthodes	32
III.1 Matériels	32
III.1.1. Matériels biologiques	32
III.1.2. Matériels non biologique	32
III.1.2.1. Pour la séparation des lymphocytes totaux (B+T)	32
III.1.2.2. Pour l'enrichissement en lymphocytes B	33
III.1.2.3. Pour l'extraction d'ADN à partir du sang périphérique	33
III.1.2.4.Pour le typage HLA par technique sérologique	34
III.1.2.5. Pour le typage HLA par PCR-SSP	35
III.1.2.6. Autres matériels et verreries utilisés au laboratoire	35
III.1.2.7. Matériels informatiques	36
III.2.Méthodes	36
III.2.1. Prélèvement sanguin	36
III.2.2. Techniques de séparation des lymphocytes	36
III.2.2. A. Séparation des lymphocytes totaux sur gradient de Ficoll	36
III.2.2.B. L'enrichissement en lymphocytes B	37

III.2.3 Extraction d'ADN à partir du sang périphériques	38
III.2.4 Etude de polymorphisme HLA	40
III.2.4. A. Technique sérologique	40
III.2.4. B. Technique de biologie moléculaire	41
IV. Résultats	47
IV.1. Caractéristiques démographiques de la population étudiée	47
IV.2. Résultats obtenus par la technique sérologique	53
IV.3. Résultats obtenus par biologie moléculaire	58
IV.3.1. Fréquences alléliques	58
IV.3.2. Fréquences haplotypiques	73
V. Discussion	80
VI. Conclusion	82
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXES	
RESUME	

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

Figure 1: Organisation du système HLA	4
Figure 2: Schéma représentatif des exons de HLA I	5
Figure 3: Schéma représentatif de la localisation des gènes HLA classe I	5
Figure 4: Structure des molécules HLA-I	6
Figure 5: Structure tridimensionnelle de HLA-I et le site de fixation des peptides antigéniques	6
Figure 6: Groupes de réactions croisées (CREG) : locus HLA-A, locus HLA-B	7
Figure 7: Expression des molécules HLA-I	8
Figure 8: Biosynthèse de la molécule HLA-I et présentation croisée	9
Figure 9: Schéma représentatif de la localisation des gènes HLA classe II	10
Figure 10: Schéma représentatif des exons de HLA-II	10
Figure 11: Organisation des gènes de locus DR	11
Figure 12: Structure des molécules HLA de classe II	12
Figure 13: Expression des molécules HLA-II	12
Figure 14: Assemblage des molécules HLA-II et chargement du peptide antigénique	13
Figure 15: Présentation du peptide antigénique par HLA-I au lymphocyte T CD8	14
Figure 16: Présentation du peptide antigénique par HLA-II au lymphocyte T CD4	14
Figure 17: Nomenclature des spécificités HLA	15
Figure 18: Nomenclature des allèles HLA	16
Figure 19: Transmission en bloc des gènes HLA	17
Figure 20: La codominance des gènes HLA	17
Figure 21: Répartition du nombre d'allèles nommés de 1987 à la fin Juin 2017	19
Figure 22: Polymorphisme des gènes HLA- I	19
Figure 23: Sites de variabilité des molécules HLA-I	20
Figure 24: Sites de variabilité des molécules HLA-II	20
Figure 25: Molécules hybrides	21
Figure 26: Types de mutations ponctuelles	21
Figure 27: Conversion génique	22
Figure 28: Recombinaison homologue	22
Figure 29: Localisation des résidus AA polymorphiques (rouge) dans les domaines $\alpha 1/\alpha 2$ d'une molécule HLA de classe I	23
Figure 30: Populations classiques et modernes et l'effet fondateur	29
Figure 31: Résultat de séparation par technique de Ficoll	37
Figure 32: Amplification de l'ADN par DNA polymérase	43
Figure 33: Introduction de la plaque dans le thermocycleur	44
Figure 34: Etapes d'électrophorèse sur gel d'agarose	45
Figure 35: Visualisation des bandes d'électrophorèse	46

TABLE DES MATIÈRES

Tableau 1: Splits sérologiques et spécificités larges	7
Tableau 2: Epitopes HLA-BW4 et BW6 sur les molécules HLA-B et (HLA -A)	8
Tableau 3: Allèles et protéines HLA	18
Tableau 4: Haplotypes les plus fréquents chez quatre populations : Basques, Portugais, Espagnols, Algériens	29
Tableau 5: Score selon l'Echelle standard ASHI	41
Tableau 6: Répartition des sujets selon le sexe	47
Tableau 7: Répartition des sujets selon la tranche d'âge	47
Tableau 8: Répartition des sujets selon la région d'origine	48
Tableau 9: Répartition de 898 sujets algériens selon leurs wilayas d'origine	49
Tableau 10: Répartition de 898 sujets algériens selon leur statut donneur /receveur	51
Tableau 11: Répartition des sujets selon l'année de recrutement	51
Tableau 12: Répartition de 898 sujets selon le locus typé	52
Tableau 13: Répartition des sujets selon la technique de typage réalisée	52
Tableau 14: Fréquences des spécificités HLA-A chez 579 sujets algériens	53
Tableau 15: Fréquences des spécificités HLA-B chez 579 sujets algériens	54
Tableau 16: Fréquences des spécificités HLA-DR chez 96 sujets algériens	55
Tableau 17: Fréquences des spécificités HLA-DQ chez 91 sujets algériens	56
Tableau 18: Fréquences des allèles HLA-A chez 316 sujets algériens	58
Tableau 19: Distribution des fréquences alléliques HLA-A selon les wilayas d'origine	60
Tableau 20: Fréquences des allèles HLA-B chez 317 sujets algériens	61
Tableau 21: Distribution des fréquences alléliques HLA-B selon les wilayas d'origine	63
Tableau 22: Fréquences des allèles HLA-C chez 218 sujets algérien	65
Tableau 23: Distribution des fréquences alléliques HLA-C selon les wilayas d'origine	67
Tableau 24: Fréquences des allèles HLA-DRB1 chez 363 sujets algériens	68
Tableau 25: Distribution des fréquences alléliques HLA-DRB1 selon les wilayas d'origine	70
Tableau 26: Fréquences des allèles HLA-DQB1 chez 350 sujets algériens	71
Tableau 27: Distribution des fréquences alléliques HLA-DQB1 selon les wilayas d'origine	72
Tableau 28: Fréquences des haplotypes à deux loci A*/B* retrouvées au sein de la population étudiée	74
Tableau 29: Fréquences des haplotypes à deux loci A*/C* retrouvées au sein de la population étudiée	75
Tableau 30: Fréquences des haplotypes à deux loci B*/C* retrouvées au sein de la population étudiée	76
Tableau 31: Fréquences des haplotypes à deux loci B*/DRB1* retrouvées au sein de la population étudiée	77

Tableau 32: Fréquences de tous les haplotypes à deux loci DRB1*/DQB1* retrouvées au sein de la population étudiée	78
Tableau 33: Tableau récapitulatif des fréquences haplotypiques avec calcul de déséquilibre de liaison « D » des haplotypes les plus fréquemment retrouvées	79

TABLE DES MATIÈRES

Graphe 1: Répartition des sujets selon le sexe	47
Graphe 2: Répartition des sujets selon la tranche d'âge	48
Graphe 3: Répartition des sujets selon la région d'origine	48
Graphe 4: Répartition de 898 sujets algériens selon leurs wilayas d'origine	50
Graphe 5: Répartition de 898 sujets algériens selon leur statut donneur/receveur	51
Graphe 6: Répartition des sujets selon l'année de recrutement	51
Graphe 7: Répartition des sujets selon la technique de typage réalisée	52
Graphe 8: Fréquences des spécificités HLA-A chez 579 sujets algériens	54
Graphe 9: Fréquences des spécificités HLA-B chez 579 sujets algériens	55
Graphe 10: Fréquences des spécificités HLA-DR chez 96 sujets algériens	56
Graphe 11: Fréquences des spécificités HLA-DQ chez 91 sujets algériens	57
Graphe 12: Fréquences des allèles HLA-A chez 316 sujets algériens	59
Graphe 13: Fréquences des allèles HLA-B chez 317 sujets algériens	61
Graphe 14: Fréquences des allèles HLA-C chez 218 sujets algériens	65
Graphe 15: Fréquences des allèles HLA-DRB1 chez 363 sujets algériens	69
Graphe 16: Fréquences des allèles HLA-DQB1 chez 350 sujets algériens	71

TABLE DES ABRÉVIATIONS

AA : acides aminés.	Km : Kilomètre
Ac : Anticorps.	LCT : LymphoCytoToxicity
ACD : Anticoagulant Citrate Dextrose.	LT : Lymphocyte T
ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique.	MAC : Membrane Attack Complex
Ag : Antigène.	Mb : Mégabase
β2m : β2-microglobuline.	MICA/B : Major histocompatibility complex class I-related Chain A/B
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité.	ml : millilitre
CD : Clusters de Différenciation.	μl : Microlitre
CHU : Centre Hospitalo-universitaire.	NK : Natural killer
CML : Culture Mixte Lymphocytaire.	PCR : Polymerase Chain Reaction
CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène.	PM : poids moléculaire
CREG : Cross Reactivity Groups.	RE : Réticulum Endoplasmique
CSH : Cellule Souche Hématopoïétique.	SBT : Sequence Based Typing
°C : Degré Celssus.	SSO : Sequence Specific Oligonucleotide probes
dNTP : DésoxyNucléotide TriPhosphate	SSP : Single Specific Primer
GM CSF : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor	TAP : Transporter Associated Peptide
HBB : Hassiba Ben Bouali	TBE : Tri Borate d'EDTA
HLA : Human Leucocyte Antigen	TCR : T Cell Receptor
IL : Interleukine	TNF : Tumor Necrosis Factor
INF : Interferon	t/min : tours par minute
IEF : Iso-Electro-Focalisation.	UHU : Unité Hospitalo-universitaire
Kb : Kilobase.	V : Volt
kDa : kiloDalton	WHO : World Health Organisation

Généralités

ADN : le support physique de l'information génétique d'un organisme.

Allèle : est une version variable d'un même gène ou d'un même locus génétique.

Alloantigène : antigène provenant d'un individu de la même espèce mais génétiquement différent.

Antigène : toute substance étrangère à l'organisme capable de déclencher une réponse immunitaire visant à l'éliminer.

Biodiversité : c'est la variabilité des organismes vivants, cela comprend la diversité au sein des espèces et entre espèces ainsi que celle des écosystèmes.

Chromosome : est un élément microscopique constitué de molécules d'ADN et de protéines, contenus dans le noyau de chaque cellule du corps et qui portent l'information génétique .

Culture atérienne : ancienne civilisation occupant l'Afrique du nord, dure d'environ – 50 000 ans jusqu'à la révolution néolithique vers 7 500 av. JC, dont plusieurs vestiges furent retrouvés sur le site éponyme de Bir el-Ater, dans la wilaya de Tébessa.

Crossover : un phénomène génétique qui a lieu lors de la méiose

Espèce : est une population ou un ensemble de populations dont les individus peuvent effectivement ou potentiellement se reproduire entre eux et engendrer une descendance viable et féconde, dans des conditions naturelles.

Gène : unité composée d'ADN localisée sur un chromosome et unité de base d'hérédité.

Génome : c'est d'un point de vue fonctionnel, l'ensemble du contenu génétique (gènes et séquences régulatrices) nécessaire à l'édification, au fonctionnement et à la reproduction de chaque organisme. C'est d'un point de vue constitutif, l'ensemble des séquences d'ADN d'un organisme.

Génotype : Constitution génétique d'un individu.

Haplotype : est un groupe d'allèles de différents loci situés sur un même chromosome et habituellement transmis ensemble.

Hétérozygote : pour un gène ou un locus donné, exprime deux allèles différents.

Histocompatibilité : Compatibilité entre les tissus d'un greffon et ceux d'un hôte, étroitement liée à leur appartenance à des groupes tissulaires génétiquement définis.

Holocène : époque qui a commencé à -10 000 ans av. J-C, et continue toujours. Cette époque a connu l'invention de l'écriture et d'incroyables avancées technologiques.

Homozygote : pour un gène ou un locus donné, exprime un seul allèle en double.

Isotype : est un déterminant antigénique d'une immunoglobuline caractéristique de tous les individus d'une espèce donnée. Les isotypes déterminent les différentes classes et sous-classes d'immunoglobulines.

Leucoagglutinine : les immunoglobulines susceptibles d'agglutiner les leucocytes.

Locus : un emplacement physique précis et invariable sur un chromosome

Loci : pluriel de locus.

Soi : correspond à l'ensemble des molécules résultant de l'expression des gènes d'un individu.

Non-soi : correspond à l'ensemble des molécules dont la synthèse ne résulte pas de l'information génétique propre à l'organisme et qui sont reconnues comme étrangères par le système immunitaire.

Multigenique : comportant plusieurs gènes au sein d'un même génome.

Nucléotide : est une molécule organique qui est l'élément de base d'un acide nucléique. Il est composé d'une base azotée), d'un ose à cinq atomes de carbone, dit pentose, dont l'association forme un nucléoside, et enfin de un à trois groupes phosphate.

Polyallélisme : correspond au fait que pour un gène donné, au sein d'une espèce ou d'une population, il existe plusieurs versions de ce gène (allèles).

Phénotype : Manifestation apparente de la constitution du génome.

INTRODUCTION

Le système HLA est un complexe immunogénétique impliqué dans la réponse immunitaire et qui régit les lois de l'histocompatibilité. Son extrême polymorphisme lui attribue des implications cliniques variées.

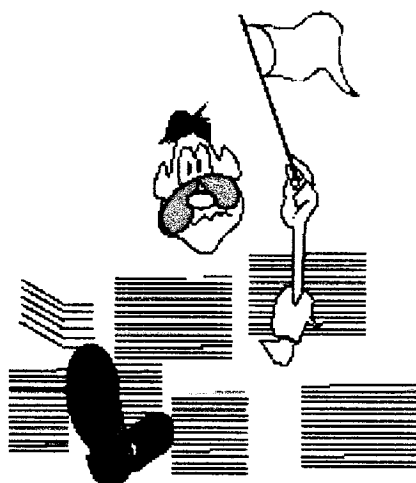
L'étude de ce polymorphisme a un intérêt en transplantation d'organes, en greffe de cellules souches hématopoïétiques, dans la susceptibilité à certaines maladies, en médecine médico-légale ainsi qu'en anthropologie.

Cette dernière s'intéresse aux origines et aux mouvements migratoires des différentes populations, qui ont influencé la distribution et la fréquence des différents allèles et haplotypes au sein des différentes régions du monde.

Problématique

Quelles sont les spécificités HLA les plus fréquentes et qui caractérisent notre population algérienne ?

PARTIE THEORIQUE



CHAPITRE I : le système HLA

I. Historique

Plusieurs travaux ont marqué l'histoire du système HLA :

En 1936, Gorer et Snell avaient prouvé l'existence d'un système d'histocompatibilité chez la souris appelé H₂. [2]

En 1948 G.Snell décrit les gènes de ce système et énonce les lois de la transplantation. [2]

En 1952 et 1958 J. Dausset décrit des leucoagglutinines sériques chez des sujets immunisées (transfusés, multipares), dirigés contre des antigènes leucocytaires, MAC ; (L'actuel HLA-A2). Ce qui lui a valu le prix Nobel de Médecine en 1980. [3]

Dès 1964 et à ce jour : Organisation périodique d'ateliers d'histocompatibilité (Workshops) internationaux dédiés à d'étudier des molécules HLA (**Annexe 11**).

En 1964 lors du 1^{er} Workshop, introduction de la technique de microlymphocytotoxicité complément dépendante (LTC) par P.TERASAKI et Mc CLELLAND. [5]

En 1968, Jean Dausset émet l'hypothèse de l'implication du système HLA en pathologie. [2]

Dès les années 1980, l'avènement des techniques de biologie moléculaire avait permis une meilleure approche de ce système. [2]

II-Définition du système HLA

Ce sont des glycoprotéines transmembranaires propres à un individu inclus dans la présentation antigénique. Elles constituent des alloantigènes impliqués dans le phénomène de rejet lors de la transplantation d'organe. [10]

Elles sont codées par un complexe multigénique (plus de 200 gènes) appelées complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), situé sur le bras court du chromosome 06 et s'étend sur une région d'environ quatre mégabases (3.4MB), correspondant à 1/1000 du génome humain. [4]

Les gènes HLA sont regroupés en trois régions : HLA-I, HLA-II et HLA-III (Figure1). [8]

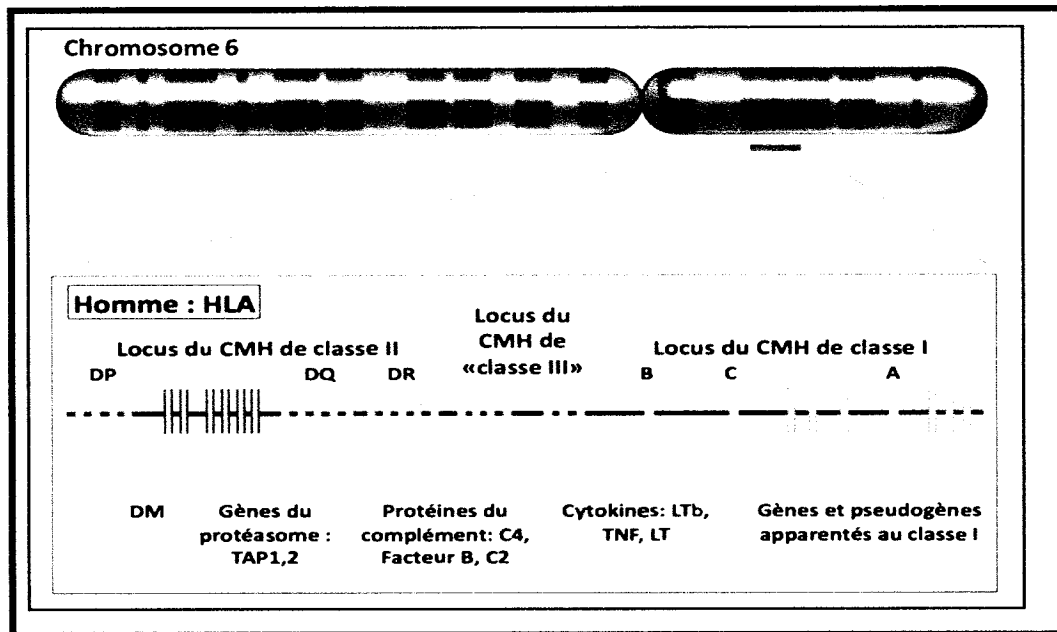


Figure1 : Organisation du système HLA (69).

III. Organisation génétique et structure moléculaire

III.1. HLA de classe I

III.1.1. Gènes

Ils s'étendent sur une région de 2000kb et comprennent plus de 20 gènes identifiés dont les principaux sont: [17]

- Les gènes HLA-I classiques (Ia)

Codent pour la chaîne α des molécules HLA-A, HLA-B et HLA-C. Ces gènes sont organisés en 8 exons séparés par 7 introns (Figure 2) [7]

- ✓ le 1^{er} exon code pour le peptide signal clivé lors du transport intra cellulaire de la molécule et la partie 5' non traduite. [6]
- ✓ Les exons 2, 3, 4 codent respectivement pour les domaines extra cellulaire $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$.
- ✓ Les exons 5, 6, 7 et 8 codent pour le peptide de connexion, la région transmembranaire et la région 3' non traduite. [6]

La majorité du polymorphisme allélique est concentré au niveau des exons 2 et 3 qui codent pour les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de la molécule. [70]

- ✓ Un segment Transmembranaire : hydrophobe et d'environ 25 AA.
- ✓ Un segment intra-cytoplasmique (C-terminale) : fait de 30 à 40 AA.

Sa structure tridimensionnelle montre une cavité fermée entre les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$, dans ce sillon peut se glisser un peptide de 8 à 10AA. [8]

Le domaine $\alpha 3$ porte un site d'interaction avec la molécule CD8 des lymphocytes T cytotoxiques. [71]

- La chaîne légère ($\beta 2m$) :

C'est une protéine non glycosylée, de 99AA. Elle comprend un seul domaine, associé à la chaîne lourde α au niveau du domaine $\alpha 3$ par des liaisons non covalentes. Ce domaine renferme un pont S-S, son poids moléculaire est de 12 kDa et codé par le chromosome 15.

Elle existe aussi sous forme libre dans le sérum car elle est sécrétée en excès par rapport à la chaîne α . [10]

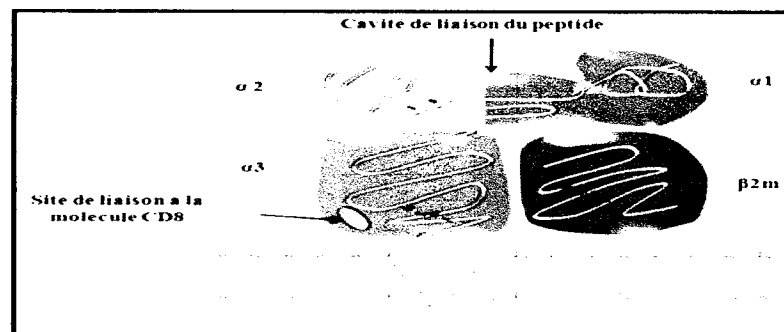


Figure 4 : Structure des molécules HLA-I.

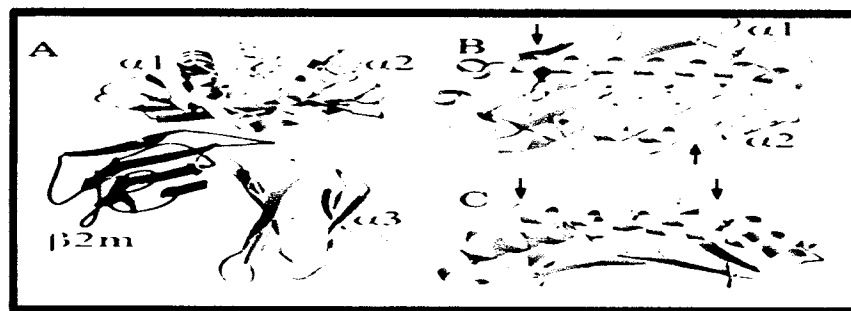


Figure 5: Structure tridimensionnelle de HLA-I et le site de fixation des peptides antigéniques. (70)

III.1.2.2. Les réactions croisées

Les réactions croisées sont importantes à connaître lors des explorations des antigènes HLA (typage et recherche d'allo-anticorps). Certains antigènes partagent entre eux un ou quelques épitopes, ce qui les fait réagir avec des anticorps communs entre eux (Figure 6). [71]

Ces réactions croisées définissent des groupes de réactivité croisée (CREG) qui sont dues :

Exemple :

CREG A2 comporte : HLA A2 et A28.

CREG B5 comporte : HLA B5 (B51, B52) ; B53 ; B18 Et B70. [71]

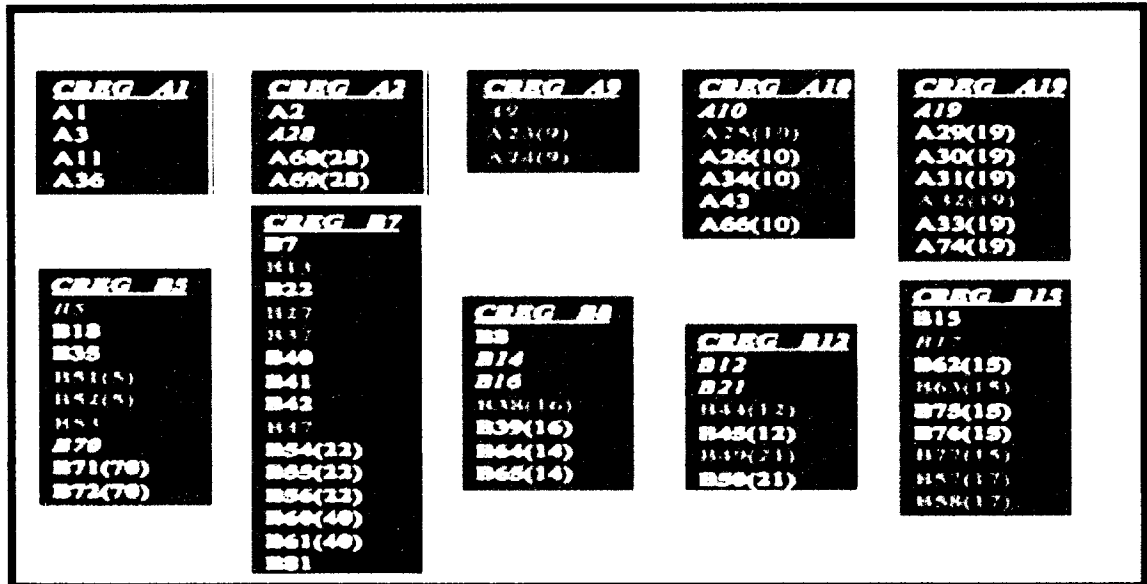


Figure 6 : groupes de réactions croisées (CREG) : locus HLA-A, locus HLA-B. [71]

III.1.2.3. Subdivisions ou split

De nombreuses spécificités HLA initialement décrites par sérologie et considérées comme monospécifiques se sont avérées être des déterminants publics ou spécificité large (Broad) communes à plusieurs spécificités distinctes, dites subdivisions ou splits. (13)

Tableau 1: Splits sérologiques et spécificités larges.

Spécificités larges (broad)	Subdivisions (splits)	Spécificités larges (broad)	Subdivisions (splits)
A9	A23, A24	B17	B57, B58
A10	A25, A26, A34, A66, A 6601, A6602	B21	B49, B50
A19	A29, A30, A31, A32, A34, A74	B22	B54, B55, B56
A28	A68, A69	B40	B60, B61
B5	B51, B52	B70	B70, B72
B12	B44, B45	Cw3	Cw9, Cw10
B14	B64, B65	DR2	DR15, DR16
B15	B62, B63, B75, B76, B77	DR3	DR17, DR18
B16	B38, B39	DR5	DR11, DR12
		DR6	DR13, DR14
		DQ1	DQ5, DQ6
		DQ3	DQ7, DQ8, DQ9

D'autre part les spécificités BW4 et BW6 sont des **spécificités publiques** associées à des **spécificités privées** (Tableau 2) et qui sont mutuellement exclusives. (13)

Tableau 2: Epitopes HLA-BW4 et BW6 sur les molécules HLA-B et (HLA -A).

Bw4	Bw6
B5, B13, B17, B27, B37, B38(16), B44(12), B47, B49(21), B51(5), B52(5), B53, B57(17), B59, B63(15), B77(15), A24 03, A24, A23, A25, A32	B7, B8B14, B18, B22, B35, B39(16), B40, B41, B42, B45(12), B46, B48, B50(21), B54(22), B55(22), B56(22), B60(40), B61(40), B62(15), B64(14), B65(14), B67, B70, B71(70), B72(70), B73, B75(15), B76(15)

III.1.2.4.Expression

Les molécules HLA classe I ont une expression ubiquitaire sur toutes les cellules nucléées de L'organisme où chaque individu dispose :

- 2 molécules HLA-A.
- 2 molécules HLA-B.
- 2 molécules HLA-C. [2] [8]

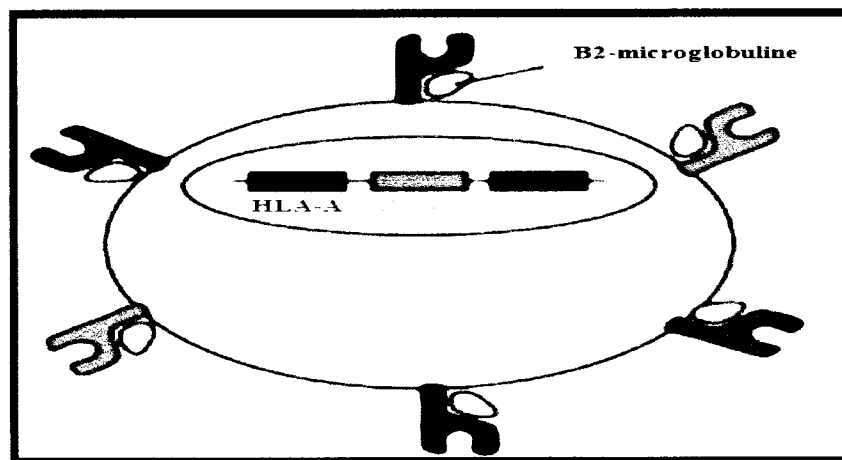


Figure 7: Expression des molécules HLA-I.

III.1.2.5.Modulation

Leur expression peut être modulée par Les interférons $\text{INF } \alpha$ et β , le $\text{TNF } \alpha$, l' $\text{INF } \gamma$ (augmentent leur expression). [10]

III.1.2.6. Biosynthèse de la molécule HLA de classe I et chargement de peptide

a- Voie endogène

Les protéines endogènes (protéines mal pliées, protéines virales ou tumorales) sont dégradées dans le cytosol par un gros complexe enzymatique appelé **protéasome** en peptides d'environ 9 AA. Ces peptides sont alors transportés vers le réticulum endoplasmique par un système transporteur (TAP1 et TAP2) où ils sont chargés entre les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de la chaîne alpha, puis stabilisés par la $\beta 2m$. [20] [22]

Le complexe tri-moléculaire « peptide/ chaîne lourde α / $\beta 2m$ » est ensuite transporté du RE (en passant par l'appareil de Golgi, site de glycosylation de la chaîne lourde α) vers la membrane plasmique où il sera reconnu par les lymphocytes T cytotoxiques. [20] [22]

b- Présentation croisée

La présentation croisée (*cross-presentation*) désigne une voie de *processing* supplémentaire, propre aux cellules dendritiques, qui donne à des antigènes internalisés l'accès aux mécanismes décrits plus haut, permettant leur dégradation, transport et assemblage avec les molécules du CMH-I. La cross-presentation permet aux cellules dendritiques de déclencher et de soutenir des réponses cellulaires cytotoxiques contre des agents pathogènes qui ne les infectent pas, et occupe donc une place importante dans l'immunité adaptative.(72)

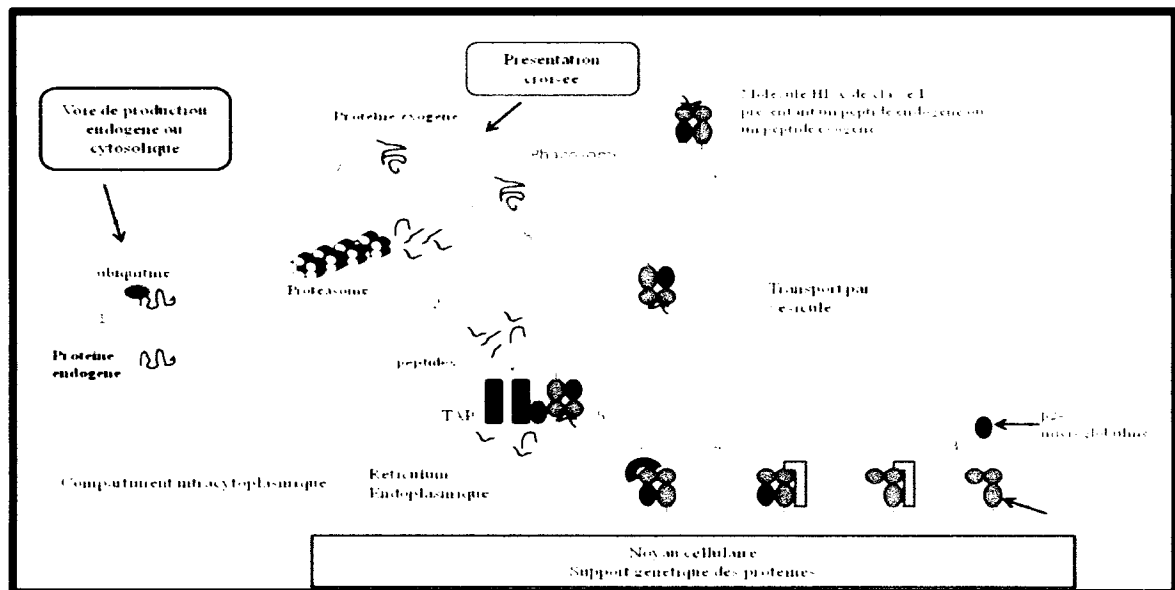


Figure 8 : Biosynthèse de la molécule HLA-I et présentation croisée. (72)

III.2. HLA de classe II

III.2.1. Gènes

Constitués de 32 gènes étendus sur 1000 kb et dont les principaux gènes codent pour les chaînes α (gènes A) et β (gènes B) des molécules HLA DR, HLA DQ, HLA DP. [8] [10]

A ce niveau on trouve aussi d'autres gènes dont certains codent pour des molécules impliquées dans la synthèse des molécules HLA-I et HLA-II. [10] [70]

- TAP1 et TAP2 (transporter of antigen peptides) qui codent pour les molécules TAP.
- LMP2 et LMP7 (large multifonctionnel antigen) qui codent pour 2 protéines du protéasome.
- TAPASIN (TAP associated protein) qui code pour une glycoprotéine la Tapasine.
- DOA et DOB, DMA et DMB : codent des molécules du compartiment endosomal (DO et DM) impliquées dans la synthèse des molécules HLA-II. [10]

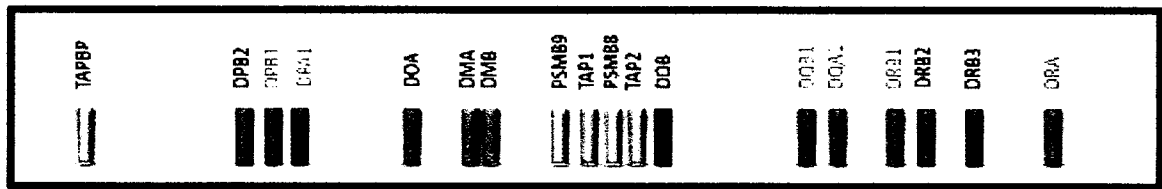


Figure 9 : Schéma représentatif de la localisation des gènes HLA classe II. [13]

Il existe une Homologie de structure entre les gènes des loci DR, DQ, DP.

Les gènes A des trois loci et le gène DQB1 possède 5 exons, les gènes DPB1 et DRB en possèdent 6 (Figure) :

- le premier exon correspond à la région 5' non traduite et au peptide signal,
- les exons 2 et 3 codent pour les domaines extracellulaires ;
- l'exon 4 code pour les régions transmembranaire et cytoplasmique
- l'exon 5 contient l'essentiel de la région 3' non traduite. [8] [10]

Dans les gènes DRB et DPB1 la région cytoplasmique est codée par un cinquième exon

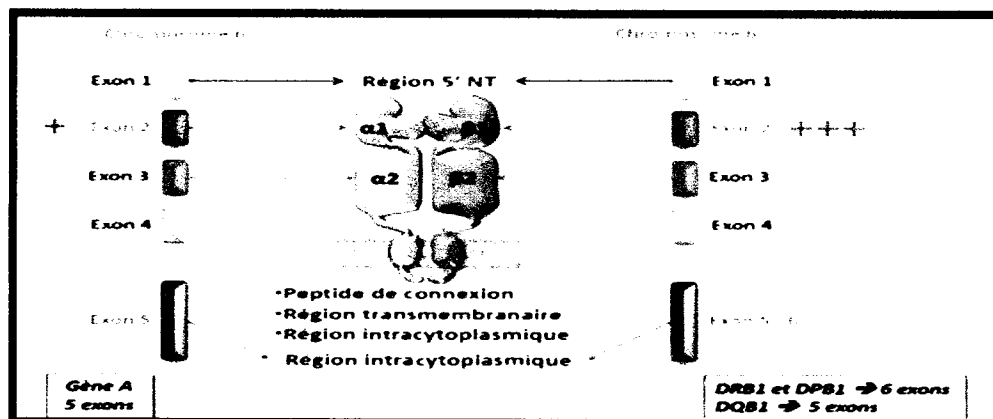


Figure 10 : Schéma représentatif des exons de HLA -II. (13)

a. La sous région DR :

Un seul gène DRA monomorphe qui code pour une chaîne α invariante qui s'associe avec la chaîne $\beta 1$ codée par le gène DRB1 pour former la première molécule HLA-DR ($\alpha\beta 1$), présente chez tous les individus.(13)

Trois autres gènes DRB polymorphes (DRB3, DRB4, DRB5) qui codent pour la chaîne $\beta 3$, $\beta 4$, $\beta 5$ qui s'associent, selon l'haplotype, à la chaîne α , pour former une deuxième molécule DR présentée à la surface cellulaire.

Ces molécules DRB-3, DRB-4, DRB5, sont associées à certaines molécules DRB1 :

- DRB3 avec : DR3, DR11 (5), DR12 (5), DR13 (6) ou DR14 (6).
- DRB4 avec : DR4, DR7et DR9.
- DRB5 avec : DR15(2), DR16 (2).

Pas de deuxième molécule DR si : l'individu est DR1, DR8, DR10.

Les gènes DRB2, DRB6, DRB7, DRB8, DRB9 sont des pseudogènes.

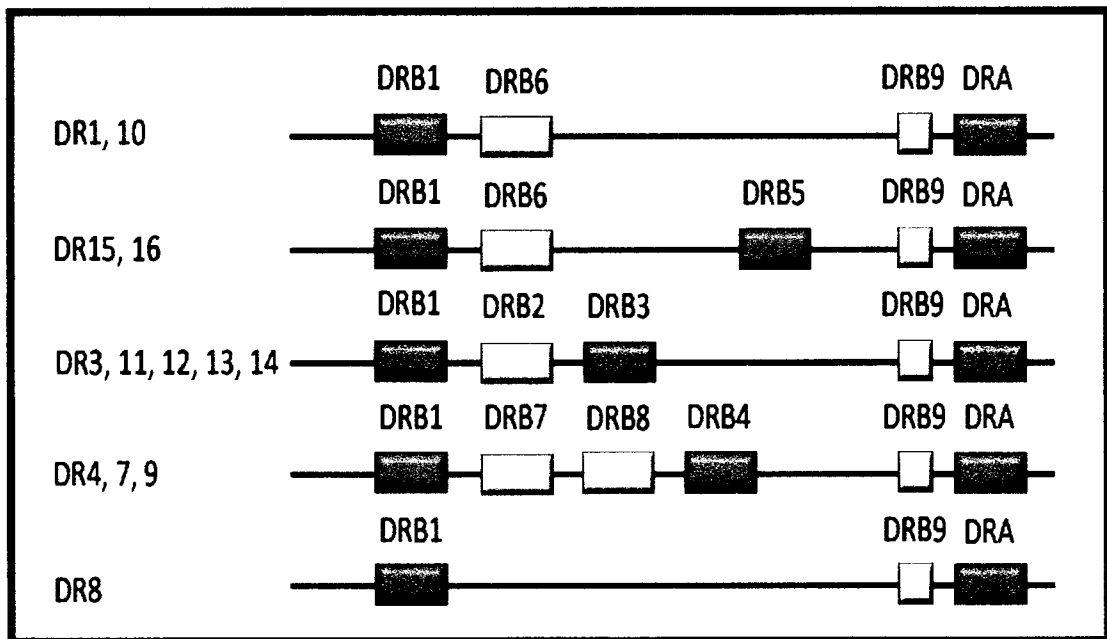


Figure 11 : Organisation des gènes de locus DR. (13)

b. La sous région DQ

- Un couple de gènes fonctionnels HLA-DQB1 et HLA-DQA1 qui codent pour les chaînes $\beta 1$ des molécules DQ définies par réaction sérologique (DQ1 à DQ9).
- Un couple de pseudo gènes non fonctionnels HLA-DQB2 et HLA-DQA2.

c. La sous région DP

- Un couple des gènes fonctionnels HLA-DPB1 et HLA-DPA1 qui codent pour les chaînes $\alpha 1$ de la molécule DP définies par réaction cellulaire (DP1 à DP6).
- Un couple de pseudo gènes non fonctionnels HLA-DP B2, HLA-DP A2.

III.2.2. Molécules

III.2.2.1. Structure

Ce sont des hétérodimères transmembranaires, de nature glycoprotéique et issus de la super famille des immunoglobulines, composés d'une **chaîne lourde α** (PM= 35 kDa) et d'une **chaîne légère β** (PM = 29 kDa) associées de façon non covalente et organisés en trois segments :

- ✓ **Segment Extra cellulaire (N-terminal)** : comportant chacun 2 domaines ($\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\beta 1$, $\beta 2$).
- ✓ **Segment Transmembranaire** hydrophobe.
- ✓ **Segment Intracytoplasmique (C-terminal)**. [8] [10]

Sa structure tridimensionnelle est semblable à celle des HLA I, les domaines $\alpha 1$, $\beta 1$ forment entre eux la cavité de liaison au peptide, qui est plus ouverte à ces extrémités que celles des molécules HLAI. [8] [10]

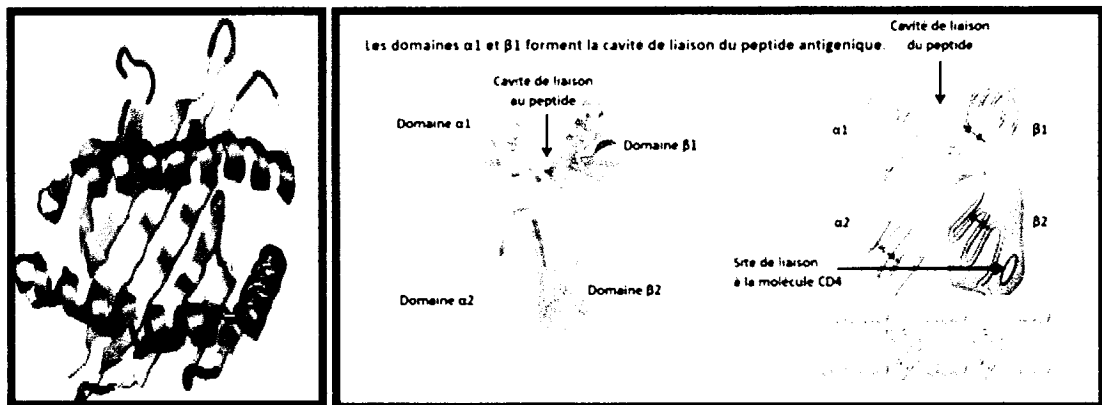


Figure 12 : structure des molécules HLA de classe II. (13)

III.2.2.2.Expression

Ils ont une expression restreinte aux cellules présentatrices d'antigènes (les lymphocytes B, les cellules dendritiques et les cellules monocytaires) et à d'autres cellules qu'après activation (lymphocytes T, cellules endothéliales). [2]

Chaque individu dispose :

- 2 molécules HLA-DQ.
- 2 molécules HLA-DP.
- 2 à 4 molécules HLA-DR. [8] [10]

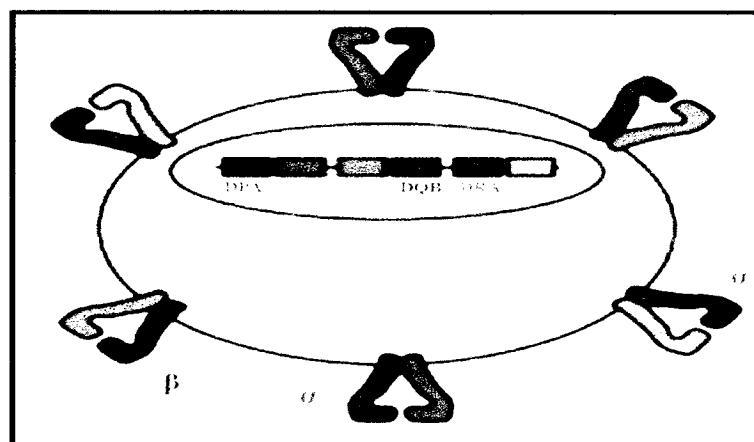


Figure 13: Expression des molécules HLA-II

III.2.2.3.Modulation

Leur expression est augmentée par l'IFN γ , l'IL 4, l'IL13, le TNF α , et le GM CSF, et inhibée par la prostaglandine E2. [10]

III.2.2.4.Assemblage de la molécule HLA de classe II et chargement du peptide

Les antigènes exogènes, internalisés par phagocytose (ou endocytose), sont dégradés par diverses enzymes hydrolytiques au sein des compartiments endocytaires acides. Au sein du RE, les molécules du CMH de classe II nouvellement formées s'associent avec la chaîne invariante (bloque la liaison des peptides endogènes) qui sera dégradée partiellement. La fusion des compartiments endocytaires et de ceux contenant les complexes HLA classe II-chaînes invariantes, permet la rencontre des peptides issus des Ag exogènes hydrolysés avec les molécules HLA de classe II (10 - 34 AA). [26]

Le peptide issu de la chaîne invariante (CLIP) est délogé de la cavité de liaison au peptide, ce qui va permettre le chargement du peptide antigénique (exogène) par les molécules DM et DO. Les complexes peptide-CMH classe II sont ensuite transportés vers la membrane plasmique où ils seront reconnus par les lymphocytes T helper. [26]

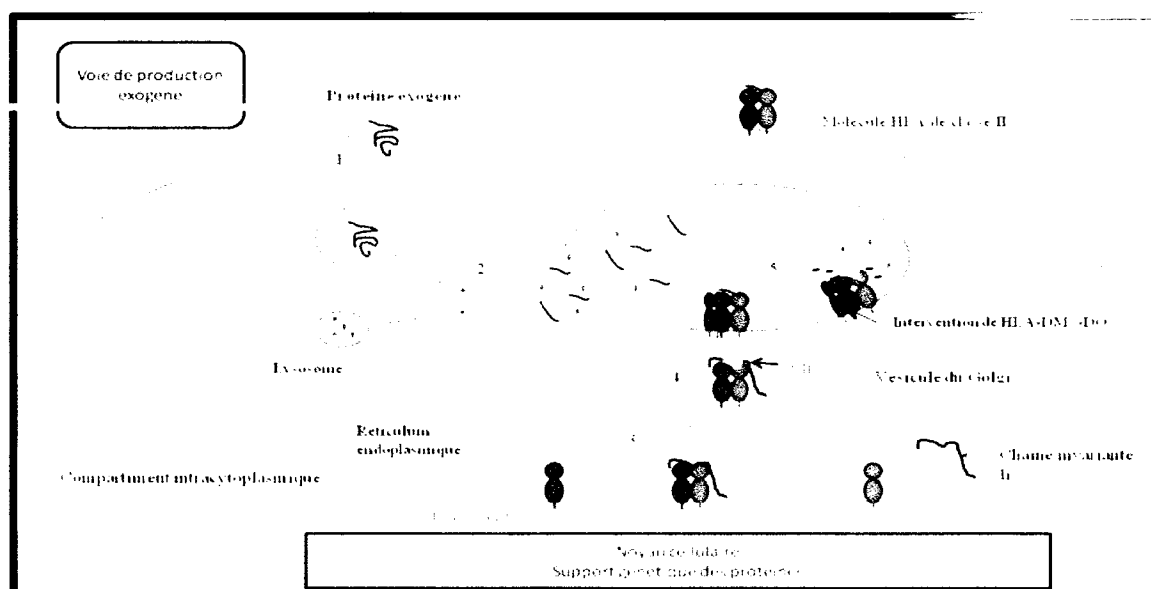


Figure 14: Assemblage des molécules HLA-II et chargement du peptide antigénique. (73)

III.3. HLA de classe III

III.3.1. Gènes

Elle est localisée entre la région B et DR et s'étend sur environ 1000Kb. Elle ne code pas pour des molécules HLA et contient des gènes codant pour des fractions du complément (C2, C4, Facteur B) ; la TNF et pour les lymphotoxines, ainsi que pour des gènes non impliqués dans l'immunité (exemple les protéines du choc thermique ; HSP 70.2, 70.1). [26]

IV-Fonction des molécules HLA

La fonction essentielle des molécules HLA est de fixer les peptides antigéniques et de les présenter à la surface cellulaire aux lymphocytes T. La source des peptides, leur trajet intracellulaire avant association aux molécules HLA, ainsi que le type de lymphocytes T auxquels ils sont présentés varient selon la classe de molécules HLA considérées. [2] [8] [10]

IV.1. Les molécules HLA de classe I

présentent aux lymphocytes T CD8 cytotoxiques des peptides antigéniques de 9 acides aminés provenant de la dégradation par le protéasome de protéines endogènes cytosoliques synthétisées par la cellule (protéines du soi, protéines tumorales ou virales). [2] [8] [10]

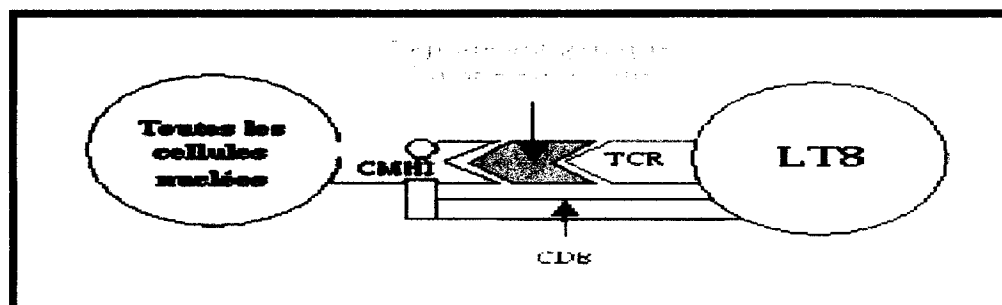


Figure 15: Présentation du peptide antigénique par HLA-I au lymphocyte T CD8.

IV.2. Les molécules HLA de classe II :

Présentent aux lymphocytes T CD4 des peptides antigéniques de 12 à 15 acides aminés provenant de la dégradation endo-lysosomale de protéines exogènes (protéines de bactéries à développement extracellulaire) ou de protéines membranaires ou sécrétées. [2] [8] [10]

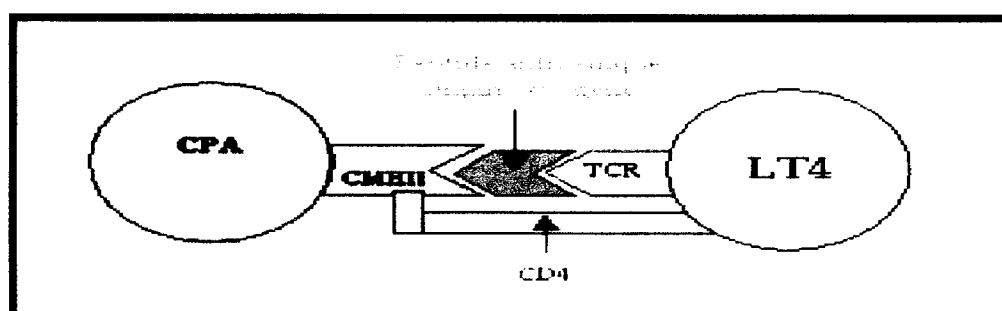


Figure 16 : Présentation du peptide antigénique par HLA-II au lymphocyte T CD4.

En plus les molécules HLA sont impliquées dans :

- La restriction du répertoire lymphocytaire T.
- L'immunosurveillance grâce du fait que les molécules HLA de classe I sont des ligands des récepteurs NK. [8] [10] [2]

V-Applications cliniques

De par ses fonctions de présentation, la diversité de ses molécules exprimées, le système HLA joue un rôle majeur dans :

- La transplantation d'organe et en greffe de CSH ;
- La susceptibilité à certaines maladies ;
- La génétique de populations ;
- La médecine légale. [2] [10] [29]

VI-Nomenclature

La nomenclature HLA doit respecter des critères précis qui permettent son homogénéité entre les résultats au niveau international. Elle est tenue à jour par le comité international « WHO nomenclature committee ». [31]

Elle est adaptée à la technique utilisée pour réaliser le typage : [30]

1. Technique sérologique :

Chaque spécificité moléculaire HLA est désignée par une lettre précisant le locus auquel elle appartient (HLA-A pour locus A) suivie par son numéro spécifique (exemples : HLA-A2 ; HLA-B27). [32]

Pour le locus C, et afin d'éviter toute ambiguïté avec les protéines du complément, la lettre W (pour « Workshop ») est accolée à C (exemple : HLA-Cw2). [31]

Egalement il est mentionné entre parenthèse la spécificité large (Broad) à laquelle appartient certaines molécules :

Ex : pour les deux spécificités A25 et A26, subdivision de la spécificité « broad » A10. Sont désignées : A25(10) ou A26(10). [32]

LOCUS A		LOCUS B				LOCUS C	LOCUS DR		LOCUS DQ
A1	A1.1	B*1	B*1.1	B*1.2	B*1.3	C	DRA1	DRB1	DQA1
A2	A2.1	B*2	B*2.1	B*2.2	B*2.3	C	DRA2	DRB2	DQA2
A3	A3.1	B*3	B*3.1	B*3.2	B*3.3	C	DRA3	DRB3	DQA3
A4	A4.1	B*4	B*4.1	B*4.2	B*4.3	C	DRA4	DRB4	DQA4
A5	A5.1	B*5	B*5.1	B*5.2	B*5.3	C	DRA5	DRB5	DQA5
A6	A6.1	B*6	B*6.1	B*6.2	B*6.3	C	DRA6	DRB6	DQA6
A7	A7.1	B*7	B*7.1	B*7.2	B*7.3	C	DRA7	DRB7	DQA7
A8	A8.1	B*8	B*8.1	B*8.2	B*8.3	C	DRA8	DRB8	DQA8
A9	A9.1	B*9	B*9.1	B*9.2	B*9.3	C	DRA9	DRB9	DQA9
A10	A10.1	B*10	B*10.1	B*10.2	B*10.3	C	DRA10	DRB10	DQA10
A11	A11.1	B*11	B*11.1	B*11.2	B*11.3	C	DRA11	DRB11	DQA11
A12	A12.1	B*12	B*12.1	B*12.2	B*12.3	C	DRA12	DRB12	DQA12
A13	A13.1	B*13	B*13.1	B*13.2	B*13.3	C	DRA13	DRB13	DQA13
A14	A14.1	B*14	B*14.1	B*14.2	B*14.3	C	DRA14	DRB14	DQA14
A15	A15.1	B*15	B*15.1	B*15.2	B*15.3	C	DRA15	DRB15	DQA15
A16	A16.1	B*16	B*16.1	B*16.2	B*16.3	C	DRA16	DRB16	DQA16
A17	A17.1	B*17	B*17.1	B*17.2	B*17.3	C	DRA17	DRB17	DQA17
A18	A18.1	B*18	B*18.1	B*18.2	B*18.3	C	DRA18	DRB18	DQA18
A19	A19.1	B*19	B*19.1	B*19.2	B*19.3	C	DRA19	DRB19	DQA19
A20	A20.1	B*20	B*20.1	B*20.2	B*20.3	C	DRA20	DRB20	DQA20
A21	A21.1	B*21	B*21.1	B*21.2	B*21.3	C	DRA21	DRB21	DQA21
A22	A22.1	B*22	B*22.1	B*22.2	B*22.3	C	DRA22	DRB22	DQA22
A23	A23.1	B*23	B*23.1	B*23.2	B*23.3	C	DRA23	DRB23	DQA23
A24	A24.1	B*24	B*24.1	B*24.2	B*24.3	C	DRA24	DRB24	DQA24
A25	A25.1	B*25	B*25.1	B*25.2	B*25.3	C	DRA25	DRB25	DQA25
A26	A26.1	B*26	B*26.1	B*26.2	B*26.3	C	DRA26	DRB26	DQA26
A27	A27.1	B*27	B*27.1	B*27.2	B*27.3	C	DRA27	DRB27	DQA27
A28	A28.1	B*28	B*28.1	B*28.2	B*28.3	C	DRA28	DRB28	DQA28
A29	A29.1	B*29	B*29.1	B*29.2	B*29.3	C	DRA29	DRB29	DQA29
A30	A30.1	B*30	B*30.1	B*30.2	B*30.3	C	DRA30	DRB30	DQA30
A31	A31.1	B*31	B*31.1	B*31.2	B*31.3	C	DRA31	DRB31	DQA31
A32	A32.1	B*32	B*32.1	B*32.2	B*32.3	C	DRA32	DRB32	DQA32
A33	A33.1	B*33	B*33.1	B*33.2	B*33.3	C	DRA33	DRB33	DQA33
A34	A34.1	B*34	B*34.1	B*34.2	B*34.3	C	DRA34	DRB34	DQA34
A35	A35.1	B*35	B*35.1	B*35.2	B*35.3	C	DRA35	DRB35	DQA35
A36	A36.1	B*36	B*36.1	B*36.2	B*36.3	C	DRA36	DRB36	DQA36
A37	A37.1	B*37	B*37.1	B*37.2	B*37.3	C	DRA37	DRB37	DQA37
A38	A38.1	B*38	B*38.1	B*38.2	B*38.3	C	DRA38	DRB38	DQA38
A39	A39.1	B*39	B*39.1	B*39.2	B*39.3	C	DRA39	DRB39	DQA39
A40	A40.1	B*40	B*40.1	B*40.2	B*40.3	C	DRA40	DRB40	DQA40
A41	A41.1	B*41	B*41.1	B*41.2	B*41.3	C	DRA41	DRB41	DQA41
A42	A42.1	B*42	B*42.1	B*42.2	B*42.3	C	DRA42	DRB42	DQA42
A43	A43.1	B*43	B*43.1	B*43.2	B*43.3	C	DRA43	DRB43	DQA43
A44	A44.1	B*44	B*44.1	B*44.2	B*44.3	C	DRA44	DRB44	DQA44
A45	A45.1	B*45	B*45.1	B*45.2	B*45.3	C	DRA45	DRB45	DQA45
A46	A46.1	B*46	B*46.1	B*46.2	B*46.3	C	DRA46	DRB46	DQA46
A47	A47.1	B*47	B*47.1	B*47.2	B*47.3	C	DRA47	DRB47	DQA47
A48	A48.1	B*48	B*48.1	B*48.2	B*48.3	C	DRA48	DRB48	DQA48
A49	A49.1	B*49	B*49.1	B*49.2	B*49.3	C	DRA49	DRB49	DQA49
A50	A50.1	B*50	B*50.1	B*50.2	B*50.3	C	DRA50	DRB50	DQA50
A51	A51.1	B*51	B*51.1	B*51.2	B*51.3	C	DRA51	DRB51	DQA51
A52	A52.1	B*52	B*52.1	B*52.2	B*52.3	C	DRA52	DRB52	DQA52
A53	A53.1	B*53	B*53.1	B*53.2	B*53.3	C	DRA53	DRB53	DQA53
A54	A54.1	B*54	B*54.1	B*54.2	B*54.3	C	DRA54	DRB54	DQA54
A55	A55.1	B*55	B*55.1	B*55.2	B*55.3	C	DRA55	DRB55	DQA55
A56	A56.1	B*56	B*56.1	B*56.2	B*56.3	C	DRA56	DRB56	DQA56
A57	A57.1	B*57	B*57.1	B*57.2	B*57.3	C	DRA57	DRB57	DQA57
A58	A58.1	B*58	B*58.1	B*58.2	B*58.3	C	DRA58	DRB58	DQA58
A59	A59.1	B*59	B*59.1	B*59.2	B*59.3	C	DRA59	DRB59	DQA59
A60	A60.1	B*60	B*60.1	B*60.2	B*60.3	C	DRA60	DRB60	DQA60
A61	A61.1	B*61	B*61.1	B*61.2	B*61.3	C	DRA61	DRB61	DQA61
A62	A62.1	B*62	B*62.1	B*62.2	B*62.3	C	DRA62	DRB62	DQA62
A63	A63.1	B*63	B*63.1	B*63.2	B*63.3	C	DRA63	DRB63	DQA63
A64	A64.1	B*64	B*64.1	B*64.2	B*64.3	C	DRA64	DRB64	DQA64
A65	A65.1	B*65	B*65.1	B*65.2	B*65.3	C	DRA65	DRB65	DQA65
A66	A66.1	B*66	B*66.1	B*66.2	B*66.3	C	DRA66	DRB66	DQA66
A67	A67.1	B*67	B*67.1	B*67.2	B*67.3	C	DRA67	DRB67	DQA67
A68	A68.1	B*68	B*68.1	B*68.2	B*68.3	C	DRA68	DRB68	DQA68
A69	A69.1	B*69	B*69.1	B*69.2	B*69.3	C	DRA69	DRB69	DQA69
A70	A70.1	B*70	B*70.1	B*70.2	B*70.3	C	DRA70	DRB70	DQA70
A71	A71.1	B*71	B*71.1	B*71.2	B*71.3	C	DRA71	DRB71	DQA71
A72	A72.1	B*72	B*72.1	B*72.2	B*72.3	C	DRA72	DRB72	DQA72
A73	A73.1	B*73	B*73.1	B*73.2	B*73.3	C	DRA73	DRB73	DQA73
A74	A74.1	B*74	B*74.1	B*74.2	B*74.3	C	DRA74	DRB74	DQA74
A75	A75.1	B*75	B*75.1	B*75.2	B*75.3	C	DRA75	DRB75	DQA75
A76	A76.1	B*76	B*76.1	B*76.2	B*76.3	C	DRA76	DRB76	DQA76
A77	A77.1	B*77	B*77.1	B*77.2	B*77.3	C	DRA77	DRB77	DQA77
A78	A78.1	B*78	B*78.1	B*78.2	B*78.3	C	DRA78	DRB78	DQA78
A79	A79.1	B*79	B*79.1	B*79.2	B*79.3	C	DRA79	DRB79	DQA79
A80	A80.1	B*80	B*80.1	B*80.2	B*80.3	C	DRA80	DRB80	DQA80
A81	A81.1	B*81	B*81.1	B*81.2	B*81.3	C	DRA81	DRB81	DQA81
A82	A82.1	B*82	B*82.1	B*82.2	B*82.3	C	DRA82	DRB82	DQA82
A83	A83.1	B*83	B*83.1	B*83.2	B*83.3	C	DRA83	DRB83	DQA83
A84	A84.1	B*84	B*84.1	B*84.2	B*84.3	C	DRA84	DRB84	DQA84
A85	A85.1	B*85	B*85.1	B*85.2	B*85.3	C	DRA85	DRB85	DQA85
A86	A86.1	B*86	B*86.1	B*86.2	B*86.3	C	DRA86	DRB86	DQA86
A87	A87.1	B*87	B*87.1	B*87.2	B*87.3	C	DRA87	DRB87	DQA87
A88	A88.1	B*88	B*88.1	B*88.2	B*88.3	C	DRA88	DRB88	DQA88
A89	A89.1	B*89	B*89.1	B*89.2	B*89.3	C	DRA89	DRB89	DQA89
A90	A90.1	B*90	B*90.1	B*90.2	B*90.3	C	DRA90	DRB90	DQA90
A91	A91.1	B*91	B*91.1	B*91.2	B*91.3	C	DRA91	DRB91	DQA91
A92	A92.1	B*92	B*92.1	B*92.2	B*92.3	C	DRA92	DRB92	DQA92
A93	A93.1	B*93	B*93.1	B*93.2	B*93.3	C	DRA93	DRB93	DQA93
A94	A94.1	B*94	B*94.1	B*94.2	B*94.3	C	DRA94	DRB94	DQA94
A95	A95.1	B*95	B*95.1	B*95.2	B*95.3	C	DRA95	DRB95	DQA95
A96	A96.1	B*96	B*96.1	B*96.2	B*96.3	C	DRA96	DRB96	DQA96
A97	A97.1	B*97	B*97.1	B*97.2	B*97.3	C	DRA97	DRB97	DQA97
A98	A98.1	B*98	B*98.1	B*98.2	B*98.3	C	DRA98	DRB98	DQA98
A99	A99.1	B*99	B*99.1	B*99.2	B*99.3	C	DRA99	DRB99	DQA99
A100	A100.1	B*100	B*100.1	B*100.2	B*100.3	C	DRA100	DRB100	DQA100

Figure 17 : Nomenclature des spécificités HLA.

2-Technique de Biologie moléculaire :

Un allèle est référencé par le **locus** auquel il appartient suivi d'un **astérisque (*)** puis de **deux chiffres** (incluant le 0 si nécessaire) pour désigner la spécificité allélique (exemple : HLA-A*03, HLA-B*35). [32]

On distingue deux types de résolution de typage :

- **Le typage générique** : de « **basse résolution** », on parle aussi de résolution 2 digits.
- **Le typage allélique** : de « **haute résolution** », on parle de résolution 4 digits. Avec certaines techniques de biologie moléculaire, on peut obtenir une haute résolution de 6 digits, voire même 8 digits. La figure 18 apporte des précisions sur ces derniers digits. [31]

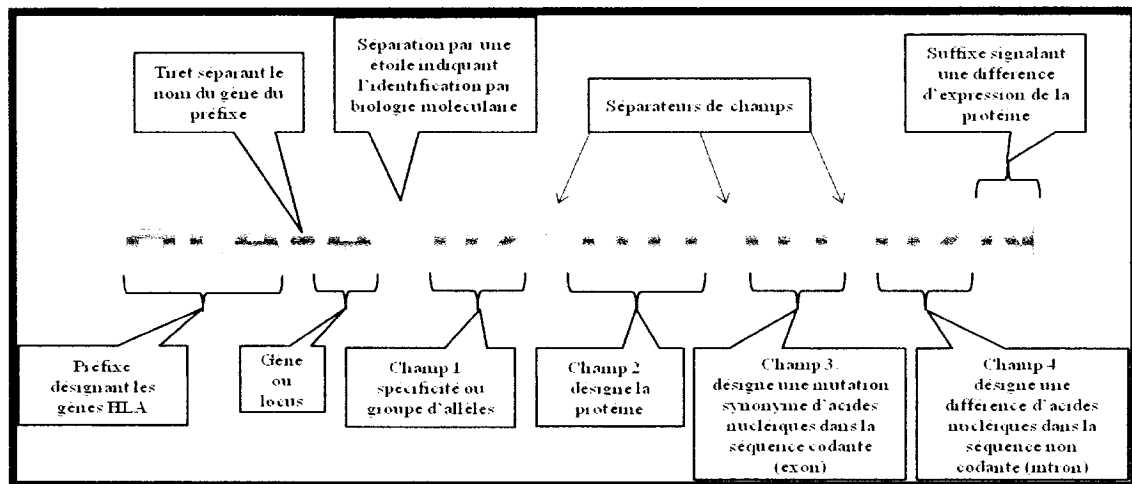


Figure 18: Nomenclature des allèles HLA. [30]

VII-Caractéristiques des gènes HLA :

VII.1.Polymorphisme extrême

Il est conditionné par un polyallélisme pour chaque locus (chaque gène est polyallélique) ; il est principalement localisé au niveau du site de liaison au peptide à ce niveau il est caractérisé par une différence en séquence d'acide aminée. [8] [11]

VII.2. Déséquilibre de liaison

Certaines combinaisons d'allèles surviennent plus fréquemment que ne le voudrait le hasard, ce phénomène est appelé déséquilibre de liaison (linkage disequilibrium). [11]

VII.3. Liaison étroite

Les loci HLA A, B, C, DR, DQ, DP sont distincts mais étroitement liés sur le même chromosome. La transmission des gènes se fait en bloc des parents aux enfants.

Chaque enfant hérite un haplotype paternel et un haplotype maternel, la somme des 2 haplotypes définit le **génotype**. [8] [9]

Ainsi la probabilité pour 2 enfants d'une même fratrie d'être :

- ✓ HLA identiques est de 25%.
- ✓ HLA semi identiques est de 50%.
- ✓ HLA différents est de 25%. [9]

Cependant, dans de rares cas (moins de 1% des cas), une recombinaison entre 2 haplotypes paternels et/ou maternels « Crossing over » peut survenir, créant un nouvel haplotype dit **recombinant**.

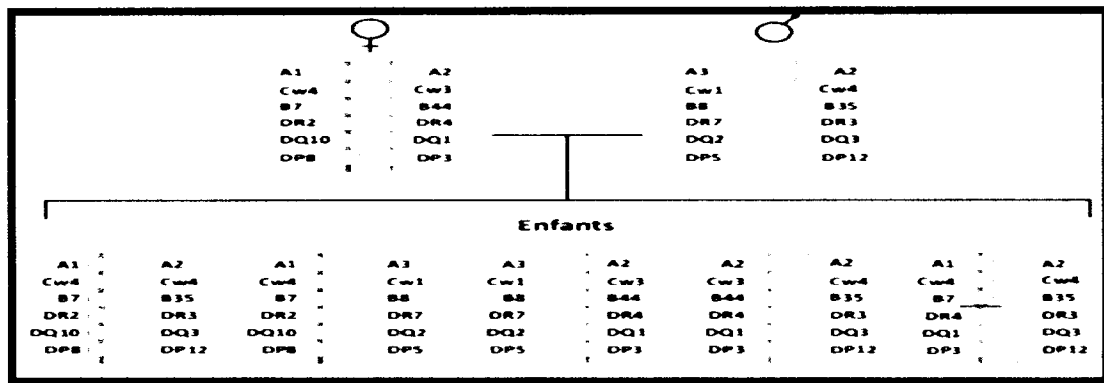


Figure 19 : Transmission en bloc des gènes HLA.

VII.4.Expression codominante :

L'expression codominante des gènes HLA implique que chaque allèle porté par chaque haplotype est exprimé et son produit protéique est détecté.

Un individu peut être hétérozygote pour chaque locus (02 allèles), ou homozygote pour un ou plusieurs locus (01 allèle).

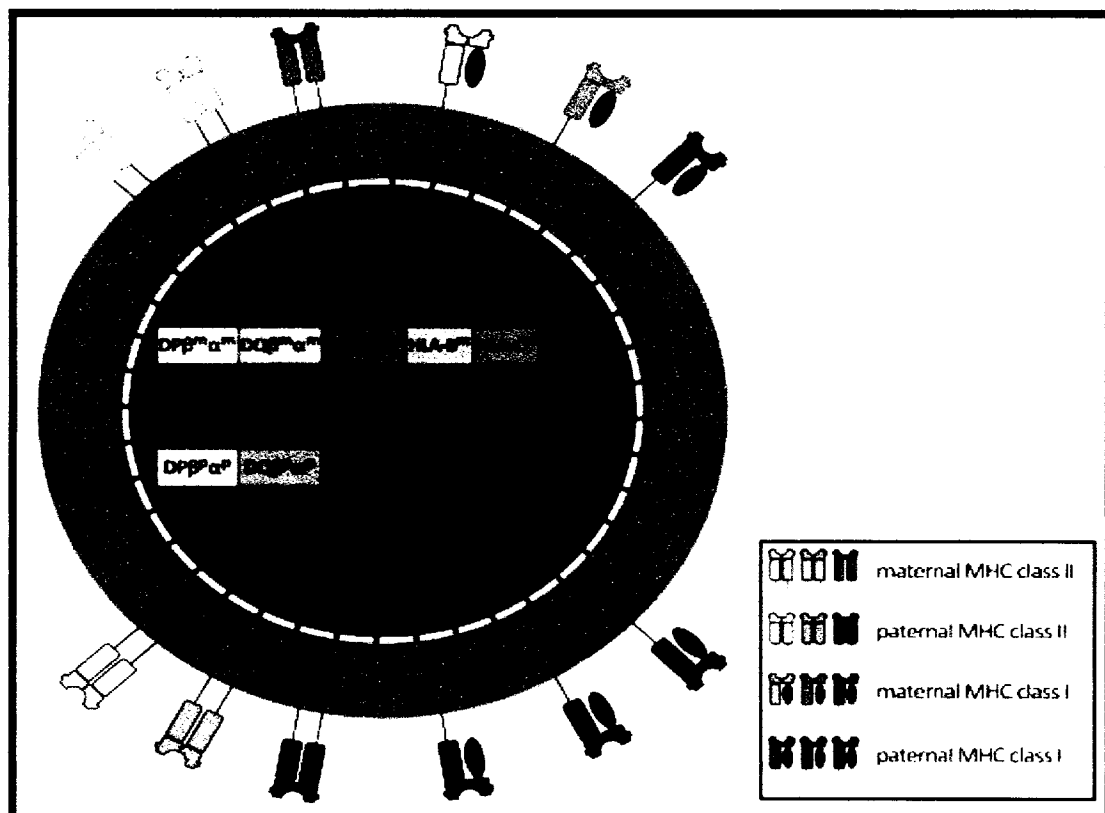


Figure 20 : La codominance des gènes HLA.

CHAPITRE II : Le polymorphisme et déséquilibre de liaison

I. Polymorphisme

Chez l'Homme, Les gènes HLA sont les plus polymorphes car ils possèdent un nombre extraordinairement élevé d'allèles possibles au niveau de chaque locus. [2] [8] [9] [10] [11] [12] [14]

I.1. Définition

Le polymorphisme a pour base structurale des différences au niveau des séquences nucléotidiques d'un gène donné définissant ainsi plusieurs allèles possibles, d'où le terme polyallélisme et qui est très marqué au niveau des gènes HLA. Un gène est considéré polymorphe lorsqu'il existe deux allèles dans la population avec une fréquence d'au moins 1%. [8] [9] [14]

De ce fait et habituellement, les molécules HLA exprimées par différents individus se distinguent entre elles structurellement au niveau de la séquence peptidique, contribuant à la nature spécifique de chaque molécule (pouvant aller jusqu'à 20 résidus acide aminés). [8]

Le phénomène de mutation, s'il peut se révéler souvent néfaste à l'échelle d'un individu, il doit être compris comme étant le fondement même de la biodiversité génétique des populations et des espèces. [38]

Plus de 100 spécificités antigéniques ont été définies par techniques sérologiques et cellulaires (Figure 17). Tandis que, par les techniques de biologie moléculaire, plus de 17166 allèles ont été décrits (Tableau 3). L'association combinatoire de tous les allèles décrits pour les six locus HLA (HLA-A,-B,- C,- DR,- DQ,-DP) trouve plus de 4×10^{30} combinaisons par haplotype. [8] [30] [40]

Tableau 3 : Allèles et protéines HLA juin 2017. [30]

Gène	Nombre		
	Allèles	Protéines	Allèles nuls
HLA-A	3968	2781	181
HLA-B	4828	3501	146
HLA-C	3579	2,49	128
HLA-DRA	7	2	0
HLA-DRB1	2103	1520	51
HLA-DRB3	145	119	4
HLA-DRB4	66	52	7
HLA-DRB5	54	48	3
HLA-DQA1	94	35	3
HLA-DQB1	1142	774	31
HLA-DPA1	53	24	0
HLA-DPB1	894	641	22

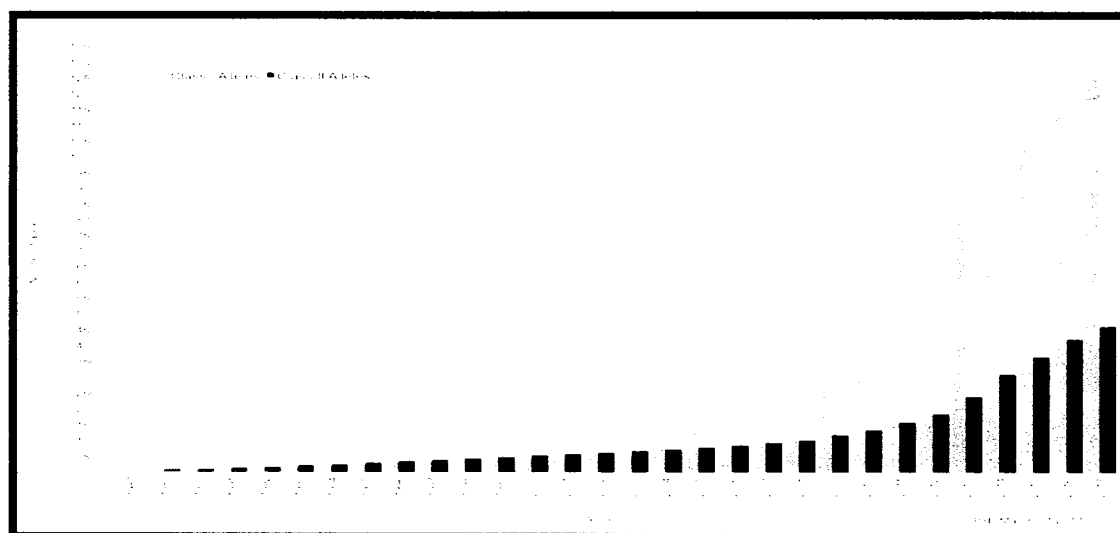


Figure 21: Répartition du nombre d'allèles nommés de 1987 à la fin Juin 2017. [30]

I.2. Degré de variabilité

La variabilité correspond au degré de différence entre deux allèles (ou molécules). Elle est mesurée par le pourcentage de nucléotides différents (variabilité allélique) ou d'acides aminés (variabilité peptidique), entre les séquences considérées. (74)

Elle permet de préciser les régions conservées (domaine $\alpha 3$ et $\beta 2m$) et variables (domaine $\alpha 1$, $\alpha 2$) de la molécule et de définir objectivement les notions de variabilité et de polymorphisme de ces molécules. (74)

I.3. Supports du polymorphisme

I.3.1. HLA classe I

L'essentiel du polymorphisme allélique est situé au niveau des exons 2 et 3 codants pour les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ constitutifs du site de fixation peptidique et de la région de contact avec le TCR.

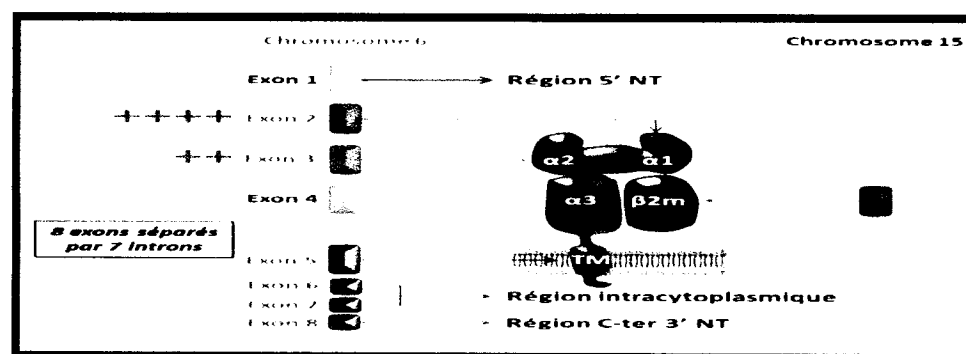


Figure 22: polymorphisme des gènes HLA- I. (13)

Les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ sont variables avec des régions de forte variabilité (résidus 9, 24, 41-46, 62-82, de domaine $\alpha 1$ et résidus 95-99, 114-116, 152, 156, et 163 du domaine $\alpha 2$).

La molécule comporte 25% de résidus variables, dont seulement 7,3% des résidus sont hypervariables.

La chaîne légère $\beta 2$ m et le domaine $\alpha 3$ sont conservés.

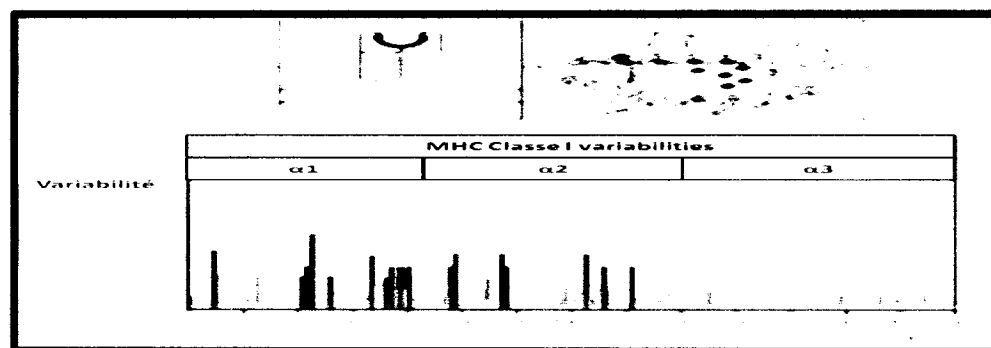


Figure 23 : Sites de variabilité des molécules HLA-I. (74)

I.3.2.HLA classe II

Tous les gènes de classe II sont polymorphes à l'exception du gène DRA (monomorphe) qui code pour une chaîne α identique chez tous les individus.

Toutefois le gène DRB1 est de loin le plus polymorphe des gènes HLA-II suivi du gène DQB1. Les autres gènes (DRB3, DRB4 ; DQA1 ; DPA1 et DPB1) disposent d'un polymorphisme moindre ce qui limite leur typage en routine.

Pour tous ces gènes le polymorphisme est essentiellement localisé au niveau de l'exon 2 codants pour les domaines les plus externes $\alpha 1$ et $\beta 1$ tandis que les domaines- $\alpha 2$ et $\beta 2$ sont conservés.

Les gènes codant pour les chaînes β des molécules HLA-DR, -DQ et -DP sont beaucoup plus polymorphes que ceux codant pour les chaînes α . (Figure 10)

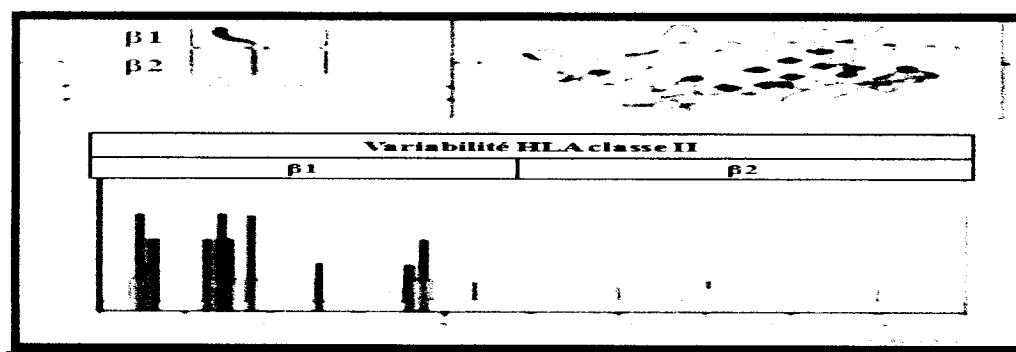


Figure 24 : Sites de variabilité des molécules HLA-II. (74)

❖ Les molécules hybrides

Il existe un polymorphisme supplémentaire issu de l'association des chaînes α et β des 2 haplotypes par transcomplémentation, à l'intérieur d'un isotype (DQ, voire DP). Ces

molécules hybrides, décrites chez des sujets hétérozygotes, sont génératrices d'un polymorphisme fonctionnel et sont le support moléculaire de nombreuses associations HLA et maladies.

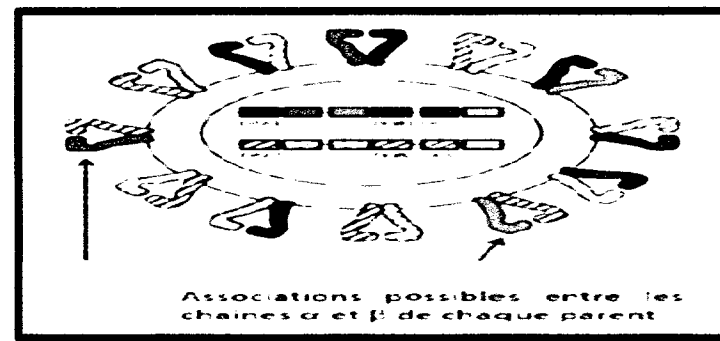


Figure 25 : Molécules hybrides.

I.4. Génération du polymorphisme

Il est le résultat des **mutations ponctuelles non pathogènes** qui font apparaître de nouveaux allèles, mais également de **conversions géniques** et de **recombinaisons homologues** ayant eu lieu au moment de la méiose.

I.4.1. les mutations ponctuelles

Sont des modifications d'un nucléotide (ou d'un faible nombre de nucléotides) qui créent de nouveaux allèles. (38)

Trois mécanismes de mutation peuvent affecter l'ADN :

- Le changement d'une base par un autre = **Substitution**.
- La perte d'un ou plusieurs nucléotides = **Délétion**.
- L'insertion d'un ou plusieurs nucléotides = **Addition**. (38)

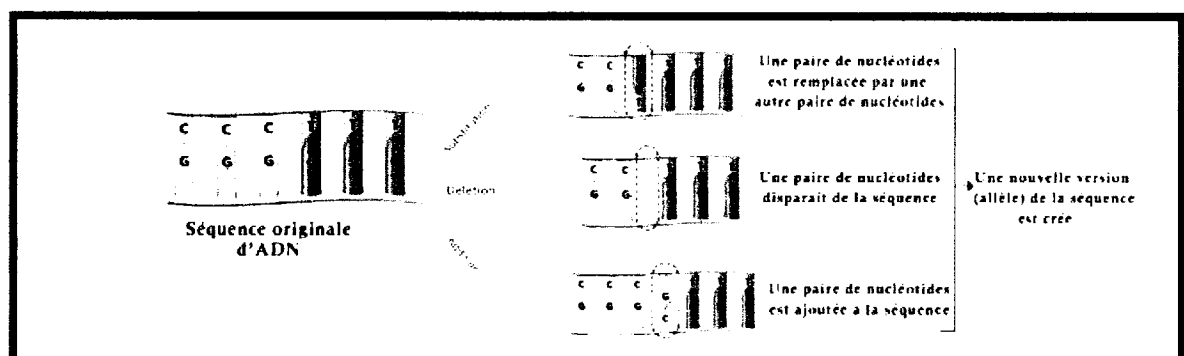


Figure 26: Types de mutations ponctuelles.

I.4.2. Conversion génique

C'est le transfert non réciproque d'une information de séquence. L'échange peut se faire entre une paire de séquence non allélique (on parle dans ce cas de conversion génique), ou

entre une paire de séquence allélique (dans ce cas on parle d'une conversion génique interallélique). (44)

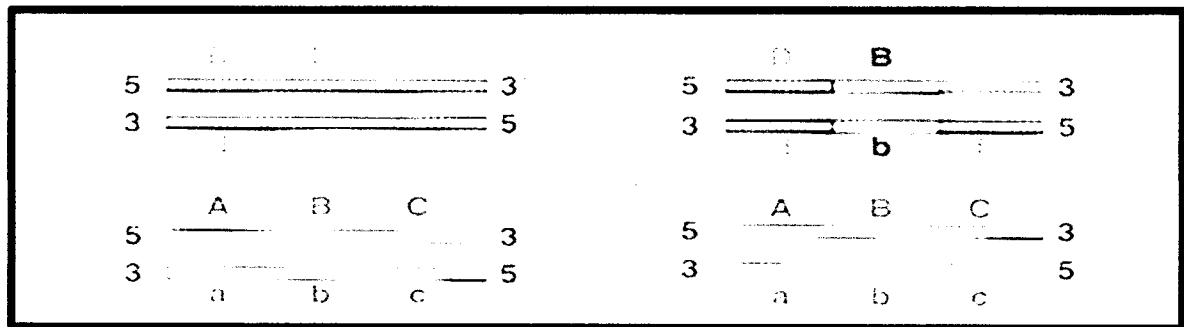


Figure 27 : conversion génique.

I.4.3.Recombinaison homologue

C'est un type de recombinaison génétique où les séquences de nucléotides sont échangées entre des molécules d'ADN identiques (homologues ou similaires) Au sens large, la recombinaison homologue est le mécanisme qui cause l'échange entre molécules d'ADN. Elle est initiée par une cassure double-brin de l'ADN.

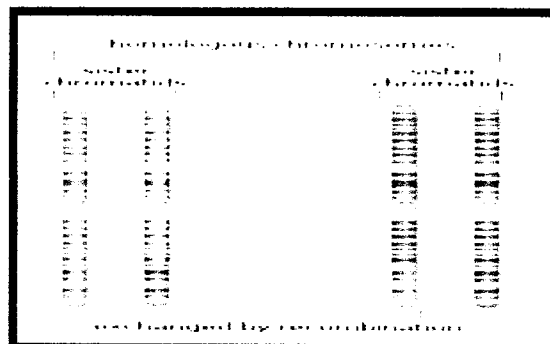


Figure 28 : Recombinaison homologue.

Un deuxième modèle « évolution par naissance et mort de gènes » « birth and death evolution » Le plus récemment admis ; Dans ce modèle, le polymorphisme HLA est généré par l'association de trois mécanismes différents ; la de **conversion génique** impliqué comme moteur de la diversification du polymorphisme allélique des gènes de classe I et de classe II, la **sélection balancée** et la survenue des **mutations ponctuelles** . [14] [45] [46] [47] [48]

L'action seul du mécanisme de conversion génique mènerait à une homogénéisation des séquences des gènes HLA, et non pas à une augmentation de leur polymorphisme, d'où l'importance de l'addition des deux autres mécanismes (sélection balancée et de mutation ponctuelles). [14] [45] [46] [47] [48]

La **sélection balancée** se réfère à un certain nombre de processus sélectifs par lesquels plusieurs allèles sont activement maintenus dans le pool de gènes d'une population à des fréquences plus importantes que prévu. [38]

I.5. Conséquences du polymorphisme

I.5.1. Structurellement

Les analyses cristallographiques des molécules HLA, ont permis de localiser la majorité des résidus polymorphiques au niveau de la poche de fixation au peptide antigénique. Ce qui suggère fortement que les différences alléliques contribuent à la capacité distincte des molécules HLA à interagir avec un peptide antigénique donné ; une stratégie du système immunitaire développée pour confronter à l'extrême variabilité des antigènes. [8] [11]

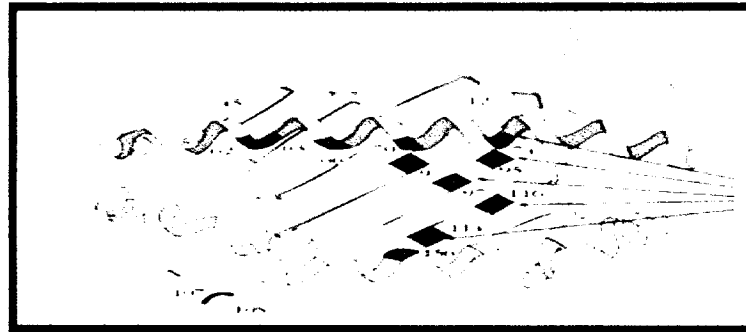


Figure 29: Localisation des résidus AA polymorphiques (rouge) dans les domaines $\alpha 1/\alpha 2$ d'une molécule HLA de classe I

I.5.2. Fonctionnellement

- Vaccinales : Un même Ag vaccinal sera présenté plus ou moins bien selon les individus, exemple : hépatite B : HLA-DQ2, DQ3, DR7 : faibles répondeurs [35]
- En biologie médicale : «faux négatifs» pour les tests d'activation lymphocytaire en présence d'Ag spécifiques [35], Exemple : certaines ethnies dont l'allèle HLA DRB1*0701 est fréquent (Sud-ouest européens, Nord-Africains, Est-subsahariens, Ouest et Sud-Asiatique) ne répondent pas aux Ag utilisés pour le test QuantiFERONND. [35] [49]
- Pathologiques : Facilité de présenter des peptides associés à certaines maladies auto-immunes : HLA -B27 (Spondylarthrite ankylosante), -B51 (Maladie de Behçet), -Cw6 (Psoriasis) et -DR3 (Maladie cœliaque). [29] [35]
- Pour la greffe : il est très difficile d'apparier un donneur et un receveur et souvent responsable du phénomène du rejet de transplant. [8] [35]

I.6. Techniques d'étude du polymorphisme HLA

Deux approches d'identification de ce polymorphisme HLA sont possibles.

I.6.1. Identification du polymorphisme des produits HLA exprimés

La première consiste à identifier les molécules à la surface des cellules qui les expriment dans des tests qui utiliseront ces cellules comme support de l'antigène. [15]

I.6.1.1 Techniques sérologiques

La technique de référence est la microlymphocytotoxicité complément dépendante. utilisé pour le phénotypage des molécules HLA de classe I(HLA-A –B –C) surtout ; mais peu de spécificités HLA-II (HLA-DR , HLA-DQ). [15]

I.6.1.2. Techniques biochimiques : d'isoélectrofocalisation (IEF)

I.6.1.3. Techniques cellulaires : (cytotoxicité à médiation cellulaire, culture mixte)

I.6.2. Identification du polymorphisme des gènes HLA

La deuxième approche, plus récente, consiste à l'identification de polymorphisme HLA au niveau générique et allélique « Génotypage HLA ». Ces techniques sont dites de biologie moléculaire et permettent la description d'un polymorphisme quantitativement plus important.

Plusieurs techniques existent, toutes passent par une étape d'amplification de la région de gène que l'on veut l'étudier c'est l'étape de PCR (réaction en chaîne par polymérase).

I.6.2.1. La PCR-SSO

C'est une méthode utilisant des couples d'amorces permettant l'amplification de la région d'intérêt puis d'une fixation du produit d'amplification sur une membrane de nitrocellulose ou de nylon.

La spécificité du produit amplifié est ici définie par l'hybridation avec des *sondes oligonucléotidiques* parfaitement spécifiques de chaque allèle étudié.

I.6.2.2. La PCR-SSP

Elle est basée sur une amplification par PCR utilisant des amorces spécifiques de chaque allèle du HLA. Les amorces utilisées doivent être parfaitement complémentaires de la séquence d'ADN cible pour que l'amplification soit effective, donnant le caractère allèle-spécifique à cette technique.

I.6.2.3. Typage HLA par séquençage ou PCR-SBT

Il consiste à séquencer directement la région polymorphe du gène HLA obtenue par PCR en déterminant la succession des nucléotides qui le compose.

II-Le déséquilibre de liaison

II.1. L'équilibre de Hardy-Weinberg

En situation de panmixie (rencontre au hasard des gamètes) et en l'absence de toute force évolutive, la structure génétique d'une population reste stable d'une génération à l'autre. Cet état d'équilibre est décrit par le modèle de Hardy-Weinberg, ce dernier énonce qu'il existe une relation entre les fréquences génotypiques de la descendance et les fréquences alléliques parentales à un locus donné. [38]

Cette loi dans sa forme la plus simple concerne un locus autosomique diallélique : p_A étant la fréquence du gène A, q_a ($q_a = 1 - p_A$) celle du gène allèle a, on montre que sous

certaines conditions les fréquences des trois génotypes AA, Aa, aa sont respectivement p^2 , $2p_A q_a$, et q_a^2 . [38]

II.2. Définition du déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison entre deux allèles proches sur le même chromosome, s'agit d'une association préférentielle entre deux ou plusieurs allèles, c'est-à-dire une association rencontrée avec une fréquence plus élevée que la probabilité d'association si ces deux allèles étaient complètement indépendants l'un de l'autre. [50] [51]

II.3. Déséquilibre de liaison en génétique

Nous considérerons dans un premier temps que les deux loci sont dialléliques: A et a sont les gènes allèles du premier locus, p_A et q_a étant leurs fréquences géniques ; B et b les gènes du deuxième locus, p_B et q_b leur fréquences géniques. Si p_{AB} est la fréquence des gamètes porteurs des gènes A et B, on définit le déséquilibre de liaison D par la relation :

$$D = p_{AB} - p_A \times p_B$$

- Si $D = 0$, $p_{AB} = p_A \times p_B$, il y a absence de déséquilibre de liaison entre les gènes A et B

Cette dernière relation définit l'indépendance des événements " présence de A et B dans le même gamète " Il y a dans ce cas, un équilibre entre les deux loci. [51]

- Si $D \neq 0$, on dit qu'il y a déséquilibre de liaison. [51]

II.4. Causes du déséquilibre de liaison

Les raisons du déséquilibre de liaison ne sont pas totalement comprises, mais plusieurs explications ont été avancées.

La plus simple est qu'on est une espèce jeune donc on peut supposer qu'il n'y a **pas eu assez de générations** pour permettre le nombre de crossovers nécessaires pour atteindre l'équilibre entre les allèles présents chez les fondateurs de la population. Les haplotypes sur-représentés dans la population d'aujourd'hui refléteraient alors les combinaisons d'allèles présents chez les fondateurs. (11)

Alternativement, des effets sélectifs pourraient aussi se traduire par une fréquence plus élevée de certaines combinaisons alléliques. Par exemple, certaines combinaisons d'allèles pourraient interagir pour conférer une résistance à certaines maladies ou à l'inverse créer des effets délétères. (11)

Une troisième hypothèse est que les crossovers sont plus fréquents dans certaines régions de l'ADN que dans d'autres, et la présence ou l'absence de régions présentant une tendance au crossover (point névralgique) entre allèles pourrait dicter la fréquence de l'association allélique. Ceci suggère que les points névralgiques de recombinaison existent réellement ; ils influenceraient Des données en faveur de cette hypothèse viennent d'études de croisement de souris qui génèrent de nouveaux haplotypes H-2 recombinants, où les mêmes régions de crossover sont trouvées dans plus d'un haplotype recombinant. Le déséquilibre de liaison dans les populations. (11)

II.5. Caractéristiques et implications de déséquilibre de liaison :

Ces déséquilibres de liaison existent entre les allèles HLA I et II (A1 B8 DR3)

Ils sont variables selon les ethnies :

- Caucasoïdes : A1 B8 DR3 (4%)
- Africains : A30 B42 DR3 (2%)
- Asiatiques : A24 B52 DR15 (8%)
- Amérindiens : A24 B35 DR4 (4%)

Ils sont d'autant plus forts que les loci sont proches : CW4 B35 (8)

Ils sont très forts entre DR et DQ : (8)

- DQ2 : DR7, DR9, DR17.
- DQ4 : DR4, DR8, DR18.
- DQ5 (1): DR1, DR10, DR14, DR16, DR103.

Ils entraînent une réduction du polymorphisme et augmentent dans une population donnée les chances de trouver des donneurs d'organes compatibles avec un receveur non apparenté.
(8)

Ils permettent d'orienter les résultats d'un typage.

Ce sont des marqueurs utiles pour l'anthropologie.

CHAPITRE III : Génétique des populations

I-Génétique des populations

I.1.Définition

C'est l'étude des allèles des gènes et des forces qui influencent la constance et la modification des fréquences alléliques et génotypiques au cours du temps dans une population donnée (52). Elle a pour but de décrire et de quantifier la variabilité génétique observée dans les populations et de fournir des modèles mathématiques explicatifs de cette variabilité. (38)

I.2. La notion de population

Elle est définie par l'ensemble des individus d'une même espèce vivant dans une zone géographique commune et se reproduisent effectivement entre eux. (38)

Selon Mayr (la théorie synthétique 1974), l'unité héréditaire est le gène, l'unité sélectionnée est l'individu, qui à travers son phénotype assure la propagation de ses caractères héréditaires par sa contribution reproductrice, et faire évoluer une unité qui est la population. (38)(52)

I.3.La variabilité génétique

Elle se traduit par la présence de locus constitués d'allèles ou d'ensembles d'allèles caractérisés par une fréquence donnée au sein d'une population donnée. (38) (52)

Chaque population possède un « pool » génétique (ensemble d'allèles) qui lui est propre.

Elle doit être appréhendée à deux échelles : (38) (52)

- A celle de la population étudiée, on décrit alors la variabilité intra-populationnelle.
- A celle de l'ensemble des populations étudiées, on décrit alors la variabilité inter-populationnelle.

Le polymorphisme exprime une variabilité intra-populationnelle. (38)

I.4. Les forces évolutives

La structure génétique d'une population peut subir une évolution sous l'action de différentes forces évolutives : (38) (52)

I.4.1.La mutation

Est à l'origine de la novation génétique, et est produite selon différents mécanismes. Elles génèrent du polymorphisme si de nouveaux allèles sont produits. si elle affecte la lignée germinale elle est transmise à la descendance. Les mutations sont produites de façon aléatoire dans le génome, il n'y a pas de mutation dirigée. (38) (52)

I.4.2 La sélection

Est le mécanisme par lequel l'environnement pose des limites à la taille des populations et force les individus à entrer en compétition pour survivre. En résultant, les allèles des gènes codant des caractéristiques favorables deviennent plus fréquents dans les générations suivantes, d'où l'expression : « la génétique propose et l'environnement impose » (38)(52)

I.4.3 la dérive génétique

Elle traduit le fait qu'à chaque génération il y'a un échantillonnage de gamètes, qui ne participent pas à la reproduction, ce qui conduit à une fluctuation au hasard des fréquences alléliques, fluctuation d'autant plus grande que la taille de la population est petite. (38)(52)

Ces deux dernières vont faire le « tri » parmi cette variabilité et accentuer la différenciation génétique entre les populations. (38)

I.4.4. La migration

Elle désigne tout échange génétique entre populations pouvant influencer les fréquences alléliques au sein de la population réceptrice.

II-HLA et populations

Le système HLA s'est très vite révélé extrêmement précieux pour les généticiens de populations, en raison de son très grand polymorphisme et de la transmission en bloc (haplotypique). (29)

Les rares recombinaisons alléliques entre marqueurs de la région HLA, le déséquilibre de liaison caractéristique de certains haplotypes, les variations de fréquences d'allèles selon les origines ethniques, les protections ou susceptibilités aux maladies représentent des éléments d'étude et de compréhension de la dynamique des populations. (29)

III. Apports de l'étude du polymorphisme HLA à l'anthropologie moléculaire

Suite à l'étude du polymorphisme, on a pu montrer que les populations africaines subsahariennes sont de toutes les populations humaines et du point de vue du CMH, les plus diverses. (53)

Environ 50 % des haplotypes HLA de classe II identifiés dans les populations subsahariennes sont absents des autres populations alors que l'immense majorité des haplotypes décrits chez les Européens, les Américains et les Asiatiques sont présents chez les Africains. (53)

L'explication la plus probable de ces observations est que les populations non africaines descendent toutes d'un groupe de taille limitée (la population africaine) et qui comporte la totalité des haplotypes de la population de départ, d'où la notion d'effet fondateur. Ces résultats, qui argumentent l'hypothèse de l'origine africaine de l'espèce humaine actuelle, sont également en accord avec des études antérieures sur l'ADN mitochondrial, et les données

historiques qui suggèrent une migration des populations sahariennes après l'établissement des conditions hyperarides actuelles (5000 ans a.v.J.C.).(54) (53)

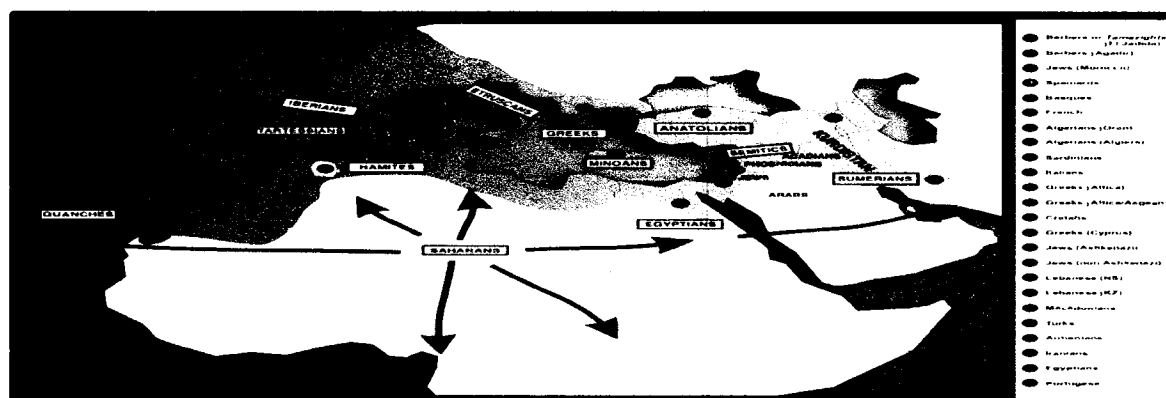


Figure 30: Populations classiques et modernes et l'effet fondateur. (54)

Concernant les fréquences alléliques et haplotypiques HLA :

- Les groupes sub-sahariens partagent des allèles DRB1 quasi-spécifiques (DRB1 * 0305, * 0307, * 0411, * 0413, * 0416, * 0417, * 0420, * 1112, * 1120, * 1304, * 1310) avec les Grecs. (54)
- Les spécificités A36, A43 fréquents chez les Négroïdes. (54)
- Les spécificités HLA-A2, -A23, -A28, et HLA-Cw2, -Cw3, -Cw4, et HLA-B5 (B51 and Bw52), -B7, -B35 et HLA-DR5,-DR3, -DR2, sont les plus fréquents au Mali. (55)

Tableau 4 : Haplotypes les plus fréquents chez quatre populations : Basques, Portugais, Espagnols, Algériens. [56]

Populations	Basques	Portugais	Espagnols	Algériens
Haplotypes	A2-B7-DR15	A2-B7-DR15	A2-B7-DR15	A2-B7-DR15
	A30-B18-DR3	A29-B44-DR7	A30-B18-DR3	A30-B18-DR3
	A1-B8-DR3	A1-B8-DR3	A1-B8-DR3	A33-B14-DR1
	A29-B44-DR7	A25-B18-DR15	A29-B44-DR7	A1-B57-DQ2
	A1-B57-DQ2	A26-B38-DR13	A33-B14-DR1	A2-B35-DR11
	A11-B27-DR3	/	/	/

IV-Historique de la population Nord-Africaine

L'Algérie est le plus grand pays d'Afrique qui couvre une superficie d'environ 2,4 millions de km² ; dont 80% est occupé par le Sahara algérien. Sur ce vaste territoire, qui s'étend de la Méditerranée au Nord jusqu'au désert saharien au Sud, divers groupes humains ayant évolué à travers l'histoire. [57] [59]

L'histoire de la population nord africaine a été marquée par des processus démographiques complexes caractérisés par de multiples migrations, de conquêtes et de brassages de populations à l'origine de l'introduction différents effets fondateurs en son sein. (60) (62)

Il a été suggéré que la première occupation de la région par les humains modernes, attestée par la culture Atérienne, pourrait dater d'environ 160 000 ans ; et des cultures postérieures ont été imposées dans la région pendant les temps pré-Holocène et Holocène. (61) (63)

Malgré la longue présence des cultures humaines dans la région, il a été suggéré que les populations actuelles de l'Afrique du Nord sont le résultat d'une migration récente « retour en Afrique » à l'époque pré-Holocène qui a remplacé les premiers habitants de la région, suivis de plusieurs migrations des régions voisines. L'un des groupes humains les plus pertinents dans la région sont les Berbères qui sont supposés être les descendants de cette première migration du Moyen-Orient vers l'Afrique. (63) (64)

Les événements historiques de cette région témoignent de nombreuses invasions, conquêtes et migrations successives, des Phéniciens, des Romains, des Vandales, des Byzantins, des Arabes, des Turques, des Andalous (Musulmans et Juifs), des Africains subsahariens, des esclaves noirs Soudanais, et des Européens (Français, Espagnols, Italiens et Portugais), qui s'ajoutent aux populations autochtones comme les Libyens, Maures, Gaetali et Numidiens, entre autres. (63) (64)

Cependant, l'événement le plus important était la conquête arabe qui a commencé au cours du 7ème siècle, où les populations berbères se sont converties à l'islam. (64)

Dans le contexte nord-africain, l'Algérie représente un point clé pour comprendre l'histoire humaine de la région. Situé dans la plaine côtière fertile d'Afrique du Nord, l'Algérie partage des frontières avec le Maroc, le Sahara occidental, la Mauritanie, le Mali, le Niger, la Libye et la Tunisie. Ensemble, l'Algérie, le Maroc et la Tunisie forment ce qu'on appelle le Maghreb. (57) (59)

**PARTIE
PRATIQUE**

I. Objectifs de l'étude

I.1. Objectif principal

Notre travail vise à étudier le polymorphisme des molécules HLA par l'estimation des fréquences alléliques des gènes HLA-A, B, C, DRB1 et DQB1 au sein d'un groupe d'individus issus de la population Algérienne.

I.2. Objectif secondaire

Identification des haplotypes les plus fréquemment retrouvés dans la population étudiée.

II. Description de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive de type série de cas rétrospective et prospective, réalisée au niveau de l'unité d'immunologie de l'Unité-Hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida et qui intéresse 898 sujets Algériens recrutés dans le cadre d'un bilan d'histocompatibilité HLA prescrit pour la transplantation rénale à partir d'un donneur vivant apparenté.

III. Matériels et méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. Matériels biologiques

III.1.1.1. Population étudiée

Notre étude a intéressé 898 individus Algériens, réparties entre donneurs et receveurs, recrutés sur une période de 11 ans, allant du 31 juillet 2006 au 22 janvier 2017.

Les données relatives aux sujets étudiés ont été recueillies sur un questionnaire détaillé. (Annexe 1)

III.1.1. 2. Critères d'inclusion :

Tout individu algérien ayant bénéficié d'un typage HLA au niveau de l'unité d'immunologie d'UHU HBB du CHU BLIDA.

III.1.2. Matériels non biologiques : (Annexe 3)

III.1.2.1. Pour la séparation des lymphocytes totaux (T+B) :

a. Instruments

- Tube à fond conique en plastique 15ml
- Cellules Malassez : Utilisée pour la numération manuelle des cellules au microscope optique.

b. Tampons et réactifs

- Lymphoprep TM (SENTINEL DIAGNOSTIC) : Connu sous le nom de Ficoll qui est

un polymère glucidique ramifié artificiel d'une densité de 1.077. Il permet la séparation des différents éléments figurés du sang par gradient de densités.

- Tampon PBS « phosphate buffered saline ».
- Solution saline équilibrée de Hanks « HANKS BALANCED SALT SOLUTION 100X ML 10X » : Solution saline riches en ions bicarbonate utilisés comme système tampon des milieux de culture cellulaire par le maintien d'un PH physiologique idéal pour la croissance cellulaire (7.00 – 7.04).
- Lasarus : Solution de lyse érythrocytaire et de dilution leucocytaire utilisée lors de leur numération.

c .Appareillages

- Centrifugeuse « Thermo électro corporation ».
- Microscope optique Gx40 « KROSS ».

III.1.2.2. Pour l'enrichissement en lymphocytes B

a. Instruments

- Tube ACD-A 1.5 ml : pour préserver les cellules plus longtemps
- Portoir Aimanté « UCAUTION® : Strong Magnetic fields ».
- Plaque de Terasaki : microplaques en polystyrène cristal de 72 puits de 10 µl chacun :
 - HLA AB DRY TRAY 72 WELL.
 - HLA DR DRY TRAY 72 WELL.

b.Tampons et réactifs

- FLUOROBEDS B™ : Billes immunomagnétiques couplés à des AC monoclonaux Anti CD19, permettent la séparation des lymphocytes B.
- Solution de lavage.
- Solution nutritive de Hanks « HANK'S BALENCED 100 ML 10 X ».
- Fluoroquench™AO/EB 100 ml : Il est composé de :
 - L'Acridine Orange : colore les cellules mortes en rouge.
 - Le Bromure d'éthidium : colore les cellules vivantes en vert.

c. Appareillages

- Microscope à fluorescence inversé Gx40.

III.1.2.3. Pour l'extraction d'ADN à partir du sang périphérique « Technique QIAGEN »

❖ Technique manuelle

a.Instruments

- Tube de 1.5ml de type Eppendorf.

b.Tampons et réactifs

- KIT QIAamp®DNA Blood Mini Kit QIAGEN :
 - Buffer AL: prés à l'emploi.
 - AW1 :44 ml on lui rajoute 25 ml d'éthanol.
 - AW2 :43 ml on lui rajoute 25 ml d'éthanol.
 - Buffer AE prés à l'emploi.
- Ethanol 90°.

c.Appareillages

- Thermoblok « FALC » :
- Centrifugeuse des Eppendorf « eppendorf centrifuge 5417C ».
- Centrifugeuse : **Thermo** ELECTRON CORPORATION.

❖ Par Technique automatique

a. Tampons et réactifs

- Kit QIAGEN BIOROBOT : (Annexe)

b. Appareillages

- Extracteur d'ADN « BIOROBOT EZ1 ».

III.1.2.4. Pour le typage HLA par technique sérologique

a. Instruments

- Seringue de Hamilton et multi seringue de Hamilton :
- Seringue de Hamilton MICROLITER #705 (50µl).
- Multi-seringue de Hamilton Terasaki Dispenser #1725 (250 µl).

b.Tampons et réactifs

- Kit pour le typage sérologique :
 - Kit (LM144A) = Lambda Monoclonal Typing Tray 144A : Contient des anticorps monoclonaux anti HLA-A.
 - Kit(LM144B) = Lambda Monoclonal Typing Tray 144B : Contient des anticorps monoclonaux anti HLA-B.
 - Kit (AB72D) = Terasaki HLA classe I Dry Tissue Typing Tray (72), AB72D : contient des anticorps polyclonaux anti HLA de classe I (A et B).
 - Kit (DR72D) = Terasaki HLA classe II Dry Tissue Typing Tray (72), DR72D : contient des anticorps polyclonaux anti HLA-DR et -DQ
- Huile de paraffine.
- Complément de lapin lyophilisé 10X1 ml (marque BAG).
- Colorant : Fluoroquench™ AO/ EB.

c.Appareillages

- Microscope à fluorescence inversée Gx40.

III.1.2.5. Pour le typage HLA par PCR-SSP

a. Tampons et réactifs

- Kit pour le typage par **PCR-SSP** :
 - MICRO SSP™ GENERIC HLA CLASS I DNA TYPING TRAY-ABC (SSP1L).
 - MICRO SSP™ GENERIC HLA CLASS II DNA TYPING TRAY-DR/DQ (SSP2L).
 - AMPLI TAQ DNA POLYMERASE 5µl/µl « AmpliTaq™ Polymerase ».
 - DNA SSP D-MIX : Un tampon salin adéquat contenant une concentration appropriée de MgCl₂ (varie entre 1 à 4 mM) qui sert à maintenir un PH optimal pour la Taq polymérase (PH varie entre 8.5 et 9) et les 4 dNTP.
 - DNA Size Marker™ SSP-SM : marqueur de taille utilisé pour assurer la migration des amplicons sur gel d'agarose.
- Agarose en poudre « Sea Kem LE AGAROSE ».
- Tampon tri borate EDTA (TBE).
- Bromure d'éthidium « Ethidium bromide Solution ».

b.Appareillages spécifiques

- Thermocycleur « GeneAmp* PCR system 9700 » : pour la réalisation des cycles d'amplification génique
- Micro Gel System box et Générateur de tension 300V: Pour le control des amplicons et leur séparation sur gel d'agarose incorporé de BET.
- GelDoc™XR+ « BIO RAD » : Pour la visualisation via le BET des amplicons (bandes) séparées sur le gel d'agarose.

III.1.2.6. Autres matériels et verreries utilisés au laboratoire

- Tubes sec.
- Pissette.
- Eau physiologique stérile à 0.9%
- Micropipettes et multimicropipettes.
- Embouts
- Portoir pour tubes.
- Un congélateur à -80°C.
- Un congélateur à -20°C.
- Un réfrigérateur +4°C.
- Chronomètre.
- Vortex.
- Micro-onde.
- Balance de précision.
- Agitateurs.
- Des gants à usage unique.

III.1.2.7. Matériels informatiques

- Un logiciel **EXCEL**.
- Un logiciel **IMAGE LAB™ SOFTWARE**.
- Un logiciel **HLA FUSION™ SOFTWARE-ONE LAMBDA**.

III.2.Méthodes

III.2.1. Prélèvement sanguin

Les explorations sont réalisées à partir du sang périphérique prélevé sur un tube de type BD VACUTAINER® contenant 1,5 ml d'ACD (pour 8.5 ml de sang).

III.2.2. Techniques de séparation des lymphocytes

Le typage HLA par sérologie nécessite préalablement une séparation des différentes populations lymphocytaires. Deux techniques ont été utilisées dans notre laboratoire :

III.2.2. A. Séparation des lymphocytes totaux Sur gradient de Ficoll

❖ Principe

C'est une technique basée sur la différence des densités qui existent entre les différents éléments figuré du sang (Annexe 4). Le Ficoll par sa densité intermédiaire entre celle des lymphocytes et celles des autres éléments figurés, permet après centrifugation l'obtention d'une couche de cellules mononuclées constituée de lymphocytes T (environ 80 %), de lymphocytes B(10 %) et de monocytes(10 %), utiles pour le typage HLA de classe I(HLA-A ;HLA-B)

❖ Mode opératoire (Annexe 5)

- Diluer le sang total (un volume de 8.5 ml) au ½ en ajoutant de l'eau physiologique ou un tampon PBS à PH=7.2.
- Déposer doucement à la surface du Ficoll (1/3 de Ficoll pour 2/3 du sang dilué) dans un tube à fond conique, en plastique.
- Centrifuger le tube 20 minutes à 1800t/min à 25°C.

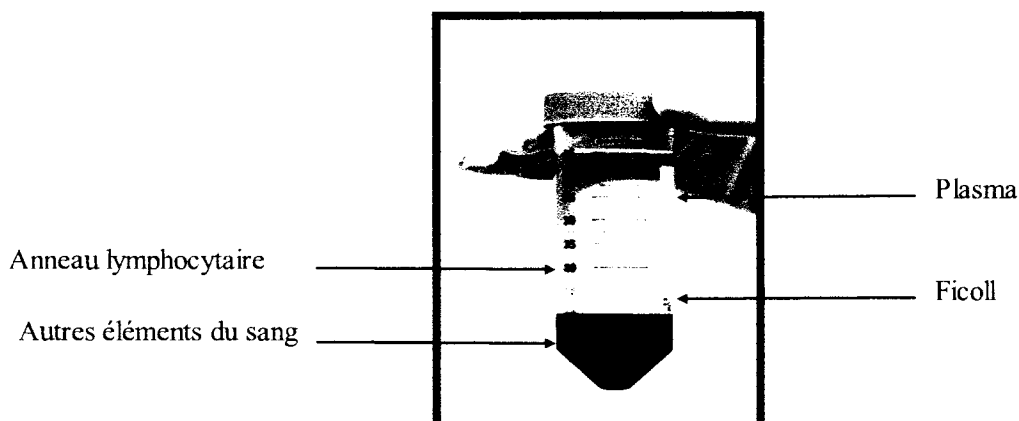


Figure 31 : le résultat de séparation par technique de Ficoll

- Récupérer la couche de l'anneau lymphocytaire à l'interface entre le plasma et le Ficoll.
- Aspirer jusqu'à ce que la limite entre les deux couches soit une interface nette.
- Laver deux fois la suspension lymphocytaire dans de l'eau physiologique, par centrifugation à 2500t/mn pendant 10 minutes.
- Resuspendre le culot de lymphocytes en ajoutant environ 500 µl de solution nutritif de Hanks.
- Enumérer au ½ au Lasarus sur cellule de Malassez, le nombre de cellules en million/ml, est obtenu en appliquant la formule suivante :

$$N \times 2 \times 1000 \times 100$$

N= le nombre de cellules par champ

- Vérifier la viabilité des lymphocytes et ajuster la suspension à 2000-2500 cellules /µl soit par une dilution (en ajoutant de solution de Hanks) ; soit par une concentration selon le nombre des lymphocytes.

III.2.2.B. L'enrichissement en lymphocytes B (Séparation des lymphocytes B)

❖ Principe

L'enrichissement en lymphocytes B à partir du sang prélevé est réalisé par des billes immunomagnétiques couplées à des anticorps monoclonaux anti CD19 (Fluorobeads B). Cette séparation des lymphocytes B est nécessaire pour le typage HLA de classe II (HLA-DR HLA-DQ).

❖ Mode opératoire

- Diluer le sang prélevé à partir du sang total (V=8.5 ml) avec anti coagulant au ½ dans l'eau physiologique et mélanger délicatement.
- Resuspendre très soigneusement les Fluorobeads B avant l'emploi, et agiter environ 10 secondes.
- Ajouter 100 µl de suspension de Fluorobeads B obtenue avec 2 ml de sang préalablement dilué et boucher immédiatement le tube.
- Agiter doucement le tube 3 min à 20-25 °C pour permettre aux billes de fixer les cellules B, par retournement à la main.

- Déboucher et placer le tube sur le portoir aimanté pendant 2 min.
- Eliminer le surnageant à l'aide d'une pipette, puis retirer le tube de portoir aimanté.
- Laver les lymphocytes B dans 2ml de solution de lavage.
- Resuspendre doucement et replacer le tube sur le portoir aimanté pour 1 min.
- Eliminer le surnageant et répéter l'étape de lavage 2 fois.
- Resuspendre le culot lymphocytaire dans 100 µl de solution nutritive de Hanks.
- Procéder à l'estimation en déposant par ordre 1 µl, 2 µl, et 3 µl de la suspension obtenue dans les puits de la plaque de Terasaki en rajoutant 5 µl de colorant (Fluoroquench™ AO/BE) dans chaque puits. Et faire une estimation du nombre des lymphocytes au microscope à fluorescence inversé (G_x40) afin de choisir le volume adéquat de la solution mère à utilisée.

III.2.3.Extraction d'ADN à partir du sang périphérique

L'extraction d'ADN a été réalisé par des kits QIAGEN

❖ Principe de la technique QIAGEN

La technique de QIAGEN est une technique chromatographique, Basée sur la propriété qu'ont les particules de silice d'adsorber sélectivement les acides nucléiques. L'ADN est séparés des autres composés du sang en quatre étapes : la lyse, la fixation, le lavage et enfin l'élution.

Cette technique a été réalisé par deux types de procédés :

III.2.3. A. Technique manuelle : technique QIAGEN (KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit) :

❖ Mode opératoire (Annexe 8)

- Centrifuger à 2000 T/min pendant 10 min à température ambiante un volume de 8.5ml de sang total prélever sur un tube ACD.
- Enlever, à l'aide d'une pipette pasteur, le Buffy-coat au maximum (V≈200µl) jusqu'à obtenir un culot bien blanc.
- Mettre le volume de 200 µl de Buffy-coat dans un eppendorf et lui rajouter 200 µl du tampon de lyse AL et 20 µl de protéase sous forme liquide.
- Remettre la suspension, au vortex pendant quelques secondes.
- Placer l'Eppendorf dans le thermoblok (pour dénaturation de l'ADN) pendant 10 min.
- Ajouter 200 µl de l'éthanol, et agiter en plaçant l'Eppendorf dans le vortex pendant quelques secondes.
- Transférer le contenu de l'Eppendorf dans une colonne de QIAGEN.
- Centrifuger à 13000 tours pendant 1 min.
- Jeter la poubelle de la colonne avec son contenu et la remplacer par une autre.
- Ajouter 500 µl du tampon de lavage AW1 et centrifuger la colonne à 13000 tours pendant 1 min.
- Jeter la poubelle de colonne et la remplacer par une autre.
- Ajouter 500 µl du tampon de lavage AW2 et centrifuger à 14000 tours pendant 3 min.

- Transférer la colonne à filtre dans un Eppendorf et ajouter 200 µl du tampon d'élution AE.
- Laisser l'Eppendorf pendant 5 min à une température ambiante.
- Centrifuger à 13000 tours pendant 1 min.
- L'ADN est alors prêt pour le typage HLA, après mesure de la densité optique de l'ADN extrait.
- Diviser la quantité d'ADN sur 2 Eppendorf comme suit :
 - 50 µl → pour le typage HLA II.
 - Le reste → pour le typage HLA I.

III.2.3.B. Technique automatique : Extraction D'ADN Génomique Kit QIAGEN BIOROBOT

L'extraction de l'ADN au moyen du KIT QIAamp®DNA Blood Mini Kit QUIAGEN peut être entièrement automatisée sur l'Extracteur d'ADN « BIOROBOT EZ1 ».

Cet automate innovant utilise la technologie des particules magnétiques, associe la vitesse et l'efficacité de la purification d'ADN sur membrane de silice, à la manipulation pratique des particules magnétique.

❖ Mode opératoire

- Insertion de carte EZ1 contenant le protocole préprogrammé, dans l'appareil.
- Allumer l'appareil.
- Charger dans le portoir :
 - les tubes d'échantillon.
 - les supports des cônes jetables contenant des cônes munis de filtre jetables.
 - les tubes d'échantillon.
 - les cartouches de réactifs.
- Charger le portoir dans la table de travail de l'appareil.
- Exécution des étapes de l'extraction d'ADN par l'appareil :
 - lyse avec la protéinase k et tampon de lyse.
 - Ajout des particules magnétiques et du tampon de liaison aux lysats.
 - Fixation des acides nucléiques aux particules magnétiques.
 - Séparation magnétique.
 - Lavage avec tampon de lavage 1, tampon de lavage 2 puis l'éthanol.
 - Séparation magnétique.
 - Elution avec tampon d'élution.
- Récupération de l'ADN purifiée dans les tubes d'élution.

III.2.4. Etude de polymorphisme HLA

Elle est effectuée par deux types de techniques :

- Techniques sérologiques.
- Techniques de biologie moléculaire.

III.2.4. A. Technique sérologique

La réaction de microlymphocytotoxicité complément dépendante était utilisée pour le typage HLA-A, -B, -DR et -DQ.

❖ Principe

Elle consiste à incuber les cellules du sujet à typer, préalablement isolées, avec des sérums tests (batterie d'anticorps anti HLA) en présence de complément du lapin.

Lorsque les cellules expriment des molécules HLA spécifiques à certains anticorps utilisés, il se produit une lésion cellulaire qui est visualisée par microscope à fluorescence après coloration via le Fluoroquench™AO/EB.

❖ Anticorps utilisés

Voir Kits de typage HLA (AB72D / LM144A / LM144B / DR72D).

❖ Cibles utilisés

- les lymphocytes totaux T et B pour le typage HLA de classe I (A, B, C).
- les lymphocytes B périphériques pour le typage HLA de classe II (DR et DQ).

❖ Mode opératoire (Annexe 6)

- Rajouter aux anticorps lyophilisés des kits de typage (AB72D / LM144A / LM144B / DR72D), 1 µl d'eau physiologique et une goutte d'huile de paraffine.
- Distribuer 1 µl de la suspension cellulaire dans les puits des plaques par une multi-seringue de Hamilton.
- Ajouter 3 µl de complément de lapin par une seringue Hamilton.
- Incuber pendant 1 heure à +22°C.
- Ajouter 3 µl de solution de Fluoroquench™AO/EB par une seringue Hamilton.
- Incuber pendant 15 min à +22°C.

❖ Lecture

- Les scores des réactions expriment le pourcentage des cellules mortes, Si le témoin négatif contient des cellules mortes, ce pourcentage devra être ajusté en conséquence.
- L'échelle standard est la suivante (Tableau5) :

Tableau 5: Score selon l'Echelle standard ASHI

Score	Cellules lysées (%)	Résultats	Observation au microscope à fluorescence
1	0 – 10	Négatif	
2	11 – 20	Douteux négatif	
4	21 – 50	Positif faible	
6	51 - 80	positif	
8	81 - 100	Très positif	
0		Ininterprétable	

❖ Interprétation des résultats

L'interprétation du typage est faite selon les plans des batteries d'anticorps utilisées (Annexe 10) où les scores les plus élevés (6 et 8) représentent le typage HLA et les scores inférieur (4 et 2) sont expliqués par les réactions croisées.

III.2.4. B. Technique de Biologie moléculaire

L'étude du polymorphisme HLA est réalisé par amplification génique (PCR ; polymérase chain reaction) de type PCR-SSP.

❖ Principe de la PCR

La réaction PCR consiste à une amplification génique in vitro d'une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier.

Elle est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice.

Ainsi, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle.

Les éléments nécessaires pour réaliser la PCR sont :

- **La matrice d'ADN.**
- **Des paires d'amorces oligonucléotidiques (*primers*) :** de 20 à 30 nucléotides, qui sont parfaitement complémentaire du fragment à amplifier.
- **Les quatre désoxynucléotides triphosphates (*dNTP*).**
- **La DNA-polymérase thermorésistante « *Taq polymérase* » :** enzyme thermostable résistant aux températures élevée nécessaires à la séparation des ADN double brin.
- **Un tampon salin adéquat** contenant une concentration appropriée de $MgCl_2$ (varie entre 1 à 4 mM) qui sert à maintenir un PH optimal pour la *Taq* polymérase (PH varie entre 8.5 et 9).

Chaque réaction d'amplification comporte trois étapes se succédant précisément et nécessitant chacune une température différente :

→ **Première étape : dénaturation thermique**

Consiste à séparer par la chaleur les deux brins d'ADN en rompant les liaisons hydrogène. L'ADN double brin est chauffé à une température élevée de l'ordre de 95°C pendant 10 secondes. Ces brins serviront de matrice au cours des cycles d'amplification.

→ **Deuxième étape : hybridation des amorces**

Le milieu réactionnel contient deux amorces, chacune complémentaire d'un des brins. L'étape d'hybridation se fait à une température qui sera définie selon la nature des amorces (cette température varie de 50 à 60°C) pendant 50 secondes.

→ **Troisième étape : Extension des amorces**

Elle correspond à l'extension des amorces par incubation avec la DNA-polymérase, et les quatre desoxyribonucléotides-triphosphates, à 70°C (température optimale de l'activité de l'enzyme) pendant 30 secondes.

Ces trois étapes actuellement, automatisées grâce à un Thermocycleur, sont répétées 15 à 60 fois selon le protocole utilisé avec un optimum aux environs de 30 cycles.

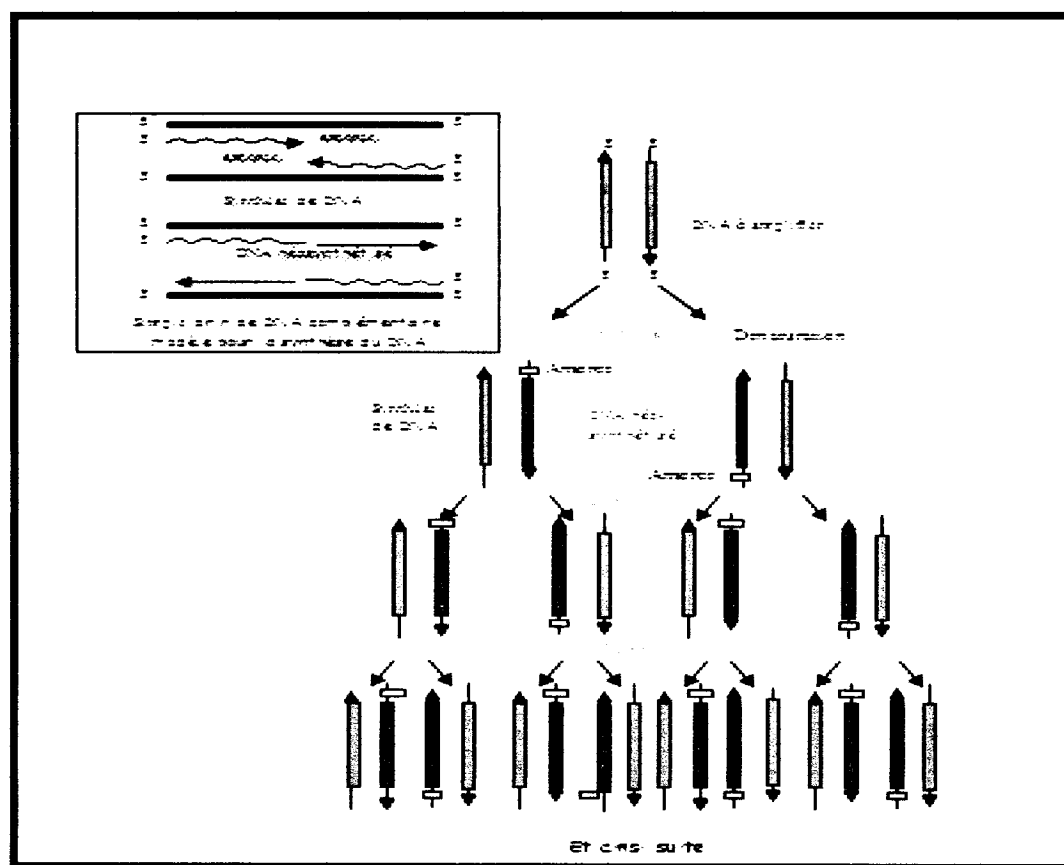


Figure 32: Amplification de l'ADN par DNA polymérase

❖ Principe du typage HLA par PCR-SSP :

C'est une technique de PCR basée sur la spécificité d'amorces qui repose sur sa complémentarité structurale avec l'ADN matrice lors de l'hybridation.

Le typage est déterminé par conséquent par la présence ou l'absence du produit PCR visualisé sur gel d'agarose.

Chaque typage comporte plusieurs réactions PCR réalisées dans des puits contenant des primers lyophilisés spécifiques d'un allèle ou d'un groupe d'allèles, ainsi qu'un contrôle interne qui valide la réaction PCR.

❖ Mode opératoire (PROTOCOLE ONE LAMBDA) (Annexe 8)

• Préparation de la plaque de Micro-SSP

- Sortir les plaques de typage et le D-Mix (tampon contenant du $MgCl_2$ et les 4 dNTP) et les laisser prendre la température ambiante. La Taq polymérase n'est retiré du froid qu'au moment de l'utilisation.
- Prendre 5.6 μl de Taq polymérase et le verser dans le D-Mix.
- Déposer 10 μl de ce mélange (Taq + D-Mix) dans le puit de contrôle négatif.
- Ajouter 11 μl du DNA dans le mélange D-Mix /Taq et agiter au vortex.
- Répartir le mélange DNA/D-Mix/Taq à raison de 10 μl dans tous les puits des plaques sauf dans les puits de contrôle négatifs.

• Réalisation de la PCR

- Bien fermer la plaque à l'aide de l'adhésif et la placer dans le Thermocycleur.
- Poser dessus le tampon de pression et fermer le Thermocycleur et lancer le programme de la PCR (environ 1 h 16 min pour ONE LAMBDA).



Figure 33 : Introduction de la plaque dans le thermocycleur

- **Electrophorèse sur gel d'agarose**

→ **Préparation de gel**

- Prendre 1 g d'agarose en poudre et lui rajouté 40 ml de tampon tri borate EDTA.
- Placer le mélange dans la micro-onde pendant 4 min à une température supérieur à 100°C.
- Faire sortir le mélange de la micro-onde et lui rajouté 2,5 µl de bromure d'éthidium.
- Ecouler le mélange sur la plaque de migration et laisser refroidir quelques secondes.
- Placer les empreintes sur la plaque de migration pendant 15 minutes.
- Enlever les empreintes de la plaque et l'immerger par le TBE qui permet le passage de courant électrique entre l'anode et la cathode.
- La plaque est alors prête à l'emploi.

→ **La migration sur gel :**

- Déposer le marqueur de taille dans les puits appartenant (la ligne horizontale en extrême gauche), sur la plaque de migration.
- Le produit d'amplification, est refroidi à +4°C pendant 10 min, puis transféré dans les 96 puits de la plaque de migration par une pipette multicanaux.
- Couvrir la boîte à électrophorèse et brancher sur le générateur. La migration se fait à 140 V pendant 5 min.
- La migration des amplicons est en fonction de leur charge et poids moléculaire ; vu que l'ADN est chargé négativement, les amplicons vont migrer vers la cathode.

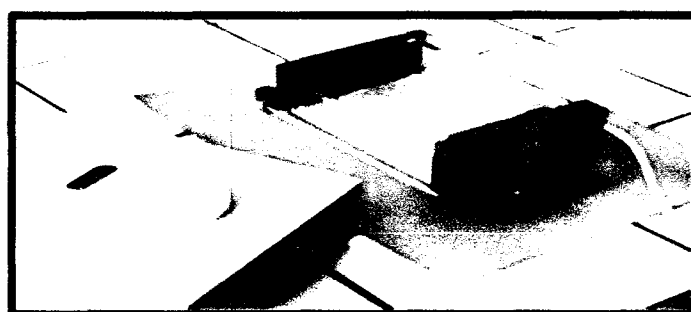
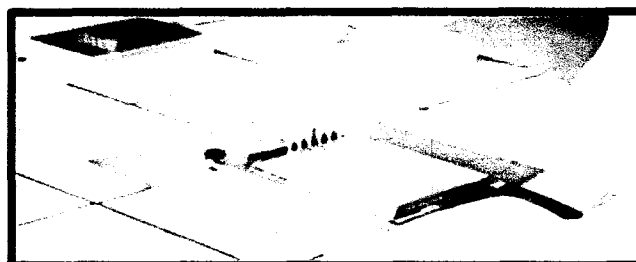


Figure 34 : étapes d'électrophorèse sur gel d'agarose

❖ Lecture

La visualisation des bandes d'électrophorèse est réalisée par lecture sous UV Geldoc et nécessite l'utilisation du logiciel **Image Lab**, et des planches fournies (ANNEXE) dont :

- Validation du témoin négatif, pour assurer l'absence de toute contamination.
- Le contrôle interne doit être présent dans tous les puits sauf le témoin négatif.
- Si le gène HLA a été amplifié, une bande de migration supérieure au témoin est visible.
- Le contrôle interne peut être faible ou inexistant dans les puits positifs.
- Si le contrôle interne et/ou la bande positive sont vus dans le témoin négatif, la manipulation doit être refaite.
- Les lignes horizontales sont référées par des chiffres de 1 à 12, et les lignes verticales sont référées par des lettres de A à H.
- Un puit est référé par ça position en ligne horizontale et verticale, ex : puit 1C, puit 5H, puit 12F.
- Enregistrer profils de réactivité ; les puits positifs et nuls si trouvés.

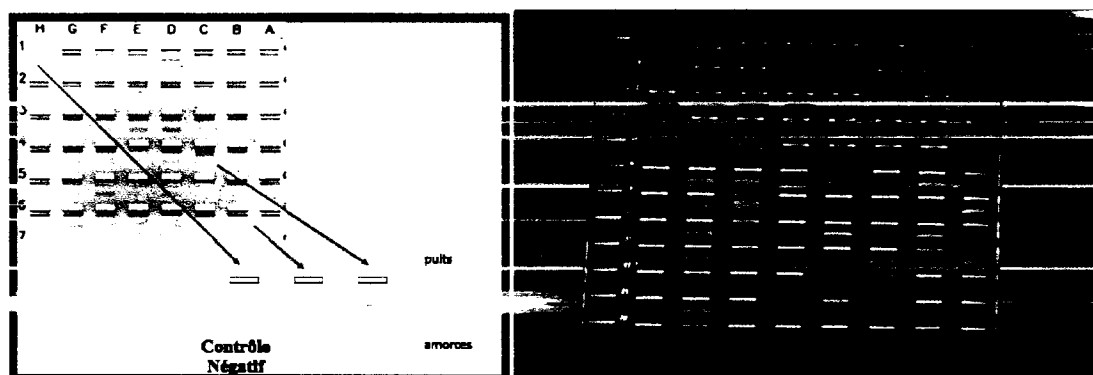


Figure 35 : Visualisation des bandes d'électrophorèse

❖ Interprétation

Elle est réalisée par le logiciel **HLA Fusion**, qui s'exécute en mode autonome (sur un seul ordinateur) et dans des environnements de réseau.

L'opérateur saisit manuellement les profils de réactivité pour les produits Micro-SSP.

Le logiciel HLA Fusion analyse ce profil par un processus compliqué, en se basant sur les recombinaisons alléliques et les déséquilibres de liaison B/C et C/B pour HLA-I et DRB1/DQB1 pour HLA-II, et fournit ainsi le typage HLA.

Les résultats de cette analyse sont ensuite validés, enregistré et imprimés par l'opérateur.

IV. Résultats :

IV.1.Caractéristiques démographiques de la population étudiée

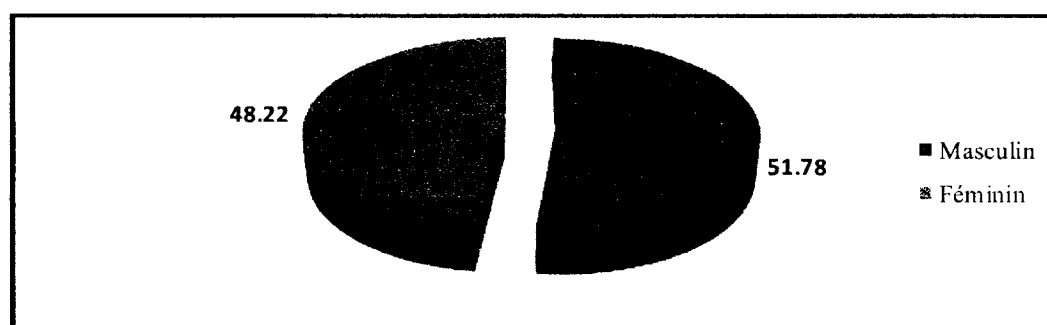
IV.1.1.Répartition des sujets selon le sexe

Tableau 6 : Répartition des sujets selon le sexe.

Sexe	Effectifs	Fr (%)
Masculin	465	51,78
Féminin	433	48,22
Total	898	100

Dans notre échantillon, on remarque que :

- Parmi les sujets étudiés **51.78 % (465)** sont des hommes et **48.22 % (433)** sont de femmes.
- Le sexe ratio est de **1,07**.



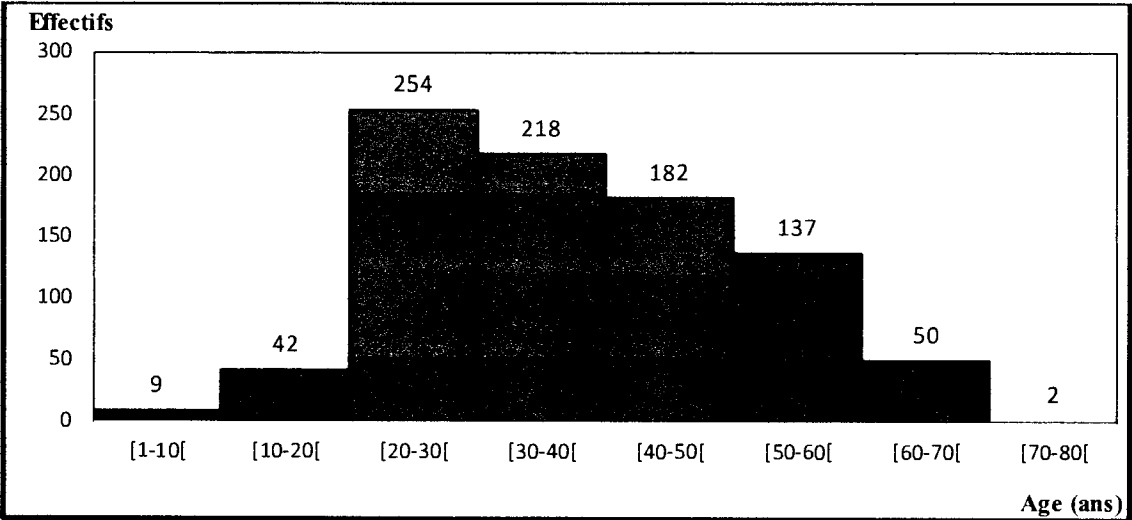
Graph 1 : Répartition des sujets selon le sexe

IV.1.2. Répartition des sujets selon l'âge

Tableau 7: Répartition des sujets selon la tranche d'âge

Age (ans)	[1-10[	[10-20[	[20-30[	[30-40[	[40-50[	[50-60[	[60-70[	[70-80[
Effectif	9	42	254	218	182	137	50	2
Fr (%)	1,01	4,7	28,41	24,38	20,36	15,32	5,59	0,22

La moyenne d'âge des sujets explorés est de 38 ans avec des extrêmes d'âge de 20 mois et de 74 ans. Les sujets d'âge adulte (20 à 50 ans) sont les plus représentées dans notre série (73.15% des sujets) et dont la plupart sont des adultes jeunes (20-40 ans) avec une fréquence de 52.79%.



Graphe 2: Répartition des sujets selon la tranche d'âge.

IV.1.3. Répartition des sujets selon leurs origines :

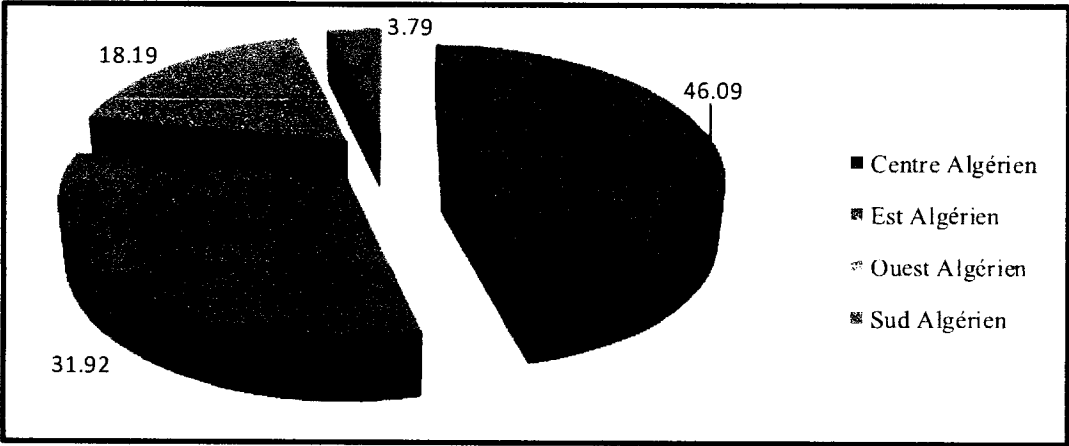
A. Selon la région géographique :

Tableau 8 : Répartition des sujets selon la région d'origine.

Régions de l'origine	Effectifs	Fr (%)
Centre Algérien	413	46,09
Est Algérien	286	31,92
Ouest Algérien	163	18,19
Sud Algérien	34	3,79
Total	896	100

Les sujets de notre échantillon sont originaires des différentes régions de l'Algérie et sont repartis comme suite :

- la région du Centre: 413 sujets (46.09 %) ; la région du l'Est : 286 sujets (32 %) ; la région du l'Ouest : 163 (18.19 %) ; la région du Sud : 34 sujets (3.79 %).



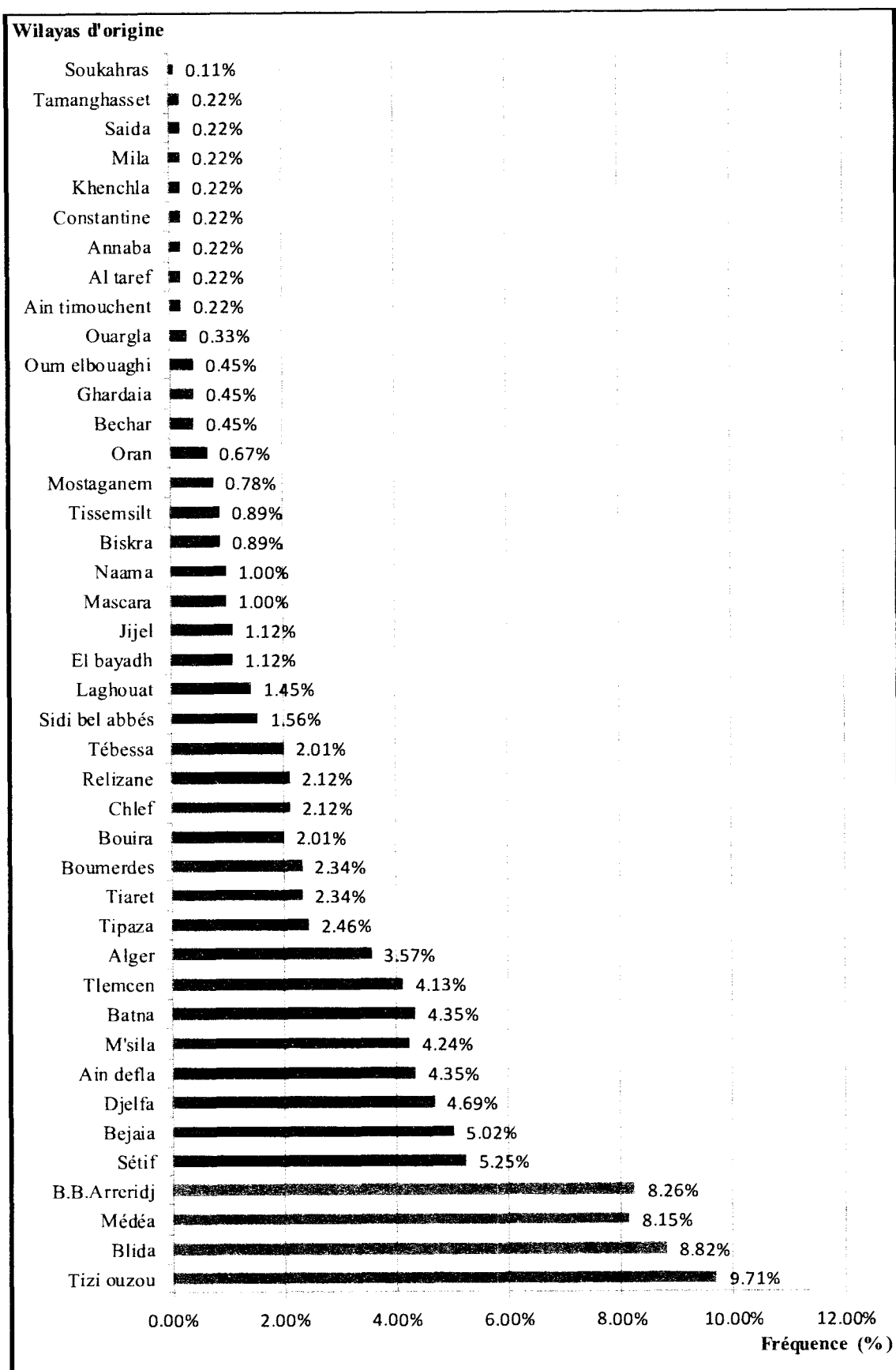
Graphe 3: Répartition des sujets selon la région d'origine.

B. Répartition des sujets selon leurs wilayas d'origine

Tableau 9: Répartition de 898 sujets algériens selon leurs wilayas d'origine.

Wilayas d'origine	Effectifs	Fr (%)	Wilayas d'origine	Effectifs	Fr (%)
Tizi ouzou	87	9,71	El bayadh	10	1,12
Blida	79	8,82	Jijel	10	1,12
Médéa	73	8,15	Mascara	9	1,00
B.B.Argeridj	74	8,26	Naama	9	1,00
Sétif	47	5,25	Biskra	8	0,89
Bejaia	45	5,02	Tissemsilt	8	0,89
Djelfa	42	4,69	Mostaganem	7	0,78
Ain defla	39	4,35	Oran	6	0,67
M'sila	38	4,24	Bechar	4	0,45
Batna	39	4,35	Ghardaia	4	0,45
Tlemcen	37	4,13	Oum elbouaghi	4	0,45
Alger	32	3,57	Ouargla	3	0,33
Tipaza	22	2,46	Ain timouchent	2	0,22
Tiaret	21	2,34	Al teref	2	0,22
Boumerdes	21	2,34	Annaba	2	0,22
Bouira	18	2,01	Constantine	2	0,22
Chlef	19	2,12	Khenchla	2	0,22
Relizane	19	2,12	Mila	2	0,22
Tébessa	18	2,01	Saida	2	0,22
Sidi bel abbés	14	1,56	Tamanghasset	2	0,22
Laghouat	13	1,45	Soukahrass	1	0,11

Les sujets recrutés dans notre série proviennent de 42 wilayas différentes. Les plus représentées dans notre série sont: *Tizi Ouzou* (9.70%), *Blida* (9.70%) et *B.B.Argeridj* (8.81%) et *Médéa* (8.14%). (Annexe 9)



Graphe 4 : Répartition de 898 sujets algériens selon leurs wilayas d'origine.

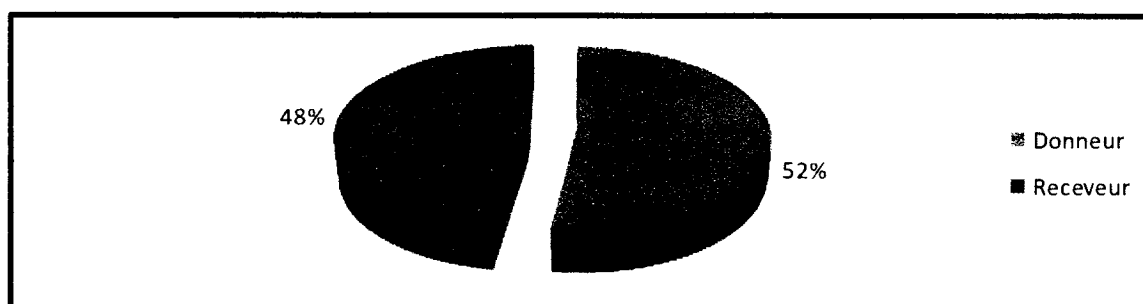
IV.1.4. Répartition des sujets selon leurs statut donneur /receveur :

Tableau 10 : Répartition de 898 sujets algériens selon leur statut donneur /receveur.

Statut	Effectifs	FR %
Donneur	467	52,00
Receveur	431	48,00
Total	898	100

Notre série est constitué de :

- 467 sujets candidats au don d'organe (52,06%).
- 431 sujets insuffisants rénaux au stade terminal candidat a la transplantation (47,94%).



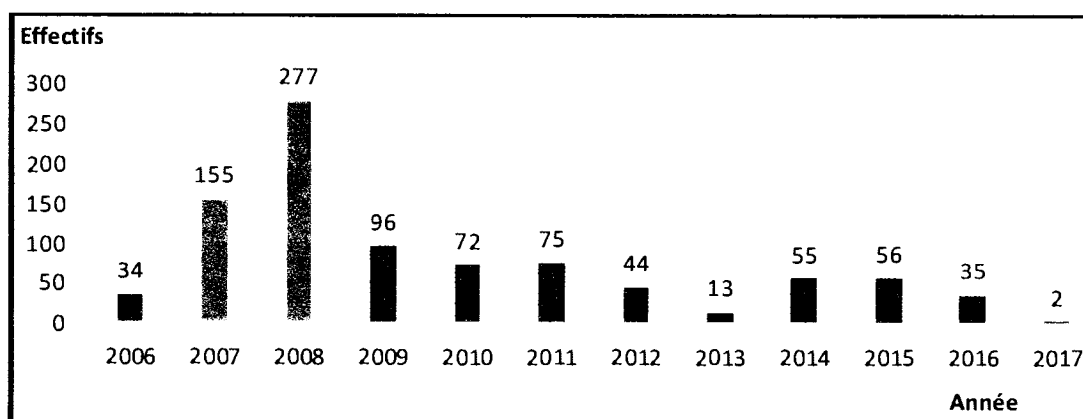
Graphique 5 : Répartition de 898 sujets algériens selon leur statut donneur /receveur

IV.1.5. Répartition des sujets selon la date de leur recrutement

Tableau 11 : Répartition des sujets selon l'année de recrutement.

Année	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Effectifs	34	155	277	96	72	75	44	13	55	56	35	2
Fr (%)	3,72	16,96	30,31	10,50	7,88	8,21	4,81	1,42	6,02	6,13	3,83	0,22

La majorité des patients (50%) ont été recruté durant les trois premières années de l'activité de l'unité. Par la suite, ce rythme de recrutement a reculé considérablement pour fluctuer entre 13 et 96 individu par an.



Graphique 6 : Répartition des sujets selon l'année de recrutement.

IV.1.6. Répartition des sujets selon le locus HLA typé :

Tableau 12: Répartition de 898 sujets selon le locus typé.

Locus typé	Effectifs	Fr (%)
A	898	100
B	898	100
C	220	24,50
DRB1	464	51,67
DQB1	455	50,67

Tous les sujets inclus dans notre étude (898 personnes) disposent d'un typage des gènes HLA-A et-B.

- 220 sujets disposent d'un typage de locus HLA-C (24.5%).
- 464 sujets disposent d'un typage de locus HLA-DRB1 (51.67%).
- 455 sujets disposent d'un typage de locus HLA-DQB1 (50.67%).

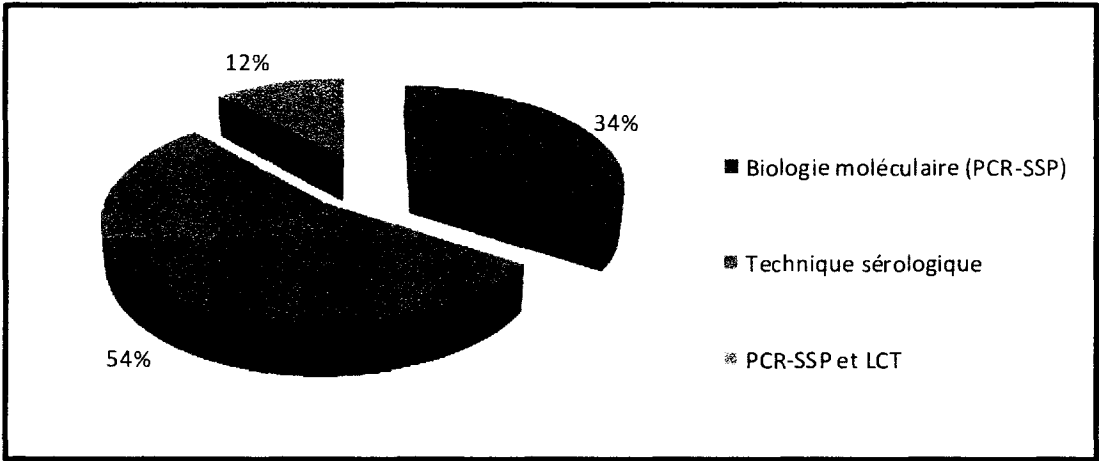
IV.1.7. Répartition des sujets selon la technique de typage HLA réalisée

Tableau 13 : Répartition des sujets selon la technique de typage réalisée.

Technique	Effectifs	Fr (%)
Biologie moléculaire (PCR-SSP)	305	33,96
Technique sérologique (LCT)	488	54,34
PCR-SSP et LCT	105	11,69
TOTAL	898	100

La répartition des patients selon les techniques de typage utilisés :

- 54.34 % des patients typés par LCT.
- 33.96 % des patients typés par BM.
- 11.69 %des patients typé par LCT + BM.



Graphe 7 : Répartition des sujets selon la technique de typage réalisée.

IV.2. Résultats obtenus par la technique sérologique :

Cette technique a été utilisée chez **66.03 %** de la population de l'étude (N= **593 sujets**) et qui a permis un typage des molécules **HLA-A** et **HLA-B** ; **HLA-DR** ; et quelque fois **HLA-DQ**.

❖ Fréquences des spécificités HLA-A

L'étude des spécificités **HLA-A** chez les **579** sujets (typées par sérologie) dont **67** individus sont **homozygotes**.

Tableau 14 : Fréquences des spécificités HLA-A chez 579 sujets algériens.

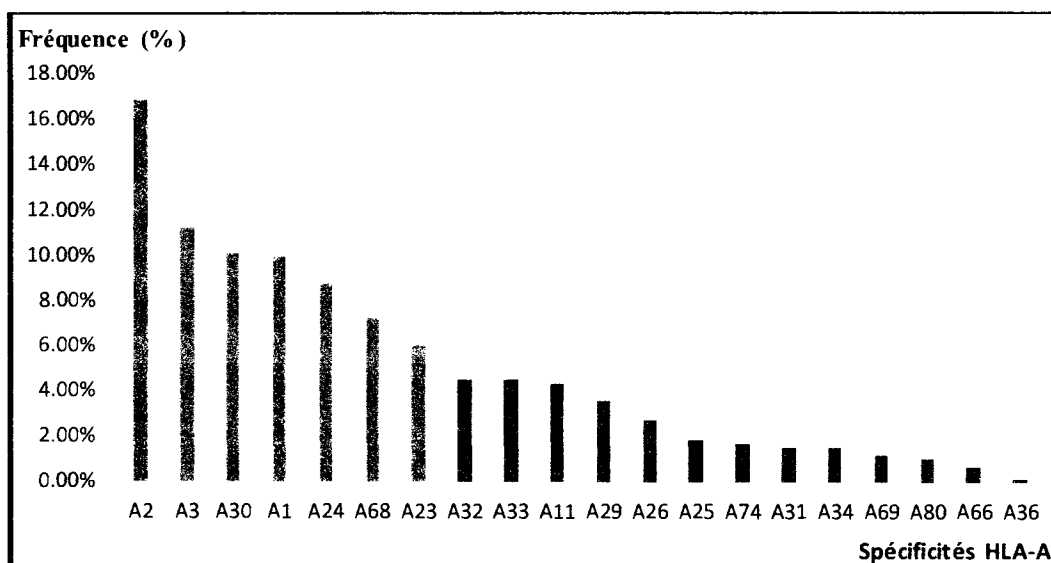
HLA-A	Effectifs	Fr (%)	HLA-A	Effectifs	Fr (%)
A2	196	16,93	A26	32	2,76
A3	130	11,23	A25	22	1,90
A30	118	10,19	A74	20	1,73
A1	116	10,02	A31	18	1,55
A24	102	8,81	A34	18	1,55
A68	84	7,25	A69	14	1,21
A23	70	6,04	A80	12	1,04
A32	52	4,49	A66	8	0,69
A33	52	4,49	A36	2	0,17
A11	50	4,32	Total	1158	100
A29	42	3,63			

Effectifs : nombre de spécificités obtenus = nombre des sujets $\times 2$.

Fr : fréquence de spécificités obtenus par comptage direct.

20 spécificités **HLA-A** sont présentes, les plus fréquentes sont :

- **A2 (16,93%)**, retrouvée chez **98** individus dont **17** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **A3 (11,23%)**, retrouvée chez **65** individus dont **11** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **A30 (10,19%)**, retrouvée chez **59** individus dont **8** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **A1 (10,02%)**, retrouvée chez **58** individus dont **5** sont **homozygotes** pour cette spécificité.



Graph 8 : Fréquences des spécificités HLA-A chez 579 sujets algériens.

❖ **Fréquences des spécificités HLA-B :**

L'étude des spécificités **HLA-B** chez les **579** sujets (typée par sérologie) dont 73 individus sont **homozygotes**.

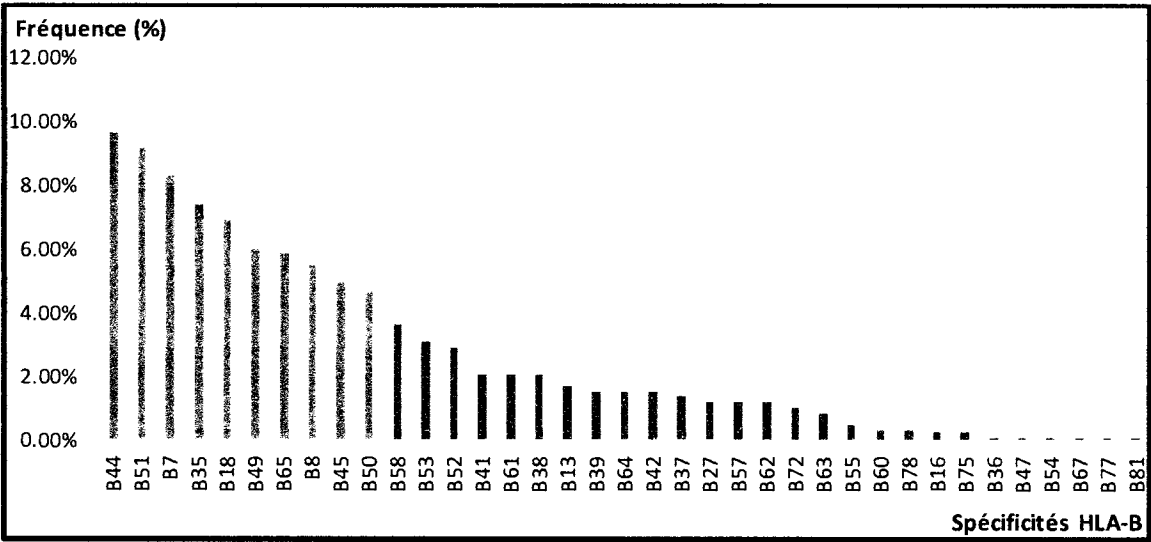
Tableau 15 : Fréquences des spécificités HLA-B chez 579 sujets algériens.

HLA-B	Effectifs	Fr (%)
B44	112	9,67
B51	106	9,15
B7	96	8,29
B35	86	7,43
B18	80	6,91
B49	70	6,04
B65	68	5,87
B8	64	5,53
B45	58	5,01
B50	54	4,66
B58	42	3,63
B53	36	3,11
B52	34	2,94
B41	24	2,07
B61	24	2,07
B38	24	2,07
B13	20	1,73
B39	18	1,55
B64	18	1,55

HLA-B	Effectifs	Fr (%)
B42	18	1,55
B37	16	1,38
B27	14	1,21
B57	14	1,21
B62	14	1,21
B72	12	1,04
B63	10	0,86
B55	6	0,52
B60	4	0,35
B78	4	0,35
B16	3	0,26
B75	3	0,26
B36	1	0,09
B47	1	0,09
B54	1	0,09
B67	1	0,09
B77	1	0,09
B81	1	0,09
Total	1158	100

37 spécificités **HLA-B** sont présentes, les plus fréquentes sont :

- **B44 (9,67%)** retrouvés chez **56** individus dont **14** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **B51 (9,15%)** retrouvés chez **53** individus dont **8** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **B7 (8,29%)** retrouvés chez **48** individus dont **6** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **B35 (7,43%)** retrouvés chez **43** individus dont **5** sont **homozygotes** pour cette spécificité.



Graph 9 : Fréquences des spécificités **HLA-B** chez **579** sujets algériens.

❖ **Fréquences des spécificités HLA-DR**

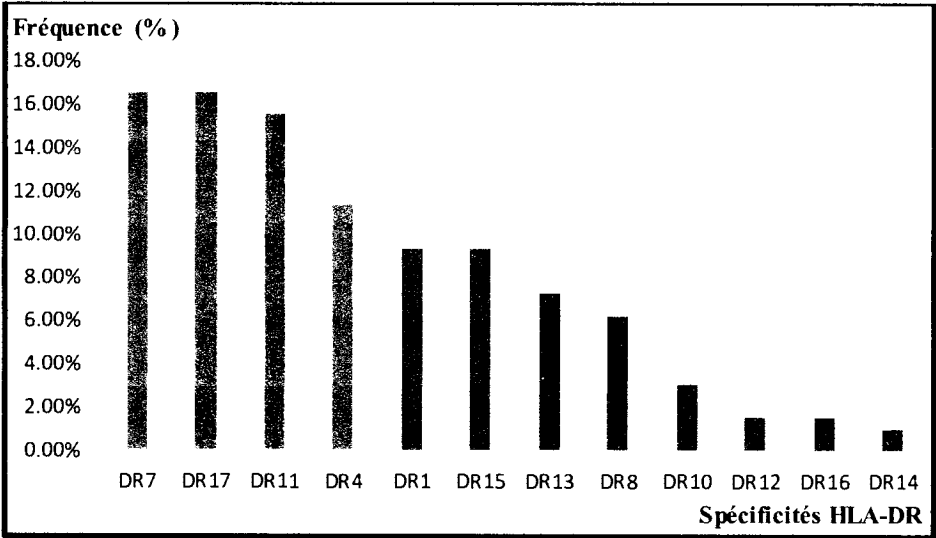
L'étude des spécificités **HLA-DR** chez les **96** sujets (typés par sérologie) dont **10** individus sont **homozygotes**

Tableau 16 : Fréquences des spécificités **HLA-DR** chez **96** sujets algériens.

HLA-DR	Effectifs	Fr (%)
DR7	32	16,67
DR17	32	16,67
DR11	30	15,63
DR4	22	11,46
DR1	18	9,38
DR15	18	9,38
DR13	14	7,29
DR8	12	6,25
DR10	6	3,13
DR12	3	1,56
DR16	3	1,56
DR14	2	1,04
Total	192	100

11 spécificités **HLA-DR** sont présentes, les plus fréquentes sont :

- **DR7 (16,67%)** retrouvés chez **16** individus dont **6** sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **DR17 (16,67%)** retrouvés chez **16** individus.
- **DR11 (15,63%)** retrouvés chez **15** individus dont **1** est **homozygote** pour cette spécificité.
- **DR4 (11,46%)** retrouvés chez **11** individus.



Graphe 10 : Fréquences des spécificités **HLA-DR** chez **96** sujets algériens.

❖ **Fréquences des spécificités HLA-DQ**

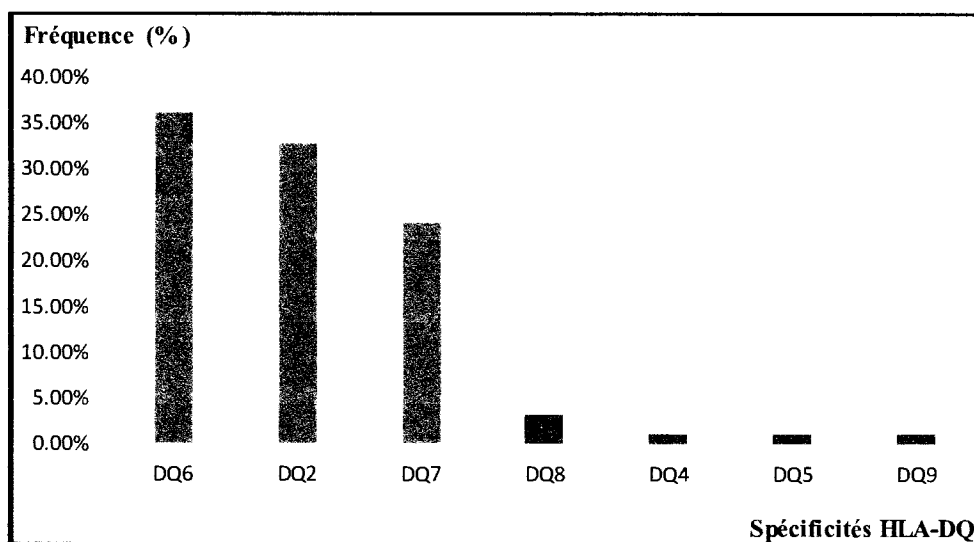
L'étude des spécificités **HLA-DQ** chez les **91** sujets (typée par sérologie) dont **13** individus sont **homozygotes**.

Tableau 17: Fréquences des spécificités **HLA-DQ** chez **91** sujets algériens.

HLA-DQ	Effectifs	Fr (%)
DQ6	66	36,26
DQ2	60	32,97
DQ7	44	24,18
DQ8	6	3,30
DQ4	2	1,10
DQ5	2	1,10
DQ9	2	1,10
Total	182	100

7 spécificités **HLA-DQ** sont présentes, les plus fréquentes sont :

- **DQ6 (36,26%)**, retrouvés chez 33 individus dont 5 sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **DQ2 (32,97%)**, retrouvés chez 30 individus dont 6 sont **homozygotes** pour cette spécificité.
- **DQ7 (24,18%)**, retrouvés chez 22 individus dont 2 sont **homozygotes** pour cette spécificité.



Graphe 11 : Fréquences des spécificités **HLA-DQ chez 91 sujets algériens.**

IV-2-Résultats des typages obtenus par Biologie moléculaire

Cette technique a été utilisée chez 45.56% des sujets de l'étude (N= 410 sujets) et qui a permis un typage des molécules HLA-A ; HLA-B et HLA-C ; HLA-DRB1 ; HLA-DQB1.

IV.2.1.Fréquences alléliques

❖ Fréquences alléliques HLA-A

L'étude des allèles HLA-A chez les 316 sujets (typée par biologie moléculaire) dont 45 sont homozygotes pour ce locus.

Tableau 18 : Fréquences des allèles HLA-A chez 316 sujets algériens.

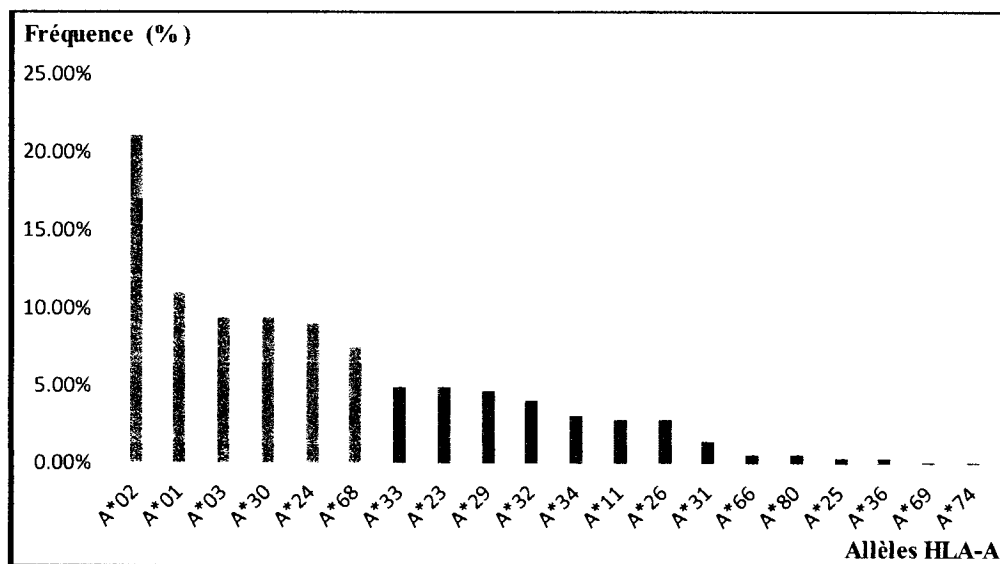
HLA-A	Effectifs	Fr (%)	HLA-A	Effectifs	Fr (%)
A*02	134	21,20	A*11	18	2,85
A*01	70	11,08	A*26	18	2,85
A*03	60	9,49	A*31	10	1,58
A*30	60	9,49	A*66	4	0,63
A*24	58	9,18	A*80	4	0,63
A*68	48	7,59	A*25	3	0,47
A*33	32	5,06	A*36	3	0,47
A*23	32	5,06	A*69	1	0,16
A*29	30	4,75	A*74	1	0,16
A*32	26	4,11	Total	632	100
A*34	20	3,16			

Effectifs : nombre d'allèles obtenus = nombre des sujets $\times$ 2.

Fr : fréquence allélique obtenus par comptage direct.

20 allèles HLA-A sont présents, les plus fréquents sont :

- A*02 (21,20%), retrouvés chez 67 individus dont 19 sont homozygotes pour cet allèle.
- A*01 (11,08%), retrouvés chez 35 individus dont 4 sont homozygotes pour cet allèle.
- A*03 (9,49%), retrouvés chez 30 individus dont 6 sont homozygotes pour cet allèle.
- A*30 (9,49%), retrouvés chez 30 individus dont 3 sont homozygotes pour cet allèle.
- A*24 (9,18%), retrouvés chez 29 individus dont 2 sont homozygotes pour cet allèle.



Graph 12 : Fréquences des allèles HLA-A chez 316 sujets algériens.

L'évaluation des fréquences alléliques **HLA-A** selon les wilayas (Tableau 19) montre que :

Les allèles **HLA-A*01**, **A*02**, **A*03** et **A*30** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

Les allèles **HLA-A*02** (16,88%) et **A*01** (14,22%) sont les plus fréquents dans la **région du Nord** ; qui est représentée principalement par les **cinq wilayas** suivantes dont les allèles les plus fréquents sont:

- **Tizi ousou** : A*24 (21,43%), A*68 (17,86%).
- **Alger** : A*02 (32,14%), A*30 (17,86%).
- **Blida** : A*01(17,78%), A*02 (15,56%).
- **Médéa** : A*02 (19,67%), A*30 (11,48%) et A*23 (11,48%).
- **Bejaia** : A*01 (27,78%), A*29 (16,67%)

L'allèle **HLA-A*01** caractérise la région de l'**Est** avec une fréquence de (32,65%) ; qui est représentée par deux wilayas dont les allèles les plus fréquents sont :

- **Sétif** : A*01, A*30, A*24 avec une même fréquence de (15%)
- **B.B.Argeridj**: A*02 (27,59%), A*03 (15,52%) et A*01, A*30, A*33 avec une même fréquence de (12,07%).

La **région de l'ouest** représentée par **Tlemcen** dont l'allèle le plus fréquent est : **HLA-A*02** (33,33%).

La wilaya de **Djelfa** représente la région de centre algérien dont les allèles les plus fréquents sont : A*68 (27,08%) et A*02 (20,83%).

Pour la région du **Sud** : A*02 (23,33%), A*01 (20,00%) et A*24 (16,67%).

Tableau 19 : Distribution des fréquences alléliques HLA-A selon les wilayas d'origine.

Allèle HLA	Tizi ouzou		Blida		B.B.Argeridj		Médéa		Sétif		Béjaia	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-A												
A*02	2	7,14	14	15,56	16	27,59	12	19,67	3	7,50	1	5,56
A*01	4	14,29	16	17,78	7	12,07	6	9,84	6	15,00	5	27,78
A*03	4	14,29	7	7,78	9	15,52	5	8,20	4	10,00	1	5,56
A*30	3	10,71	6	6,67	7	12,07	7	11,48	6	15,00	2	11,11
A*24	6	21,43	11	12,22	4	6,90	6	9,84	6	15,00	1	5,56
A*68	5	17,86	4	4,44	3	5,17	0	0,00	2	5,00	1	5,56
A*33	1	3,57	3	3,33	7	12,07	5	8,20	1	2,50	0	0,00
A*23	0	0,00	5	5,56	2	3,45	7	11,48	1	2,50	0	0,00
A*29	0	0,00	4	4,44	0	0,00	3	4,92	2	5,00	3	16,67
A*32	0	0,00	4	4,44	0	0,00	4	6,56	2	5,00	1	5,56
A*34	0	0,00	8	8,89	0	0,00	1	1,64	2	5,00	0	0,00
A*11	1	3,57	4	4,44	0	0,00	0	0,00	2	5,00	2	11,11
A*26	0	0,00	3	3,33	2	3,45	1	1,64	0	0,00	1	5,56
A*31	0	0,00	1	1,11	0	0,00	0	0,00	1	2,50	0	0,00
A*66	2	7,14	0	0,00	0	0,00	2	3,28	0	0,00	0	0,00
A*80	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	5,00	0	0,00
A*25	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,64	0	0,00	0	0,00
A*36	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,64	0	0,00	0	0,00
A*69	0	0,00	0	0,00	1	1,72	0	0,00	0	0,00	0	0,00
A*74	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	28	100	90	100	58	100	61	100	40	100	18	100

Tableau 19 : (suite)

Allèle HLA	Djelfa		Tlemcèn		Alger		Le Sud Algérien		Autres wilayas	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-A										
A*02	10	20,83	4	33,33	9	32,14	7	23,33	55	25,58
A*01	2	4,17	1	8,33	1	3,57	6	20,00	15	6,98
A*03	3	6,25	2	16,67	2	7,14	2	6,67	21	9,77
A*30	1	2,08	0	0,00	5	17,86	1	3,33	21	9,77
A*24	4	8,33	0	0,00	1	3,57	5	16,67	14	6,51
A*68	13	27,08	2	16,67	0	0,00	4	13,33	14	6,51
A*33	1	2,08	0	0,00	0	0,00	0	0,00	15	6,98
A*23	4	8,33	0	0,00	1	3,57	0	0,00	10	4,65
A*29	4	8,33	0	0,00	1	3,57	0	0,00	12	5,58
A*32	2	4,17	1	8,33	3	10,71	0	0,00	9	4,19
A*34	1	2,08	0	0,00	1	3,57	0	0,00	4	1,86
A*11	0	0,00	0	0,00	2	7,14	3	10,00	4	1,86
A*26	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	10	4,65
A*31	2	4,17	2	16,67	1	3,57	2	6,67	2	0,93
A*66	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	4	1,86
A*80	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,93
A*25	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,93
A*36	1	2,08	0	0,00	1	3,57	0	0,00	0	0,00
A*69	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
A*74	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,47
Total	48	100	12	100,00	28	100	30	100	215	100

❖ Fréquences alléliques HLA-B:

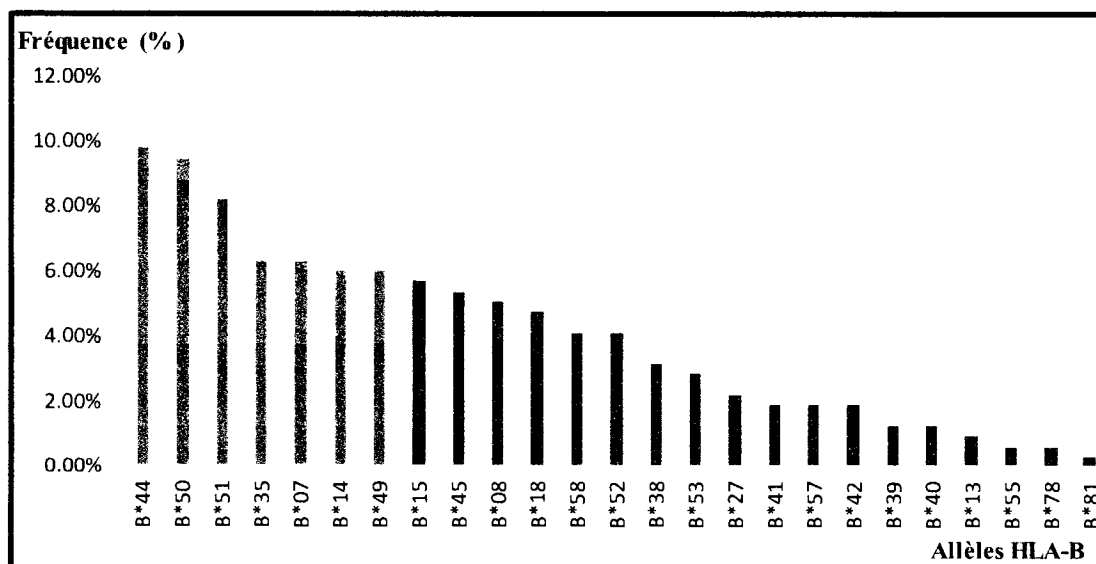
L'étude des allèles **HLA-B** chez les **317** sujets (typée par biologie moléculaire) dont **22** individus homozygotes **HLA-B** pour ce locus.

Tableau 20 : Fréquences des allèles HLA-B chez 317 sujets algériens.

HLA-B	Effectifs	Fr (%)	HLA-B	Effectifs	Fr (%)
B*44	62	9,78	B*38	20	3,15
B*50	60	9,46	B*53	18	2,84
B*51	52	8,20	B*27	14	2,21
B*35	40	6,31	B*41	12	1,89
B*07	40	6,31	B*57	12	1,89
B*14	38	5,99	B*42	12	1,89
B*49	38	5,99	B*39	8	1,26
B*15	36	5,68	B*40	8	1,26
B*45	34	5,36	B*13	6	0,95
B*08	32	5,05	B*55	4	0,63
B*18	30	4,73	B*78	4	0,63
B*58	26	4,10	B*81	2	0,32
B*52	26	4,10	Total	634	100

25 allèles **HLA-B** sont présents, les plus fréquents sont :

- **B*44 (9,78%)** retrouvés chez 31 individus dont 2 sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **B*50 (9,46%)** retrouvés chez 30 individus.
- **B*51 (8,20%)** retrouvés chez 26 individus dont 4 sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **B*35 (6,31%)** retrouvés chez 20 individus dont 1 est **homozygote** pour cet allèle.
- **B*07 (6,31%)** retrouvés chez 20 individus dont 2 sont **homozygotes** pour cet allèle.



Graph 13 : Fréquences des allèles HLA-B chez 317 sujets algériens.

L'évaluation des fréquences alléliques **HLA-B** selon les wilayas (Tableau 21) montre que :

Les allèles **HLA-B*44**, **B*50**, **B*51** et **B*35** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

Les allèles **HLA-B*35 (10,66%)** et **B*44 (9,33%)** sont les plus fréquents dans **la région du Nord** ; qui est représentée principalement par les **cinq wilayas** suivantes dont les allèles les plus fréquents sont :

- **Tizi ouzou** : B*07 (21,43%), B*51 et B*14 (14,29%).
- **Alger** : B*08 (18,52%), B*44 et B*35 (11,11%).
- **Blida** : B*35 (15,56%), B*58 (14,44%).
- **Médéa** : B*14 et B*18 (11,29%).
- **Bejaia** : B*44 (22,22%), B*15 (16,67%)

La région de l'Est est représentée par **deux wilayas** dont les allèles les plus fréquents sont :

- **Sétif** : B*44 (17,50%), B*52 (12,50%), B*35 et B*18 (10%).
- **B.B.Arzeridj**: B*50 (18,97%), B*51 et B*14 (15,52%), B*49 (13,79%).

La région de l'ouest représentée par **Tlemcen** dont l'allèle le plus fréquent est : **HLA-B*45 (30%)**.

La wilaya de **Djelfa** représente **la région de centre Algérien** avec des fréquences élevées des allèles **HLA-B*15 (22,92%)**, **B50** et **B45 (16,67%)**, **B*07 (14,58%)**.

Pour la région du **Sud** : **B*51 (25%)**, **B*50 (14,29%)**, **B*15 (10,71%)**.

Tableau 21 : Distribution des fréquences alléliques HLA-B selon les wilayas d'origine.

Allèle HLA	Tizi ousou		Blida		B.B.Argeridj		Méde		Sétif		Béjaia	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-B												
B*44	0	0,00	9	10,00	3	5,17	5	8,06	7	17,50	4	22,22
B*50	1	3,57	3	3,33	11	18,97	4	6,45	3	7,50	2	11,11
B*51	4	14,29	4	4,44	9	15,52	3	4,84	2	5,00	0	0,00
B*35	1	3,57	14	15,56	0	0,00	6	9,68	4	10,00	0	0,00
B*07	6	21,43	3	3,33	0	0,00	3	4,84	3	7,50	1	5,56
B*14	4	14,29	4	4,44	9	15,52	7	11,29	2	5,00	1	5,56
B*49	0	0,00	7	7,78	8	13,79	2	3,23	2	5,00	1	5,56
B*15	1	3,57	2	2,22	1	1,72	1	1,61	0	0,00	3	16,67
B*45	0	0,00	3	3,33	1	1,72	2	3,23	1	2,50	0	0,00
B*08	1	3,57	7	7,78	0	0,00	4	6,45	3	7,50	0	0,00
B*18	2	7,14	4	4,44	3	5,17	7	11,29	4	10,00	0	0,00
B*58	2	7,14	13	14,44	2	3,45	3	4,84	0	0,00	1	5,56
B*52	2	7,14	4	4,44	2	3,45	2	3,23	5	12,50	0	0,00
B*38	1	3,57	1	1,11	3	5,17	1	1,61	1	2,50	0	0,00
B*53	0	0,00	3	3,33	2	3,45	0	0,00	1	2,50	0	0,00
B*27	2	7,14	3	3,33	1	1,72	3	4,84	1	2,50	0	0,00
B*41	0	0,00	1	1,11	2	3,45	1	1,61	0	0,00	1	5,56
B*57	0	0,00	1	1,11	0	0,00	2	3,23	0	0,00	0	0,00
B*42	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,61	0	0,00	0	0,00
B*39	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,61	0	0,00	0	0,00
B*40	1	3,57	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,50	1	5,56
B*13	0	0,00	1	1,11	0	0,00	2	3,23	0	0,00	1	5,56
B*55	0	0,00	3	3,33	1	1,72	0	0,00	0	0,00	0	0,00
B*78	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	3,23	0	0,00	0	0,00
B*81	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	11,11
Total	28	100	90	100	58	100	62	100	40	100	18	100

Tableau 21 : (suite)

Allèle HLA	Djelfa		Tlemcèn		Alger		Le Sud Algérien		Autres wilayas	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-B										
B*44	1	2,08	1	10,00	3	11,11	0	0,00	30	13,89
B*50	8	16,67	1	10,00	2	7,41	4	14,29	21	9,72
B*51	3	6,25	0	0,00	2	7,41	7	25,00	17	7,87
B*35	2	4,17	0	0,00	3	11,11	1	3,57	9	4,17
B*07	7	14,58	0	0,00	1	3,70	0	0,00	16	7,41
B*14	1	2,08	0	0,00	1	3,70	0	0,00	7	3,24
B*49	0	0,00	0	0,00	1	3,70	2	7,14	12	5,56
B*15	11	22,92	0	0,00	0	0,00	3	10,71	14	6,48
B*45	8	16,67	3	30,00	1	3,70	2	7,14	12	5,56
B*08	2	4,17	0	0,00	5	18,52	0	0,00	11	5,09
B*18	0	0,00	2	20,00	0	0,00	1	3,57	7	3,24
B*58	1	2,08	0	0,00	1	3,70	0	0,00	3	1,39
B*52	2	4,17	0	0,00	0	0,00	2	7,14	6	2,78
B*38	0	0,00	0	0,00	1	3,70	0	0,00	12	5,56
B*53	1	2,08	2	20,00	2	7,41	0	0,00	7	3,24
B*27	0	0,00	1	10,00	1	3,70	0	0,00	2	0,93
B*41	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	3,57	7	3,24
B*57	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	7,14	7	3,24
B*42	0	0,00	0	0,00	2	7,41	2	7,14	6	2,78
B*39	0	0,00	0	0,00	1	3,70	0	0,00	7	3,24
B*40	1	2,08	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	1,39
B*13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
B*55	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
B*78	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	3,57	0	0,00
B*81	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	48	100	10	100	27	100	28	100	216	100

❖ Fréquences alléliques HLA-C

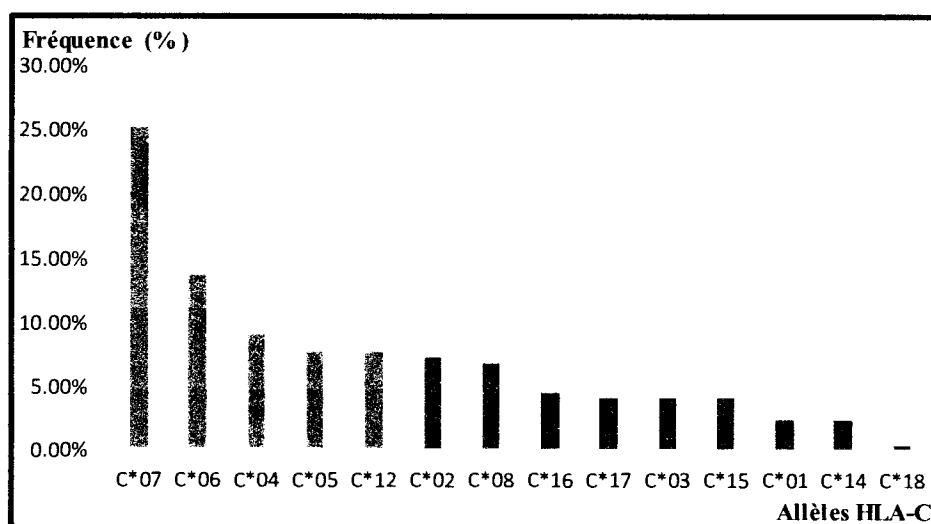
L'étude des allèles **HLA-C** chez les **218** sujets (typée par biologie moléculaire) dont **36** sont **homozygotes** pour ce locus.

Tableau 22 : Fréquences des allèles HLA-C chez **218** sujets algériens.

HLA-C	Effectifs	Fr (%)
C*07	110	25,23
C*06	60	13,76
C*04	40	9,17
C*05	34	7,80
C*12	34	7,80
C*02	32	7,34
C*08	30	6,88
C*16	20	4,59
C*17	18	4,13
C*03	18	4,13
C*15	18	4,13
C*01	10	2,29
C*14	10	2,29
C*18	2	0,46
Total	436	100

14 allèles **HLA-C** sont présents, les plus fréquents sont :

- **C*07 (25,23%)**, retrouvés chez **55** individus dont **20** sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **C*06 (13,76%)**, retrouvés chez **30** individus dont **6** sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **C*04 (9,17%)**, retrouvés chez **20** individus.
- **C*05 (7,80%)**, retrouvés chez **17** individus dont **2** sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **C*12 (7,80%)**, retrouvés chez **17** individus.



Graph 14 : Fréquences des allèles HLA-C chez **218** sujets algériens.

L'évaluation des fréquences alléliques **HLA-C** selon les wilayas (Tableau 23) montre que :

Les allèles **HLA-C*07**, **C*06**, **C*04** et **C*05** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

Les allèles **HLA-C*07 (36,61%)** et **C*04 (11,97%)** sont les plus fréquents dans **la région du Nord** ; qui est représentée principalement par les **cinq wilayas** suivantes dont les allèles les plus fréquents sont :

- **Tizi ouzou** : C*07 (30,77%).
- **Alger** : C*07 (50%).
- **Blida** : C*07 (38,89%), C*04 (12,96%), C*02 (11,11%).
- **Médéa** : C*07 (31,71%), C*06 (19,51%), C*04 (14,63%).
- **Bejaia** : C*07 (31,25%), C*06 (25%).

La région de l'Est est représentée par **deux wilayas** dont les allèles les plus fréquents sont :

- **Sétif** : C*04 (20%), C*05 et C*01 avec une même fréquence de (15%).
- **B.B.Argeridj** : C*07, C*06, C*08 avec une même fréquence de (16,33%).

La région de l'ouest représentée par **Tlemcèn** dont l'allèle le plus fréquent est : **HLA-C*06 (41,67%)**.

La wilaya de **Djelfa** représente **la région de centre Algérien** avec des fréquences élevées des allèles **HLA-C*07 (23,53%)**, **C*03 (20,59%)**, **C*06 (14,71%)**.

Pour la région du **Sud** : **C*15 (23,81%)**, **C*16 (19,05%)**, **C*08 (14,29%)**.

Tableau 23 : Distribution des fréquences alléliques HLA-C selon les wilayas d'origine.

Allèle HLA	Tizi ouzou		Blida		B.B.Argeridj		Médéa		Sétif		Béjaia	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-C												
C*07	4	30,77	21	38,89	8	16,33	13	31,71	2	10,00	5	31,25
C*06	0	0,00	4	7,41	8	16,33	8	19,51	1	5,00	4	25,00
C*04	1	7,69	7	12,96	2	4,08	6	14,63	4	20,00	0	0,00
C*05	0	0,00	4	7,41	2	4,08	2	4,88	3	15,00	3	18,75
C*12	1	7,69	3	5,56	6	12,24	3	7,32	2	10,00	0	0,00
C*02	3	23,08	6	11,11	1	2,04	2	4,88	0	0,00	2	12,50
C*08	3	23,08	2	3,70	8	16,33	4	9,76	2	10,00	0	0,00
C*16	0	0,00	2	3,70	1	2,04	0	0,00	1	5,00	0	0,00
C*17	0	0,00	1	1,85	2	4,08	1	2,44	0	0,00	1	6,25
C*03	0	0,00	2	3,70	0	0,00	1	2,44	1	5,00	0	0,00
C*15	1	7,69	0	0,00	4	8,16	1	2,44	1	5,00	0	0,00
C*01	0	0,00	2	3,70	2	4,08	0	0,00	3	15,00	0	0,00
C*14	0	0,00	0	0,00	5	10,20	0	0,00	0	0,00	0	0,00
C*18	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	6,25
Total	13	100	54	100	49	100	41	100	20	100	16	100

Tableau 23 : (suite)

Allèle HLA	Djelfa		Tlemcèn		Alger		Le Sud Algérien		Autres wilayas	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-C										
C*07	8	23,53	2	16,67	9	50,00	2	9,52	33	21,71
C*06	5	14,71	5	41,67	0	0,00	2	9,52	20	13,16
C*04	2	5,88	3	25,00	3	16,67	1	4,76	11	7,24
C*05	0	0,00	1	8,33	1	5,56	1	4,76	18	11,84
C*12	2	5,88	0	0,00	1	5,56	1	4,76	15	9,87
C*02	4	11,76	1	8,33	0	0,00	0	0,00	12	7,89
C*08	0	0,00	0	0,00	2	11,11	3	14,29	7	4,61
C*16	5	14,71	0	0,00	0	0,00	4	19,05	8	5,26
C*17	0	0,00	0	0,00	2	11,11	1	4,76	10	6,58
C*03	7	20,59	0	0,00	0	0,00	1	4,76	5	3,29
C*15	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5	23,81	5	3,29
C*01	1	2,94	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	1,97
C*14	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5	3,29
C*18	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	34	100	12	100	18	100	21	100	152	100

❖ Fréquences alléliques HLA-DRB1

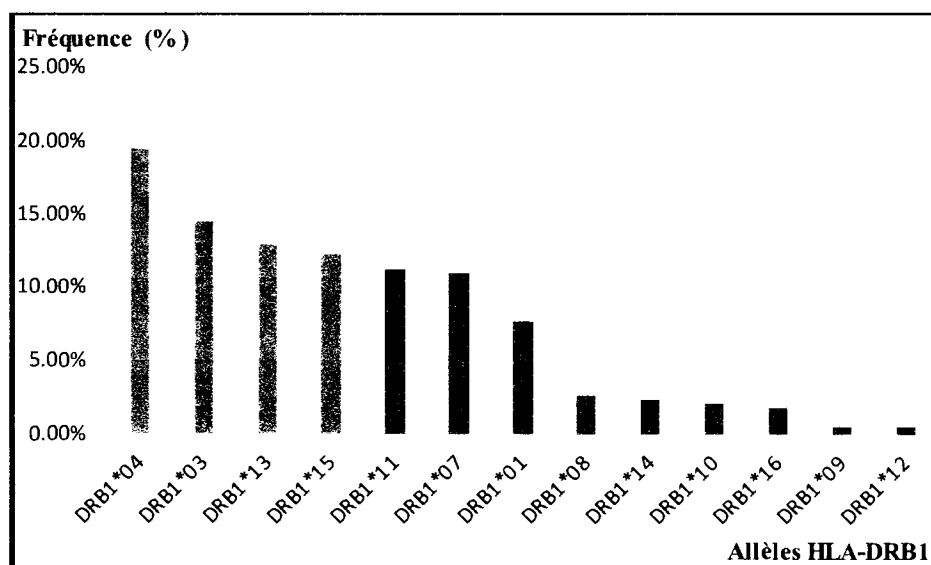
L'étude des allèles **HLA-DRB1** chez les **363** sujets (typés par biologie moléculaire) dont **50** sont **homozygotes** pour ce locus.

Tableau 24 : Fréquences des allèles HLA-DRB1 chez 363 sujets algériens.

HLA-DRB1	Effectifs	Fr (%)
DRB1*04	142	19,56
DRB1*03	106	14,60
DRB1*13	94	12,95
DRB1*15	90	12,40
DRB1*11	82	11,29
DRB1*07	80	11,02
DRB1*01	56	7,71
DRB1*08	20	2,75
DRB1*14	18	2,48
DRB1*10	16	2,20
DRB1*16	14	1,93
DRB1*09	4	0,55
DRB1*12	4	0,55
Total	726	100

13 allèles **HLA-DRB1** sont présents, les plus fréquents sont :

- **DRB1*04 (19,56%)**, retrouvés chez **71** individus dont **16** sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **DRB1*03 (14,60%)**, retrouvés chez **53** individus dont **9** sont **homozygotes** pour cet allèle
- **DRB1*13 (12,95%)**, retrouvés chez **47** individus dont **5** sont **homozygotes** pour cet allèle
- **DRB1*15 (12,40%)**, retrouvés chez **45** individus dont **5** sont **homozygotes** pour cet allèle.
- **DRB1*11 (11,29%)**, retrouvés chez **41** individus dont **6** sont **homozygotes** pour cet allèle.



Graph 15 : Fréquences des allèles HLA-DRB1 chez 363 sujets algériens.

L'évaluation des fréquences alléliques **HLA-DRB1** selon les wilayas (Tableau 25) montre que :

Les allèles **HLA-DRB1*04**, **DRB1*03**, **DRB1*13** et **DRB1*15** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

La région du Nord est représentée principalement par les cinq wilayas suivantes dont les allèles les plus fréquents sont:

- **Tizi ousou :** DRB1*11 et DRB1*01 avec une même fréquence de (21,43%).
- **Alger :** DRB1*04 (21,74%), DRB1*03 et DRB1*07 avec une même fréquence de (17,39%).
- **Blida :** DRB1*04 (28,30%), DRB1*11 (17,92%).
- **Médéa :** DRB1*03 et DRB1*13 avec une même fréquence de (15,05%).
- **Bejaia :** DRB1*04 (31,25%), DRB1*01 (25%).

La région de l'Est est représentée par deux wilayas dont les allèles les plus fréquents sont :

- **Sétif :** DRB1*04 (23,81%), DRB1*03 (19,05%), DRB1*13 et DRB1*15 avec une même fréquence de (14,29%).
- **B.B.Arreidj :** DRB1*01 (17,57%), DRB1*04 (16,22%), DRB1*13 (14,86%), DRB1*15 (12,16%).

La région de l'ouest est représentée par Tlemcèn : DRB1*04, DRB1*13 et DRB1*07 avec une même fréquence de (25%).

La wilaya de Djelfa représente la région de centre algérien : DRB1*03 et DRB1*11 avec une même fréquence de (23,81%), DRB1*15 (16,67%).

Pour la région du **Sud** : DRB1*13 (33,33%), DRB1*03 et DRB1*15 avec une même fréquence de (22,22%)

Tableau 25: Distribution des fréquences alléliques HLA-DRB1 selon les wilayas d'origine

Allèle HLA	Tizi ouzou		Blida		B.B.Argeridj		Méde		Sétif		Béjaia	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-DRB1												
DRB1*04	0	0,00	30	28,30	12	16,22	12	12,90	10	23,81	5	31,25
DRB1*03	1	7,14	10	9,43	8	10,81	14	15,05	8	19,05	0	0,00
DRB1*13	1	7,14	8	7,55	11	14,86	14	15,05	6	14,29	3	18,75
DRB1*15	2	14,29	11	10,38	9	12,16	12	12,90	6	14,29	3	18,75
DRB1*11	3	21,43	19	17,92	4	5,41	12	12,90	4	9,52	1	6,25
DRB1*07	1	7,14	10	9,43	6	8,11	9	9,68	1	2,38	0	0,00
DRB1*01	3	21,43	8	7,55	13	17,57	10	10,75	3	7,14	4	25,00
DRB1*08	0	0,00	2	1,89	2	2,70	6	6,45	0	0,00	0	0,00
DRB1*14	1	7,14	4	3,77	2	2,70	2	2,15	1	2,38	0	0,00
DRB1*10	0	0,00	2	1,89	7	9,46	0	0,00	0	0,00	0	0,00
DRB1*16	2	14,29	2	1,89	0	0,00	1	1,08	2	4,76	0	0,00
DRB1*09	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,38	0	0,00
DRB1*12	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,08	0	0,00	0	0,00
Total	14	100	106	100	74	100	93	100	42	100	16	100

Tableau 25 : (suite).

Allèle HLA	Djelfa		Tlemcen		Alger		Le Sud Algérien		Autres wilayas	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-DRB1										
DRB1*04	6	14,29	5	25,00	5	21,74	0	0,00	56	20,44
DRB1*03	10	23,81	0	0,00	4	17,39	4	22,22	46	16,79
DRB1*13	3	7,14	5	25,00	2	8,70	6	33,33	35	12,77
DRB1*15	7	16,67	1	5,00	1	4,35	4	22,22	35	12,77
DRB1*11	10	23,81	2	10,00	3	13,04	2	11,11	21	7,66
DRB1*07	2	4,76	5	25,00	4	17,39	2	11,11	38	13,87
DRB1*01	0	0,00	0	0,00	1	4,35	0	0,00	15	5,47
DRB1*08	2	4,76	0	0,00	0	0,00	0	0,00	7	2,55
DRB1*14	0	0,00	1	5,00	2	8,70	0	0,00	5	1,82
DRB1*10	2	4,76	0	0,00	0	0,00	0	0,00	6	2,19
DRB1*16	0	0,00	0	0,00	1	4,35	0	0,00	6	2,19
DRB1*09	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	1,09
DRB1*12	0	0,00	1	5,00	0	0,00	0	0,00	1	0,36
Total	42	100	20	100	23	100	18	100	274	100

❖ **Fréquences alléliques HLA-DQB1**

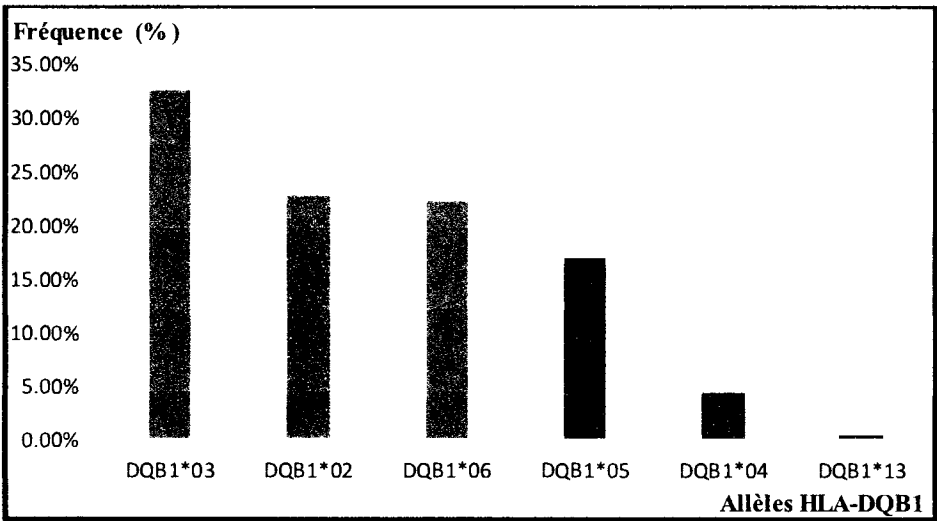
L'étude des allèles **HLA-DQB1** chez les **350** sujets (typée par biologie moléculaire) dont **77** sont **homozygotes** pour ce locus.

Tableau 26 : Fréquences des allèles HLA-DQB1 chez 350 sujets algériens.

HLA-DQB1	Effectifs	Fr (%)
DQB1*03	228	32,57
DQB1*02	160	22,86
DQB1*06	156	22,29
DQB1*05	120	17,14
DQB1*04	32	4,57
DQB1*13	4	0,57
Total	700	100,00

6 allèles **HLA-DQB1** sont présents ; les plus fréquents sont :

- **DQB1*03 (32,57%)**, retrouvés chez **114** individus dont **31** sont **homozygote** pour cet allèle.
- **DQB1*02 (22,86%)**, retrouvés chez **80** individus dont **15** sont **homozygotes** pour cet allèle
- **DQB1*06 (22,29%)**, retrouvés chez **78** individus dont **15** sont **homozygotes** pour cet allèle
- **DQB1*05 (17,14%)**, retrouvés chez **60** individus dont **13** sont **homozygotes** pour cet allèle.



Graph 16 : Fréquences des allèles HLA-DQB1 chez 350 sujets algériens.

L'évaluation des fréquences alléliques **HLA-DQB1** selon les wilayas (Tableau 27) montre que :

Les allèles **HLA-DQB1*03**, **DQB1*02**, **DQB1*06** et **DRB1*05** sont les plus présents dans la plupart des régions algériennes.

La région du Nord est représentée principalement par les cinq wilayas suivantes dont les allèles les plus fréquents sont:

- Tizi ousou : DQB1*05 (44,44%), DQB1*03 (22,22%).
- Alger : DQB1*02 (38,10 %), DQB1*03 (28,57%).
- Blida : DQB1*03 (41,24%), DQB1*06 (19,59%).
- Médéa : DQB1*03 (34,07%), DQB1*06 (27,47%).
- Bejaia : DQB1*03 (62,50%).

La région de l'Est est représentée par deux wilayas dont les allèles les plus fréquents sont :

- Sétif : DQB1*03 (28,95%), DQB1*06 (23,68%), DQB1*02 (21,05%).
- B.B.Argeridj: DQB1*03 (28,38%), DQB1*05 (27,03%), DQB1*06 (21,62%).

La région de l'ouest est représentée par Tlemcèn : DQB1*03 (35%), DQB1*04 et DQB1*06 avec une même fréquence de (20%).

La wilaya de Djelfa représente la région de centre Algérien : DQB1*02 (30,95%), DQB1*06 (26,19%).

Pour la région du Sud : DQB1*03 (44,44%), DQB1*06 (33,33%).

Tableau 27: Distribution des fréquences alléliques HLA-DQB1* selon les wilayas d'origine

Allèle HLA	Tizi ousou		Blida		B.B.Argeridj		Médéa		Sétif		Béjaia	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-DQB1												
DQB1*03	4	22,22	40	41,24	21	28,38	31	34,07	11	28,95	5	62,50
DQB1*02	3	16,67	18	18,56	14	18,92	17	18,68	8	21,05	0	0,00
DQB1*06	3	16,67	19	19,59	16	21,62	25	27,47	9	23,68	0	0,00
DQB1*05	8	44,44	17	17,53	20	27,03	15	16,48	7	18,42	3	37,50
DQB1*04	0	0,00	3	3,09	3	4,05	3	3,30	3	7,89	0	0,00
DQB1*13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	18	100	97	100	74	100	91	100	38	100	8	100

Tableau 27: (suite).

Allèle HLA	Djelfa		Tlemcèn		Alger		Le Sud algérien		Autres wilayas	
	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)	N	Fr (%)
HLA-DQB1										
DQB1*03	8	19,05	7	35,00	6	28,57	8	44,44	85	31,72
DQB1*02	13	30,95	4	20,00	8	38,10	3	16,67	69	25,75
DQB1*06	11	26,19	4	20,00	1	4,76	6	33,33	62	23,13
DQB1*05	8	19,05	3	15,00	6	28,57	0	0,00	33	12,31
DQB1*04	2	4,76	2	10,00	0	0,00	1	5,56	16	5,97
DQB1*13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	1,12
Total	42	100	20	100	21	100	18	100	268	100

IV.3.2. Les fréquences haplotypiques

L'étude haplotypique n'a intéressé que des receveurs (sujets non apparentés) disposant de typage HLA par PCR-SSP.

Les haplotypes HLA ont été établis selon les caractéristiques du système HLA (transmission en bloc et codominance), en associant des locus HLA deux à deux, comme suite :

- A*/B* chez 96 sujets.
- A*/C* chez 53 sujets.
- B*/C* chez 58 sujets.
- B*/DRB1* chez 72 sujets.
- DRB1*/DQB1* chez 104 sujets.

Devant le grand nombre d'haplotypes retrouvés, nous avons représenté aux tableaux ci-après 40 haplotypes les plus retrouvés, pour chaque association allélique, sauf pour DRB1*/DQB1* tous les haplotypes ont été représentés.

Le déséquilibre de liaison (D) est mesuré par la loi de Hardy-Weinberg :

$$D = p_{A-B} - p_A \times q_B$$

p_{A-B} : Fréquence haplotypique (%).

p_A : Fréquence allélique du premier locus de l'haplotype (%).

q_B : Fréquence allélique du deuxième locus de l'haplotype (%).

$p_A \times q_B$: Produit des fréquences alléliques des deux locus composant l'haplotype (%).

D: Déséquilibre de liaison calculé (%).

La grandeur « D » calculée permet de définir l'existence d'un déséquilibre de liaison ($D \neq 0$) ou son absence ($D=0$). Ce déséquilibre de liaison est d'autant plus fort que le D est supérieur à zéro (Positif).

❖ Haplotypes A*/B*

Tableau 28 : Fréquences des haplotypes à deux loci A*/B* retrouvées au sein de la population étudiée. N : Nombre d'effectif / Total d'effectif 192.

Haplotype	N	p _{A-B}	p _A xq _B	D	Haplotype	N	p _{A-B}	p _A xq _B	D
A*02/B*50	8	4,17	1,77	2,40	A*68/B*15	3	1,56	0,22	1,34
A*34/B*08	4	2,08	0,11	1,98	A*68/B*53	3	1,56	0,19	1,38
A*29/B*45	4	2,08	0,32	1,77	A*01/B*15	2	1,04	0,41	0,63
A*33/B*14	4	2,08	0,31	1,77	A*01/B*57	2	1,04	0,20	0,84
A*02/B*58	4	2,08	0,59	1,49	A*02/B*49	2	1,04	0,67	0,37
A*03/B*15	4	2,08	0,68	1,40	A*02/B*53	2	1,04	0,39	0,65
A*01/B*49	4	2,08	0,71	1,38	A*11/B*51	2	1,04	0,26	0,78
A*01/B*51	4	2,08	0,98	1,10	A*23/B*49	2	1,04	0,24	0,80
A*02/B*45	4	2,08	1,00	1,08	A*24/B*35	2	1,04	0,66	0,38
A*03/B*50	4	2,08	1,02	1,06	A*24/B*44	2	1,04	0,87	0,17
A*02/B*07	4	2,08	1,12	0,96	A*24/B*51	2	1,04	0,75	0,29
A*02/B*44	4	2,08	1,71	0,37	A*26/B*07	2	1,04	0,16	0,88
A*01/B*52	3	1,56	0,34	1,22	A*29/B*44	2	1,04	0,54	0,50
A*02/B*41	3	1,56	0,31	1,25	A*30/B*44	2	1,04	0,78	0,26
A*02/B*51	3	1,56	0,86	0,70	A*31/B*50	2	1,04	0,16	0,89
A*03/B*07	3	1,56	0,54	1,02	A*32/B*14	2	1,04	0,31	0,73
A*03/B*38	3	1,56	0,21	1,35	A*68/B*45	2	1,04	0,42	0,62
A*26/B*38	3	1,56	0,06	1,50	A*01/B*07	1	0,52	0,75	-0,23
A*30/B*42	3	1,56	0,12	1,44	A*01/B*08	1	0,52	0,51	0,01
A*66/B*41	3	1,56	0,02	1,54	A*01/B*27	1	0,52	0,16	0,36

Dans cette série de 96 individus, 117 haplotypes A*/B* différents ont été mis en évidence.

Les haplotypes les plus fréquemment rencontrés avec les « D » les plus élevés sont :

A*02/B*50, A*34/B*08, A*29/B*45, A*33/B*14, A*02/B*58 et A*03/B*15.

❖ Haplotypes A*/C*

Tableau 29 : Fréquences des haplotypes à deux loci A*/C* retrouvées au sein de la population étudiée. N : Nombre d'effectif / Total d'effectif 106.

Haplotype	N	p _{A-B}	p _{A×q_B}	D	Haplotype	N	p _{A-B}	p _{A×q_B}	D
A*02/C*07	6	5,66	3,87	1,79	A*30/C*04	2	1,89	0,77	1,12
A*29/C*06	5	4,72	0,82	3,89	A*30/C*05	2	1,89	0,69	1,20
A*02/C*06	5	4,72	2,61	2,11	A*30/C*17	2	1,89	0,38	1,50
A*33/C*08	4	3,77	0,42	3,35	A*32/C*08	2	1,89	0,42	1,47
A*03/C*07	4	3,77	2,24	1,53	A*66/C*17	2	1,89	0,07	1,81
A*01/C*07	4	3,77	2,58	1,19	A*68/C*03	2	1,89	0,25	1,64
A*02/C*02	3	2,83	1,26	1,57	A*68/C*04	2	1,89	0,71	1,18
A*24/C*06	3	2,83	1,33	1,50	A*68/C*08	2	1,89	0,67	1,21
A*68/C*07	3	2,83	1,63	1,20	A*01/C*02	1	0,94	0,84	0,10
A*01/C*01	2	1,89	0,45	1,44	A*01/C*04	1	0,94	1,12	-0,18
A*01/C*15	2	1,89	0,45	1,44	A*01/C*06	1	0,94	1,74	-0,80
A*02/C*05	2	1,89	1,52	0,37	A*01/C*14	1	0,94	0,28	0,66
A*02/C*16	2	1,89	0,84	1,04	A*02/C*04	1	0,94	1,68	-0,74
A*11/C*07	2	1,89	0,68	1,21	A*02/C*12	1	0,94	1,52	-0,57
A*23/C*07	2	1,89	0,88	1,00	A*02/C*14	1	0,94	0,42	0,52
A*23/C*12	2	1,89	0,35	1,54	A*02/C*17	1	0,94	0,84	0,10
A*24/C*02	2	1,89	0,64	1,24	A*03/C*03	1	0,94	0,34	0,60
A*26/C*07	2	1,89	0,54	1,34	A*03/C*06	1	0,94	1,51	-0,57
A*26/C*12	2	1,89	0,21	1,67	A*03/C*12	1	0,94	0,88	0,07
A*29/C*16	2	1,89	0,27	1,62	A*03/C*14	1	0,94	0,24	0,70

Dans cette série de 53 individus, 59 haplotypes A*/ C* différents ont été mis en évidence. Les haplotypes les plus fréquemment rencontrés avec les « D » les plus élevés sont : A*02/C*07, A*29/C*06, A*02/C*06, A*33/C*08, A*03/C*07 et A*01/C*07.

❖ Haplotypes B*/C*

Tableau 30 : Fréquences des haplotypes à deux loci B*/C* retrouvées au sein de la population étudiée. N : Nombre d'effectif / Total d'effectif 116.

Haplotype	N	p _{A-B}	p _{A×q_B}	D	Haplotype	N	p _{A-B}	p _{A×q_B}	D
B*07/C*07	10	8,62	1,30	7,32	B*57/C*06	2	1,72	0,32	1,40
B*44/C*05	7	6,03	0,78	5,26	B*58/C*07	2	1,72	0,68	1,04
B*49/C*07	7	6,03	1,23	4,80	B*08/C*05	1	0,86	0,35	0,51
B*50/C*06	7	6,03	1,38	4,65	B*13/C*06	1	0,86	0,14	0,72
B*35/C*04	6	5,17	0,65	4,52	B*14/C*05	1	0,86	0,54	0,33
B*14/C*08	6	5,17	0,56	4,61	B*15/C*02	1	0,86	0,27	0,59
B*45/C*06	5	4,31	0,78	3,53	B*18/C*02	1	0,86	0,27	0,59
B*51/C*15	4	3,45	0,30	3,15	B*18/C*05	1	0,86	0,32	0,54
B*08/C*07	3	2,59	0,89	1,70	B*18/C*12	1	0,86	0,32	0,54
B*15/C*03	3	2,59	0,12	2,46	B*27/C*02	1	0,86	0,09	0,77
B*15/C*07	3	2,59	0,82	1,77	B*27/C*12	1	0,86	0,11	0,76
B*41/C*17	3	2,59	0,13	2,45	B*38/C*07	1	0,86	0,55	0,32
B*42/C*17	3	2,59	0,09	2,50	B*44/C*01	1	0,86	0,34	0,52
B*53/C*04	3	2,59	0,30	2,29	B*44/C*02	1	0,86	0,65	0,22
B*38/C*12	2	1,72	0,21	1,51	B*49/C*06	1	0,86	0,83	0,03
B*40/C*02	2	1,72	0,04	1,68	B*50/C*12	1	0,86	0,80	0,06
B*44/C*16	2	1,72	0,43	1,29	B*51/C*02	1	0,86	0,56	0,30
B*45/C*12	2	1,72	0,45	1,27	B*52/C*01	1	0,86	0,14	0,72
B*45/C*16	2	1,72	0,25	1,47	B*52/C*03	1	0,86	0,12	0,74
B*51/C*14	2	1,72	0,19	1,54	B*52/C*12	1	0,86	0,32	0,54

Dans cette série de 58 individus, 52 haplotypes A*/ C* différents ont été mis en évidence. Les haplotypes les plus fréquemment rencontrés avec les « D » les plus élevés sont : B*07/C*07, B*44/C*05, B*49/C*07, B*50/C*06, B*35/C*04 et B*14/C*08.

❖ Haplotypes B*/DRB1*

Tableau 31 : Fréquences des haplotypes à deux loci B*/DRB1* retrouvées au sein de la population étudiée. N : Nombre d'effectif /Total d'effectif 144.

Haplotype	N	p _{A-B}	p _{A×q_B}	D	Haplotype	N	p _{A-B}	p _{A×q_B}	D
B*14/DRB1*01	6	4,17	0,49	3,68	B*44/DRB1*01	2	1,39	0,71	0,68
B*51/DRB1*15	6	4,17	1,06	3,10	B*44/DRB1*07	2	1,39	0,92	0,47
B*50/DRB1*07	5	3,47	0,95	2,52	B*45/DRB1*03	2	1,39	0,74	0,65
B*49/DRB1*04	5	3,47	1,17	2,30	B*45/DRB1*04	2	1,39	1,11	0,28
B*44/DRB1*04	5	3,47	1,89	1,58	B*45/DRB1*09	2	1,39	0,06	1,33
B*45/DRB1*11	4	2,78	0,63	2,15	B*50/DRB1*15	2	1,39	1,28	0,11
B*07/DRB1*15	4	2,78	0,81	1,97	B*52/DRB1*15	2	1,39	0,51	0,88
B*07/DRB1*04	3	2,08	1,24	0,84	B*53/DRB1*15	2	1,39	0,43	0,96
B*15/DRB1*15	3	2,08	0,51	1,57	B*63/DRB1*04	2	1,39	0,20	1,19
B*35/DRB1*03	3	2,08	0,96	1,13	B*08/DRB1*04	1	0,69	0,85	-0,15
B*50/DRB1*04	3	2,08	1,96	0,13	B*08/DRB1*13	1	0,69	0,54	0,15
B*07/DRB1*13	2	1,39	0,79	0,60	B*08/DRB1*14	1	0,69	0,08	0,61
B*07/DRB1*16	2	1,39	0,09	1,30	B*14/DRB1*11	1	0,69	0,74	-0,05
B*08/DRB1*03	2	1,39	0,57	0,82	B*15/DRB1*03	1	0,69	0,52	0,17
B*14/DRB1*13	2	1,39	0,83	0,56	B*15/DRB1*10	1	0,69	0,10	0,60
B*27/DRB1*11	2	1,39	0,15	1,24	B*15/DRB1*11	1	0,69	0,45	0,25
B*38/DRB1*15	2	1,39	0,34	1,05	B*18/DRB1*03	1	0,69	0,52	0,17
B*41/DRB1*04	2	1,39	0,59	0,80	B*18/DRB1*04	1	0,69	0,78	-0,09
B*42/DRB1*03	2	1,39	0,26	1,13	B*18/DRB1*07	1	0,69	0,38	0,31
B*42/DRB1*08	2	1,39	0,06	1,33	B*18/DRB1*15	1	0,69	0,51	0,18

Dans cette série de 72 individus, 90 haplotypes B*/DRB1* différents ont été mis en évidence. Les haplotypes les plus fréquemment rencontrés avec les « D » les plus élevés sont : B*14/DRB1*01, B*51/DRB1*15, B*50/DRB1*07, B*49/DRB1*04, B*44/DRB1*04 et B*45/DRB1*11.

❖ Haplotypes DRB1*/DQB1***Tableau 32** : Fréquences de tous les haplotypes à deux loci DRB1*/DQB1* retrouvées au sein de la population étudiée. N : Nombre d'effectif

Haplotypes	N	P _{A-B}	P _{A-C}	D
DRB1*15/DQB1*06	33	15,87	3,02	12,84
DRB1*04/DQB1*03	29	13,94	6,68	7,26
DRB1*03/DQB1*02	25	12,02	3,03	8,99
DRB1*11/DQB1*03	18	8,65	3,81	4,85
DRB1*01/DQB1*05	15	7,21	0,15	7,06
DRB1*07/DQB1*02	15	7,21	1,25	5,96
DRB1*13/DQB1*06	10	4,81	2,96	1,85
DRB1*13/DQB1*03	8	3,85	4,27	-0,42
DRB1*11/DQB1*05	6	2,88	1,90	0,98
DRB1*10/DQB1*05	5	2,40	0,42	1,99
DRB1*13/DQB1*05	5	2,40	2,13	0,27
DRB1*16/DQB1*05	5	2,40	0,23	2,17
DRB1*08/DQB1*03	5	2,40	1,02	1,38
DRB1*04/DQB1*04	4	1,92	0,35	1,57
DRB1*03/DQB1*04	4	1,92	0,68	1,24
DRB1*03/DQB1*03	3	1,44	4,55	-3,11
DRB1*07/DQB1*05	3	1,44	0,37	1,07
DRB1*14/DQB1*05	3	1,44	0,37	1,07
DRB1*08/DQB1*06	2	0,96	0,71	0,25
DRB1*12/DQB1*03	2	0,96	0,19	0,78
DRB1*04/DQB1*02	1	0,48	4,46	-3,97
DRB1*04/DQB1*05	1	0,48	3,34	-2,86
DRB1*07/DQB1*06	1	0,48	2,25	-1,77
DRB1*07/DQB1*03	1	0,48	3,25	-2,77
DRB1*10/DQB1*02	1	0,48	0,56	-0,08
DRB1*10/DQB1*03	1	0,48	0,84	-0,35
DRB1*11/DQB1*06	1	0,48	2,64	-2,16
DRB1*14/DQB1*03	1	0,48	0,74	-0,26
Total	208	100	/	/

Dans cette série de 104 individus, 28 haplotypes DRB1*/DQB1* différents ont été mis en évidence. Les haplotypes les plus fréquemment rencontrés avec les « D » les plus élevés sont : DRB1*15/DQB1*06, DRB1*04/DQB1*03, DRB1*03/DQB1*02, DRB1*11/DQB1*03, DRB1*01/DQB1*05 et DRB1*07/DQB1*02.

Tableau 33 : Tableau récapitulatif des fréquences haplotypiques avec calcul de déséquilibre de liaison « D » des haplotypes les plus fréquemment retrouvées.

	Haplotypes	Fréquences Haplotypiques (%)	Déséquilibre de liaison "D" (%)
A*/ B*	A*02/B*50	4,17	2,40
	A*34/B*08	2,08	1,98
	A*29/B*45	2,08	1,77
	A*33/B*14	2,08	1,77
	A*02/B*58	2,08	1,49
	A*03/B*15	2,08	1,40
A*/C*	A*02/C*07	5,66	1,79
	A*29/C*06	4,72	3,89
	A*02/C*06	4,72	2,11
	A*33/C*08	3,77	3,35
	A*03/C*07	3,77	1,53
	A*01/C*07	3,77	1,19
B*/C*	B*07/C*07	8,62	7,32
	B*44/C*05	6,03	5,26
	B*49/C*07	6,03	4,80
	B*50/C*06	6,03	4,65
	B*35/C*04	5,17	4,52
	B*14/C*08	5,17	4,61
B*/DRB1*	B*14/DRB1*01	4,17	3,68
	B*51/DRB1*15	4,17	3,10
	B*50/DRB1*07	3,47	2,52
	B*49/DRB1*04	3,47	2,30
	B*44-DRB1*04	3,47	1,58
	B*45/DRB1*11	2,78	2,15
DRB1*/DQB1*	DRB1*15/DQB1*06	15,87	12,84
	DRB1*04/DQB1*03	13,94	7,26
	DRB1*03/DQB1*02	12,02	8,99
	DRB1*11/DQB1*03	8,65	4,85
	DRB1*01/DQB1*05	7,21	7,06
	DRB1*07/DQB1*02	7,21	5,9

V. Discussion

Notre travail a intéressé un échantillon 898 individus algériens issus de 42 wilayas d'Algérie sur 48.

L'analyse des fréquences phénotypiques (technique sérologique) et allélique (PCR-SSP), retrouvés montre une homogénéité de ces fréquences pour le système HLA-I.

Pour le système HLA-II les fréquences phénotypiques retrouvées par technique sérologique, diffèrent de celles retrouvées par PCR-SSP (fréquences allélique), ceci peut être due à l'hétérogénéité des deux groupes typés par deux techniques différentes. De plus, la différence de sensibilité entre les deux techniques joue un rôle important dans cette discordance. Sachant que la PCR-SSP est nettement plus sensible et plus performante que la microlymphocytotoxicité complément dépendante.

Nos résultats au sein de toute la population d'étude montrent une fréquence allélique élevées pour :

- Le locus A : HLA-A*02, -A*01, -A*03, -A*30, -A*24 et -A*68.
- Le locus B : HLA-B*44, -B*50, -B*51, -B*35, -B*07 et -B*14.
- Le locus C : HLA-C*07, -C*06, -C*04, -C*05, -C*12 et -C*02.
- Le locus DRB1 : HLA-DRB1*04, -DRB1*03, -DRB1*13, -DRB1*15, -DRB1*11 et -DRB1*07.
- Le locus DQB1 : DQB1*03, -DQB1*02, -DQB1*06 et -DQB1*05.

Ils rejoignent ceux rapportés dans les études algériennes antérieures (AMROUN H. et al, 2010), (REVIRON D. et coll, 1993), ainsi que ceux retrouvés dans les populations voisines du Maghreb (HAJJEJ A. et al, 2015) et (BRICK C. et al, 2015).

Pour les études algériennes (AMROUN H. et al, 2010), (REVIRON D. et coll, 1993) ont montré que les allèles les plus fréquents sont :

- HLA-A*02(17.95%), -A*30(11.13%), -A*03(10.45%), -A*01(10%). [65]
- HLA-B*44 (10.22%), -B*51(10.22%), -B*07 (8.63%), -B*50(7.5%). [65]
- HLA-C*06(21.91%), -C*07(15.16%) et -C*04(11.51%). [65]
- HLA-DRB1*03 (23 %), -DRB1*04 (14,5 %). [66]
- HLA- DQB1*03(33,5%), -DQB1*02 (32,5 %). [66]

D'autre par, l'étude tunisienne de (HAJJEJ A. et al, 2015), les allèles les plus fréquents sont :

- HLA-A*02 (21,9%), -A*01 (12,30%), -A*30 (11,20%). [67]
- HLA-B*44 (11%), -B*50 (10%), -B*51 (8,34%). [67]
- HLA-C*07 (18,14%), -C*06 (16,33%), -C*04 (11,68%). [67]
- HLA-DRB1*03 (17,11%), -DRB1*04 (13,54%), -DRB1*13 (11,7%). [67]
- HLA-DQB1*03 (32,85%), -DQB1*02 (32,72%) et -DQB1*06 (18,21%). [67]

Concernant la l'étude marocaine de (C. Brick et al ; 2015), les fréquences alléliques sont comme suite :

- HLA-A*02 (19%), -A*01 (10%), -A*03 (7,7%). [68]
- HLA-B*44 (9,6%), -B*07 (7,7%), -B*15 et -B*18 (6,8%) et -B*35 (6,4%). [68]
- HLA-C*07 (24,4%), -C*06 (14,7%) et -C*04 (9,6%). [68]
- HLA-DRB1*04 (18,4%), -DRB1*03 (16,9%) et DRB1*07 (13%). [68]
- HLA-DQB1 ; -DQB1*02 (28,7%) DQB1*03 (27,8%) et -DQB1*06 (20,7%). [68]

Nos résultats confirment la prédominance de HLA-A*02, -B*44, -C*07, DRB1*04 et DQB1*03 dans les populations maghrébines.

Ainsi, nos résultats selon les wilayas d'origine montrent une distribution homogène des allèles, avec l'existence d'une certaines différences pour certains allèles, notamment pour le locus C ; HLA-C*03 à une fréquence élevée (20,59%) chez les individus issus de Djelfa, ceci est comparable à celle de la population malienne HLA-C*03 (19,5%) [55]. Ainsi C*01 à une fréquence élevé (15%) chez les individus issus de Sétif, proche de celle de la population vietnamienne (16,5%) [90]. Suggérant des relations entre ces populations.

Pour les haplotypes HLA (DRB1*/DQB1*, B*/C*, B*/DRB1*, A*/C* et A*/B*) les plus fréquemment retrouvés sont représentés dans le (Tableau 33).

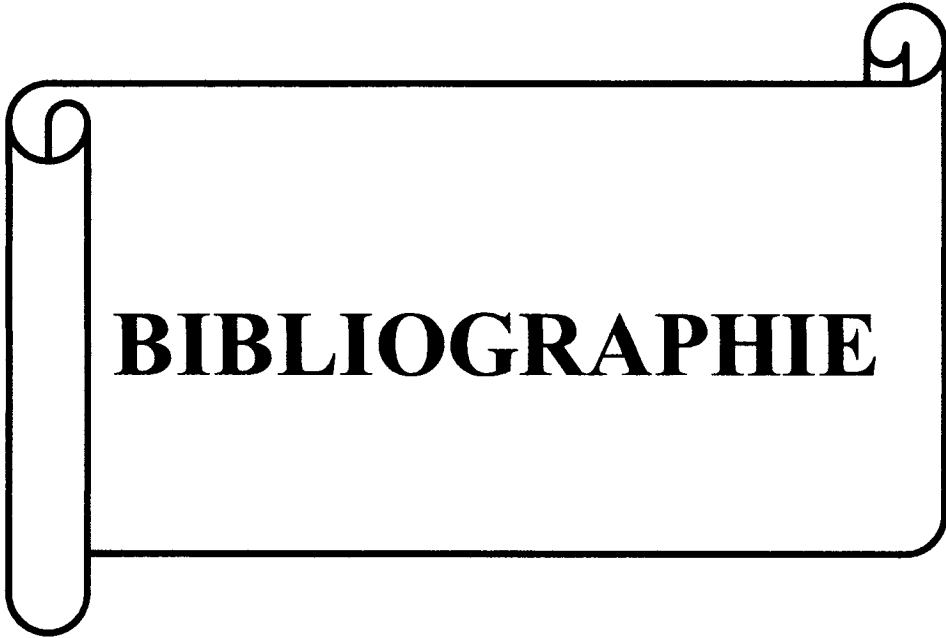
Les haplotypes DRB1*/DQB1* sont les plus représentatif de notre population étudié, car les fréquences (entre 7,21 et 15,87%) et les grandeurs "D" (entre 4,85 et 12,84%) des haplotypes les plus fréquents sont significativement élevée en comparant avec le reste des haplotypes HLA, dont les fréquences ne dépassant 8,62% et les grandeurs "D" ne dépassant 7,32%, confirmant ainsi la force de déséquilibre de liaison existant entre ces deux loci, qui est une conséquence de la faible distance qui les sépare.

VI-Conclusion

Notre travail montre que nos résultats sont comparables à ceux obtenus par d'autres études menés précédemment, ce qui conforte la notion de l'homogénéité existante au sein de la population maghrébine dont fait partie notre population algérienne.

D'autre part, il sera utile de compléter notre travail, par des typages HLA de haute résolution pour une meilleure définition des allèles ainsi que des haplotypes les plus fréquemment rencontrés dans notre série.

Pour finir, nos résultats peuvent être utiles à l'étude de l'association HLA et maladies qui sont basées sur la comparaison des fréquences des allèles HLA entre malades et témoins. Il permettra, d'autre part, de définir les spécificités HLA les plus fréquentes et qui doivent être définis pour la population Algérienne en vu d'établir un panel national utile à la recherche des anticorps anti-HLA prescrit dans le cadre de la transplantation.



BIBLIOGRAPHIE

- [1] Abbadi MC, Amroun H, Benhalima Met coll ; Atelier algérien sur HLA institut pasteur ,2006 :11-30.
- [2] Colombani.J, « HLA : Fonctions immunitaires et applications médicales », 1993.
- [3] Dausset J. Iso-leuco-anticorps. Acta Haematol 1958; 20:156-60.
- [4] Eliaou J.F, immunité adaptative, structure reconnue (CMH et antigène), faculté de Montpellier-Nîmes, 2007, PDF, p.3-6.
- [5] Terasaki PI, McClelland JD, « Microdroplet assay of human serum cytotoxins » Nature 1964; 204:998-1000.
- [6] Colombani.J, HLA: Le complexe majeur de présentation et d'histocompatibilité humain, 1993 :4-18.
- [7] Rudiger Bumester G et coll, Atlas de poche d'immunologie ,1998:44-48.
- [8] Immunologie : le cours de Janis Kuby 7^{ème} édition 2014.
- [9] Immunologie : Revillard 4^{ème} édition 2001.
- [10] Immunologie : J.F.B, L.C. 6^{ème} édition 2012.
- [11] Immunologie : le cours de Janis Kuby 6^{ème} édition 2008.
- [12] Immunologie : J.F.B, L.C. 4^{ème} édition 2002.
- [13] Benhalima, Thèse de doctorat : implication de système HLA dans la transplantation rénale à partir d'un donneur vivant apparenté, 2005.
- [14] BUHLER, Stéphane, « Etude du polymorphisme moléculaire des gènes HLA de classes I et II à l'échelle mondiale : analyse de la diversité nucléotidique dans les populations ». Thèse de doctorat : Univ. Genève, 2007, no. Sc. 3929
- [15] Miceli C. et coll, l'immunopathologie pour le praticien chapitre 8, les facteurs génétiques : les molécules HLA et les molécules apparentées : 6-8.
- [16] Labalette.M.et coll, complexe majeur d'histocompatibilité HLA, polymorphisme et présentation des antigènes aux lymphocytes, PDF, p.2-5.
- [17] Forbes S.A, Trowsdale J, The MHC quartely report, Immunogenetics 50 : 152 9;1999.
- [18] Bignon J.D. Contribution a l'étude du polymorphisme des genes HLA de classe II en biologie moleculaire. (These), universite de Nantes, 1-230, 1992.
- [19] Bignon J.D, Cheneau M.L, Herry P, Bonneville F, Cesbron A, Muller J.Y. Strong linkage disequilibrium of HLA DPw 11 with the HLA B44-DR7- DQw2 extended haplotype. Tissue Antigens 39: 35-7; 1992.
- [20] A. Maffei, K. Papadopoulos, and P. E. Harris « MHC class I antigen processing Pathways » Hum. Immunol., vol. 54, no. 2, pp. 91–103, 1997.

[21] Bignon J.D, Cheneau M.L, Herry P, Bonneville F, Cesbron A, Muller J.Y. Strong linkage disequilibrium of HLA DPw 11 with the HLA B44-DR7- DQw2 extended haplotype. *Tissue Antigens* 39: 35-7; 1992.

[22] A. Maffei and P. E. Harris, « Peptides bound to major histocompatibility complex Molecules Peptides », vol. 19, no. 1, pp. 179–198, 1998.

[23] K. L. Rock and L. Shen, « Cross-presentation: underlying mechanisms and role in immune surveillance » *Immunol. Rev.*, vol. 207, no. 1, pp. 166–183, 2005.

[24] Bjorkman P.J, Saper M.A, Samraoui B, Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA A2. *J Immunol* 174 (1): 6-19; 2005.

[25] Dausset J, Marika P HLA, complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme. Flammarion, Paris, 588; 1989.

[26] J. P.-Y. Ting and J. Trowsdale, « Genetic control of MHC class II expression » *Cell*, vol.

[27] D. Russell, « A binding site for the TCR co-receptor CD8 and the alpha3 domain of HLA-A2 » *Nature*, vol. 345, 1990.

[28] M. Labalette, « Le complexe majeur d'histocompatibilité humain (HLA) » 109, no. 2, pp. S21–S33, 2002.

[29] A. Cesbron Gautier, K. Gagne, C. Retière, A. Devys, J.-D. Bignon « Système HLA », Elsevier Masson SAS 2007.

[30] <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>.

[31] T. Shiina, S. Suzuki, Y. Ozaki, H. Taira, E. Kikkawa, A. Shigenari, A. Oka, T. Umemura, S. Joshita, O. Takahashi, Y. Hayashi, M. Paumen, Y. Katsuyama, S. Mitsunaga, M. Ota, J. K. Kulski, and H. Inoko, « Super high resolution for single molecule-sequence-based typing of classical HLA loci at the 8-digit level using next generation sequencers: Super high-resolution DNA typing of HLA loci » *Tissue Antigens*, vol. 80, no. 4, pp. 305–316, Oct. 2012.

[32] Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Hum Immunol* 2005;66:571-636.

[35] Vincent Elsermans « Le système HLA », 2012.

[36] Braud V.M, Allan D.S, Mc Michael. Function of non-classical MHC and non encoded class I molecules. *curr Opin immunol*; 11: 100- 8; 1999.

[37] Brown J.H, Jardetzky T.S, Corga J.C, Stern L.I, Urban RG, Strominger J.L. Three dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA DR1. *Nature* 364: 33- 9; 1993.

[38] *Genétique moléculaire et évolutive*, M. Harry 2^{ème} édition 2008.

[39] Anderolewicz M.I, Orthmann B.N, VanEndert P.M, Spies T, Cresswell P. Characteristic of peptides and major histocompatibility complex class I/β2 microglobulin to the transporters associated with antigen processing. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 12716- 20; 1994.

[40] www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla

[41] Forquet F, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité et la présentation antigénique, PDF.P02. (69)

[42] J.-F. Eliaou, « Immunité adaptative : structures reconnues (CMH et antigènes) » 2007.

[44] Nadine Hanna, Béatrice Parfait, Dominique Vidaud et Michel Vidaud « Mécanismes et conséquences des mutations » Maladies génétiques, revue M/S : médecine sciences Volume 21, Numéro 11, novembre, 2005, p. 969–980

[45] Nei et Hughes 1992;

[46] Klein et al. 1993.

[47] Nei et al. 1997.

[48] Nei, Masatoshi, Rooney, P. Alejandro, « Concerted and birth and death evolution of multigene families » Annual review of genetics, volume 39- Dec 15, 2005.

[49] Nguyen Tle H, Luu TL, Kobayashi N et al. « Analysis of factors lowering sensitivity of interferon-gamma release assay for tuberculosis » PLoS One 2011;6(8):e23806.

[50] J. Dausset and M. Pla, HLA complexe majeur d'histocompatibilité de l'Homme, Flammarion. 1993.

[51] Josué Feingold « Le déséquilibre de liaison » médecine et sciences n ° 2, vol. 7: 161-8, 1991.

[52] « L'essentiel en Génétique », P.C Winter, G.I. Hikey, & H.L. Fletcher 2000.

[53] Jean-Pierre Abastado « Le complexe majeur d'histocompatibilité : recombinaisons, pressions sélectives et évolution » Société Française de Génétique mis n ° 61 vol. 9, juin-juillet 1993.

[54] A. Arnaiz-Villena, E. Gomez-Casado, J. Martinez-Laso « Population genetic relationships between Mediterranean populations determined by HLA allele distribution and a historic perspective » Tissue Antigens: 60: 111–121, 2002.

[55] I. KALIDI, Y. FOFANA, A. A, RAHLY, V. BOCHU, C. DEHAY, J. GONY and J. HORS, « Study of HLA antigens in a population of Mali (West Africa) » Tissue Antigens (1988) 31, 98-102

[56] Antonio Arnaiz-Villena, Jorge Martínez-Laso, Eduardo Gómez-Casado, Nieves DõÂaz-Campos, Paulo Santos, Antonio Martinho, Henriqueta Breda-Coimbra, « Relatedness among Basques, Portuguese, Spaniards, and Algerians studied by HLA allelic frequencies and haplotypes » Received: 18 April 1997 / 17 June 1997.

[57] Hem BM, Botigué LR, Gravel S, Wang W, Brisbin A, Byrnes JK, et al. « Genomic ancestry of North Africans supports back-to-Africa migrations ». PLoS Genet. 2012; 8(1): e1002397.

[58] Comas D, Calafell F, Benchemsi N, Helal A, Lefranc G, Stoneking M, et al. Alu «insertion polymorphisms in NW Africa and the Iberian Peninsula: evidence for a strong genetic boundary through the Gibraltar Straits ». *Hum Biol.* 2000; 107(4): 312–9.

[59] Côté-Real HBSM, Macaulay VA, Richards MB, Hariti G, Issad MS, « Cambon-Thomsen A, et al. Genetic diversity in the Iberian Peninsula determined from mitochondrial sequence analysis ». *Ann Hum Genet.*

[60] Smith TM, Tafforeau P, Reid DJ, Grün R, Eggins S, Boutakiout M, et al. « Earliest evidence of modern human life history in North African early Homo sapiens ». *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007.

[61] Camps G. « Les civilisations préhistoriques de l'Afrique du Nord et du Sahara ».

[62] Henn BM, Botigué LR, Gravel S, Wang W, Brisbin A, Byrnes JK, et al. « Genomic ancestry of North Africans supports back-to-Africa migrations ». *PLoS.*

[63] Brett M, Fentress E. *The Berbers.* Oxford: Bl; 1996.

[64] Coudray C, Olivieri A, Achilli A, Pala M, Melhaoui M, Cherkaoui M, et al. « The complex and diversified mitochondrial gene pool of Berber populations ». *Ann Hum Genet.* 2009; 73(2): 196–214.

[65] AMROUN H. MECABIH F., BENSALAH N., YOURMOUCHE H., BABACI K., ATTAL N., ABBADI M.C. « Fréquences alléliques et haplotypiques HLA-A-A, -B et -Cw dans la population algérienne », 2010.

[66] D. Reviron, M. André, J.F. Cantaloube, P. Biagini, C. Chicheportiche, P. Mercier, « Polymorphisme HLA-DRB1 et HLA-DQB1 dans la population algérienne originaire d'Alger », 1993.

[67] Abdelhafidh Hajjej, Wassim Y. Almawi, Lasmar Hattab, Amel El-Gaaied Slama Hmida, « HLA Class I and Class II Alleles and Haplotypes Confirm the Berber Origin of the Present Day Tunisian Population », 2015.

[68] « Revue générale Le système HLA dans la population marocaine, The HLA system in the Moroccan population: General review », C. Bricka, O. Atoufa, M. Essakallia, *b Transfusion Clinique et Biologique* 22 (2015) 299–311.

(69) Colombani J. *HLA. fonction immunitaires et applications médicales.* Ed. John Libbey Eurotext. (1993).

- (70) Deng H., Fosdick L., Sercarz E. The involvement of antigen processing in determinant selection by class II MHC and its relationship to immunodominance. *APMIS*. 101(9):655-62, (1993)
- (71) HLA-DRB1 polymorphisms and autoimmune responses to desmogleins in Japanese patients with pemphigus. *Tissue Antigens*. 54(4):333-40., (1999).
- (72) Moraes JR., Luo Y., Moraes ME., Stastny P.
Clinical relevance of antibodies to non-HLA antigens in organ transplantation. *Clin Lab Med*. 11(3):621-32, (1991).
- (73) Marsh SG. Nomenclature for factors of the HLA system, update September/October 1997. *Tissue Antigens*. 51(3):315-6. , (1998).
- (74) A Al youssef ; Anticorps anti BP 180 et système HLA dans les pemphigoïdes auto-immunes
- [75] Spina V. *Minerva Ginecol* I Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica, Università degli Studi di Roma La Sapienza. 50 :12, 533-7; 1998.
- [76] Terasaki P. 1^{er} Workshop, Histoire de HLA: Souvenirs Dix, 61-97 ; 1990.
- [77] Curtoni E.S. Mattiuz P.S, Tosi R.M, test d'histocompatibilité, Copenhague: Munksgaard , 3^{eme} Workshop 1967.
- [78] Terasaki P. 4^{eme} Workshop, Test d'histocompatibilité, Copenhague: Munksgaard ; 1970.
- [79] Dausset J, Colombani J. 5^{eme} Workshop, Test d'histocompatibilité 1972. Copenhague: Munksgaard ; 1973.
- [80] Kissmeyer-Nielsen F. 6^{eme} Workshop, Test d'histocompatibilité Copenhague: Munksgaard ; 1975.
- [81] Bodmer W.F, Batchelor J.R, Bodmer J.G. 7^{eme} Workshop, Test d'histocompatibilité 1977.
- [82] Terasaki P. 8^{eme} Workshop, Test d'histocompatibilité 1980. Los Angeles: Typage tissulaire en laboratoire UCLA, 1980.
- [83] Albert E.D, Mayr W.R. 9^{eme} Workshop Test d'histocompatibilité, Heidelberg: Springer-Verlag, 1984.
- [84] Dupont B. Immunobiologie des HLA. 10^{eme} Workshop, Tests d'histocompatibilité, vol I, d'immunogénétique et d'histocompatibilité, vol II. Springer-Verlag, New York, 1988.
- [85] Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T, HLA 1991. New York: Oxford University Press; 11^{eme} Workshop 1992.

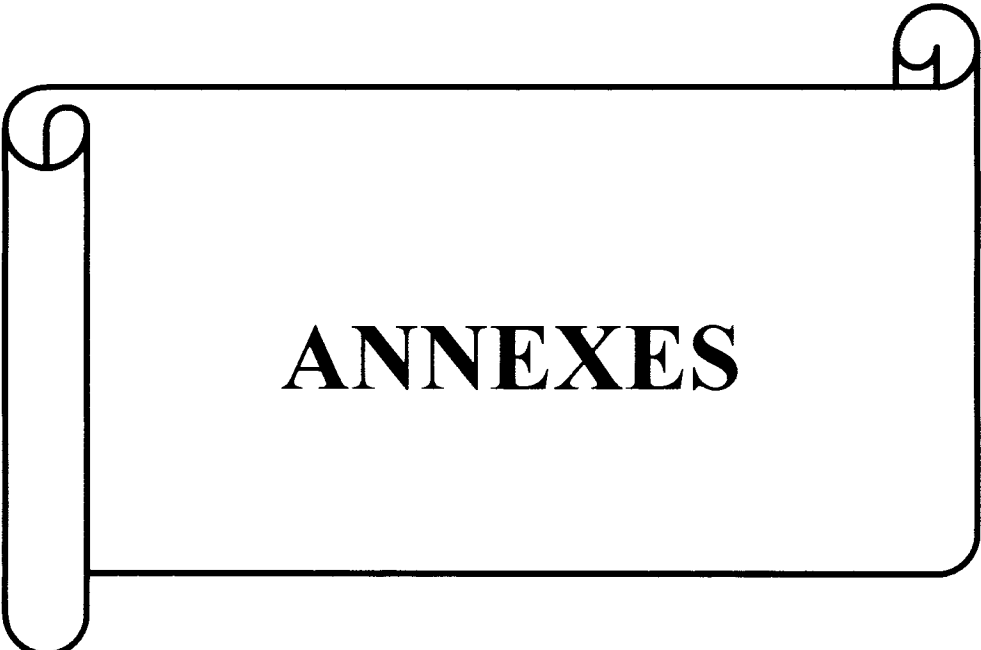
[86] Charron D. 12^{eme} Workshop. Genetic diversity of HLA. Functionnal and medical implications. EDK, Sevres, 1998

[87] Braud V.M, Allan D.S, O'Callaghan CA, Soderstrom K, D'Andrea A, Ogg CS. HLA E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. Nature391: 795- 9; 1998.

[88] Brown J.H, Jardetzky T.S, Corga J.C, Stem L.I, Urban RG, Strominger JL. Three dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA DR1. Nature 364:33- 9; 1993.

(89) Les workshops "Histocompatibilité" (1964-2002) : ([http://histoire.inserm.fr/les-femmes-et-les-hommes/jean-dausset/\(page\)/5](http://histoire.inserm.fr/les-femmes-et-les-hommes/jean-dausset/(page)/5))

[90] B. K. Hoa " HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 alleles and haplotypes in the Kinh population in Vietnam", 2007.



ANNEXES

Annexe 1: le dossier du patient

N° de dossier

CHU DE BLIDA

UNITE HASSIBA BENBOUALI

Laboratoire de biologie – Unité d'immunologie –

N° de tél : 026 41 18 95/96 – Fax : 021 77 20

Dr A. MEGHIAOUI (Chef d'unité)

Dr F. BOUMMOUD

Dr M. L. BOUCHOUA

Fiche de renseignements – Unité de greffe –

(Donneur/Receveur)

Date :/...../.....

RECEVEUR :

NOM : PRENOM :

Date et lieu de naissance : à

Adresse :

Origine : N° de tél :

Centre de dialyse : Médecin traitant :

Antécédents familiaux :

.....

Antécédents personnels :

.....

Etiologie de l'insuffisance rénale :

.....

Date de la 1^{re} dialyse :

Vaccination :

Hépatite []

Diphtérie []

Tétanos []

Rougeole []

Rubeole []

Evenements immunisants :

1) Transfusions : Oui ☐ Non ☐

Si oui :

Spécifique : Oui ☐ Non ☐

Nombre :

Date : 1^{ère} transfusion

2^{ème} transfusion

3^{ème} transfusion

4^{ème} transfusion

Plus : ☐ (préciser) :

2) Grossesses : Oui ☐ Non ☐

Si oui :

Nombre :

Date : 1^{ère} grossesse

2^{ème} grossesse

3^{ème} grossesse

4^{ème} grossesse

Plus : ☐ (préciser) :

3) Transplantation ultérieure : Oui ☐ Non ☐

Bilan du receveur :

1) Groupe sanguin : Rhesus D: ☐ Phénotype :

2) Sérologie :

HBs : Pos ☐ Neg ☐

HBc : Pos ☐ Neg ☐

HBc : Pos ☐ Neg ☐

CMV : Pos ☐ Neg ☐

EBV : Pos ☐ Neg ☐

HIV : Pos ☐ Neg ☐

HTLV : Pos ☐ Neg ☐

Herpes : Pos ☐ Neg ☐

Syphilis : Pos ☐ Neg ☐

Toxoplasmose : Pos ☐ Neg ☐

Bilan demande :

- Typage HLA : ☐

- Recherche d'anticorps anti HLA : ☐

- Cross Match : ☐

- Autres : ☐

DONNEUR :

Vivant ☐

Cadavérique ☐

NOM :

PRENOM :

Date et lieu de naissance: à

Adresse :

Origine : N° de tel :

Antécédents familiaux :

.....

.....

Antécédents personnels :

.....

.....

Lien de parenté avec le receveur:

.....

Bilan du donneur :

1) Groupe sanguin : Rhésus D: Phénotype :

2) Sérologie :

HBs : Pos ☐ Neg ☐

HBc : Pos ☐ Neg ☐

HBe : Pos ☐ Neg ☐

CMV : Pos ☐ Neg ☐

EBV : Pos ☐ Neg ☐

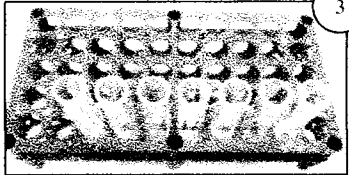
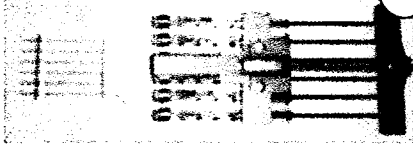
HIV : Pos ☐ Neg ☐

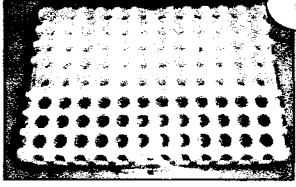
HTLV : Pos ☐ Neg ☐

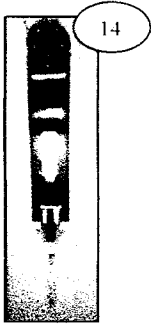
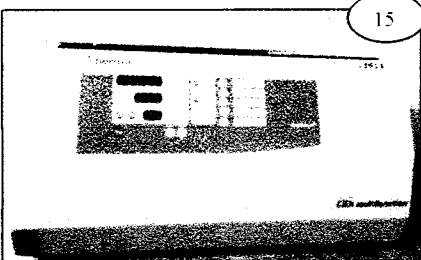
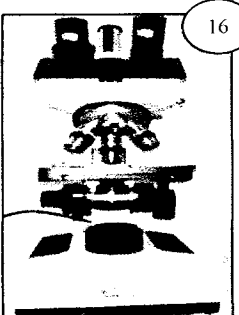
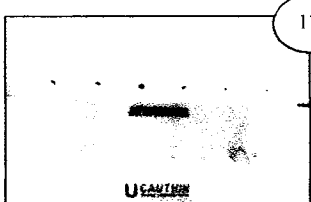
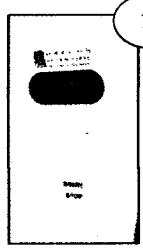
Annexe 2 : La version informatisée des dossiers des malades

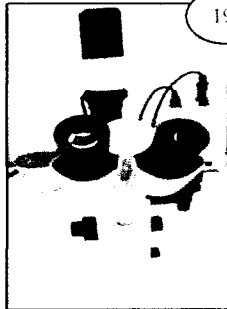
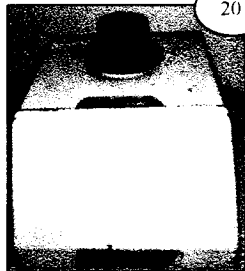
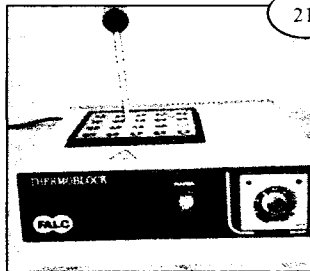
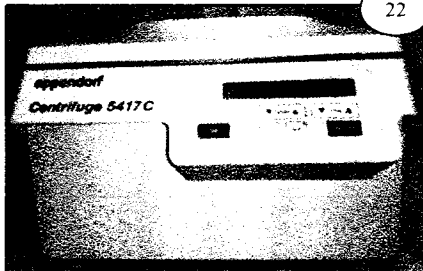
N°	N° Ség	Identité	Date de récept	Age	Sexe	Ind de parent	CMU	Origine	N° de récept	GS	HLA A	HLA A	HLA B	HLA B	HLA C	HLA C	HLA DR	HLA DR	P
283	603		13/04/2013	20	M		BLIDA	BATHA	1	O+	A*02	A*08	B*07	B*08	C*02	C*04	DRB1*03	DRB1*11	D
284	604		13/05/2013	27	F		BLIDA	BATHA	4	O+	A*03	A*03	B*15	B*38	C*02	C*04	DRB1*01	DRB1*04	D
285	605		13/05/2013	22	M		BLIDA	MEDEA	3	O+	A*30	A*06	B*18	B*41	C*05	C*02	DRB1*03	DRB1*15	D
286	606		16/05/2013	34	M		BLIDA	BOUMERDES		A+	A*02	A*03	B*50	B*02	C*02	C*06	DRB1*04	DRB1*12	D
287	610		13/05/2013	20	M		ORAN	SEA	Louisa	O+	A*29	A*30	B*08	B*35	C*04	C*05	DRB1*03	DRB1*13	D
288	612		13/05/2013	45	F		BLIDA	SETIF	0	A+	A*03	A*14	B*08	B*52	C*01	C*04	DRB1*03	DRB1*15	D
289	615		16/05/2013	40	M		BLIDA	CHLEF		O+	A*03	A*33	B*35	B*44	C*04	C*05	DRB1*03	DRB1*13	D
290	617		13/06/2013	26	M		BLIDA	SEA		A+	A*02	A*03	B*14	B*50	C*06	C*08	DRB1*01	DRB1*10	D
291	619		14/06/2013	22	M		BLIDA	TEBESSA	3	A+	A*26	A*29	B*07	B*44	C*02	C*06	DRB1*07	DRB1*15	D
292	621		17/06/2013	21	M		BLIDA	MEDEA	3	A+	A*01	A*24	B*51	B*57	C*06	C*07	DRB1*04	DRB1*06	
293	626		10/10/2013	34	M		BLIDA	MEDEA		O+	A*23	A*28	B*44	B*75	/	/	DRB1*03	DRB1*11	D
294	628		17/10/2013	22	M		BLIDA	MEDEA	3	A3+	A1	A3	B*51	B*53	/	/	DRB1*13	DRB1*15	D
295	630		24/10/2013	35	F		BLIDA	TIZ OUDOU	2	O+	A*24	A*11	B*07	B*08	/	/	DRB1*01	DRB1*15	D
296	632		13/11/2013	55	M		BLIDA	SETIF	1	A+	A1	A*28	B*37	B*53	/	/	DRB1*03	DRB1*04	D
297	633		13/04/2013	39	O+		BLIDA	BATHA	4	O+	A*02	A*03	B*07	B*08	/	/	DRB1*03	DRB1*11	D

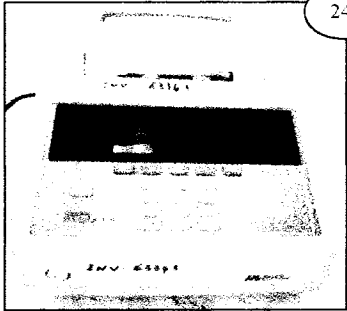
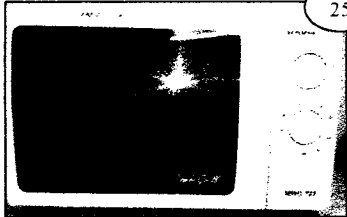
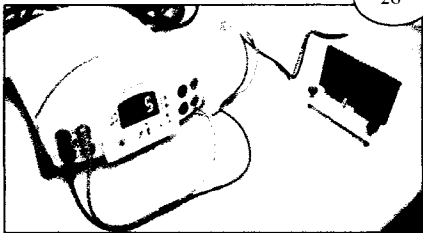
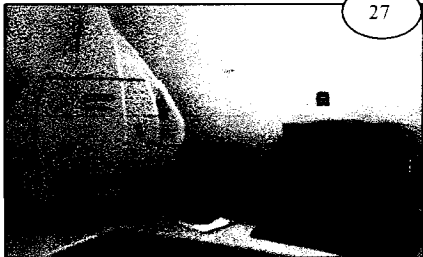
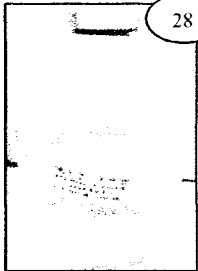
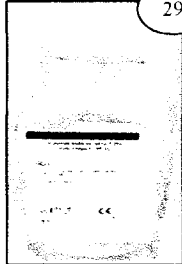
Annexe 3 : Matériels non biologique utilisé au laboratoire

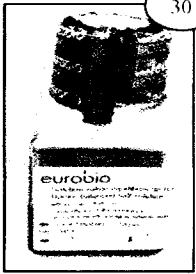
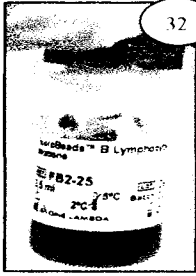
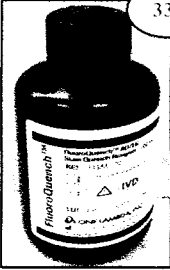
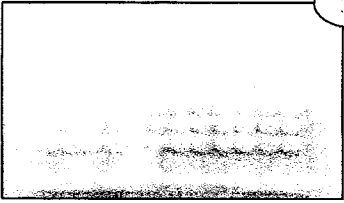
		Numéro	Type	Photos
Matériels non biologique	Verreries et instruments	1	Tube ACD	
		2	Tube à fond conique en plastique	
		3	Tubes secs sur portoir de tubes	
		4	Cellules Malassez	
		5	Eppendorf	
		6	Multi seringue de Hamilton	
		7	Seringue de Hamilton	

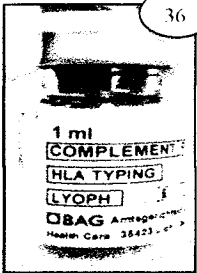
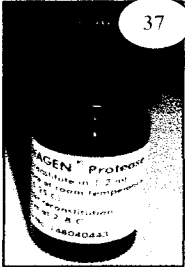
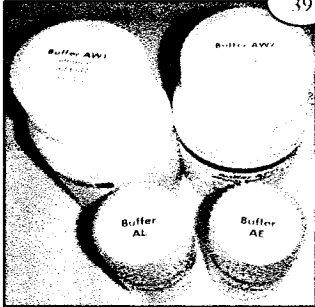
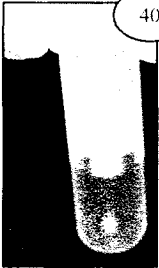
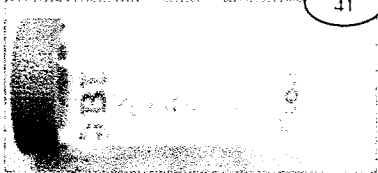
		8	Micropipette 50 µl	
		9	Micropipette 100 µl	
		10	Micropipette 200 µl	
		11	Micropipette 500 µl	
		12	Multicanaux	
		13	Embouts	

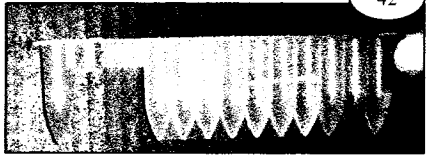
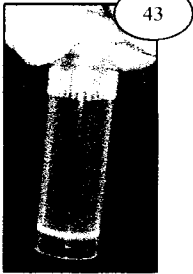
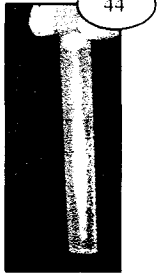
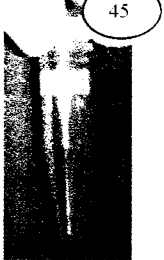
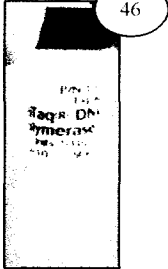
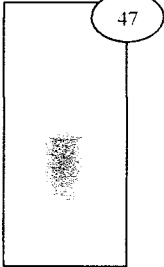
		14	Distributeur eppendorf [®]	 A vertical, cylindrical device with a central opening and a small label at the bottom.
	Appareillages	15	Centrifugeuse « Thermo ELECTRON CORPORATION »	 A rectangular, box-like device with a control panel on the left and a large circular opening on the right.
		16	Microscope optique « KROSS »	 A complex optical instrument with multiple lenses, a stage, and a base.
		17	Portoir aimanté « UCAUTION »	 A rectangular device with a central horizontal slot and a label at the bottom.
		18	Minuteur	 A rectangular device with a large circular display or button in the center and a label at the bottom.

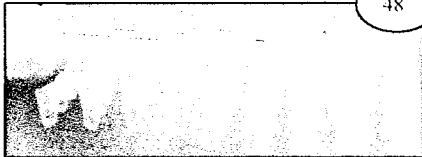
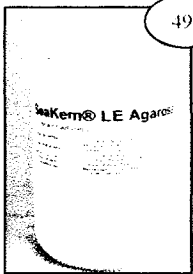
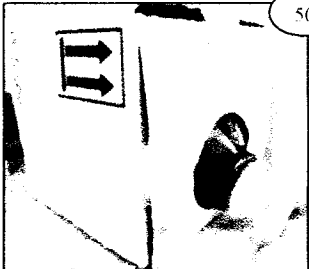
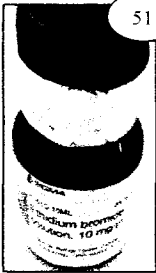
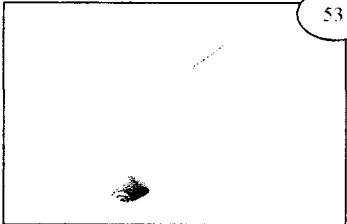
		19	Microscope à fluorescence	 19
		20	Vortex	 20
		21	Thermoblock « FALC »	 21
		22	Micro-centrifugeuse eppendorf « centrifugeuse 5417C »	 22
		23	BIOROBOT EZ1	 23

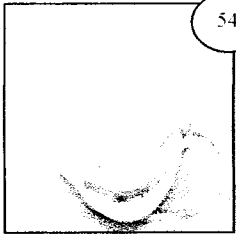
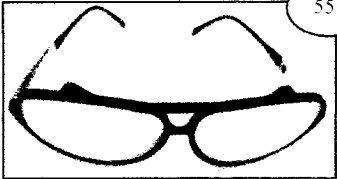
		24	Thermocycleur « GeneAmp* PCR system 9700 »	 24
		25	Micro-onde	 25
		26	Micro Gel System box et Générateur de tension 300V	 26
		27	GelDoc™ XR+ « BIO RAD »	 27
	réactifs	28	Eau physiologique	 28
		29	Tampon PBS : «phosphate buffered saline »	 29

		30	Solution nutritive « HANKS BALANCED SALT SOLUTION »	
		31	Lazarus	
		32	Billes immunomagnétiques : « FluoroBeads B »	
		33	Fluoroquenche™	
		34	Huile de paraffine	
		35	Plaque de Terasaki	

		36	Complément du lapin	
		37	QIAGEN® Protease du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit	
		38	QIAGEN® Protease Solvent du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit	
		39	Tampon de QIAGEN du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit	
		40	Colonne du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit	
		41	Ethanol 90°	

		42	Cartouche des reactifs du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1	
		43	Tube d'échantillon du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1	
		44	Support du cône jetable contenant le cône muni à filtre jetable du kit QIAGEN BIROBOT EZ1	
		45	Tube d'élution du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1	
		46	Taq polymérase	
		47	D-MIX	

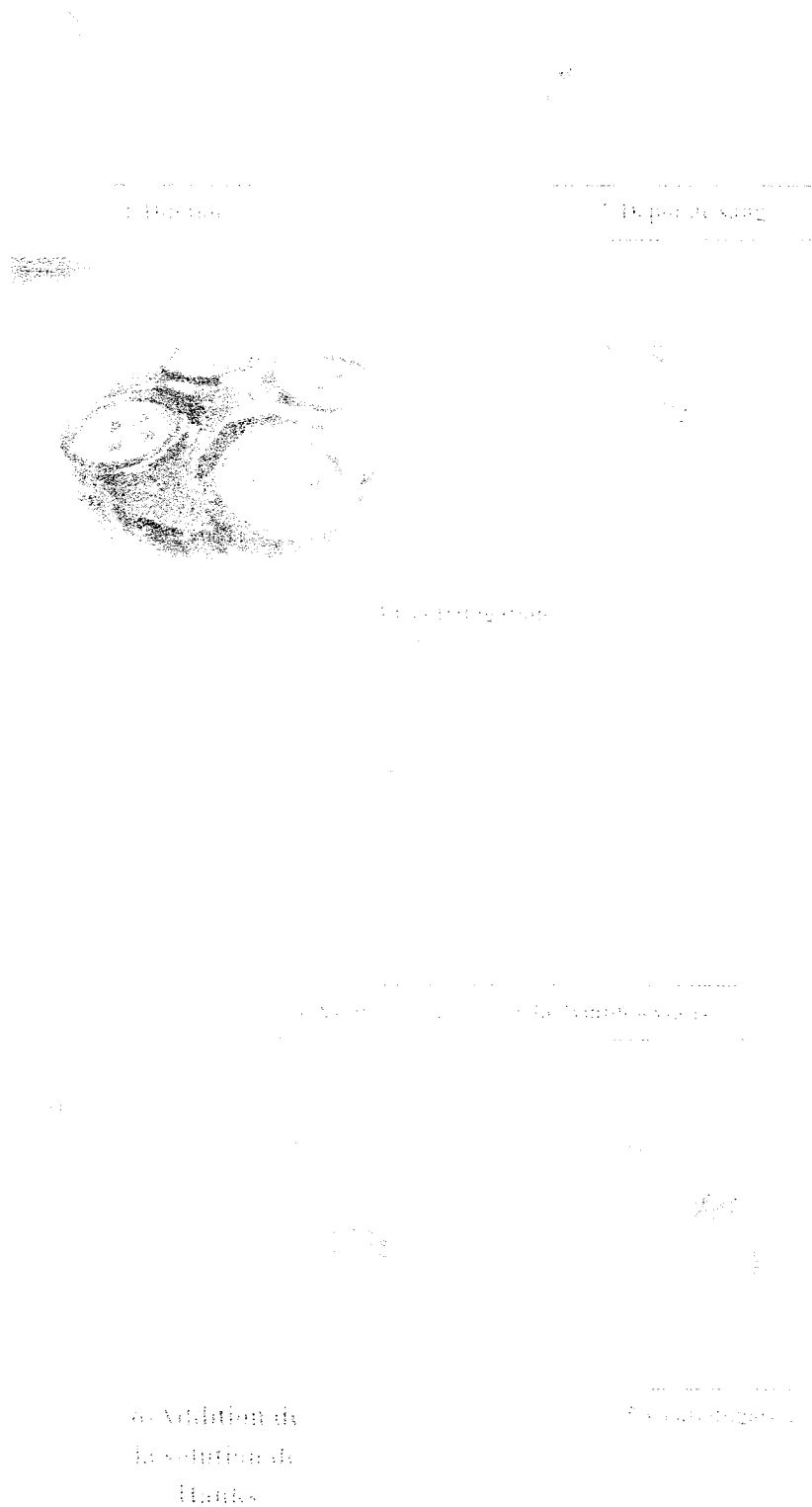
		48	Micro SSP™DNA typing trays	
		49	L'agarose : Sea Kem LE AGAROSE	
		50	Tri Borate EDTA Buffer	
		51	Solution de Bromure d'éthidium	
		52	Size Marker SSP-SM : marqueur de taille	
	Moyens de protection	53	Gants de protection	

		54	Masque de protection	
		55	Lunettes de protection	

Annexe 4 : Taille et densité des cellules sanguines

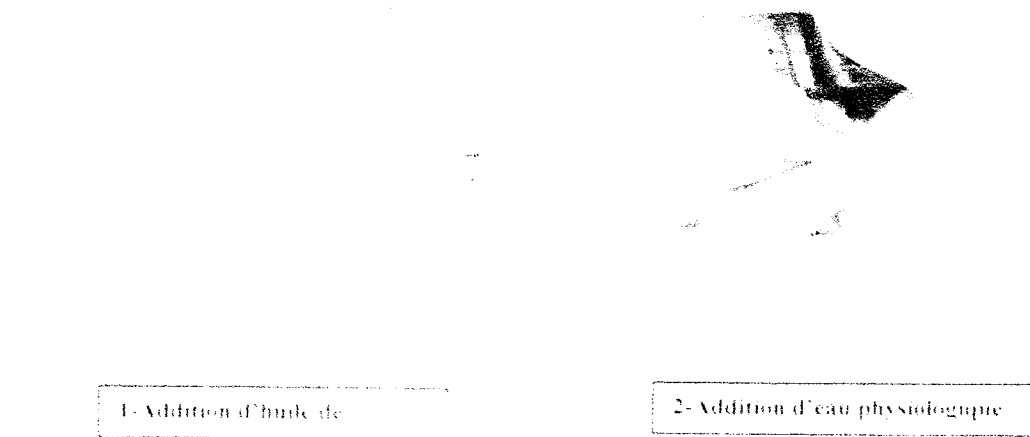
	Taille (µm)	Vitesse de sédimentation
Globules rouges	7,5 (5,7-8)	
Eosinophiles	12 (12-15)	
Neutrophiles	12 (12-15)	
Basophiles	6-8 (6-10)	
Monocytes	8 (7,8-12)	
Lymphocytes	6-8 (6-10)	
Plaquettes	2-4	

Annexe 5: Protocole de séparation des lymphocytes totaux par technique de Ficoll

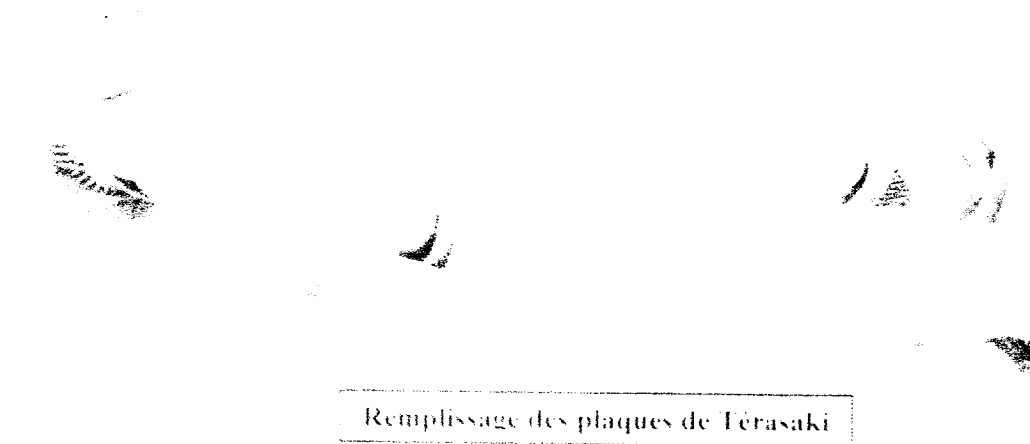


Annexe 6: le protocole de typage par la technique sérologique

1- Préparation des plaques de Terasaki :



2-Le typage par LCI proprement dit :



Les plaques de typage remplis



Figure 1



Incubation des plaques

Figure 2

Les plaques après incubation



Addition de colorant



Incubation des plaques



WORKSHEET

Terasaki HLA Class II Dry Tissue Typing Tray (72), Lot # 4

HLA-B*08:01, HLA-DQA1*03:01, HLA-DQB1*03:01, HLA-DPA1*01:01, HLA-DPB1*01:01

Catalogue ref. DR7.40

21/07/2013

Donor Name

HLA

Sex Male
Age 45

PHENOTYPE ASSIGNMENT

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

HLA Class II

Tray Position

REACTION

SPECIFICITY

REACTION

SPECIFICITY

PRE-TESTING PROCEDURES AND EXPIRATION

- 1. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 2. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 3. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 4. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 5. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 6. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 7. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 8. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 9. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 10. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.

COMMON DRUG ASSOCIATIONS

- 1. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 2. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 3. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 4. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 5. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 6. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 7. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 8. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 9. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.
- 10. The test should be performed in a laboratory with a controlled environment.

Please refer to product insert for testing conditions

Test Environment

100%

Result

100%

Result

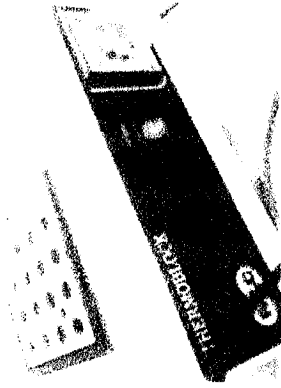
100%

For more information, please refer to the product insert or visit our website at www.terasaki.com

[illegible][illegible]



Variation in Vortices



Variation in Vortices



Variation in Vortices



Variation in Vortices



Variation in Vortices



Variation in Vortices



Continuation

Remplacement de la
pyrocelle par une autre

Admission
valve (V)



Continuation

Admission
valve (V)

Admission de la solution

A

Admission de la solution
Admission de la solution
Admission de la solution
Admission de la solution

Admission de la solution

Admission de la solution

Admission de la solution

Admission de la solution

Admission de la solution

2- Le typage par PCR-SSP :

A- Préparation de la plaque de Micro-SSP

24.01.2000

20.01

10.01

Notre technique de test

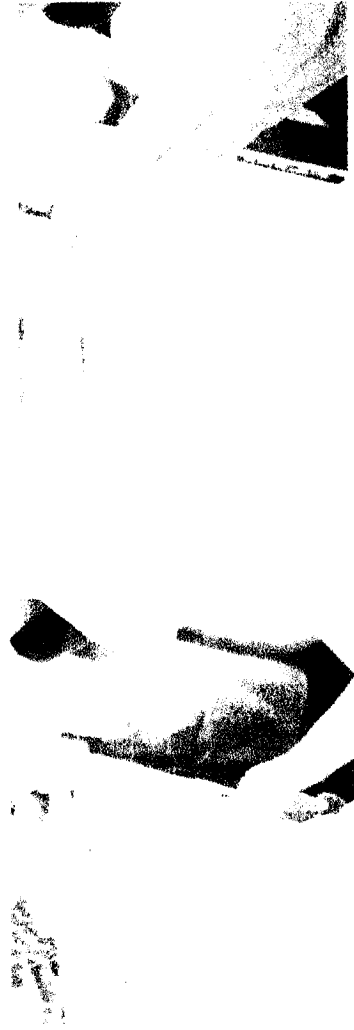


Méthode de test

111



Données de test



ADDITION DE L'ADN SUR LE
MÉLANGE DOMINANT



PRÉLÈVEMENT DU MÉLANGE

SWIRLER LE MÉLANGE



RECHARGE DU MÉLANGE DNA
DOMINANT DANS LES Puits de
la plaque

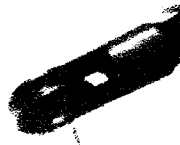


Figure 1 : Fermeture de la plaque

B-Realisation de la PCR :

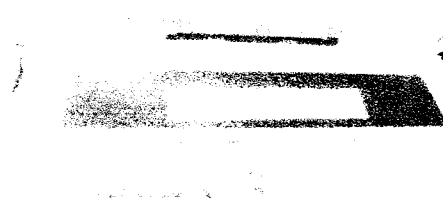


Figure 2 : Placement des plaques au thermocycleur

C-Electrophorese sur gel d'agarose :

- Préparation de gel



Figure 3 : Peser d'agarose

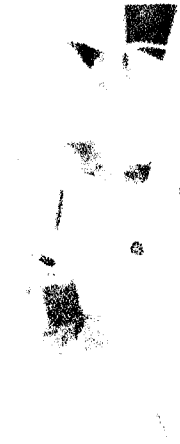
Figure 4 : Addition de la solution tamponne



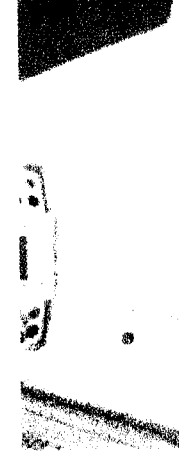
Placer le dépliant dans le
moyeu de la roue



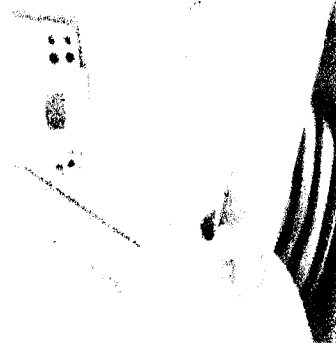
Le mélange après dissolution
d'argile



Appuyer de l'intérieur
d'effiler



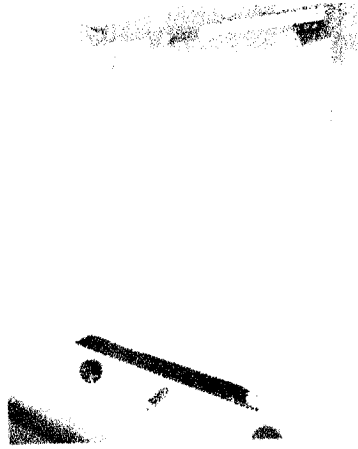
L'ensemble de mélange sur la
plaque de mouture



Placer les empreintes



Addition de Lampes



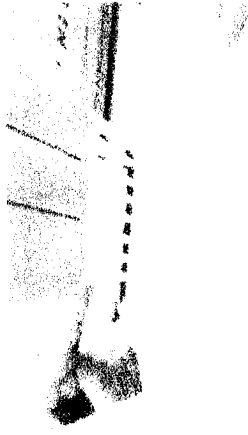
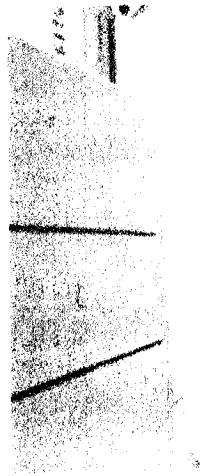
Le réglage des lampes
est terminé



Sortir la plaque de
l'intérieur du boîtier

• L'installation est terminée



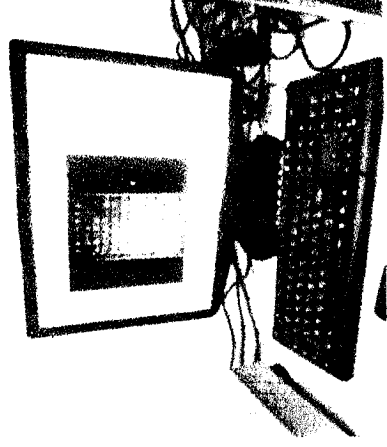


Transfert de produits
d'application dans les puits
de la plaque de migration

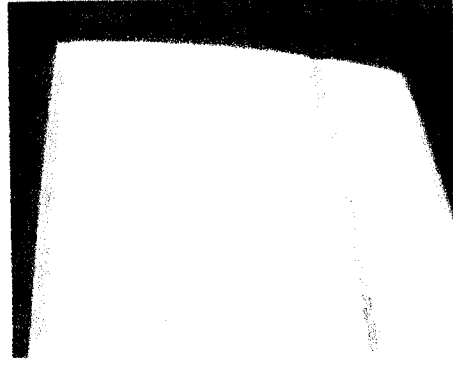
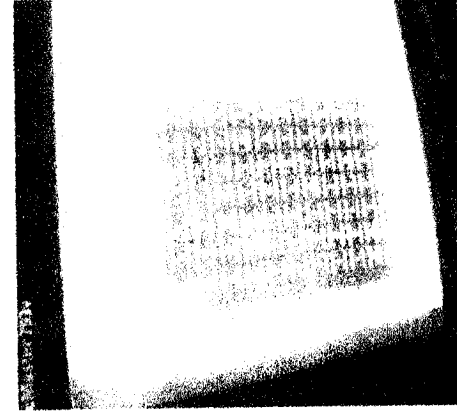


La migration

D-Lecture et interpretation :

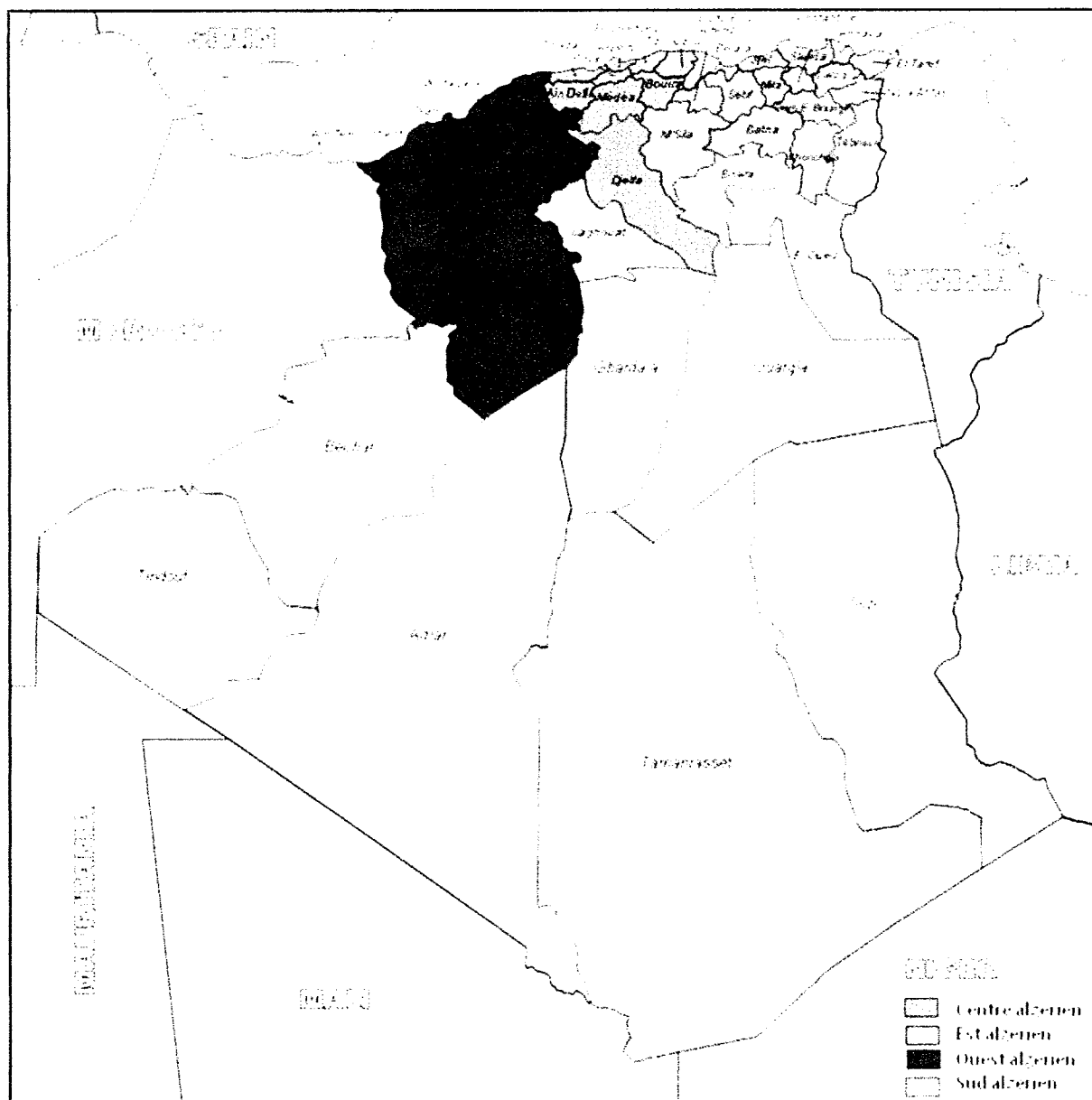


Lecture sur l'Aclébie



Interpretation des résultats
de l'Aclébie

Annexe 9 : Carte géographique de répartition des wilayas de l'Algérie





Worksheet
Lambda Monoclonal Typing Tray Set, Class I, Lot #4

Catalogue# **LM144A**

Name ☐ Patient ☐ Male
☐ Donor ☐ Female

Phenotype Assignment

Center/Institution

Sample I.D. Race Birthdate

Lymphocyte Source:

☐ PB: Fresh ☐ Spleen ☐ Other
☐ PB: Frozen ☐ Lymph Node

Disease Relationship to patient ABO/Rh Test Method Room Temp Tray Exp. Date Cell Viability

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6F	6E	6D	6C	6B	6A
Reaction																																				
Specificity																																				

Serum I.D.

Tray Position	7A	7B	7C	7D	7E	7F	8F	8E	8D	8C	8B	8A	9A	9B	9C	9D	9E	9F	10F	10E	10D	10C	10B	10A	11A	11B	11C	11D	11E	11F	12F	12E	12D	12C	12B	12A
Reaction																																				
Specificity																																				

Serum I.D.

HLA Broad Specificities and Their Splits			Bw4/Bw6 Associations		
	Antigen	Antibody	Bw4	Bw6	
A2	A201/A2301	A201	A201	A201	A201
A9	A202/A2302	A202	A202	A202	A202
A11	A203/A2303	A203	A203	A203	A203
A13	A204/A2304	A204	A204	A204	A204
A15	A205/A2305	A205	A205	A205	A205
A17	A206/A2306	A206	A206	A206	A206
A19	A207/A2307	A207	A207	A207	A207
A21	A208/A2308	A208	A208	A208	A208
A23	A209/A2309	A209	A209	A209	A209
A25	A210/A2310	A210	A210	A210	A210
A27	A211/A2311	A211	A211	A211	A211
A29	A212/A2312	A212	A212	A212	A212
A31	A213/A2313	A213	A213	A213	A213
A33	A214/A2314	A214	A214	A214	A214
A35	A215/A2315	A215	A215	A215	A215
A37	A216/A2316	A216	A216	A216	A216
A39	A217/A2317	A217	A217	A217	A217
A41	A218/A2318	A218	A218	A218	A218
A43	A219/A2319	A219	A219	A219	A219
A45	A220/A2320	A220	A220	A220	A220
A47	A221/A2321	A221	A221	A221	A221
A49	A222/A2322	A222	A222	A222	A222
A51	A223/A2323	A223	A223	A223	A223
A53	A224/A2324	A224	A224	A224	A224
A55	A225/A2325	A225	A225	A225	A225
A57	A226/A2326	A226	A226	A226	A226
A59	A227/A2327	A227	A227	A227	A227
A61	A228/A2328	A228	A228	A228	A228
A63	A229/A2329	A229	A229	A229	A229
A65	A230/A2330	A230	A230	A230	A230
A67	A231/A2331	A231	A231	A231	A231
A69	A232/A2332	A232	A232	A232	A232
A71	A233/A2333	A233	A233	A233	A233
A73	A234/A2334	A234	A234	A234	A234
A75	A235/A2335	A235	A235	A235	A235
A77	A236/A2336	A236	A236	A236	A236
A79	A237/A2337	A237	A237	A237	A237
A81	A238/A2338	A238	A238	A238	A238
A83	A239/A2339	A239	A239	A239	A239
A85	A240/A2340	A240	A240	A240	A240
A87	A241/A2341	A241	A241	A241	A241
A89	A242/A2342	A242	A242	A242	A242
A91	A243/A2343	A243	A243	A243	A243
A93	A244/A2344	A244	A244	A244	A244
A95	A245/A2345	A245	A245	A245	A245
A97	A246/A2346	A246	A246	A246	A246
A99	A247/A2347	A247	A247	A247	A247
A101	A248/A2348	A248	A248	A248	A248
A103	A249/A2349	A249	A249	A249	A249
A105	A250/A2350	A250	A250	A250	A250
A107	A251/A2351	A251	A251	A251	A251
A109	A252/A2352	A252	A252	A252	A252
A111	A253/A2353	A253	A253	A253	A253
A113	A254/A2354	A254	A254	A254	A254
A115	A255/A2355	A255	A255	A255	A255
A117	A256/A2356	A256	A256	A256	A256
A119	A257/A2357	A257	A257	A257	A257
A121	A258/A2358	A258	A258	A258	A258
A123	A259/A2359	A259	A259	A259	A259
A125	A260/A2360	A260	A260	A260	A260
A127	A261/A2361	A261	A261	A261	A261
A129	A262/A2362	A262	A262	A262	A262
A131	A263/A2363	A263	A263	A263	A263
A133	A264/A2364	A264	A264	A264	A264
A135	A265/A2365	A265	A265	A265	A265
A137	A266/A2366	A266	A266	A266	A266
A139	A267/A2367	A267	A267	A267	A267
A141	A268/A2368	A268	A268	A268	A268
A143	A269/A2369	A269	A269	A269	A269
A145	A270/A2370	A270	A270	A270	A270
A147	A271/A2371	A271	A271	A271	A271
A149	A272/A2372	A272	A272	A272	A272
A151	A273/A2373	A273	A273	A273	A273
A153	A274/A2374	A274	A274	A274	A274
A155	A275/A2375	A275	A275	A275	A275
A157	A276/A2376	A276	A276	A276	A276
A159	A277/A2377	A277	A277	A277	A277
A161	A278/A2378	A278	A278	A278	A278
A163	A279/A2379	A279	A279	A279	A279
A165	A280/A2380	A280	A280	A280	A280
A167	A281/A2381	A281	A281	A281	A281
A169	A282/A2382	A282	A282	A282	A282
A171	A283/A2383	A283	A283	A283	A283
A173	A284/A2384	A284	A284	A284	A284
A175	A285/A2385	A285	A285	A285	A285
A177	A286/A2386	A286	A286	A286	A286
A179	A287/A2387	A287	A287	A287	A287
A181	A288/A2388	A288	A288	A288	A288
A183	A289/A2389	A289	A289	A289	A289
A185	A290/A2390	A290	A290	A290	A290
A187	A291/A2391	A291	A291	A291	A291
A189	A292/A2392	A292	A292	A292	A292
A191	A293/A2393	A293	A293	A293	A293
A193	A294/A2394	A294	A294	A294	A294
A195	A295/A2395	A295	A295	A295	A295
A197	A296/A2396	A296	A296	A296	A296
A199	A297/A2397	A297	A297	A297	A297
A201	A298/A2398	A298	A298	A298	A298
A203	A299/A2399	A299	A299	A299	A299
A205	A300/A2400	A300	A300	A300	A300
A207	A301/A2401	A301	A301	A301	A301
A209	A302/A2402	A302	A302	A302	A302
A211	A303/A2403	A303	A303	A303	A303
A213	A304/A2404	A304	A304	A304	A304
A215	A305/A2405	A305	A305	A305	A305
A217	A306/A2406	A306	A306	A306	A306
A219	A307/A2407	A307	A307	A307	A307
A221	A308/A2408	A308	A308	A308	A308
A223	A309/A2409	A309	A309	A309	A309
A225	A310/A2410	A310	A310	A310	A310
A227	A311/A2411	A311	A311	A311	A311
A229	A312/A2412	A312	A312	A312	A312
A231	A313/A2413	A313	A313	A313	A313
A233	A314/A2414	A314	A314	A314	A314
A235	A315/A2415	A315	A315	A315	A315
A237	A316/A2416	A316	A316	A316	A316
A239	A317/A2417	A317	A317	A317	A317
A241	A318/A2418	A318	A318	A318	A318
A243	A319/A2419	A319	A319	A319	A319
A245	A320/A2420	A320	A320	A320	A320
A247	A321/A2421	A321	A321	A321	A321
A249	A322/A2422	A322	A322	A322	A322
A251	A323/A2423	A323	A323	A323	A323
A253	A324/A2424	A324	A324	A324	A324
A255	A325/A2425	A325	A325	A325	A325
A257	A326/A2426	A326	A326	A326	A326
A259	A327/A2427	A327	A327	A327	A327
A261	A328/A2428	A328	A328	A328	A328
A263	A329/A2429	A329	A329	A329	A329
A265	A330/A2430	A330	A330	A330	A330
A267	A331/A2431	A331	A331	A331	A331
A269	A332/A2432	A332	A332	A332	A332
A271	A333/A2433	A333	A333	A333	A333
A273	A334/A2434	A334	A334	A334	A334
A275	A335/A2435	A335	A335	A335	A335
A277	A336/A2436	A336	A336	A336	A336
A279	A337/A2437	A337	A337	A337	A337
A281	A338/A2438	A338	A338	A338	A338
A283	A339/A2439	A339	A339	A339	A339
A285	A340/A2440	A340	A340	A340	A340
A287	A341/A2441	A341	A341	A341	A341
A289	A342/A2442	A342	A342	A342	A342
A291	A343/A2443	A343	A343	A343	A343
A293	A344/A2444	A344	A344	A344	A344
A295	A345/A2445	A345	A345	A345	A345
A297	A346/A2446	A346	A346	A346	A346
A299	A347/A2447	A347	A347	A347	A347
A301	A348/A2448	A348	A348	A348	A348
A303	A349/A2449	A349	A349	A349	A349
A305	A350/A2450	A350	A350	A350	A350
A307	A351/A2451	A351	A351	A351	A351
A309	A352/A2452	A352	A352	A352	A352
A311	A353/A2453	A353	A353	A353	A353
A313	A354/A2454	A354	A354	A354	A354
A315	A355/A2455	A355	A355	A355	A355
A317	A356/A2456	A356	A356	A356	A356
A319	A357/A2457	A357	A357	A357	A357
A321	A358/A2458	A358	A358	A358	A358
A323	A359/A2459	A359	A359	A359	A359
A325	A360/A2460	A360	A360	A360	A360
A327	A361/A2461	A361	A361	A361	A361
A329	A362/A2462	A362	A362	A362	A362
A331	A363/A2463	A363	A363	A363	A363
A333	A364/A2464	A364	A364	A364	A364
A335	A365/A2465	A365	A365	A365	A365
A337	A366/A2466	A366	A366	A366	A366
A339	A367/A2467	A367	A367	A367	A367
A341	A368/A2468	A368	A368	A368	A368
A343	A369/A2469	A369	A369	A369	A369
A345	A370/A2470	A370	A370	A370	A370
A347	A371/A2471	A371	A371	A371	A371
A349	A372/A2472	A372	A372	A372	A372
A351	A373/A2473	A373	A373	A373	A373
A353	A374/A2474	A374	A374	A374	A374
A355	A375/A2475	A375	A375	A375	A375



Worksheet

Lambda Monoclonal Typing Tray Set, Class I, Lot #4



Catalogue#

LM144B

Name _____
☐ Patient ☐ Male
☐ Donor ☐ Female

Phenotype Assignment

Center/Institution _____

Sample I.D. _____ Race _____ Birthdate _____

Lymphocyte Source:

☐ PBL Fresh ☐ Spleen ☐ Other
☐ PBL Frozen ☐ Lymph Node

Disease _____ Relationship to patient _____ ABO/RH _____ Test Method _____ Room Temp _____ Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6F	6E	6D	6C	6B	6A
Reaction																																				
Specificity																																				

Serum I.D. _____

Tray Position	7A	7B	7C	7D	7E	7F	8F	8E	8D	8C	8B	8A	9A	9B	9C	9D	9E	9F	10F	10E	10D	10C	10B	10A	11A	11B	11C	11D	11E	11F	12F	12E	12D	12C	12B	12A	
Reaction																																					
Specificity																																					

Serum I.D. _____

HLA Broad Specificities and Their Splits		
A2	A20.1w A21.0w	A*0101 A*02
A9	A21.1w A24.1w A24.1w	B*0101 B*02 B*03 B*04 B*05 B*06 B*07 B*08 B*09 B*10 B*11 B*12 B*13 B*14 B*15 B*16 B*17 B*18 B*19 B*20 B*21 B*22 B*23 B*24 B*25 B*26 B*27 B*28 B*29 B*30 B*31 B*32 B*33 B*34 B*35 B*36 B*37 B*38 B*39 B*40 B*41 B*42 B*43 B*44 B*45 B*46 B*47 B*48 B*49 B*50 B*51 B*52 B*53 B*54 B*55 B*56 B*57 B*58 B*59 B*60 B*61 B*62 B*63 B*64 B*65 B*66 B*67 B*68 B*69 B*70 B*71 B*72 B*73 B*74 B*75 B*76 B*77 B*78 B*79 B*80 B*81 B*82 B*83 B*84 B*85 B*86 B*87 B*88 B*89 B*90 B*91 B*92 B*93 B*94 B*95 B*96 B*97 B*98 B*99 B*100

Bw4/Bw6 Associations		
Bw4	Bw6	
A23	B*27 B*5103	B*0101 B*02 B*03 B*04 B*05 B*06 B*07 B*08 B*09 B*10 B*11 B*12 B*13 B*14 B*15 B*16 B*17 B*18 B*19 B*20 B*21 B*22 B*23 B*24 B*25 B*26 B*27 B*28 B*29 B*30 B*31 B*32 B*33 B*34 B*35 B*36 B*37 B*38 B*39 B*40 B*41 B*42 B*43 B*44 B*45 B*46 B*47 B*48 B*49 B*50 B*51 B*52 B*53 B*54 B*55 B*56 B*57 B*58 B*59 B*60 B*61 B*62 B*63 B*64 B*65 B*66 B*67 B*68 B*69 B*70 B*71 B*72 B*73 B*74 B*75 B*76 B*77 B*78 B*79 B*80 B*81 B*82 B*83 B*84 B*85 B*86 B*87 B*88 B*89 B*90 B*91 B*92 B*93 B*94 B*95 B*96 B*97 B*98 B*99 B*100

Please refer to
product insert for
testing conditions.

Test Performed by _____ Date _____

Read by _____ Date _____

Reviewed by _____ Date _____

Worksheet
Terasaki HLA Class I Dry Tissue Typing Tray (72), Lot #5

Catalogue# AB72D

Name _____ ☐ Patient ☐ Male
☐ Donor ☐ Female

Phenotype Assignment

Center/Institution _____

Sample ID _____ Race _____ Birthdate _____

Lymphocyte Source

☐ PBL Fresh ☐ Spleen ☐ Other
☐ PBL Frozen ☐ Lymph Node

Complement Lot# _____ C' Exp. Date _____

Disease _____ Relationship to patient _____ ABO/RH _____ Test Method _____ Room Temp _____ Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6F	6E	6D	6C	6B	6A
Reaction																																				
Specificity																																				

Serum I.D. _____

Tray Position	7A	7B	7C	7D	7E	7F	8F	8E	8D	8C	8B	8A	9A	9B	9C	9D	9E	9F	10F	10E	10D	10C	10B	10A	11A	11B	11C	11D	11E	11F	12F	12E	12D	12C	12B	12A	
Reaction																																					
Specificity																																					

Serum I.D. _____

HLA Broad Specificities and Their Splits		
A1	A2/A3	A23/A1
A2	A24/A25	A26/A27
A3	A31/A32	A33/A34
A4	A41/A42	A43/A44
A5	A51/A52	A53/A54
A6	A61/A62	A63/A64
A7	A71/A72	A73/A74
A8	A81/A82	A83/A84
A9	A91/A92	A93/A94
A10	A101/A102	A103/A104
A11	A111/A112	A113/A114
A12	A121/A122	A123/A124
A13	A131/A132	A133/A134
A14	A141/A142	A143/A144
A15	A151/A152	A153/A154
A16	A161/A162	A163/A164
A17	A171/A172	A173/A174
A18	A181/A182	A183/A184
A19	A191/A192	A193/A194
A20	A201/A202	A203/A204
A21	A211/A212	A213/A214
A22	A221/A222	A223/A224
A23	A231/A232	A233/A234
A24	A241/A242	A243/A244
A25	A251/A252	A253/A254
A26	A261/A262	A263/A264
A27	A271/A272	A273/A274
A28	A281/A282	A283/A284
A29	A291/A292	A293/A294
A30	A301/A302	A303/A304
A31	A311/A312	A313/A314
A32	A321/A322	A323/A324
A33	A331/A332	A333/A334
A34	A341/A342	A343/A344
A35	A351/A352	A353/A354
A36	A361/A362	A363/A364
A37	A371/A372	A373/A374
A38	A381/A382	A383/A384
A39	A391/A392	A393/A394
A40	A401/A402	A403/A404
A41	A411/A412	A413/A414
A42	A421/A422	A423/A424
A43	A431/A432	A433/A434
A44	A441/A442	A443/A444
A45	A451/A452	A453/A454
A46	A461/A462	A463/A464
A47	A471/A472	A473/A474
A48	A481/A482	A483/A484
A49	A491/A492	A493/A494
A50	A501/A502	A503/A504
A51	A511/A512	A513/A514
A52	A521/A522	A523/A524
A53	A531/A532	A533/A534
A54	A541/A542	A543/A544
A55	A551/A552	A553/A554
A56	A561/A562	A563/A564
A57	A571/A572	A573/A574
A58	A581/A582	A583/A584
A59	A591/A592	A593/A594
A60	A601/A602	A603/A604
A61	A611/A612	A613/A614
A62	A621/A622	A623/A624
A63	A631/A632	A633/A634
A64	A641/A642	A643/A644
A65	A651/A652	A653/A654
A66	A661/A662	A663/A664
A67	A671/A672	A673/A674
A68	A681/A682	A683/A684
A69	A691/A692	A693/A694
A70	A701/A702	A703/A704
A71	A711/A712	A713/A714
A72	A721/A722	A723/A724
A73	A731/A732	A733/A734
A74	A741/A742	A743/A744
A75	A751/A752	A753/A754
A76	A761/A762	A763/A764
A77	A771/A772	A773/A774
A78	A781/A782	A783/A784
A79	A791/A792	A793/A794
A80	A801/A802	A803/A804
A81	A811/A812	A813/A814
A82	A821/A822	A823/A824
A83	A831/A832	A833/A834
A84	A841/A842	A843/A844
A85	A851/A852	A853/A854
A86	A861/A862	A863/A864
A87	A871/A872	A873/A874
A88	A881/A882	A883/A884
A89	A891/A892	A893/A894
A90	A901/A902	A903/A904
A91	A911/A912	A913/A914
A92	A921/A922	A923/A924
A93	A931/A932	A933/A934
A94	A941/A942	A943/A944
A95	A951/A952	A953/A954
A96	A961/A962	A963/A964
A97	A971/A972	A973/A974
A98	A981/A982	A983/A984
A99	A991/A992	A993/A994
A100	A1001/A1002	A1003/A1004

Bw4/Bw6 Associations		
Bw4	Bw6	Bw6
A23	B*7	B*13
A24	B*7	B*13
A25	B*7	B*13
A26	B*7	B*13
A27	B*7	B*13
A28	B*7	B*13
A29	B*7	B*13
A30	B*7	B*13
A31	B*7	B*13
A32	B*7	B*13
A33	B*7	B*13
A34	B*7	B*13
A35	B*7	B*13
A36	B*7	B*13
A37	B*7	B*13
A38	B*7	B*13
A39	B*7	B*13
A40	B*7	B*13
A41	B*7	B*13
A42	B*7	B*13
A43	B*7	B*13
A44	B*7	B*13
A45	B*7	B*13
A46	B*7	B*13
A47	B*7	B*13
A48	B*7	B*13
A49	B*7	B*13
A50	B*7	B*13
A51	B*7	B*13
A52	B*7	B*13
A53	B*7	B*13
A54	B*7	B*13
A55	B*7	B*13
A56	B*7	B*13
A57	B*7	B*13
A58	B*7	B*13
A59	B*7	B*13
A60	B*7	B*13
A61	B*7	B*13
A62	B*7	B*13
A63	B*7	B*13
A64	B*7	B*13
A65	B*7	B*13
A66	B*7	B*13
A67	B*7	B*13
A68	B*7	B*13
A69	B*7	B*13
A70	B*7	B*13
A71	B*7	B*13
A72	B*7	B*13
A73	B*7	B*13
A74	B*7	B*13
A75	B*7	B*13
A76	B*7	B*13
A77	B*7	B*13
A78	B*7	B*13
A79	B*7	B*13
A80	B*7	B*13
A81	B*7	B*13
A82	B*7	B*13
A83	B*7	B*13
A84	B*7	B*13
A85	B*7	B*13
A86	B*7	B*13
A87	B*7	B*13
A88	B*7	B*13
A89	B*7	B*13
A90	B*7	B*13
A91	B*7	B*13
A92	B*7	B*13
A93	B*7	B*13
A94	B*7	B*13
A95	B*7	B*13
A96	B*7	B*13
A97	B*7	B*13
A98	B*7	B*13
A99	B*7	B*13
A100	B*7	B*13

Please refer to product insert for testing conditions.

Test Performed by _____ Date _____

Read by _____ Date _____

Reviewed by _____ Date _____

WORKSHEET

Terasaki HLA Class II Dry Tissue Typing Tray (72), Lot # 5

Catalogue# DR72D

Name _____
☐ Patient ☐ Male
☐ Donor ☐ Female

PHENOTYPE ASSIGNMENT

Center/Institution _____

Sample I.D. _____ Race _____ Birthdate _____

Lymphocyte Source:

☐ PBL Fresh ☐ Spleen ☐ Other
☐ PBL Frozen ☐ Lymph Node

Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

Disease _____ Relationship to patient _____ ABO/RH _____ Test Method _____ Room Temp _____

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6F	6E	6D	6C	6B	6A
REACTION																																				
SPECIFICITY					DR 1 10 103	DR 1 10 103	DR 1 103 404 405 1402 1406	DR 103 15 16	DR 15 16	DR 15 16	DR 15 16	DR 3	DR 3	DR 3	DR 18	DR 18	DR 4	DR 4	DR 1 4 4 9 10 140	DR 1 4 4 9 10 140	DR 7	DR 7	DR 7	DR 9	DR 9	DR 9	DR 10	DR 10	DR 11	DR 11	DR 11	DR 8	DR 8	DR 8 12 1404	DR 8 12 1404	
Serum I.D.	AS	ABS	ALS	ATS	ALEX	ARON	ANDRE	AUBERT	BRAH	BRETT	BRADON	BUTCH	CLIFF	COVAC	CURTIS	CHP	CLAY	DOCT	DOH	DOAN	DOANE	EDNA	EUGENE	EVIL	DOUS	GERALD	SURROCK	HARRY	HOWER	JOE	JUSTIN	JUSTIN	KP	KEITH	KEVIN	KYLE

Tray Position	7A	7B	7C	7D	7E	7F	8F	8E	8D	8C	8B	8A	9A	9E	9C	9D	9E	9F	10F	10E	10D	10C	10B	10A	11A	11B	11C	11D	11E	11F	12F	12E	12D	12C	12B	12A	
REACTION																																					
SPECIFICITY	DR 8 11 +101 +104	DR 12	DR 12	DR 13B	DR 13A 402 +103 +102	DR 13A 402 +103 +102	DR 302 103	DR 1302 103	DR 13B 14E	DR 14E 9 +/- 11	DR 14G	DR 14C	DR 3 13 14 +/- 11	DR 3 13 14B +/- 11	DR 51	DR 51	DR 52	DR 52	DR 53 7	DR 53 7	DR 53 14A	DQ 1	DQ 1	DQ 6 +/- 502 +/- 503	DQ 6 +/- 502 +/- 503	DQ 2	DQ 2	DQ 2	DQ 3	DQ 3	DQ 7	DQ 7	DQ 8 9	DQ 4	DQ 4	DQ 4	
Serum I.D.	ALBERT	KEVIN	KERRY	LOGAN	LUDWIG	LANCE	LESTER	LEA	LARRY	LLOYD	LENNY	LOUIE	LOTHAR	LYNN	BRAD	BOB	MONTY	MARY	NOLAN	NEAL	NATE	ORSON	OSCAR	TED	TONY	PERCY	PRESTON	PATRICK	RON	RYAN	ROCK	REGGIE	ROY	SCOTT	SAL	SENEY	

PREDICTED DR 13 AND 14 EPITOPES

1A 101, 102, 103
1B 101, 102
1C 101, 102, 105
1D 101, 102, 105, 107, 109, 110, 111
1E 101, 102, 109, 110
1F 101, 102, 109
1G 101, 102, 109, 110, 111
1H 101, 102, 109, 110, 111
1I 101, 102, 109, 110, 111
1J 101, 102, 109, 110, 111

COMMON DR/DQ ASSOCIATIONS

DQ2 DR7, DR9, DR17
DQ4 DR3, DR8, DR14
DQ5, DQ11 DR1, DR10, DR14, DR6, DR103
DQ6, DQ11 DR1, DR15
DQ7, DQ11 DR4, DR11, DR12
DQ8, DQ9 DR4, DR8
DQ9, DQ11 DR7, DR9
DQ11 DR15, DR16, DR17
DQ12 DR1, DR11, DR12, DR13, DR14, DR1401, DR1404
DQ13 DR1, DR7, DR9
* Rarely observed haplotypes

RECONSTITUTION INSTRUCTIONS

1. Add 1 µl of B-lymphocytes (approximately 2.00x10⁶ cells) to each well.

NEW 1-HOUR TESTING CONDITIONS

1. Add 1 µl of B-lymphocytes (approximately 2.00x10⁶ cells) to each well.
2. Immediately add 1 µl of reconstitution reagent to each well.
3. Incubate for one hour at 22 ± 25°C.
4. Add 5 µl of reagent.
5. Wait ten minutes, then add 5 µl of formula.
- * FADMB or 10 µl of Blank Formula may be substituted.

Test Performed by _____ Date _____

Read by _____ Date _____

Reviewed by _____ Date _____

Annexe 11: Ateliers internationaux d'histocompatibilité (Workshops)

- 1964, 1er WS, Washington DC, P Russell, et Durham (GB), DB Amos ; Russell, Winn, Amos, eds (1965). Comparaison des techniques et des spécificités reconnues par les allo-sérums sélectionnés par les participants.
- 1965, second WS, Leiden (Netherlands), J van Rood ; Balner, Cleton, Eernisse, eds. Identification par plusieurs laboratoires, avec leurs propres sérums et techniques, du groupe MAC (HLA-A2+A28). Généralisation de la technique de lymphocytotoxicité dépendante du complément. Description de plusieurs spécificités pouvant être contrôlées par un seul système génétique.
- 1967, 3e WS, Turin (Italie), R Ceppellini ; Curtoni, Mattiuz, Tosi, eds. Description de nouvelles spécificités, études familiales confirmant l'existence d'un seul système génétique. Essai de corrélation des résultats des greffes de rein et de la compatibilité HLA.
- 1970, 4e WS, Los Angeles (Etats-Unis), PI Terasaki ; Terasaki, ed. Echange de 116 sérums, utilisés localement, analyse centrale. 27 spécificités HLA reconnues. Loci HLA-A, B et C.
- 1972, 5e WS, Evian (France), J Dausset ; Dausset, Colombani, eds. Typage de 49 ethnies dans le monde avec 118 sérums.
- 1975, 6e WS, Aarhus (Danemark), F Kissmeyer-Nielsen ; Kissmeyer-Nielsen, ed. 51 spécificités HLA reconnues. Existence de spécificités présentes seulement sur les lymphocytes B, responsables de la MLR. Description d'une série HLA-Dw.
- 1977, 7e WS, Oxford (Grande-Bretagne), W Bodmer ; W Bodmer, Batchelor, J Bodmer, Festenstein, Morris, eds. Définition de HLA-DR1 à 7.
- 1980, 8e WS, Los Angeles (CA), PI Terasaki ; Terasaki, ed. Définition de nouvelles spécificités HLA classe II, MB (DQ) et MT (DR52, 53). HLA et transplantation, HLA et maladies.
- 1984, 9e WS, Munich (RFA) et Vienne (Autriche), E Albert, W Mayr ; Albert, Baur, Mayr, eds. Définition de nouvelles spécificités HLA-A, B, C, DR, DQ, DP. Corrélation entre histocompatibilité (surtout classe II) et résultats des greffes de rein. Etude des gènes HLA par biologie moléculaire.
- 1987, 10e WS, New York (Etats-Unis), B Dupont ; Dupont, ed. Comparaison des spécificités HLA définies par les méthodes immunologiques (sérologique et cellulaire) au polymorphisme des gènes étudié par la biologie moléculaire.
- 1991, 11e WS, Yokohama (Japon), K Tsuji, M Aizawa, T Sasazuki ; Tsuji, Aizawa, Sasazuki, eds. Typage de nombreuses ethnies dans le monde par sérologie et biologie moléculaire : oligonucléotides spécifiques des allèles de classe II.
- 1996, 12e WS, France, D. Charron, ed. Diversité génétique de la région HLA. Importance en transplantation et en médecine prédictive. Etablissement de bases de données.

- 2002, 13e WS, Seattle, J Hansen, ed. Typage DNA, transplantation de moelle osseuse avec des donneurs non apparentés. Bases de données de séquences et de fréquences.

MOKDAD Amina

a.mokdad08@gmail.com

TAAZOUNT Nour el imane

nourtaazount710@gmail.com

Résumé

Le système HLA est un complexe immunogénétique de plus de 200 gènes, qui régit les lois de l'histocompatibilité et qui est impliqué dans la présentation des peptides antigéniques aux lymphocytes T.

Ce système a plusieurs caractéristiques dont un polymorphisme extrême. Ce dernier peut être exploré par techniques sérologiques et de biologie moléculaires ce qui permet de définir un typage HLA propre à un individu issu d'une population donnée qui pourra elle aussi être caractérisée par une série de spécificités HLA.

Notre travail est une série de cas rétro-prospective qui s'est intéressé à l'étude des spécificités HLA chez 898 sujets Algériens recrutés à l'unité d'immunologie de l'UHU-HBB du CHU Blida entre 2006 et 2017.

Nos résultats montrent que les allèles les plus fréquents sont : HLA-A*02(21,20%), A*01(11,08%), A*03(9,49%) et HLA-B*44(9,78%), B*50(9,46%), B*51(8,20%) et HLA-C*07(25,23%), C*06(13,76%), C*04(9,17%) et HLA-DRB1*04(19,56%), DRB1*03(14,60%), DRB1*13(12,95%) et HLA-DQB1*03(32,57%), DQB1*02 (22,86%), DQB1*06(22,29%).

Pour les haplotypes les plus fréquents nous avons : A*02/B*50 (4,17%), A*34/B*08 (2,08%) et A*02/C*07 (5,66%), A*29/C*06 (4,72%) et B*07/C*07 (8,62%), B*44/C*05 (6,03%) et B*14/DRB1*01(4,17%), B*51/DRB1*15 (4,17%) et DRB1*15/DQB1*06 (15,87%), DRB1*03/DQB1*02 (13,94%).

Notre travail a permis de définir les spécificités HLA les plus fréquentes en Algérie et de les comparer avec celles retrouvées dans d'autres séries Algériennes et Maghrébines.

Mots clés : Polymorphisme, HLA, Algérie, Allèles, Haplotypes.

Abstract

The HLA system is an immunogenetic complex of more than 200 genes, which regulates the laws of histocompatibility and is involved in the presentation of antigenic peptides to T lymphocytes.

This system has several characteristics, including extreme polymorphism. The latter can be explored by serological and molecular biology techniques, which makes it possible to define an HLA typing specific to an individual coming from a given population which can also be characterized by a series of HLA specificities.

Our work is a retro-prospective case series that investigated HLA specificities in 898 Algerian subjects recruited from the UHU-HBB immunology unit at Blida CHU between 2006 and 2017.

Our results show that the most frequent alleles are : HLA-A*02(21,20%), A*01(11,08%), A*03(9,49%) and HLA-B*44(9,78%), B*50(9,46%), B*51(8,20%) and HLA-C*07(25,23%), C*06(13,76%), C*04(9,17%) and HLA-DRB1*04(19,56%), DRB1*03(14,60%), DRB1*13(12,95%) and HLA-DQB1*03(32,57%), DQB1*02 (22,86%), DQB1*06(22,29%).

For the most frequent haplotypes we have: A*02/B*50 (4,17%), A*34/B*08 (2,08%) and A*02/C*07 (5,66%), A*29/C*06 (4,72%) and B*07/C*07 (8,62%), B*44/C*05 (6,03%) and B*14/DRB1*01(4,17%), B*51/DRB1*15 (4,17%) and DRB1*15/DQB1*06 (15,87%), DRB1*03/DQB1*02 (13,94%).

Our work allowed us to define the most common HLA specificities in Algeria and to compare them with those found in other Algerian and Maghrebian series.

Key words: Polymorphism, HLA, Algeria, Alleles, Haplotypes.

