

**UNIVERSITE BLIDA 1**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et physiologie cellulaire**



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

**En vue de l'obtention du diplôme de MASTER**

**En Science de la Nature et la Vie**

**Filière :Biologie**

**Option :Génétique - physiologie**

**Dont le thème :**

**Implication des gènes HLA classe II dans la susceptibilité à la  
maladie cœliaque**

**Présenté par : Nesrine Bougrab**

**Soutenu le 23 /10/2014    Devant le jury :**

<b>Mme SAADI. L</b>	<b>Maitre de conférences A, USDB</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mr BENYAHYA .N</b>	<b>Maitre-assistant A, USDB</b>	<b>Examineur</b>
<b>Mr SMARA .M</b>	<b>Maitre-assistant, HCA d'Ain Naadja</b>	<b>Promoteur</b>
<b>Mr MOHAMED SAID.R</b>	<b>Maitre-assistant A, USDB</b>	<b>Co-promoteur</b>

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah, Le Tout Puissant et Le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation de master.

C'est avec un grand honneur et un grand plaisir que je remercie mon promoteur, Monsieur **SMARA MABROUK**, Médecin spécialiste en immunologie pour m'avoir proposé ce sujet et pour m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail, pour son esprit scientifique, ses précieux conseils et ses encouragements.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères aux membres de jury la présidente Melle Saadi en premier lieu ensuite Mr Benyahia qui a accepté d'évaluer mon travail. Que le jury trouve ici ma reconnaissance et mon respect.

J'exprime mes vifs remerciements à mon Co-promoteur, mon enseignant durant mon cursus universitaire, Monsieur **MOHAMED SAID R.**, et qui est aussi le chef de l'option génétique et physiologie à l'université BLIDA1.

Mes remerciements les plus vifs vont également au chef du service d'immunologie de l'hôpital central de l'armée (HCA), le Professeur **S.CHAIB** d'avoir m'accueilli au sein de son service et pour ses précieux conseils que ma donnée, Ses recommandations et ses encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.

Je n'oublie pas d'exprimer mes sincères remerciements à tous les patients et leurs parents pour avoir accepté de collaborer pour la réalisation de ce travail.

Je tiens également à remercier toute l'équipe du laboratoire pour leur formidable esprit d'équipe et pour la richesse des enseignements et des échanges qu'ils m'ont apporté.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements les plus respectueuses vont aussi à toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de mon mémoire.

Je tiens à remercier tous mes enseignants pour la qualité de l'enseignement qu'ils ont bien voulu me prodiguer durant mes études afin de me donner une formation de qualité.

Enfin, je remercie du fond de mon cœur, mes chers parents qui m'ont tous donné, m'ont soutenu, encouragé et motivé tout au long de mes études. Pour arriver à ce niveau-là et réaliser ce mémoire, et aussi un grand merci pour toute ma famille.

## Liste des Tableaux

Tableau I : Prévalence de la maladie cœliaque chez la population générale.....	4
Tableau II : principales manifestations cliniques et para cliniques de la maladie cœliaque de l'adulte (Malamut et al, 2010).....	5
Tableau III : les signes cliniques et para cliniques de la maladie cœliaque chez l'enfant (Mouterde et al ,2013).....	6
Tableau IV: les troubles associées à la maladie cœliaque (Spomenka et al 2007).....	7
Tableau V : sensibilité et spécificité des marqueurs sérologiques de MC (Hill ID, 2008).....	9
Tableau VI : Classification utilisée pour grader les lésions de la maladie cœliaque ou d'atrophie villositaire. (Verkarre et al, 2013) / (Oberhuber et al, 1999).....	10
Tableau VII: Programme d'amplification PCR-SSO Luminex ampli.....	33
Tableau VIII : Programme d'hybridation PCR-SSO Luminex hybri .....	34
Tableau IX : récapitulatif des différents signes cliniques chez les patients nouvellement diagnostiqués groupe 1 .....	51
Tableau X : récapitulatif des différents signes cliniques chez les anciens patients diagnostiqués groupe 2.....	52

## Liste des Figures

Figure 1 : Muqueuse duodénale normale à gauche, et Muqueuse duodénale dans la maladie cœliaque à droite. (Green et al, 2007).....	10
Figure 2 : les différents types de lésions. (Marsh, 1992).....	10
Figure 3 : localisation du complexe HAL au sein du chromosome 6.Lukaet al, 2003)	12
Figure 4 :La liste des principales spécificités sérologiques (Semana et al, 2002).....	14
Figure 5: Nomenclature génotypique des molécules HLA classe I et II (Chatenoud et al, 2012).....	14
Figure 6 : organisation des gènes de différentes classes de système HLA. (Moalic, 2008)....	15
Figure 7: structure biochimique et tridimensionnelle de la molécule HLA classe I (Bignon, 2000 ; EL Reinhert ,1999).....	16
Figure 8 : structure biochimique et tridimensionnelle de la molécule HLA classe II (Bignon, 2000 ; EL Reinhert ,1999).....	17
Figure 9 : Haplotype associé aux hétérodimères HLA-DQ2, HLA DQ8 .( Heap et al,2009)	18
Figure 10: la localisation du gène CTLA4 (2q33) au sein de chromosome 2 (Dessen et al ,2002).....	19
Figure 11 : l'ancrage de peptide du gluten dans la poche à peptides des molécules HLA DQ2, HLADQ8 (Abadie et al, 2011).....	21
Figure 12 : mécanisme physiopathologique de la maladie coeliaque (Di Sabatino et al ,2012)..	22
Figure 13 : image représente les composants de KIT.....	25
Figure 14 : image montre la fine membrane dans la colonne de kit....	25
Figure 15 : image représente les étapes d'utilisation de Kit....	26
Figure 16 : image de protocole générale.....	26
Figure 17 : les trois niveaux de lavage dans le système.....	27
Figure 18 : image montre la deuxième position .....	27
Figure 19 : images représente le Spectrophotomètre NanoDrope (ND2000c), l'application du dosage et enfin la courbe de concentration de l'ADN génomique.....	29
Image 20 : montre de quoi se compose le système Luminex™.....	31
Image 21: représente le principe et les étapes lors de typage HLA II par Luminex™ .....	32
Image 22 : représente le termocycleur et son programme utilisé pour l'amplification .....	34

Image23: représente logiciel d'acquisition des données qui va permettre de suivre les microsphères (D'après Luminex100).....	35
Figure 24 : Logiciel d'interprétation des résultats typage HLA B1*DR-DQ par PCR-SSO (D'après Luminex 100).....	36
Figure 25: Prévalence de MC en fonction du sexe des patients (n=34).....	37
Figure26: Prévalence de MC en fonction de l'âge des patients.....	38
Figure 27: comparaison entre la fréquence des allèles HLADR B1 des patients MC et des témoins (2n).....	40
Figure 28 : comparaison des fréquences des allèles HLA-DQB1chez les patients et les témoins.....	41
Figure 29: la fréquence alléliques HLA DR B1 des patients à 2n =68.....	42
Figure 30 : la fréquence alléliques HLA DQ B1 des patients à 2n =68.....	43
Figure 31 : la comparaison entre la fréquence phénotypique des allèles HLA-DR B1 chez les patients et les témoins (n).....	44
Figure 32 : la comparaison entre la fréquence phénotypique des allèles HLAB1*DQ chez les patients et les témoins (n).....	45
Figure 33 : comparaison entre les fréquences allélique HLAB1*DQ chez les patients.....	46
Figure 34: comparaison entre les fréquences allélique HLAB1*DR chez les patients.....	47
Figure 35: la comparaison de Fréquence de l'homozygotie et de l'hétérozygotie des allèles HLADQB1 chez les patients et les témoins.....	48
Figure 36 : Fréquence des haplotypes HLADRB1-DQB1 chez les malades et les témoins...50	
Figure 37: fréquence d'apparition des autos anticorps anti TtG des patients de groupe 1 en fonction des allèles HLADQB1.....	53
Figure 38 : fréquence d'apparition des autos anticorps anti TtG des patients de groupe 2 en fonction des allèles HLADQB1.....	54
Figure 39 : fréquence de diagnostic histologiques chez les patients de groupe 1.....	55
Figure40 : fréquence de diagnostic histologiques chez les patients de groupe 2.....	55
Figure 41: la fréquence d'apparition de l'anémie chez les patients de groupe1(patients nouvellement diagnostiqués n=21) en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	56
Figure 42 : la fréquence d'apparition de l'anémie chez les patients de groupe 2 (les anciens patients n=13) en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	57
Figure 43 : la fréquence d'apparition des douleurs abdominales chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	58

Figure 44 : la fréquence d'apparition des douleurs abdominales chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	58
Figure 45: la fréquence d'apparition de l'anémie chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	59
Figure 46 : la fréquence d'apparition de l'anémie chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	59
Figure 47 : la fréquence d'apparition du retard staturo-pondéral chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	60
Figure 48 : la fréquence d'apparition du retard staturo-pondéral chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	61
Figure 49 : la fréquence d'apparition du Diabète de type1 chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	62
Figure 50: la fréquence d'apparition du Diabète de type1 chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	62
Figure 51: la fréquence d'apparition de la thyroïde auto-immune chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	63
Figure 52: la fréquence d'apparition de la thyroïde auto-immune chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.....	64
Figure 53 : la fréquence de RSG chez les patients du groupe 1 en fonction des allèles HLA-DQB1.....	65
Figure 54: la fréquence de RSG chez les patients du groupe 2 en fonction des allèles HLA-DQB1.....	65

## ملخص

مرض السيلياك هو اعتلال الأمعاء شائع بشكل متزايد في العالم. هو مرض المناعة الذاتية المزمنة التي يسببها تناول البروتينات التي تحتوي على الغلوتين في القمح، الجاودار، الشعير والشوفان. مرض السيلياك ناتج عن استجابة مناعية غير مناسبة عند الأفراد المهيوون جينيا. كلاسيكي، يتميز بتدهور الزغابات المعوية الذي يصل إلى ضمور كلي، إلى سوء الامتصاص أو إلى مظاهر سريرية أخرى. نظام غذائي خال من الغلوتين هو العلاج الوحيد المتاح للتغلب على المضاعفات. هذا النظام الغذائي مقيد جدا للمريض لأنه يتطلب حضور كامل كل يوم.

في هذا العمل ميزنا تعدد الأشكال ALH لمجموع 34 مريضا RCP-OSS (البلمرة سلسلة من ردود الفعل، قليل النوكليوتيد)

لتحديد الترددات، والنمط الجيني والنمط الفردي من الدرجة HLA II, HLA-DRB1, HLA-BQD1, ALH.

نتائج تؤكد تورط جزيئات التوافق النسيجي الرئيسي من الدرجة الثانية معقدة DR HLA، DQ في القابلية للمرض الاضطرابات الهضمية وارتباطه بأمراض المناعة الذاتية الأخرى مثل مرض السكري نوع 1، لكن المرض يتطور في أقلية من الأفراد إلى HLA-DQ2 و HLA-DQ8.

وجدنا في عينة لدينا تردد 88.24% للمرضى السيلياك تحمل HLA-DQ8 / ou HLA-DQ2et، 25% HLA-DR3 (DR17) مقابل 17.5% في الضوابط، 20.50% HLA-DR4 المرضى في مقابل 15% في الضوابط، وجدنا أن تباير الزيجات هي الأكثر شيوعا (12/34) مع تردد يعادل 35.29% مقابل 15% (6/40) في السيطرة و لاحظنا أن وتيرة النمط الفردي العالي في مرضانا يساوي 38.24% (13/34) الذين يحملون HLA-hplotype DR17DQ2 ضد (10/40) إلى 14% في الضوابط.

الكلمات الرئيسية

مرض السيلياك، الغلوتين، الغلوتين، HLA DQB1، HLA DRB1، HLADQ2، HLA DQ8، PCR-SSO.

## Résumé

La maladie cœliaque est une entéropathie intestinale de plus en plus fréquente dans le monde .c'est une maladie auto-immune chronique induite par l'ingestion de gluten contenant dans les protéines de blé, du seigle, de l'orge et l'avoine. Elle est provoquée par une réponse immunitaire inappropriée déclenchée chez les individus génétiquement prédisposé. Classiquement, elle se manifeste par une dégradation des villosités intestinales pouvant aller jusqu'à l'atrophie totale, une malabsorption et d'autre manifestations cliniques. Le régime sans gluten (RSG) est le seul traitement disponible pour pallier aux complications.il est contraignant au patient une parfaite assiduité au quotidien.

Dans ce travail nous avons caractérisé le polymorphisme de système HLA pour 34 patients, par PCR-SSO (Polymérase Chain Reaction-Sequence-Specific Oligonucleotide) afin de déterminé les fréquences phénotypiques, génotypique et haplotypiques des gènes HLA classe II : HLA- DRB1, HLA- DQB1.

Les résultats confirment l'implication des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité HLA classe II DR, DQ dans la susceptibilité à la maladie cœliaque et à son association aux autres maladies auto-immunes telle que le diabète type 1 , cependant la maladie ne se développe que chez une minorité des individus de type HLA-DQ2, et HLA-DQ8.

Nous avons trouvé dans notre échantillon la fréquence de 88,24% pour les patients MC portants le gène HLA-DQ2et /ouHLA-DQ8, et 25% pour HLA-DR3(DR17) contre 17,5% chez les témoins, 20,50% pour l'HLA-DR4 chez patients contre 15% chez les témoins, nous avons remarqué que les hétérozygoties sont les plus fréquents (12/34) avec une fréquence égale à 35,29% contre 15% (6/40) chez les témoins et nous avons remarqué que la fréquence haplotypique la plus élevé chez nos patients est égale à 38,24% (13/34) portant l'haplotype HLA-DR17DQ2 contre 14% (10/40)chez les témoins.

Mots clés : Maladie cœliaque, gluten, régime sans gluten, le système HLA, HLA-DQB1, HLA-DRB1, HLA-DQ2, HLA-DQ8, PCR –SSO.



## Summary

Celiac disease is an intestinal enteropathy increasingly common in the world. It is a chronic autoimmune disease caused by the ingestion of gluten-containing proteins in wheat, rye, barley and oats. It is caused by an inappropriate immune response triggered in genetically predisposed individuals. Classically, it is characterized by a deterioration of the intestinal villi up to the total atrophy, malabsorption and other clinical manifestations. The gluten-free diet (GFD) is the only treatment available to overcome the complications. This diet is very restrictive to the patient because it requires perfect attendance every day.

In this work we characterized the polymorphism of HLA for 34 patients, PCR-SSO (Polymerase Chain Reaction-Sequence-Specific Oligonucleotide) to determine the phenotypic frequencies, genotype and haplotype of HLA class II HLA-DRB1, HLA-DQB1.

The results confirm the involvement of molecules of the major histocompatibility complex class II HLA DR, DQ in susceptibility to celiac disease and its association with other autoimmune diseases such as type 1 diabetes. However, the disease develops in a minority of individuals to HLA-DQ2 and HLA-DQ8.

We found in our sample frequency 88.24% for CD patients carry the HLA-DQ2et / ouHLA-DQ8, 25% for HLA-DR3 (DR17) against 17.5% in controls, 20.50% for HLA-DR4 in patients against 15% in controls, we found that heterozygosity are the most common (12/34) with a frequency equal to 35.29% against 15% (6/40) in the control and we noticed that the haplotype frequency higher in our patients is equal to 38.24% (13/34) who carry the HLA-DR17 DQ2 hplotype against (10/40) to 14% in controls.

Key Words: celiac disease, gluten, gluten-HLA, HLA DQB1, HLADRB1, HLADQ2, HLA DQ8, PCR-SSO.

## Glossaire

La maladie d'Addison :

L'insuffisance surrénale primaire (ou maladie d'Addison dans sa forme chronique) est une affection auto-immune rare qui a de nombreux points communs avec d'autres maladies auto-immunes, notamment endocrinienne, auxquelles est d'ailleurs très associée comme dans la maladie cœliaque l'existence d'une susceptibilité associée à certains antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité. (Gorochov et al 2000).

Maladie de Crohn :

Est une **maladie inflammatoire chronique** du système digestif, qui évolue par poussées (ou crises) et phases de rémission. Elle se caractérise principalement par des crises de **douleurs abdominales** et de **diarrhée**, qui peuvent durer plusieurs semaines ou plusieurs mois. Fatigue, perte de poids et même dénutrition peuvent survenir si aucun traitement n'est entrepris. Dans certains cas, des **symptômes non digestifs**, qui touchent la peau, les articulations ou les yeux peuvent être associés à la maladie.

En cas de **maladie de Crohn**, l'inflammation peut toucher n'importe quelle partie du tube digestif, de la bouche à l'anus. Mais le plus souvent, elle s'installe à la jonction de l'**intestin grêle** et du **côlon** (gros intestin) (Defranco et al, 2009).

La dermatite Herpétiforme :

Est une affection cutanée due à une intolérance au gluten. La biopsie cutanée permet de mettre en évidence des dépôts microgranulaires d'IgA dans le derme papillaire. La maladie cœliaque associée reste souvent muette mais les marqueurs sérologiques sont présents (Bernard et al, 2003).

Gène :

Un gène est défini comme un enchaînement de désoxyribonucléotides (dit aussi séquence), c'est-à-dire comme une portion de l'**ADN**, qui peut être transcrite en acide ribonucléique (**ARN**). S'il est ensuite traduit en protéine, la séquence est dite « **codante** ». La plupart du temps, un gène commence par une séquence de nucléotides appelée **promoteur**, dont le rôle est de permettre l'initiation mais surtout la régulation (tous les gènes ne sont pas exprimés dans toutes les cellules) de la transcription de

l'ADN en ARN, et se termine par une séquence terminatrice appelée **termineur**, qui marque la fin de la transcription. La molécule d'ARN ainsi produite peut soit être traduite en protéine (elle est dans ce cas appelée **ARN messenger**), soit être directement fonctionnelle (c'est le cas pour les ARN ribosomiques ou les ARN de transfert). Il y a environ **13 000** gènes dans l'ADN des cellules d'une **drosophile**, et environ **21 000** gènes chez **l'Homme** (Clamp 2007).

Génotype :

Le génotype est l'ensemble des caractéristiques génétiques d'un individu. Les gènes d'un être vivant se retrouvent normalement chez tous les membres de son espèce. Toutefois, il existe plusieurs versions de chaque gène. On appelle ces versions différentes d'un même gène des allèles. Cela donne des possibilités de combinaison différentes entre les gènes extrêmement élevées. Chaque génotype est ainsi habituellement unique, sauf cas exceptionnels comme la gémellité monozygote (« vrais jumeaux »). On désigne ainsi souvent familièrement le génotype comme la « carte d'identité génétique » d'un organisme (Clamp 2007).

Haplotype :

Un haplotype est un ensemble de gènes situés côte à côte sur un chromosome. Ils sont généralement transmis ensemble, et proviennent soit du père, soit de la mère (Nguyen et al ,2008).

L'hémochromatose :

L'hémochromatose liée au gène HFE (hémochromatose HFE) ou hémochromatose de type 1, est une maladie génétique à transmission autosomique récessive caractérisée par une surcharge en fer progressive de l'organisme se manifestant habituellement chez l'adulte. Le gène HFE, localisé sur le bras court du chromosome 6 (6p21.3), code une protéine qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme du fer en modulant la production d'hépcidine par le foie. La mutation p.Cys282Tyr est responsable d'une diminution de la synthèse hépatique d'hépcidine à l'origine de la surcharge en fer par un double mécanisme : augmentation de l'absorption duodénale du fer et augmentation de la libération du fer macrophagique dans le courant sanguin. La surcharge en fer primaire, induite par cette mutation du gène HFE, est appelée hémochromatose HFE ou hémochromatose de type 1 (Jouanolle et al, 2012).

Locus : c'est l'emplacement d'un gène sur un chromosome .les loci connus sont les loci A ; B, C et D .....et ils logent des gènes dont certain nombre a été identifié (Nguyen et al ,2008).

Major Histocompatibility Complex Class I chain- Related A (MICA) :

La protéine MICA est formée de 3domaine extracellulaires  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ , d'une région transmembranaire et une région cytoplasmique, elle n'est pas associée à la  $\beta$  macroglobuline à la surface cellulaire contrairement à la molécule HLA classe I classique, mais présente une similarité dans la structure tridimensionnelle de HLA I classique. Cette molécule de localisation intra-cytoplasmique essentiellement exprimée par les cellules épithéliales intestinale lors de stress cellulaire, le gène MICA a un rôle essentiel dans la défense de l'organisme, la molécule MICA est reconnue par le récepteur activateur NK G2D à la surface de cellule NK (Natural Killer), (Palmowski et al, 2002).

NKG2D (Natural Killer Group 2D) :

C'est un récepteur activateur, homodimères exprimé principalement par les cellules NK mais aussi par les cellules NKT et certains types de  $LT \gamma\delta$ ,  $CD4+$ ,  $CD8+$ . Ses ligands MICA/B, son activation par les NK entraîne une activation cytotoxique (Palmowski et al, 2002).

L'Ostéoporose :

l'ostéoporose, définie par la diminution de la densité minérale osseuse, est plus fréquente chez les patients atteints de la maladie cœliaque par rapport aux non cœliaque, il existe également une augmentation du risque fracturaire . l'ostéoporose peut observer chez un patient cœliaque asymptomatique (Nion-Larmurier et al, 2009) .

Le polymorphisme HLA :

Un polymorphisme est une variation de séquence d'un gène dans une population. Un gène est considéré comme polymorphe s'il existe au moins deux allèles à une fréquence égale ou supérieure à 1% (Buhler,2007).

Phénotype :

Ensemble des caractéristiques d'un individu résultant de l'expression de ses gènes et de leurs éventuelles interactions avec l'environnement (Scheiner SM. 1993).

## Lexique des abréviations

AA : Acide Aminé	LDB : Lysis Dilution Buffer.
ADN : Acide Désoxyribose Nucléique.	LIE : Lymphocytes Intra Epithéiaux
Ad12 : Adénovirus de sérotype 12	IL15 : Interleukine 15
AGA : Anticorps Anti Gliadine	LT : Lymphocyte T
ARN : Acide Ribose Nucléique	LB : Lymphocyte B
AV : Atrophie Villositaire	LT CD4+ : Lymphocyte T CD4+
CD 17:Cluster of differentiation	MC : Maladie Cœliaque
CDB-02 : Elution Buffer Complex Class I Chain- Related A/B	MIC A/B : Major Histocompatibility
CE : Cellules Entérocytes	n =34 : nombre de patients égale à34
CMH : Complexe Majeur d’Histocompatibilité	OR : Odds Ratio
CPA : Cellules Présentatrices d’Antigènes	P1 : Position 1
C/V : le rapport entre Cryptes et Villosités	P4 : Position 4
CTLA-4 : cytotoxic T lymphocyte associated-4	P6 : Position 6
EDTA : Acide Ethylène Diamine Tetraacétique	P7 : Position 7
EMA : Anticorps Anti Endomisume Reaction-Sequence-Specific Oligonucleotide	PCR-SSO : Polymérase Chain
G1 : Groupe 1	NKG2D : Natural killer Group 2D
G2 : Groupe 2	PK : Protéase K
HLA : Human Leucocyte Antigen	RSG : Régime Sans Gluten
HLA-DQ: Human Leukocyte Antigen, DQ sub region	T=40 : Témoins égale à40
HLA-DR : Human Leucocyte Antigen-D related Antigen Processing	TAP : Transporter Associated with
HLA-DP : Human Leukocyte Antigen, DP sub region	Inv : chaine Invariante
HFE : Hémochromatose	TH: T Helper (auxiliaire)
HSP : Heat Shock Protein (Protéines de choc Thermique) Transglutaminase Tissulaire	<b>TtG</b> ; anticorps anti-
IL : Interleukine	WDB : Wash Dilution Buffer
INF $\gamma$ : Interféron $\gamma$	WTS : Waste Tube

## Sommaire

Introduction.....	1
<b>Chapitre I</b>	
<b>Données bibliographiques :</b>	
1-Historique.....	3
2-Définition de MC .....	3
3-Epidémiologie.....	4
4-La symptomatologie.....	5
4-1 Les différentes formes de l'intolérance au gluten chez les patients cœliaque des adultes et des enfants .....	6
4-2 les maladies associées.....	7
5-diagnostic de la maladie cœliaque.....	8
6-les facteurs déclenchant la maladie cœliaque .....	11
7-HLA classe II et maladie cœliaque.....	17
8- Physiopathologie de la maladie cœliaque .....	19
9- le traitement et son suivi .....	23
<b>Chapitre 2 :</b>	
<b>Matériel et méthodes</b>	
1-population étudiés.....	24
2-témoins .....	24
3-mode opératoire .....	24
3-1 Extraction d'ADN génomique (chromatographie sur colonne).....	26
4-Dosage d'ADN génomique.....	27
5-Principe de la PCR-SSO (Polymérase Chaîne Reaction-Sequence-Specific Oligonucleotide) .....	31
6- Etude statistique .....	36
<b>Chapitre 3 :</b>	
<b>Résultats et discussion</b>	
1-Identification de la population étudiée.....	37
2-Répartition de la MC en fonction du sexe des patients (n=34).....	37
3-Répartition de MC en fonction de l'âge des patients .....	38
<b>4- Etude génétique .....</b>	<b>39</b>

4-1 la comparaison entre la fréquence des allèles HLA-DRB1 des patients et des témoins.....	40
4-2 La comparaison entre la fréquence des allèles HLA-DQB1 des patients et des témoins.....	41
4-3 la comparaison des fréquences alléliques HLA-DRB1 chez les patients .....	42
4-4 la comparaison des fréquences alléliques HLA DQB1 chez les patients.....	43
4-5 la comparaison entre la fréquence phénotypique des allèles HLA-DR B1 chez les patients et les témoins .....	44
4-6 la comparaison entre la fréquence phénotypique des allèles HLA B1*DQ chez les patients et les témoins .....	45
4-7 la comparaison des fréquences alléliques de l'HLA-DQB1 chez les patients.....	46
4-8 la comparaison des fréquences alléliques de l'HLA-DR B1 chez les patients.....	47
4-9 la comparaison entre la fréquence de l'homozygotie et de l'hétérozygotie des allèles HLADQB1 chez les patients et les témoins .....	48
4-10 la comparaison entre la fréquence des haplotypes HLA-DRB1, HLA-DQB1 chez les patients et les témoins.....	50
<b>5- l'implication des allèles HLA-DQB1 dans l'apparition des manifestations cliniques de la maladie cœliaque .....</b>	<b>51</b>
5-1 Fréquences des autos anticorps anti transglutaminase tissulaire (T tG) sérique en fonction des allèles HLADQB1.....	53
5-2 la fréquence de diagnostic histologique en fonction des allèles HLADQB1.....	55
5-3 la fréquence des symptômes digestifs en fonction de l'expression des allèles HLADQB1.....	56
5-4 la fréquence des symptômes extra-digestifs en fonction de l'expression des allèles HLADQB1 .....	59
5-5 la fréquence d'association morbide à la maladie cœliaque en fonction de l'expression des allèles HLADQB1.....	61
5-6 la fréquence d'apparition du Régime sans gluten (RSG) en fonction des allèles HLA-DQB1.....	64
Conclusion .....	66
Références Bibliographiques .	
Annexes .	

## Introduction

---

La maladie cœliaque est une maladie auto-immune induite par le gluten chez des sujets génétiquement prédisposés. La prédisposition génétique est fréquente dans la population générale puisqu'environ 30% possède le génotype HLA DQ2 ou DQ8 et seulement 1% de ces individus présenteront une des formes de la maladie bien qu'ils sont tous exposés au gluten largement présent dans l'alimentation. Cela suggère que d'autres facteurs génétiques ou environnementaux interviennent dans le déclenchement du processus auto-immune (Lamireau et al, 2011).

Cette maladie a deux pics de fréquence avec classiquement une révélation dans l'enfance, le plus souvent entre six mois et deux ans, après l'introduction du gluten dans l'alimentation (farines pour nourrissons contenant du gluten, pâtes, pain...), ou à l'âge adulte, le plus souvent entre 20 et 40 ans. Les formes à révélation tardive, après 65 ans, ne sont cependant pas exceptionnelles (Chyderiotos et al, 2008).

La maladie cœliaque est l'une des maladies gastro-intestinales les plus fréquentes. Des études épidémiologiques ont montré que les pays européens avec une prévalence 5% ou plus (Martucci et al, 2002). Cette prévalence reste aussi élevée en Afrique du nord avec 1,4% dans la population générale (Denery-Papini et al, 2001). En Algérie, nous ne possédons pas encore de données actuelles précises sur l'ampleur de la maladie. Il existe très peu de travaux relatifs à la maladie cœliaque. Les seules données à notre disposition sont celles de BENATALLAH (2009) dans l'est algérien. En 2003, la prévalence de la maladie cœliaque a été estimée à 1,4% à Guelma, 1,7% à Mila et 0,88% à Khanchela ; la prévalence moyenne calculée sur les trois villes est au moins 1,33%, et pour la ville d'Oran la prévalence chez les enfants moins de 15 ans atteints de MC symptomatique était 1,09 %.

Actuellement, le seul traitement scientifiquement prouvé pour la maladie cœliaque est l'adhérence perpétuelle stricte à un régime sans gluten. Tous les aliments contenant le gluten de blé, de seigle et d'orge ainsi que leurs dérivés sont éliminés (Niewinsky, 2008). Par ailleurs, les céréales occupent une place importante dans l'alimentation mondiale. L'Algérie fait partie de ceux qualifiés de type céréalier à blé. Les aliments Contenant du gluten apportent donc une contribution substantielle à la prise quotidienne (FAO, 2009).

Le gluten est omniprésent dans de nombreuses préparations alimentaires algériennes, ce qui rend le suivi du régime sans gluten difficile et défavorable.

Dans ce contexte nous nous sommes demandé si tous nos patients cœliaques avec une sérologie positive et des signes cliniques distingués ont une génétique HLA DQ2, DQ8 positif ?



## Introduction

---

La technique de typage HLA classe II pourrait-elle devenir le seul examen qui confirme l'atteinte de la MC ?

La prédisposition génétique est-il le principal facteur de la MC ?

Tout individu porteur des gènes de prédisposition souffre-t-il de la MC ?

L'objectif de ce travail dans le diagnostic de la maladie cœliaque est de réaliser le test génétique par la technique de typage génétique par la PCR–SSO (Polymérase Chain Reaction-Sequence-Specific Oligonucleotide) la recherche d'une association entre les allèles HLA classe II et la maladie cœliaque (MC) , afin d'étudier le polymorphisme génétique des molécules HLA classe II DRB1, DQB1, dans un échantillon de 34 patients algériens atteints de MC ,en comparaison a un échantillon témoin de 40 sujets sains . Le but étant d'établir les fréquences phénotypique, génotypique et haplotypique des gènes des locus DRB1 et DQB1 du complexe majeur d'histocompatibilité HLA classe II et la relation entre la manifestation des différents signes cliniques, le lien génétique entre la maladie cœliaque et les maladies auto-immunes associées tel que le diabète type 1, la thyroïde .....

## 1-Historique :

Le terme cœliaque vient du grec **KOLIAKOS** qui signifie littérairement souffrance dans les intestins (Husby et al, 2012). ; La première description de la maladie cœliaque date de la deuxième moitié du IIème siècle après Jésus christ, par Aretaeus de Cappadocia, dont les écrits furent traduits du grec et édité par Francis Adams en 1856.

En 1888, Samuel Gee reprend la description de la pathologie en observant plusieurs cas cliniques (Gee ,1888) au début de XXème siècle .Frédéric Still observe que les hydrates de carbone sont bien moins toléré que les graisses, et montre en 1918, l'effet particulièrement néfaste du pain chez les malades cœliaques. En 1950, le hollandais Dicke a démontré dans sa thèse que l'état des enfants cœliaque s'améliorait de façon spectaculaire grâce à l'exclusion de toutes les farines de froment, de seigle et de l'avoine de leurs alimentations (Dicke et al, 1953). Le caractère toxique du gluten chez les patients cœliaques sera ensuite confirmé par Anderson (Anderson, 1960).

En 1954, l'histologie du duodénum chez le sujet cœliaque est décrite par Paulley (Paulley, 1954).

Les facteurs de prédispositions génétiques HLA-D (Q2 ; Q8) sont démontrés grâce aux travaux de Howell en 1986 (Howe et al, 1986), et décrit par Sollid en 1989(Sollid;1989). Les cinq stades d'atteinte de la muqueuse sont définis par Marsh en 1992(Marsh, 1992). Le développement de l'endoscopie digestive et les études immunologiques permettront ensuite de préciser la physiopathologie de la maladie.

## 2 -définition :

Maladie cœliaque chez les enfants ou sprue cœliaque chez les adultes (Wolfgang et al ,2006). La maladie cœliaque (MC) est une entéropathie auto- immune, inflammatoire de l'intestin grêle, elle se traduit sur le plan histologique par une atrophie villositaire intestinale (Tkouba, 2008). avec un syndrome de malabsorption et donc une perte de poids ;la MC est provoquée par un antigène alimentaire la gliadine du gluten , le gluten et il est présent dans différentes céréales comme le seigle, l'avoine, l'orge et le blé vert ; la maladie cœliaque survenant chez des sujets de tout âge ; génétiquement prédisposés .elle est associée chez presque tous les patients atteints à l'expression d'allèles spécifiques de susceptibilité ,qui sont certains variant des gènes de complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ou Human Leucocyte Antigen (HLA) classe II codant la molécule HLA-DQ2et ceux codant la molécule HLA-DQ8 (Roujon et al ,2011).

## 3-Epidémiologie :

La maladie cœliaque peut survenir à tout âge .grâce à l'essor des tests sérologiques ; des études épidémiologiques ont pu être menées et ont révélé que la maladie se développe dans le foyer de façon comparable. La prévalence mondiale de la maladie est estimée à 1% (Dube et al, 2005 ; Van Heel et al, 2006) dans la population générale elle peut augmenter jusqu'à 33% chez les populations dites « à risque ».

Tableau I : Prévalence de la maladie cœliaque chez la population générale.

Pays	Echantillon	Prévalence	Année	Référence
<b>Amérique</b>	Population générale	1 :133	2003	(Fasano et al, 2003)
<b>Argentine</b>	Population générale	1 :167	2001	(Gomez et al, 2001)
<b>Brésil</b>	Population générale	1 :214	2007	(Olieria et al,2007)
<b>Egypte</b>	Enfants	1 :187	2008	(Abu-Zek et al,2008)
<b>Finlande</b>	Enfants scolarisés	1 :99	2003	(Maki et al,2003)
<b>France</b>	Population générale	0,25 :100	2004	(Lepers et al ,2004)
<b>Islande</b>	Population générale	1 :136	2009	Johannison et al,2009)
<b>Portugal</b>	Adolescents	1 :134	2006	(Antunes et al,2006)
<b>Royaume-Uni</b>	Enfants scolarisés	1 :100	2004	(Bingley et al,2004)
	adultes	1 :100	2003	(West et al,2003)
<b>Suisse</b>	Adolescents	1 :132	2002	(Rutz et al,2002)
<b>Tunisie</b>	Enfants scolarisés	1 :157	2007	(Benhariz et al,2007)

La survenue d'une maladie cœliaque est 10à 100 fois supérieure à la population générale :

-chez les parents de 1<sup>ier</sup> degré, elle varie de 1/50 à 1/10(Ellis, 1981)

-chez les jumeaux homozygotes, on retrouve un taux de concordance de70%

-dans la fratrie, 30% ont un haplotype HLA identique (Romino, 2000).

- Les femmes sont deux à trois fois plus touchées que les hommes (Malamut et al, 2010).

En Algérie, la prévalence de la maladie cœliaque est :

De 1,4% à Guelma, 1,7 à Mila et 0,88à Khanchela (Benatallah, 2009).et dans la ville d'Oran, la prévalence de la maladie cœliaque chez des enfants de moins de 15ans est de 1,09% (Boudraa et al ,2008).

#### 4- Symptomatologie :

Classiquement, c'était dans la première enfance que la symptomatologie clinique était la plus caractéristique (Schmitz et al ,2008). Les signes cliniques de MC en relation avec la malabsorption de l'intestin grêle avec diarrhée, stéatorrhée, amaigrissement, dénutrition, asthénie et douleurs abdominales.

-on distingue quelques signes cliniques et para-cliniques de MC chez l'adulte.et chez les enfants

Tableau II : principales manifestations cliniques et para cliniques de la maladie cœliaque de l'adulte (Malamut et al, 2010)

<b>Manifestations</b>	<b>Signes cliniques</b>
<b>Digestives</b>	Diarrhée, douleurs abdominales et amaigrissement.
<b>Cuténo-muqueuse</b>	Alopécie, Aptoïse buccale, Purpura, Hippocratisme digital
<b>Génitales</b>	Aménorrhé primaire ou secondaire, puberté tardive, ménopause précoce, infertilité, fausse couche .crampes, tétanie, Atrophie musculaire
<b>Neuromusculaires</b>	Ataxie, atteinte périphérique, Epilepsie, calcifications cérébrales.
<b>Ostéo-articulaires</b>	Doleurs osseuses, Fracture spontanée, Arthralgies /Arthrites.
<b>Biologiques</b>	Animée par carence en fer, Folates , vitamine B12,Thrombocytes, thrombopénie (moins fréquente),déficit en facteur vitamine K dépanadant ,Hypoalbuminémie

	,hypocalcémie Hypomagnésémie, déficit en Zinc, élévations des transaminases
--	---

Tableau III : les signes cliniques et para cliniques de la maladie cœliaque chez l'enfant (Mouterde et al ,2013).

<b>Manifestations</b>	<b>Signes cliniques</b>
<b>Digestives</b>	Diarrhée chronique, Abdomen distendu, Anorexie, vomissements, ulcération intestinal, constipation
<b>Mal nutrition</b>	Retard de développement Staturo-pondéral, disparation du pannicule adipeux, Amyotrophie, fonte musculaire touchant surtout les fesses (fesse plates) peau sèche et fine, cheveux fripée ; secs tombants décolorés à la racine, anomalie de l'émail dentaire,
<b>Générales</b>	Trouble de comportement, tristesse, retard de développement psychomoteur, déformation du squelette. Petite taille, ostéoporose, retard pubertaire
<b>Carentiels</b>	Animée microcytaire, hypocalcémie, Hypofolatémie, hypoferritinémie, Hypocholestérolémie, Hypovitaminose K

4-1 Les différentes formes de l'intolérance au gluten chez les patients cœliaques des adultes et des enfants :

a)les formes symptomatiques ou classiques

1-chez les enfants :

La maladie cœliaque est la cause principale de diarrhée chronique avec syndrome de malabsorption chez les nourrissons. Elle débute peu de temps après l'introduction du gluten dans l'alimentation, c'est-à-dire entre 6 et 24 mois. Chez les enfants on diagnostique la maladie

vers 5 à 7 ans lors d'une consultation pour des selles abondantes mais peu fréquentes (Fasano ,2005).

#### 2-chez les adultes :

La forme symptomatique concerne 20% des sujets atteints par la maladie avec des symptômes typiques (Cellier, et al ,2001).

#### b) les formes pauci-symptomatiques ou atypiques :

Représente la majorité des cas diagnostiqués chez le sujet adulte ; soit plus de 50% des cas. Les sujets consultent à la suite de symptômes digestifs mineurs et de symptômes extra intestinaux.

#### c) les formes asymptomatiques ou silencieuses :

Dans les formes silencieuses, on observe des lésions histologiques propres à la maladie et des anticorps anti-endomysium ou transglutaminase, alors que le sujet ne présente aucun symptôme ou simplement une anémie ferriprive (vahedi et al, 2001).

#### d) les formes latentes :

La maladie cœliaque latente mise en évidence grâce aux études familiales, est définie par l'absence de signes cliniques, sérologiques et une réponse immunologique anormale (**infiltration épithéliale**) à une charge au gluten. La maladie cœliaque latente ou silencieuse peut évoluer vers une forme symptomatique (vahedi et al, 2001).

#### 4-2 les maladies associées :

Elles sont très nombreuses (Mouterde et al, 2008). La raison de leur association à la maladie cœliaque peut être de différents ordres (Beattie, 2006). Un terrain génétique commun prédisposant aux pathologies auto immunes peut être évoqué comme un lien de causalité entre l'intolérance au gluten et d'autres atteintes par un caractère ubiquitaire de la transglutaminase. Et un autre mécanisme serait pour certain pathologies de favoriser la MC. (Mouterde et al, 2013). C'est-à-dire les allèles DQ2/DQ8 sont aussi les allèles de susceptibilités pour certaines maladies auto immunes tels que le diabète type I et la maladie d'Addison ce qui explique l'augmentation de risque de ces maladies chez les patients cœliaques ( Liu et al ,2005).

En théorie une MC même latent est présente chez tous les patients ayant une dermatite herpétiforme. Les facteurs de susceptibilité HLA DQ2/DQ8 ont la même répartition que dans la MC (Zone, 2005).

Tableau IV: les troubles associées à la maladie cœliaque (Spomenka et al 2007).

<b><u>Gastro- intestinaux :</u></b> -Maladie du foie	<b><u>Hématopoïétiques :</u></b> -Anémie
---	---

-Intestin irritable -Ulcération aphteuse -Gastrite lymphocytaire -Adénocarcinome de l'intestin grêle	-Troubles de coagulation -Déficit en IgA -Hyposplénisme -Lymphome T
<b><u>Neurologiques :</u></b> -Neuropathie périphérique -Epilepsie -Ataxie, Alopécie	<b><u>Locomoteurs :</u></b> -Ostéopénie -Arthralgie
<b><u>Endocriniennes :</u></b> -Diabète de type 1 -stérilité -Avortements récurrents -Troubles de la thyroïde	<b><u>Psychiatriques :</u></b> -Dépression -Schizophrénie
<b><u>Rénaux :</u></b> -Néphropathie à IgA	<b><u>Dentaires :</u></b> -Dégâts à l'émail dentaire
<b><u>Dermatologiques :</u></b> -Dermatite herpétiforme -Psoriasis -Altération de la pigmentation du visage	<b><u>Génétiques :</u></b> -Syndrome de Dawn - Syndrome de Turner

### 5- Diagnostic :

Le diagnostic de la MC est posé grâce à la combinaison des arguments : cliniques (les symptômes vu précédemment), sérologiques (la recherche des anticorps spécifiques), Génétiques, Histologiques (la biopsie intestinale) et l'efficacité de régime sans gluten (RSG) (DiSabatino et al ,2007).

5-1) La Sérologie: en cas de suspicion clinique de la maladie cœliaque, plusieurs anticorps peuvent être mis en évidence dans le sérum des patients (Schmitz et al, 2008).

5-1) a- les anticorps anti-endomysium (**EMA**): l'endomysium est une protéine retrouvée au niveau de la matrice de collagène du tissu conjonctif humain .La présence d'EMA de type IgA ou IgG est corrélée positivement à la MC.

5-1) b- les anticorps anti-transglutaminase (**tTG**): la transglutaminase tissulaire, enzyme intracellulaire ubiquitaire, notamment libérée par les macrophages et les entérocytes, est la cible des auto-anticorps caractéristique de la MC.

5-1) c - les anticorps anti-gliadines (**AGA**): les peptides de la gliadine alimentaire ayant subi une désamination catalysée par la (tTG) forment des complexes antigéniques, à l'origine de la formation d'AGA et anti-tTG, de classes IgA et IgG. .

Tableau V : sensibilité et spécificité des marqueurs sérologiques de MC (Hill ID, 2008).

		Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)
Anti-transglutaminase (IgA)		95-98	94-95	91-95	96-98
Anti-endomysium (IgA)		85-98	97-100	98-100	80-95
Anti-gliadine	IgA	75-90	82-95	28-100	65-100
	IgG	69-85	73-95	20-95	41-88

5-2) l'Histologie : lorsque les tests sérologiques sont positifs, l'examen histologique reste l'examen de référence. Les biopsies duodénales mettent en évidence une atrophie villositaire (AV), une hyperplasie des cryptes associée à une augmentation des lymphocytes intra épithéliaux (LIE) supérieurs à 40% (40 LIE pour 100 cellules Entérocytes (CE)), constitue le stigmata le plus précoce et le plus spécifique de l'effet du gluten sur la muqueuse intestinale. Elle peut néanmoins être observée également dans d'autres maladies immunologiques (Allergie aux protéines du lait de vache, maladie de Crohn, rejet de greffe intestinale, maladie du greffon contre l'hôte, entéropathies auto-immunes) ou infectieuses (giardiase, entéropathie infectieuse aiguë) (Lamireau, et al 2008).

La classification française de Marche : est basée sur la hauteur des villosités, le rapport entre cryptes et villosités (C/V), et cellules à calices (EL YAOUTI, 2010).



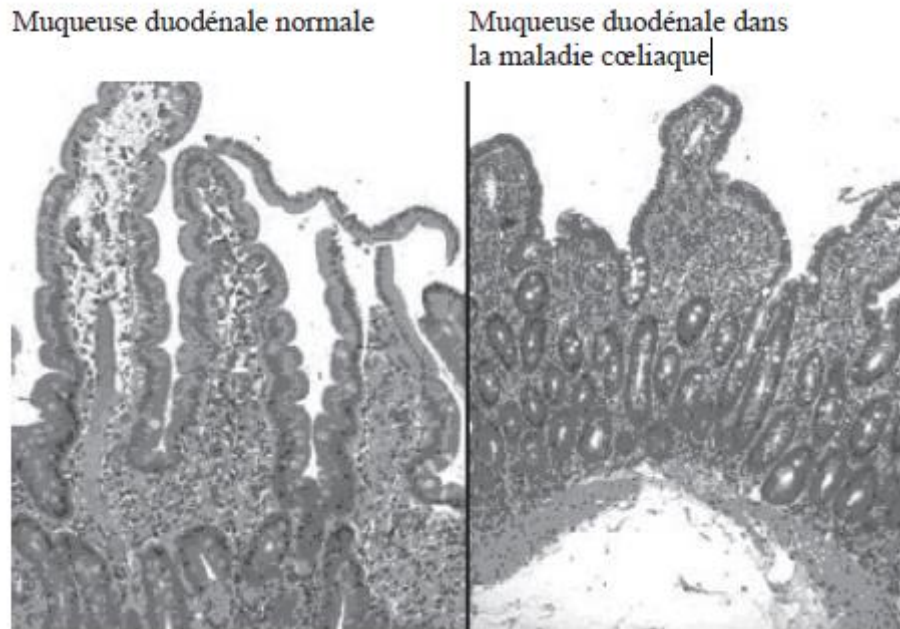


Figure 1 : Muqueuse duodénale normale à gauche, et Muqueuse duodénale dans la maladie cœliaque à droite (Green et al, 2007).

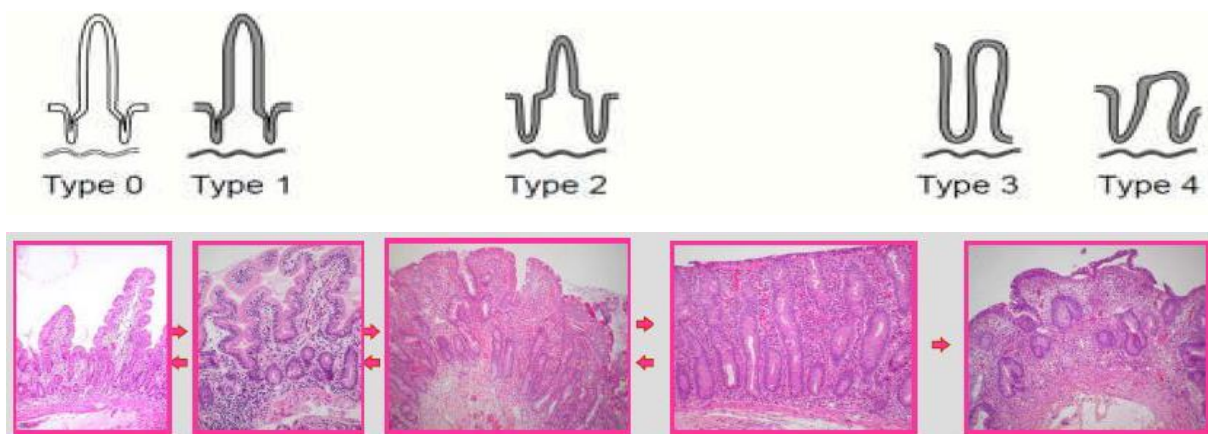


Figure 2 : les différents types de lésions (Marsh, 1992).

Tableau VI : Classification utilisée pour grader les lésions de la maladie cœliaque ou d'atrophie villositaire. (Verkarre et al, 2013) / (Oberhuber et al, 1999).

Classification de Marsh	Cryptes	Villosités	LIE	Le rapport C/V
Type 0	Normale	Normale	<40	>2à3
Type 1	Normale	Normale	>40	
Type 2	Hyperplasie	Normale	>40	

Type3	3a	Hyperplasie	Atrophie villositaire Partiel	>40	$2 < C/V > 1$
	3b	Hyperplasie	AV sub- Total		$2 < C/V > 1$
	3c	Hyperplasie	AV Total		$< 1$
Type 4		Hypoplasie	AV Total	>40	Muqueuse plate

6-les facteurs déclenchant la maladie cœliaque

6-1 Facteurs environnementaux :

a- Le gluten :

Le gluten est le complexe moléculaire insoluble, obtenu par lavage à l'eau, des farines de céréales. Le gluten du blé contient environ 80% de protéines. Les protéines responsables d'intolérance au gluten du blé sont **les prolamines**, riches en **proline** et **glutamine**, représentant 70% des protéines totales. Parmi les prolamines de blé, on distingue des protéines monomériques **les gliadines** et **les gluténines**. Les fractions **prolamines** du **seigle** et de **l'orge** sont également toxiques dans la maladie cœliaque. (Tkoub, 2008). Les plus étudiées sont les prolamines du blé, classées en plusieurs familles en fonction de leur région amino-terminale, **les  $\alpha\beta$ ,  $\gamma$  et  $\omega$  gliadines** et **les gluténines**. L'activité toxique la mieux établie concerne la large famille des  $\alpha\beta$  (ou A-) gliadines, dont la toxicité persiste après digestion par la pepsine et la trypsine (fraction III de Frazer) (Cerf-Bensussan et al, 2001).

b-L'allaitement maternel et l'introduction du gluten :

Le lait maternel exerce un effet protecteur pour les enfants génétiquement prédisposés à la MC, il réduirait l'apparition de la maladie, indépendamment de l'âge à l'introduction de gluten et diminuerait la gravité des symptômes lors de l'apparition de la maladie (Cerf-Bensussan et al, 2001).

c-L'adénovirus de sérotype 12 :

L'adénovirus de sérotype 12 (Ad12) joue un rôle dans la pathogenèse de la MC (Brock-jung S, 2003)., une sorte d'homologie entre une séquence d'acides aminés dans une partie de A-gliadine et une protéine virale (E 1b) produit par (Ad12). Des réponses immunitaire cellulaires contre les deux séquences peptidiques (gliadine et virale) ont été trouvées chez les patients atteints de la MC mais pas chez les personnes normales. Il en découle que la réponse immunitaire contre l'adénovirus 12 chez des patients prédisposés génétiquement peut rompre la tolérance orale aux peptides du gluten et amorcer l'inflammation de la muqueuse (Weill et al, 2003).

**6-2 les Facteurs de prédisposition génétiques :**

Du point de vue génétique, la maladie cœliaque est une maladie multifactorielle ; traditionnellement elle se divise en deux, variante de la région Human Leucocyte Antigen (HLA) et variante de région non HLA (Graham et al, 2009).

a-Le système HLA (Human Leucocyte Antigen) :

Le système immunogénétique Human Leucocyte Antigen fait partie d'un ensemble génétique complexe, noté complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Découvert en 1958 par le médecin français Jean Dausset pour sa capacité à induire le rejet de greffes allogéniques « se dit d'un tissu ou d'un organe d'un donneur dont le génotype est différent de celui du receveur, donneur et receveur appartenant cependant à la même espèce » (Cesbron Gautier et al, 2007). Le complexe HLA occupe une région de quatre millions de nucléotides sur le bras court du chromosome 6 (région 6p21.31) et forme un ensemble de plus de 200 locus de gènes. Son séquençage complet, en 1999 a permis l'annotation de 224 gènes. Cette région est génétiquement associée à plus d'une centaine de maladies, dont de nombreuses sont en lien avec le système immunitaire. Le locus HLA est la région du génome la plus dense en gènes et la plus polymorphe, Partant de l'extrémité centromérique, trois régions sont individualisées : la classe II, la classe III, puis la classe I allant jusqu'au gène HFE de l'hémochromatose. Plus de la moitié de ces gènes jouent un rôle au sein du système immunitaire, codant notamment pour des protéines essentielles à l'apprêtement et la présentation antigéniques, pivots de la réponse immunitaire adaptative, qui est spécifique de l'antigène (Luka et al, 2003).

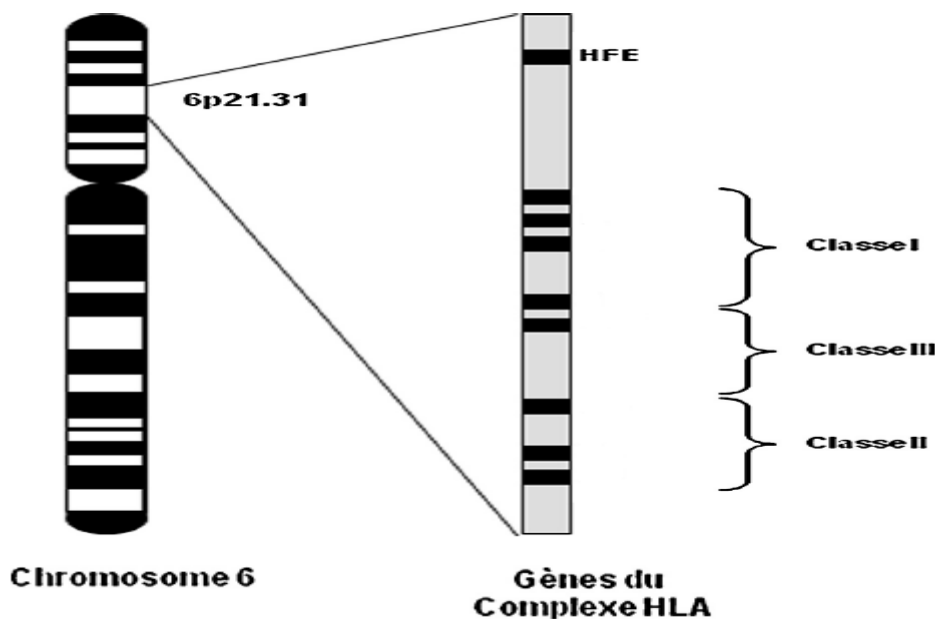


Figure 3 : localisation du complexe HLA au sein du chromosome 6. (Luka et al, 2003).

b-Nomenclature HLA :

Un comité de nomenclature internationale définit régulièrement des règles strictes d'écriture. Celle-ci permet de référencer clairement les régions géniques (loci), les allèles (ou gène), les produits (ou antigènes) HLA. D'une façon générale, chaque spécificité moléculaire HLA classe I et II, est désignée par une ou deux lettres précisant le locus auquel elle appartient : HLA-A pour le locus A, HLA-DQ le locus DQ, HLA-Cw (Workshop) qui a longtemps servi à indiquer un statut provisoire, n'est plus utilisé que pour éviter toute confusion avec le complément, le locus C se voyant accoler un « w » (par exemple :HLA-Cw6).

-La spécificité sérologique est désignée par un ou deux chiffres : par exemple, HLA-A2, HLA-B27, HLA-DR4. certaines spécificités sérologiques larges sont subdivisées en sous-spécificités. Lorsqu'une sous-spécificité sérologique a été définie, on fait figure la spécificité « large » entre parenthèses à la suite de celle-ci. Par exemple, la spécificité d'origine HLA-B5 comprend deux sous-spécificités B51 et B52 : on écrit HLA-B51(5) et B52(5) (Semana et al, 2002, figure3).

-La description génotypique des allèles diffère selon que l'on désigne un allèle HLA de classe I ou de classe II. Les allèles codant pour les molécules HLA classe I sont symbolisées par la lettre définissant le locus étudié suivie d'un astérisque (\*) et de deux chiffres, incluant le zéro si nécessaire : par exemple, HLA-A\*03, HLA-B\*35. ces deux premiers chiffres après l'astérisque désignent la série allélique et correspondent, à de rares exceptions près, à la spécificité sérologique. ces deux chiffres sont suivis des deux chiffres définissant le numéro d'ordre du variant dans la série allélique : par exemple, HLA-B\*5701 où 57 correspond à la série allélique (équivalent sérologique :B57) et 01 au numéro dans la série allélique. Dans certains cas, un cinquième chiffre est attribué aux allèles ne différant que par une substitution silencieuse : par exemple, les allèles HLA-Cw\*02021 et \*02022 ne diffèrent que par la substitution d'un nucléotide qui ne change pas l'acide aminé (on parle d'allèles dédoublés).

-Les allèles codant pour les molécules HLA de classe II sont symbolisés par trois lettres : les deux premières définissent le locus (DP, DQ, DR), la troisième définit la chaîne codée (A pour la chaîne  $\alpha$ , B pour la chaîne  $\beta$ ) suivie d'un chiffre (1) désignant le gène codant, pour le distinguer du pseudo-gène désigné par le chiffre (2) et d'un astérisque : par exemple HLA-DRB1\*. Les différents allèles sont ensuite spécifiés par 4 ou 5 chiffres où les deux premiers renvoient à la série allélique (et correspondent à la spécificité sérologique) et les chiffres suivants au numéro d'ordre de l'allèle : par exemple : HLA-DQB1\*0602 où 06 correspond à la série allélique (équivalent sérologique HLA-DQ6) et 02 au numéro d'ordre dans la série allélique (Semana et al, 2002). (Figure 5)

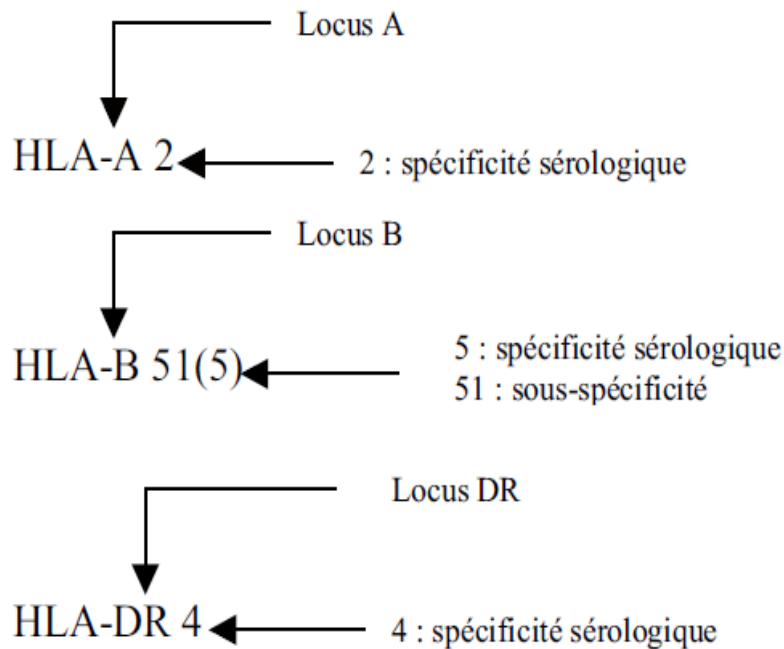


Figure 4 : La liste des principales spécificités sérologiques (Semana et al, 2002).

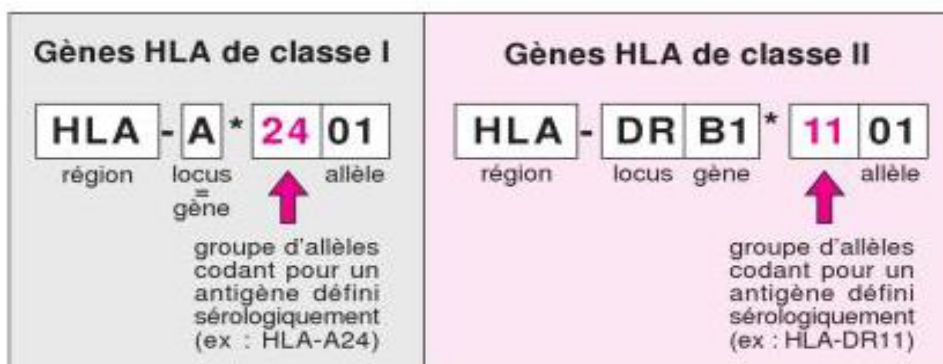


Figure 5 : Nomenclature génotypique des molécules HLA classe I et II (Chatenoud et al, 2012).

### c- Les gènes HLA de classe I les plus télomériques :

Codent pour des protéines membranaires retrouvées à la surface de toutes les cellules nucléées. Les trois principaux gènes codent pour les molécules HLA-A, HLA-B et HLA-C sont des molécules HLA dites « classiques ». Les autres gènes HLA dites « non classiques » codent pour les molécules HLA -E, HLA-F et HLA-G ou des gènes dites « apparentés » comme le gène Major Histocompatibility Complex Class I chain- Related A/B (MIC) et le gène HFE (Semana et al, 2002).

### d- les gènes HLA de classe II les plus centromériques :

Codent pour trois molécules HLA, HLA-DR (Human Leucocyte Antigen-D related), HLA-DQ (Human Leukocyte Antigen, DQ subregion) et HLA-DP (Human Leukocyte Antigen, DP subregion), (Edgardo et al, 2011). la molécule HLA DR elle se subdivise en HLA-DRA et HLA-

DRB le gène le plus polymorphe (DRB1, DRB3 ou DRB4 ou DRB5). Les molécules HLA-DP correspondent à l'expression des gènes DPA1 et DPB1 présents sur deux haplotypes. Ainsi la molécule HLA-DQ celle-ci correspond à l'expression des gènes DQA1, DQB1 avec DQA2, DQB2 et DPA2, DPB2 sont des pseudogènes sans produits d'expression (Horton et al, 2004). On retrouve également dans cette région les gènes non classiques comme HLA-DO, HLA-DM, régulent la présentation antigénique au lymphocyte T CD4+, et d'autres gènes tels que les gènes TAP (Transporter Associated with Antigen Processing), TAP1 et TAP2 qui codent pour une protéine transporteuse de peptides (Mehra et al, 2003).

#### e- les gènes HLA de classe III intermédiaires :

Contient les gènes codant pour les protéines du complément C2, C4 et properdine facteur B. Dans la partie plus télomérique de cette région se trouvent les gènes HSP (heat shock protein) ou dite des protéines de choc thermique, ainsi des gènes codant pour les molécules de l'inflammation TNF $\alpha$  et  $\beta$  (Transforming Growth Factor - $\alpha$  et  $\beta$ ), (Tiercy, 1999).

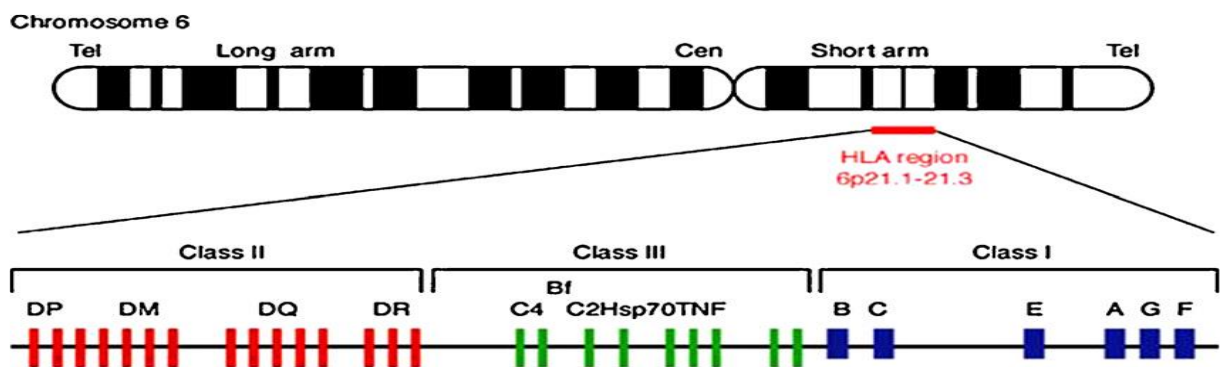


Figure 6 : organisation des gènes de différentes classes de système HLA. (Moalic, 2008).

#### f- la structure biochimique des molécules HLA classe I :

Les molécules HLA classe I sont des dimères formés d'une chaîne lourde alpha ' $\alpha$ ' (44 kDa), associée de manière non covalente, à la  $\beta$ 2 microglobuline ( $\beta$ 2m), chaîne invariante dite légère de 11,5 kDa non codée par le CMH mais par un gène localisé sur le chromosome 15 (Cassinotti, 2009).

**La chaîne lourde  $\alpha$**  est une protéine glycosylée d'environ 350 AA comporte 3 domaines extracellulaires  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 et  $\alpha$ 3 d'environ 90 AA. Les domaines  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 les plus externes portent le polymorphisme de la molécule, tandis que le domaine  $\alpha$ 3 est conservé. Une région transmembranaire hydrophobe de 25AA. Un court segment hydrophile intracytoplasmique C-terminal de 30-40AA. Sa structure tridimensionnelle montre une cavité entre les domaines  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2, dans ce sillon peut se glisser un peptide de 8 à 10AA ((Bjorkman et al, 2005).



La chaîne légère  $\beta$  est une protéine non glycosylée, de 99 AA, elle comprend un seul domaine associé à la chaîne lourde  $\alpha$  au niveau de domaine  $\alpha 3$  par des liaisons non covalentes (Bjorkman et al, 2005).

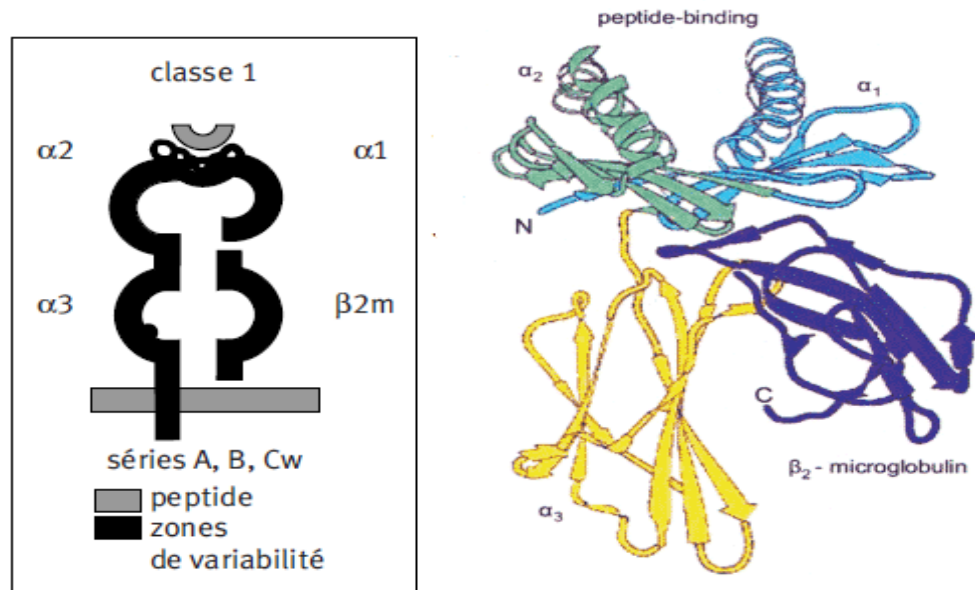


Figure 7 : structure biochimique et tridimensionnelle de la molécule HLA classe I (Bignon, 2000 ; EL Reinhert ,1999).

g- la structure biochimique des molécules HLA classe II :

Les molécules HLA classe II sont des Hétéromères fait de deux chaînes protéiques notées  $\alpha$  (29KDa) la plus glycosylée que la chaîne  $\beta$  (32KDa), sont codées par des gènes situées dans la région HLA classe II sur le chromosome 6, ces deux chaînes sont associées à une autre chaîne de (31KDa) au niveau intracytoplasmique notée chaîne invariante (Inv). La chaîne invariante n'est pas exprimée au niveau de la membrane (Auffray et al, 1986).

La chaîne lourde  $\alpha$ :est une protéine glycosylée d'environ 270 AA ; codée par le gène A (DRA1, DQA1, DPA1) comprend deux domaines externes N terminaux  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  de 90 AA, un domaine transmembranaire hydrophobe et un domaine intracytoplasmique C terminal.

La chaîne légère  $\beta$  : codée par le gène B (DRB1, DQB1, DPB1) comprend deux domaines externes  $\beta 1$  et  $\beta 2$  de 90 AA, un domaine transmembranaire hydrophobe et un domaine intracytoplasmique C terminal. Les ponts disulfures sont situés au niveau des domaines  $\alpha 2$  et  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ . Il existe également des sites de glycosylation, deux sites sur la chaîne  $\alpha$  et un site sur la chaîne  $\beta$ . Les molécules classe II présente une symétrie des domaines  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  d'une part et  $\alpha 2$  et  $\beta 2$  d'autre part, lui conférant une structure tridimensionnelle assez similaire à celle de la molécule de classe I. Les domaines externes les plus polymorphe ( $\alpha 1$  et  $\beta 1$ ) forment une cavité

plus ouverte sur les côtés que celle de la molécule de classe I, logeant un peptide de longueur plus variable de 21 à 25 AA (Semana et al, 2002. Chatenoud et al, 2012).

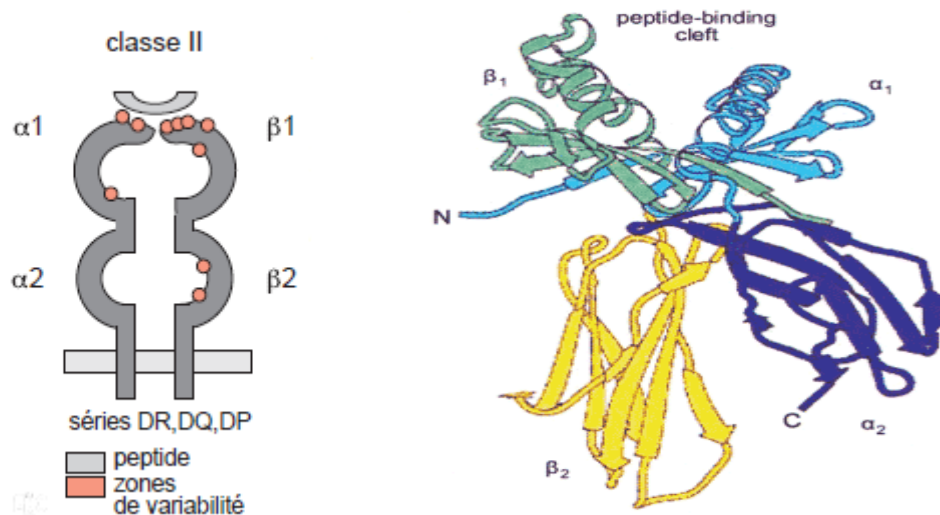


Figure 8 : structure biochimique et tridimensionnelle de la molécule HLA classe II (Bignon, 2000 ; EL Reinhert ,1999).

#### 7-HLA classe II et maladie cœliaque

a- les gènes de la région HLA classe II :

Les gènes HLA de classe II représente environnant 40% de la prédisposition génétique de la MC (Kagnoff ,2007). La détermination génétique, de cette maladie auto-immune est important, comme plus de 90%- à 95% des patients cœliaques sont porteurs de l'hétéro-dimère DQ2, constitué d'une chaîne  $\alpha$  codée par le gène DQA1\*0501 et d'une chaîne  $\beta$  codée par le gène DQB1\*0201. Compte tenu des associations haplotypiques des gènes et de l'association Cis / Trans des chaînes protéiques ces allèles peuvent être portés en Cis sur l'haplotype **DR3-DQ2** ou en Trans, dans cette situation la chaîne  $\alpha$  est codée par l'haplotype DR5-DQ7 sur le premier chromosome 6 et la chaîne  $\beta$  par l'haplotype DR7-DQ2 sur le second chromosome 6. L'haplotype **DR3-DQ2** encore appelé DQ2.5 ( DQA1\*0501-DQB1\*0201), contient à la fois la chaîne  $\alpha$  et la chaîne  $\beta$  de la molécule HLA classe II et représente le principale facteur de risque génétique de la MC ,l'haplotype DR7-DQ2 ou DQ2.2 (DQA1\*0201-DQB1\*0202) ne confère pas un risque à lui seul . Pour cela il doit être associé à l'allèle DQA1\*0505 porté par l'haplotype DR5-DQ7 du second chromosome (Heap et al, 2009/ Sollid., 2002). Et plus rarement l'Hétéro-dimère DQ8 codé en cis par l'allèle (DQ A1\*0301-DQ B1\*0302) chez les individus porteurs de l'haplotype DR4-DQ8 (Sollid et al, 1989).



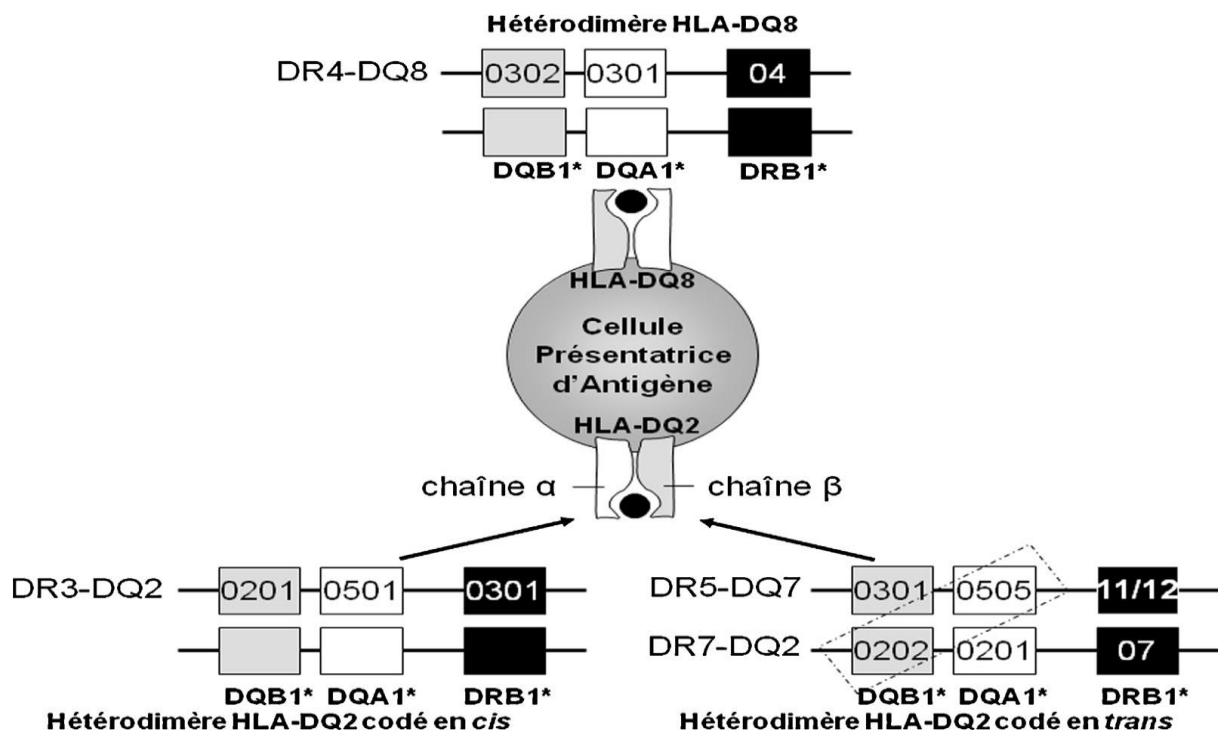


Figure 9 :Haplotype associé aux hétérodimères HLADQ2 , HLA DQ8.( Heap et al,2009).

Des individus avec le génotype HLA-DQ  $\beta 1^*0201$ (DQ2), DQ  $\beta 1^*0302$ (DQ8) ont un risque au moins 200 fois plus élevé de développer une maladie cœliaque que les sujets qui ne sont pas porteurs de cet allèle (Karell et al ,2005).

Chaque individu porte deux copies de l'allèle HLA-DQ. Une copie DQ provenant de la mère et une autre provenant du père (Howell et al, 2002).

b-les gènes en dehors de la région HLA classe II :

60% de prédisposition génétique hormis la liaison au complexe HLA pour développer la maladie cœliaque (MC) (Smyth et al 2008); Et resserment l'association sur l'ensemble de génome. Une association concerne la région (2q33) portée par le chromosome 2, c'est le gène CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte associated-4) (Dessen et al ,2002), impliqué dans la régulation négative de la réponse immune c'est-à-dire qui Code à un antigène de surface des lymphocytes T activés induisant leur apoptose. Ce gène est trouvé non seulement chez les malades MC mais aussi chez les patients atteints d'autres maladie auto immunes comme le diabète de type 1 et l'arthrite rhumatoïde (Leffl et al, 2010).

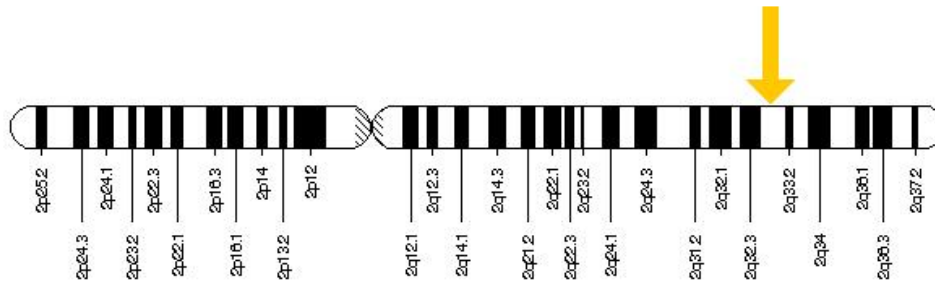


Figure 10: la localisation du gène CTLA4 (2q33) au sein de chromosome 2 (Dessen et al ,2002).

## 8- Physiopathologie de la maladie cœliaque :

Le mécanisme de la maladie se compose de deux voies : une liée à l'interleukine 15 (IL-15) mettant en jeu l'immunité innée et l'autre liée aux lymphocytes T ou immunité acquise. Ces phénomènes immunitaires provoquent une cascade inflammatoire qui génère les dommages tissulaires caractéristiques de la maladie cœliaque (atrophie villositaire, infiltration lymphocytaire et hyperplasie des cryptes) (Maud ,2010).

Les séquences toxiques des protéines du gluten sont divisées en deux groupes :

- Les peptides capables de se lier électivement aux molécules HLA DQ2 /DQ8 et stimuler les lymphocytes TCD4+ (Sollid ,2002).
- Les peptides exerçant directement des effets toxiques sur la muqueuse des patients coeliaque (indépendamment d'une liaison à l' HLA ),en stimulant des mécanismes immuns non spécifiques (Sollid ,2002).

La réaction inflammatoire induite par le gluten pourrait ainsi résulter des effets conjugués sur les deux bras de l'immunité : immunité innée et immunité adaptative reposant sur la reconnaissance spécifique d'antigènes par les récepteurs des lymphocytes T et B (Meresse et al, 2006).

### 8-1 Translocation épithéliale des peptides du gluten :

Physiologiquement, l'intestin dispose d'un système de défense mécanique qui constitue une barrière contre le passage de molécules non digérées, comme certaines fractions du gluten, chez les patients atteints de la maladie cœliaque ; le gluten subit une importante mais incomplète digestion protéolytique dans la lumière intestinale (Shuo Wang et al, 2009).

Il existe deux principales voies d'entrées des peptides non digérés, de la lumière vers l'épithélium intestinal : la voie para-cellulaire (altération de l'intégrité des jonctions serrées intercellulaires due à une régulation anormale de la zonuline) et la voie trans-cellulaire

(surexpression des récepteurs des IgA sécrétoires : CD17 à la surface des entérocytes) (Jean-Pierre ,2013).

### 8-2 Activation de la réponse immune innée :

Les peptides de gluten accumulés dans la lumière intestinale pénétrant dans les entérocytes et entraînant une série d'évènements activateurs qui se traduit principalement par la sécrétion de l'interleukine 15 (IL15), (qui est à l'origine d'hyperplasié des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) et de l'activation leurs propriétés cytotoxiques) en particulier via l'expression du récepteur NKG2D. Ce récepteur interagit avec la molécule du complexe majeur d'histocompatibilité classe I MICA à la surface des entérocytes ce qui induit la destruction des cellules épithéliales provoquant l'atrophie villositaire (Malamut et Cellier ,2013). (Figure 12)

(Cette synthèse de l'interleukine 15(IL15) mène à l'activation d'une molécule de stress MICA et cette dernière à son Toure elle provoque l'augmentation de l'expression de récepteurs présent sur la surface des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) menant à la destruction des entérocytes.)

### 8-3 Activation de la réponse immune adaptative :

Après le passage de peptide du gluten à travers la muqueuse intestinal, la présentation efficace de peptides aux lymphocytes T (LT) nécessite leur liaison préalable (avec une bonne affinité ) dans la poche à peptide des molécules HLA (Meresse et al ,2006).La transglutaminase tissulaire de type 2 (TtG) est une enzyme intracellulaire ubiquitaire , dont le rôle physiologique est la régénération cellulaire et le remodelage tissulaires , son implication dans la physiopathologie de la maladie cœliaque , elle est responsable de la désamination des résidus glutamines des peptides de gliadine en acide glutamique chargés négativement de motif « Glutamine -X- proline » ,favorisant leur ancrage au sien des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité HLA DQ2/DQ8 chargés positivement . La molécule HLA DQ2 a l'acide aminé Lysine chargé positivement en position B 71, favorise l'encrage de peptides chargés négativement à la position P4, P6 et P7, les deux molécules HLA DQ2 HLA DQ8 sont caractérisées par le manque d'un acide aspartique à la position B57 ce polymorphisme rend la poche P9 de la molécule HLA DQ8 basique ce qu'il explique pourquoi la molécule HLA DQ8 à une préférence de se fixer un peptide chargé négativement à la position P9 ,notamment le rôle de polymorphisme de B57 est mal connu pour HLADQ2 de plus ,la molécule HLA DQ8 est en faveur de peptides chargés négativement à la position P1 , et donc la molécule HLA DQ8 peut limiter le nombre d'épitope du gluten ancrer à deux résidus glutamate chargés négativement ,spécifiquement à la position P1 ,P9 (Abadie et al,2011) (figure11). Cette

association conduit à une présentation des peptides de gliadine désaminés aux lymphocytes T CD4+ de la lamina propria chez les individus génétiquement prédisposés via les molécules de CMH classe II. Les lymphocytes T CD4 + activés provoquent ainsi des réponses via les lymphocytes T Helper (auxiliaires) de type (TH1 et TH2) (Chrétien ,2011).

1-La réponse cellulaire (TH1) :

Avec production d'interféron  $\gamma$  (INF  $\gamma$ ) entraîne l'activation de la voie de l'apoptose en induisant l'expression des récepteurs transmembranaire Fas à la surface des entérocytes .Les lymphocytes cytotoxiques (LT CD8+)porteurs du ligand –Fas se fixent alors sur ces récepteurs , conduisant à la lyse cellulaire.

2-La réponse humorale (TH2) :

Avec activation de lymphocytes B (LB) en plasmocytes qui sécrètent des anticorps anti-gliadine et des autoanticorps anti-transglutaminase tissulaires, les transglutaminase tissulaire peuvent se lier aux peptides pour former des complexes « TG 2-gliadine » qui conduisent également à la sécrétion des auto-anticorps anti-transglutaminase tissulaire par les plasmocytes (Di Sabatino et al ,2012) (Figure12).

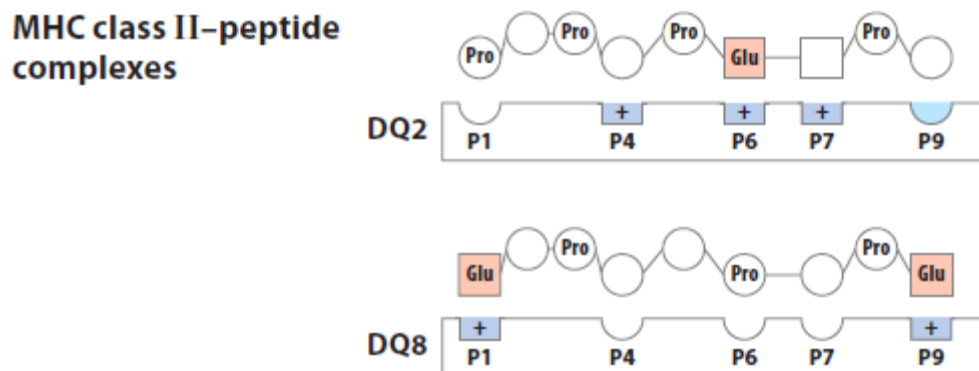


Figure 11 : l'ancrage de peptide du gluten dans la poche à peptides des molécules HLA DQ2, HLADQ8 (Abadie et al, 2011).

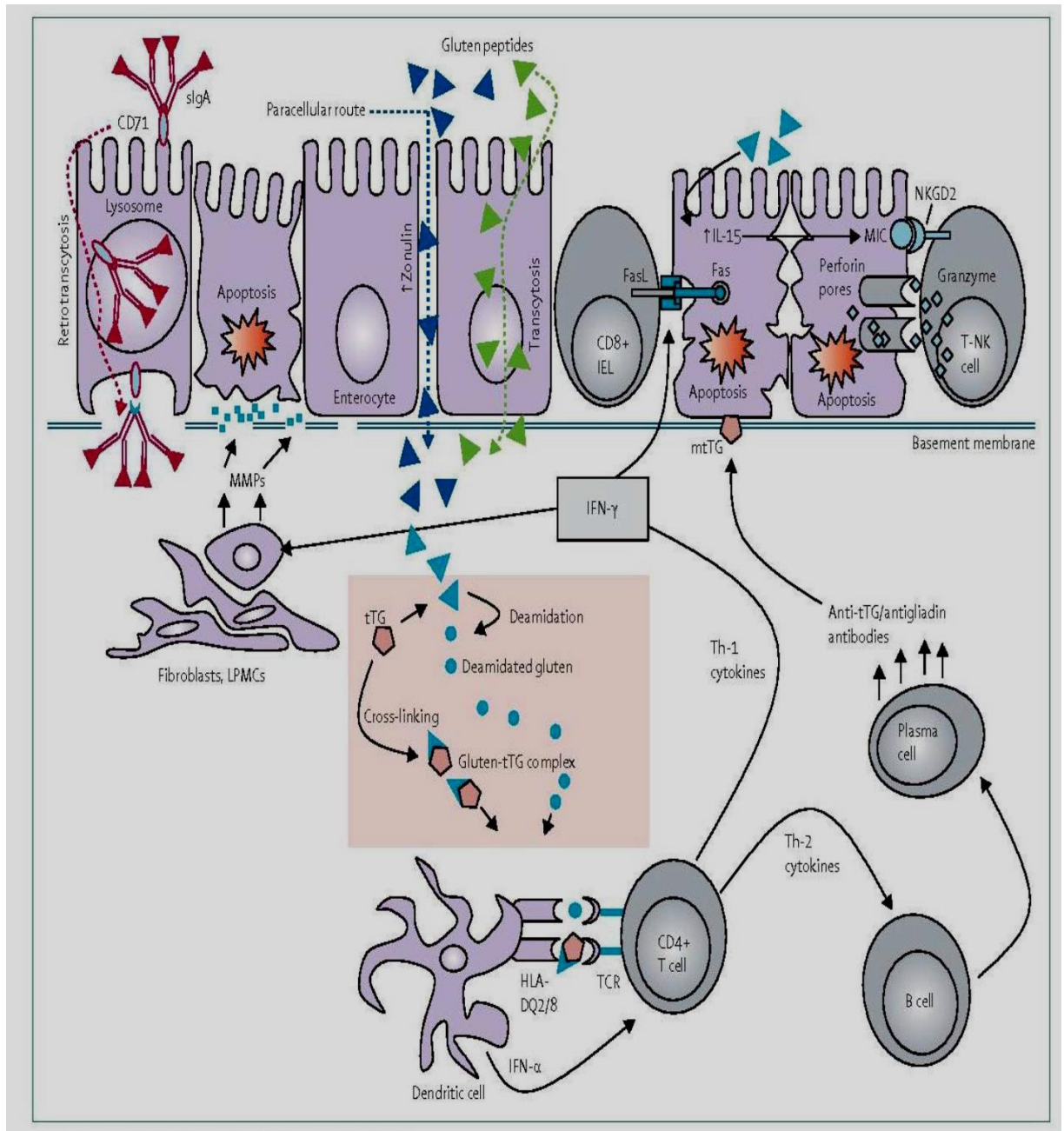


Figure 12 : mécanisme physiopathologique de la maladie coeliaque (Di Sabatino et al ,2012).

**9- le traitement et son suivi :**

Le régime sans gluten doit être prescrit à vie, quelle que soit l'expression clinique de la maladie. Il consiste en l'exclusion totale de tous les aliments contenant une des trois céréales toxiques (blé, orge, seigle). La surveillance de l'efficacité du régime sans gluten est appréciée par l'amélioration des signes cliniques (très rapide) et biologiques : les anticorps anti-transglutaminase diminuent puis disparaissent après 6 à 12 mois de régime sans gluten bien suivi. Le délai peut être légèrement plus long si les taux d'anticorps initiaux étaient très élevés. Leur persistance évoque une mauvaise observance du régime sans gluten. (Bienvenu, 2008).

**1-Population étudiée :**

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire d'Immunologie de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) d'Ain Naadja. Pour réaliser le typage HLA classe II. Durant la période du 23 Mars au 28 Septembre 2014, des prélèvements sanguins ont été pris sur 34 patients (20 de sexe féminin et 14 de sexe masculin) âgés entre 1 ans et 74 ans atteints de la maladie cœliaque (MC).

Les échantillons prélevés dans des tubes violets EDTA (Acide Ethylène Diamine Tetraacétique), sur lesquels sont mentionnés les noms et les prénoms des patients, ont été conservés à -20°C. Des données : telles que l'âge, le sexe, et les signes cliniques des patients ont été recueillis à partir des fiches de renseignement de la maladie cœliaque au niveau des 4 services de cet hôpital (pédiatrie, gastrologie, médecine interne et endocrinologie).

**2- témoins :**

Dans cette étude des sujets sains (T=40) ont participé, le recrutement a été effectué au sein de laboratoire d'immunologie de l'unité HLA et la greffe d'organe.

**3- mode opératoire :**

Le Kit « Quick Gene mini-80 fujifilm » c'est un système semi-automatique pour l'extraction d'ADN / ARN, ce système il est compact ne nécessite pas de centrifugation dans le processus d'extraction, permettant ainsi l'obtention rapide d'acides nucléiques de très bonne qualité et avec un risque de contamination réduit, avec des rendements élevés et une grande pureté.

Les ADN/ARN peuvent être extraits de divers échantillons humains, de souris, de cellules, de plantes etc.

a-composants de Kit : (Figure 13)

- Protéase PK
- Tampon de lyse (LDB) .....30ml
- Tampon de Lavage (WDB) ....160ml
- Tampon d'élution (CDB).....100ml
- Cartouche (CAS) « colonne » avec une membrane ultra-fine
- Collection des tubes
  - Eppendorf
  - Tubes de déchets





Figure 13 : image représente les composants de KIT.

Le milieu d'adsorption de l'acide nucléique utilisé dans la série Quick Gene est une membrane poreuse. C'est seulement 80 microns d'épaisseur, ce qui en fait incomparablement plus mince que les fibres de verre classiques (une membrane ultra- fine) (Figure 14). En raison de la circulation d'adsorption et de désorption des performances de la membrane, l'acide nucléique peut être extrait rapidement et de manière fiable à basse pression sans être endommagé, ce qui réalise l'extraction de l'acide nucléique de haute qualité.

### Quickgene

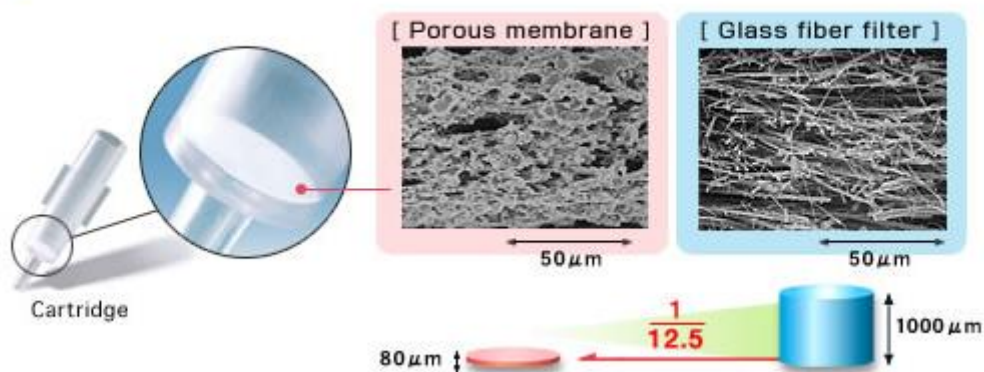


Figure 14 : image montre la fine membrane dans la colonne de kit.

-Utilisation (Figure 15)

- 1- Dépôts des réactifs et du sang dans la colonne respectant les volumes
- 2-mettre le portoir de l'appareil qui contient les tubes plus le mix dans le support.
- 3-faire tourner le bouton, une pression exercée pour descendre le mix de tube.





Figure 15 : image représente les étapes d'utilisation de Kit.

Protocole général :

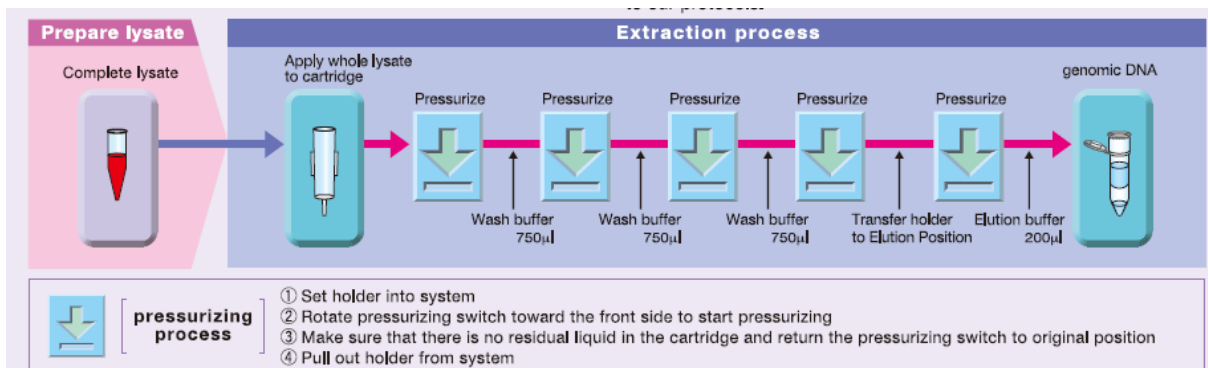


Figure 16 : image de protocole générale.

### 3-1 Extraction d'ADN génomique (chromatographie sur colonne) :

Le Kit permet l'extraction de l'ADN génomique à partir d'un échantillon de 200µl de sang total sur EDTA après décongélation à température ambiante au moment d'utilisation, pour récupérer à la fin l'acide nucléique (ADN).

### 3-2 Phase de lyse :

Dans un tube Eppendorf, 200µl de sang total ont été additionné à 30µl de protéinase K lyophilisée, plus 250µl de solution de lyse LDB (Lysis Dilution Buffer), le tout est vortexé pendant 15 secondes, et centrifugé au flash spin down (centrifugeuse de paillasse), puis incubée dans l'étuve pendant 5min à 37°C. Ensuite 250µl d'éthanol sont additionnés à la solution qui est vortexée et centrifugée à 8000tpm /1min.

### 3-3 phase de lavage (Figure 17)

Le lysat obtenu est transféré dans une colonne CAS (Cartridges) posée au-dessus d'un tube à déchet WTS (Waste Tube). Un premier lavage est réalisé en ajoutant 750µl de solution de lavage WDB (Wash Dilution Buffer) puis une pression est exercée par l'appareil Quick Gene-Mini80 afin d'isoler l'ADN dans la membrane de silice et éliminer les protéines et les résidus. Un deuxième et un troisième lavage sont effectués dans les mêmes conditions.

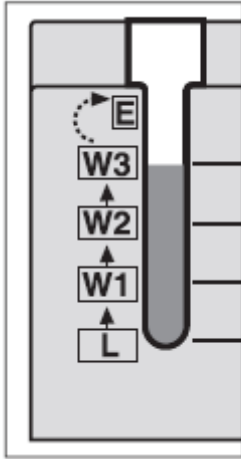


Figure 17 : les trois niveaux de lavage dans le système

### 3-4 Phase d'éluion :

Les tubes à déchets WTS sont remplacées par des tubes Eppendorf (déplacement de portoir vers la deuxième position) (Figure18) afin d'éluier l'ADN en ajoutant 200 $\mu$ l de solution d'éluion CDB-02 (Elution Buffer) puis une pression est exercée une nouvelle fois. Le liquide recueilli (l'éluât) dans les Eppendorf contient l'ADN génomique.

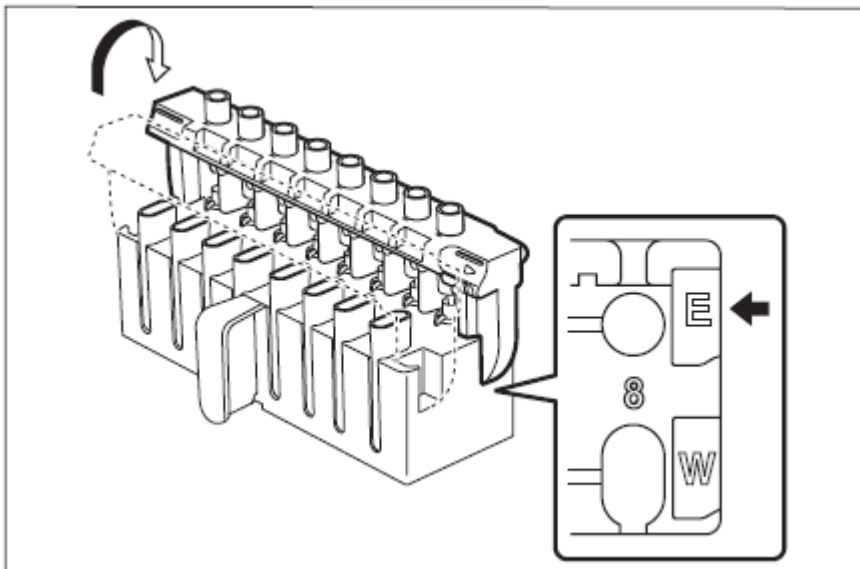


Figure 18 : image montre la deuxième position

### 4-dosage d'ADN génomique :

Spectrophotomètre NanoDrop (ND-2000) est utilisé pour quantifier les acides nucléiques. Sa technologie révolutionnaire permet de faire des analyses rapides et simples sur des volumes de l'ordre du microlitre (1 $\mu$ l). Le point fort de la méthode spectrophotométrique est fourni par les informations que l'on tire des ratios suivants:

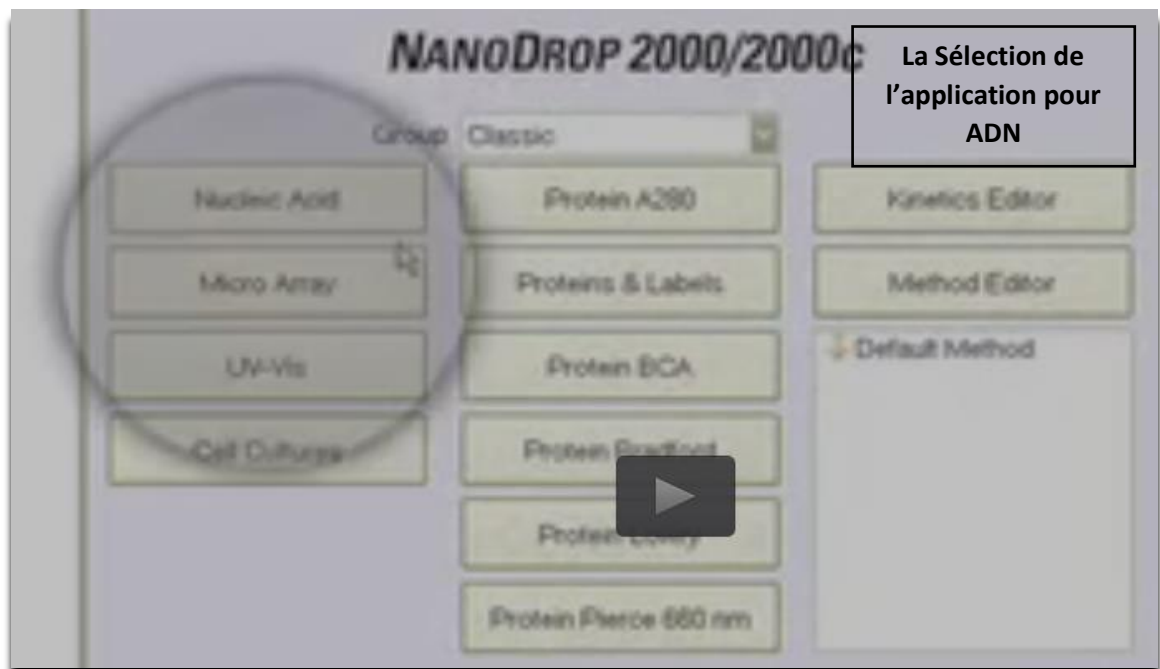
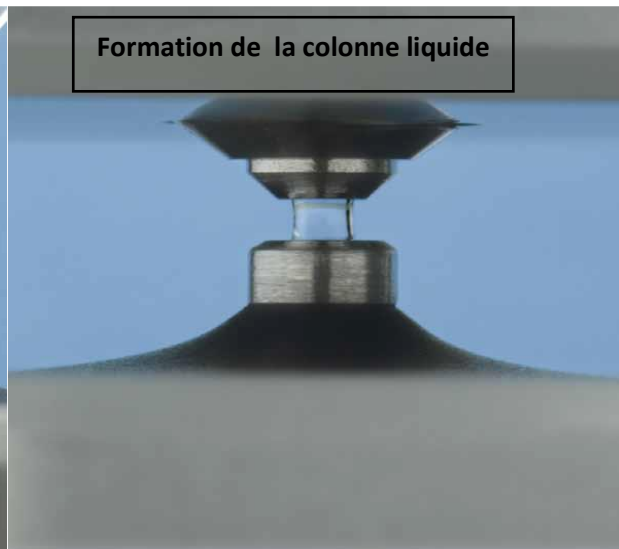
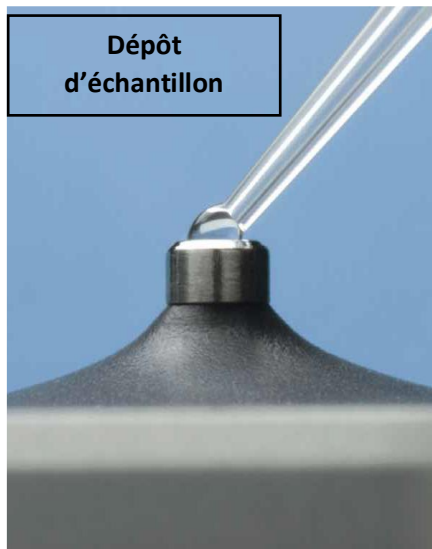
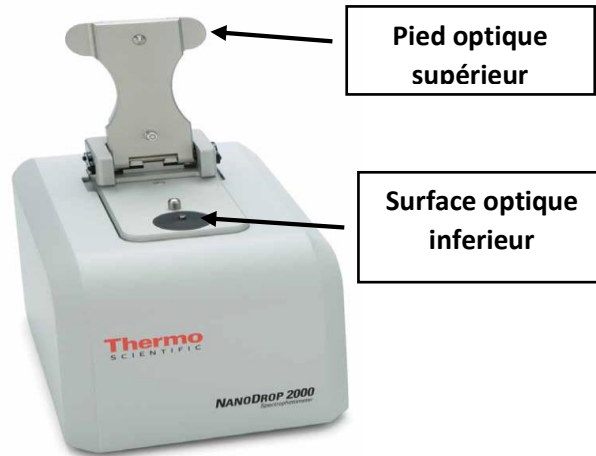
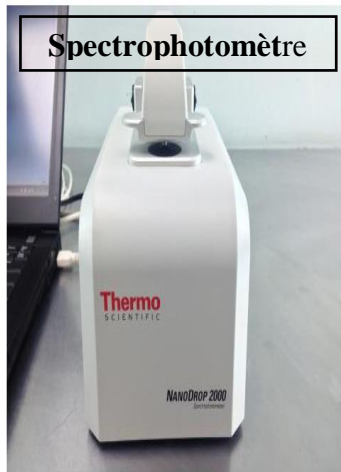
Ratio A260/A280 : un ratio de 1,80 permet de qualifier une extraction d'ADN comme pure. Si ce ratio est inférieur cela signifie que l'extraction est polluée par des protéines et/ou des composés phénoliques.

Ratio A260/A230 : ce ratio indique les composés absorbés à 230 nm. Ces composés peuvent être de l'EDTA, des sucres, le phénol.

-Utilisation de Spectrophotomètre NanoDrop (ND 2000) : (Figure 19)

Le Nano Drop est branché à un ordinateur. Un volume d'échantillon est déposé à l'aide d'une micropipette sur la surface optique inférieure. Une fois le bras du Spectromètre est baissé une colonne liquide est générée par tension superficielle entre les deux pieds histo optiques, elle forme alors un axe optique vertical ; la longueur de l'axe optique s'ajuste automatiquement en temps réel durant la mesure, le raccourcissement de l'axe optique permet de mesurer des concentrations plus élevées. De plus le système de rétention d'échantillons nécessite un nettoyage rapide par un simple essuyage avant et après chaque utilisation à l'aide du papier absorbant de laboratoire pour éviter toute sorte de contamination et aussi pour la fiabilité des résultats.

Pour commencer déposer 2 à 3 microlitre d'eau pure ionisée à la surface optique inférieure, abaisser le bras pour permettre le contact entre le pied distal supérieur et l'eau ionisée. Relever le bras en essuyant les deux pieds optique. En suite Ouvrir le logiciel NanoDrop et sélectionner l'application acide nucléique réaliser un blanc on utilisant une pipette de faible volume et on déposant 1µl de la solution tampon sur la surface optique inférieure, abaisser le bras et sélectionner blanc dans l'application acide nucléique, une fois le blanc est réalisé essuyer les deux surface optique comme précédemment. Choisir le constant pour l'échantillon à mesurer , après le dépôt de l'échantillon et la fermeture du bras optique sélectionner mesure celui-ci va calculer automatiquement la concentration d'échantillons et les rapports des puretés, une fois les échantillons est mesurés passer en revue les données spectrales.



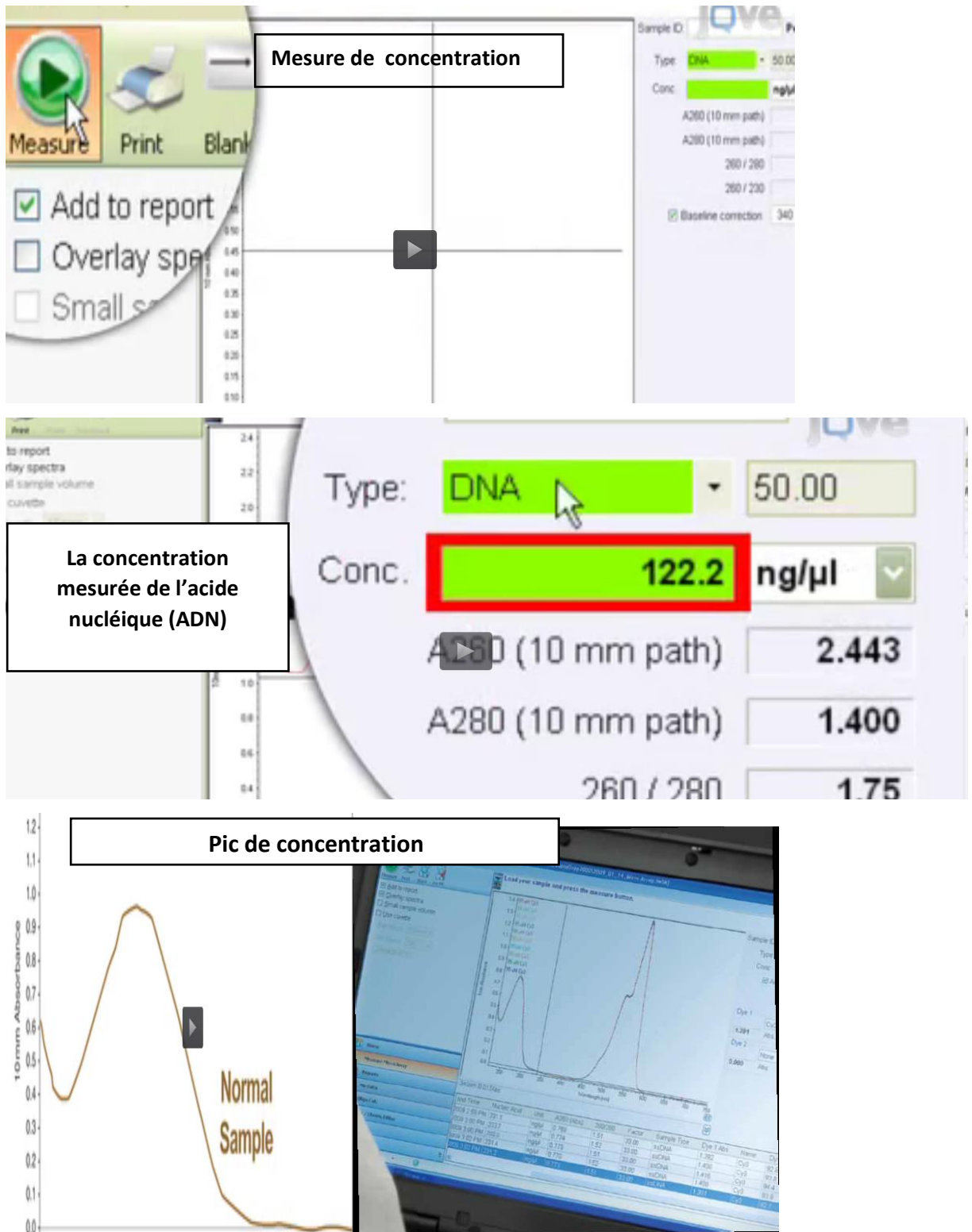


Figure 19 : images représente le Spectrophotomètre NanoDrope (ND2000c), l'application du dosage et enfin la courbe de concentration de l'ADN génomique.

### 5-Principe de la PCR-SSO (Polymérase Chaîne Reaction-Sequence-Specific Oligonucleotide)

La technologie Luminex™ : est fondée sur le principe de la cytométrie en flux, utilisant des billes fluorescentes. Ces billes peuvent être couplées à leur surface avec des sondes oligonucléotidiques, permettant ainsi la détection des allèles spécifiques. Un laser rouge excite les fluorochromes incorporés aux billes de poly-styrène et permet l'identification précise de chacune. Un laser vert excite le fluorochrome qui est couplé à une molécule reportée. Cette molécule reportée (produit d'amplification) permet de détecter l'interaction sonde/amplicon se produisant à la surface de la bille, après addition d'un conjugué marqué avec un fluorochrome émettant dans le vert (phycoérythrine). La fluorescence émise témoigne alors de la réaction en surface.

Le système complet se compose de : (Figure20)

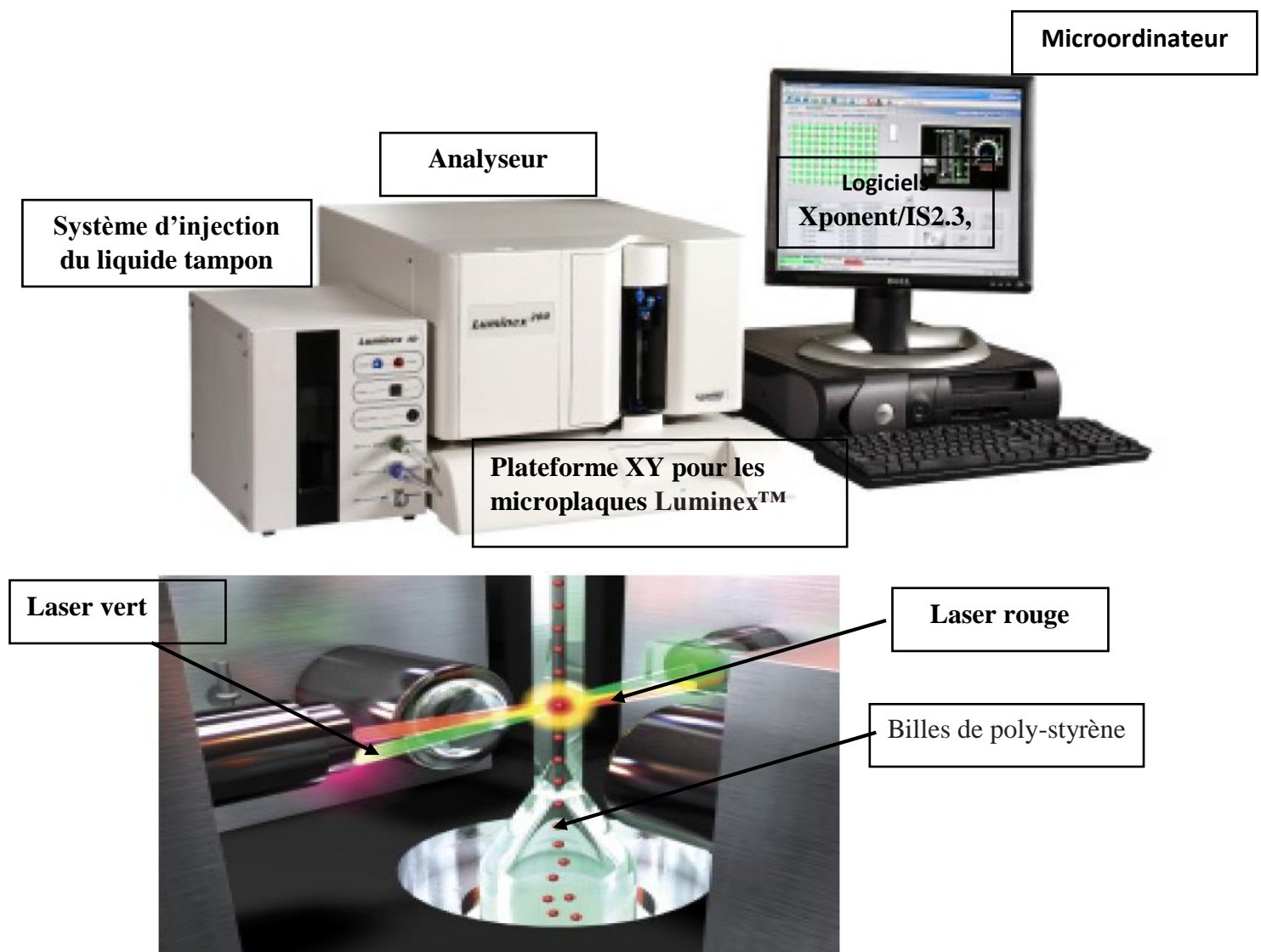


Image 20 : montre de quoi se compose le système Luminex™



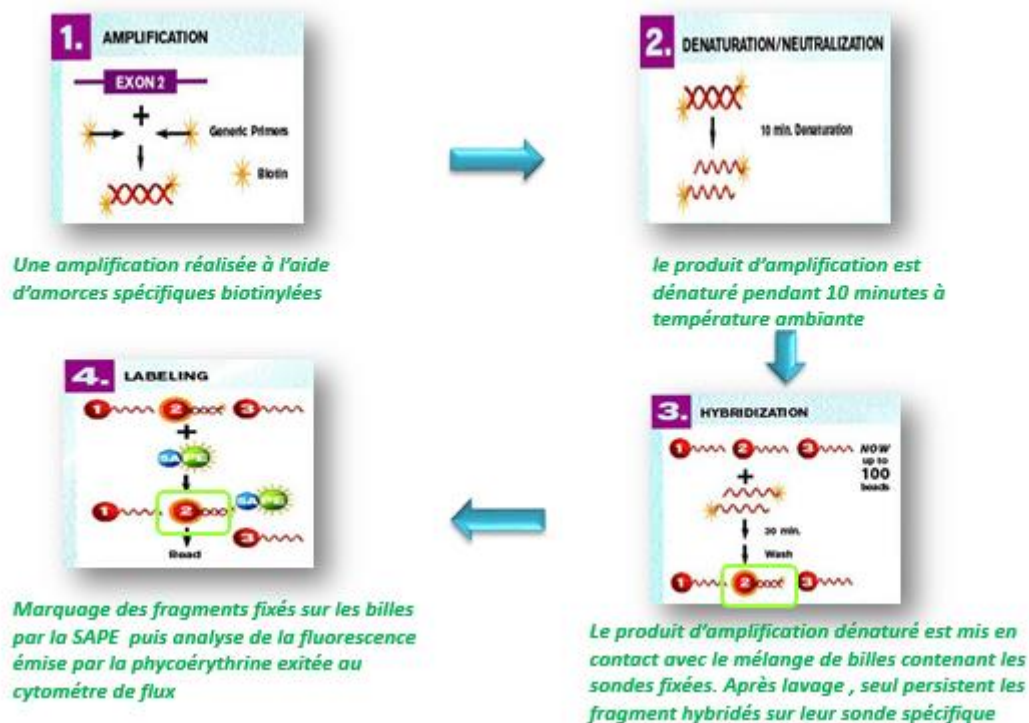


Image 21: représente le principe et les étapes lors de typage HLA II par Luminex™

## 5-1 Amplification d'ADN (PCR) ,(Figure22)

### 5-1.1 Préparation de l'ADN :

Après le dosage de l'ADN génomique, les produits d'extractions sont vortexés pendant 10 à 30 s. Chaque concentration d'ADN sera répartie en fraction de 150ng / ml, les volumes obtenus seront ajustés par de l'eau sans nucléase pour arriver au volume total 10µl.

### 5-1.2 Préparation du Mix :

Préparation d'un mélange réactionnel de 50µl pour chaque patient: Dans un tube Eppendorf, 15µl du Master Mix (solution contenant dNTPs, MgCl<sub>2</sub>, amorces biotinylées), sont additionné à 24,5 µl d'eau sans nucléase et 0,5 µl de la Taq polymérase préalablement vortexée 10 à 30s. Le mélange réactionnel est préparé en excès (Nombre de patients +1) à température ambiante. Dans des tubes PCR (TUBE CORNING Gen Probe), 10 µl de solution (ADN + eau) sont déposés avec 40 µl du Mix préalablement préparé et vortexé pendant 30s.

Les tubes PCR préalablement préparés et bien fermés pour éviter l'évaporation, sont placés dans le thermocycleur (Applied Biosystems 9700), le programme spécial (luminex ampli) est lancé, cette étape durée 2H27minutes.

Tableau VII: Programme d'amplification PCR-SSO Luminex ampli.

Nombre de cycles	Température	Durée d'incubation
1 er cycle	90° C	5 minutes
8 cycles	95° C	30 secondes
	60° C	45 secondes
	72° C	45 secondes
32 cycles	95° C	30 secondes
	63° C	45 secondes
	72° C	45 secondes
1 cycle	72 °C	45 minutes
Infini à 4° C		





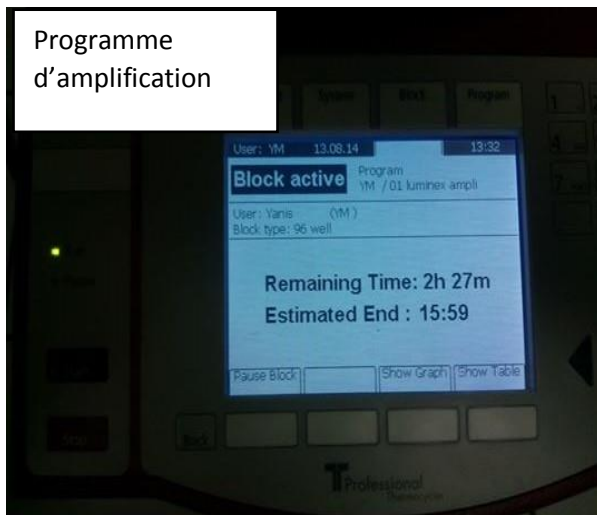


Image 22 : représente le thermocycleur et son programme utilisé pour l'amplification

### 5-2Hybridation : (Figure23)

Dans un bain marie chauffé à 56°C, les billes recouvertes de sondes d'ADN sont incubées pendant 10min afin de les activer. Dans une plaque de 96 puits, 5 µl du produit d'amplification de chaque échantillon sont déposés dans chaque puits, 15 µl de billes préalablement chauffées et vortexées pendant 30s sont ajoutées. Après avoir scellé les puits à l'aide d'un film La plaque est déposée dans le thermocycleur. Lancer le programme d'hybridation pendant 49 minutes.

Tableau VIII : Programme d'hybridation PCR-SSO Luminex hybri .

Température	Durée d'incubation
97°C	5 minutes
47°C	30 minutes
56°C	10 minutes
Maintenir à 56°C	

Dans un tube sec, une solution contenant de la stéptavidine (protéine ayant une forte affinité avec la biotine) plus un tampon adapté à la stréptavidine est préparé et vortexé pendant 30s, les quantités de ces derniers varient en fonction du nombre d'échantillons.

La plaque est retirée du thermocycleur, 170 µl de la solution, tampon et stréptavidine (SA-PE) sont déposés dans chaque puis en absence de la lumière.

### - 5-3 La lecture des résultats : (Figure23)

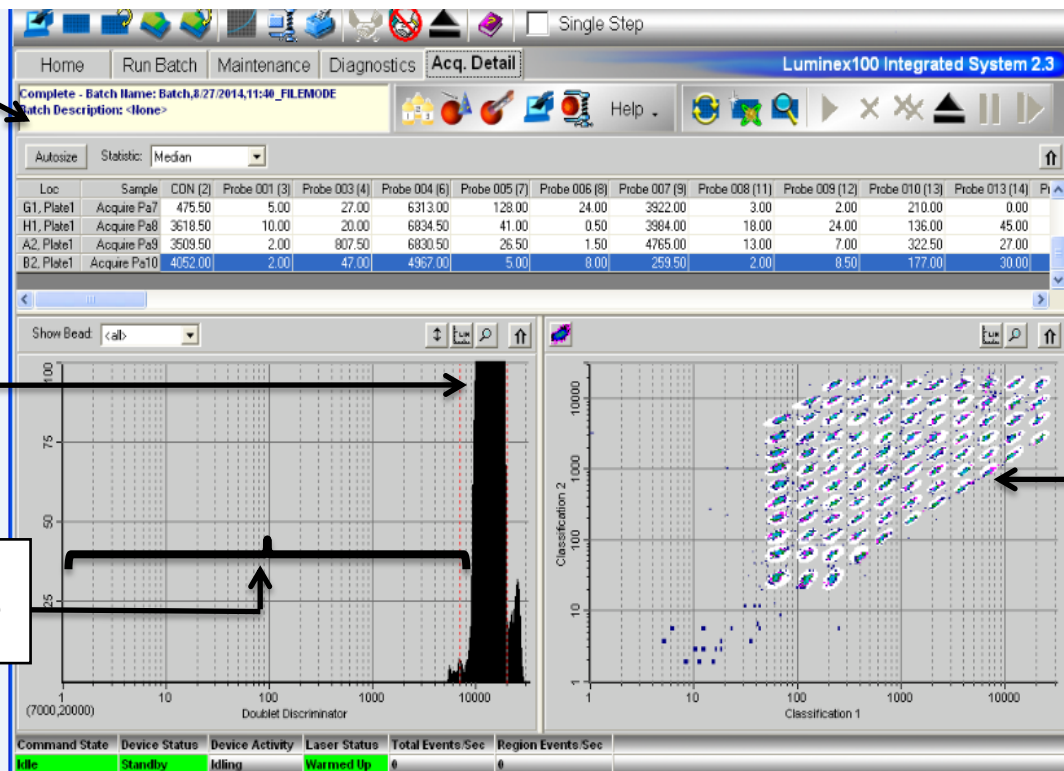
Après avoir déposé la stéptavidine les plaques ont retiré de termocycleur, cette fois elles réservent la place dans luminex à ce moment-là la lecture va être lancée.



Billes témoins

Zone de fluoresc

Degré de fluorescence



Fenêtrage contenant un nuage de microsphères correspond aux différentes catégories

Image 23 : représente logiciel d'acquisition des données qui va permettre de suivre les microsphères (D'après Luminex100).

**5-4 Révélation :**

Les sondes réellement positives sont révélées par une fluorescence émise par les billes qui correspond à la phycoérythrine (PE) qui est un fluorochrome, à l'aide d'un appareil (Luminex GENE-PROBE).

Cette technique de la biologie moléculaire permet de réaliser un typage des gènes HLA de classe II avec deux niveaux de résolutions :

-Typage HLA de niveau générique ou basse résolution qui donne l'équivalent du résultat obtenu par sérologie (phénotype).

-Typage HLA de niveau allélique ou haute résolution détermine les sous variaient alléliques.

### 5-5 Interprétation des résultats : (Figure 24)

Pour l'interprétation, le logiciel (Quick-Type Create Luminex Batch) a été utilisé. L'interprétation des résultats est basée sur la présence, ou l'absence de la fluorescence qui correspond aux fragments amplifiés dans chaque puits.

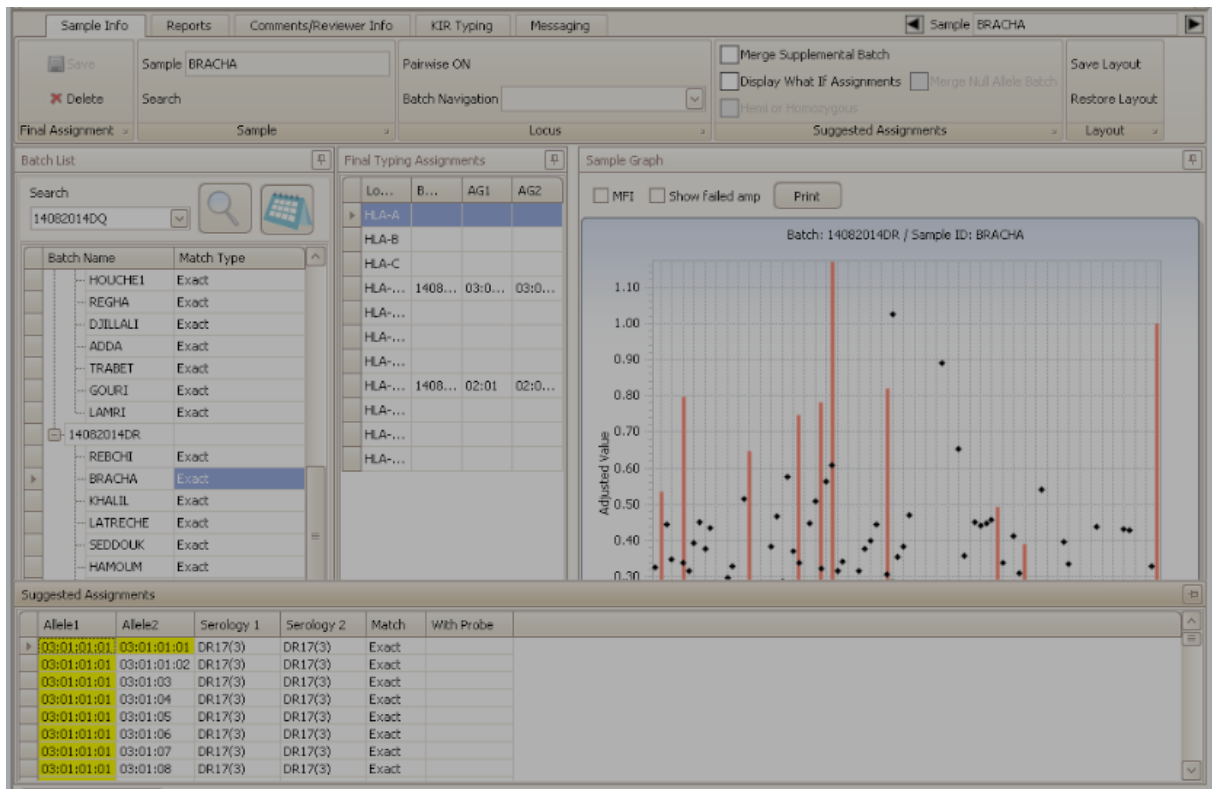


Figure 24 : Logiciel d'interprétation des résultats typage HLA DR-DQ par PCR-SSO

(D'après Luminex 100).

### 6- Etude statistique :

Fréquence allélique, phénotypique et haplotypique : la transmission des allèles HLA DR-DQ suit le monde autosomal Co dominant, la fréquence allélique des gènes HLA DRB1, HLADQB1 est déterminée par comptage des sujets portant un phénotype donné en tenant compte des homozygotes qui sont comptés deux fois. Les fréquences Phénotypique et haplotypique sont évaluées par le même procédé sauf que l'homozygote est compté une seule fois.

Odds Ratio (OR) : l'OR permet d'apprécier l'intensité l'association entre un marqueur et une maladie. Il a été calculé dans le cas où le Pc est significatif. Tous les calculs ont été effectués par le logiciel COMPARE2. Le logiciel Excel a été utilisé pour calculer les moyennes d'âge.

Bien que le complexe HLA soit le système génique le plus polymorphe, chaque population est caractérisée par une signature HLA qui lui est propre et qui est le reflet de l'effet combiné de l'environnement et des événements migratoires des populations. Plusieurs études concernant la description des allèles HLA de la population Algériennes ont été faites à ce jour, mais la plupart concernent les allèles HLA de classe II (HLA-DR-DQ), (Benhamamouche et al, 2007 ; Hors et al, 2007). Dans notre étude, qui englobe un échantillon de 34 patients pris de manière aléatoire et regroupe des individus provenant de toutes les régions d'Algérie, on doit décrire le typage des gènes HLA de classe II (DR-DQ), pour obtenir à la fin les fréquences alléliques, phénotypiques et haplotypiques.

**1-Identification de la population étudiée :**

Les informations recueillies au cours de cette étude ont concerné tous les malades cœliaques enfants, adolescents et adultes, suivis aux services de l'hôpital central de l'armée (HCA). Les prélèvements des patients ont été récoltés durant la période [Mars–Septembre2014].

Dans cet échantillon aléatoire de 34 patients Algériens : 20 Femmes (58,8%) et 14 Hommes (41,17%) atteints de la maladie cœliaque ; la moyenne d'âge pour cet échantillon est de [28,55 ans pour les Femmes et 12,32 ans pour les Hommes], avec des extrêmes de [1ans à 74 ans].

**2-Répartition de la MC en fonction du sexe des patients (n=34)**

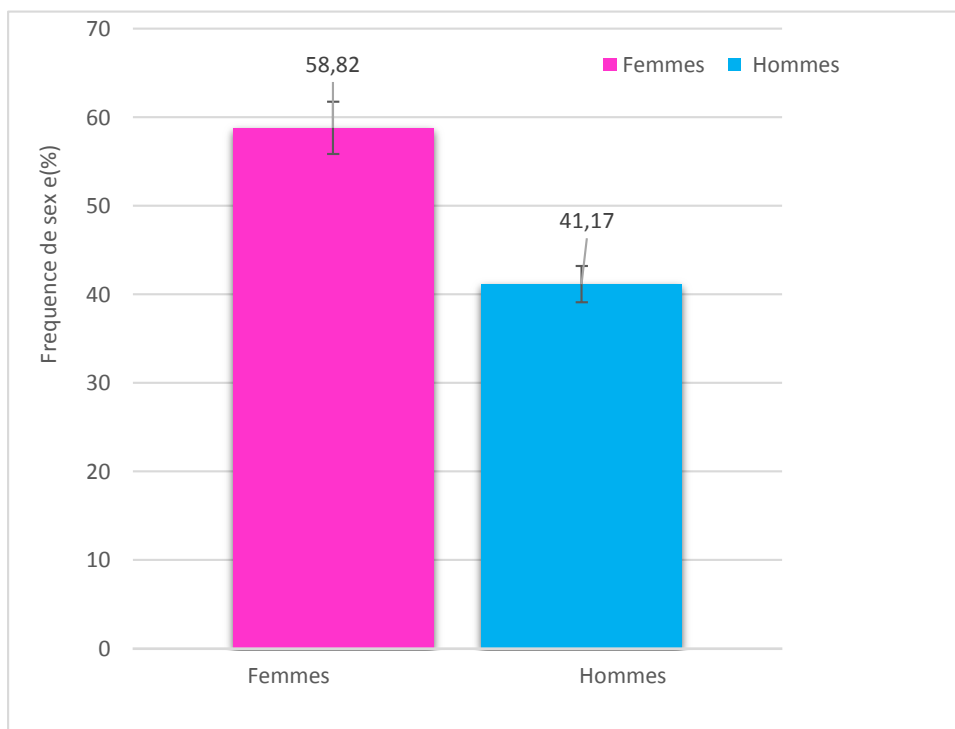


Figure 25: Prévalence de MC en fonction du sexe des patients (n=34).

Dans cette étude les sujets de sexe féminin ont une prévalence de la maladie cœliaque égale à 58,8% (20/34) significativement supérieure à celle des sujets de sexe masculin à 41,17%, (14/34). (Figure25)

Nos résultats sont en accord avec ceux de la littérature qui rapporte une prédominance du sexe féminin : de 2 à 3 fois plus fréquente chez les femmes (Malamut et al, (2010), Tkoub, (2008)). Le sex-ratio définit par le rapport entre le nombre de sujets de sexe féminins sur celui de sexe masculin est égale à 1,42 F/H .Ce sex-ratio se trouve dans l'intervalle rapporté par Benatallah (2009) qui varie entre 1,12 et 1,47 en Algérie .Cependant notre sexe ratio est supérieur à celui trouvé par Bousefiha et al (1999) qui ont rapporté un sex-ratio de 1 mais dans une population maghrébine.

### 3-Répartition de MC en fonction de l'âge des patients :

L'âge des malades cœliaques est réparti sur une étendue allant de 0 à 76 ans.

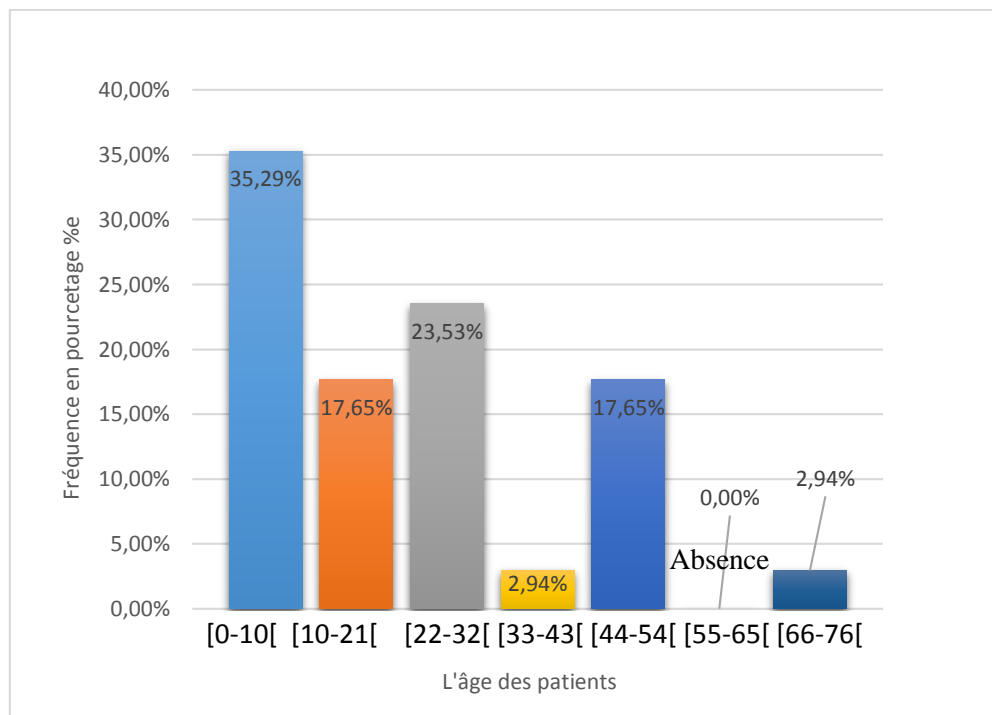


Figure26: Prévalence de MC en fonction de l'âge des patients.

À travers la figure 26, nous avons repartie nos patients selon 7 tranches d'âge allant de 0 à 74ans parmi les 34 patients Algériens dans notre étude, il apparait que la maladie cœliaque se manifeste principalement chez les enfants avec 35% pour la tranche d'âge [0-10[ans ,pour avoir plus d'information sur cette tranche d'âge nous avons la subdivisé en trois sous tranches ,le pic observé à 20,58% chez les tranches d'âge [6-10[ans de (histogramme voir annexe 2).

23% c'est la fréquence observé pour les jeunes adultes âgés entre [22-32 [ans.

Et nous avons remarqué une absence de la MC dans la classe d'âge [55-65[ans dans notre échantillon car nous n'avons pas eu de patients atteints, une minorité de nos patients ont une MC tardive, elle se déclenche après l'âge de 40 ans.

En comparaison aux données de la littérature nos résultats sont comparables à ceux de Catassi (2008), Rampertab et al (2006), Farrell et al (2006). La maladie cœliaque présente deux pics de révélation : un dans l'enfance, en relation avec l'âge de l'introduction du gluten, et à l'âge adulte généralement entre 20 et 40ans. Cependant, l'apparition tardive après l'âge de 40 ans reste en constante augmentation d'après Malamut et Celier (2011). La maladie cœliaque peut toucher n'importe quelle tranche d'âge selon Ninon-Larmirier et al(2009), ce qui semble être le cas de notre échantillon.

#### **4- Etude génétique :**

- L'association des gènes HLA classe II avec la MC est connue depuis les travaux de Falchun en 1972 et confirmée, par la suite par plusieurs travaux .Falchaun et al, (1972).

-Le Typage générique HLA classe II des allèles DR-B1 /DQ B1 :

Le typage HLA a concerné les 34 patients atteints de la maladie cœliaque.

Le typage dans notre étude nous a permis de définir les gènes de susceptibilité à la maladie cœliaque chez un groupe des patients Algériens.

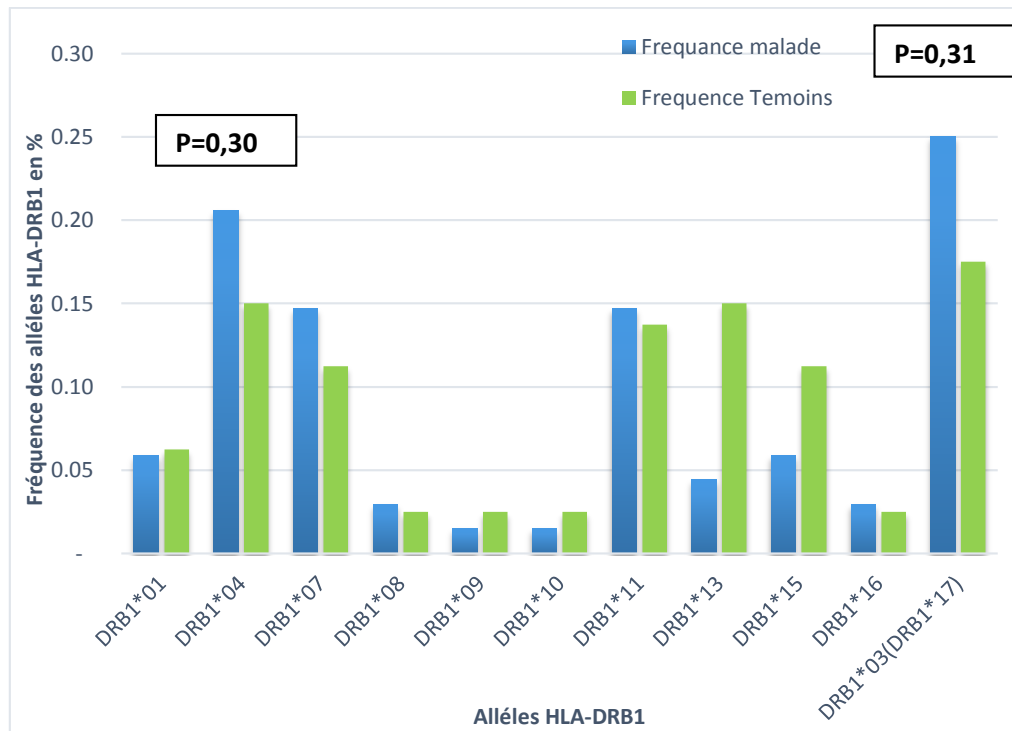


Figure 27 : comparaison entre la fréquence des allèles HLADR B1 des patients MC et des témoins (2n).

**4-1 la comparaison entre la fréquence des allèles HLA-DRB1 des patients et des témoins**

Le polymorphisme de l’HLA-DR montre que les fréquences des allèles HLA-DR B1 les plus fréquents chez les patients (Figure27) est : HLA-DR3(DR17) à 25% (IC=3,13, P=0,31) contre 17,5% chez les témoins malgré que la différence n’est pas significative entre eux, ensuite la fréquence de l’allèle HLA-DR4 égale à 20,50% pour les patients contre 15% chez les témoins (IC=0,3, P=3,2) .Ce explique que les allèles HLA-DR3(17), DR4 sont les plus observés en association à la maladie cœliaque dans cet échantillon que les autres allèles de la figure 27.

L’allèle HLA-DRB1\*01 Chez les témoins notés à 6,25% contre 5,28% chez les patients MC. Donc l’association la plus répondu entre la MC et les allèles HLA-DRB1\* retrouvée dans notre étude est HLA-DR B1\*03(DR17) ce qui es le cas dans la plupart des études sur cette association. Nos résultats sont en accord avec ceux de Benlateur et al (2009) où la fréquence noté est égale à 36,26% qui est la même dans l’ouest algériens (Boudjemaa (2005).

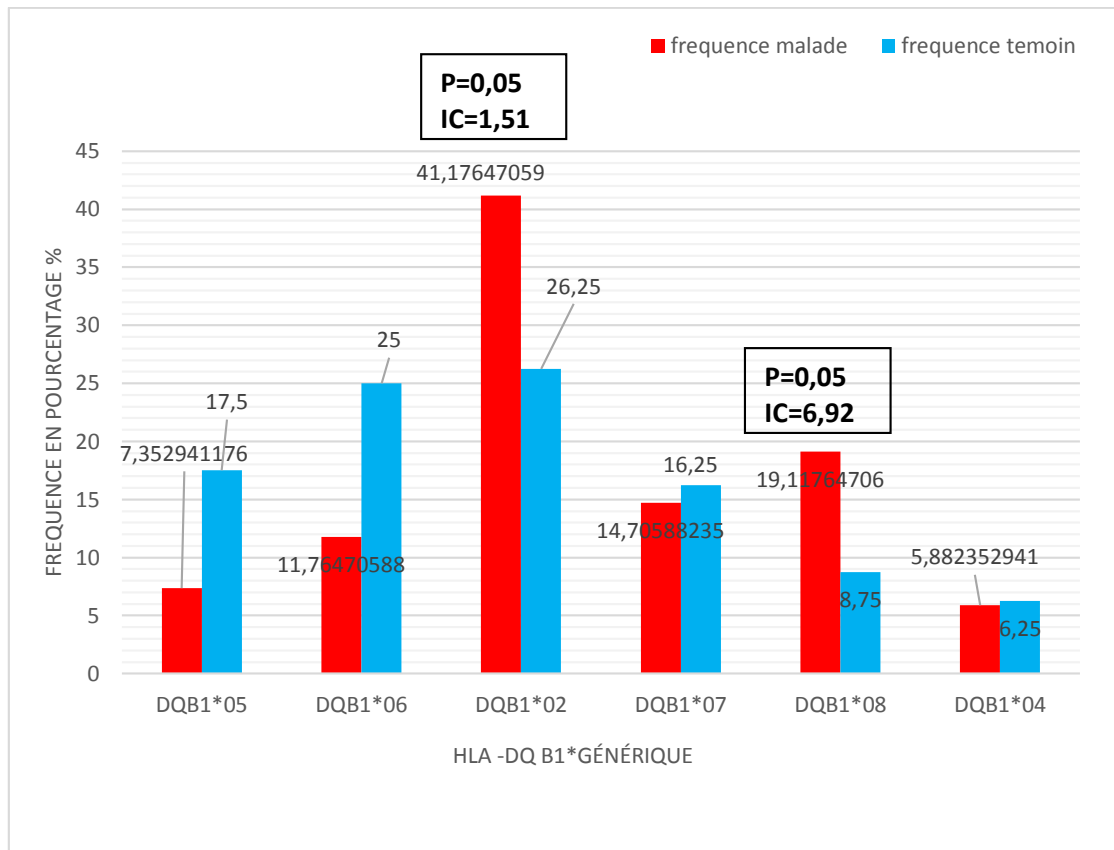


Figure 28 : comparaison des fréquences des allèles HLA-DQB1chez les patients et les témoins.

**4-2 La comparaison entre la fréquence des allèles HLA-DQ B1\*des patients et des témoins**

Sur la Figure28 les résultats de notre étude montrent que la majorité de nos patients atteints de la maladie cœliaque présente le génotype HLA-DQB1\*02 à 41,17% significativement (P=0,05 et IC =1,51) plus élevé que chez les témoins 26,25% ; et une minorité portant HLA-DQB1\*08 à 19,11% pour les patients contre 8,75% chez les témoins. Le génotype HLA-DQB1\*02 est un facteur de prédispositions génétique dans notre échantillon de 34 patients Algériens .Le génotype HLA-DQB1\* 06 est le plus fréquent chez témoins ce qui explique que le gène HLA-DQ B1\*06 c'est un gène protecteur pour ces individus.

Donc les résultats de notre étude montrent que 88,24% des patients portent allèle HLA-DQ2 et/ ou DQ8. Prenant référence à ce qu'il a été déjà démontré dans la plupart des travaux , que la maladie survient chez des patients génétiquement prédisposés exprimant une molécule du système HLA de classe II de type DQ2, DQ8 ; 73,71% des patients porteurs de l'allèles HLA DQ2et /ouDQ8 rapporté par Boudjemaa (2005) dans l'ouest algériens , alors que dans la population européenne, cet allèle est retrouvé à des fréquences supérieurs à 90% d'après Karell et al (2003). De plus, environ 90% à 95% des patients expriment l'hétérodimère HLA-DQ2 ; les autre patients 10% à5% expriment l'hétérodimère HLA-DQ8 d'après Sollid et al(2005), Kagnoff (2007).



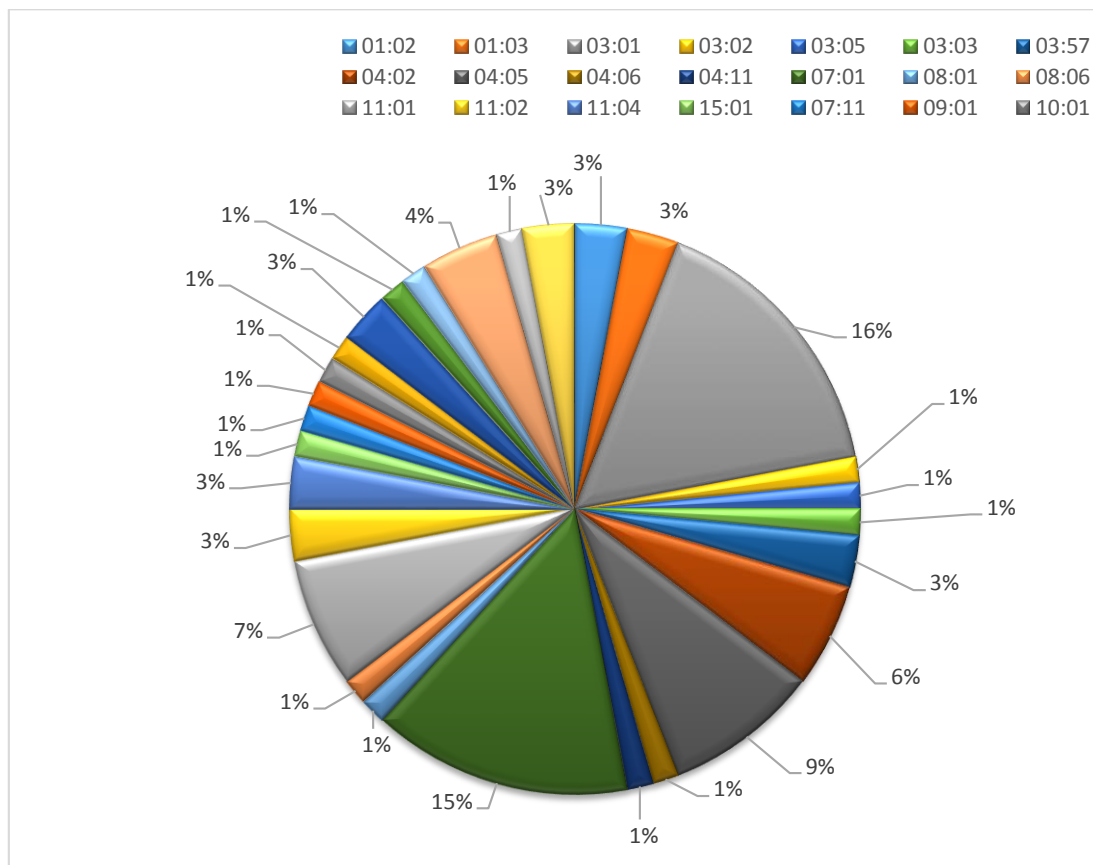


Figure 29: la fréquence alléliques HLA DR B1 des patients à 2n =68.

**4-3 la comparaison des fréquences alléliques HLA-DRB1 chez les patients :**

Vu la figure 29 les allèles les plus réponsus dans cette étude : c'est le 03:01/03:02/03:05/ 03:03/03:57/15 :01 qui donne le génotype HLA-DRB1\*03 (DR17) à 23, 45%, puis nous avons observé les allèles : 04 :02/04 :03/04 :05/04 :06/04 :11, ce qui donne HLA-DRB1\*04 avec une fréquence égale à 19, 11% en plus nous avons trouvé les allèles 07:01/ 07:11 qui représente le génotype HLA-DRB1\*07 à 16,17%. La présence des allèles 11:01/11:02/11:04/11:32 avec une fréquence de 14,7%, qui donne HLA-DR B1\*11. Donc les allèles associés à la maladie cœliaque dans notre échantillon de 34 des patients algériens c'est l'allèle HLA-DRB1\*03 (DR17). D'après Chimitz (1996) les allèles le plus abondants en France HLA-DR B1\*03, DR B1\*07.

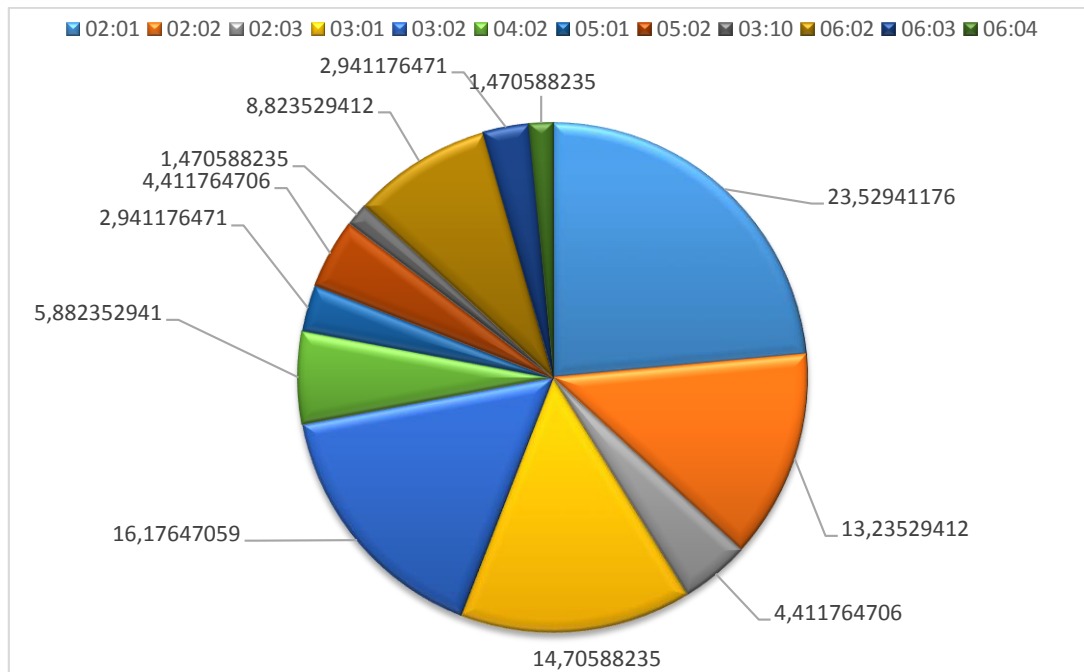


Figure 30 : la fréquence allélique HLA-DQ B1 des patients à 2n =68.

**4-4 la comparaison des fréquences phénotypiques HLA DQ chez les patients :**

Nous avons trouvé ( Figure30) ,les allèles 02:01/02:02/02:03 correspond au génotype HLA-DQ B1\*02, il est omniprésent dans notre échantillon de 34patients algériens porteurs de la maladie cœliaque, avec une fréquence égale à 41,15% suivie par 17,64% pour le génotype HLA-DQ B1\*08 des allèles: 03:02/03:10 .

Et enfin l’allèle le plus fréquent chez nos patients est le HLA-DQ B1\*02 en premier lieu et HLA-DQ B1\*08 en deuxième lieu.

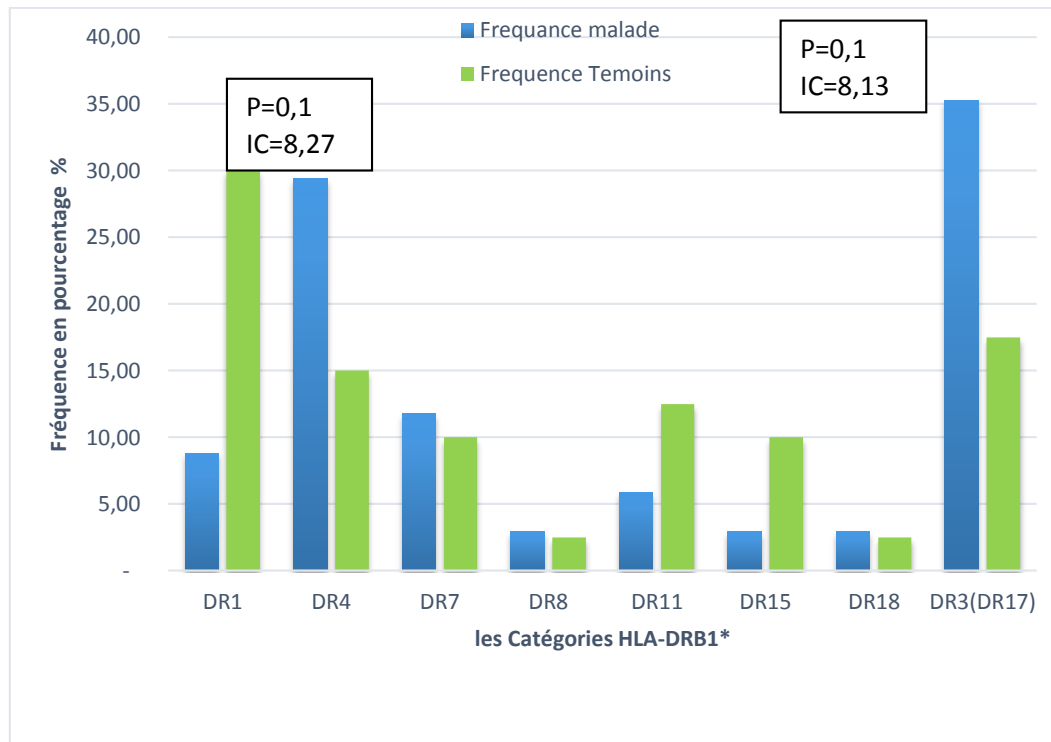


Figure 31 : la comparaison entre la fréquence phénotypique HLA-DR chez les patients (n=34) et les témoins.

**4-5 la comparaison entre la fréquence phénotypique HLA-DR chez les patients et les témoins :**

Dans cette étude notre échantillon de 34 patients Algériens, la figure 31 montre la fréquence phénotypique la plus marquée principalement est l'allèle HLA-DR17 (HLA-DR B1\*03) égale à 35,29% chez les patients contre 17,5% pour les témoins, avec un p=0,1 et OR IC =8,13% (différence n'est pas significative) de même, une fréquence trouvée en deuxième lieu égale à 29,41% contre 15% des témoins pour l'HLA-DR4 p=0,1 OR IC=8,27.

en revanche les allèles les plus abondants chez les témoins avec des fréquences plus élevées à celle des malades : HLA-DR1 noté à 30% contre 8,82% ainsi la fréquence phénotypique de l'HLA-DR11 à 12,5% contre 5,88% des patients ce qui explique pourquoi ces derniers n'ont aucune relation avec l'atteinte de la maladie cœliaque, les deux fréquences phénotypiques des allèles HLA-DR8, DR18 presque similaires chez les malades et les patients confirment aussi l'absence de lien entre la maladie et les allèles cités.

Donc, notre travail montre que la majorité de nos patients atteints de la maladie cœliaque portent l'allèle DR17 et/ou HLA-DR4, à 64,7% et ceux qui portent l'allèle HLA-DR3 et /ou DR7 avec une fréquence égale à 35,29% la plupart des études faites trouvent que 95,8% des patients caucasiens portent DR3, DR7 (Chester et al, 1986), les patients avec le gène HLA-DR4/DR3

dans la population Tunisienne égale à 68,5% (Bouguerra et al, 1997), en Maroc la fréquence égale à 34,5% (Tounsi, 2003). Nos résultats sont en accord avec les résultats de la littérature.

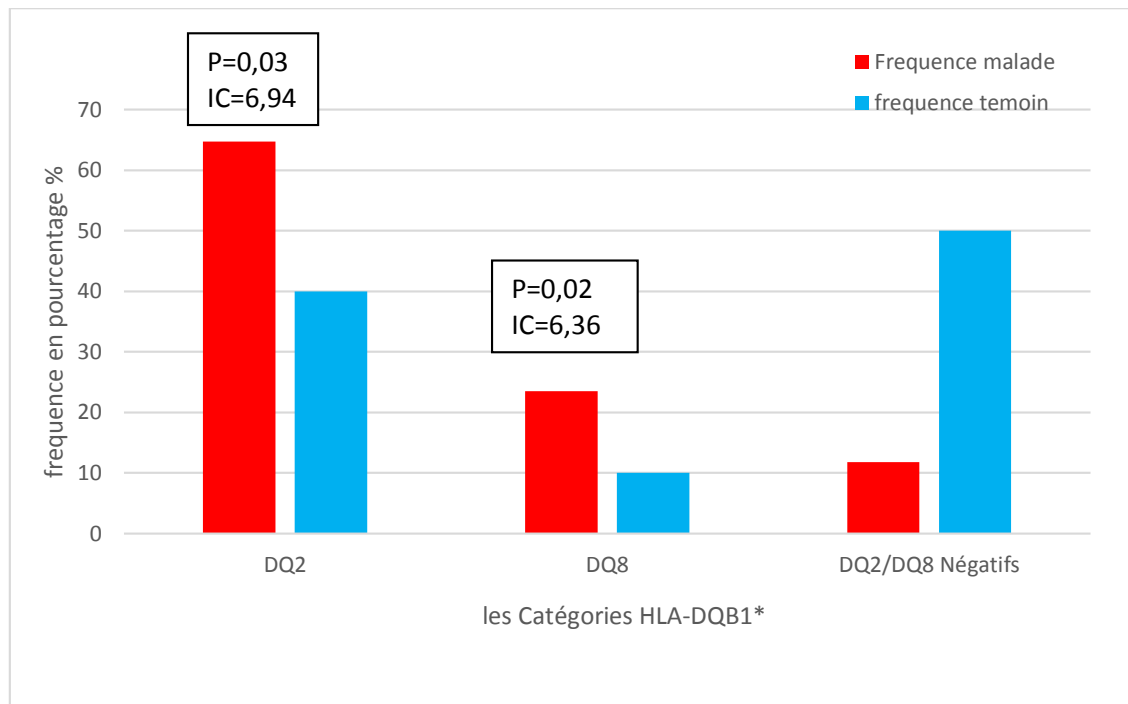


Figure 32 : la comparaison entre la fréquence phénotypique HLA-DQ chez les patients et les témoins.

**4-6 la comparaison entre la fréquence phénotypique HLA-DQ chez les patients et les témoins :**

Dans notre l'échantillon étudié de 34 patients Algériens , le résultat (Figure 32) montre que la majorité de nos patients atteints de la maladie cœliaque portent le gène HLA-DQ2 à une fréquence égale 64,70% significativement élevée à celle des témoins 40% avec un P=0,03 , OR=6,94. Vu le gène HLA-DQ8 de nos patients la fréquence notée à 23,52% chez les malades contre 10% chez les témoins, un P=0,02 et OR=6,36.

La présence de l'allèle HLA-DQ2, DQ8 négatifs dans cet échantillon à 50% contre 11,76% chez les patients cœliaque montre que les personnes saines ne le possèdent plus. Hélas ils portent d'autre déterminant génétique différent.

Nous avons fait référence aux autres travaux et ce qui nous a permis de confirmer la fiabilité de nos résultats, nous avons des patients MC qui portent souvent le gène HLA-DQ2 et occasionnellement le gène HLA-DQ8, selon Tamouza et al, (2009) l'allèle HLA-DQ2 majoritairement présent dans la population de l'ouest algérien avec une fréquence égale à 69%, et nous avons trouvé un DQ8 avec une fréquence 23,52% supérieure à celle des patients

européens égale à 18,68% ( Braham ,2000) , et selon Boudjema (2005).13,2% dans l’ouest algérien.

Dans notre étude les allèles HLA-DQ2et/ou DQ8 trouvés égale à 88,23% en comparaison à une étude de Belanteur et al (2009) qui a noté 89,98% et Boudjema en 2005 a trouvé 73,71%.

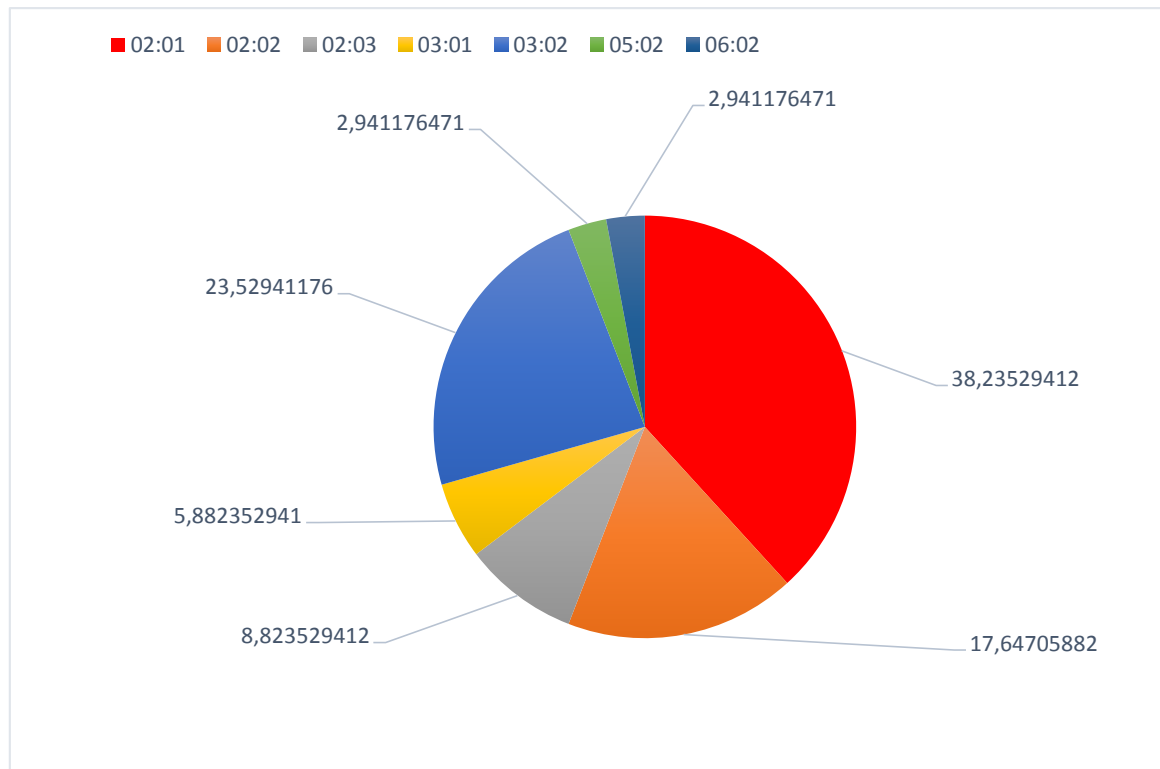


Figure 33 : comparaison entre les fréquences alléliques HLA-DQ B1 chez les patients.

**4-7 la comparaison des fréquences alléliques de l’HLA-DQB1chez les patients :**

Nous avons remarqué (Figure33) que l’allèle HLA-DQB1\* 02 :01 est le plus fréquent que les deux autres allèles 02:02,02:03 avec des fréquences égale à 38,23% ; 17,64% ; 8,82% respectivement, alors que l’allèle HLA-DQB1\* 03 :02 a une fréquence égale à 23,52% inférieur à la somme des fréquences alléliques HLA-DQB1\*02 notées à 64 ,69%.

Donc la majorité des patients de notre étude portent l’allèle 02:01, ce qu’il confirme que la MC se développe beaucoup plus chez les patients qui expriment HLADQ2.

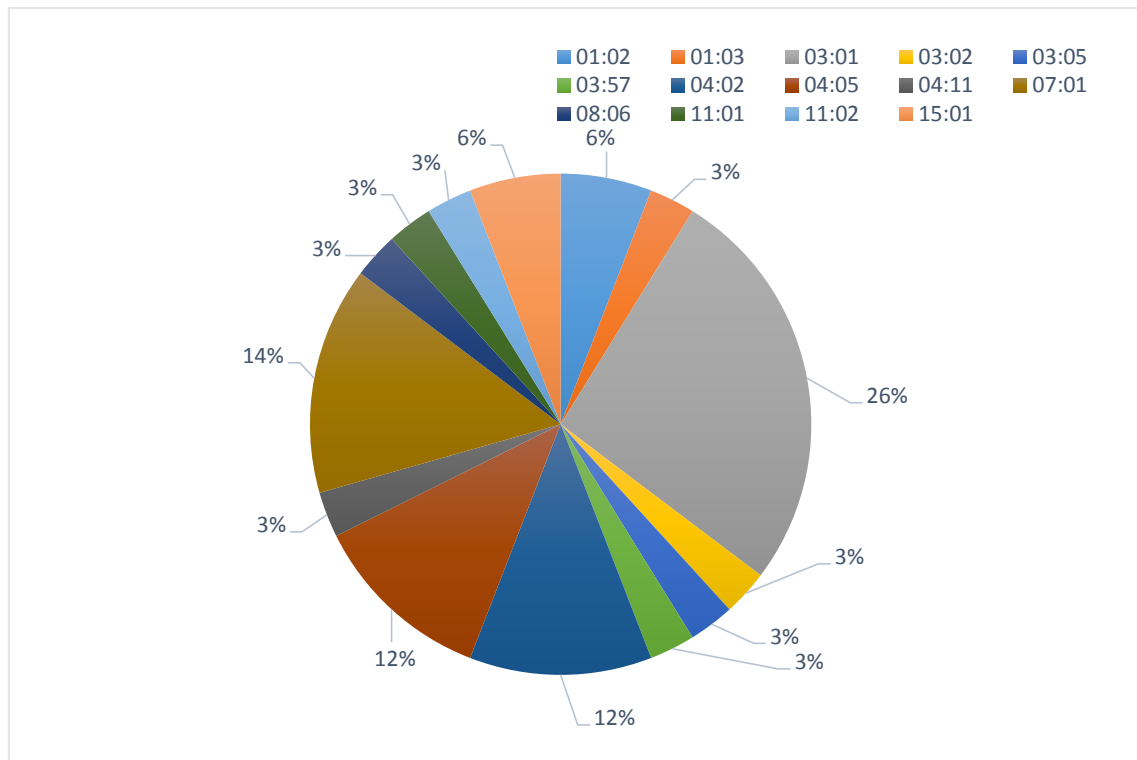


Figure 34: comparaison entre les fréquences allélique HLA-DR B1\* chez les patients.

**4-8 la comparaison des fréquences alléliques de l’HLA-DR B1\* chez les patients :**

Notre étude plus la figure 34 , trouve que l’allèle HLA-DRB1\*03:01 à une fréquence égale à 26,47% chez les patients , c’est le plus répondu parmi les autres , tandis que le 15:01 est moins fréquent avec une fréquence égale à 5,88%, le reste des allèles HLA-DRB1\* 03:02/ 03:03 /03:05 /03:57 ont une fréquence similaire et est égale à 2 ,94%, la somme de ces fréquences trouvé égale à 44,05% pour HLA-DRB1\*03(DR17) il est majoritaire chez nos patients par rapport aux autres allèles ; une fréquence de 26,46% chez les patients porteurs de l’ HLA-DRB1\* 04:02 / 04:05/04:11,et une minorité des patients algériens portent HLA-DRB1\*07:01 avec une fréquence égale à 14,70% .

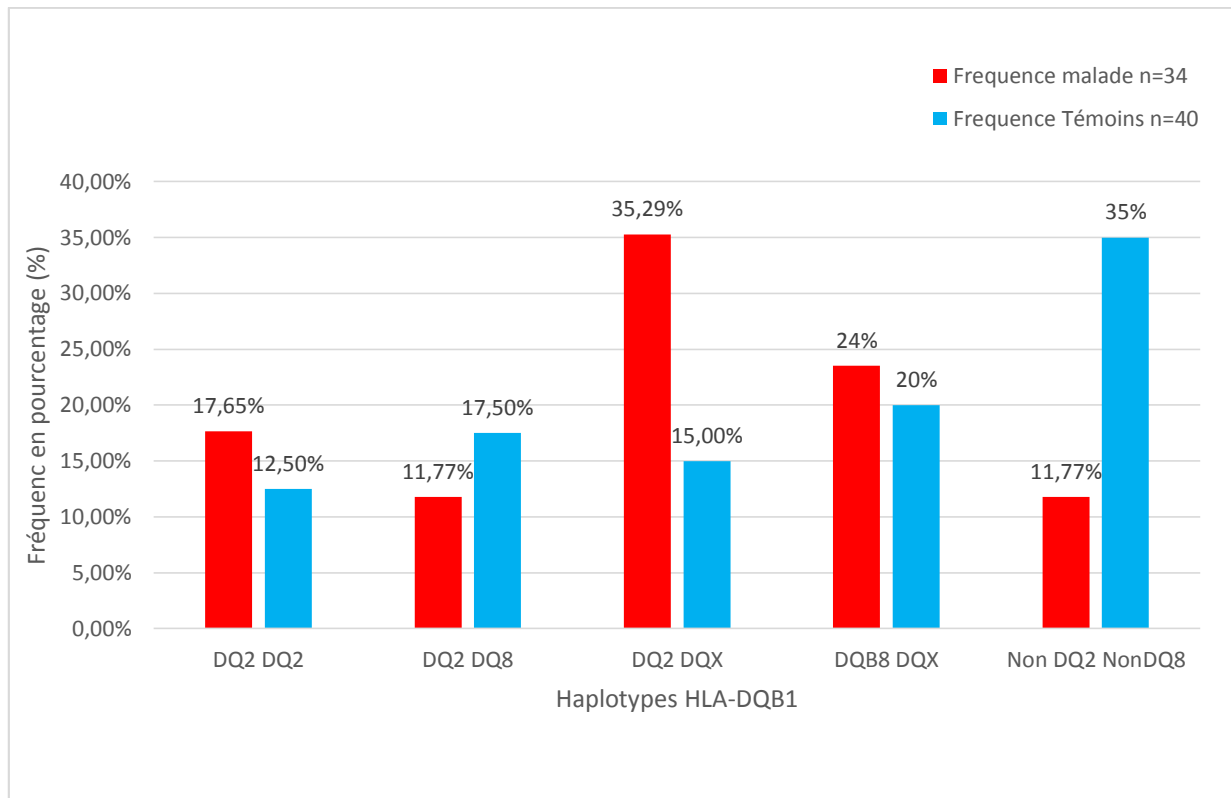


Figure 35 : la comparaison de Fréquence de l’homozygotie et de l’hétérozygotie des allèles HLADQB1 chez les patients et les témoins (X était n’importe quel allèle autre que DQ2 et DQ8).

**4-9 la comparaison entre la fréquence de l’homozygotie et de l’hétérozygotie des allèles HLA-DQB1\*chez les patients et les témoins :**

À travers l’échantillon étudié de 34 patients Algériens et la Figure35, nous avons remarqué que les hétérozygoties sont les plus fréquents (12/34) avec une fréquence égale à 35,29% significativement plus élevée à celle des témoins 15% (6/40) (P=0,05 OR=110,84). Par contre la fréquence à l’état homozygotie (DQ2/DQ2) trouvée chez les patients égale à 17,67% (6/34). Les patients portant l’allèle HLA-DQ2/HLA-DQ8 sont des hétérozygotes pour la maladie cœliaque la fréquence égale à 11,76% (4/34). Il y’a les patients hétérozygotes pour la MC avec l’allèle HLA-DQ8/HLA-DQX (8/34) à 24% .Par ailleurs , les hétérozygoties porteurs de l’allèle HLA-DQ2/HLA-DQ8 négatif dans notre échantillon est (4/34) avec une fréquence de 11,76%.

D’après les résultats de notre étude, ils semblent que les sujets HLA-DQ2/DQX hétérozygotes présentent le risque le plus important pour développer la maladie cœliaque (P=0,05 OR=10,84) .Des résultats similaires ont été trouvés chez les patients algériens à 49,45% (P=0,03 OR=2)

(Belanteur et al, 2009). Les études réalisées pour l'état homozygotie et l'hétérozygotie des patients cœliaques ont des homozygoties (DQ2/DQ2) majoritaires et une minorité homozygoties (DQ8/DQ8). Dans notre étude nous avons un résultat pour l'homozygoties (DQ2/DQ2) environ 17,64% de nos patients cœliaques mais, l'état de l'homozygotie (DQ8/DQ8) est totalement nul.

En effet chez les patients homozygotes leurs cellules présentatrices d'antigènes (CPA) provoquent des réponses cellulaires T spécifiques du gluten quatre fois plus forte que les CPA hétérozygotes ceci peut expliquer l'abondance des molécules HLA DQ2/DQ8 capable de présenter le peptide du gluten (Bourgane et al, 2007), cependant c'est formellement le contraire dans notre population les CPA hétérozygotes sont les plus actives que les CPA homozygotes. Dou les patients hétérozygotes présenteraient un risque plus important à développer la maladie cœliaque dans notre population étudié.

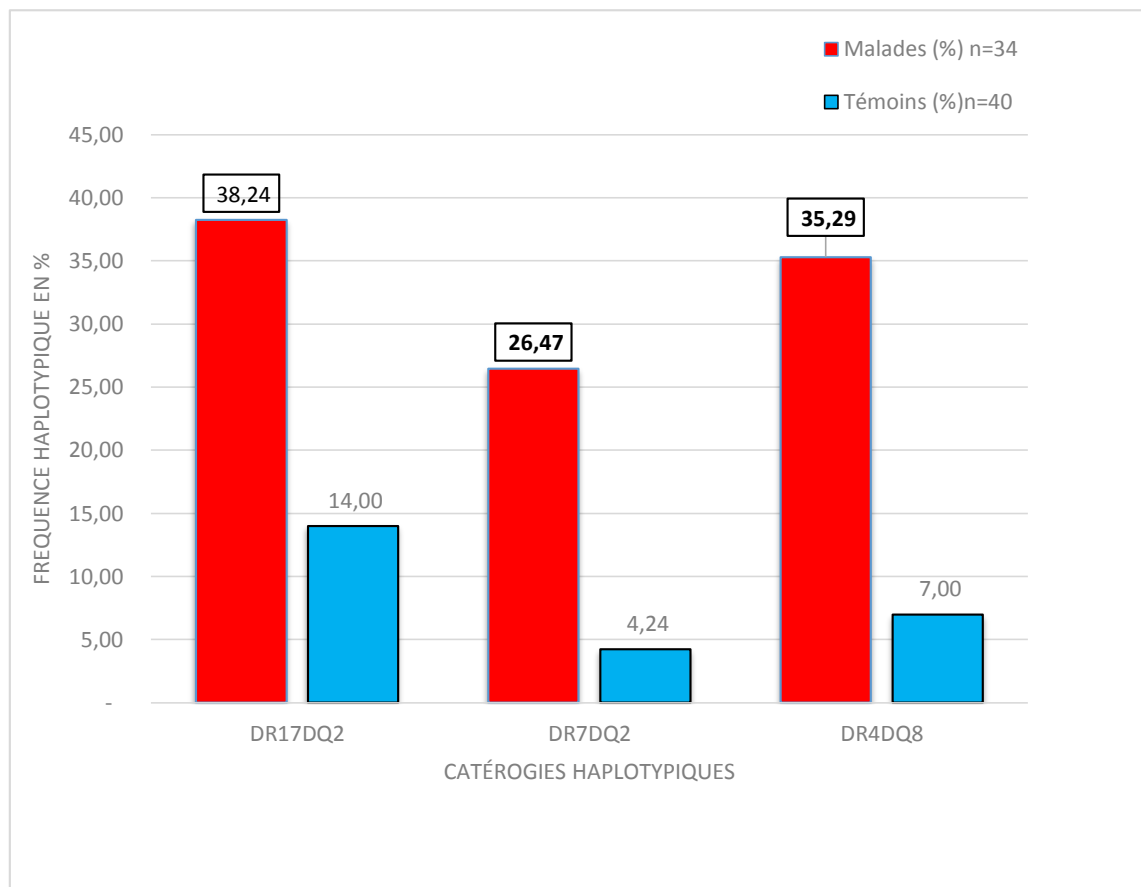


Figure 36 : Fréquence des haplotypes HLA-DRB1 DQB1 chez les malades et les témoins

**4-10 la comparaison entre la fréquence des haplotypes HLA-DRB1, HLA-DQB1 chez les patients et les témoins :**



Notre échantillon de 34 patients Algériens atteint de la maladie cœliaque et sur la Figure 36, nous avons constaté la fréquence haplotypique HLA-DR17/DQ2 c'est la plus élevée chez nos patients et est égale à 38,24% (13/34) contre (10/40) à 14% chez les témoins. L'haplotype HLA-DR4/DQ8 chez (12/34) des patients avec 35,25%. La fréquence haplotypique HLA-DR7 /DQ2 chez les malades égale à 26,47% (9/34).

L'étude de la prédisposition liée aux haplotypes HLA-DRB1/DQB1 montre que la susceptibilité à la maladie cœliaque semble être conférée plus par l'haplotype HLA-DR17/DQ2 que par les haplotypes HLA-DR4/DQ8, HLA-DR2/DQ2 dans notre étude. Ce qui est identique aux autres enquêtes (Belanteur et al., 2009), En Algérie l'haplotype HLA-DR17 DQ2 est majoritairement porté par les patients (49/91) associé à une grande fréquence par rapport aux autres haplotypes égale à 44,59%. En Europe du nord selon Roujon et al (2011), l'association HLA maladie cœliaque liée à l'haplotype DR3 DQ2 (90% contre 30% chez les témoins).

Les résultats de notre travail confirment le rôle majeur des hétérodimères HLA-DQ2 DQ8 dans la survenue de la MC chez les patients Algériens étudiés. L'hétérogénéité génétique dans la position de cette affection reflète celle des peptides dérivant du gluten. En effet il a été démontré que l'hétérodimère DQ2 présente aux LT des peptides différents des peptides présentés par l'hétérodimère DQ8.

Au terme de ces résultats, il apparaît que la susceptibilité à la maladie cœliaque par les gènes HLA de classe II est apportée en premier lieu par l'allèle HLA-DQ2 puis par l'allèle HLA DQ8. L'association avec DR3 (DR17) pourrait être l'effet de déséquilibre de liaison avec l'allèle HLA DQ2.

### **5- l'implication des allèles HLA-DQB1 dans l'apparition des manifestations cliniques de la maladie cœliaque :**

L'étude de génotypage HLA-DQB1, nous a permis d'établir un lien entre la génétique de la maladie cœliaque et les différents critères cliniques des patients Algériens. Le diagnostic de la maladie cœliaque repose sur la mise en évidence des anomalies histologiques et sérologiques positives.

Au vu des résultats obtenus, nous avons subdivisé notre échantillon en deux grands groupes :

Groupe 1 : Des patients nouvellement diagnostiqués (n= 21).

Groupe 2 : Des patients déjà diagnostiqués au paravent (n=13).

Tableau IX : récapitulatif des différents signes cliniques chez les patients nouvellement diagnostiqués groupe 1. (Sq : Signes Cliniques)

Allèles HLA DQB1 Sq	DQ2 (14)		DQ4 (3)		DQ5 (3)		DQ6 (3)		DQ7 (6)		DQ8 (7)		
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	
Sérologie	8	6	2	1	1	2	2	1	5	1	6	1	
RSG	8	6	2	1	2	1	0	3	3	3	4	3	
diarrhée chronique	11	3	1	2	2	1	2	1	6	0	4	2	
Diabète type 1	5	9	1	2	1	2	1	2	0	6	2	5	
Douleurs abdominales	8	6	0	3	3	0	0	4	2	4	4	3	
Retard de croissance	6	8	1	2	0	3	1	2	2	5	3	2	
M de la thyroïde	2	12	1	2	0	3	2	1	1	5	4	3	
Anémie	8	6	1	2	1	2	1	2	1	5	5	2	
Histologie positive	total	4	5	0	1	1	2	0	3	0	3	3	1
	sub total	5		2		0		0		1		4	

Tableau X : récapitulatif des différents signes cliniques chez les anciens patients diagnostiqués groupe 2. (Sq : Signes Cliniques).

Allèles HLA DQB1 Sq	DQ2 (9)		DQ5 (2)		DQ4 (3)		DQ6 (4)		DQ7 (3)		DQ8 (5)	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Sérologie	6	3	1	1	2	1	2	2	2	1	2	3
RSG	8	1	1	1	2	1	3	1	3	0	4	1
diarrhée chronique	6	3	1	1	2	1	2	2	0	3	2	3
Diabète type 1	7	2	2	0	2	1	3	1	3	0	2	3
Douleurs abdominales	8	1	1	1	2	1	2	2	2	1	1	4

Retard de croissance	7	2	2	0	2	1	1	3	2	1	4	1	
M de la thyroïde	6	3	0	1	3	0	4	0	1	2	4	1	
Anémie	4	5	2	0	2	1	2	2	3	0	2	3	
Histologie positive	total	3	1	0	1	2	0	2	0	2	0	2	1
	sub	5		1		1		2		1		2	
	total												

5-1 Fréquences des autos anticorps anti transglutaminase tissulaire (T tG) sérique en fonction des allèles HLADQB1 :

Nous avons pris les résultats des autos anticorps (TtG) de nos patients au niveau de laboratoire, unité d'auto immunité du service d'immunologie. Après avoir réalisé le diagnostic sérologique, les résultats fournies de (TtG) de nos patients du groupe 1 (les nouvellement diagnostiqués) mise en évidence le taux des (TtG) : si le taux des anticorps anti (TtG) dans le sérum des patients <à 20 ce dernier considéré négatif et si le taux des anticorps anti (TtG) est > à20 le patient a la sérologie positive pour la MC.

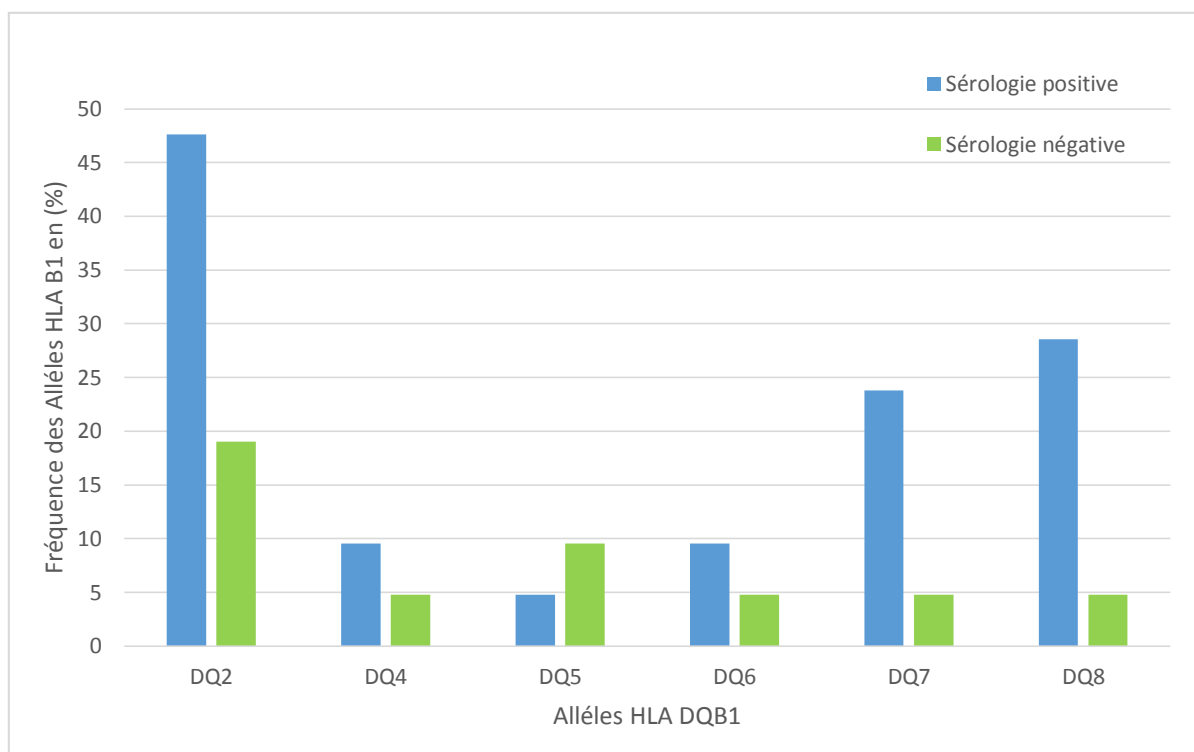


Figure 37 : fréquence d’apparition des autos anticorps anti TtG des patients de groupe 1 en fonction des allèles HLADQB1.

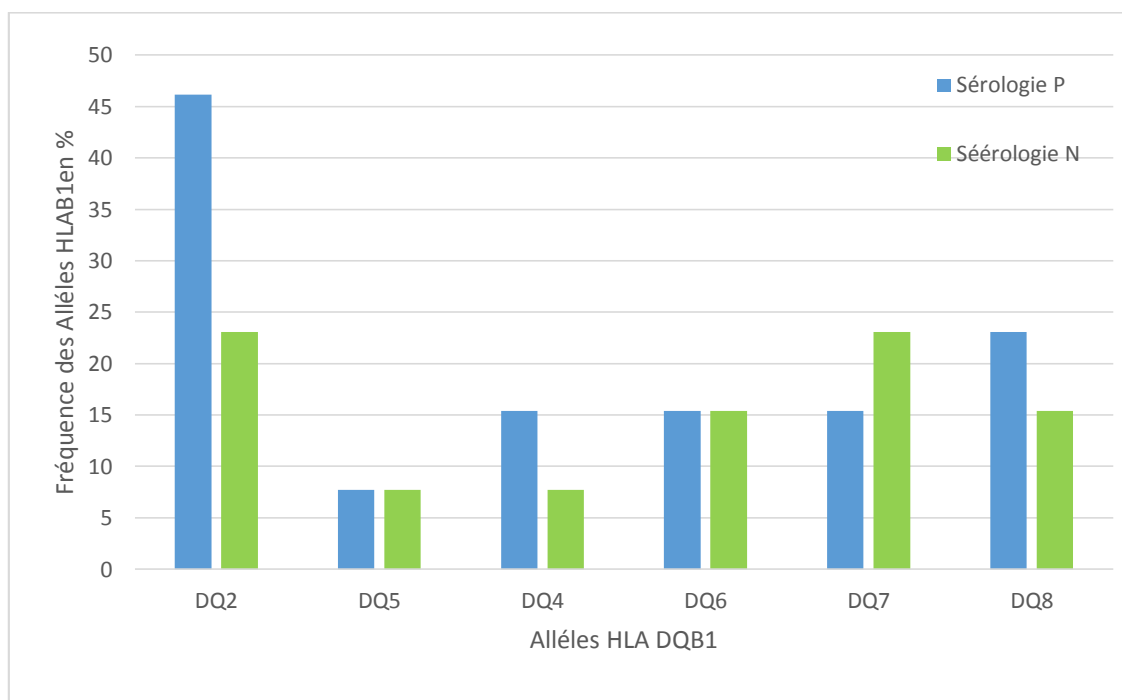


Figure 38 : fréquence d’apparition des autos anticorps anti TtG des patients de groupe 2 en fonction des allèles HLADQB1.

Les résultats du génotypage HLA-DQB1 ont révélé que tous les allèles associés à une sérologie positive des autos anticorps anti transglutaminase tissulaire .Chez les patients porteurs des allèles DQ2 de G 1(Figure37) et de G 2(Figure38) respectivement , à 47,61% ; 46,15% , pour l'allèle HLA-DQ8 à 28,57% G1;23,07% G2, Vu les publications sur l'association entre la sérologie positive /négative à la MC et les allèles HLA DQB1 nous avons trouvé une similitude entre nos résultats et les résultats de Boudjema (2005) sur un groupe des patients de l'ouest Algérien, une fréquence de 45% des patients porteurs de l'allèles HLA-DQ4 avec une sérologie positive . Des études canadiennes sur un échantillon des patients coliques montrent que tous les allèles HLA-DQB1 sont associés à la MC à l'exception de l'allèle HLA-DQ4 qui n'est pas présent chez les patients colique (Fine et al, 2008). Ceci s'explique par une différence ethnique du polymorphisme génétique des deux populations (Algérienne et Canadienne). Donc l'allèle HLA DQ 4 est spécifique pour les patients Algériens, et tous nos patients avec les allèles HLA DQ2, 4, 5, 6, 7,8 ont une sérologie positive.

5-2 la fréquence de diagnostic histologique en fonction des allèles HLADQB1 :

La biopsie intestinale de l'intestin grêle permet l'évaluation des structures villositaires.

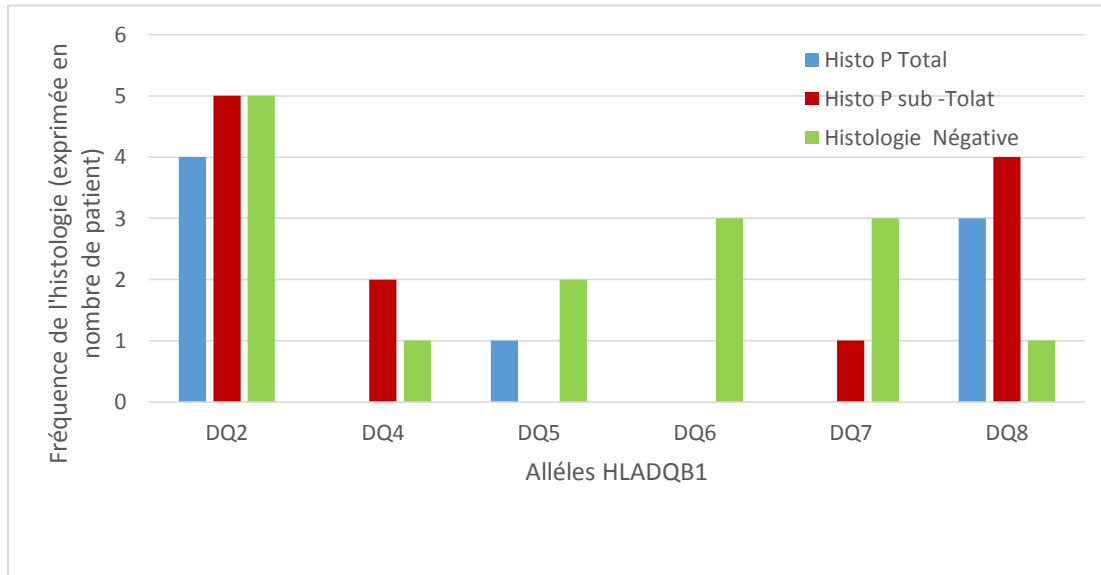


Figure 39 : fréquence de diagnostic histologiques chez les patients de groupe 1.

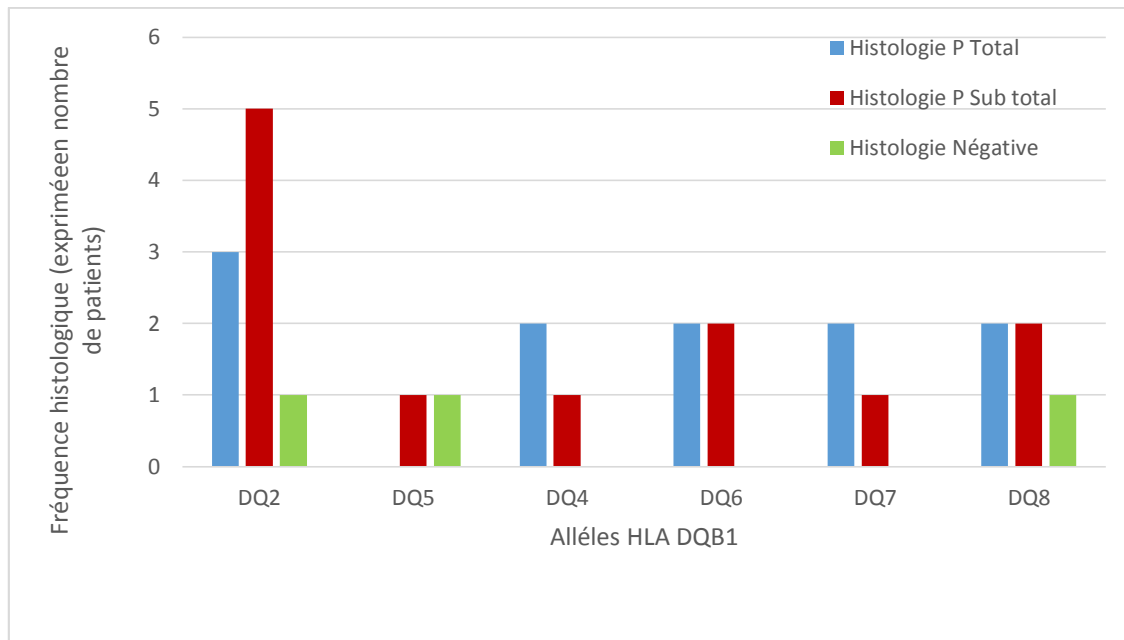


Figure40 : fréquence de diagnostique histologiques chez les patients de groupe 2.

Les résultats de diagnostic histologique de nos patients MC de groupe 1 et de groupe 2 ont été recueillis à l'aide des fiches de renseignements de MC (voir annexe 3). Pour les allèles HLA-DQ2 nous avons trouvé (4/21) pour le groupe 1 et (3/13) (Figure39) pour le groupe 2 (Figure40) des patients MC avec l'histologie positive, une atteinte totale, la muqueuse intestinale est plate c'est-à-dire atrophie villositaire totale donc une MC sévère, mais aussi y'a des patients avec des atrophies villositaire sub- totale (5/21) et (5/13) qui veut dire une MC moins sévère et une histologie négative (5/21); (1/13) de même, chez les patients HLA DQ8 on distingue ceux qui ont une MC sévère atrophie totale des villosité (3/21), (2/13) et ceux avec une MC moins sévère atrophie sub totale (4/21); (2/13) ainsi ceux qui ont l'histologie négative 1 de part et d'autre des deux groupes. Par ailleurs parmi tous nos patients 5 entre eux ont une histologie négative, tandis que 4 sur ses 5 ont une sérologie négative dans ce cas le diagnostic est difficile, le typage HLA de classe II de type DQ constitue une aide à diagnostiquée, vu le résultat de test génétique sur ses dernier nous avons pu éloigner le risque d'atteinte de la MC. Malgré toutes les recherches sur le diagnostic se base sur le résultat de la biopsie intestinale d'après Mthieu et al (2006) la confirmation du diagnostic est souvent apportée par la biopsie mais de plus en plus fréquemment le typage HLA classe II à la recherche de DQ2, DQ8 est utilisé comme complément à la recherche de la MC.

5-3 la fréquence des symptômes digestifs en fonction de l'expression des allèles HLADQB1

a- la diarrhée :

La diarrhée est le symptôme le plus fréquent de la maladie cœliaque. Elle est secondaire au phénomène de mal absorption d'après Melançon, MD(2008).

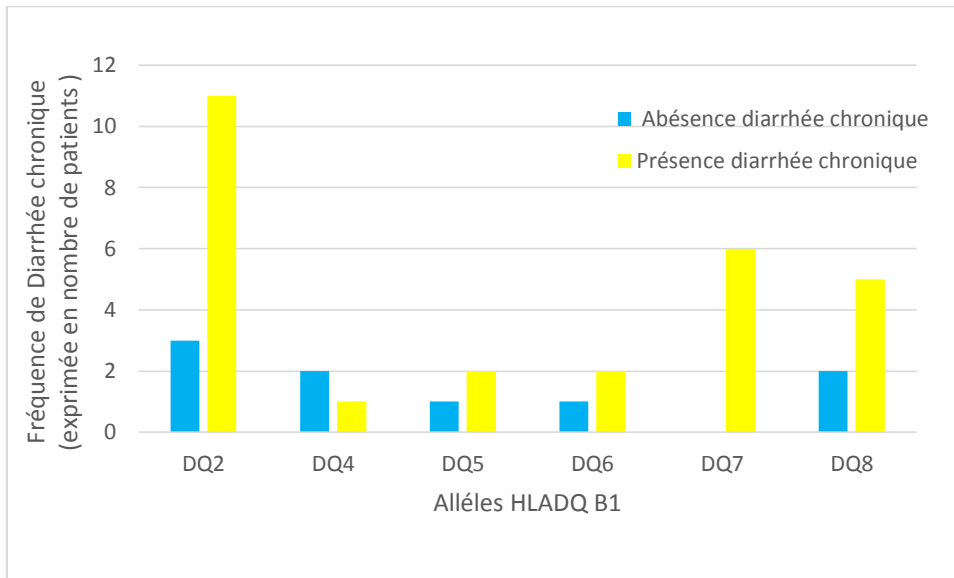


Figure 41 : la fréquence d'apparition de la diarrhée chez les patients de groupe 1 (patients nouvellement diagnostiqués n=21) en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Grâce à l'étude de génotypage HLA-DQB1 nous avons remarqué que dans ce groupe (Figure41), la diarrhée est omniprésente surtout chez les patients porteurs de l'allée HLA-DQ2 (11/21) à 52,38% contre (3/21) à 14,28% qui n'ont pas. Ensuite la fréquence va diminuer chez les patients HLA-DQ8 (5/21) à 23,80% contre (2/21).

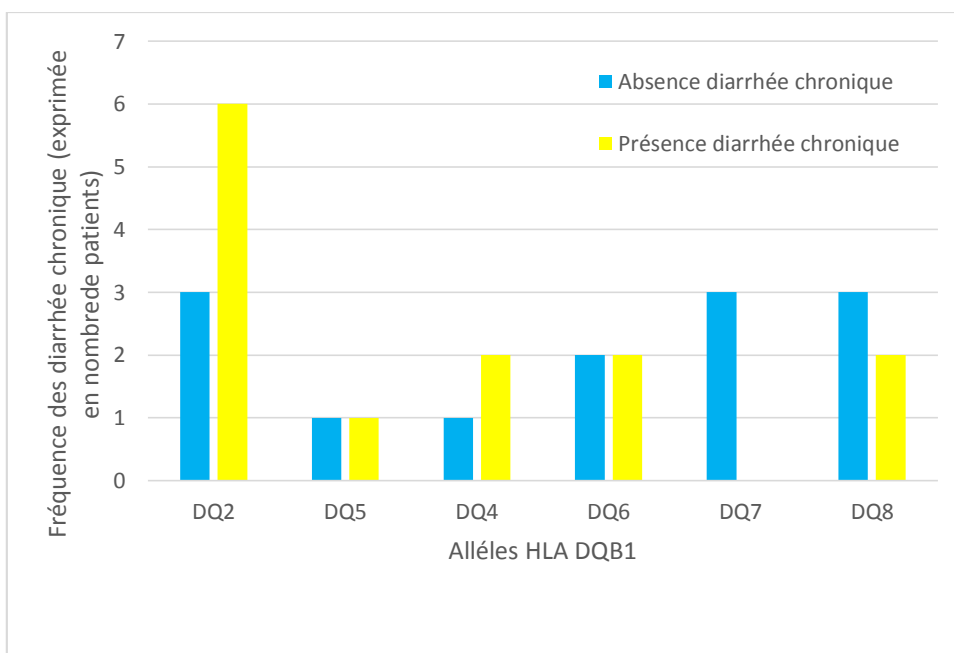


Figure 42 : la fréquence d'apparition de la diarrhée chez les patients de groupe 2 (les anciens patients n=13) en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Vu le groupe 2 (Figure42) la diarrhée est présente chez la plupart des patients et surtout chez ceux qui portent l'HLA-DQ2 et en suite chez les patients portant l'HLA-DQ8.

Les résultats de génotypage de HLA DQB1 nous a permet de remarqué une différence entre les deux groupe ce qu'il concerne la fréquence d'apparition de la diarrhée, ce symptôme est plus noté chez les patients de groupe 1, ce qu'il a déjà cité au paravent selon Richard et al (2002) les signes clinique le plus fréquent chez les enfants sont les signes digestifs et parmi eux la diarrhée.

b- Douleur abdominale :

Actuellement les signes digestifs sont plus souvent sous la forme de douleurs abdominales d'après Lepers et al (2004).

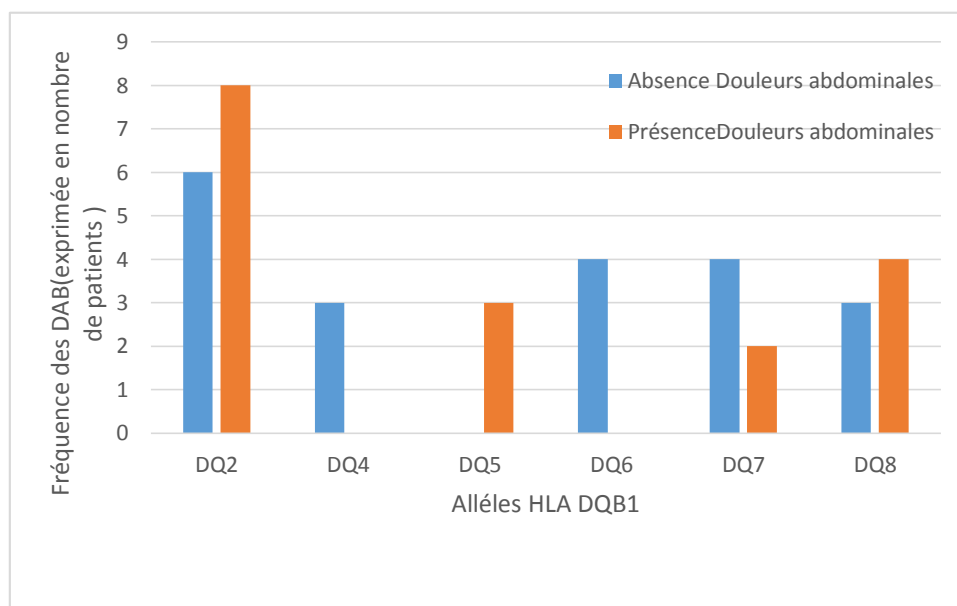


Figure 43 : la fréquence d'apparition des douleurs abdominales chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.



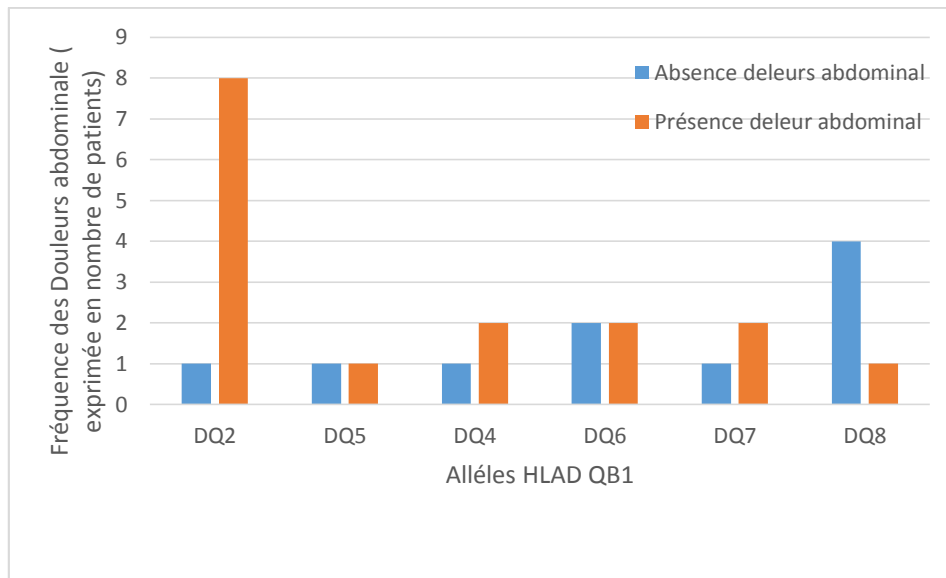


Figure 44 : la fréquence d’apparition des douleurs abdominales chez les patients de groupe 2 en fonction d’expression des allèles HLA-DQB1.

Le résultat du génotypage dans notre étude ont constaté que la douleur abdominale est présente chez les patients de groupe 1 (Figure 43) principalement chez les porteurs de l’allèle HLA-DQ2 à 38,09% (8/21) ; 19,09% (4/21) pour l’allèle HLA-DQ8. La douleur abdominale est observé aussi chez toutes les catégories HLA-DQB1 sauf chez les patients portant l’allèle HLA-DQ4, DQ6 du groupe 1 la figure 43.

Pour le groupe 2 sur la Figure 44, les patients sont majoritairement des adultes ce symptôme est parfaitement présent chez toutes les catégories HLA-DQB1; la fréquence d’apparition est trop élevée à 61,53% (8/13) chez les patients porteurs de l’allèle HLA-DQ2, et quasiment présente chez les patients porteurs de l’allèle HLA-DQ8 à 15,38% (2/13).

#### 5-4 la fréquence des symptômes extra-digestifs en fonction de l’expression des allèles HLA-DQB1 :

Les complications nutritionnelles, parfois isolées peuvent être au premier plan et précéder le diagnostic de l’intolérance au gluten d’après Lepers et al (2004).

- a- L’anémie :

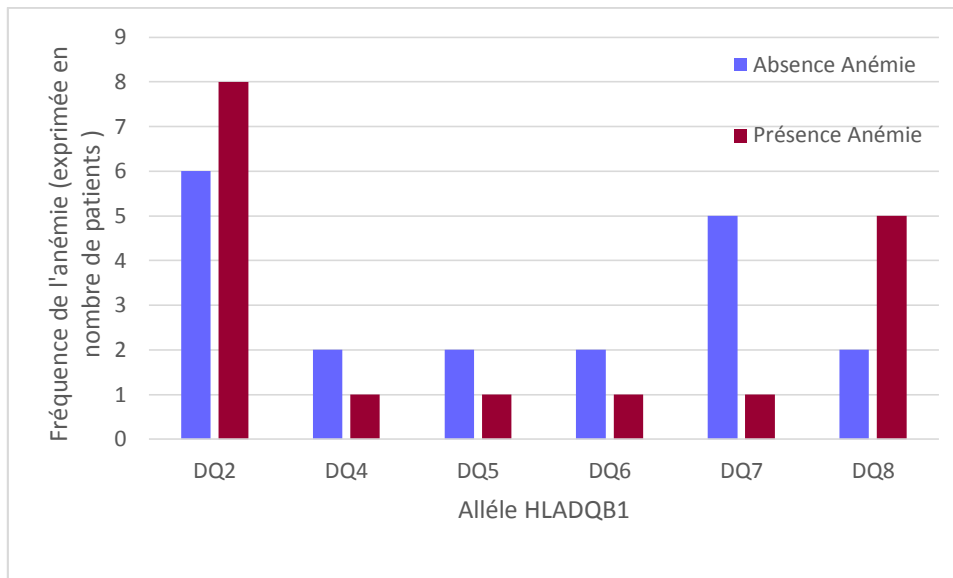


Figure 45 : la fréquence d'apparition de l'anémie chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

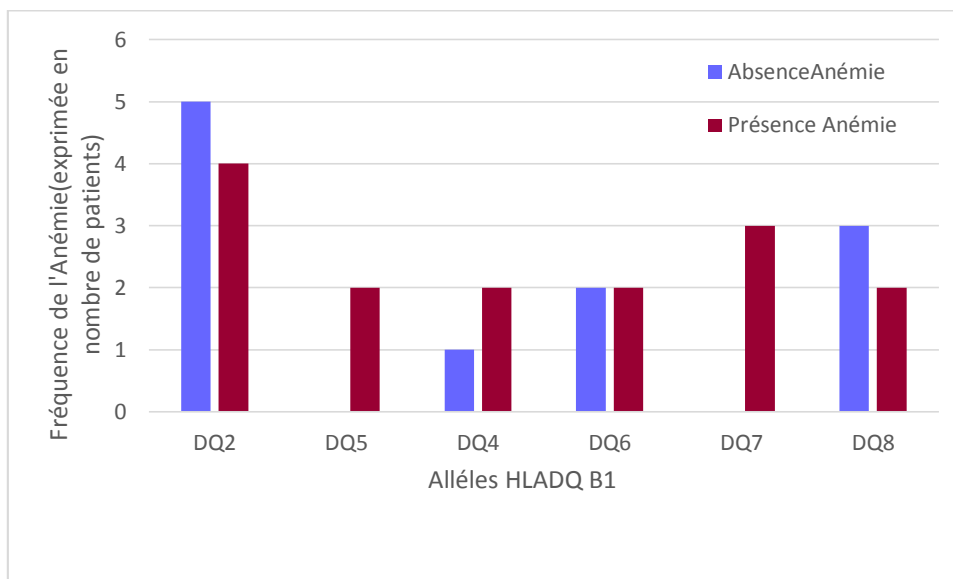


Figure 46 : la fréquence d'apparition de l'anémie chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Les résultats du génotypage HLA-DQB1 ont révélé que l'anémie est constamment présente chez tous les patients de groupe 1 (Figure 45), nous avons trouvé que les patients qui expriment les allèles de susceptibilité à la maladie cœliaque en premier lieu l'allèle HLA-DQ2 la fréquence de l'anémie est égale à 38,09% (8/21) en seconde se trouve la fréquence à 23,80% (5/21) chez ceux qui expriment l'allèle HLA-DQ8. Ainsi chez toutes les catégories HLA-DQB1.

Les malades du groupe 2 (Figure 46) portant l'allèle HLA-DQ2 (4/13) à 30,76% et à 15,38% pour ceux qui portent l'HLA-DQ8 (2/13). Ainsi chez toutes les catégories HLA-DQB1 sauf chez les patients portant HLA-DQ4, DQ7.

Les allèles HLA-DQB1 DQ2 et DQ8 est significativement associées à l'apparition de l'anémie.

b- le retard staturo- pondéral (RSP) :

D'après Cristina et al (2009), le retard staturo-pondéral est une manifestation fréquente parfois révélatrice, parfois isolée de la MC chez les enfants. Les cœliaques diagnostiqués à l'âge adulte, surtout les hommes ont une taille très diminuée près de 10 Cm par rapport au groupe de contrôle.



Figure 47: la fréquence d'apparition du retard staturo-pondéral chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

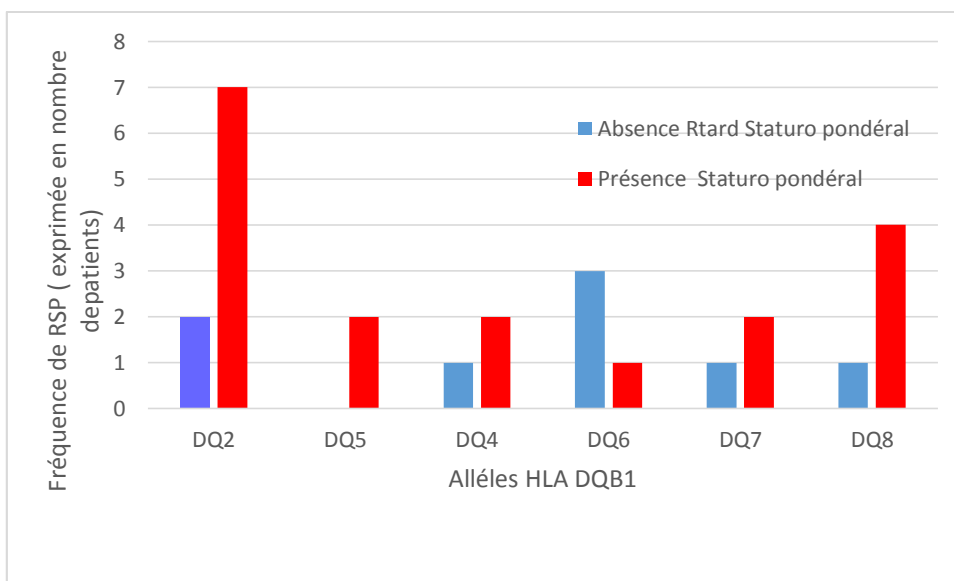


Figure 48 : la fréquence d'apparition du retard staturo-pondéral chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Les résultats de génotypage révèlent que la fréquence de ce symptôme chez les deux groupes est surtout les patients avec l'allèle HLA-DQ2 d'une part, à 28,57% (6/21) du groupe 1(Figure47) d'autre part à 53,84% (7/13) pour les patients du groupe 2, de plus, chez les malades expriment l'allèle HLA-DQ8 à 14,28% (3/21) groupe 1 et à 30,76% (4/13) groupe 2(Figure48). De même que, le RSP est associé aux allèles HLA-DQ 4,6 et 7, et nous avons marqué son absence chez les patients portant l'allèle HLA-DQ5 du G1, par ailleurs chez les souffrant de MC du G 2(Figure48) le RSP marque son association avec les allèles HLA-DQ4, 5,6 et 7. Donc le RSP est en s'associer aux allèles HLA-DQ2 en primo et en deuxième lieu pour l'allèle HLA-DQ8.

5-5 la fréquence d'association morbide à la maladie cœliaque en fonction de l'expression des allèles HLADQB1 :

a- le diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules B des îlots pancréatiques responsables de la sécrétion d'insuline selon Malaisse (2003).

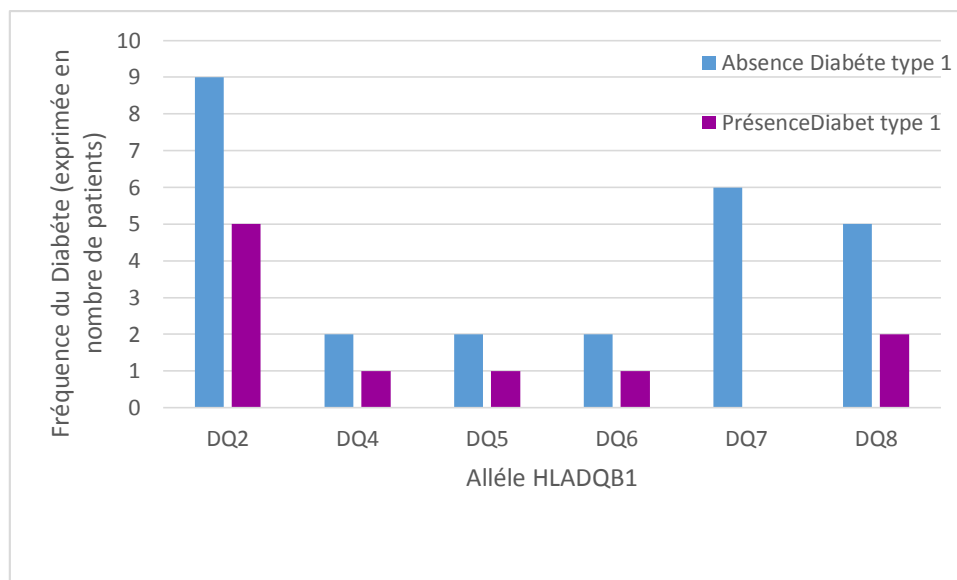


Figure 49 : la fréquence d'apparition du Diabète de type1 chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Pour le groupe 1 , nos patients atteints de la MC associée au Diabète de type1(Figure49) observé chez ceux qui expriment l'allèle HLA-DQ2 à 23,80% (5/21) et à 9,52% (2/21) pour l'allèle HLA-DQ8, tandis que ce symptôme est quasiment présent en associant aux HLA-DQ4,5 ,DQ6 et parfaitement absent chez les patients HLA-DQ7.

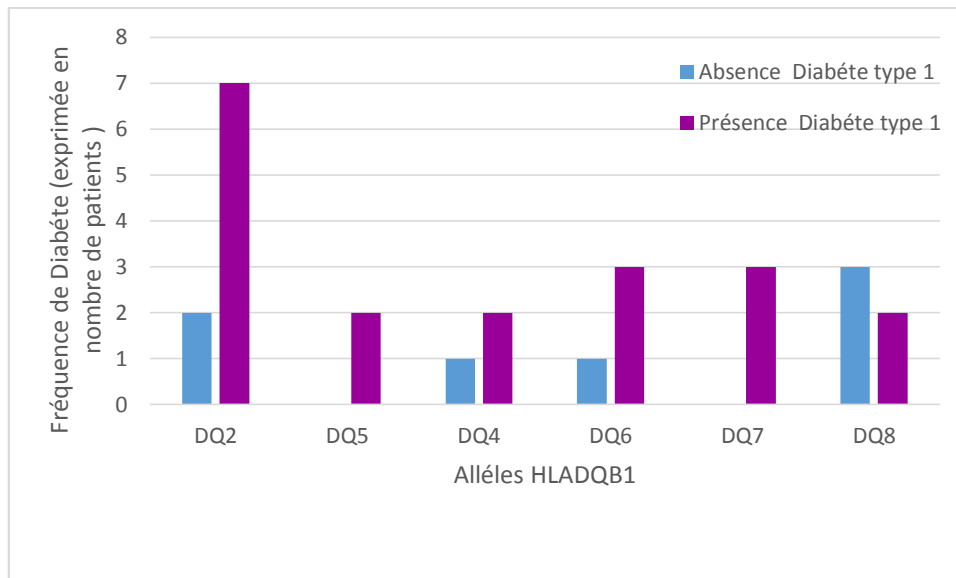


Figure 50: la fréquence d'apparition du Diabète de type 1 chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Chez les patients du groupe 2 sur la Figure 50 (n=13) le diabète de type 1 est solennellement marqué en association à l'allèle HLA-DQ2 à 53,84% (7/13) ensuite à 15,38% (2/13) pour l'HLA-DQ8 ainsi sa présence est marquée chez toutes catégories HLA-DQB1.

Donc le génotypage HLA-DQB1 nous a permis de mettre en lumière le lien entre le diabète de type 1 et la maladie cœliaque sur un terrain génétique. Les résultats de notre travail confirment les résultats publiés dans la plupart des revues de la littérature d'après Geenen (2005), l'association entre le diabète de type 1 et la maladie cœliaque pourrait être expliquée par le partage d'un bagage génétique commun, le locus le plus fortement associé et correspond au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) HLA-DQB dans la fonction essentielle des protéines HLA de classe II pour ce cas est de présenter les épitopes antigéniques aux cellules T CD4+. Plusieurs études montrent que, dans le diabète de type 1 et la maladie cœliaque, les allèles de susceptibilité majeur de cette région sont les allèles de classe II HLA-DQ2 et occasionnellement HLA-DQ8 d'après Nielsen et al (2004) et selon De Block et al (2001) Cette association avec DQ2 se vérifie chez 90% des patients atteints de maladie cœliaque (77,64% notre fréquence) et chez 43% des diabétiques de type 1. Par contre, la présence de cet allèle n'est que de 24% dans la population générale.

#### b-Thyroïdites auto-immunes :

Les maladies thyroïdiennes auto-immunes sont fréquentes. Elles représentent 30% des maladies spécifiques d'organes. Une fréquence excessive des maladies thyroïdiennes auto-immunes dans certaines familles a été mise en évidence suggérant le rôle de la génétique. Le système HLA se

trouve implique : l'haplotype HLA B8-DR5 d'après Charrié (2005) et selon Weill et al (2003) dans la maladie de Hashimoto il existe une prédisposition génétique et une association significative avec les groupe HLA-DR3et DR5.

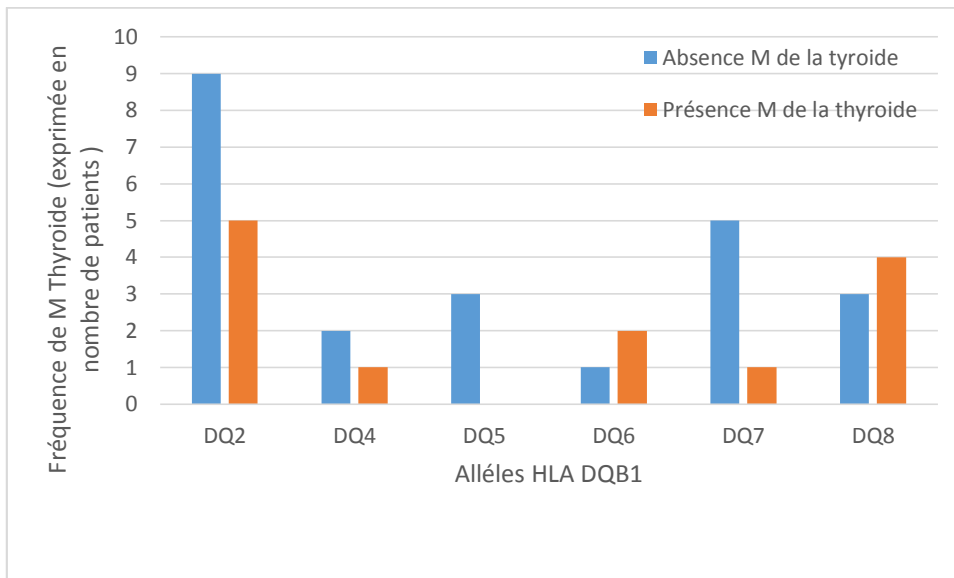


Figure 51: la fréquence d'apparition de la thyroïde auto-immune chez les patients de groupe 1 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

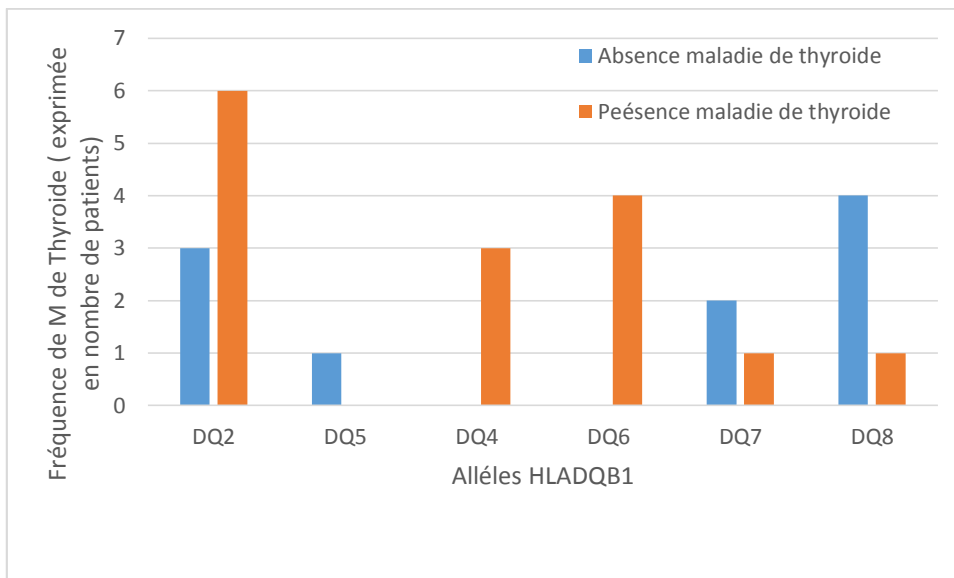


Figure 52: la fréquence d'apparition de la thyroïde auto-immune chez les patients de groupe 2 en fonction d'expression des allèles HLA-DQB1.

Les résultats de génotypage HLA-DR-DQB1 révèlent que dans notre échantillon n=34 groupe 1( 21patients), et 13 patients pour le groupe 2 .dans ce contexte nous avons observé que la majorité de nos malades qui présentent une MC associé avec une thyroïde auto-immune sont porteurs de l'allèle HLA-DQ2 et comme cet allèle est accompagné avec l'allèle DR3/DR5, DR7

c'est-à-dire l'haplotype HLA-DR3 DQ2, la fréquence d'apparition pour le groupe 1 (Figure 51) est de 23,80% et chez les patients du groupe 2 (Figure 52), la fréquence est plus importante 46,15%. mais nous avons marqué cette association chez les patients avec les haplotypes HLA-DR4 DQ8, et aussi chez toutes les catégories HLA-DQB1 sauf pour ceux qui expriment HLA-DQ5 pour les deux groupes.

5-6 la fréquence d'apparition du Régime sans gluten (RSG) en fonction des allèles HLA – DQB1 :

Les complications de la MC sont diversement prévenues et améliorées par le RSG. il existe un très large éventail dans l'efficacité du RSG par exemple, les troubles de la croissance statural, que le RSG prévient et corrige chez des cœliaques suivent le régime correctement d'après Cosnes et al (2011).

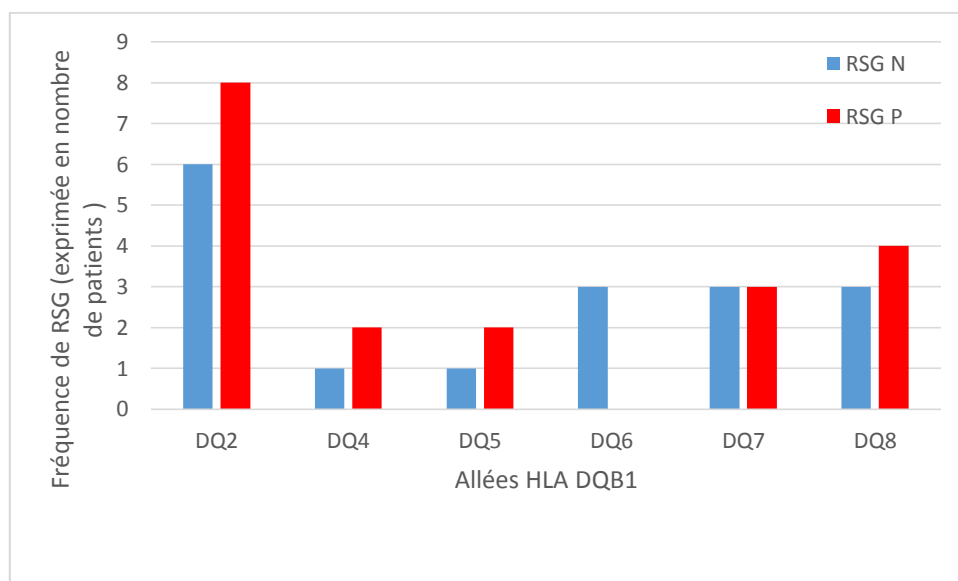


Figure 53 : la fréquence de RSG chez les patients du groupe 1 en fonction des allèles HLA-DQB1.

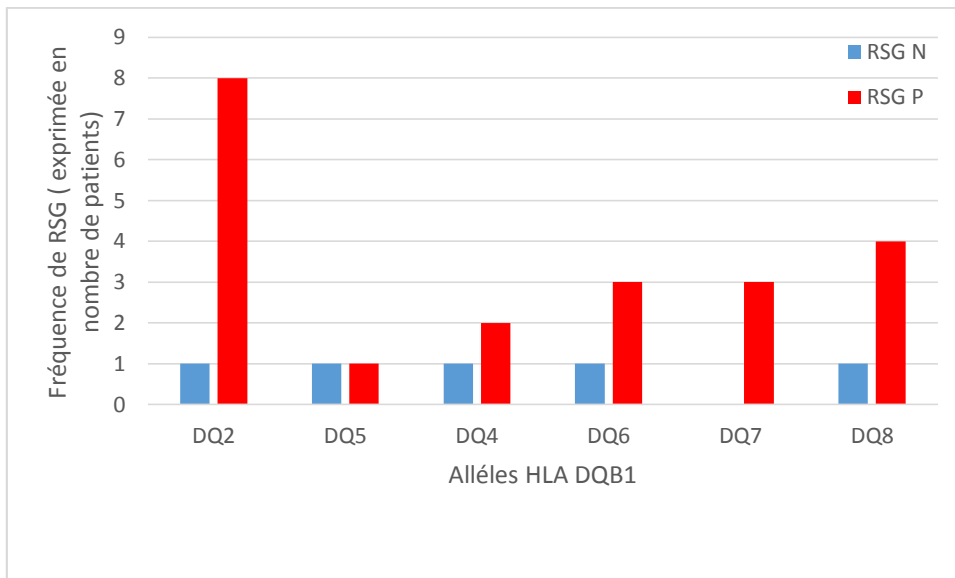


Figure 54: la fréquence de RSG chez les patients du groupe 2 en fonction des allèles HLA-DQB1.

Grace au tableau récapitulatif (annexe 4) plus les résultats de génotypage HLA-DQB1 nous avons pu montrer que la plupart de nos patients (G 1, G 2 ) sont sous régime sans gluten (RSG) surtout chez ceux qui expriment l'allèle HLA-DQ2 la fréquence noté égale à 38,09% (8/21) G1 et 61,53% (8/13) G2 (Figure 54) de même que, la fréquence est marquée chez les porteurs de HLA-DQ8 à 30,76% G2 et 19,04% G1 (Figure 53).



## Conclusion

---

La maladie cœliaque n'est pas une maladie infantile, la prévalence de l'âge est en effet élargie, avec une prédominance féminine et une forte association à certaines maladies auto immunes tel que le diabète de type 1 et la maladie de la thyroïde.

Sur une période de six mois (de Mars à Septembre 2014) les résultats de notre étude nous permettent de confirmer l'association entre les gènes HLA de classe II, les allèles de prédisposition génétique HLA-DQ2, HLA-DQ8 et la maladie cœliaque dans l'échantillon étudié de la population Algérienne (n=34). Au vue de ces résultats les allèles de prédisposition à la maladie cœliaque HLA-DQ2, HLA-DQ8 pourrait servir au diagnostic de celle-ci, leurs absence nécessiterait une révision de ce dernier ;de plus l'association des allèles HLA-DR17 n'est qu'un déséquilibre de liaison avec l'allèle HLA-DQ2.Ceci sans oublier pour autant le rôle important des deux autres diagnostics à savoir le Sérologique où on recherche les anticorps anti-peptides de gliadine désaminé dans le sérum des patients et le diagnostic Histologique où on fait une biopsie intestinale qui cependant reste le test de référence par excellence.

Donc on peut dire que le typage HLA aide à dépister les sujets à risque de développer la maladie cœliaque (MC), ou présentant une forme latente de la maladie et ceci afin d'instaurer rapidement un régime sans gluten (RSG) pour éviter les complications et la survenue des autres maladies auto-immunes. Ces dernières peuvent s'associées ou partager le même terrain génétique de la MC comme HLA-DR3, HLA-DR4 tel que de diabète de type 1 et la maladie auto-immune de la thyroïde.

Il serait donc souhaitable de penser à modifier la recommandation concernant le diagnostic de la MC, en se basant sur les tests invasifs et accessible, présentés par la recherche des anticorps spécifique et le typage des gènes HLA-DQ2 et HLA-DQ8.

Les connaissances acquises et confirmées concernant le complexe Human Leucocyte Antigen (HLA) permettant d'utiliser le génotypage HLA-DQB1 dans la stratégie diagnostic peut s'avérer utile dans certains cas particuliers, notamment dans les enquêtes familiales pour identifier les apparentés au premier degré atteints et pour les patients déjà atteints. Ceci en vu d'instaurer un régime sans gluten (RSG) chez ces personnes en raison de l'absence d'une certitude du diagnostic sérologique.

Les résultats de notre échantillon de 34 patients Algérienne atteints de la MC montrent que la majorité des patients MC ont un typage des gènes (HLA-DR, DQ) positive et une sérologie positive, et une minorité avec un typage des gènes (HLA-DR, DQ) positive et une sérologie négative ou le contraire.

## Références bibliographiques

### A

- Abadie V., Ludvig M., Sollid L., Barreiro O., Jabri B., (2011) „Integration of Genetic and Immunological Insight into a Model of Celiac Disease Pathogenesis „*Annu Rev Immunol*, 29 :493-525.
- Abu\_Zekry M., Kryszak D., Diab M., Castassi C. and Fasano A. (2008). Prevalence of celiac disease in Egyptian children disputes the east-west agriculture-dependent spread of the disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 47(2) :136—40.
- Anderson C.M., Histological changes in the duodenal mucosa in celiac disease., (1960)., *Arch. Dis. Child.*, 35: 419-523.
- Antunes H., Abreu I., Nogueiras A., Sa C., Goncalves C., Cleto P., Garcia F., Alves A. and Lemos D. (2006) .first determination of the celiac disease in a Portuguese population. *Acta Med* 19(2) :115-20.
- Auffray C., Strominger JL., (1986)., Molecular genetics of the human major histocompatibility complex. *Advances in human genetics.*, 15 :197-247.

### B

- Beattie RM., (2006)., The changing face of celiac disease. *Arch Dis Child*; 91:955–6.
- Belanteur K., Amorun H., Salah S., Guedoir A., Raache R., Messatfa M., Labied A., Tamouza R., Charron D., Abbadi M.C. (2009)., Etude Immunogénétique de la maladie coeliaque chez l'enfants Algériens. *Revue Algérienne d'immunologie et d'immunopathie : institut Pasteur Algérie* .
- Benatallah ., (2009). la maladie coeliaque dans l'ouest Algérien.
- Benhamamoche S., Boudjemaa K., Djoulah S., le Mannier du Gouville I., Bessaoud K., Hors J., Sanchez-Mazes A., (2007)., Anthropological study of west Algerian populations ; in Charron D. HLA : genetic diversity of HLA , Functional and medical implication., EDP paris- France , 2 :181-2.
- Benhariz et al., (2007)., la prévalence de la maladie coeliaque chez les enfants scolarisés en Tunisie
- Bernard-june S., (2003)., Anticorps antigliadine, antitransglutaminase et antiendomysium chez la population de patients cirrhotique. Thèse. page 157.
- Boudraa Setal., (2008)., la prévalence de la maladie coeliaque chez des enfants de moins de 15 ans dans la ville d'Oran ., *Revue générale* . Page 157.

- Bingnon PJ.,Willams AJ.,Norcross AJ., Unsworth DJ.,Lock RJ., Ness AR. And Jounes RW. (2004)., undiagnosed celiac disease at age seven; population based prospective birth cohort study.BMJ 328(7435):322-3.
- Bienvenu .,(2008).,le régime sans gluten et son suivi .
- Bingley S.,et al.,(2004).,la prévalence de la maladie cœliaque en Rouaume-Uni pour des enfants scolarisés.
- Bjorkam PJ.,Saper WA.,Samraoui B.,(2005).Structure of the human classeII histocopatibiliyy antigen ,HLAA2.J Immunol 174 (1):6-19.
- Boudjema S.,(2005)., Contribution à l'étude de l'implication des gènes HLA classe II dans la survenue de maladies auto immunes :la maladie coeliaque ,l'association diabète de type 1- maladie coeliaque dans la population de l'ouest algérien et la polyarthrite rhumatoïde dans la population française .Thèse de Biologie Moléculaire et Génétique ,USTO. Oran
- Bouguerra F, Babron MC, Eliaou JF, Debbabi A, Clot J, GrecoL, Clerget-Darpoux F .,(1997) Synergistic effect of two HLA heterodimers in the susceptibility to celiac disease in Tunisia. Genet Epidemiol 14:413–422
- Bourgane C.,Genin E.,Cox N., Clerget F .,(2007).,Are genome –xide association studies all that we need to dissect component of complex human ?Eur J Hum Genet .15(3) :260-263.
- Bousefiha et al (1999).,Etude Epidémiologique sur la maladie cœliaque dans une population maghrébine.
- Braham S.(2000). From génétiques to Biology. Adv Immun.,76 :1-60.
- BuhlerS.,(2007)., 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, - Sc. 3929.

## C

- Cassinotti A.,(2009)., HLA and Autoimmune Digestive Disease: A Clinically Oriented Review for Gastroenterologists.
- Catassi et al.,(2008).,la maladie coeliaque .,Revue générale de Biologie .
- Cellier C., Grosdidier E.(2001) Maladie coeliaque de l'adulte. La revue du praticien.51 :959-963.
- Cerf-BensussanN., Jabri B.,(2001).,La maladie coeliaque :une maladie auto immune induite par un antigène alimentaire., médecine/sciences( 17) : 1129-38.

- CesbronGautier A.,Kagne G.,Retière C.,Devys A.,Bignon JD.,(2007).,Système HLA  
.,13-000-M-53.
- Chatenoud L.,Francoise Bach J .(2012).de la biologie à la clinique., Immunologie ,  
page 96-97 . , 6 Edition. ISBN : 978-2-257-20529-2.
- chimitzJ .,(1996).,Alleries au gluten .,Revue FR.Allergol.36(2) :176-180.Expansion  
scientifique Française
- Chester A.,Alper, Ellen F., Zuheir A., Aubrey J. Katz, and Edmond J. Yunis.,(1986).  
Extended Major Histocompatibility Complex Haplotypesin Patients with Gluten-  
sensitive Enteropathy .,The Center for Blood Research, Departments ofPediatrics and  
Pathology, Harvard Medical School,Dana-Farber Cancer Institute, and The Children's  
Hospital, Boston, Massachusetts 02115.
- Chrétien P.,(2011).,Autoanticorps dans la maladie coeliaque.,90 :30-0100A.
- Charrié A.,(2005)., Le point sur l'auto-immunité thyroïdienne .,Article original :  
Spectra Biologie n° 143 .
- Chyderiotis G., Claudel E., Fabien N., Capucine L., Musset L., Olsson N., Pham  
B.,(2008)., Maladie cœliaque : la place des autoanticorps dans le diagnostic et le suivi  
., revue de l' Haute Autorité de Santé.
- ClampM.,(2007).,Workin thegene count,Nembeur Finally,Science  
Vol316,n°5828P1113.
- Cosnes M.,(2011)., Working the gene count .,Number Finally , Science , Vol  
316,n°5828 P1113.
- Cristina A.,et al.,(2009).,les associations MC et d'autre maladie .,Revue générale  
Physiopathologie générale V16 :22-e56.

## D

- Defranco A. ,Robertson M.,Locksley R.(2009) .,Immunité : la réponse immunitaire  
dans les maladies infectieuse et inflammatoire page 314 .
- Denery-Papini S., Popineau Y. , Gueguen J., (2001). Implication des protéines de  
céréales dans la maladie coeliaque. Cah Nut Diét, 36 : 43-51.
- De Block CEM, De Leeuw IH, Vertommen JJF.(2001)., Betacell, thyroid, gastric,  
adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type 1 diabetes. Clin Exp  
Immunol., 126, 236-241.
- Dessen P., le Minor S .,(2002)., Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and  
Haematology

-Dicke WK., Weijers NA., van der Kamer JH. Coeliac disease.,(1953)., The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatric.*, 42: 34-42.

-Disabation A., Pickard KM., Gordon JN., Salvati V., Mazzarella G., Beattie RM, et al.,(2007)., Evidence for the role of interferon- $\alpha$  production by dendritic cells in the Th1 response in celiac disease. *Gastroenterology.*, 133:1175–87.

- Di Sabatino A., Vanoli A., Giuffrida P., Ombretta L., Solic E., Corazza R.,(2012)., The function of tissue transglutaminase in celiac disease., *Autoimmunity Reviews* (11 ) 746–753.

-Dube., Rostom A., Sy ., Cranny A., Saloojee N , Garrity C., Sanpson M, Zhang L., Yazdi F ., Manaldze V., Pan I., Macneil J., Mack D., Patel D. and Moher D.(2005). The Prevalance of coeliac disease in average risk and at risk weste rn European populations: a systematic review. *Gastroenrology* 128(4 suppl1):S57-67.

## E

-Edgardo D. ,Carosella., Rouas-Freiss N.,(2011)., Le système immunitaire détruit tout ce qui est étranger à l'organisme. Sauf celui d'une femme enceinte, qui est inhibé par des molécules produites par le fœtus, nommées HLA-G.N° 410.

-EL Reinhert .,(1999)., domain structure of MHC class I, *Rev Immunology* .,286:1913

-EL YAOUTI S.,(2010)., la maladie coeliaque chez les enfants ., thèse de doctorat en médecine., Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH Faculté de médecine et de pharmacie .

-Ellis et al.,(1981)., La survenue d'une maladie cœliaque chez les parents de 1<sup>ier</sup> degré.

## F

- FAO.,( 2009).,l'alimentation Algérienne et la maladie coeliaque .*Rev Générale.*,Vol 5108 :e45.

-Falchuk ZM., Rogentine GN.,Stober W.,(1972).,Prédominance of histocompatibility complex antigen HLA B8 in patients with gluten sensitive enteropathy.*J Clini.Invest*, 51:1602-5.

-Farrell RJ., Kelly CP.,(2002)., Celiac sprue. *n Engl J Med* ., 346:180–8.

-Fasano A.,(2005)., Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology.* ,128 : 68-73.

-Fasano A. ,Berti I.and Gerarduzz M.(2003).Prevalance of celiac disease in at risk and not-at groups in the united states :a large multicenter ,study. Arch Intern Med 136(3) :286-92.

-Fine MD.,Kenneth D.,(2008)., La génétique de la sensibilité au gluten.

## G

-Gee S. On the celiac affection. St Bartholomews Hosp., (1888). 24:17-20.

-Geenen F.,(2005)., l'association entre le diabète de type 1 et la maladie cœliaque., Inter Med V :845-e23f23.

-Gomez JC.,Selvaggio GS.,Viol M., Pizarro B; la Motta G ., de Barro S ., Gastelletto R., Echeverria R., Sugai E.,Vazquez H., Maurino E .and Bai JC.(2001).Prevalance of celiac disease in Argentina: Screening of an adult population in the la Plata area.an J Gastroenterol 96(9) :2700-4

-Gorochov G. ,Papo T.,(2000).,Immunologie., Inter Med collection dirigé par Olivier blétry., page 207.

-GrahamA., Heap., DavidA.,Heel V.,(2009).,Genetics andpathogenesis of coeliac disease., Seminars in Immunology 21 346–354.

-Green P., Cellier C,(2007)., Celiac Disease. N Engl J Med .,17:1731-43.

## H

-HillID et al.,(2008)., sensibilité et spécificité des marqueurs sérologiques de MC.

-Heap GA., Van Heel DA., (2009)., Genetics and pathogenesis of coeliac disease. Semin Immunol.,(15):101–6.

-HortonR.,WilmingL.,RandV.,Lovering RC.,Bruford EA.,Khodiay VK.,(2004).,Gene map of the extended human MHC.,Nat Rev Genet ;5 :889-99.

-Hors J., El Chenawi F.,Djoulah S.,Hafez M.,Abas F.EEl Bora M.H.,Kmal M.,Abbel M ., Cobonthosen A.,et al .(2007).,HLA in north african population :12th international histocompatibility workshop NAFR report .In charron D.HLA :Genetic diversity of HLA , Fonctional and medical implication., EDK paris –France,1 :328-34.

-Howell M.D., Austin R.K., Kelleher D. (1986).,An HLA-D region restriction length Polymorphism associated with celiac disease: J. Exp. Med., 164: 333-339.

-Howell WM.,Calder PC., Grimble RF.,(2002)., Gene polymorphisms, inflammatory diseases and cancer. Proc Nutr Soc ; 61: 447-456.

-Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al.(2012).,European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and

Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*;54(1):136–60.

## J

-Jean-Pierre Olives.,(2013)., La maladie coeliaque ., *Gastroentérologie et Nutrition Pédiatriques.*, 13-20

-JohannssonGF.,KristjanssonG.,CarigliaN.andThorsteinssonV.(2009).The Prevalance of coeliac disease in blood donors in Iceland.*Dig Dis* 54(2):348-50.

-Jouanolle A.M., Gérolamiz V.,GacsG.,PissardeS.,RochetteS.,Martineza P.A.,(2012)., Molecular diagnosis of HFE mutations in routine laboratories Results of a survey from reference laboratories in France ., *Ann Biol Clin*;70 (3) : 305-13.

## K

-Kagnoff M.F.,(2007).,Mucosal inflammation in ceeliac disease :interleukin-15 meets transforming factor beta-1 ; *Gastroenterology* 132 :1174-1176.

-Karell K., Louka AS ., Moodie SJ., (2003).,HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1\*05-DQB1\*02 (DQ2) heterodimer: results from the EuropeanGenetics Cluster on Celiac Disease. *Human Immunology.*

-Karell K., Louka AS ., Moodie SJ., (2005).,HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1\*05-DQB1\*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Human Immunology.*, 64(4):469–77.

## L

- Lamireau T., Clouzeau H.,(2011).,Epidémiologie de la maladie coeliaque ., Unité´ de gastroentérologie pédiatrique, hôpital des Enfants, place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux cedex, France.

- Lamireau T., Clouzeau H.,(2008)., Comment confirmer le diagnostic de maladie coeliaque ?. , *Revue : la maladie coeliaque de l'enfant à l'âge adulte .*, Unité de gastroentérologie pédiatrique, Hôpital des Enfants, Place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux cedex.

-Lepers S.,Coulignoux S.,Colombel JF et al.(2004) :la maladie coeliaque de l'adulte :aspect nouveaux, la revue de medcine interne 25 :22-34 .

-LiuE,RewersM,EisenbarthGS.(2005).Genetic testing:whoshoulddothetestingand what is the role of genetic testing in the setting of celiac disease?*Gastroente-rology* ;128:S33–7.

-Leffler DA.,Schuppan D.,(2010).,Update on serological testing in celiac disease  
Amj Gastroenterol .,Dec ;105(12) :2520-4.

-Luka AS., Sollid LM., (2003)., HLA in coeliac disease: unravelling the complex genetics of a complex disorder. Tissue Antigens . , 61:105–17.

## M

-Maki M.,Mustalahtis.,Kokkonen J.,Kulmalal.Haapalah Ti.,M.,Karttunen T.,I lauri la K.,Dahlbom I.,Hansson T.,Hopfl.and Knip M(2003).Prevalance of coeliac disease among children in Finland .N Engl J Med348(25):2517-24.

-Malaise WJ .,(2003).,Le diabète 1 :une entéropathie.,Bull Mem.Acoad R.Med Belg.,158 :199-205.

-Malamut G.,cellierC .(2013).,maladie coeliaque. , la revue de la médecine interne

-Malamut G.,cellier C .(2010)maladie coeliaque. , la revue de la médecine interne 31,428-433.

-Malamut G.,Cellier C.(2011)., Manifestations de la maladie coeliaque de l'adulte .J Patbio 10.1016.

-Marsh N.M.,(1992)., Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. Amolecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity: Gastreenterology. 102: 330-354.

-Martucci S., Biagi ., DisabatinoI A.,Corazza G.R. ,(2002). Coeliac disease. Dig Liver Dis, 34 (Suppl 2) : 150-153.

-Maud P., (2010).Université de Montréal une nouvelle stratégie de traitement de la maladie cœliaque basée sur les polymères séquestrant. Faculté de Pharmacie, Thèse présentée à la faculté de pharmacie en vue de l'obtention de grade de philisophae Doctor en science pharmaceutique option technologie pharmaceutique.

-Mehra NK.,Kaur G.,(2003).,MHC-based vaccination approaches : progress and perspectives. – Expert Rev Mol Med 2 ; 5 : 1-17.

-Melançon, MD F.,(2008).,Un Diagnostic difficile à avaler : la maladie coeliaque.,Le Clinicien 955, boul. Saint-Jean Bureau 306Pointe-Claire (Québec) H9R 5K3.

-Meresse B.,Malamut G.,Cellier C.,Chefrif-bensussan N.,(2006).,la maladie coeliaque :un modèle d'étude de l'inflammation intestinal et la lymphomagenèse T.,volume 13.numéro 3.223-35.

- Moalic.V.,(2008)., commente est réalisé un typage HLA.,( 17), 407-41.



-Moutarde O.,Dumant C.,Mallte E.,(2013),les manifestation dee la maladie coeliaque chez l'enfant .,Pathologie Biologie 61, e53–e55.

-Mouterde O, Ben Hariz M, Dumant C.,(2008)., Le nouveau visage de la maladie coeliaque. Arch Pediatr .,15:501–3.

-Mouterde O., Dumant C., Mallet E.(2013)., Les manifestations de la maladie coeliaque chez l'enfant, Revue générale Pathologie Biologie 61 , e53–e55.

-Mthieu R.,et al.,(2006).,la maladie coeliaque : les haplotypes les plus courants chez la population marocaine .,Revue de génétique et maladie auto-immuns.123 :044,e85.

## N

- Nguyen SY.,Bourouina R.,(2008).,Manuel d'anatomie et de la physiologie .Edition4 .,page 192.

-Nion-LarmurierI.,CosnesJ.,(2009).,Maladie coeliaque ,Mise au point .,Gastroentéropahtie clinique et biologique.,(33)508-517.

-Niewinsky.,( 2008). Le traitement de la maladie coeliaque à ce jour

-Nielsen C, Hansen D, Husby S., (2004)., No allelic variation in genes with high gliadin homology in patients with celiac disease and type 1 diabetes., Immunogenetics : 56, 375-378.

## O

-Oberhuber G., Granditsch G., Vogelsang H.,(1999)., The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. Eur J Gastroenterol Hepatol , 11:1185-1194.

-Oleira RP.,Sdepanian VL.,Barreto JC,Cortez AJ.,Carvalho FO.,Bordimi JO.,de Camargo Soures MA.,de Srlva Patricio FR.,Kawkami E.,de Moraise MB.and Fagundes NetoV.(2007).High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor volumteev based on screening by IgA anti tisse transglutaminase anti body.Eur J Gas troenterol Hepatol 19(1):43-9.

## P

- Palmowski M, Salio M, Dunbar RP, Cerundolo V .(2002)., les molécules HLA et les molécules apparentées .

-Paulley L.M., (1954)., Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhoea: Br. Med. J.,1318-1321.

## R

- Rampertab et al.,(2006).,l'âge de l'apparition de la maladie coeliaque. Journal d'immunogénétique de la MC .
- Richard J.,Farrell L.,Anaciaranp MD.,Kelly MD.,(2002)., Celiac sprue .,N Engl J Med, Vol. 346, No. 3
- Romino.,(2000)., La survenue d'une maladie coéliquaue dans la fratrie.
- Roujon P.,Guidicelli G.,Moreau.JF.,AupinT.,(2011).,Immunogénitic of celiac disease ,Pathology .10.1016.Biology (Paris ), 61,Elsevier Masson SAS.
- Rutz et al .,(2002).,La prévalence de la MC chez une population suisse des adolescents. Revue Suisse V34 :45-e67.

## S

- Semana G, QuelvennecE.(2002).,Exploration du système HLA :Pratique et indication ; 31/341 : 53-62.
- ScheinerSM.,(1993)., Genetics and evolution of phenotypic plasticity. Annual Review of Ecology and Systematics 24: 35–68.
- SchmitzJ., Garnier-Lengline H(2008). Diagnostic de la maladie coeliaque. Archive de pédiatrie 15, 465-461.
- Shou Wang Q.,Ludvig M.,Richard S.,(2009).présentation antigéniques dans la maladie coeliaque. 21 (1): 111-117.
- SmythDJ.,plagnolV.,Wamker NM.,cooper JD. , Downes K., Yang JH.(2008).,Shared and distinct genetic variants in type1 diabetes and celiac disease.N Engl JMed .,359 :2767-77.
- Sollid L.,(2002).,Coeliac disease :dissecting a compelex inflammatory disorder.,Nat Rev Immunol .9 :647-55.
- Sollid LM., Lie BA.,(2005)., Celiac disease genetics: current concepts and practical appli- cations. Clin Gastroenterol Hepatol .,3:843–51.
- Sollid LM., Markussen G., Ek J., Gjerde H., Vartdal F., Thorsby E.,(1989)., Evidence for aprimary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. J Exp Med 169:345–50.
- Spomenka L., Zeljko M.(2007)., Profil changeant de la maladie coeliaque :liens avec d'autres conditions auto-immunes. , diabète voice ., volume 52. numéro 1.

## T

-Tamouza R.,Charron D.,Abbad M.C.(2009).étude immunogénétique de la maladie coeliaque en Algérie.

-Tkoub EM. (2008).maladie coeliaque de l'adulte. Revue Française d'allergologie et d'immunologie clinique 48.

-Tiercy.JM.,(1999).,Gènes HLA etnon HLA du complexe majeur d'histocompatibilité humain Revue Médicale Suisse., 2252 .

-Tounis A.,(2003)., La maladie coeliaque de l'adulte au Maroc ., thèse de doctorat , Université Mohamed V-Souissi Faculté DE Médecine et de Pharmacie-RABAT.

## V

-Vahedi K., Bouhnik Y., Matuchansky C.,(2001) . Maladie cœliaque de l'adulte. Gastroenterol.Clin. Biol. . 25: 485-494.

-Van heel et al (2006)., Prévalence de la maladie cœliaque chez la population générale.

-Verkarre V.,Brousse N., (2013)., Le diagnostic histologique de la maladie coeliaque., Revue générale :Pathologie Biologie 61 , e13–e19.

## W

-Weill B.,Batteux F.,(2003)., Immunopathologie et réaction inflammatoire.,la maladie coeliaque page 89.

-Weill B.,Batteux F.,Dhainaut J (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.

-West J.,Logan Rf.,Hill PG.,Llody A., Lewis S., Hubbard R., Reader R., Holmes GK.,andKhaw KT.(2003).Seroprevalence,Correlates, and characteristics of undeted celiac disese in England.Gut 52(7):960-5.

-Wolfgang H.,Wolfagne.,(2006).,celiac disease :orphanet journal of Rae Disease .

## Z

-ZoneJ.(2005) .,Skin manifestations of celiac disease.Gastroenterology ;128:S87–91.

**Batch Sample Selection List**

**Search by Batch or Sample ID**

**Batch Search by Date**

**Display What if Assignment Merge Batch**

**Final Assignments**

**Probe Graph for Batch**

**Historical Graph of Individual Probes**

**All Probes Graph for a Sample**

**Set Range: Expands thresholds**

**Suggested Assignment Serological Equivalents Match Type**

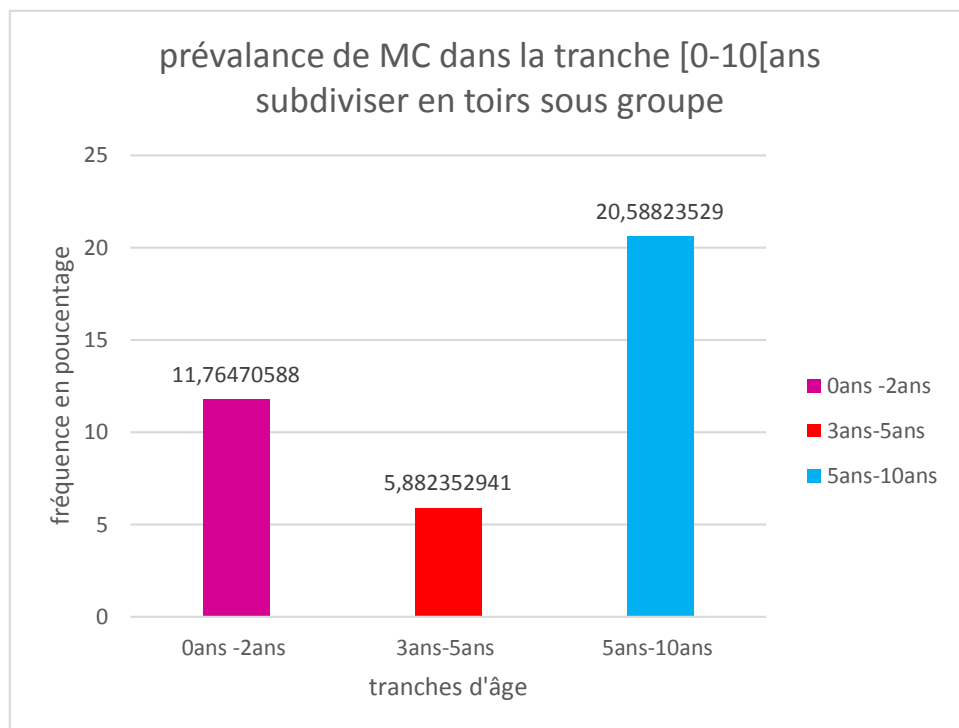
**Allele Comparison: (Will open in new window; Compare particular allele)**

**Probe Assignments: + or -**

Sample Name	Match Type	HLA-DQB1	HLA-DQA1	HLA-DQA2	HLA-DQA3	HLA-DQA4	HLA-DQA5	HLA-DQA6	HLA-DQA7	HLA-DQA8	HLA-DQA9	HLA-DQA10	HLA-DQA11	HLA-DQA12	HLA-DQA13	HLA-DQA14	HLA-DQA15	HLA-DQA16	HLA-DQA17	HLA-DQA18	HLA-DQA19	HLA-DQA20	HLA-DQA21	HLA-DQA22	HLA-DQA23	HLA-DQA24	HLA-DQA25	HLA-DQA26	HLA-DQA27	HLA-DQA28	HLA-DQA29	HLA-DQA30	HLA-DQA31	HLA-DQA32	HLA-DQA33	HLA-DQA34	HLA-DQA35	HLA-DQA36	HLA-DQA37	HLA-DQA38	HLA-DQA39	HLA-DQA40	HLA-DQA41	HLA-DQA42	HLA-DQA43	HLA-DQA44	HLA-DQA45	HLA-DQA46	HLA-DQA47	HLA-DQA48	HLA-DQA49	HLA-DQA50	HLA-DQA51	HLA-DQA52	HLA-DQA53	HLA-DQA54	HLA-DQA55	HLA-DQA56	HLA-DQA57	HLA-DQA58	HLA-DQA59	HLA-DQA60	HLA-DQA61	HLA-DQA62	HLA-DQA63	HLA-DQA64	HLA-DQA65	HLA-DQA66	HLA-DQA67	HLA-DQA68	HLA-DQA69	HLA-DQA70	HLA-DQA71	HLA-DQA72	HLA-DQA73	HLA-DQA74	HLA-DQA75	HLA-DQA76	HLA-DQA77	HLA-DQA78	HLA-DQA79	HLA-DQA80	HLA-DQA81	HLA-DQA82	HLA-DQA83	HLA-DQA84	HLA-DQA85	HLA-DQA86	HLA-DQA87	HLA-DQA88	HLA-DQA89	HLA-DQA90	HLA-DQA91	HLA-DQA92	HLA-DQA93	HLA-DQA94	HLA-DQA95	HLA-DQA96	HLA-DQA97	HLA-DQA98	HLA-DQA99	HLA-DQA100
20020114108	HLA-DQB1	HLA-DQA1	HLA-DQA2	HLA-DQA3	HLA-DQA4	HLA-DQA5	HLA-DQA6	HLA-DQA7	HLA-DQA8	HLA-DQA9	HLA-DQA10	HLA-DQA11	HLA-DQA12	HLA-DQA13	HLA-DQA14	HLA-DQA15	HLA-DQA16	HLA-DQA17	HLA-DQA18	HLA-DQA19	HLA-DQA20	HLA-DQA21	HLA-DQA22	HLA-DQA23	HLA-DQA24	HLA-DQA25	HLA-DQA26	HLA-DQA27	HLA-DQA28	HLA-DQA29	HLA-DQA30	HLA-DQA31	HLA-DQA32	HLA-DQA33	HLA-DQA34	HLA-DQA35	HLA-DQA36	HLA-DQA37	HLA-DQA38	HLA-DQA39	HLA-DQA40	HLA-DQA41	HLA-DQA42	HLA-DQA43	HLA-DQA44	HLA-DQA45	HLA-DQA46	HLA-DQA47	HLA-DQA48	HLA-DQA49	HLA-DQA50	HLA-DQA51	HLA-DQA52	HLA-DQA53	HLA-DQA54	HLA-DQA55	HLA-DQA56	HLA-DQA57	HLA-DQA58	HLA-DQA59	HLA-DQA60	HLA-DQA61	HLA-DQA62	HLA-DQA63	HLA-DQA64	HLA-DQA65	HLA-DQA66	HLA-DQA67	HLA-DQA68	HLA-DQA69	HLA-DQA70	HLA-DQA71	HLA-DQA72	HLA-DQA73	HLA-DQA74	HLA-DQA75	HLA-DQA76	HLA-DQA77	HLA-DQA78	HLA-DQA79	HLA-DQA80	HLA-DQA81	HLA-DQA82	HLA-DQA83	HLA-DQA84	HLA-DQA85	HLA-DQA86	HLA-DQA87	HLA-DQA88	HLA-DQA89	HLA-DQA90	HLA-DQA91	HLA-DQA92	HLA-DQA93	HLA-DQA94	HLA-DQA95	HLA-DQA96	HLA-DQA97	HLA-DQA98	HLA-DQA99	HLA-DQA100	

## Annexe2 Histogramme des tranches [0-10[ans subdiviser en trois

---



Hopital Central de l'Armée Mohamed Sghir Nekkache  
Service d'Immunologie  
Pr CHAIB.S  
Dr Y. MEDDOUR Dr M. SMARA

### Fiche de renseignement : Maladie cœliaque

Nom: \_\_\_\_\_ Prénom: \_\_\_\_\_ Sexe: \_\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_  
Date de naissance: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Origine: \_\_\_\_\_ Coordonnées: \_\_\_\_\_  
Age de debut de la maladie: \_\_\_\_\_

**CLINIQUE**

• **Classique:**  
 Symptômes gastro-intestinaux:  Diarrhées chroniques  
 Douleurs abdominales  
 Sd malabsorption  Anémie  
 Retard de croissance (RSP\_EF)

• **Atypique:**  
 Maladie de la thyroïde  Le diabète insulino-dépendant de type 1  
 Le syndrome de Sjögren  La maladie d'Addison  
 Une maladie hépatique auto-immune  
 Ostéoporose  Fertilité  Avortement  Hypotrophie foetale  
 Cardiomyopathie  
 Les troubles neurologiques  
 Dermatite herpétiforme

• **Silencieuse:**  
 Fibroscopie+biopsie (histologie: AV)  Sérologie coeliaque positive

ATCD familiaux de MC

**Histologie(anatomopathologie):**  AVI  AV sub-I  
.....  
Stade ( CI de Marsh):.....

**Regime sans gluten (RSG) :**  Oui  Non  Mal suivie  
Evolution sous RSG:  Favorable  Defavorable







**Annexe4** Tableau récapitulatif des patients Algériens atteints de la MC n=34.

---

**Annexe4** Tableau récapitulatif des patients Algériens atteints de la MC n=34.

---