

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Etude rétro-prospective de l'exploration du
système HLA à l'unité d'immunologie au
CHU de Blida.

Thèse d'exercice de fin d'études

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

Session : juin 2019.

Présentée par :

- BENDAHMANE Fatima Zohra
- BENROKIA Faiza
- SELAHI Khadidja

Encadrée par :

Pr. Y. BOUCHEDOUB,
Maître de conférences de classe « A »
Hospitalo-Universitaire en Immunologie,
Faculté de Médecine de Blida.

Devant le jury :

- Présidente : Dr. N. HADDAD, Maître assistante Hospitalo-Universitaire en Hémobiologie, Faculté de Médecine de Blida.
- Examinatrice : Dr. N. RACHEDI, Assistante en Immunologie, CHU Blida.
- Examineur : Dr. M.L. ZELTNI, Assistant en Immunologie, CHU Blida.



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة سعد دحلب - البليدة 1 -



كلية الطب
قسم الصيدلة

دراسة بأثر رجعي ومستقبلي للبحث في نظام مولدات ضد
الكريات البيضاء البشرية HLA
في وحدة المناعة بالمركز الاستشفائي الجامعي بالبليدة.

مذكرة تخرج

لنيل شهادة دكتور في الصيدلة

طبعة جوان 2019

تحت إشراف:

- البروفيسور. بي. بوشدوب
أستاذ محاضرات صنف «أ» استشفائي
جامعي في علم المناعة، كلية الطب
بالبليدة.

من إعداد:

- بن دحمان فاطمة الزهراء
- بن رقية فايزة
- صلاح خديجة

لجنة المناقشة:

رئيسة اللجنة: الدكتورة. ن. حداد، أستاذة مساعدة استشفائية جامعية في تحليل أمراض الدم، كلية الطب بالبليدة.

أعضاء اللجنة:

الدكتورة. ن. راشدي، مساعدة في علم المناعة، بالمركز الاستشفائي الجامعي بالبليدة.
الدكتور. م. ل. زلتني، مساعد في علم المناعة، بالمركز الاستشفائي الجامعي بالبليدة.

كلمة شكر وتقدير

الحمد لله الذي بفضلہ تتم الصالحات و تنزل البركات فله الحمد و الشكر الجزيل و الثناء الكثير لما وفقنا لهذا العلم النافع الواسع و إتمام هذا البحث الذي عاد علينا بالخير الكثير و الزاد الكبير فلك الحمد ربي حتى يبلغ الحمد منتهاه.

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى من

شرفنا بإشرافه على مذكرة بحثنا الأستاذ البروفيسور " بوشدوب يوسف "

الذي لن تكفي حروف هذه المذكرة لإيفائه حقه بصبره الكبير، وتوجيهاته العلمية التي لا تقدر بثمن، والتي

ساهمت بشكل كبير في إتمام واستكمال هذا العمل.

ثم نتقدم بالشكر إلى السيدة الدكتورة ن. حداد التي شرفتنا بترأس لجنة مناقشة مذكرتنا. نشكر على المعلومات المضافة لنا في هذا العمل.

وكذا نشكر السيدة الدكتورة ن. راشدي والسيد الدكتور م. ل. زلنتي على تفضلهما قراءة المذكرة وبذلهم الوقت في ما يرقى بالبحث إلى مستوى أكمل.

وإلى من زرعوا التفاؤل في دربنا وقدموا لنا المساعدات والتسهيلات على رأسهم السيد البروفيسور مغلاوي.

ولا ننسى شكر الصيدلانيات المقيمات في علم المناعة الدكتورة كراش الدكتورة رزقي والدكتورة صالح والطبيبة المقيمة الدكتورة زياني.

وإلى السيد خرباش وكافة الطاقم الشبه طبي في وحدة المناعة حسيبة بن بو علي بالمركز الاستشفائي الجامعي بالبليدة.

DÉDICACE

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie cette thèse à :

*Mes très chers parents **BENDAHMANE Djamel** et **ZEHARAOUI Dalila**,*

Merci pour votre amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours, votre soutien, sans lesquels je n'en serais jamais arrivée là aujourd'hui. Sachez que je vous 'en serai toujours reconnaissante.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux, le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

*A mes frères **Mohamed** et **Sidali**,*

Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence, votre amour pour donner du sens à notre vie de famille.

*A ma sœur **Noussayba**,*

Merci énormément pour ton soutien plus que précieux, merci pour ton grand cœur, toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer.

Que ce travail vous témoigne de ma sincère affection

*A ma belle-sœur **Amina**, mon neveu **Housseem** et ma nièce **Feriel**.*

*A mes amies **BENROKIA Faïza** et **SELAHI Khadidja**,*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs sur qui je peux compter.

*Et à toute la famille **BENDAHMANE** et à toutes personnes qui m'ont encouragé ou m'aidé au long de mes études.*

FATIMA ZOHRA

DÉDICACE

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

*Aux personnes les plus chères au monde, à mes très chers parents **BENROKIA Mahfoudh et AZIZI Yamina,***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma profonde gratitude pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance.

Que ce travail soit le fruit de vos prières et sacrifices, et qu'Allah tout puissant vous accorde le paradis et vous procure santé, bonheur et longue vie.

*À mon cher frère **Benyoucef et ma belle-sœur Hadjer,***

Merci d'être à mes côtés aux moments difficiles de ma vie. Merci pour votre sincère amour, et votre soutien inconditionnel. Que le Dieu vous protège de tout mal.

À mes chères sœurs,

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées. Merci pour tout ... pour votre amour, la confiance et l'énergie que vous m'aviez donné.

*À ma chère cousine **Assia,***

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

*À mes adorables amies **Fatima Zohra, Khadidja et Zineb,***

Je vous remercie pour votre amitié et pour tous les moments inoubliables qu'on a passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À tous mes neveux et mes nièces, je vous aime.

*À toute la famille **BENROKIA et mes amis,** je vous dis Merci.*

FAIZA

DÉDICACE

À mes très chers Parents, SELAHI Mohamed et MEZIANE Houria,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Vos prières et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon frère Adel,

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

À mes adorables sœurs Hayet, Faiza, Loubna, Fatima, et à ma belle- sœur Imène,

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

A mes beaux-frères Ahmed, Abd el rezzak et Mohamed.

A mes neveux Iyade, Abd el allah et Amir.

À toute la famille SELAHI.

A mes chère amies BENROKIA Faiza, BENDAHRMANE Fatima Zohra,

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

À mes professeurs et mes maîtres de stage ;

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

KHADIDJA

SOMMAIRE

REMECIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES GRAPHES

LISTE DES ABREVIATIONS

GLOSSAIRE

INTRODUCTION.....1

PARTIE THEORIQUE : GENERALITES SUR LE SYSTEME HLA

I-Définition du système HLA.....4

II-Histoire et découverte du système HLA.....4

III-Immunogénétique du système HLA6

1-Les gènes HLA de classe I6

2-Les gènes HLA de classe II7

3-Les gènes HLA de classe III7

IV-Structure des molécules HLA8

1-Structure des molécules HLA de classe I8

2-Structure des molécules HLA de classe II9

V-Distribution tissulaire des molécules HLA10

VI-Caractéristiques du système HLA11

1-Polymorphisme.....11

2-Liaison étroite et transmission en bloc.....15

3-Expression codominante15

4-Déséquilibre de liaison	16
VII-Nomenclature	17
VIII-Fonctions des molécules HLA	17
1-Présentation des antigènes	18
2-Rôle des molécules HLA dans la sélection thymique	19
3-HLA et les cellules Naturel Killers	19
IX-Applications du système HLA	20
1-Transplantation d'organes et greffes de cellules et tissus.....	20
2-Associations HLA et maladies	23
3-Application du système HLA en médecine légale	24
4-Application du système HLA en anthropologie	25
PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	
I-Objectif	27
II-Description de l'étude	27
III-Matériel et méthodes	27
III-1-Matériel	27
1-1-Matériels biologiques	27
1-2-Matériel non biologiques.....	28
1-2-1-Pour la séparation des lymphocytes totaux (T+B)	28
1-2-2-Pour l'enrichissement en lymphocytes B	28
1-2-3-Pour l'extraction d'ADN à partir du sang périphérique « Technique QIAGEN ».....	29
1-2-4-Pour le typage HLA par technique sérologique	30
1-2-5-Pour le typage HLA par PCR-SSP	31
1-2-6-Autres matériel et verreries utilisés au laboratoire	32
1-2-7-Matériel informatiques	32
III-2-Méthodes	33
2-1-Recueil des données	33

2-2-Prélèvement.....	33
2-3-Techniques de séparation des lymphocytes.....	33
2-4-Extraction d'ADN à partir du sang périphérique.....	35
2-5-Etude de polymorphisme HLA	38
2-5-1-Technique sérologique	38
2-5-2-Technique de biologie moléculaire	41
2-6-Techniques de recherche des anticorps anti-HLA de classe I et II.....	47
2-7-Technique de Cross match par Lymphocytotoxicité.....	50

CHAPITRE II : RESULTATS

I-Caractéristiques démographiques de la population algérienne étudiée	53
II-Caractéristiques biologiques de la population algérienne étudiée	55
III-Etude du polymorphisme HLA chez la population algérienne étudiée.....	63

CHAPITRE III : DISCUSSION.....85

CONCLUSION.....97

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

RESUME

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Organisation génétique du système HLA.....	6
Figure 2 : Organisation des gènes du locus DR.....	7
Figure 3 : Gènes du système HLA.....	8
Figure 4 : Structure des molécules HLA de classe I et de classe II.....	10
Figure 5 : Répartition du nombre d'allèles nommés depuis 1987 jusqu'au mars 2019.....	12
Figure 6 : Polymorphisme des gènes HLA-I.....	13
Figure 7 : Génération de molécules HLA hybrides.....	14
Figure 8 : Transmission parentale des haplotypes HLA.....	15
Figure 9 : Distribution intrafamiliale des haplotypes HLA.....	16
Figure 10 : Nomenclature des allèles HLA.....	17
Figure 11 : Voie de présentation de l'antigène par les molécules HLA I.....	18
Figure 12 : Voie de présentation de l'antigène par les molécules HLA II.....	19
Figure 13 : Mécanismes d'agression du greffon par les anticorps anti-HLA.....	23
Figure 14 : Résultat de séparation par technique de Ficoll.....	34
Figure 15 : Principe d'une réaction positive en microlymphocytotoxicité.....	39
Figure 16 : Principe d'une réaction négative en microlymphocytotoxicité.....	40
Figure 17 : Les principales étapes de la réaction de PCR.....	43
Figure 18 : Etapes d'électrophorèse sur gel d'agarose.....	45
Figure 19 : Lecture du gel d'agarose.....	46
Figure 20 : Interprétation des résultats d'ELISA par le logiciel HLA fusion.....	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Distribution tissulaire des molécules HLA.....	11
Tableau 2 : Nombre des allèles HLA (en juin 2017).....	13
Tableau 3 : Score selon l'échelle standard ASHI.....	40
Tableau 4 : Répartition de 1046 sujets selon l'année de recrutement.....	54
Tableau 5 : Répartition de 1046 sujets selon la région d'origine.....	54
Tableau 6 : Répartition de 1046 sujets selon l'indication du typage HLA.....	55
Tableau 7 : Répartition de 971 sujets selon leur statut receveur /donneur.....	56
Tableau 8 : Répartition de 971 sujets typés par année.....	57
Tableau 9 : Répartition de la population étudiée selon la classe HLA typée.....	57
Tableau 10 : Répartition de 478 cross match initiaux selon les résultats.....	59
Tableau 11 : Répartition de 168 cross match finaux selon les résultats.....	59
Tableau 12 : Comparaison des résultats des cross match initiaux et finaux.....	60
Tableau 13 : Répartition de 492 patients selon les résultats de la recherche des allo Ac anti-HLA de classe I.....	60
Tableau 14 : Répartition de 492 patients selon les résultats de la recherche des allo Ac anti-HLA de classe II.....	61
Tableau 15 : Répartition des patients selon les résultats du cross match final et l'année de greffe.....	62
Tableau 16 : Fréquences des allèles HLA-A chez 1033 sujets	63
Tableau 17 : Fréquences des allèles HLA-B chez 1033 sujets	65
Tableau 18 : Fréquences des allèles HLA-C chez 245 sujets	66
Tableau 19 : Fréquences des allèles HLA-DR chez 564 sujets	67
Tableau 20 : Fréquences des allèles HLA-DQ chez 532 sujets	69

Tableau 21 : Fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-A selon les régions d'origine.....	71
Tableau 22 : Fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-B selon les régions d'origine.....	73
Tableau 23 : Fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-C selon les régions d'origine.....	75
Tableau 24 : Fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-DR selon les régions d'origine.....	76
Tableau 25 : Fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-DQ selon les régions d'origine.....	77
Tableau 26 : Fréquences des haplotypes A/B retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.....	79
Tableau 27 : Fréquences des haplotypes B/C retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.....	80
Tableau 28 : Fréquences des haplotypes DR/DQ retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.....	81
Tableau 29 : Fréquences des haplotypes A/B/DR retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.....	82
Tableau 30 : Fréquences des haplotypes A/B/DR/DQ retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.....	82
Tableau 31 : Fréquences des haplotypes B/C/DR retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.....	83
Tableau 32 : Fréquences des allèles HLA-A.....	89
Tableau 33 : Fréquences des allèles HLA-B.....	90
Tableau 34 : Fréquences des allèles HLA-C.....	91
Tableau 35 : Fréquences des allèles HLA-DR.....	91
Tableau 36 : Fréquences des allèles HLA-DQ.....	92
Tableau 37 : Fréquences des haplotypes A/B.....	93
Tableau 38 : Fréquences des haplotypes B/C.....	94
Tableau 39 : Fréquences des haplotypes DR/DQ.....	94

Tableau 40 : Fréquences des haplotypes A/B/DR.....	95
Tableau 41 : Fréquences des haplotypes A/B/DR/DQ.....	95

LISTE DES GRAPHES

Graphe 1 : Répartition de notre population étudiée selon le service demandeur.....	53
Graphe 2 : Répartition de 1046 sujets selon l'indication du typage HLA.....	55
Graphe 3 : Répartition de 455 donneurs selon le lien de parenté.....	56
Graphe 4 : Répartition de la population étudiée selon la classe HLA typée.....	58
Graphe 5 : Répartition de la population étudiée selon le locus HLA typé.....	58
Graphe 6 : Fréquences des allèles HLA-A chez 1033 sujets	64
Graphe 7 : Fréquences des allèles HLA-C chez 245 sujets	67
Graphe 8 : Fréquences des allèles HLA-DR β 1 chez 564 sujets	68
Graphe 9 : Fréquences des allèles HLA-DR β 3(DR52), DR β 4(DR53) et DR β 5(DR51) chez 564 sujets	69
Graphe 10 : Fréquences des allèles HLA-DQ chez 532 sujets	70

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA : Acides aminés.

Ac : Anticorps.

ACD : Anticoagulant Citrate

Dextrose.

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique.

AE: Elution buffer.

Ag : Antigène.

AO/BE: Acridine orange/ Bromure
d'éthidium

ASHI: American Society for
Histocompatibility and Immunogenetics.

AW: Wash buffer

BET (TBE) : Tampon Tri borate

EDTA

CAC: Centre anti-cancéreux

CDC : Microlymphocytotoxicité

Complément Dépendante.

CHU : Centre Hospitalo-universitaire.

CMH : Complexe Majeur
d'Histocompatibilité.

CPA : Cellule Présentatrice
d'Antigène.

CXM: Cross match.

CXM F: Cross match final.

CXM I: Cross match initial.

dNTP: Désoxynucléotides
triphosphates.

DSA : Donor Specific Antibodies

EDTA :Ethylènediaminetétraacétique.

ELISA: Enzyme Linked Immuno
Sorbent Assay.

Fr : Fréquence.

GVH : Greffon contre Hôte.

HBB : Hassiba Ben Bouali.

HCA : Hôpital Central d'Armée

HLA : Human Leucocyte Antigen.

IFN : Interféron.

IL : Interleukine.

IRC : Insuffisance rénale chronique.

Kb: Kilobase.

KDa: KiloDalton.

LCT: Microlymphocytotoxicité.

LT : Lymphocyte T.

ml : Millilitre.

MO : Moelle osseuse.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

RE : Réticulum Endoplasmique.

RR: Risque relatif.

SSO: Single Specific Oligonucleotid.

SSP: Single Specific Primer.

TAP: Transporter Associated Peptide.

TCR: T Cell Receptor.

TNF: Tumor Necrosis Factor.

β2m : β2-microglobuline.

μl : Microlitre.

°C : Degré Celsius.

GLOSSAIRE

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

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

Allo-anticorps : anticorps produit entre individus non identiques appartenant à une même espèce.

Allo-antigène : molécule variable selon les individus d'une même espèce (exemple : système ABO).

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

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

Crossing-over : un phénomène génétique qui a lieu lors de la méiose.

Cytokine : molécule sécrétée par un grand nombre de cellules, en particulier les lymphocytes (globules blancs intervenant dans l'immunité cellulaire) et les macrophages (cellules de défense de l'organisme chargées d'absorber des particules étrangères) et impliquée dans le développement et la régulation des réponses immunitaires.

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

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

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

Génotype : constitution génétique d'un individu.

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

Hétérodimère : protéine composée de deux sous-unités différentes.

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

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

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

Immunosuppresseurs : des médicaments utilisés dans le traitement immunosuppresseur pour inhiber ou prévenir l'activité du système immunitaire.

Loci : pluriel de locus.

Locus : un emplacement physique précis et invariable sur un chromosome.

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

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

Phénotype : manifestation apparente de la constitution du génome.

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

Introduction

Le système HLA constitue un complexe multigénique hautement polymorphe, dont les gènes codent pour des molécules très immunogènes responsables de phénomènes de rejets de greffe entre sujets histo-incompatibles. [1]

Le champ d'application de l'exploration du système HLA est extrêmement étendu et ceci s'explique par son rôle dans le contrôle et le développement des réponses immunitaires essentiellement de type spécifique. Il faut, cependant, reconnaître qu'en pratique courante, c'est avant tout le domaine de la transplantation et à un moindre degré celui de la susceptibilité génétique aux maladies auto-immunes qui constituent l'activité principale des laboratoires d'histocompatibilité. [2]

La transplantation rénale est l'intervention chirurgicale qui consiste à remplacer un rein défectueux par un rein sain que l'on prélève sur un donneur [3]. Il s'agit du traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique le plus efficace et le moins coûteux.

Un bilan immunologique pré-transplantation est réalisé. Il a pour but d'éliminer toute contre-indication à la greffe, définitive ou transitoire, et de prévenir tout événement qui pourrait se produire en post-transplantation.


L'obstacle majeur d'une allogreffe qui est à l'origine des différences génétiques entre le donneur et le receveur est le rejet qui est un phénomène de nature immunologique [4], faisant intervenir aussi bien les mécanismes de l'immunité humorale que ceux de l'immunité cellulaire entraînant des lésions du parenchyme rénale pouvant évoluer jusqu'à la destruction totale du greffon et la perte de sa fonction.

Le polymorphisme du système HLA est généré par les mutations et les conversions géniques. L'étude de ce dernier s'intéresse aux origines et aux mouvements migratoires des différentes populations, qui ont influencé la diversité génétique, la distribution et la fréquence des différents allèles et haplotypes de ces populations.

Du fait de la diversité très importante de ce système, la caractérisation du polymorphisme allélique de ses gènes au niveau des échantillons de notre population étudiée mène à des incertitudes appelées « ambiguïtés de typage ».

Introduction

Au cours de ce travail nous sommes plus particulièrement intéressées à l'exploration des résultats de la prise en charge immunologique des patients candidats à une transplantation rénale recrutés au niveau de l'unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali de CHU Blida, ainsi à l'exploitation des résultats du typage HLA dans l'étude du polymorphisme du système HLA au sein de la population algérienne.



*Recherche
bibliographique*

I-Définition :

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), ou système HLA chez l'homme, est localisé sur le bras court du chromosome 6 où il occupe une région de 3 600 kilo bases. La région HLA, porte plus de 200 gènes codant pour des produits très divers, ce qui en fait la région du génome humain la plus riche en gènes exprimés.

Les principaux produits codés dans le CMH sont les antigènes majeurs d'histocompatibilité, glycoprotéines dites allo-géniques responsables du rejet de greffe entre individus de la même espèce [5]. Ces antigènes sont des glycoprotéines de la surface cellulaire et sont porteurs de l'identité biologique de l'individu [6]. Ils sont indispensables pour la reconnaissance du « soi » et du « non-soi » [7] et jouent ainsi un rôle déterminant dans l'initiation de la réponse immunitaire adaptative. Ces gènes et molécules interviennent dans la présentation d'antigènes.

II-Histoire et découverte du système HLA :

L'existence du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) a d'abord été évoquée chez la souris, par **Peter Görer**, en **1936**. Des réactions d'agglutinations d'érythrocytes de souris par des sérums de lapin préalablement immunisés par des érythrocytes murins ont permis de suggérer l'existence d'allo-antigènes en surface cellulaire. **Snell** observa par la suite que le rejet du greffon chez la souris était associé à une incompatibilité au niveau des allo antigènes précédemment définis par **Görer**. C'est ainsi qu'il décrit pour la première fois le Complexe Majeur d'Histocompatibilité murin, nommé «H2 » en l'honneur de l'antigène II découvert par **Görer** [8]. C'est donc sa capacité d'induire une forte réponse immunitaire allo-génique, responsable du rejet de greffe, qui le fait connaître dans un premier temps et qui lui fait mériter son nom. Son rôle majeur dans la réponse immunitaire et dans l'éducation des lymphocytes T par la présentation des antigènes, n'a été découvert que 30 ans après.

Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité de l'homme fut découvert en **1952** par **Jean Dausset**, récompensé du **prix Nobel de médecine en 1980**. Son nom de **système HLA** (Human Leukocyte Antigen) symbolise le groupe sanguin leucocytaire mis en évidence par l'agglutination de leucocytes par des sérums de sujets immunisés à l'occasion de transfusions sanguines. En effet, après ses études de médecine à Paris, **Jean Dausset** porta un grand intérêt aux patients polytransfusés et leucopéniques, chez qui, il découvrit l'existence d'anticorps anti-leucocytes, d'abord soupçonnés d'auto-anticorps. Il démontra rapidement qu'il s'agissait en fait

Recherche bibliographique

d'une allo-immunisation générée par les nombreuses transfusions. Ce n'est pourtant que six ans plus tard, en **1958**, que le premier antigène du CMH humain MAC (HLA-A2) est décrit.

A cette époque, des expériences ont été réalisées à partir du sérum d'un patient qui avait reçu des transfusions d'un unique donneur. Elles permirent de constater que les anticorps développés par ce patient réagissaient avec les leucocytes de la moitié d'une population de donneurs volontaires. Les noms des trois premiers donneurs avec qui le sérum n'a montré aucune réaction sont à l'origine de l'acronyme MAC. [9]

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

En **1964** lors du 1^{er} workshop ; introduction de la technique de microlymphocytotoxicité complément dépendante (LTC) par **P. TERASAKI** et **Mc CLELLAND**. [10]

En **1968**, **Jean Dausset** émet l'hypothèse de l'implication du système HLA en pathologie. [11]. Dès les années **1980**, l'avènement des techniques de biologie moléculaire avait permis une meilleure approche de ce système. [11]

La première transplantation rénale en **Algérie** dans le cadre d'un donneur vivant apparenté a été réalisée en **juin 1986** au CHU Mustapha (Alger).

En **2002**, La première transplantation rénale en **Algérie** dans le cadre d'un donneur cadavérique a été réalisée à **Constantine** dont l'exploration immunologique a été faite par des physiologistes sous la direction du professeur **NEDJAR**.

En **janvier 2003**, la première transplantation rénale a été faite à **Blida** avec un rein d'un donneur vivant.

La première exploration du système HLA au niveau de l'unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida dans le cadre de transplantation rénale d'un donneur vivant a été faite par le professeur **BOUCHEDOUB** et Mr **KHERBECHE** en **2006**.

La première transplantation rénale en Algérie dans le cadre d'un donneur cadavérique où l'exploration du système HLA a été effectuée en **2010** par les immunologistes du CHU de Blida, par le professeur **BOUCHEDOUB** et Mr **KHERBECHE**.

III-Immunogénétique du système HLA :

Le système HLA est composé d'un ensemble de gènes codant pour des glycoprotéines transmembranaires de classe I et de classe II dont la fonction principale est de présenter les peptides antigéniques aux lymphocytes T CD8⁺ et CD4⁺ respectivement [12]. Sa carte génétique est relativement bien détaillée aujourd'hui (**Figure 1**). [13]

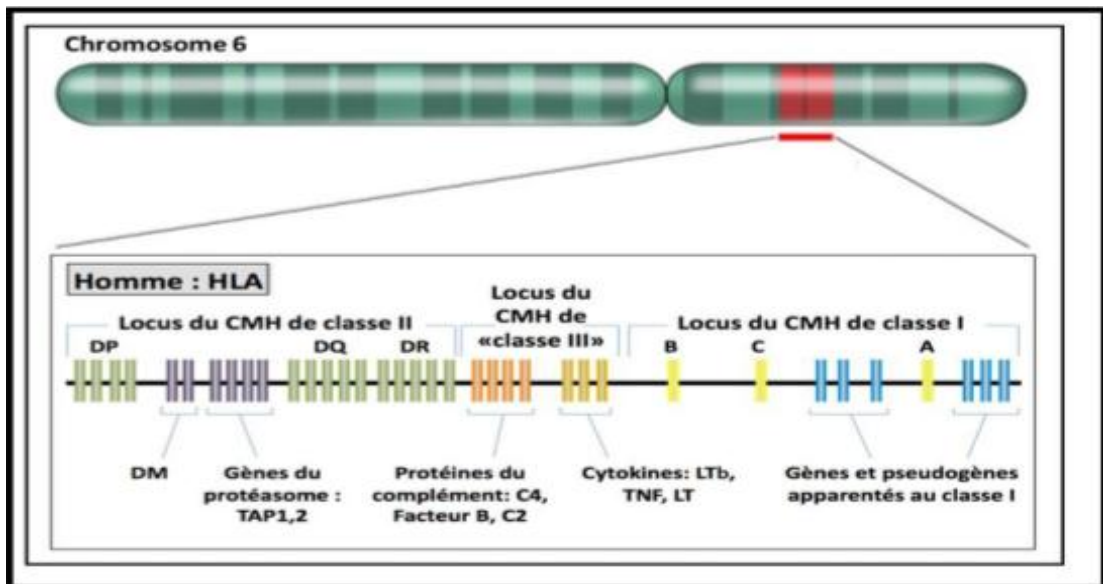


Figure 1 : Organisation génétique du système HLA. [5]

1-Les gènes HLA de classe I :

Les gènes de la classe I sont localisés en position télomérique avec les trois principaux loci HLA de classe I dits classiques (HLA-A, HLA-B, HLA-C) en plus des gènes HLA de classe I non classiques (HLA-E, HLA-F, HLA-G) et les gènes apparentés à la classe I (HLA I like) [14]. Les gènes HLA classiques sont parmi les gènes les plus polymorphes décrits dans le génome humain ; on dénombre en effet 3968 allèles pour le locus HLA-A, 4828 pour HLA-B et 3579 pour HLA-C. Contrairement aux gènes non classiques, qui leur polymorphisme reste très faible. [15, 32]

2-Les gènes HLA de classe II :

Les gènes de la classe II sont en position centromérique et comptent trois principaux loci : HLA-DR, HLA-DQ et HLA-DP. Des analyses systématiques de cette région ont révélé son extraordinaire richesse en séquences codantes [16], ils occupent 900 kilobases (0.9 Mb) et comprennent plus de 32 gènes dont au moins 10 gènes HLA transcrits (DRA, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DPA, DPB1, DQA, DQB1, DMA, DMB, DOA, DOB) (Les gènes DRB3, DRB4 et DRB5 ne sont pas toujours transcrits, cela dépend des gènes DRβ1). [17] (Figure 2)

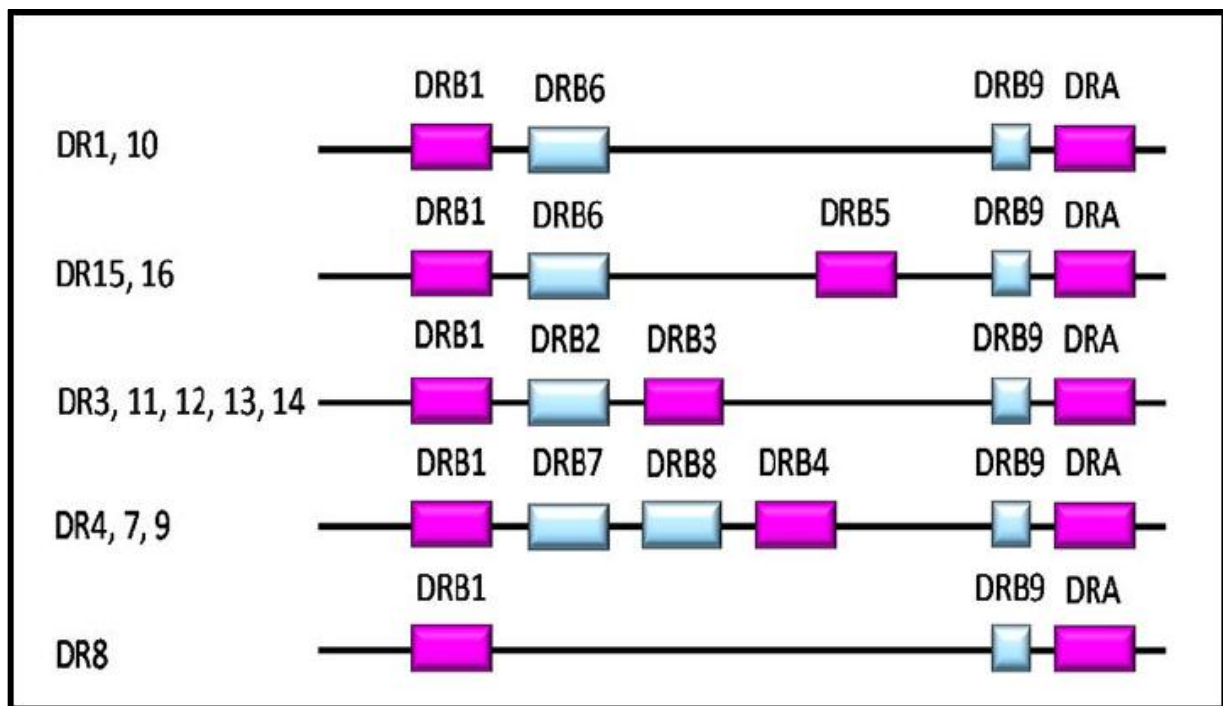


Figure 2 : Organisation des gènes de locus DR. [18]

3-Les gènes de classe III :

Les gènes de classe III, situés entre les deux classes précédentes « la région intermédiaire » s'étendent sur une zone très dense, cette région contient également un grand nombre de gènes, au moins 39, parmi lesquels les gènes codant principalement pour des molécules ayant un rôle dans les réactions immunitaires, comme les protéines intervenant dans la voie d'activation du complément (C2, C4, facteur B), et le Tumor Necrosis Factor (TNFα et β). Toutefois, de nombreux gènes n'ayant pas de fonction dans le système immunitaire se trouveraient également dans cette région, comme par exemple la 21-hydroxylase. [15] (Figure 3)

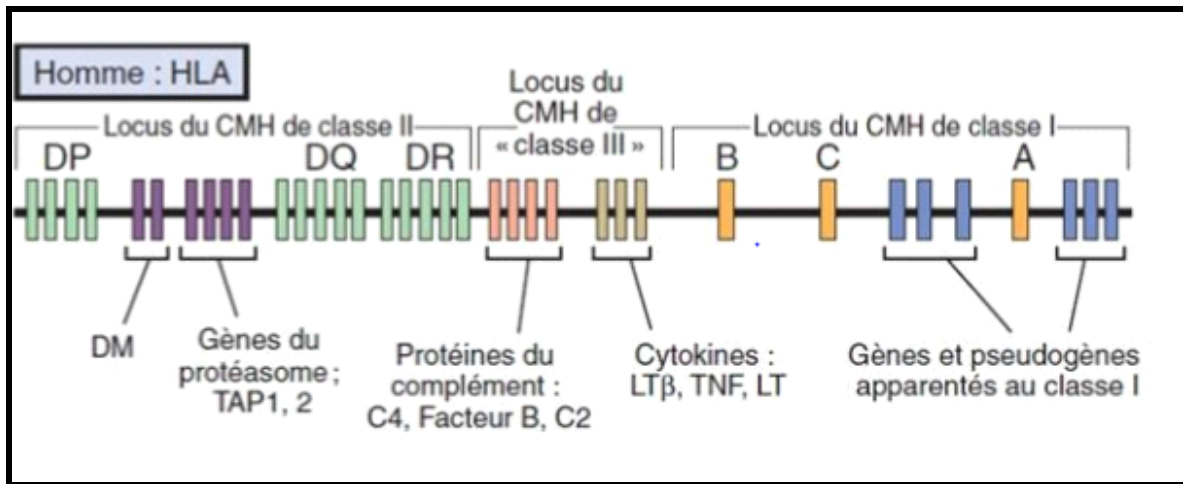


Figure 3 : Gènes du système HLA. [19]

IV-Structure des molécules HLA :

Les molécules HLA sont des glycoprotéines transmembranaires hétérodimériques [20], les molécules de classe I ou de classe II du HLA ont été isolées et purifiées, puis la structure tridimensionnelle de leurs domaines extracellulaires a été déterminée par cristallographie aux rayons X [21]. Malgré le polygénisme et le polymorphisme des molécules HLA, leur structure tridimensionnelle fait preuve d'une grande homogénéité. [22]

1-Structure des molécules HLA de classe I :

Les produits des gènes HLA-A, B et C sont des glycoprotéines formées de l'association non-covalente d'une chaîne lourde polymorphe α , à une chaîne légère non polymorphe β_2 -microglobuline. (Figure 4)

A) La chaîne lourde α :

La chaîne lourde α est une protéine glycosylée d'environ 350 AA, avec un poids moléculaire de 45000 daltons, comporte :

- 3 domaines extracellulaires α_1 , α_2 et α_3 d'environ 90 AA. Les domaines α_1 et α_2 les plus externes portent le polymorphisme de la molécule, tandis que le domaine α_3 est conservé.
- Une région transmembranaire hydrophobe de 25AA.
- Un court segment hydrophile intracytoplasmique C-terminal de 30-40AA.

Recherche bibliographique

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. [23]

B) La chaîne $\beta 2$ -microglobuline :

La chaîne $\beta 2$ -microglobuline, commune à toutes les molécules HLA, est une protéine non glycosylée de 99AA. Elle comprend un seul domaine, associé à la chaîne lourde α au niveau du domaine $\alpha 3$ par des liaisons non covalentes. Ce domaine renferme un pont S-S, son poids moléculaire est de 12000 daltons et codé par un gène localisé sur le chromosome 15 (donc, en dehors du HLA). [23]

2-Structure des molécules HLA de classe II :

Les molécules HLA de classe II sont des protéines dimériques hétérogènes, elles sont constituées de deux chaînes polypeptidiques différentes α et β , codées par deux gènes distincts au sein du HLA. La chaîne α est une glycoprotéine de 33 kDa constituée de deux domaines extracellulaires, $\alpha 1$ et $\alpha 2$. La chaîne β est une glycoprotéine de 28 kDa constituée de deux domaines extracellulaires, $\beta 1$ et $\beta 2$ (**Figure 4**). Ce sont les domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$ qui constituent la poche à peptide, le peptide est long et déborde les extrémités de la poche. Comme pour les molécules de classe I, le peptide est indispensable à la stabilité de la molécule. Les molécules de classe II sont codées par les allèles du locus DP, DR et DQ, chaque locus abrite les gènes A et B codant respectivement les chaînes α et β (ex. $DP\alpha$ et $DP\beta$). [24]

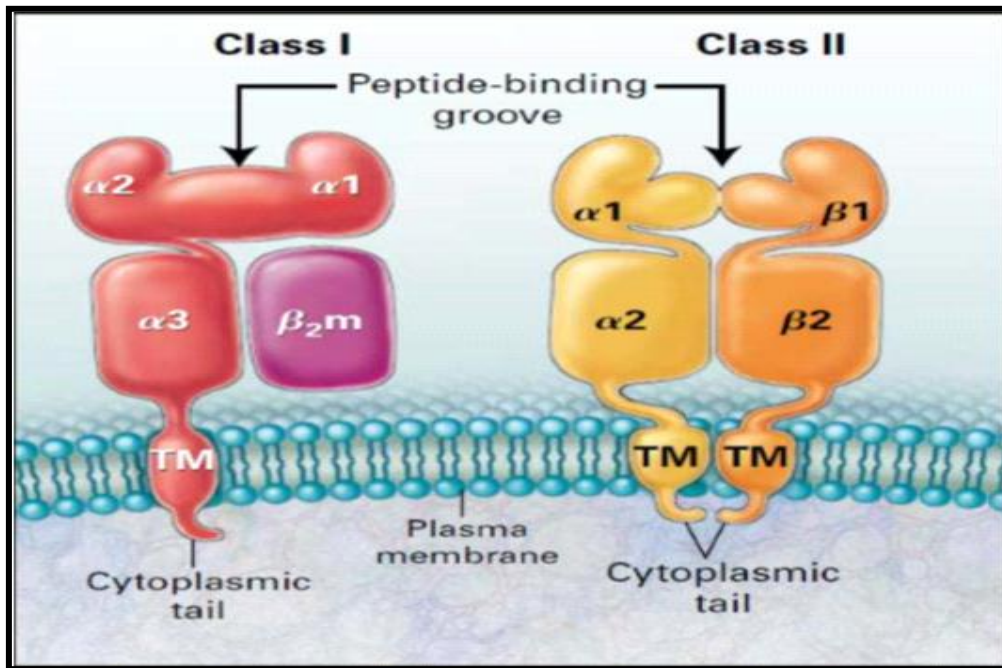


Figure 4 : Structure des molécules HLA de classe I et de classe II. [25]

V-Distribution tissulaire des molécules HLA :

La distribution tissulaire des molécules HLA de classe I (conventionnelles A, B, C) est très ubiquitaire. Dans le sang, à l'exception des globules rouges, toutes les cellules en possèdent à leur surface. La plupart des organes et tissus les expriment avec quelques exceptions : cellules et vaisseaux du système nerveux central, hépatocytes, pancréas exocrine.

L'expression constitutive tissulaire des molécules de classe II est beaucoup plus restreinte que celle de classe I. Dans le sang, seules les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les monocytes en possèdent en surface.

Dans les tissus, outre les macrophages et les cellules dendritiques, les molécules de classe II existent sur les endothéliums capillaires et certaines cellules de l'épithélium de l'intestin grêle. Néanmoins, sous l'effet de cytokines comme l'interféron δ ou le TNF (Tumor Necrosis Factor), de nombreuses cellules parenchymateuses et les lymphocytes T peuvent synthétiser et exprimer des molécules HLA de classe II. [26] (**Tableau 1**)

Tissus	HLA Classe I	HLA Classe II
Lymphocytes T	+++	+/-
Lymphocytes T activés	+++	++
Lymphocytes B	+++	+++
Macrophages	+++	++
Autres CPA	+++	+++
Epithélium thymique	+	+++
Neutrophiles	+++	-
Hépatocytes	+	-
Rein	+	-
SNC	+	-
Erythrocytes	-	-

Tableau 1 : Distribution tissulaire des molécules HLA. [26]

VI-Caractéristiques du système HLA :

1-Polymorphisme :

Les gènes codant pour les molécules HLA de classe I et II sont les plus polymorphes du génome humain, avec plus de 16 000 allèles décrits en mars 2019. Le polymorphisme est le résultat de mutations ponctuelles, mais également de conversions géniques et de recombinaisons homologues ayant eu lieu au moment de la méiose. C'est pour cela que les différents allèles HLA sont très proches entre eux au sein d'un même locus, mais également entre plusieurs loci de la même classe, et que l'on dit que les molécules HLA sont des mosaïques de déterminants antigéniques. [27,28] (Figure 5)

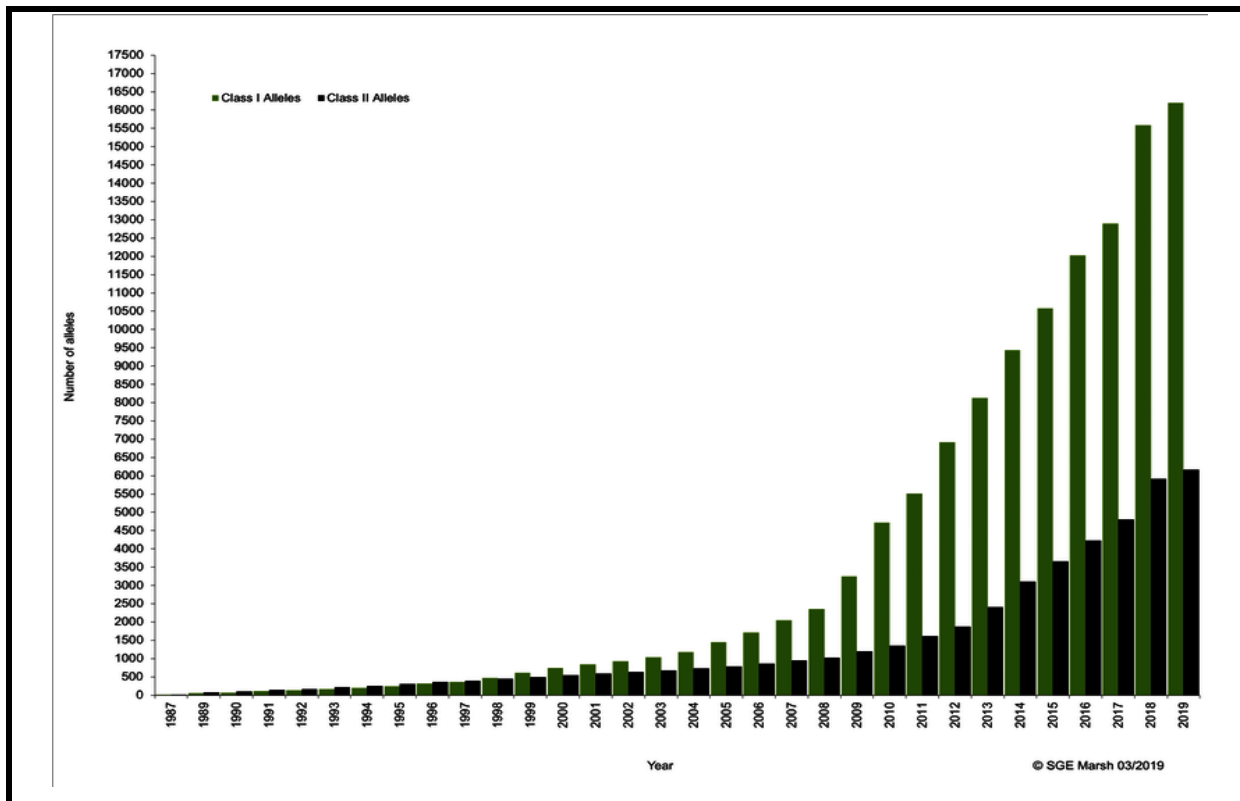


Figure 5 : Répartition du nombre d'allèles nommés depuis 1987 jusqu'au mars 2019. [29]

Chaque individu est hétérozygote pour la plupart de ses gènes HLA de classe I et de classe II, et n'exprime qu'un ou deux des allèles de chaque gène présent dans l'espèce humaine. [30]

La diversité génétique extrême du système HLA est portée par un nombre important de locus et pour de nombreux loci par un nombre considérable d'allèles. Si l'on ne considère que les 6 séries alléliques principales HLA (A, B, C, DR, DQ, DP), celles-ci portent plus de 6000 allèles officiellement nomenclaturés dont la séquence a été internationalement validée conduisant à une diversité théorique de plusieurs dizaines de milliards de combinaisons. [31] (Tableau2)

Nombre des allèles HLA	
Allèles HLA Classe I	12544
Allèles HLA Classe II	4622
Alleles HLA	17166
Autres Allèles non HLA	178

Tableau 2 : Le nombre des allèles HLA (en juin 2017). [32]

La majorité du polymorphisme allélique est concentrée au niveau des exons 2 et 3 qui codent pour les domaines externes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ impliqués dans le site de fixation peptidique et dans la région de contact avec le TCR. Le domaine $\alpha 3$ et la $\beta 2m$, en revanche, sont très conservés. [33,34] (Figure 6)

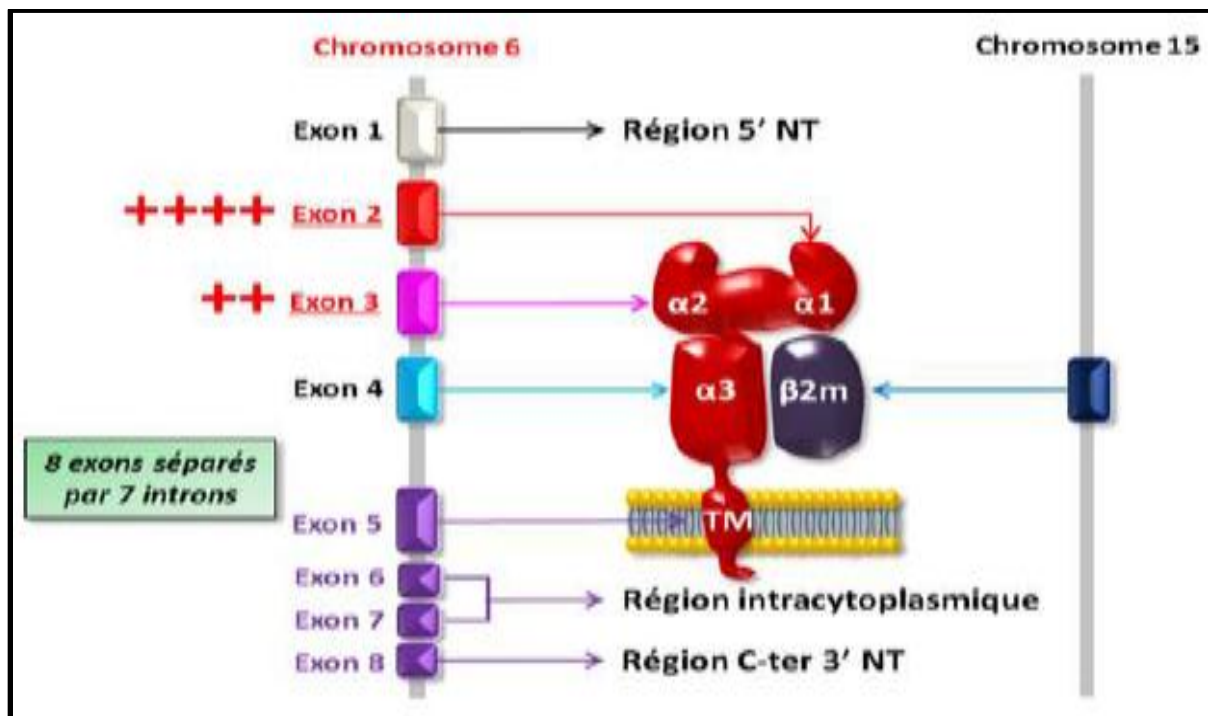


Figure 6 : Polymorphisme des gènes HLA- I. [18]

Recherche bibliographique

De ce fait, un individu hétérozygote exprime 2 molécules HLA de chaque série allélique (A, B, C, DR, DQ, DP). Ces gènes sont si proches les uns des autres que toute la région est transmise en haplotype (en bloc) à la descendance. [35]

Outre le très grand nombre d'allèles à chaque locus, le polymorphisme allélique est encore accru par la possibilité de formation de molécules dites hybrides, résultant de l'association d'une chaîne alpha codée sur un haplotype et d'une chaîne bêta codée sur l'autre haplotype (complémentation en trans, par opposition aux molécules classiques codées en cis sur le même chromosome) (**figure 7**). [33,34]

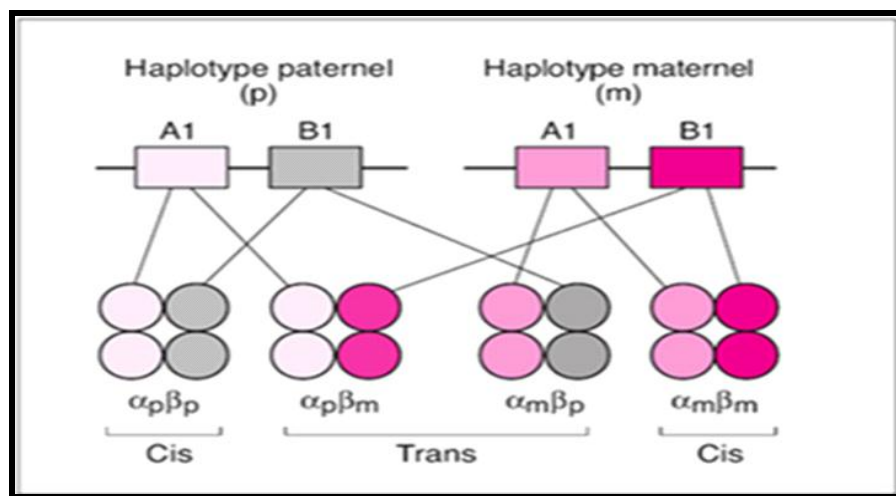


Figure 7 : Génération de molécules HLA hybrides. [26]

Une recombinaison entre deux haplotypes peut survenir donnant un nouvel haplotype, le taux de recombinaisons entre HLA-A et B est de 1 %, entre HLA-B et C pratiquement nul, et entre B et D de 1 %. [37]

L'haplotype HLA de l'un des chromosomes 6 paternels et de l'un des chromosomes 6 maternels est ainsi transmis à la descendance, ce qui fait que la probabilité d'une identité parfaite au sein d'une fratrie est d'une chance sur quatre [37] : 25% identiques, 25% différents et 50% semi-identiques. [38]

Compte tenu du polymorphisme immense des gènes HLA, le nombre de combinaisons alléliques théoriques entre les différents loci (HLA-A, B, C, DR, DQ, DP) est extrêmement élevé. Cependant, toutes les combinaisons possibles ne sont pas représentées dans la population. [33,34]. (Voir Annexe 1).

Recherche bibliographique

La technique sérologique de référence est la lymphocytotoxicité dépendante du complément. C'est la technique de choix pour le typage HLA de routine. [39]

2-Liaison étroite et transmission en bloc :

La liaison étroite signifie que tous les gènes sont transmis en bloc des parents aux enfants. Si l'on appelle a et b les haplotypes du père, c et d ceux de la mère, chaque enfant hérite un haplotype paternel et un haplotype maternel. Il y aura quatre types d'enfants ac, ad, bc et bd. Ainsi la probabilité pour deux enfants d'une même fratrie d'être HLA identiques est de 25%, d'être HLA différents de 25% et d'être HLA semi-identiques de 50% (**figure 8**).

Une recombinaison entre deux haplotypes (crossing-over) peut survenir dans les cellules germinales maternelles ou paternelles, créant un nouvel haplotype. [40]

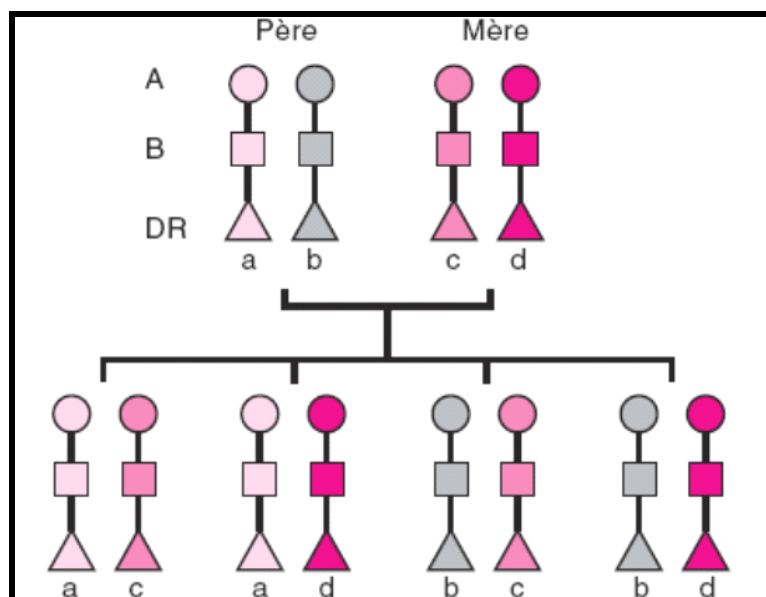


Figure 8 : Transmission parentale des haplotypes HLA. [41]

3-Expression codominante :

La codominance signifie que chaque allèle sur chaque chromosome est exprimé et que son produit peut être détecté en utilisant une technique adéquate. Si la personne est hétérozygote à ce locus, les produits des deux allèles de ce locus sont présents à la surface cellulaire. [42]

Recherche bibliographique

La transmission des gènes HLA se fait selon la loi de Mendel en bloc des parents aux enfants (**Figure 9**) donc chaque enfant aura un haplotype paternel et un haplotype maternel. [43]

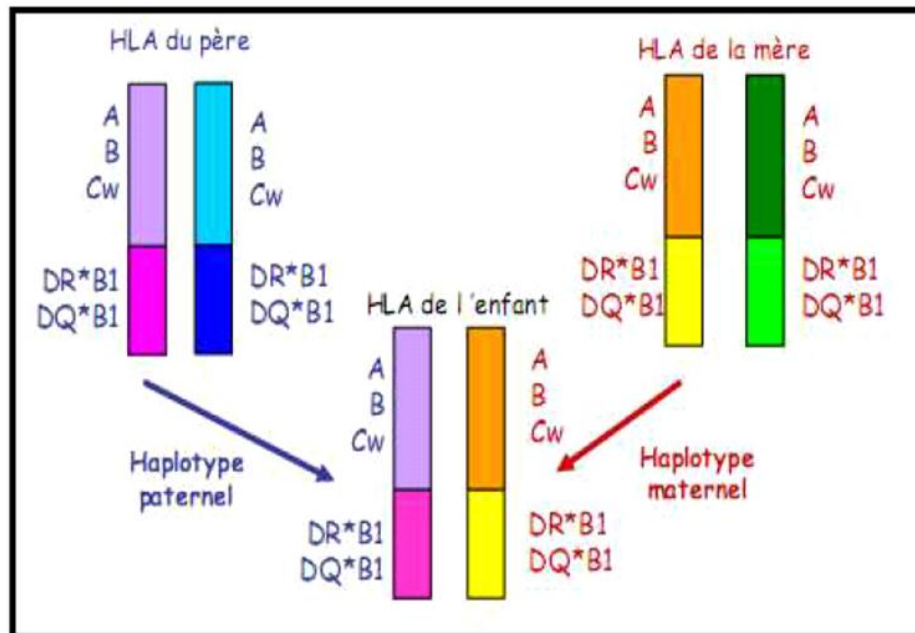


Figure 9 : Distribution intrafamiliale des haplotypes HLA. [44]

4-Déséquilibre de liaison :

On sait que la diversité HLA est moindre, car certaines combinaisons d'allèles surviennent plus fréquemment que ne le voudrait le hasard, ce phénomène est appelé déséquilibre de liaison (linkage).

Le déséquilibre de liaison est la différence entre la fréquence observée pour une combinaison particulière d'allèles et la fréquence attendue à partir des fréquences individuelles des allèles. La fréquence attendue pour une combinaison donnée peut être calculée en multipliant les fréquences des allèles. Par exemple, si l'allèle HLA-A1 apparaît chez 16% des individus d'une population (fréquence= 0.16) et l'allèle HLA-B8 dans 9% de ce groupe (fréquence=0.09), on s'attend à ce qu'environ 1.4% du groupe ait les deux allèles ($0.16 \times 0.09 = 0.014$). Cependant, les données ont montré que HLA-A1 et HLA-B8 sont rencontrés ensemble dans 8.8% des individus étudiés. Cette différence est une mesure du déséquilibre de liaison entre ces allèles de classe I. [45]

VII-Nomenclature :

La nomenclature des gènes HLA classiques est très précise et harmonisée au niveau international. Les techniques initiales de typage HLA (typage sérologique) ont permis d'identifier des familles d'allotypes désignées par le nom du gène et un numéro, suivi des numéros de la famille allélique et de l'allèle dans cette famille (séparés par * et :). (**Figure10**). [46]

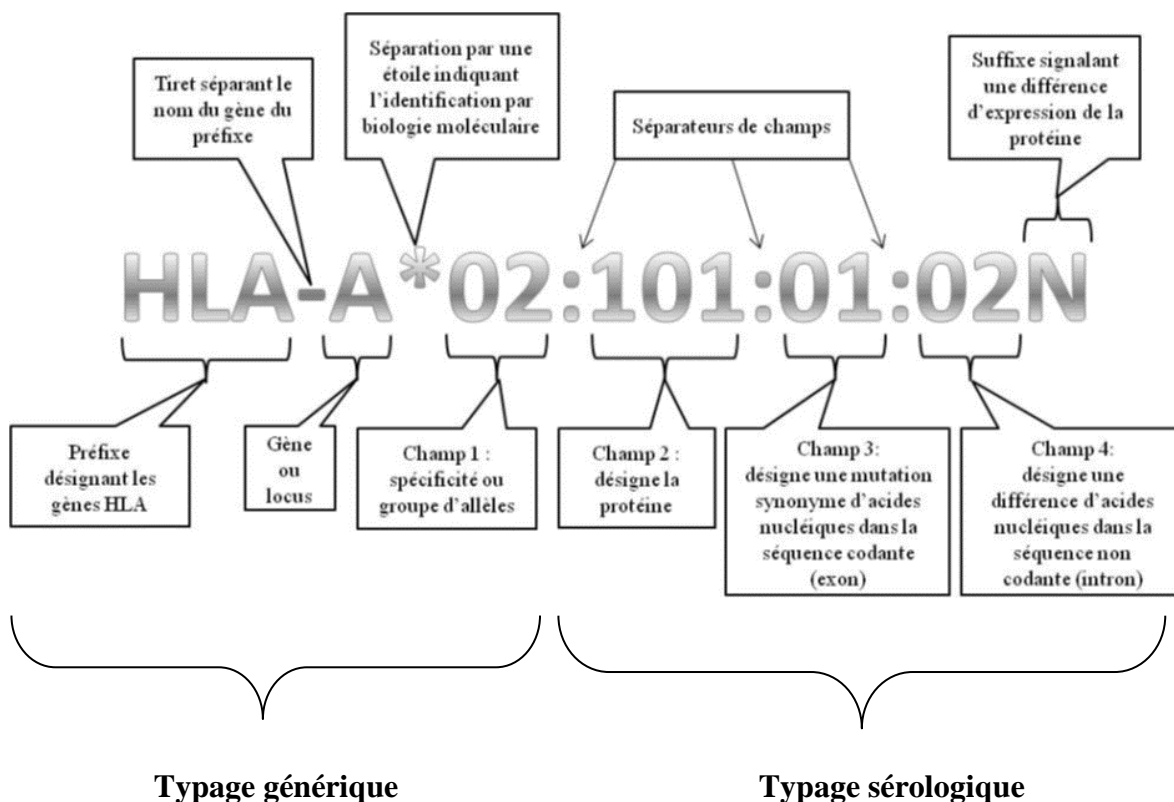


Figure 10 : Nomenclature des allèles HLA. [47]

VIII-Fonctions des molécules HLA :

La principale fonction des molécules HLA est de présenter les antigènes protéiques sous forme de peptides aux lymphocytes T pour déclencher une réponse immunitaire spécifique de l'antigène dans ses phases effectrices et régulatrices.

1-Présentation des antigènes :

La molécule HLA de classe I présente de manière préférentielle des peptides venant de protéines intracellulaires, c'est-à-dire dérivant des protéines produites de façon normale par la cellule mais aussi de protéines virales ou tumorales. Ces complexes HLA-peptide sont analysés par les lymphocytes T CD8+ qui mettent en jeu des processus de cytotoxicité et de sécrétion cytokinique afin de détruire les cellules infectées ou transformées (**Figure 11**). [48]

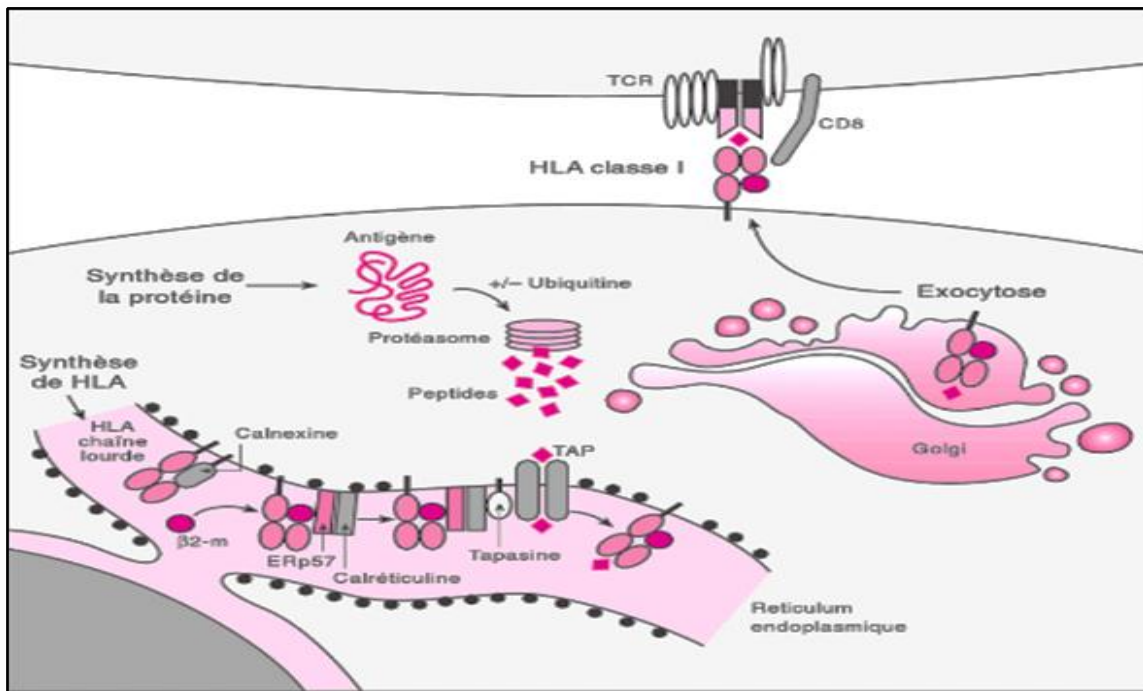


Figure 11 : Voie de présentation de l'antigène par les molécules HLA I. [25]

La molécule HLA de classe II présente de manière préférentielle des peptides venant de protéines extracellulaires, c'est-à-dire dérivant des protéines internalisées par les cellules présentatrices d'antigènes. Ces complexes HLA-peptide seront ensuite analysés par les lymphocytes T CD4+ qui ont un rôle central dans le développement des réponses immunitaires via la production de différentes cytokines qui orienteront le type de réponse mise en place (**Figure 12**).

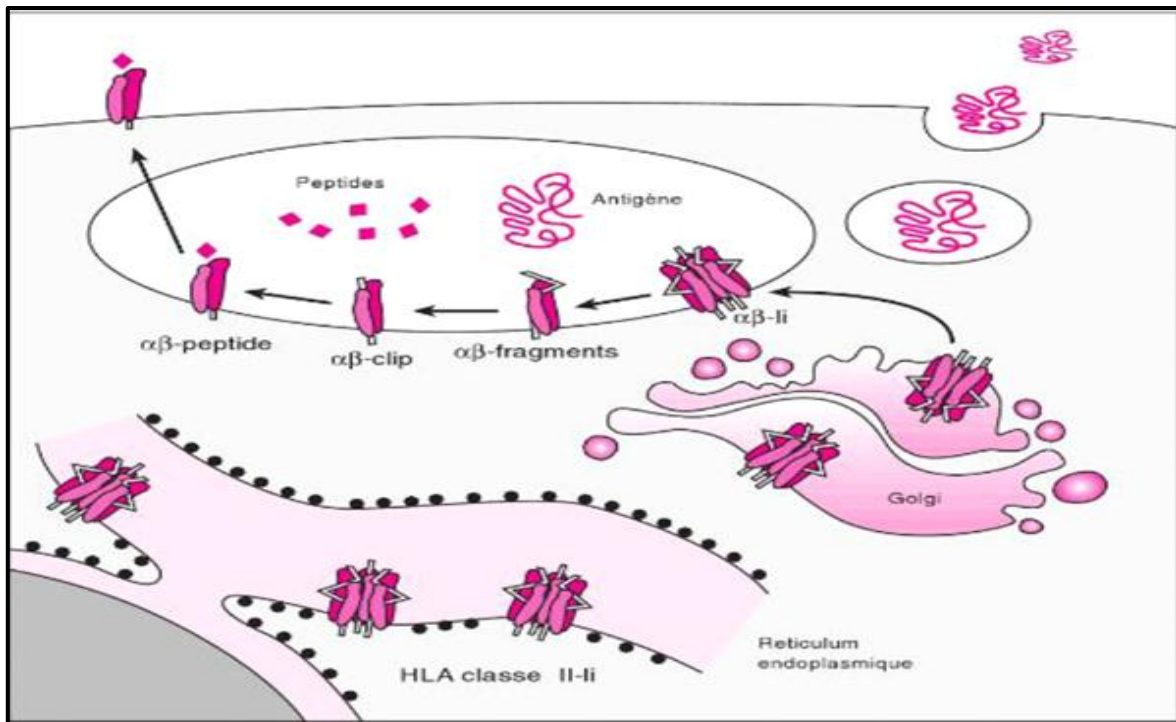


Figure 12 : Voie de présentation de l'antigène par les molécules HLA II. [25]

2-Rôle des molécules HLA dans la sélection thymique :

Le rôle de présentation des molécules HLA est essentiel dans deux grandes étapes de la vie des lymphocytes T, à savoir leur éducation à la tolérance du soi dans le thymus (Sélection positive et négative) et leur recrutement et stimulation dans la réponse immunitaire adaptative face à des peptides antigéniques [49], les lymphocytes subissent donc une double sélection fondée sur l'interaction de leur TCR (T Cell Receptor) avec les complexes HLA-peptide [50], qui leur permet de conserver les spécificités utiles.

3-HLA et les cellules Naturel Killers :

Les molécules HLA de classe I ont pour autre mission la surveillance de l'intégrité cellulaire, en effet, ils sont reconnus par les récepteurs de surface des cellules Natural Killer. Ce sont les récepteurs inhibiteurs qui jouent un rôle fondamental de régulation de l'activité cytolytique et productrice de cytokines des cellules NK, Par conséquent, lorsque les récepteurs inhibiteurs des cellules NK rencontrent des molécules HLA du soi, les cellules NK sont inhibées.

Recherche bibliographique

De nombreux virus disposent de mécanismes qui bloquent l'expression des molécules de classe I dans les cellules infectées, ce qui leur permet d'échapper à la destruction par des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques (CTL) spécifiques des virus. [51]

IX-Applications du système HLA :

Le champ d'application de l'exploration du système HLA est extrêmement étendu et ceci s'explique avant tout par son rôle dans le contrôle et le développement des réponses immunitaires essentiellement de type spécifique. Aussi bien le domaine de l'infectiologie que ceux de l'auto-immunité, de la cancérologie ou de la transplantation sont concernés. Il faut, cependant, reconnaître qu'en pratique courante, c'est avant tout le domaine de la transplantation [52] et à un moindre degré celui de la susceptibilité génétique aux maladies auto-immunes qui constituent l'activité principale des laboratoires d'histocompatibilité.

1-Transplantation d'organes et greffes de cellules et tissus:

En matière de transplantation d'organes, il faut distinguer la transplantation de rein des autres transplantations couramment pratiquées comme la transplantation de foie ou la transplantation de cœur. Si dans tous les cas, un typage HLA par deux déterminations indépendantes est requis par l'établissement français des transplantations avant l'inscription d'un futur receveur sur le registre national des patients en attente de transplantation. [53]

A-Transplantation rénale :

La transplantation rénale, est l'intervention chirurgicale qui consiste à remplacer un rein défectueux par un rein sain que l'on prélève sur un donneur [54]. Il s'agit d'une avancée médicale permettant aux insuffisants rénaux chroniques de poursuivre une vie quasi normale [55].

La transplantation rénale représente de nos jours, le traitement de suppléance de l'IRC le plus efficace et le moins coûteux [56]. Plusieurs études définissent l'efficacité de ce traitement par l'amélioration de la qualité de vie du patient greffé et de son espérance de vie ainsi que sa réinsertion socioprofessionnelle [57,58]. Les stratégies immunosuppressives jouent un rôle important dans cette réussite [59]. Il faut noter également que plus la transplantation est précoce, plus les chances de survie du greffon et du patient augmentent [60].

Le greffon peut provenir d'un donneur vivant, d'un donneur en état de mort encéphalique (EME) [61]. Actuellement, la transplantation avec un greffon provenant d'un

Recherche bibliographique

donneur vivant offre au receveur la meilleure garantie d'avoir un organe de très bonne qualité [62].

Un bilan médical complet est réalisé. Il a pour but d'éliminer toute contre-indication à la greffe, définitive ou transitoire, et de prévenir tout événement qui pourrait se produire en post transplantation du fait de l'immunosuppression.

B-Greffe de moelle osseuse :

La greffe de moelle osseuse ou de cellules souches hématopoïétiques allogéniques est une thérapeutique largement utilisée dans le traitement des hémopathies malignes et des déficits immunitaires sévères. Compte tenu du risque de rejet contre le greffon et surtout du risque de rejet du greffon contre l'hôte (GVH) propre à ce type de greffe, un appariement strict au niveau allélique pour les loci A, B, C, DR, DQ et si possible DP reste la meilleure garantie de survie du greffon. [63]

De telles contraintes d'appariement ont la meilleure chance d'être respectées dans des situations intrafamiliales. C'est ainsi que de façon systématique pour un patient en attente de greffe de moelle osseuse, une étude de la transmission familiale est réalisée, incluant parents, frères et sœurs. Dans tous les autres cas, il faut avoir recours à des donneurs non apparentés et faire appel aux registres internationaux de donneurs volontaires.

A son inscription, le typage HLA du donneur est réalisé par le laboratoire d'histocompatibilité à un niveau générique pour les loci HLA-A, B, DR et DQ. En cas d'identité avec un receveur, les tests se poursuivent pour une caractérisation de haute résolution au niveau allélique, à la recherche d'une compatibilité parfaite.

Bien entendu, les approches méthodologiques utilisées dans ce dernier cas font appel aux techniques de biologie moléculaire PCR-SSP, PCR-SSO, voire séquençage direct en cas d'ambiguïtés non résolues.

C-Transplantation et notion d'allo réactivité :

L'importance des molécules HLA en transplantation s'explique par leur impressionnant polymorphisme. En conséquence, les molécules HLA occupent le premier rôle dans le phénomène d'allo-réactivité. On peut définir l'allo-réactivité comme la capacité des lymphocytes T à être stimulés par des molécules provenant d'un organisme étranger au leur. Cependant ce terme convient pour deux organismes qui sont de la même espèce, sinon on parle de xéno-réactivité. Les molécules mises en jeu, appelées allo-antigènes, sont dans 90% des cas

Recherche bibliographique

des molécules du CMH, d'où leur nom d'antigènes majeurs [64]. On verra qu'ils ne sont pas les seuls acteurs de l'allo-réactivité, il existe en effet d'autres antigènes impliqués dans ces conflits immunitaires, appelés antigènes mineurs. Brièvement, il s'agit de protéines qui possèdent un polymorphisme et qui ne sont pas issues de la transcription d'un gène appartenant au CMH.

Lors d'une greffe, les lymphocytes T du receveur vont rencontrer les CPA du donneur, et reconnaître à leur surface les molécules HLA de classe I et II qu'elles expriment. Cette rencontre active directement la fonction de défense des lymphocytes T, qui détruisent le greffon par leur cytotoxicité.

Ce phénomène d'allo-réactivité directe entraîne un rejet s'il n'est pas limité par un conditionnement suffisamment myélo-ablatif (dans le cas de la greffe de moelle) et par les immunosuppresseurs administrés en prévention. Suite à cette allo-réaction directe relativement précoce, les débris engendrés par la destruction des cellules du donneur, sont endocytés par les CPA du receveur, qui entraînent l'apprêtement par leurs molécules HLA, de peptides issus du donneur. Ces motifs antigéniques étrangers présentés aux lymphocytes T du receveur stimulent également la triade de la réponse classique immunitaire décrite précédemment. On parle ici d'allo-réactivité indirecte. Ce qui permet aux antigènes mineurs d'être responsables d'une réaction immunitaire [64].

D- Le rejet :

En transplantation, le rejet du greffon reste l'obstacle physiologique majeur car l'organe greffé est considéré comme "non soi" par l'organisme receveur [65]. Le rejet, dans le cas de l'allogreffe est une réponse immunitaire que l'organisme du receveur développe contre les Ag membranaires exprimés à la surface du tissu greffé [66]. Il peut être humoral ou cellulaire.

Le rejet humoral est dû à l'interaction entre les Ac du receveur dirigés contre les cellules endothéliales tapissant la lumière des vaisseaux du greffon [67]. Alors que le rejet cellulaire est dû à la reconnaissance des Ag des donneurs par les lymphocytes T du receveur.

Recherche bibliographique

En fonction du délai d'apparition, trois types de rejets sont décrits :

- Rejet hyper-aigu survenant dans les minutes ou heures suivant la transplantation. Les Ac anti HLA existants chez le receveur se fixent sur les antigènes HLA du greffon induisant une thrombose des artères.
- Rejet aigu survenant au cours des trois ou quatre premiers mois après la transplantation. Dans ce cas, les lymphocytes T du transplanté reconnaissent les Ag du donneur, déclenchant ainsi leur activation, puis ils prolifèrent et attaquent les cellules du greffon. Il peut également être dû à la présence d'anticorps.
- Rejet chronique apparaissant quelques mois ou quelques années après la transplantation. Il se manifeste par une dégradation progressive de la fonction du greffon, la survenue d'une fibrose et l'atteinte des vaisseaux artériels.

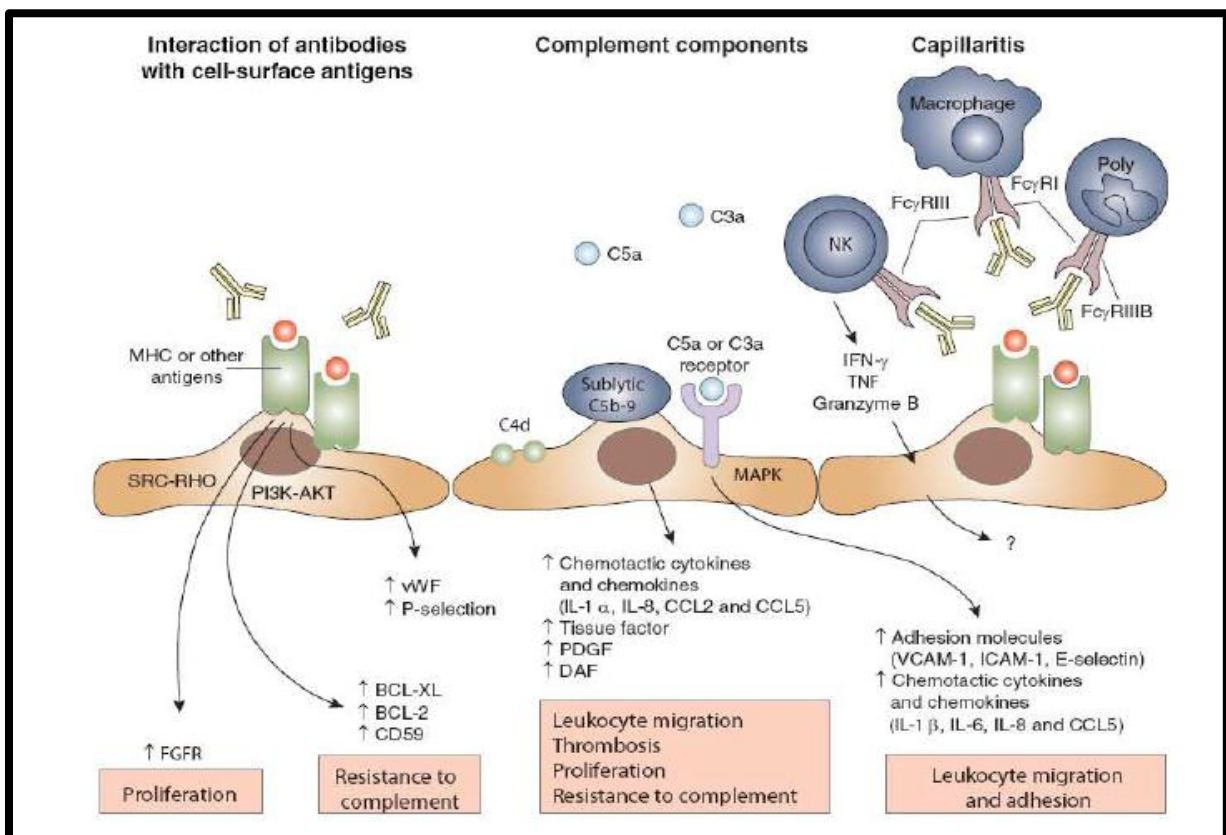


Figure 13 : Mécanismes d'agression du greffon par les anticorps anti-HLA [67].

2-Associations HLA et maladies :

Plus d'une quarantaine d'entités nosologiques montrent une liaison génétique claire avec le système HLA, même si la force de cette liaison est variable d'une pathologie à l'autre [68, 69, 70]. Les premières études faisaient appel aux techniques sérologiques qui seules

Recherche bibliographique

étaient disponibles et comparaient les fréquences antigéniques HLA observées dans des cohortes de patients avec celles obtenues dans une population contrôle.

La détermination du risque relatif (RR) à partir de ces données de fréquence permet d'exprimer combien de fois le risque de développer une maladie donnée est augmenté chez les sujets possédant un antigène à risque par rapport à ceux qui ne l'ont pas [71].

L'un des exemples le plus parlant est celui de la spondylarthrite ankylosante [72]. Dans cette maladie, 90 % des patients possèdent l'antigène HLA-B27 contre 9 % des sujets sains donnant un $RR > 87$. D'autres associations avec des antigènes HLA de classe I ont été décrites comme celle du psoriasis avec HLA-Cw6 ($RR = 13$), celle de la maladie de Behcet avec B51 ($RR = 4$) ou celle de A29 avec la rétinopathie de Birdshot ($RR = 50$). Mais, en général, les principales associations HLA et maladies impliquent les loci HLA de classe II (DR, DQ) et l'identification des allèles à risque a été largement précisée par l'accès aux techniques de biologie moléculaire.

C'est ainsi que l'association des antigènes DR3 et DR4 avec le diabète insulino-dépendant s'est révélée, grâce à une approche génomique, refléter un déséquilibre de liaison avec des allèles à risque du locus DQ (DQB1 *0302, DQA1 *0201...). [73,74]

Dans toutes ces maladies, un rôle direct des molécules HLA dans la physiopathologie de la maladie est suspecté que ce soit comme nous l'avons vu par une aptitude particulière à présenter un peptide auto-antigénique candidat ou du fait de l'implication des molécules HLA dans la sélection du répertoire de reconnaissance des lymphocytes T dans le thymus [75].

3-Application du système HLA en médecine légale :

Tous les individus qui composent l'espèce humaine sont génétiquement très proches les uns des autres, mais la présence d'un grand polymorphisme dans l'information génétique crée une biodiversité qui rend chaque être humain unique. Ce polymorphisme est la base des moyens d'identification par les empreintes génétiques, qui sont constituées par plusieurs marqueurs génétiques. Un marqueur génétique est défini par plusieurs critères :

- Sa transmission mendélienne,
- Son caractère stable au cours de la vie d'un individu,
- Son grand polymorphisme, c'est-à-dire la présence d'un grand nombre d'allèles,
- Son fort taux d'hétérozygotie.

La découverte des premiers marqueurs génétiques est récente puisqu'elle date des années 1900 pour le groupe sanguin ABO par Landsteiner [76], et de 1958 pour le système

Recherche bibliographique

d'histocompatibilité tissulaire HLA par Dausset [77]. C'est en 1985 que Jeffreys et al décrivent des régions génomiques très polymorphes, formées par de courtes séquences d'ADN qui se répètent en tandem, dont l'utilisation est encore d'actualité. [78]

Les grands domaines d'application des empreintes génétiques sont la criminalistique, la recherche de parenté et la recherche d'identité de victime de catastrophes.

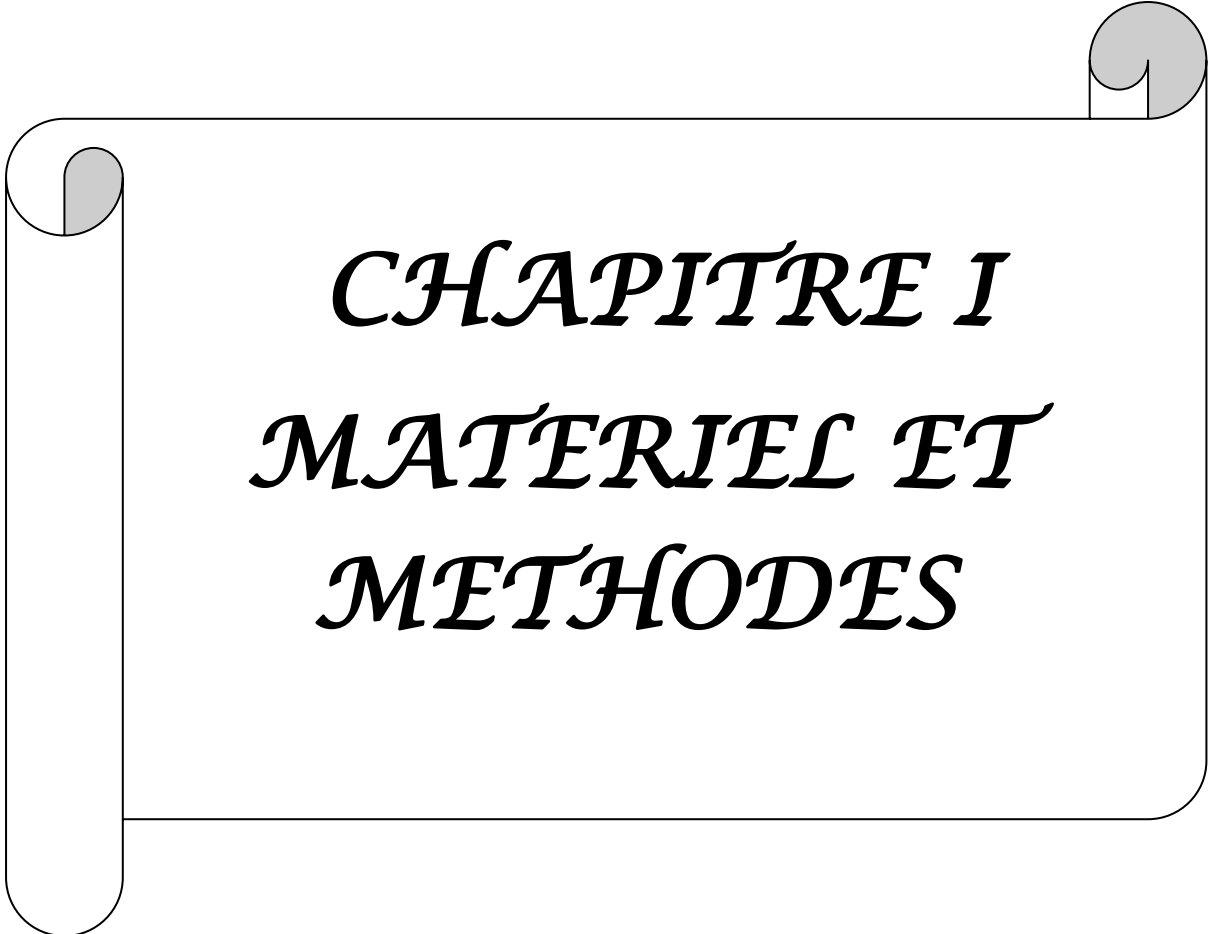
4-Application du système HLA en anthropologie :

L'anthropologie, d'une part, décrit la diversité humaine et d'autre part, étudie l'homme dans sa complexité, ses variations dans le temps, dans l'espace et dans le champ socio-économique. Plus particulièrement, l'anthropobiologie autrement appelée notamment en France anthropologie physique, étudie la diversité physique et biologique humaine ancienne et actuelle [79].

L'anthropologue étudie cette diversité des populations humaines actuelles et anciennes en prenant en compte le polymorphisme génétique, les processus de croissance, les modes de nutrition, la dynamique démographique, l'écologie. . .

La variation biologique humaine est pour partie liée à la culture et l'adaptabilité représente l'intégration des différents facteurs biologiques et socioculturels. Le médecin étudie principalement l'homme malade et les maladies. L'approche anthropologique essaie de mesurer et définir la normalité dans une population, en ce sens elle apparaît complémentaire de la médecine, notamment préventive, et peut permettre d'affiner des décisions de santé publique.

La définition d'une population et d'un échantillon en anthropologie apparaît nécessaire. D'une part, la caractéristique essentielle des données biologiques chez l'homme est la variabilité et d'autre part, aucune analyse mathématique ou statistique ne permettra de rendre de la valeur et du sens à des données biaisées. La définition d'une population est difficile. Pour les anthropologues, elle correspond principalement à celui de population génétique qualifiée de fermée ou d'ouverte suivant que les individus de cette population choisissent préférentiellement leur conjoint à l'intérieur de celle-ci (endogamie) ou à l'extérieur (exogamie) [80]. Un échantillon est une petite partie de la population représentant un ensemble d'individus sur lesquelles une caractéristique peut être relevée et étudiée.



*CHAPITRE I
MATÉRIEL ET
MÉTODES*

Chapitre I : Matériel et méthodes

Partie pratique :

Notre travail a été réalisé au niveau de l'unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida.

I-Objectif :

Notre objectif est d'explorer les résultats de la prise en charge immunologique des patients candidats à une transplantation rénale et d'étudier le polymorphisme des molécules HLA par l'estimation des fréquences alléliques des gènes HLA-A, B, C, DR et DQ au sein d'un groupe d'individus issus de la population algérienne.

Le but principal de ce travail est de décrire la méthodologie utilisée, de la collecte des données jusqu'à l'obtention des résultats en vue d'atteindre les objectifs que nous l'avons fixé.

II-Description de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétro-prospective, et qui intéresse 1046 sujets algériens recrutés dans le cadre d'un bilan d'histocompatibilité HLA prescrit pour la transplantation rénale à partir d'un donneur vivant ou cadavérique et greffe de la moelle osseuse ou pour le dépistage d'une maladie.

La moyenne d'âge des sujets explorés est de 38 ans avec des extrêmes d'âge de 20 mois et de 87 ans, avec prédominance féminine.

III-Matériel et méthodes :

III-1-Matériel :

1-1-Matériel biologiques :

a) La population étudiée :

Notre étude a été réalisée sur 1046 sujets algériens répartis entre receveur et donneur dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse et dans le cadre de la recherche d'une association HLA et maladies, recrutés sur une période de 13 ans, allant du **31 juillet 2006** au **27 janvier 2019**.

Les données relatives aux sujets étudiés ont été recueillies sur un questionnaire détaillé.

Chapitre I : Matériel et méthodes

b) Critères d'inclusion :

Tout individu algérien ayant bénéficié d'un typage HLA au niveau de l'unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida.

1-2-Matériel non biologiques : (Voir Annexe 2)

1-2-1-Pour la séparation des lymphocytes totaux (T+B) :

a) Instruments :

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

b) Tampons et réactifs :

- Lymphoprep™ (SENTINEL DIAGNOSTIC) : Connue sous le nom de Ficoll qui est un polymère glucidique ramifié artificiel d'une densité de 1.077. Il permet la séparation des différents éléments figurés du sang par gradient de densités.
- Tampon PBS « phosphate buffered saline ».
- Solution saline équilibrée de Hanks « HANKS BALANCED SALT SOLUTION 100X ML 10X » : Solution saline riche en ions bicarbonate utilisés comme système tampon des milieux de culture cellulaire par le maintien d'un pH physiologique idéal pour la croissance cellulaire (7.00 – 7.04).
- Lasarus : Solution de lyse érythrocytaire et de dilution leucocytaire utilisée lors de leur numération.

c) Appareillages :

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

1-2-2-Pour l'enrichissement en lymphocytes B :

a) Instruments :

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

Chapitre I : Matériel et méthodes

b) Tampons et réactifs :

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

c) Appareillages :

- Microscope à fluorescence inversée Gx40.

1-2-3-Pour l'extraction d'ADN à partir du sang périphérique

« Technique QIAGEN » :

❖ Technique manuelle :

a) Instruments :

- Tube de 1.5ml de type Eppendorf.

b) Tampons et réactifs :

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

c) Appareillages :

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

❖ Par Technique automatique :

a) Tampons et réactifs :

- Kit QIAGEN BIOROBOT.

b) Appareillages :

- Extracteur d'ADN « BIOROBOT EZ1 ».

1-2-4-Pour le typage HLA par technique sérologique :

a) Instruments :

- Seringue de Hamilton et multi seringue de Hamilton :

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

b) Tampons et réactifs :

- Kit pour le typage sérologique :

- Kit (LM144A) = Lambda Monoclonal Typing Tray 144A : Contient des anticorps monoclonaux anti HLA-A.
- Kit(LM144B) = Lambda Monoclonal Typing Tray 144B : Contient des anticorps monoclonaux anti HLA-B.
- Kit (AB72D) = Terasaki HLA classe I Dry Tissue Typing Tray (72), AB72D : contient des anticorps polyclonaux anti HLA de classe I (A, B).
- Kit (DR72D) = Terasaki HLA classe II Dry Tissue Typing Tray (72), DR72D : contient des anticorps polyclonaux anti HLA-DR et -DQ

- Huile de paraffine.

- Complément de lapin lyophilisé 10X1 ml (marque BAG).

- Colorant : FluoroquenchtTM AO/ EB.

c) Appareillages :

- Microscope à fluorescence inversée Gx40.

1-2-5-Pour le typage HLA par PCR-SSP :

a) Tampons et réactifs :

- Kit pour le typage par PCR-SSP :

Chapitre I : Matériel et méthodes

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

b) Appareillages spécifiques :

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

1-2-6-Autres matériel et verreries utilisés au laboratoire :

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

1-2-7-Matériel informatiques :

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

III-2-Méthodes :

2-1-Recueil des données :

Le recueil des données des patients a été réalisé après étude de leurs dossiers médicaux archivés au niveau de l'unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali CHU de Blida, ceci est réalisé à l'aide d'une fiche dite de renseignements cliniques (Nom, prénom, origine, âge, sexe, groupage...etc.) établie à cet effet, fiche de résultat de typage HLA et fiche de résultat de Cross Match. (Voir Annexe 3)

2-2-Prélèvement :

On prélève du sang veineux sur :

- 2 tubes pour le receveur, l'un avec anticoagulant : ACD (V=8.5 ml) pour le typage HLA, l'autre tube sec (V=5 ml) pour la recherche des Ac anti HLA et le CXM.
- 1 seul tube pour le donneur sur ACD (V=8.5ml) pour le typage HLA et le CXM.

2-3-Techniques de séparation des lymphocytes :

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

A-Séparation des lymphocytes totaux sur gradient de Ficoll :

a) Principe :

C'est une technique basée sur la différence des densités qui existent entre les différents éléments figurés du sang (Voir Annexe 4). Le Ficoll par sa densité intermédiaire entre celle des lymphocytes et celle des autres éléments figurés du sang, permet après centrifugation l'obtention d'une couche de cellules mononuclées constituée de lymphocytes T (environ 80%), de lymphocytes B (10%) et de monocytes (10%), utiles pour le typage HLA de classe I (HLA-A, HLA-B). [81]

b) Mode opératoire : (Voir Annexe 5)

- Diluer le sang total (un volume de 8.5 ml) au 1/2 en ajoutant de l'eau physiologique ou un tampon PBS à pH=7.2.
- Déposer doucement à la surface du Ficoll (1/3 de Ficoll pour 2/3 du sang dilué) dans un tube à fond conique, en plastique.
- Centrifuger le tube 20 minutes à 1800t/min à 25°C. (Figure 13)

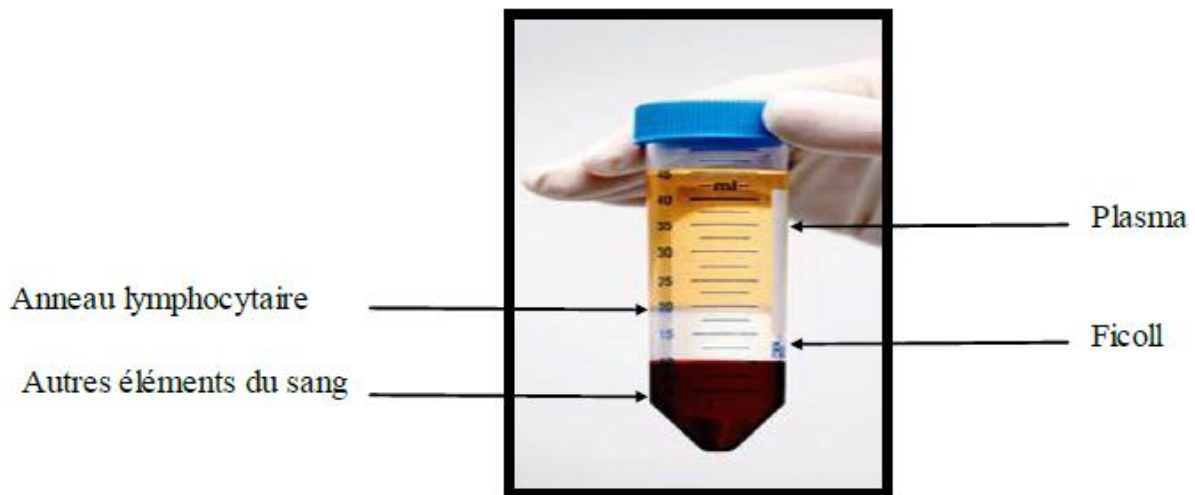


Figure 14 : le résultat de séparation par technique de Ficoll.

- Récupérer la couche de l'anneau lymphocytaire à l'interface entre le plasma et le Ficoll.
- Aspirer jusqu'à ce que la limite entre les deux couches soit une interface nette.
- Laver deux fois la suspension lymphocytaire dans de l'eau physiologique, par centrifugation à 2500t/mn pendant 10 minutes.
- Resuspendre le culot de lymphocytes en ajoutant environ 500 μ l de solution nutritive de Hanks.
- Enumérer au $\frac{1}{2}$ au Lasarus sur cellule de Malassez, le nombre de cellules en million/ml, est obtenu en appliquant la formule suivante :

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

N= le nombre de cellules par champ

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

B- L'enrichissement en lymphocytes B (Séparation des lymphocytes B) :

a) Principe :

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

Chapitre I : Matériel et méthodes

b) Mode opératoire :

- Diluer le sang prélevé à partir du sang total (V=8.5 ml) avec anti coagulant au ½ dans l'eau physiologique et mélanger délicatement.
- Resuspendre très soigneusement les Fluorobeads B avant l'emploi, et agiter environ 10 secondes.
- Ajouter 100 µl de suspension de Fluorobeads B obtenue avec 2 ml de sang préalablement dilué et boucher immédiatement le tube.
- Agiter doucement le tube 3 min à 20-25 °C pour permettre aux billes de fixer les cellules B, par retournement à la main.
- Déboucher et placer le tube sur le portoir aimanté pendant 2 min.
- Eliminer le surnageant à l'aide d'une pipette, puis retirer le tube de portoir aimanté.
- Laver les lymphocytes B dans 2ml de solution de lavage.
- Resuspendre doucement et replacer le tube sur le portoir aimanté pour 1 min.
- Eliminer le surnageant et répéter l'étape de lavage 2 fois.
- Resuspendre le culot lymphocytaire dans 100 µl de solution nutritive de Hanks.
- Procéder à l'estimation en déposant par ordre 1 µl, 2 µl, et 3µl de la suspension obtenue dans les puits de la plaque de Terasaki en rajoutant 5 µl de colorant (FluoroquenchtTM AO/BE) dans chaque puit. Et faire une estimation du nombre des lymphocytes au microscope à fluorescence inversée (Gx40) afin de choisir le volume adéquat de la solution mère à utiliser.

2-4-Extraction d'ADN à partir du sang périphérique :

L'extraction d'ADN a été réalisée par des kits QIAGEN.

❖ Principe de la technique QIAGEN :

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

Chapitre I : Matériel et méthodes

Cette technique a été réalisée par deux types de procédés :

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

❖ Mode opératoire : (Voir annexe 6)

- Centrifuger à 2000 T /min pendant 10 min à température ambiante un volume de 8.5ml de sang total prélevé sur un tube ACD.
- Enlever, à l'aide d'une pipette pasteur, le Buffy-coat au maximum ($V \approx 200 \mu\text{l}$) jusqu'à obtenir un culot bien blanc.
- Mettre le volume de 200 μl de Buffy-coat dans un eppendorf et lui rajouter 200 μl du tampon de lyse AL et 20 μl de protéase sous forme liquide.
- Remettre la suspension, au vortex pendant quelques secondes.
- Placer l'eppendorf dans le thermoblok (pour dénaturation de l'ADN) pendant 10 min.
- Ajouter 200 μl de l'éthanol, et agiter en plaçant l'eppendorf dans le vortex pendant quelques secondes.
- Transférer le contenu de l'eppendorf dans une colonne de QIAGEN.
- Centrifuger à 13000 tours pendant 1 min.
- Jeter la poubelle de la colonne avec son contenu et la remplacer par une autre.
- Ajouter 500 μl du tampon de lavage AW1 et centrifuger la colonne à 13000 tours pendant 1 min.
- Jeter la poubelle de colonne et la remplacer par une autre.
- Ajouter 500 μl du tampon de lavage AW2 et centrifuger à 14000 tours pendant 3 min.
- Transférer la colonne à filtre dans un eppendorf et ajouter 200 μl du tampon d'élution AE.
- Laisser l'eppendorf pendant 5 min à une température ambiante.
- Centrifuger à 13000 tours pendant 1 min.
- L'ADN est alors prêt pour le typage HLA, après mesure de la densité optique de l'ADN extrait.
- Diviser la quantité d'ADN sur 2 eppendorfs comme suit :
 - 50 μl pour le typage HLA II.
 - Le reste pour le typage HLA I.

B-Technique automatique : Extraction d'ADN génomique Kit QIAGEN

BIROBOT :

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

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

❖ Mode opératoire :

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

2-5-Etude de polymorphisme HLA :

Elle est effectuée par deux types de techniques :

- Techniques sérologiques qui permettent de définir les Ag HLA.
- Techniques de biologie moléculaire qui permettent de définir les gènes.

2-5-1-Technique sérologique (Microlymphocytotoxicité)

a) Principe :

Elle consiste à incuber les cellules du sujet à typer, préalablement isolées par une technique de séparation, avec des sérums tests (batterie d'anticorps anti HLA) en présence de complément du lapin. Lorsque les cellules expriment des molécules HLA spécifiques à certains anticorps utilisés, il se produit une lésion cellulaire qui est visualisée par microscope à fluorescence après coloration via le FluoroquenchtTMAO/EB. [82]

Anticorps utilisés :

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

Cibles utilisées :

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

b) Mode opératoire : (Voir annexe 7)

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

c) Lecture :

La lecture des puits de la plaque a lieu au microscope inversé.

➤ La réaction positive :

S'il y a eu reconnaissance dans un puits de la plaque, entre l'anticorps fixé au fond du puits et l'antigène HLA situé à la surface des lymphocytes du patient, le complexe antigène-anticorps formé active le complément de lapin, qui lyse ainsi les cellules. Les cellules mortes sont marquées d'une fluorescence rouge par le bromure d'éthidium (**Figure 14**).

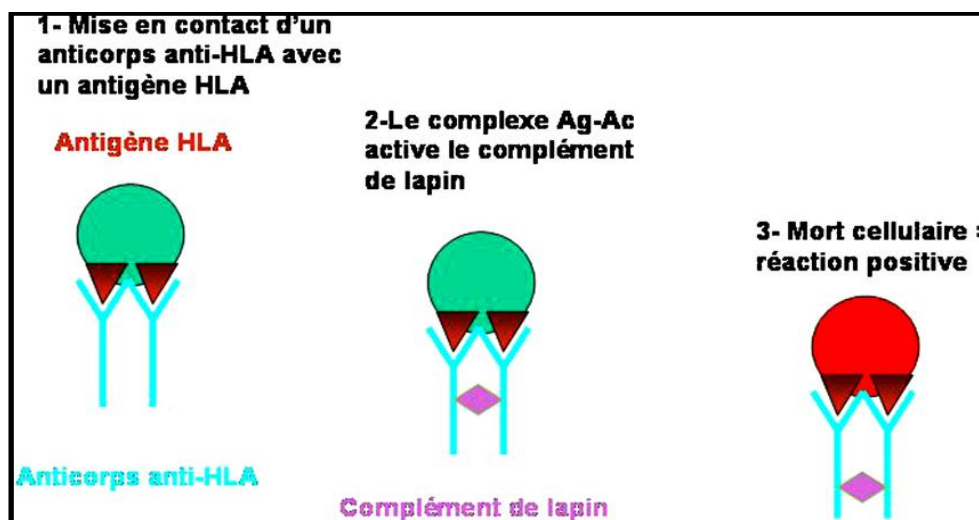


Figure 15 : Principe d'une réaction positive en microlymphocytotoxicité. [82]

➤ La réaction négative :

S'il n'existe pas de reconnaissance entre l'antigène de la cellule du patient et l'anticorps fixé au fond de la plaque, le complément n'est pas activé, les lymphocytes ne sont pas lysés. Les cellules vivantes sont marquées d'une fluorescence verte par l'acridine orange (**Figure 15**).

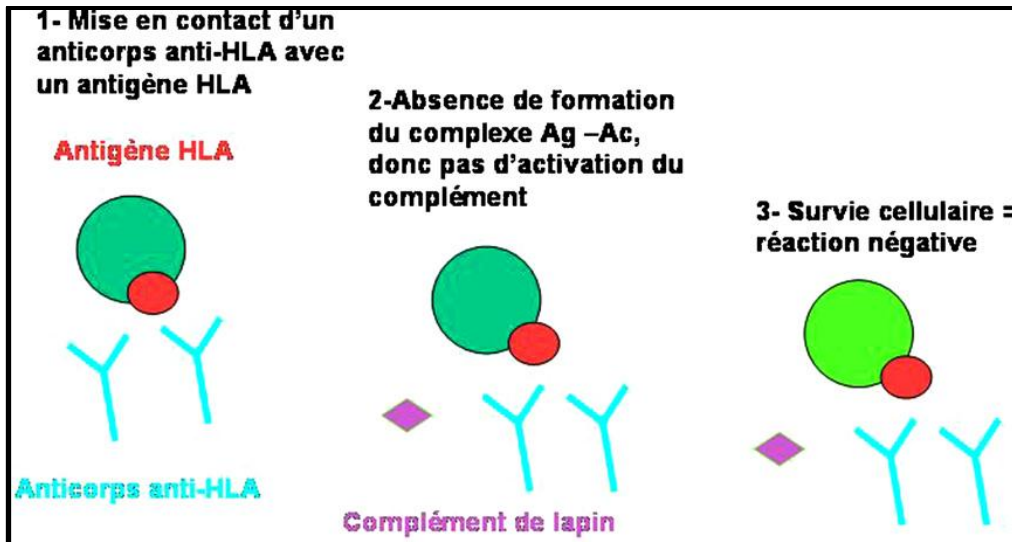


Figure 16 : Principe d'une réaction négative en microlymphocytotoxicité. [82]

- Le score des réactions exprime le pourcentage des cellules mortes. Si le témoin négatif contient des cellules mortes, ce pourcentage devra être ajusté en conséquence. L'échelle standard est la suivante (**Tableau 3**) :






Score	Cellules lysées (%)	Résultats	Observation au microscope à fluorescence
1	0 - 10	Négatif	<p>Réaction "1"</p>  <p>0-10% de cellules mortes</p>
2	11 - 20	Douteux négatif	<p>Réaction "2"</p>  <p>11-20% de cellules mortes</p>
4	21 - 50	Positif faible	<p>Réaction "4"</p>  <p>21-50% de cellules mortes</p>
6	51 - 80	positif	<p>Réaction "6"</p>  <p>51-80% de cellules mortes</p>
8	81 - 100	Très positif	<p>Réaction "8"</p>  <p>81-100% de cellules mortes</p>
0		Ininterprétable	

Tableau 3 : Score selon l'échelle standard ASHI. [82]

d) Interprétation des résultats :

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

✓ **Avantages :**

- Technique simple et rapide.
- Utilisée surtout pour le phénotype HLA de classe I et II.
- Résolution de niveau générique.

✓ **Inconvénients :**

- Discrimination limitée : reconnaissance de déterminants antigéniques communs à plusieurs molécules HLA très proches.
- Difficulté d'assignation surtout pour la classe II.
- Réactions croisées : deux molécules HLA codées par des allèles très différents peuvent être reconnues par un même Ac.
- Manque des anticorps monospécifiques.
- La non expression de certains antigènes HLA sur les lymphocytes.

2-5-2-Technique de biologie moléculaire :

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

Principe de la PCR :

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

Elle est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice. Ainsi, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle. [83]

Les éléments nécessaires pour réaliser la PCR sont :

Chapitre I : Matériel et méthodes

- La matrice d'ADN.
- Des paires d'amorces oligonucléotidiques (primers) : de 20 à 30 nucléotides, qui sont parfaitement complémentaire du fragment à amplifier.
- Les quatre désoxynucléotides triphosphates (dNTP).
- La DNA-polymérase thermorésistante « Taq polymérase » : enzyme thermostable résistant aux températures élevées nécessaires à la séparation des ADN double brin.
- Un tampon salin adéquat contenant une concentration appropriée de MgCl₂ (varie entre 1 à 4 mM) qui sert à maintenir un PH optimal pour la Taq polymérase (PH varie entre 8.5 et 9).

Chaque réaction d'amplification comporte trois étapes se succédant précisément et nécessitant chacune une température différente (**Figure 16**) :

➤ **Première étape : Dénaturation thermique :**

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

➤ **Deuxième étape : Hybridation des amorces**

Le milieu réactionnel contient deux amorces, chacune complémentaire d'un des brins.

L'étape d'hybridation se fait à une température qui sera définie selon la nature des amorces (cette température varie de 50 à 60°C) pendant 50 secondes.

➤ **Troisième étape : Extension des amorces**

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

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

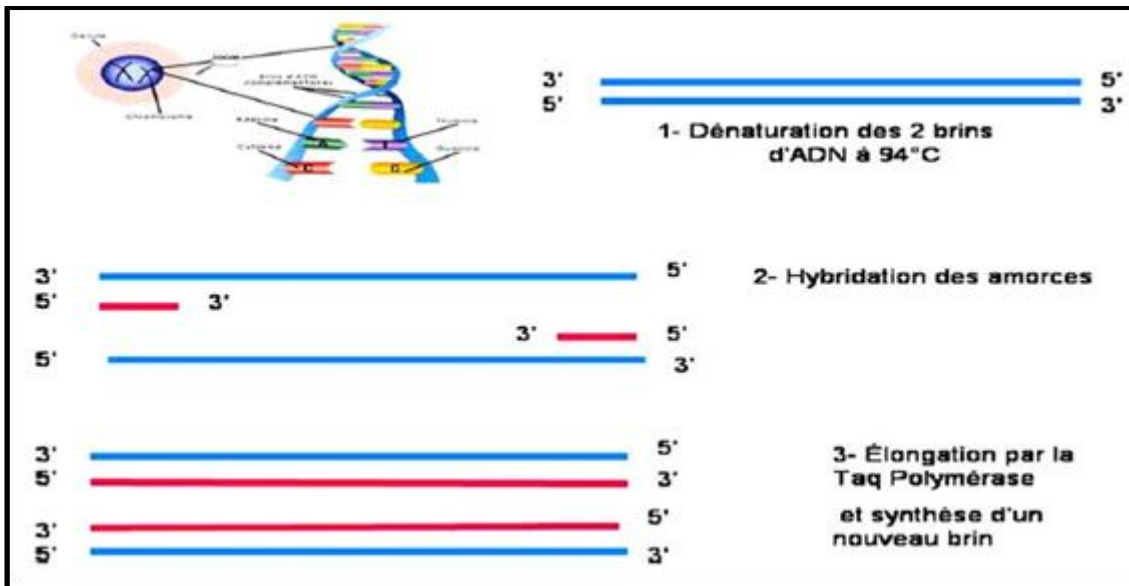


Figure 17 : Les principales étapes de la réaction de PCR. [83]

a) Principe du typage HLA par PCR-SSP :

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

Le typage est déterminé par conséquent par la présence ou l'absence du produit PCR visualisé sur gel d'agarose. Chaque typage comporte plusieurs réactions PCR réalisées dans des puits contenant des primers lyophilisés spécifiques d'un allèle ou d'un groupe d'allèles, ainsi qu'un contrôle interne qui valide la réaction PCR.

b) Mode opératoire (PROTOCOLE ONE LAMBDA) :

➤ Préparation de la plaque de Micro-SSP :

- Sortir les plaques de typage et le D-Mix (tampon contenant du MgCL₂ et les 4 dNTP) et les laisser prendre la température ambiante. La Taq polymérase n'est retiré du froid qu'au moment de l'utilisation.
- Prendre 5,6 µl de Taq polymérase et le verser dans le D-Mix.
- Déposer 10 µl de ce mélange (Taq +D-Mix) dans le puit de contrôle négatif.
- Ajouter 11µl du DNA dans le mélange D-Mix /Taq et agiter au vortex.
- Répartir le mélange DNA/D-Mix/Taq à raison de 10µl dans tous les puits des plaques sauf dans les puits de contrôle négatif.

Chapitre I : Matériel et méthodes

➤ Réalisation de la PCR :

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

➤ Electrophorèse sur gel d'agarose : (Figure 17)

❖ Préparation de gel :

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

❖ La migration sur gel :

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

Chapitre I : Matériel et méthodes

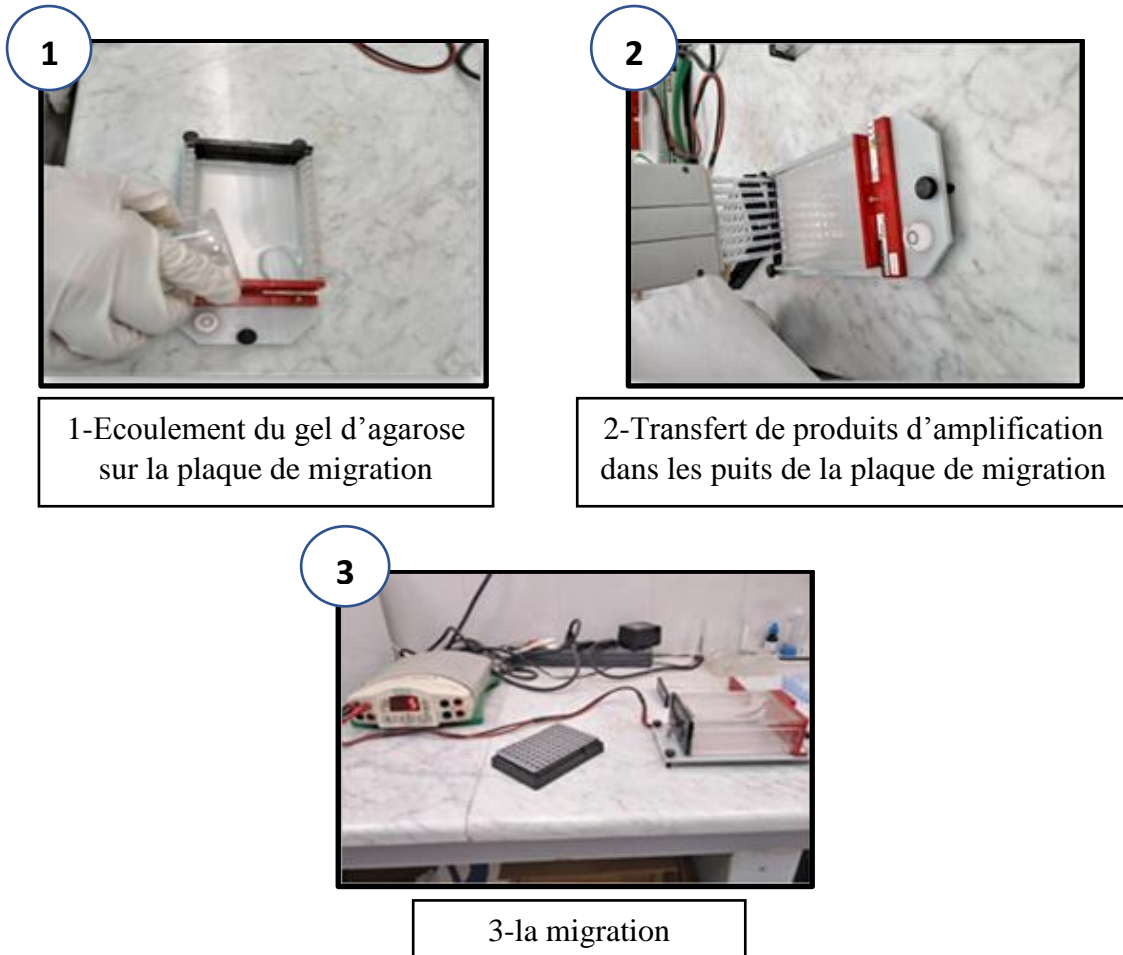


Figure 18 : Etapes d'électrophorèse sur gel d'agarose.

c) Lecture :

La visualisation des bandes d'électrophorèse est réalisée par lecture sous UV Geldoc et nécessite l'utilisation du logiciel **Image Lab**, et des planches fournies dont (**Figure 18**) :

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



Figure 19 : Lecture du gel d'agarose.

d) Interprétation :

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

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

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

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

✓ **Avantages de la technique de biologie moléculaire (PCR) :**

- Amélioration de la discrimination par rapport au LCT.
- Détermination du numéro de série allélique.
- Le typage de niveau générique des gènes HLA-A, HLA-B et HLA-DRβ1 est suffisant pour les transplantations rénales mais en plus la biologie moléculaire permet le typage de HLA-C, DQA1.....

✓ **Inconvénients :**

- Délicate à réaliser et à interpréter.
- Risque d'intercontamination lors de prélèvement ou de la manipulation.
- Possibilité de dégradation des acides nucléiques.

2-6-Techniques de recherche des anticorps anti HLA de classe I et II :

La recherche d'anticorps anti-HLA de classe I et II se fait dans les situations suivantes :

- Systématiquement chez les patients durant la période de suivi pré- et post-transplantation.
- Au cours des évènements immunisants (transfusion, grossesse, transplantation).

La méthode utilisée dans le laboratoire pour leur recherche est la technique immunoenzymatique ELISA sur un pool d'antigènes purifiés.

Technique immunoenzymatique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay):

a) Principe :

Le test ELISA permet la réalisation d'un dosage qualitatif ou quantitatif in vitro pour la détection d'auto anticorps humains anti HLA de classe I et II de type IgG.

La plaque contient de 96 puits, coatés avec des antigènes HLA purifiés. Lors de la première étape de la réaction, les échantillons patients dilués (sérum ou plasma) sont incubés dans les puits. [82]

Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps spécifiques de classe IgG (mais aussi IgA et IgM) se fixeront sur les antigènes correspondants.

Pour détecter les anticorps fixés, une seconde incubation est réalisée en utilisant les anticorps anti-IgG humains couplés à une enzyme (conjugué enzymatique). Ce conjugué est capable de générer une réaction colorée. Une mesure quantitative de la couleur développée est effectuée par spectrophotométrie à 630 nm.

b) Mode opératoire : (Voir annexe 9)

-Déposer 100 µl du sérum de chaque patient, dilué au 1:101 dans un tampon, dans le micropuit correspondant.

-Déposer 100 µl des calibrateurs ainsi que les contrôles négatifs et positifs dans les micropuits correspondants.

- Incuber 1h à température ambiante 20-25°C.

- Laver 3 fois avec 300 µl du tampon de lavage (dilué au 1 :50).

- Déposer 100 µl du conjugué enzymatique dans chaque micropuits.

- Incuber 30mn à température ambiante 20-25°C.

Chapitre I : Matériel et méthodes

- Laver 3 fois avec 300 µl du tampon de lavage (dilué au 1 :50).
- Déposer 100 µl de solution chromogène /substrat dans chaque micropuits.
- Incuber 30 mn a 18-25°C, à l'abri de la lumière.
- Déposer 100 µl de la solution d'arrêt dans chaque micropuits.
- Lire les résultats avec un lecteur ELISA à une longueur d'onde 630 nm.

c) Interprétation des résultats :

Un résultat positif se traduit par un changement de la coloration, les puits positifs adopteront une coloration bleue visible à l'œil nue (**Image 1**).

La plaque de Terasaki est ensuite introduite dans un lecteur d'ELISA et qui sera analysé grâce à un logiciel HLA fusion (**Image 2**).

- Les puits des sérums positifs apparaissent en rouge, de même que le contrôle positif doit l'être sinon les résultats ne seront pas interprétables (**Image 3**).
- Un résultat est négatif si les puits n'adoptent pas de couleur bleu, et dans le logiciel n'apparaissent pas en rouge. (**Figure 19**)

Chapitre I : Matériel et méthodes

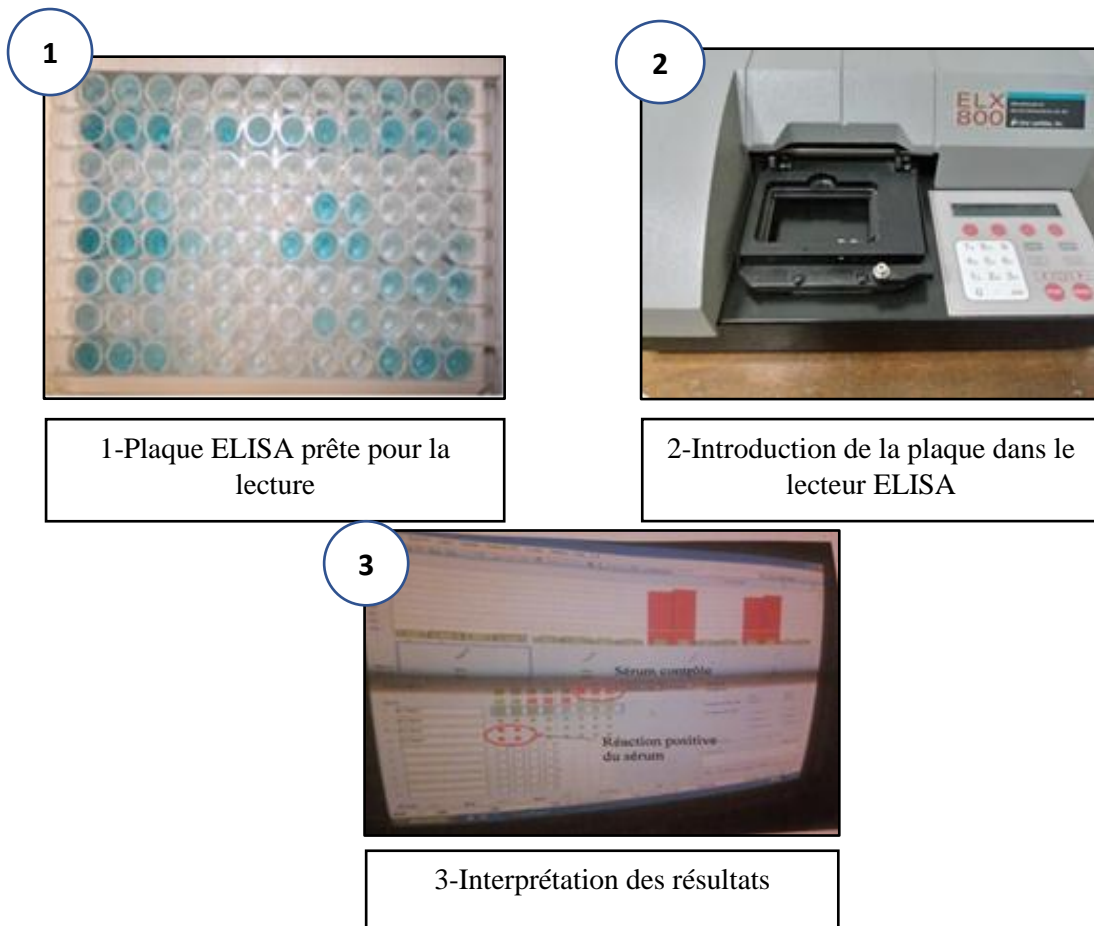


Figure 20 : Interprétation des résultats d'ELISA par le logiciel HLA fusion.

✓ **Avantages :**

- Plus sensible que LCT.
- Rapide et reproductible.
- Ne détecte que les Ac anti-HLA.
- Ne détecte que les IgG (sauf adaptation).
- Automatisable et relativement standardisée.
- Interprétation facile.

✓ **Inconvénients :**

- Peu sensible.

2-7-Technique de Cross match par Lymphocytotoxicité :

a) Principe :

La réaction de cross match (**CXM**) consiste à mettre en présence le (les) sérum(s) du receveur avec les lymphocytes du donneur afin de dépister des anticorps anti-HLA dirigés contre les antigènes HLA du donneur pouvant conduire au rejet hyperaigu du greffon. Elle se fait principalement par microlymphocytotoxicité complément dépendante (**CDC**).

Il peut être appelé CXM initial ou final selon le moment auquel il est effectué au cours du suivi du receveur :

- Le CXM I est effectué sur le premier sérum du receveur.
- Le CXM F est effectué juste avant la greffe sur le sérum du receveur.

Cibles utilisées :

Les lymphocytes totaux T et B du donneur préparés extemporanément.

- Lymphocytes totaux (T et B) \longrightarrow CXM pour la classe I et II.
- Lymphocytes B \longrightarrow CXM pour la classe II.

b) Mode opératoire : (voir annexe 10)

- Prélèvement du sang total du receveur et donneur sur ACD (anticoagulant).
- Dilution à $\frac{1}{2}$ avec de l'eau physiologique.
- Séparation des lymphocytes totaux T et B à partir du sang du donneur par une méthode de séparation sur gradient de Ficoll.

Sur la plaque de Terasaki :

- Mettre de l'huile de paraffine dans tous les puits pour en éviter l'évaporation.
- Distribuer dans les puits A, B, C et dans les puits D, E, F respectivement 1 μ l, 2 μ l, 3 μ l du sérum.

On peut mettre plusieurs sérums sur la même plaque et aussi l'autocross match.

- Remplir les puits par les cellules séparées T et B et totaux avec un témoin positif et un témoin négatif.
- Incubation pendant 30 min.
- Ajout du complément dans tous les puits.
- Incubation pendant 1h.

Chapitre I : Matériel et méthodes

- Ajout du colorant « Fluoroquench » (5ml) par une seringue Hamilton dans chaque puits.
- Lecture à l'aide d'un microscope à fluorescence.

c) **Interprétation des résultats :**

La lecture se fait par un microscope à fluorescence inversée.

- Témoin positif doit être positif représenté par une lyse cellulaire totale à 100%.
- Le témoin négatif doit être négatif c'est-à-dire une lyse à 0% (si faible pourcentage de lyse, dite de base, les sérums suivants doivent être lus en comparaison avec le sérum témoin négatif).
- Tous les sérums de «+» supérieur à la base, est rendu positif sur l'ensemble des sérums testés du receveur. Le cross match est rendu positif.
- Un cross match positif signifie que la greffe ne peut être réalisée.

Remarque : afin d'éviter toute fausse positivité, distribuer toujours le témoin positif en dernier et avec une seringue différente.

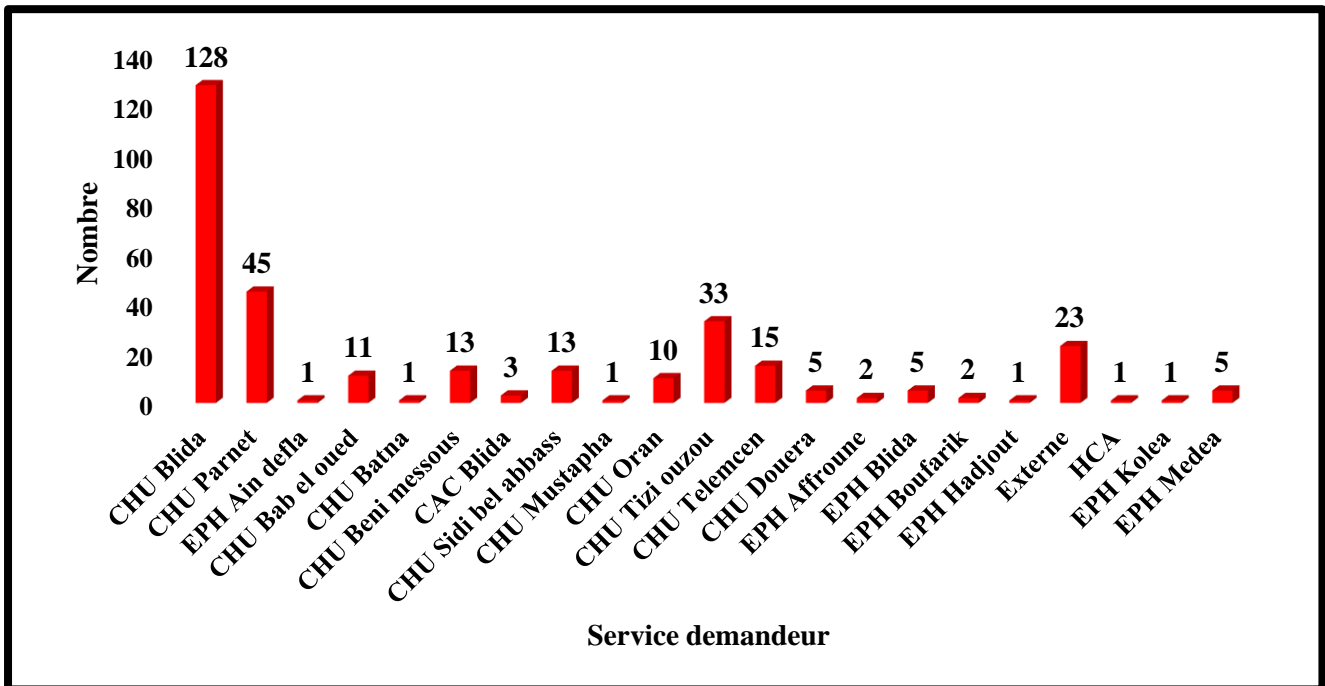


CHAPITRE II
RÉSULTATS

Résultats :

I- Caractéristiques démographiques de la population algérienne étudiée :

1- Répartition de notre population étudiée selon le service demandeur :



Graphe 1 : Répartition de notre population étudiée selon le service demandeur.

On remarque que la majorité des sujets recrutés dans notre échantillon, fait partie du **CHU de Blida** avec un pourcentage de **26%** suivi par le **CHU Nafissa Hamoud (ex-Parnet)** avec **9 %** et le **CHU Nedir Mohamed de TIZI OUZOU** avec **7%**.

2-Répartition de 1046 sujets selon l'année de recrutement :

Tableau 4 : Répartition de 1046 sujets selon l'année de recrutement.

Année	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Effectifs	28	154	269	110	91	72	44
Fr (%)	2,67	14,72	25,72	10,52	8,7	6,88	4,2

Année	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Effectifs	12	52	55	37	21	31	2
Fr (%)	1,15	4,97	5,26	3,54	2	3	0,2

La majorité des sujets (**51%**) ont été recrutés durant la période **2007/2009** de l'activité de l'unité. Par la suite, ce rythme de recrutement a reculé considérablement pour fluctuer entre **12** et **91** patients par année.

N.B : Il y a **68** sujets dont la date de recrutement n'a pas été mentionnée.

3-Répartition des sujets selon la région d'origine :

Tableau 5 : Répartition de 1046 sujets selon la région d'origine.

Régions d'origine	Effectifs	Fr (%)
Centre algérien	348	33,27
Kabylie	149	14,24
Est algérien	201	19,22
Ouest algérien	138	13,19
Sahara algérienne	128	12,24
Origine non mentionnée	82	7,84
Total	1046	100

Chapitre II : Résultats

Les sujets de notre échantillon sont originaires des différentes régions de l'Algérie principalement du centre (33,27%) et de l'est (19,22%), avec 82 patients (7,84%) dont l'origine n'a pas été mentionnée.

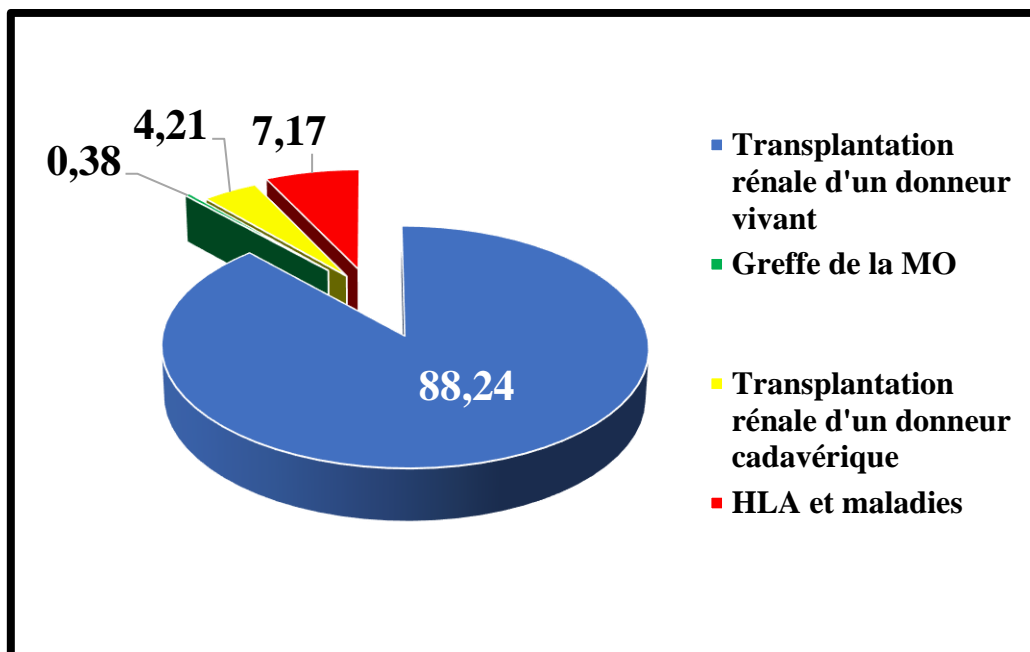
II- Caractéristiques biologiques de la population algérienne étudiée :

1-Répartition de 1046 sujets selon l'indication du typage HLA :

Tableau 6 : Répartition de 1046 sujets selon l'indication du typage HLA.

Indication	Nombre de typage	Fr (%)
Transplantation rénale d'un donneur vivant	923	88,24
Greffe de la MO	4	0,38
Transplantation rénale d'un donneur cadavérique	44	4,21
HLA et maladies	75	7,17
Total	1046	100

Nos résultats concernant l'indication du typage HLA révèlent que la fréquence des sujets typés dans le cadre d'une transplantation rénale d'un donneur vivant (88,24%) est nettement plus élevée, suivi par HLA et maladies avec un pourcentage de (7,17%).



Graphique 2 : Répartition de 1046 sujets selon l'indication du typage HLA.

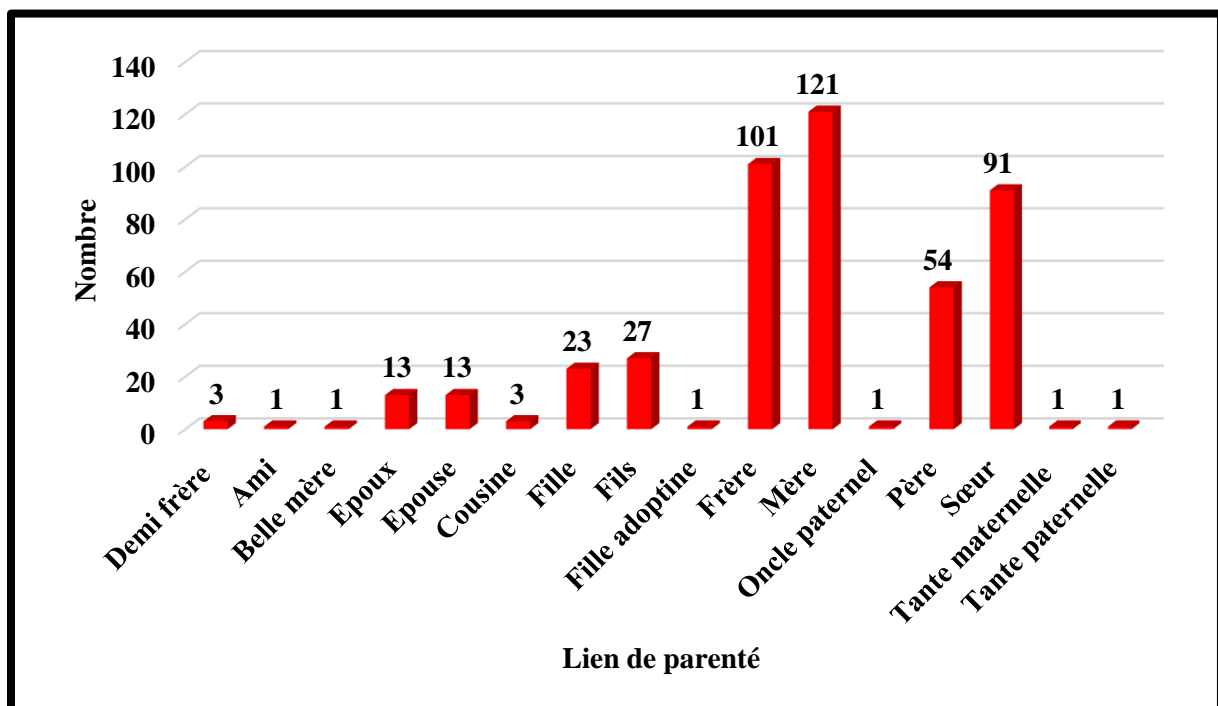
2-Répartition de 971 sujets recrutés dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse selon leur statut receveur /donneur :

Tableau 7 : Répartition de 971 sujets selon leur statut receveur /donneur.

Statut	Effectifs	Fr (%)
Receveur	492	50,67
Donneur	479	49,33
Total	971	100

Dans notre série, on note que le nombre des **receveurs (492)** est légèrement plus élevé que le nombre des **donneurs (479)**.

3-Répartition des sujets recrutés dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse selon le lien de parenté :



Graph 3 : Répartition de 455 donneurs selon le lien de parenté avec le receveur.

Les résultats montrent que la majorité des donneurs sont : des mères (121) et frères (101), se sont portés volontaires au don d'organe, de cellules et de tissus.

N.B : parmi 479 candidats au don d'organe, 24 candidats dont le lien de parenté n'a pas été mentionné.

4-Répartition des sujets typés dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse par année :

Tableau 8 : Répartition de 971 sujets typés par année.

Année	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Effectifs	27	152	269	110	89	72	44
Fr (%)	2,8	15,65	27,7	11,33	9,17	7,42	4,53

Année	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Effectifs	12	52	55	37	21	30	2
Fr (%)	1,24	5,35	5,66	3,81	2,16	3,1	0,2

En se basant sur la fréquence de la population typée par année, on constate que la plus grande fréquence était pendant la période **2007/2009** avec **54,68%**.

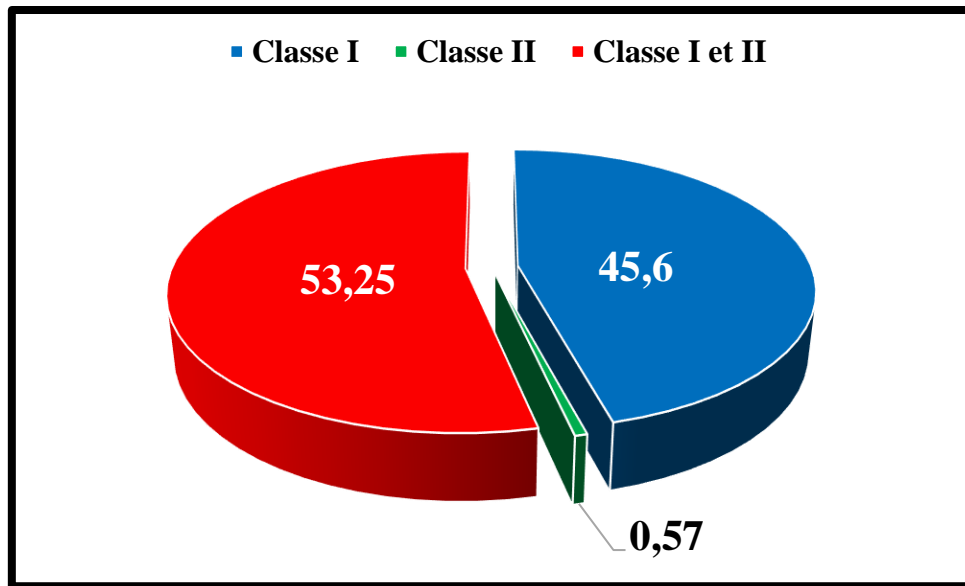
5-Répartition de 1046 sujets selon la classe HLA typée :

Tableau 9 : Répartition de la population étudiée selon la classe HLA typée.

Classe HLA	Effectifs	Fr (%)
Classe I	477	45,6
Classe II	6	0,57
Classe I et II	557	53,25

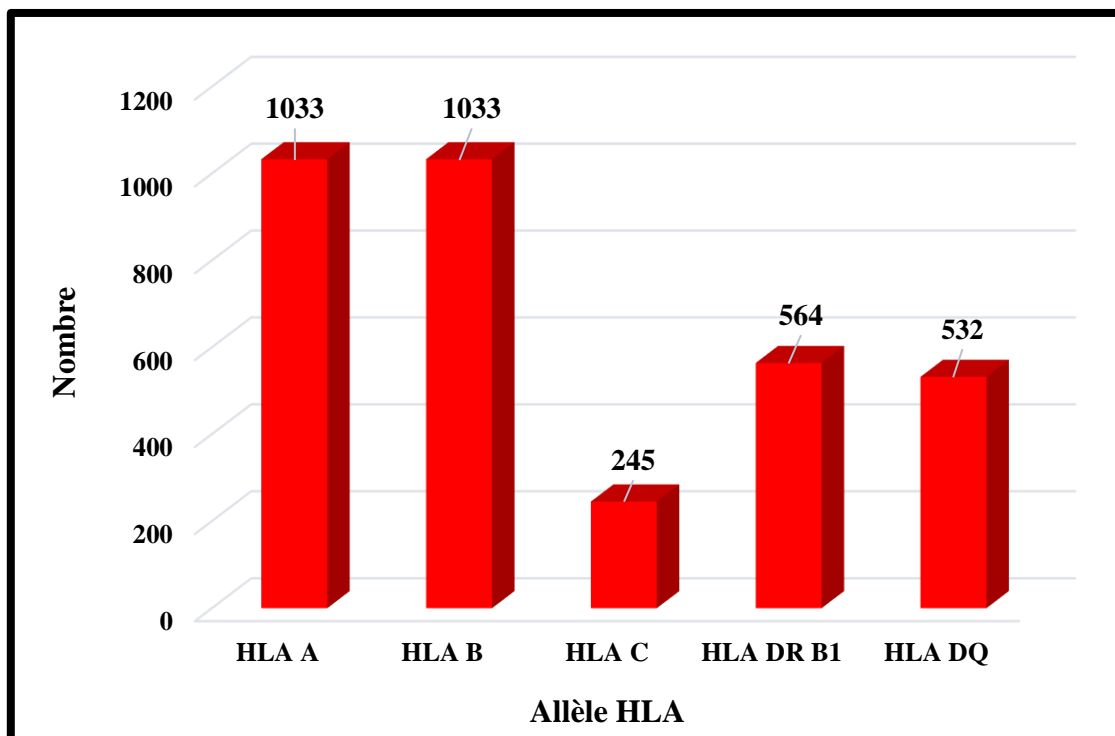
Sur l'ensemble des sujets adressés au laboratoire, **45,6%** d'entre eux disposent d'un typage **HLA** de classe **I** seulement et **53,25%** d'un typage HLA de classe **I et II**.

N.B : absence de résultats de typage de 6 sujets (2 receveurs et 4 donneurs).



Graphique 4 : Répartition de la population étudiée selon la classe HLA typée.

6-Répartition de la population étudiée selon le locus HLA typé :



Graphique 5 : Répartition de la population étudiée selon le locus HLA typé.

Dans notre étude, le nombre des sujets qui disposent d'un typage du locus **HLA-A** et **B** est nettement plus élevé que pour les autres loci.

Chapitre II : Résultats

La discordance de nombre des patients typés pour chaque allèle dépend du type de typage (complet ou ciblé) et de la technique utilisée.

7-Répartition des patients selon les résultats du Cross Match initial et final :

Les cross match initiaux et finaux ont été réalisés qu'avec les sérums des receveurs.

1) Cross Match initial :

Tableau 10 : Répartition de 478 cross match initiaux selon les résultats.

CXM I	Effectifs	Fr (%)
CXM I (+)	26	5,44
CXM I (-)	442	92,47
CXM I Douteux	3	0,64

Le nombre de test de cross match initial réalisé dépend du nombre des donneurs de chaque candidat à la transplantation rénale pour un donneur vivant (**478**). Les résultats obtenus concernant le cross match initial montre que ce dernier est négatif sur la majorité des sérums prélevés avant la greffe (**92,47%**), alors qu'il est positif chez un nombre très réduit (**5,44%**) ; avec absence de résultats pour **7** tests.

2) Cross Match final:

Tableau 11 : Répartition de 168 cross match finaux selon les résultats.

CXM F	Effectifs	Fr (%)
CXM F (+)	7	4,17
CXM F (-)	159	94,64
CXM F Douteux	2	1,19

Le cross match final a été réalisé sur **168** receveurs parmi **442** receveurs qui avaient un résultat négatif pour le CXM initial, dont **94,64%** des cross match finaux étaient négatifs et **4,17%** étaient positifs.

Tableau 12 : Comparaison des résultats des cross match initiaux et finaux.

Résultats	Cross match initial	Cross match final
Total	471	168
Résultat négatif	442	159
Résultat positif	26	7
Résultat douteux	3	2

Ce tableau récapitulatif montre que le nombre des CXM finaux est significativement bas par rapport à celui des CXM initiaux.

Remarque : Le test de cross match (initial ou final) dont le résultat est douteux, a été considéré comme un test positif.

8-Répartition des patients selon les résultats de la recherche des allo-Ac anti-HLA de classe I et II :

La recherche des **allo Ac anti-HLA de classe I et II** a été réalisée sur les sérums de **492** patients (receveurs).

8-1-Les allo-Ac anti-HLA de classe I :

Tableau 13 : Répartition de 492 patients selon les résultats de la recherche des allo Ac anti-HLA de classe I.

Résultats des allo-Ac anti-HLA de classe I	Allo Ac anti-HLA de classe I (-)	Allo Ac anti-HLA de classe I (+)	Allo Ac anti-HLA de classe I faiblement (+)	Allo Ac anti-HLA de classe I douteux
Nombre des patients	420	57	3	3
Fr (%)	85,36	11,59	0,61	0,61

Parmi **492** patients, seul **11,59%** ont développé des **allo Ac anti-HLA de classe I** avant la greffe, ils sont donc des patients immunisés ou hyperimmunisés.

Chapitre II : Résultats

Le reste des patients, représenté par un pourcentage de **85,36%** n'ont pas développé des allo Ac anti-HLA de classe I, ils sont donc considérés comme non immunisés.

N.B : absence de résultat pour 9 patients.

8-2-Les allo Ac anti-HLA de classe II :

Tableau 14 : Répartition de 492 patients selon les résultats de la recherche des allo Ac anti-HLA de classe II.

Résultats des allo Ac anti-HLA de classe II	Allo Ac anti-HLA de classe II (-)	Allo Ac anti-HLA de classe II (+)	Allo Ac anti-HLA de classe II faiblement (+)	Allo Ac anti-HLA de classe II douteux
Nombre des patients	449	27	2	1
Fr (%)	91,26	5,48	0,4	0,2

Pour les **allo Ac anti-HLA de classe II**, la positivité des résultats a été remarquée chez **5,48%** des patients, alors que le reste des patients **91,26%** avait des résultats négatifs concernant la présence des allo Ac anti-HLA de classe II.

9-Répartition des patients selon les résultats du cross match final et l'année de greffe :

Tableau 15 : Répartition des patients selon les résultats du cross match final et l'année de greffe.

Année	CXM final	Fr (%) (N=479)	Nombre de greffés	Fr (%) (N=492)
2006	10	2,08	10	2,03
2007	35	7,31	35	7,11
2008	55	11,48	49	9,96
2009	13	2,71	11	2,24
2010	7	1,46	5	1,02
2011	12	2,51	12	2,44
2012	8	1,67	8	1,63
2013	4	0,84	4	0,81
2014	10	2,08	3	0,61
2015	2	0,42	1	0,20
2016	1	0,21	1	0,20
2017	1	0,21	1	0,20
2018	1	0,21	0	0
2019	0	0	0	0
Total	159	33,19	140	28,45

On remarque que la majorité des patients qui ont bénéficié d'un cross match final et le résultat était négatif, sont transplantés.

En se basant sur l'activité de la réalisation des greffes au niveau du CHU de Blida, on remarque une activité accrue au cours des années **2007, 2008, 2009** dont elles présentent dans l'ensemble un pourcentage de **19,31%**.

III-Étude du polymorphisme HLA chez la population algérienne étudiée :

1-Étude des fréquences phénotypiques et génotypiques des allèles HLA chez la population algérienne étudiée :

Le **X** dans les tableaux ci-dessous, représente soit un allèle homozygote, soit un allèle absent.

NB : Dans les tableaux ci-dessous, les pourcentages les plus fréquents sont marqués en rouge et les moins fréquents en vert.

1) HLA-A :

L'étude des allèles **HLA-A** chez **1033** sujets (**30** individus sont **homozygotes**).

Tableau 16 : Fréquences des allèles HLA-A chez 1033 sujets.

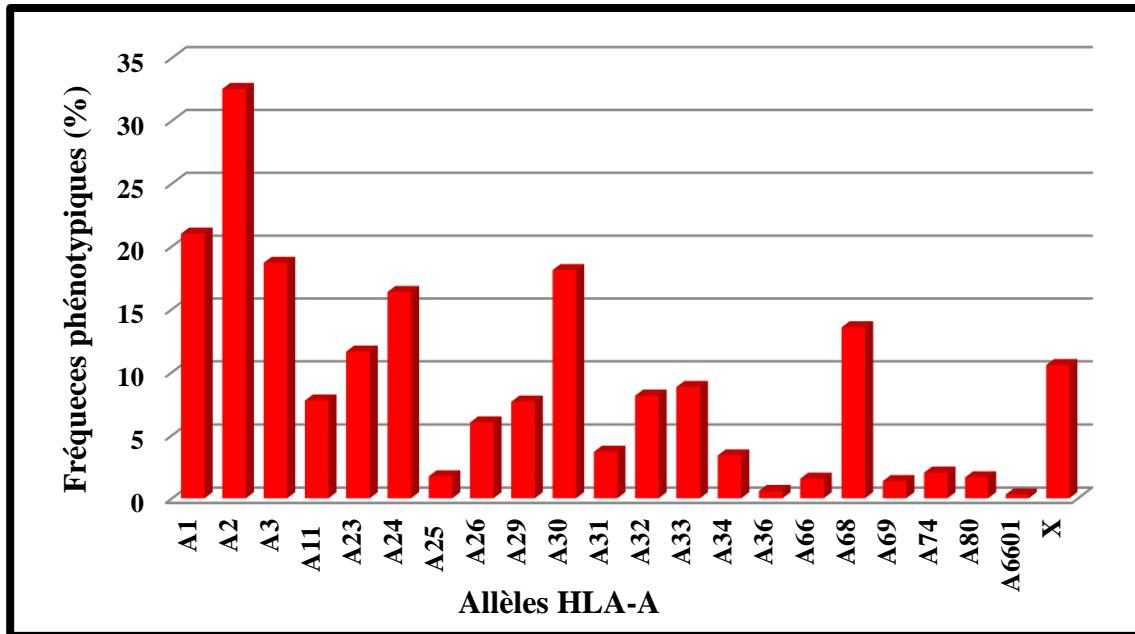
HLA-A	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
A2	336	32,52	351	16,99
A1	217	21	222	10,75
A3	193	18,68	193	9,34
A30	187	18,1	189	9,15
A24	169	16,36	169	8,18
A68	140	13,55	143	6,92
A23	120	11,62	120	5,81
X	110	10,65	110	5,32
A33	91	8,81	95	4,6
A32	84	8,13	84	4,07
A11	80	7,74	80	3,87

HLA-A	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
A29	79	7,65	80	3,87
A26	62	6	62	3
A31	38	3,68	38	1,84
A34	35	3,39	35	1,69
A74	21	2,03	21	1,02
A25	18	1,74	18	0,87
A80	17	1,65	17	0,82
A66	16	1,55	16	0,77
A69	14	1,36	14	0,68
A36	6	0,58	6	0,3
A6601	3	0,29	3	0,15

21 allèles **HLA-A** étaient retrouvés dont les plus fréquents sont : **A2 (32,52%)**, retrouvé chez **336** individus dont **15** sont **homozygotes**, suivi par **A1 (21%)** retrouvé chez **217** individus dont **5** sont **homozygotes**.

Chapitre II : Résultats

Pour les allèles **HLA-A** les moins fréquents sont : **A36 (0,58%)** retrouvé chez **6** individus, **A69 (1,36%)** retrouvé chez **14** individus et **A66 (1,55%)** retrouvé chez **16** individus.



Graphe 6 : Fréquences des allèles HLA-A chez 1033 sujets.

2) HLA-B :

L'étude des allèles **HLA-B** chez **1033 sujets** (**20** individus sont **homozygotes**).

Tableau 17 : Fréquences des allèles HLA-B chez 1033 sujets.

HLA -B	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
B44	169	16,36	172	8,33
B51	162	15,68	166	8,03
X	140	13,55	140	6,78
B7	139	13,46	140	6,78
B35	134	12,97	134	6,49
B18	129	12,49	130	6,29
B8	117	11,33	119	5,76
B65	111	10,75	111	5,37
B45	110	10,65	113	5,47
B50	110	10,65	111	5,37
B49	107	10,36	110	5,32
B15	70	6,78	71	3,44
B58	67	6,49	67	3,24
B52	61	5,91	62	3
B53	53	5,13	53	2,57
B38	44	4,26	44	2,13
B41	42	4,07	42	2,03
B57	35	3,39	35	1,69
B27	32	3,1	32	1,55

HLA -B	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
B42	31	3	31	1,5
B61	30	2,9	30	1,45
B39	29	2,81	29	1,4
B13	28	2,71	28	1,36
B64	24	2,32	24	1,16
B37	20	1,94	20	0,97
B72	14	1,36	14	0,68
B60	9	0,87	9	0,44
B55	7	0,68	7	0,34
B78	7	0,68	7	0,34
B81	4	0,39	4	0,19
B67	3	0,29	3	0,15
B56	2	0,19	2	0,097
B71	2	0,19	2	0,097
B3	1	0,097	1	0,048
B4	1	0,097	1	0,048
B47	1	0,097	1	0,048
B504	1	0,097	1	0,048

36 allèles **HLA-B** étaient retrouvés, les plus fréquents sont : **B44 (16,36%)** retrouvé chez **169** individus dont **3** sont **homozygotes**, suivi par **B51 (15,68%)** retrouvé chez **162** individus dont **4** sont **homozygotes**.

Pour les allèles **HLA-B** les moins fréquents sont : **B55 (0,68%)** retrouvé chez **7** individus, **B60 (0,87%)** retrouvé chez **9** individus et **B72 (1,36%)** retrouvé chez **14** individus.

3) HLA-C :

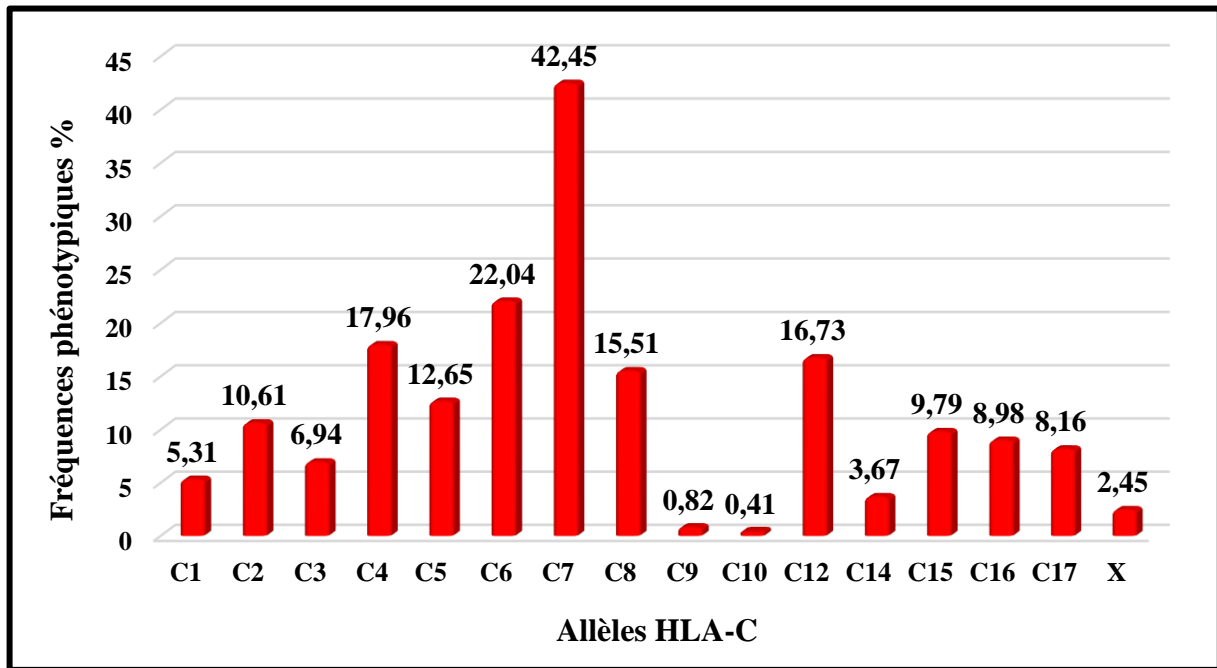
L'étude des allèles **HLA-C** chez **245 sujets** (**41** individus sont **homozygotes**).

Tableau 18 : Fréquences des allèles HLA-C chez 245 sujets.

HLA-C	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
C7	104	42,45	132	26,94
C6	54	22,04	59	12,04
C4	44	17,96	46	9,39
C12	41	16,73	41	8,37
C8	38	15,51	39	7,96
C5	31	12,65	35	7,14
C2	26	10,61	26	5,3
C15	24	9,79	25	5,1
C16	22	8,98	22	4,49
C17	20	8,16	20	4,08
C3	17	6,94	17	3,47
C1	13	5,31	13	2,65
C14	9	3,67	9	1,83
X	6	2,45	6	1,22
C9	2	0,82	2	0,41
C10	1	0,41	1	0,2

15 allèles **HLA-C** étaient retrouvés, les plus fréquents sont : **C7 (42,45%)** retrouvé chez **104** individus dont **28** sont **homozygotes**, suivi par **C6 (22,04%)** retrouvé chez **54** individus dont **5** sont **homozygotes**.

Pour les allèles **HLA-C** les moins fréquents sont : **C10 (0,41%)** retrouvé chez **1** individu et **C9 (0,82%)** retrouvé chez **2** individus.



Graph 7 : Fréquences des allèles HLA-C chez 245 sujets.

4) HLA-DR :

L'étude des allèles **HLA-DR** chez **564** sujets (**44** individus sont **homozygotes**).

Tableau 19 : Fréquences des allèles HLA-DR chez 564 sujets.

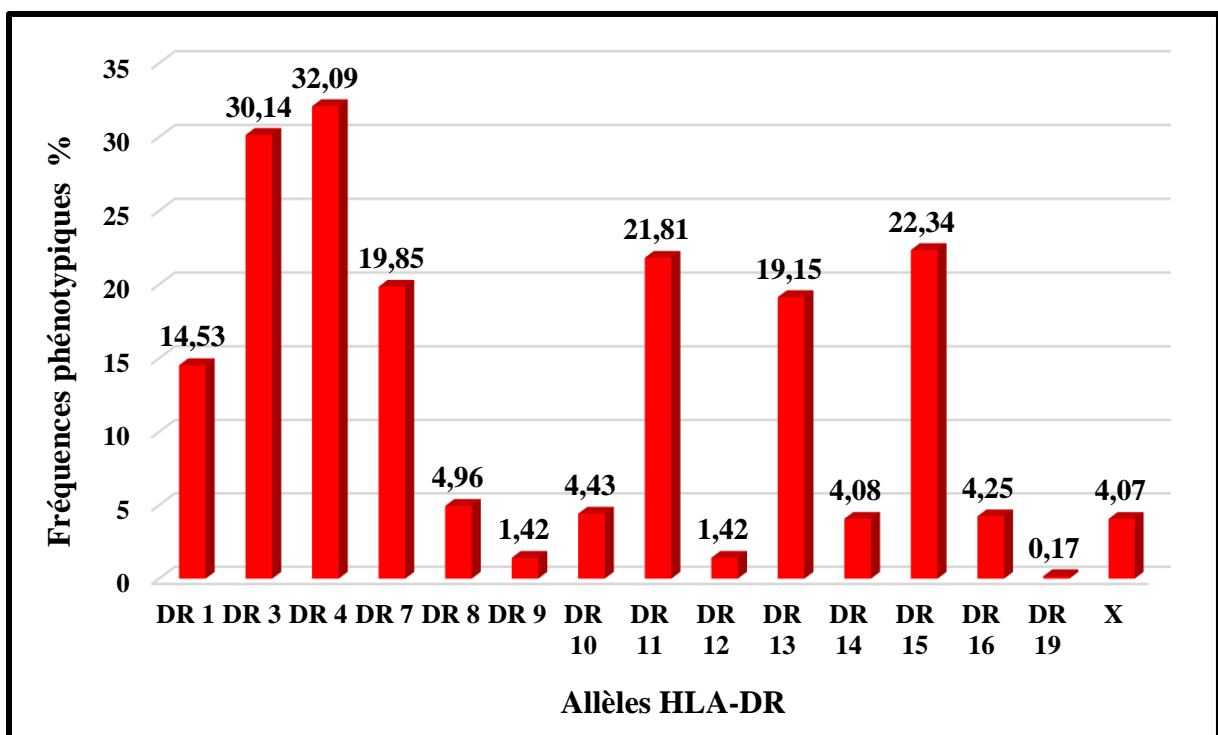
HLA-DR	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
DR 52	191	33,86	213	18,88
DR 4	181	32,09	194	17,2
DR 3	170	30,14	184	16,31
DR 53	146	25,88	165	14,63
DR 15	126	22,34	133	11,79
DR 11	123	21,81	130	11,55
DR 7	112	19,85	120	10,64
DR 13	108	19,15	110	9,75
DR 1	82	14,53	87	7,71
DR 51	65	11,52	66	5,85
DR 8	28	4,96	2	0,18
DR 10	25	4,43	25	2,21
DR 16	24	4,25	24	2,12
DR 14	23	4,08	23	2,04
X	23	4,07	23	2,04
DR 9	8	1,42	8	0,71
DR 12	8	1,42	8	0,71
DR 19	1	0,17	1	0,09

Chapitre II : Résultats

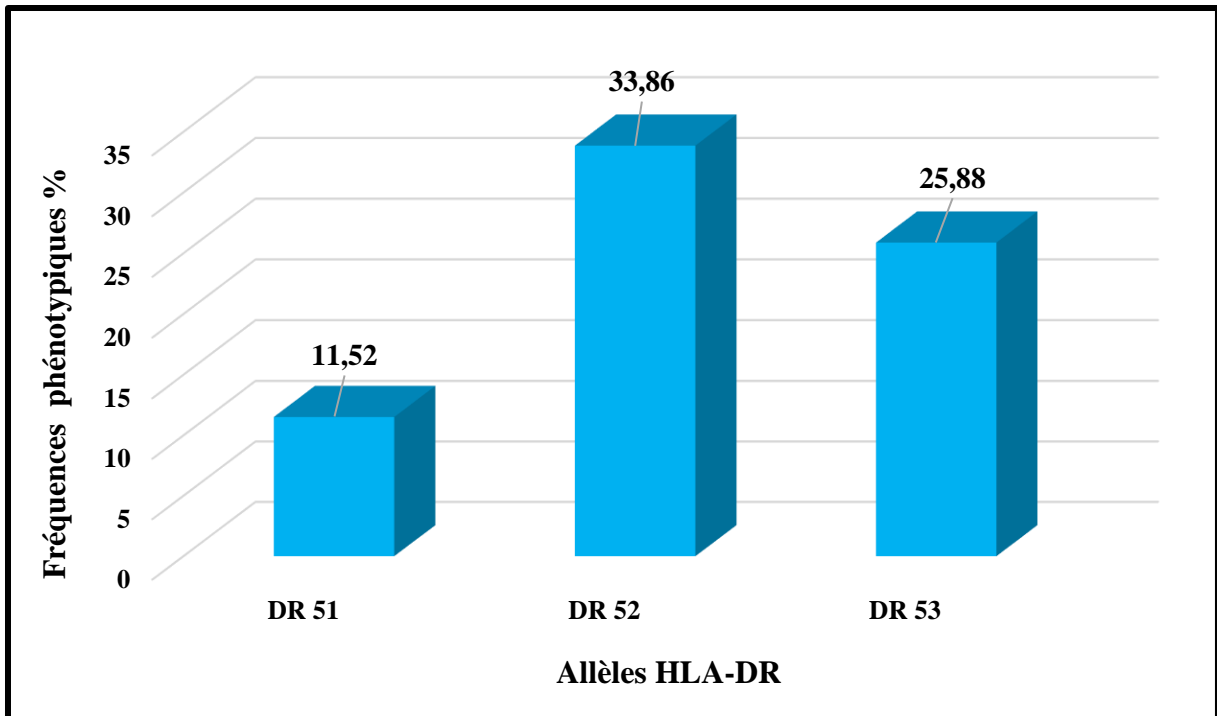
14 allèles **HLA-DR β 1** étaient retrouvés, les plus fréquents sont : **DR β 1*04 (32,09%)** retrouvé chez **181** individus dont **13** sont **homozygotes**, suivi par **DR β 1*03 (30,14%)** retrouvé chez **170** individus dont **14** sont **homozygotes**.

Pour les allèles **HLA-DR β 1** les moins fréquents sont : **DR β 1*19 (0,17%)** retrouvé chez **1** individu, suivi par **DR β 1*9** et **DR β 1*12** avec une même fréquence (**1,42%**) retrouvé chez **8** individus.

On a **3** autres allèles **HLA-DR** : **DR β 3 (33,86%)** retrouvé chez **191** individus dont **22** sont **homozygotes**, **DR β 4 (25,88%)**, retrouvé chez **146** individus dont **19** sont **homozygotes** et **DR β 5 (11,52%)**, retrouvé chez **65** individus dont **1** est **homozygote**.



Graphe 8 : Fréquences des allèles HLA-DR β 1 chez 564 sujets.



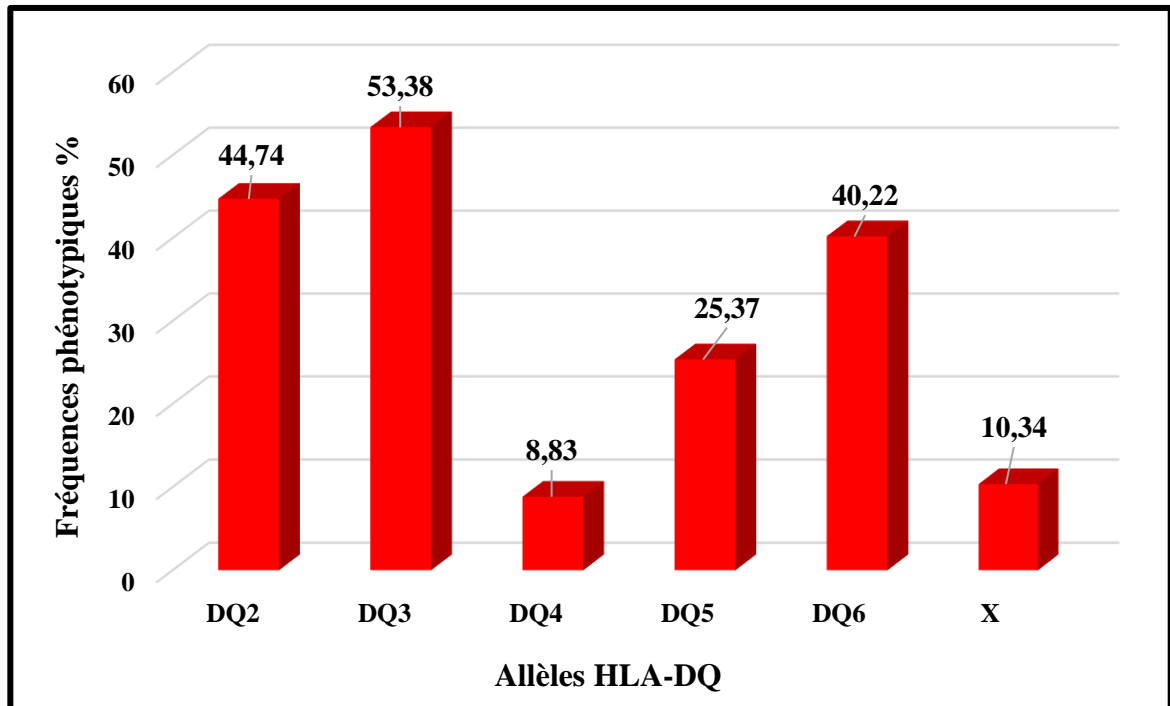
Graph 9 : Fréquences des allèles HLA-DR β 3(DR52), DR β 4(DR53) et DR β 5(DR51) chez 564 sujets.

5) HLA-DQ :

L'étude des allèles **HLA-DQ** chez **532 sujets** (**90** individus sont **homozygotes**).

Tableau 20 : Fréquences des allèles HLA-DQ chez 532 sujets.

HLA-DQ	Effectifs	(%) Ph	Effectifs	(%) Gé
DQ3	284	53,38	316	29,7
DQ2	238	44,74	262	24,62
DQ6	214	40,22	232	21,8
DQ5	135	25,37	151	14,19
X	55	10,34	55	5,17
DQ4	47	8,83	47	4,42



Graphe 10 : Fréquences des allèles HLA-DQ chez 532 sujets

5 allèles **HLA-DQ** étaient retrouvés, les plus fréquents sont : **DQ3 (53,38%)** retrouvé chez **284** individus, dont **32** sont **homozygotes** et **DQ2 (44,74%)**, retrouvé chez **238** individus, dont **24** sont **homozygotes**.

Pour l'allèle **HLA-DQ** le moins fréquent, on a : **DQ4 (8,83%)** retrouvé chez **47** individus.

2-Distribution des allèles HLA chez la population algérienne étudiée par région :

La région Kabylie fait partie du centre algérien, et comme le nombre des patients issus de la région Kabylie est significativement élevé on a voulu identifier leurs allèles.

1) HLA-A :

Tableau 21 : Les fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-A selon les régions d'origine.

HLA-A	Centre	Kabylie	Est	Ouest	Sahara	National
A1	11,73	13,95	7,79	8,92	8,87	10,75
A2	16,82	15,65	17,59	20,38	16,53	16,99
A3	9,88	11,56	7,79	9,87	7,26	9,34
A11	4,32	5,44	3,77	2,87	2,42	3,87
A23	9,26	3,06	3,02	4,14	6,05	5,81
A24	8,95	5,44	10,3	5,73	8,47	8,18
A25	0,93	1,7	0,5	1,59	0	0,87
A26	2,78	7,82	2,26	1,91	1,21	3
A29	3,86	4,08	3,27	3,82	4,03	3,87
A30	8,18	9,86	12,56	7,96	4,84	9,15
A31	2	0,68	0,75	2,87	3,22	1,84
A32	3,86	2,38	4,77	3,5	4,84	4,07
A33	4,48	4,08	4,77	6,69	3,22	4,6
A34	1,23	0,34	2,51	1,59	3,22	1,69
A36	0,77	0	0	0,32	0	0,3
A66	1,08	0,68	0	1,27	0	0,77
A68	6,64	6,46	6,53	7	12,5	6,92
A69	0	0,34	1	1,27	2,02	0,68
A74	0,31	0,68	2,76	0,96	0,81	1,02
A80	0,15	0,34	1,75	0,96	1,61	0,82
A6601	0	0	0	0	1,21	0,15
X	2,77	5,44	6,28	6,37	7,66	5,27

Chapitre II : Résultats

L'évaluation des fréquences génotypiques des allèles **HLA-A** selon les régions d'origine (**Tableau 21**) montre que :

Les allèles **HLA-A2**, **HLA-A1**, **HLA-A3**, **HLA-A30** et **HLA-A68** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du **Centre** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **A2 (16,82%)**, **A1 (11,73%)**.
- La région de **Kabylie** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **A2 (15,65%)**, **A1 (13,95%)**.
- La région de **l'Est** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **A2 (17,59%)**, **A30 (12,56%)**.
- La région de **l'Ouest** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **A2 (20,38%)**, **A3 (9,87%)**.
- La région du **Sahara** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **A2 (16,53%)**, **A68 (12,5%)**.

Les allèles **HLA-A80**, **HLA-A74**, **HLA-A34**, **HLA-A69**, **HLA-A25**, **HLA-A31** et **HLA-A36** sont les moins présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du **Centre** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **A80 (0,15%)**, **A74 (0,31%)**.
- La région de **Kabylie** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **A34**, **A69**, **A80** avec une même fréquence (**0,34%**).
- La région de **l'Est** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **A25 (0,5%)**, **A31 (0,75%)**.
- La région de **l'Ouest** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **A36 (0,32%)**, **A74 (0,96%)**.
- La région du **Sahara** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **A74 (0,81%)**.

2) HLA-B :

Tableau 22 : Les fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-B selon les régions d'origine.

HLA-B	Centre	Kabylie	Est	Ouest	Sahara	National
B3	0,16	0	0	0	0	0,048
B4	0	0	0	0,32	0	0,048
B7	8,33	8,97	4,02	6,37	5,69	6,78
B8	6,13	4,83	5,03	5,73	8,54	5,76
B13	1,26	0,69	0,75	3,18	0,81	1,31
B15	2,36	2,41	2,76	4,78	5,28	3,44
B18	5,66	7,24	7,54	7	2,44	6,29
B27	1,42	1,72	2,26	1,6	0	1,5
B35	8,96	5,52	5,03	8,28	3,25	6,49
B37	1,26	1,03	0,25	1,27	0	0,97
B38	1,26	5,17	1,76	1,6	2,44	2,08
B39	1,42	1,72	2,01	1,27	0,41	1,4
B41	2,36	3,8	0,75	2,23	0,81	1,98
B42	2,04	0,69	0,25	3,18	1,22	1,5
B44	6,76	10	11,06	7,32	6,91	8,33
B45	4,09	3,8	5,28	5,09	5,69	5,47
B47	0	0	0	0	0,41	0,048
B49	6,6	4,14	6,03	3,18	4,87	5,32
B50	4,25	3,8	6,28	4,46	9,35	5,37
B51	6,45	9,66	10,05	6,69	11,79	8,03
B52	3,3	2,41	4,02	1,6	4,07	3
B53	2,83	1,03	2,51	3,18	3,66	2,52
B55	0,16	0	1	0,64	0	0,34
B56	0,31	0	0	0	0	0,097
B57	2,04	1,03	1,26	2,55	0,81	1,65
B58	6,13	3,45	1,51	2,23	1,63	3,19
B60	0,16	0,69	0	0	0	0,44
B61	2,04	0,34	2,5	0,32	1,22	1,45
B64	1,1	2,41	0,75	2,23	0	1,16
B65	5,66	6,21	6,03	5,73	4,47	5,37
B67	0,16	0	0	0,32	0,41	0,15
B71	0	0	0	0	0,81	0,097
B72	0,31	0	1	0,64	2,44	0,68
B78	0,47	0	0	0,32	0,81	0,34
B81	0,16	0,34	0	0	0,41	0,19
B504	0	0	0,25	0	0	0,048
X	4,25	6,9	8,04	6,69	9,35	6,78

Chapitre II : Résultats

L'évaluation des fréquences génotypiques des allèles **HLA-B** selon les régions d'origine (**Tableau 22**) montre que :

Les allèles **HLA-B44**, **HLA-B51**, **HLA-B7**, **HLA-B35** et **HLA-B50** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du **Centre** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **B35 (8,96%)**, **B7 (8,33%)**.
- La région de **Kabylie** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **B44 (10%)**, **B51 (9,66%)**.
- La région de **l'Est** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **B44 (11,06%)**, **B51 (10,05%)**.
- La région de **l'Ouest** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **B35 (8,28%)**, **B44 (7,38%)**.
- La région du **Sahara** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **B51 (11,79%)**, **B50 (9,35%)**.

Les allèles **HLA-B55**, **HLA-B60**, **HLA-B81**, **HLA-B61**, **HLA-B42**, **HLA-B37**, **HLA-B78** et **HLA-B39** sont les moins présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du **Centre** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **B55**, **B60**, **B81** avec une même fréquence (**0,16%**).
- La région de **Kabylie** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **B61 (0,34%)**, **B42** et **B13 (0,69%)**.
- La région de **l'Est** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **B37** et **B42** avec une même fréquence (**0,25%**).
- La région de **l'Ouest** : les allèles HLA les moins fréquents sont : **B61** et **B78** avec une même fréquence (**0,32%**).
- La région du **Sahara** : parmi les allèles HLA les moins fréquents on a : **B39 (0,41%)**.

3) HLA-C :

Tableau 23 : Les fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-C selon les régions d'origine.

HLA-C	Centre	Kabylie	Est	Ouest	Sahara	National
C1	1,81	2,94	4,55	5,17	0	2,65
C2	5,45	2,94	3,03	8,62	4,35	5,3
C3	5	2,94	0	1,72	4,35	3,47
C4	11,36	5,88	6,6	10,34	4,35	9,39
C5	4,54	20,58	9,1	10,34	0	7,14
C6	7,72	17,65	12,12	18,97	21,74	12,04
C7	31,81	23,53	13,63	12,06	17,4	26,94
C8	4,55	5,88	13,63	13,8	6,52	7,96
C9	0	0	0	0	4,35	0,41
C10	0	0	0	1,72	0	0,2
C12	9,55	2,94	15,15	6,9	6,52	8,37
C14	1,81	2,94	6,6	0	0	1,83
C15	4,09	2,94	4,55	0	15,22	5,1
C16	3,63	5,88	3,03	6,9	4,35	4,49
C17	5,45	0	0	8,62	0	4,08
X	0,45	0	0	1,72	2,17	1,22

L'évaluation des fréquences génotypiques des allèles HLA-C selon les régions d'origine (**Tableau 23**) montre que :

Les allèles **HLA-C7, C6, C4, C8** et **C5**, sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du **Centre** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **C7 (31,81%)**, **C4 (11,36%)**.
- La région de **Kabylie** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **C7 (23,53%)**, **C5 (20,58%)**.
- La région de **l'Est** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **C12 (15,15%)**, **C7** et **C8** avec une même fréquence (**13,64%**).
- La région de **l'Ouest** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **C6 (18,97%)**, **C8 (13,8%)**.
- La région du **Sahara** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **C6 (21,74%)**, **C7 (17,4%)**.

Chapitre II : Résultats

L'allèle **HLA-C14** est moins fréquent au niveau de la région du **Centre** avec une fréquence de **1,81%**.

4) HLA-DR :

Tableau 24 : Les fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-DR selon les régions d'origine.

HLA-DR	Centre	Kabylie	Est	Ouest	Sahara	National
DR 1	7,76	10	9,05	5,3	6,72	7,71
DR 3	17,35	11,25	12,86	11,77	20,15	16,31
DR 4	17,58	25	19,52	15,30	8,96	17,2
DR 7	10,73	8,75	7,15	17,65	8,96	10,64
DR 8	2,74	2,5	1,43	3,53	3,73	0,18
DR 9	0,69	0	0,95	0	1,5	0,71
DR 10	0,69	0	4,76	2,36	2,24	2,21
DR 11	12,78	12,5	5,72	11,77	16,42	11,55
DR 12	0,23	0	1,43	1,18	0,75	0,71
DR 13	9,59	6,25	10	11,77	9,7	9,75
DR 14	2,06	1,25	3,35	1,76	0,75	2,04
DR 15	11,19	8,75	15,71	9,41	14,93	11,79
DR 16	3,43	2,5	1,91	1,18	0	2,12
DR 19	0	1,25	0	0	0	0,09
DR 51	3,88	5	10,48	3,53	7,47	5,85
DR 52	13,93	20	14,76	19,41	21,64	18,88
DR 53	11,95	18,75	12,86	17,65	13,44	14,63
X	0,46	3,75	2,38	2,36	2,98	2,04

L'évaluation des fréquences génotypiques des allèles **HLA-DRβ1** selon les régions d'origine (**Tableau 24**) montre que :

Les allèles **HLA-DRβ1*04**, **DRβ1*03**, **DRβ1*15**, **DRβ1*11** et **DRβ1*07** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du **Centre** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DRβ1*04 (17,58%)**, **DRβ1*03 (17,35%)**.
- La région de **Kabylie** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DRβ1*03 (11,25%)**, **DRβ1*11 (12,5%)**.

Chapitre II : Résultats

- La région de l'Est : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DRβ1*15 (15,71%)**, **DRβ1*04 (19,52%)**.
- La région de l'Ouest : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DRβ1*04 (15,3%)**, **DRβ1*07 (17,65%)**.
- La région du Sahara : dont les allèles HLA les plus fréquents sont : **DRβ1*03 (20,15%)**, **DRβ1*11 (16,42%)**.

L'allèle **HLA-DRβ5** est plus fréquent au niveau de la région de l'Est avec une fréquence de **10,48%**.

L'allèle **HLA-DRβ1*12 (0,23%)** et **HLA-DRβ1*09 (0,69%)** sont les moins fréquents au niveau de la région du Centre.

5) HLA-DQ :

Tableau 25 : Les fréquences génotypiques (%) des allèles HLA-DQ selon les régions d'origine.

HLA-DQ	Centre	Kabylie	Est	Ouest	Sahara	National
DQ2	24,27	20,27	16,1	35,71	26,78	24,62
DQ3	33	36,48	27,58	53	24,1	29,7
DQ4	4,37	2,7	6,9	6,12	7,14	4,42
DQ5	16,28	17,11	19,82	12,92	11,17	14,19
DQ6	17,48	8,55	27,29	5,1	37,93	21,8
X	3,88	10,81	5,17	11,22	5,35	5,17

L'évaluation des fréquences génotypiques des allèles **HLA-DQ** selon les régions d'origine (**Tableau 25**) montre que :

Les allèles **HLA-DQ3, DQ2, DQ6** sont les plus présents dans la plupart des régions de territoire national.

- La région du Centre : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DQ2 (24,27%)**, **DQ3 (33%)**.
- La région de Kabylie : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DQ2 (20,27%)**, **DQ3 (36,48%)**.
- La région de l'Est : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DQ6 (16,1%)**, **DQ3 (27,58%)**.

- La région de l'**Ouest** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DQ2 (35,71%)**, **DQ3 (53%)**.
- La région du **Sahara** : les allèles HLA les plus fréquents sont : **DQ6 (37,93%)**, **DQ2 (26,78%)**.

3-Étude des fréquences haplotypiques chez la population algérienne étudiée :

L'étude haplotypique a intéressée **590** sujets apparentés semi identiques disposant de typage HLA.

Les haplotypes HLA ont été établis selon les caractéristiques du système HLA (transmission en bloc et codominance), en associant des allèles HLA, dont les associations les plus fréquentes sont les suivantes : **A/B**, **B/C**, **DR/DQ**, **A/B/DR**, **A/B/DR/DQ** et **B/C/DR**.

Devant le grand nombre des haplotypes retrouvés, nous avons représenté aux tableaux ci-après les haplotypes les plus fréquemment retrouvés pour chaque association allélique.

Fréquence = Nombre d'effectif / Nombre d'haplotypes possibles

Nombre d'haplotypes possibles = 590×2

Total d'effectif : nombre des haplotypes les plus fréquents pour chaque association allélique.

a) Haplotype A/B :

Total d'effectif = 436.

Tableau 26 : Fréquences des haplotypes A/B retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.

Haplotype A/B	Effectifs	Fréquence (%)
A2 B51	18	1,53
A2 B7	15	1,27
A2 B45	14	1,19
A33 B65	14	1,19
A1 B52	13	1.1
A24 B35	12	1,02
A2 B50	11	0,93
A30 B18	11	0,93
A30 B42	11	0,93
A1 B8	10	0,85
A2 B49	10	0,85
A23 B44	10	0,85
A1 B51	9	0,77
A2 B44	9	0,77
A24 B8	9	0,77
A3 B7	9	0,77
A33 B14	9	0,77
A34 B8	9	0,77
A26 B38	8	0,68
A26 B7	8	0,68
A3 B45	8	0,68
A30 B13	8	0,68
A31 B51	8	0,68
A68 B49	8	0,68
A68 B7	8	0,68
A2 B41	7	0,6
A23 B35	7	0,6
A3 B35	7	0,6

Haplotype A/B	Effectifs	Fréquence (%)
A3 B51	7	0,6
A32 B40	7	0,6
A32 B44	7	0,6
A33 B44	7	0,6
A68 B18	7	0,6
A1 B58	6	0,51
A2 B18	6	0,51
A23 B49	6	0,51
A24 B18	6	0,51
A30 B35	6	0,51
A30 B50	6	0,51
A69 B51	6	0,51
A1 B1	5	0,43
A11 B49	5	0,43
A23 B50	5	0,43
A24 B44	5	0,43
A29 B45	5	0,43
A3 B18	5	0,43
A3 B27	5	0,43
A3 B49	5	0,43
A3 B65	5	0,43
A30 B44	5	0,43
A66 B41	5	0,43
A68 B14	5	0,43
A68 B51	5	0,43
A68 B53	5	0,43
A8 B7	5	0,43
A68 B14	4	0,34

Dans cette série de 436 sujets, les haplotypes les plus fréquemment rencontrés sont : A2 B51, A2 B7, A2 B45, A33 B65, A1 B52, A24 B35, A2 B50, A30 B18, A30 B42, A1 B8, A2 B49, A23 B44.

b) Haplotype B/C :

Total d'effectifs = 26.

Tableau 27 : Fréquences des haplotypes B/C retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.

Haplotype B/C	Effectifs	Fréquence (%)
B14 C8	9	0,77
B8 C7	5	0,43
B44 C5	4	0,34
B50 C6	4	0,34
B41 C17	4	0,34

Dans cette série de 26 sujets, les haplotypes les plus fréquemment rencontrés sont : **B14 C8, B8 C7.**

c) Haplotype DR/DQ :

Total d'effectifs = 282

Tableau 28 : Fréquences des haplotypes **DR/DQ** retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.

Haplotype DR/DQ	Effectifs	Fréquence (%)
DR3 DQ2	47	3,99
DR4 DQ3	41	3,48
DR15 DQ6	37	3,14
DR7 DQ2	35	2,97
DR11 DQ3	24	2,04
DR1 DQ5	21	1,78
DR13 DQ6	18	1,53
DR11 DQ7	17	1,44
DR16 DQ5	10	0,85
DR8 DQ7	8	0,68
DR13 DQ3	8	0,68
DR4 DQ2	6	0,51
DR1 DQ1	5	0,43
DR13 DQ1	5	0,43

Dans cette série de 282 sujets, les haplotypes les plus fréquemment rencontrés sont : DR13 DQ6, DR4 DQ3, DR7 DQ2, DR11 DQ3, DR11 DQ7, DR1 DQ5, DR3 DQ2, DR15 DQ6.

d) Haplotype A/B/DR :

Total d'effectifs = 21.

Tableau 29 : Fréquences des haplotypes **A/B/DR** retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.

Haplotype A/B/DR	Effectifs	Fréquence (%)
A33 B65 DR52	7	0,6
A33 B14 DR1	6	0,51
A1 B51 DR51	4	0,34
A23 B49 DR11 DR52	4	0,34

Dans cette série de 21 sujets, les haplotypes les plus fréquemment rencontrés sont : **A33 B65 DR52, A33 B14 DR1, A1 B51 DR51, A23 B49 DR11 DR52.**

e) Haplotype A/B/DR/DQ:

Total d'effectifs = 9.

Tableau 30 : Fréquences des haplotypes **A/B/DR/DQ** retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.

Haplotype A/B/DR/DQ	Effectifs	Fréquence (%)
A2 B50 DR7 DQ2	5	0,43
A2 B41 DR4 DQ2	4	0,34

Dans cette série de 9 sujets, deux haplotypes sont les plus fréquents : **A2 B41 DR4 DQ2, A2 B50 DR7 DQ2.**

e) **Haplotype B/C/DR :**

Total d'effectifs = 5.

Tableau 31 : Fréquences des haplotypes **B/C/DR** retrouvés au sein de la population algérienne étudiée.

Haplotype B/C/DR	Effectifs	Fréquence (%)
B14 C8 DR1	5	0,43

Dans cette série de **5** sujets, l'haplotype **B14 C8 DR1** est le plus fréquemment retrouvé.



CHAPITRE III
DISCUSSION

Discussion :

La prise en charge immunologique de la transplantation est capitale car elle conditionne la réussite de cette dernière. Elle consiste à établir le statut immunologique (recherche des allo anticorps anti-HLA) de chaque patient, établir la compatibilité HLA entre donneur et receveur d'organe et assurer un suivi régulier avant et après la greffe.

Notre étude rétrospective et prospective a été réalisée sur **1046** patients algériens issus de cinq régions du territoire national ayant bénéficié d'un typage HLA (typage complet ou typage ciblé).

A l'unité d'immunologie **Hassiba Ben Bouali** du **CHU de Blida**, la prise en charge des examens immunologiques (Typage HLA, recherche et identification des allo anticorps anti HLA et cross match lymphocytaire) dans le cadre de la transplantation et dans le cadre de la recherche d'une association HLA et maladies, a débuté en **2006**.

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'exploration des résultats de la prise en charge immunologique des patients candidats à une greffe rénale entrant dans le cadre d'un donneur vivant apparenté ou cadavérique non apparenté et dans le cadre de la recherche d'une association HLA et maladies.

I-Caractéristiques démographiques de la population algérienne étudiée :

1-Service demandeur :

L'analyse des résultats de cette étude montre que la majorité de nos patients ont été adressés par le **CHU de Blida (26%)** parce que l'**unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali** fait partie du CHU de Blida, suivi par le **CHU Nafissa Hamoud (ex-Parnet) (9%)** et du **CHU Mohamed Nedir de Tizi Ouzou (7%)**, les autres patients, ont été adressés par d'autres structures hospitalières du pays à cause de l'absence du laboratoire pour le typage HLA à leurs niveaux.

2-Répartition de la population étudiée selon l'année de recrutement :

L'existence d'infrastructure au CHU de Blida comme celle de l'unité de l'immunologie, lieu de notre étude, nous a permis de recruter la plupart de nos sujets (**51%**) ainsi que d'autres rentrant dans le cadre de la collaboration inter CHU.

3-Régions d'origine :

La majorité de nos patients sont originaires du centre algérien étant donné la proximité du CHU de Blida, et de l'est algérien dans le cadre de la collaboration inter CHU.

II-Caractéristiques biologiques de la population algérienne étudiée :

1-Exploration du système HLA :

Suite au programme national de transplantation rénale dont le **CHU de Blida** fait partie, la majorité des patients adressés à notre niveau pour un typage HLA à la demande des médecins traitants sont des candidats pour la transplantation rénale d'un donneur vivant, lorsque cette dernière est envisagée comme solution thérapeutique.

2-Statut du couple receveur/donneur dans le cadre de transplantation rénale :

Au total, le laboratoire a réalisé des examens immunologiques sur **492** receveurs et **479** donneurs dans le cadre de transplantation, dont **43** receveurs en attente de greffe d'un donneur cadavérique, ce qui explique le nombre élevé des receveurs par rapport à celui des donneurs.

3-Lien de parenté entre receveur et donneur dans le cadre de la transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse :

Les donneurs de notre échantillon sont essentiellement des mères, car elles sont de manière générale plus affectueuses et douces, ont tendance à se porter volontaires au don.

4-Années de typage des sujets recrutés dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse :

Le nombre élevé des sujets explorés à notre niveau dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse durant la période **2007/2009** est expliqué par la collaboration inter hospitalière durant cette période.

5-Classe et locus HLA typés :

Le typage HLA se fait soit par une méthode sérologique (**LCT**), qui permet d'identifier les Ag exprimés à la surface des cellules, soit par une technique de biologie moléculaire qui permet l'identification des gènes HLA du patient. Au début, le laboratoire a utilisé la technique

Chapitre III : Discussion

sérologique pour le typage HLA de classe I en considérant la classe II presque identique en cas de compatibilité de la classe I (les loci A et B) entre le donneur et le receveur. Ceci explique la discordance dans le nombre des allèles explorés entre les deux classes.

Ensuite, la technique de biologie moléculaire a été lancée au niveau du laboratoire ce qui nous a permis d'identifier le locus HLA-C. Et par la suite, il y avait l'utilisation des 2 techniques pour le typage des 2 classes HLA, à l'exception du locus HLA-DP en raison d'absence des moyens.

La discordance dans le nombre des allèles explorés HLA-DR et DQ est expliquée par la présence des malades adressés au laboratoire pour un typage HLA ciblé (HLA et maladies).

6-Cross match :

Le cross match pré transplantation est pratiqué systématiquement pour détecter les différents allo-Ac anti donneur pouvant être présents chez le receveur. C'est le reflet du statut immunitaire sérologique du receveur vis-à-vis de l'organe greffé.

a) Cross match initial :

Dans notre série d'étude, **5,44 %** des patients qui ont bénéficié d'un test cross match initial ont présenté un résultat positif, dû à la présence des DSA dans leurs sérums. La greffe dans ce cas est contre indiquée.

Le test était négatif chez **92,47%** des patients, ce qui a permis la continuité du suivi immunologique chez eux.

b) Cross match final :

Parmi **92,47%** des patients ayant un CXM initial négatif, seul **38 %** ont fait un CXM final.

La positivité du résultat est observée chez **4,17%** des patients, laisse suggérer la pratique des transfusions, alors que la négativité de ce dernier est observée chez **94,64%** des patients ce qui autorise la greffe.

7-Les allo-Ac anti-HLA de classe I et II :

Les résultats de notre étude montrent que **11,59%** des receveurs ont développé des allo-Ac anti-HLA de classe I et **5,48%** de classe II et sont donc immunisés. Ce résultat n'est pas surprenant étant donné que ces patients suivis ont des antécédents d'immunisation (transfusion, grossesse, avortement, transplantation, rejet de greffe).

8-Nombre de greffés par année :

En Algérie, la première greffe rénale a été réalisée en **juin 1986** avec un rein de donneur vivant apparenté, mais les programmes ont été assez rapidement interrompus et n'ont repris que lentement dans les années **2000** sous l'impulsion de nouvelles directives ministérielles qui ont permis d'ériger trois centres de transplantation rénale: le **CHU d'Alger-centre** (Service de Réanimation Polyvalente), **la clinique Daksi de Constantine** (Etablissement Hospitalier Spécialisé en Uro-Néphrologie) et le **CHU de Blida** (Service de Chirurgie Générale).

La création de ces centres et l'existence d'un cadre de collaboration inter hospitalière afin de répondre au nombre croissant des demandes de greffe rénale, a permis de greffer un grand nombre de patients durant la période **2007/2009**.

La première greffe rénale en **Algérie** avec un rein d'un donneur cadavérique a été réalisée à Constantine en **2002**.

En **2010**, un typage HLA a été réalisé, pour la première fois, au niveau du **CHU de Blida**, par une équipe de spécialistes en immunologie dans le cadre d'une greffe rénale avec un rein d'un donneur cadavérique, avec la réalisation d'un cross match initial et d'une recherche des allo-anticorps anti-HLA. Pour le cross match final, il a été réalisé au niveau du **CHU de Mustapha Bacha**.

III-Étude du polymorphisme HLA chez la population algérienne étudiée :

1-Fréquences génotypiques des allèles HLA :

A-A l'échelle nationale :

Les examens immunologiques réalisés sur un ensemble de 1046 patients localisés sur les différentes régions du territoire algérien montrent une homogénéité des fréquences pour le système HLA, avec l'existence d'une certaine différence pour certains allèles.

Nos résultats concernant les allèles HLA-A représentés le tableau 21, montre que, l'allèle **HLA-A30** est moins fréquent chez les individus issus du Sahara par rapport aux autres régions du territoire national, par contre l'allèle **HLA-A68** est caractéristique de la région du Sahara.

Pour les allèles HLA-B représentés dans le tableau 22, l'allèle **HLA-B55** est retrouvé seulement chez les individus du centre et de l'est algérien, ce qui caractérise ces deux régions.

L'absence des allèles **HLA-C1, C5** (Tableau 23), au Sahara et leurs présences dans les autres régions avec des fréquences moyennement élevées, font de ces derniers un caractère spécifique de cette région.

La Kabylie est caractérisée par l'absence des allèles **HLA-DR9** et **DR10** et par la présence de l'allèle **HLA-DR19** contrairement aux autres régions.

B-A l'échelle internationale :

a) HLA-A :

Tableau 32 : Fréquences des allèles HLA-A.

	Notre étude	Autre étude algérienne [84]	Tunisie [85]	Maroc [86]	Mauritanie [87]	Mali [88]	Sénégal [89]	Venezuela [90]
A1	10,75	10	7,98	12,76	14,04	-	-	7,72
A2	16,99	17,95	16,76	19,39	18,42	7,81	12,2	23,25
A3	9,34	10,45	4,92	10,2	3,51	3,13	-	6,89
A24	8,18	-	7,18	8,16	2,63	-	-	15,95
A30	9,15	11,13	-	6,12	13,16	9,38	12,2	5,56
A36	0,3	-	-	0,51	0,88	3,13	-	0,62
A66	0,77	-	-	1,53	1,75	1,56	-	0,31
A69	0,68	-	1,99	-	0,88	-	-	0,31

Chapitre III : Discussion

Les allèles HLA-A les plus fréquemment rencontrés au sein de la population algérienne sont **HLA-A2** (16,99%), **A1** (10,75%), **A3** (9,34%) et **A24** (8,18%) ceci est comparable à ceux de la population marocaine et tunisienne pour les allèles **A1**, **A2**, **A3** et **A24**. Ainsi à la population mauritanienne pour les allèles **A1** et **A2** et **A30**. Suggérant des relations entre ces populations.

L'allèle **HLA-A36** (0,3%) est moins prévalent dans la population algérienne, alors qu'il est fréquent au Mali (3,13%).

b) HLA-B :

Tableau 33 : Fréquences des allèles HLA-B.

	Notre étude	Autre étude algérienne [84]	Tunisie [85,91]	Maroc [86]	Mauritanie [87]	Mali [88]	Sénégal [89]	Venezuela [90]
B7	6,78	8,63	4,79	6,12	13,46	1,92	5,3	3,18
B35	6,49	-	-	6,12	8,65	1,92	14,6	7,50
B44	8,33	10,22	11	6,63	6,73	-	3,1	3,56
B51	8,03	10,22	7,84	8,16	6,73	3,85	9,8	3,45
B72	0,68	-	-	0,51	-	-	-	-
B60	0,44	-	-	-	-	-	-	-
B55	0,34	-	1,46	-	-	-	0,6	0,54

Les allèles HLA-B les plus fréquents au sein de notre population sont **HLA-B7**, **B35**, **B44**, **B51**, ces résultats contrastent avec ceux obtenus pour les pays maghrébins (Maroc, Tunisie, Mauritanie) et qui peuvent être expliqués par la proximité géographique entre ces pays.

c) HLA-C :

Tableau 34 : Fréquences des allèles HLA-C.

	Notre étude	Autre étude algérienne [84]	Tunisie [91]	Mauritanie [87]	Sénégal [89]	Venezuela [90]
C4	9,39	11,51	11,68	0,88	5,3	16
C6	12,04	21,91	16,33	13,16	4,2	6
C7	26,94	15,16	18,14	20,18	18,3	19
C12	8,37	-	-	-	-	7
C14	1,83	-	-	1,75	1	0,5
C9	0,41	-	-	-	0,6	0,5
C10	0,2	-	-	-	1,7	-

Concernant les allèles HLA-C, les plus prévalents sont **HLA-C7** (26,94%), **C6** (12,04%), ces résultats sont en concordance avec la population tunisienne qui peut être expliqués par la distance géographique entre ces deux pays. Ainsi, pour l'allèle **HLA-C4** (9,39%) est plus rencontré chez la population algérienne par rapport à la population mauritanienne (0,88%).

d) HLA-DR :

Tableau 35 : Fréquences des allèles HLA-DR.

	Notre étude	Autre étude algérienne [92]	Tunisie [85]	Maroc [86]	Mauritanie [87]	Sénégal [89]	Venezuela [90]
DR3	16,31	23	15,56	13,78	24,3	18,3	7,44
DR4	17,2	14,5	14,47	15,82	4,3	8,7	21,49
DR9	0,71	-	0,66	0,51	0,54	3,1	1,86
DR11	11,55	-	11,43	6,12	13,98	35,4	10,12
DR12	0,71	-	0,4	0,51	0,54	-	1,03
DR15	11,79	-	4,38	7,65	4	3,1	10,12
DR19	0,09	-	-	-	-	-	-

Les allèles HLA-DR les plus fréquemment rencontrés au sein de la population algérienne sont **HLA-DR4**, **DR11** ceci est comparable à celles des populations marocaine et tunisienne. Ainsi nos résultats de la région Est algérien est similaire à ceux de la Tunisie à

Chapitre III : Discussion

l'exception de l'allèle **HLA-DR15** qui est moins fréquent chez eux, ce qui caractérise la population algérienne.

e) HLA-DQ :

Tableau 36 : Fréquences des allèles HLA-DQ.

	Notre étude	Autre étude algérienne [92]	Tunisie [85]	Maroc [86]	Mauritanie [87]	Venezuela [90]
DQ2	24,62	32,5	32,72	28,7	22,06	14,92
DQ3	29,70	33,5	32,85	27,8	36,03	41,88
DQ4	4,42	-	3,72	-	7,35	11,26
DQ6	21,80	-	18,21	20,6	16,18	18,85

D'après nos résultats, les allèles **HLA-DQ2**, **DQ3** et **DQ6** sont fréquents chez toutes les populations mentionnées dans le tableau ci-dessus.

L'allèle **HLA-DQ4** est moins fréquent en Algérie ainsi qu'en Tunisie et en Mauritanie avec des fréquences voisines, ce qui caractérise les pays du nord-africain.

2-Fréquences haplotypiques :

Dans cette partie, on n'a pas trouvé des études similaires en **Algérie** et en **Maroc** pour les haplotypes : **A/B, B/C**.

a) Haplotypes A/B :

Tableau 37 : Fréquences des haplotypes A/B.

Haplotypes	Notre étude	Tunisie [85]	Mauritanie [87]	Venezuela [90]	Syrie [93]
A1 B8	0,85	-	-	2,34	0,018
A2 B18	0,51	-	-	-	0,02
A2 B44	0,77	3,8	-	6,1	0,03
A2 B49	0,85	1,4	-	-	-
A2 B50	0,93	3,3	-	-	-
A2 B51	1,53	-	-	10,79	0,03
A2 B7	1,27	-	4,44	-	-
A23 B44	0,85	-	-	2,81	-
A24 B35	1,02	-	-	13,61	-
A3 B18	0,43	-	-	-	-
A3 B35	0,60	-	-	-	0,05
A3 B7	0,77	-	-	3,75	-
A30 B13	0,68	0,4	-	-	-
A30 B18	0,93	-	-	2,34	0,01
A30 B50	0,51	-	3,33	-	-
A33 B14	0,77	-	-	4,22	-
A34 B8	0,77	2	-	-	-
A68 B51	0,43	-	-	2,81	0,012

Les haplotypes **A/B** les plus fréquemment rencontrés dans notre étude sont représentés dans le tableau ci-dessus.

L'haplotype **A2/B7 (1,27%)** est le plus représentatif de notre population étudiée. Ce résultat est en accord avec celui observé à Mauritanie, suggérant une relation entre ces deux pays.

b) Haplotypes B/C :

Tableau 38 : Fréquences des haplotypes B/C.

Haplotypes	Notre étude	Tunisie [85]	Mauritanie [87]	Syrie [93]
B14 C8	0,77	0,037	-	-
B44 C5	0,34	0,041	-	-
B50 C6	0,34	1,12	-	-
B41 C17	0,34	0,02	-	-
B8 C7	0,43	0,047	2,22	0,08

Nos résultats concernant les haplotypes **B/C** représentés dans le tableau ci-dessus montrent une similarité avec ceux obtenus pour la population tunisienne.

c) Haplotypes DR/DQ :

Tableau 39 : Fréquences des haplotypes DR/DQ.

Haplotypes	Notre étude	Tunisie [85]	Mauritanie [87]	Maroc [86]
DR3 DQ2	3,98	16,6	11,19	8,5
DR4 DQ2	0,51	0,6	-	4,2
DR4 DQ3	3,48	4,4	1,49	7,7
DR7 DQ2	2,97	14,8	4,48	5,08
DR8 DQ7	0,68	-	-	-
DR11DQ3	2,04	-	5,22	4,1
DR13DQ3	0,68	-	8,21	-
DR13DQ6	1,53	-	11,94	-
DR15DQ6	3,14	7,8	-	6,9
DR16DQ5	0,85	-	-	-

Les résultats des haplotypes **DR/DQ** représentés dans le tableau ci-dessus montrent une similarité concernant les deux haplotypes **DR4/DQ2** et **DR4/DQ3** pour la population algérienne et tunisienne.

d) Haplotypes A/B/DR :

Tableau 40 : Fréquences des haplotypes A/B/DR.

Haplotypes	Notre étude	Tunisie [85]	Maroc [86]	Yémen [96]
A1 B51 DR51	0,34	-	-	-
A23 B49 DR11 DR52	0,34	-	-	-
A33 B14 DR1	0,51	0,48	0,43	0,04
A33 B65 DR52	0,59	-	-	-

L'haplotype **A33 B14 DR1** est retrouvé chez les populations méditerranéennes avec des fréquences voisines.

e) Haplotypes A/B/DR/DQ:

Tableau 41 : Fréquences des haplotypes A/B/DR/DQ.

Haplotypes	Notre étude	Tunisie [85]	Maroc [86]	Italie [94]	Turquie [94]
A2 B41 DR4 DQ2	0,34	-	-	-	-
A2 B50 DR7 DQ2	0,43	2,2	2	0,5	13

L'haplotype **A2 B50 DR7 DQ2** est rencontré chez la population algérienne et italienne avec des fréquences proches. Laisse suggérer une relation historique (migration) entre les deux populations.



CONCLUSION

Conclusion :

Nous avons mené cette étude dans le but d'explorer les résultats du typage HLA des patients candidats à la transplantation rénale et en les comparant avec d'autres études similaires.

L'analyse de nos résultats montre parfois des discordances des nombres des allèles HLA obtenus, ces discordances peuvent être la cause indirecte du manque des informations récoltées par difficulté d'accès aux données.

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

Notre étude a montré que les allèles les plus fréquents sont : HLA-A2, HLA-B4, HLA-C7, HLA-DR β 1*04 et HLA-DQ3. Et concernant les haplotypes les plus fréquents, on a : A2/B51, A33/B65/DR52, A2/B41/DR4/DQ2, B14/C8/DR1 et DR13/DQ6.

Il sera utile de :

- Compléter notre travail, par des typages HLA de haute résolution pour une meilleure définition des allèles ainsi que des haplotypes les plus fréquemment rencontrés dans notre série.
- Créer de forts liens de collaboration entre les professionnels de santé principalement de service de néphrologie et le laboratoire d'histocompatibilité.
- Etablir une bonne communication entre les différents centres nationaux de transplantation.

Dans notre population étudiée, parmi 492 patients receveurs typés dans le cadre de transplantation rénale et greffe de la moelle osseuse, seul 140 patients ont bénéficié de la greffe. Ce nombre réduit des patients greffés peut être expliqué par :

- L'incompatibilité HLA du couple receveur/ donneur.
- Désistement des donneurs.
- Le non-retour de l'information et l'absence de la collaboration inter CHU.

خاتمة:

أجرينا هذه الدراسة للبحث عن نتائج التنميط النسيجي لنظام HLA لمرضى زرع الكلى ومقارنتها مع دراسات أخرى مماثلة.

من خلال تحليل نتائجنا يظهر لنا وجود تناقض في بعض الأحيان في عدد أليلات HLA التي تم الحصول عليها، ويكمن هذا التناقض في نقص المعلومات التي تم جمعها بسبب صعوبة الوصول إلى البيانات. يوضح عملنا أيضاً أن نتائجنا مماثلة لدراسات أخرى أجريت سابقاً، مما يعزز فكرة التجانس الموجودة بين سكان المغرب العربي والتي تشمل سكاننا الجزائريين.

أظهرت دراستنا أن الأليلات الأكثر شيوعاً هي: HLA-A2، HLA-B4، HLA-C7، HLA-DRβ1 * 04 و HLA-DQ3. وفيما يتعلق بالأنماط الفردية الأكثر شيوعاً، لدينا: A2 / B51، A33 / B65 / DR52، A2 / B41 / DR4 / DQ2 و B14 / C8 / DR1 و DR13 / DQ6. سيكون من المفيد:

- إتمام عملنا باستخدام تنميط نسيجي لنظام HLA عالية الدقة للحصول على تعريف أفضل للأليلات بالإضافة إلى الأنواع الفردية الأكثر شيوعاً في دراستنا.
- إنشاء روابط تعاونية قوية بين عمال الصحة في مصلحة أمراض الكلى بشكل رئيسي ومختبر التوافق النسيجي.
- إقامة اتصالات مع مختلف مراكز زرع الأعضاء الوطنية.

كما وضحت دراستنا أنه من بين 492 مريض الذين قاموا بتحديد التنميط النسيجي لنظام HLA والمسجلين في إطار زرع الكلى أو زرع نخاع العظام، قام 140 مريض فقط بإجراء عملية الزرع. يمكن تفسير هذا العدد المنخفض من المرضى من خلال:

- عدم توافق HLA بين المتلقي والمانح
- تراجع المثبرع
- غياب التعاون بين وحدات الصحة.

BIBLIOGRAPHIE :

- [1] Immunologie : J.F.B, L.C. 6eme édition 2012.
- [2] Revue Française des Laboratoires, mars 2002, No 341.
- [3] Wikipédia. (2016). Transplantation rénale. En ligne.
https://fr.wikipedia.org/wiki/Transplantation_rénale, (consulté le 20.03.2016).
- [4] Kolopp-Sandra M-N., Malcus C., Kohler C. Immunologie de la transplantation : rejets et infections en transplantation d'organes solides. Rev Franco Labo2008; 403:23-30.
- [5] Complete sequence and gene map of a human major complex. 1999. The MHC sequencing consortium. *Nature* 401: 921-923.
- [6] Chatenoud, L. and J.-F. o. Bach (2012). Immunologie - 6e édition, Lavoisier
- Brown, J. L. and A. Eklund (1994). "Kin Recognition and the Major
- [7] Histocompatibility Complex - an Integrative Review." *American Naturalist* 143(3): 435-461.
- [8] J. Klein, "George Snell's first foray into the unexplored territory of the major histocompatibility complex" *Genetics*, vol. 159, no. 2, pp. 435–439, 2001.
- [9] E. D. Carosella, "From MAC to HLA" *Hum. Immunol.*, vol. 70, no. 9, pp. 661–662, Sep. 2009.
- [10] Terasaki PI, McClelland JD, Microdroplet assay of humman serum cytotoxique *Nature* 1964 ;204 :998-1000.
- [11] Clombani J, HLA : Fonction immunitaire et application médicale, 1993.
- [12] McDevitt H. Evolution of MHC class II allelic diversity. *Immunol Rev* 1995; 143:113-22.
- [13] Beck, S., Geraghty, D., et al., «Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex, » *Nature*, vol. 401, 16756, pp. 921-923, 1999.
- [14] Simon A. Forbes, et Trowsdale J., «The MHC quarterly report, » *Immunogenetics*, vol. 50, 13, p. 152–159, 1999.
- [15] Pichon, L., Giffon, T., Chauvel, B., et al., « La région HLA de classe I : une organisation compliquée par la présence de nombreuses familles multigéniques » *Médecine sciences*, vol. 12, 111, pp. 1209-1218, 1996.
- [16] Campbell RD, et Trowsdale J., «Map of the human MHC., » *Immunology Today*, vol. 14, 17, pp. 349-352, 1993.

- [17] L. Pichon, T. Giffon, B. Chauvel, J.-Y. Le Gall, and V. David, “La région HLA de classe I du CMH : une des régions les plus complexes du génome humain ” 1996.
- [18] Benhalima, Thèse de doctorat : implication de système HLA dans la transplantation rénale à partir d'un donneur vivant apparenté, 2005.
- [19] Abul K. Abbas, et Andrew H. Lichtman., les bases de l'immunologie fondamentale et clinique ;2013.
- [20] Labalette M., Bahram S., Béné M-C. Le complexe majeur d'histocompatibilité humain (HLA). Polymorphisme et présentation des antigènes aux lymphocytes T [Internet]. [cited 2017 Aug 17]; Available from:
http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-4.-complexe-majeur_d0027histocompatibilite.pdf
- [21] Thomas J. Kindt, Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne, Immunologie : Le cours de Janis Kuby avec questions de révision., Dunod., 2008.
- [22] Eric Espinosa, et Pascal Chillet., Immunologie, ELLIPSES, 2010
- [23] Bjorkman P.J, Saper M.A, Samraoui B, Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA A2. J Immunol 174 (1) : 6-19 ; 2005.
- [24] Eric Espinosa, et Pascal Chillet., Immunologie, ELLIPSES, 2010.
- [25] Immunologie 6ème édition, Chatenoud Bach,2012.
- [26] Claude Ronsin, Ivry Surseine. Le système HLA : intérêt en clinique. www.corata.org
- [27] Traherne Ja. Human MHC architecture and evolution: implications for disease association studies. Int J Immunogenet. 2008 Jun;35(3):179-92.
- [28] Van Oosterhout C. A new theory of MHC evolution: beyond selection on the immune genes. Proc Biol Sci. 2009 Feb 22;276(1657):657-65.
- [29] Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JH, Flicek P, Parham P, Marsh SGE, «The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases» Nucleic Acids Research 43: D423-431, 2015. [En ligne]. Available : <http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>.
- [30] Le complexe majeur d'histocompatibilité humain (HLA). Myriam Labalette, Siamak Bahram, Marie Christine Béné. Page 3.
- [31] Immunologie 6ème édition, Chatenoud, Bach page 98.

- [32] Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JH, Flicek P, Parham P, Marsh SGE, [En ligne]. Available: <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>.
- [33] Bjorkman P., Saper M., Samraoui B., Bennett W.S., Strominger J.L., Wiley D.C. 1987. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. Nature 329: 506-512.
- [34] Garboczi D.N., Ghosh P., Utz U., Fan Q.R., Biddison W.E., Wiley D.C. 1996. Structure of the complex between human T-cell receptor, viral peptide and HLA-A2. Nature 384 : 134-141. https://www.jle.com/fr/revues/met/edocs/genetique_du_systeme_hla_180249/article.phtml?tab=texte
- [35] Brick C., Atouf O., Bennani N., Benseffaj N., Oudghiri S., Essakalli M. Aspects immunologiques de la transplantation rénale. Maroc Med 2008 ; 30 :108-14.
- [36] Laurent degos. Lexique Immunologie médecine/sciences 1987 ; vol 3 : page 616.
- [37] Brick C., Atouf O., Benseffaj N., Sbaïne K., El Aboudi I., Lachguer N., et coll. Expérience de l'unité d'histocompatibilité du CHU Ibn Sina de Rabat. Ann Biol Clin 2010 ; 2 :1-6.
- [38] HLA, le complexe majeur de présentation d'histocompatibilité humaine, de Jaques Colombani, page 50.
- [39] Immunologie 4^{ème} édition, Jean-Pierre Revillard, page 48.
- [40] L. Chatenoud et JF. Bach., « Immunologie » 5^{ème} édition, Médecine-Sciences Flammarion, 2008.
- [41] Laurent Degos. Lexique Immunologie médecine/sciences 1987 ; vol 3 : page 616.
- [42] Bignon J.D. Contribution à l'étude du polymorphisme des gènes HLA de classe II en biologie moléculaire. (Thèse), université de Nantes, 1-230, 1992.
- [43] Jan Klein and Akie Sato. L'organisation chromosomique du CMH, N. Engl. J. Med. 343 : 702-9 ; 2000.
- [44] Bignon J.D, Chéneau M.L, Herry P, Bonneville F, Cesbron A, Muller J.Y. Strong linkage disequilibrium of HLA DPw 11 with the HLA B44-DR7- DQw2 extended haplotype. Tissue Antigens 39 : 35-7 ; 1992.

- [46] Le complexe majeur d'histocompatibilité humain (HLA). Myriam Labalette, Siamak Bahram, Marie Christine Béné. Page 3.
- [47] D'après <http://hla.alleles.org/>.
- [48] Lanier LL. Activating and inhibitory NK cell receptors. *Adv Exp Med Biol.* 1998.
- [49] L. Klein, B. Kyewski, P. M. Allen, and K. A. Hogquist, "Positive and negative selection of the T cell repertoire: what thymocytes see (and don't see)" *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 14, no. 6, pp. 377–391, May 2014.
- [50] Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, et Shiv Pillai, *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*, Elsevier Masson, 2013.
- [51] Abul K. Abbas, et Andrew H. Lichtman., *les bases de l'immunologie fondamentale et clinique.*, Elsevier Masson., 2008.
- [52] Gould D.S., Auchincloss H Jr, Direct and indirect recognition: the role of MHC antigens in graft rejection, *Immunol Today* 20 (1999) 77-82.
- [53] Opelz G., Wujciak T., Dohler B., Sherer S., Mytilineos J., HLA compatibility and organ transplant survival, *Rev. Immunogenet.* 1 (1999) 334-342.
- [54] Wikipédia. (2016). Transplantation rénale. En ligne https://fr.wikipedia.org/wiki/Transplantation_rénale, (consulté le 20.03.2016).
- [55] Trolinger M. Kidney Transplant for the Twenty-First Century. *Phys Assis Clin* 2016; 1:205-220.
- [56] Karam G., Maillet F., Braud G., Battisti S., Hétet J-F., Glémain P., et coll. Complications chirurgicales de la transplantation rénale. *Ann Urol* 2007 ; 41 :261-275.
- [57] Boly A., Trabelsi M., Ramdani B., Bayahia R., Gharbi M., Boucher S., et coll. Estimation des besoins en greffe rénale au Maroc. *Nephro Therap* 2014 ; 10 :512-517.
- [58] Kessler M. Une approche intégrée de la suppléance rénale. *Nephro Therap* 2007; 3 : 222-226.
- [59] Kessler M. Améliorer l'adhésion au traitement en transplantation rénale : un enjeu majeur. *Nephro Therap* 2014; 10:145-150.
- [60] Mamzer-Bruneel M-F., Grand Laforêt E., Kreis H., Thervet É., Martinez F., Snanoudj R., et coll. Aspects éthiques de la transplantation rénale (donneurs et receveurs) 2012 ; 8:547-556.
- [61] Squifflet J-P. Informations complémentaires concernant le prélèvement sur donneurs à coeur arrêté dans le cadre de la greffe rénale. *Nephro Therap* 2008 ; 4:1-4.

- [62] Raoundi O., Flayou K., En N.F., Shimi N., Ouzeddoune N., Benamar L., et coll. Transplantation rénale à partir de donneurs vivants : expérience d'un centre. *Nephro Therap* 2015; 11:416.
- [63] Sasazuki T., Juji T., Morishima Y., Kinukawa N., Kashiwabara H., Inoko H., Yoshida T., Kimura A., Akaza T., Kamikawaji N., Kodera Y., Takaku E, Effects of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor, *N. Engl. J. Med.* 339 (1998) 1177-1185.
- [64] M. D. Carvalho, C. Baron, G. Blancho, M. Labalette, H. Moins, G. Sterkers, and P. Tiberghien, "Mécanismes de l'alloréactivité, des rejets de greffe et de la réaction du greffon contre l'hôte".
- [65] Kolopp-Sandra M-N., Malcus C., Kohler C. Immunologie de la transplantation : rejets et infections en transplantation d'organes solides. *Rev Franco Labo* 2008; 403:23-30.
- [66] Hazzan M., Glowacki F., Lionet A., Provot F., Noël C. Stratégies immunosuppressives et dysfonction chronique du greffon en transplantation rénale. *NephroTherap* 2008; 4:S208:S213.
- [67] Rabant M., Bruneval P., Duong Van Huyan J-P. Anatomopathologie du rejet de greffe humoral en transplantation rénale et cardiaque. *Rev Franc Lab* 2014; 458:41-49.
- [68] Legendre C., Loupy A., Rabant M., Aubert O., Rabaté C., Delville M., et coll. Aspects actuels des rejets aigus humoraux. *Nephro Therap* 2014; 10:479-483.
- [69] Lebranchu Y., (1999). Transplantation d'organe : aspects immunologiques. En ligne <http://www.fmp-usmba.ac.ma/umvf/UMVFMiroir/campus-numeriques/campusimmunologie/www.assim.refer.org/reja.htm>, (consulté le 21.03.2016).
- [70] Flavel R.A., Hailer D.A. (Eds), Autoimmunity, *Curr. Opin. Immunol.* 11 (1999) 635-707.
- [71] Thorsby E., Invited anniversary review: HLA associated diseases, *Hum. Immunol.* 53 (1997) 1-11.
- [72] Tiwari J.L., Terasaki P.I., HLA and disease associations, New York, Springer-Verlag, 1985.
- [73] Hors J., HLA et maladies, un anniversaire, *Presse M6d.* 26 (1997) 1300-1302.
- [74] Rouas-Freiss N., Marchal R.E., Kirszenbaum M, Dausset J., Carosella E.D, the c~1 domain of HLAG1 and HLA-G2 inhibits cytotoxicity induced by natural killer cell inhibitory receptors, *Proc. Nat. Acad. Sc. USA* 94 (1997) 5249-5254.
- [75] Khalil I., D'Auriol L., Godet M., Morin L., Lepage V., Deschamp I., Park M.S., Degos L., Galibert E, Hors J., A combinaison of HLA-DQI3Asp57-negative and HLA-DQ (z a Arg 52

confer susceptibility to insulin- dependant diabetes mellitus, *J. Olin. Invest.* 58 (1990) 1315-1319.

[76] Todd J.A., Bell J.L., Mc Devitt H.O., HLA-DQ gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependant diabetes mellitus, *Nature* 329 (1987) 599-604.

[77] Sebzda E., Mariathasan S, Ohteki T., Jones R., Bachmann M.E, Ohashi ES., Selection of the T cell repertoire, *Annu. Rev. Immunol.* 17 (1999) 829-834.

[78] Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zbl Bakt* 1900;27:357–62.

[79] Dausset J. Iso-leuko-antibodies. *Acta Haemat* 1958;20(1–4): 156–66.

[80] Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable minisatellite regions in human DNA. *Nature* 1985;316:76–9.

[81] Claude Masset. In: *Dictionnaire d'anthropobiologie*. Charles Suzanne & Caroline Polet L'Homme 179 ; 2006. p. 237-8.

[82] Boetsch G, Sevin A. Problèmes méthodologiques de reconstitution généalogique des populations ouvertes. *Bull Mem SocAnthropol Paris* 1988;5(1–2):71—82.

[83] Vartdal F, Gaudernack G, Funderud S, Bratlie A, Lea T, Ugelstad J, et al. HLA class I and II typing using cells positively selected from blood by immunomagnetic isolation — a fast and reliable technique. *Tissue Antigens* 1986 ;28 :301—12.

[84] Terasaki Pi, Mac Clelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 1964 ;204 :998—1000.

[85] ADEME. Jean-Michel Monier et Sébastien Cécillon. 2015. Les outils de biologie moléculaire et leur utilisation dans le domaine de la gestion des sites pollués – Synthèse. 39 pages.

[86] Amroun H. Mecabih F., Bensalah N., Yourmouche H., Babaci K, Attal N., Abbadi M.C. « Fréquences alléliques et haplotypiques HLA-A-A, -B et -Cw dans la population algérienne », 2010.

[87] PLOS ONE | DOI : 10.1371/journal.pone.0136909 August 28, 2015.

[88] « Revue générale Le système HLA dans la population marocaine, The HLA system in the Moroccan population : General review », C. Bricka, O. Atoufa, M. Essakallia, b Transfusion

Clinique et Biologique 22 (2015) 299–311.

[89] Hamed et al. BMC Medical Genetics (2018) 19:2 mauritanie.

[90] S. Manor et al./Human Immunology xxx (2016) xxx–xxxS. Manor et al., High-resolution HLA A_B_DRB1 haplotype frequencies from the Ezer Mizion Bone Marrow Donor Registry, Hum Immunol 2016.

[91] Variabilité génétique du système HLA après stimulation par des épitopes du VIH-1. SEYDOU GAOH Hadiza, Juillet 2006, 17-18.

[92] Facteurs génétiques (HLA) liés au paludisme, SAGNA Sadio, 43-48, 2002.

[93] Ann Biol Clin 2012 ; 70 (2) : 175-81.

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

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

[96] Ikhtiar et al. BMC Res Notes (2018) 11 :324 <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3427-1>.

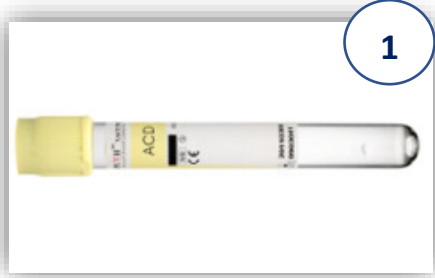
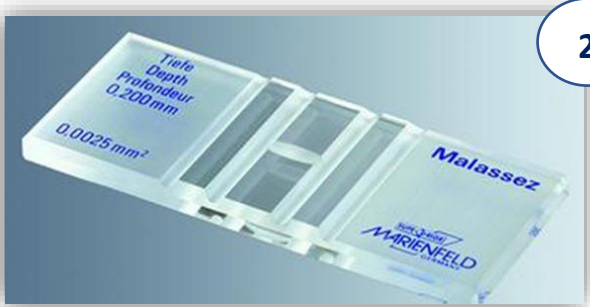


ANNEXE






Annexe 1 : Le nombre d'allèles nommés pour chaque gène (en juin 2017). [32]






HLA classe I						
Gènes	A	B	C	E	F	G
Allèles	3968	4828	3579	26	25	56
Protéines	2781	3501	2490	8	5	18





HLA Classe II												
Gène	DRA	DRB	DQA1	DQB1	DPA1	DPA2	DPB1	DPB2	DMA	DMB	DOA	DOB
Allèles	7	2376	94	1142	53	5	894	6	7	13	12	13
Protéines	2	1739	35	774	24	0	641	0	4	7	3	5


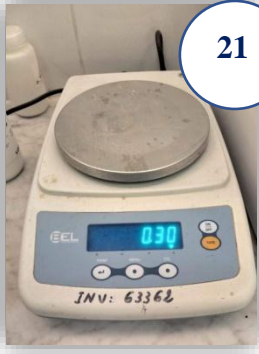
Annexe 2 : Matériel non biologiques utilisé au laboratoire.

Instruments	
Type	Photos
Tube ACD	 1
Cellule Malassez	 2
Tube à fond conique en Plastique	 3
 Tubes secs sur portoir de Tubes	 4

<p>Eppendorf</p>	 <p>5</p>
<p>Seringue de Hamilton</p>	 <p>6</p>
<p>Multi seringue de Hamilton</p>	 <p>7</p>
<p>Micropipette 50 µl</p>	 <p>8</p>
<p>Micropipette 100 µl</p>	 <p>9</p>

<p>Micropipette 200 µl</p>	 <p>10</p>
<p>Micropipette 500 µl</p>	 <p>11</p>
<p>Multicanaux</p>	 <p>12</p>
<p>Embouts</p>	 <p>13</p>
<p>Distributeur eppendorf</p>	 <p>14</p>

Apparillages	
Type	Photo
<p>Centrifugeuse « Thermo ELECTRON CORPORATION »</p>	 <p>15</p>
<p>Microscope optique « KROSS »</p>	 <p>16</p>
<p>Portoir aimanté « UCAUTION »</p>	 <p>17</p>
<p>Minuteur</p>	 <p>18</p>

<p>Microscope à fluorescence</p>	 <p>19</p>
<p>Vortex</p>	 <p>20</p>
<p>La balance</p>	 <p>21</p>
<p>Thermoblock « FALC »</p>	 <p>22</p>

**Micro-centrifugeuse
Eppendorf « centrifugeuse
5417C »**



BIOROBOT EZ



Gel Doc™ XR+ « BIO RAD »



**Thermocycleur « Gene Amp*
PCR system 9700 »**

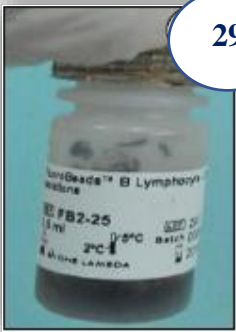

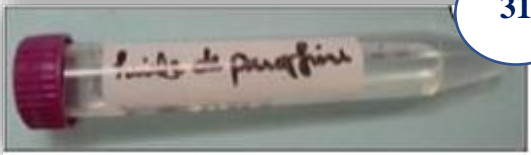



**Micro Gel System box et
Générateur de tension 300V**




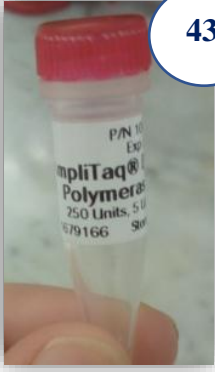

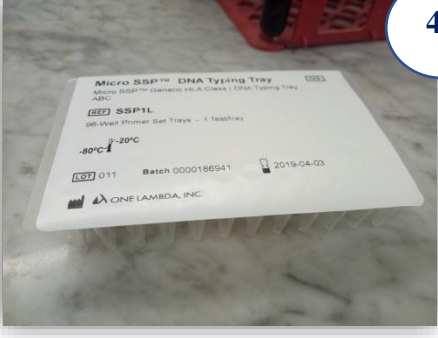
Micro-onde




Réactifs	
Type	Photo
Billes immunomagnétiques « FluoroBeads B »	
Fluoroquenche™	
Huile de paraffine	
Plaque de Terasaki	

<p>Complément du lapin</p>	
<p>QIAGEN® Protease du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit</p>	
<p>QIAGEN® Protease Solvent du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit</p>	
<p>Tampon de QIAGEN du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit</p>	

<p>Colonne du KIT QI Aamp®DNA Blood Mini Kit</p>	
<p>Ethanol 90°</p>	
<p>Cartouche des reactifs du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1</p>	
<p>Tube d'échantillon du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1</p>	
<p>Support du cône jetable contenant le cône muni à filtre jetable du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1</p>	

<p>Tube d'élution du kit QIAGEN BIOROBOT EZ1</p>	
<p>Taq polymérase</p>	
<p>D-MIX</p>	
<p>Micro SSP™DNA typing Trays</p>	

<p>L'agarose: Sea Kem LE Agarose</p>	<p>46</p> 
<p>Tri Borate EDTA Buffer</p>	<p>47</p> 
<p>Solution de Bromure d'éthidium</p>	<p>48</p> 
<p>Size Marker SSP-SM : marqueur de taille</p>	<p>49</p> 

Moyens de protection	
Type	Photo
Gants de protection	

Annexe 3 : Dossier du patient (fiche de renseignements, fiche de typage HLA, fiche de cross match).

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
Unité Hassiba Benbouali
Unité d'immunologie- HLA-

Identifiant: _____ Blida le : _____

RECEVEUR

Nom: _____

Prénom: _____

Age: _____

Etablissement hospitalier: _____

Service : _____

Médecin traitant: _____

Groupage sanguin : _____

DONNEUR

Nom: _____

Prénom: _____

Age: _____

Groupage sanguin : _____

Lien de parenté: _____

Fiche de renseignements

N° de dossier :

CHU DE BLIDA
UNITE HASSIBA BENBOUALI
Laboratoire de biologie – Unité d'immunologie –
N° de tel : 025 41.18.95/96 Postes : 221/220

Pr A.MEGHIAOUI (Chef d'unité)
Dr Y. BOUCHDOUB
Dr M.L. BOUDJELLA

Fiche de renseignements – Unité de greffe –
(Donneur/Receveur)

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

RECEVEUR :

NOM : PRENOM :

Date et lieu de naissance: à

Adresse :

Origine : N° de tel :

Centre de dialyse : Médecin traitant :

Antécédents familiaux :

Antécédents personnels :

Etiologie de l'insuffisance rénale :

Date de la 1^{ère} dialyse :

Vaccination :

Hépatite

Diphtérie

Tétanos

Rougeole

Polio

Evénements immunisants :

1) Transfusions : Oui Non

Si oui :

Spécifique : Oui Non

Nombre :

Date : 1^{ère} transfusion :

2^{ème} transfusion :

3^{ème} transfusion :

4^{ème} transfusion :

Plus :

2) Grossesses : Oui Non

Si oui :

Nombre :

Date : 1^{ère} grossesse :

2^{ème} grossesse :

3^{ème} grossesse :

4^{ème} grossesse :

Plus :

3) Transplantation ultérieure : Oui Non

Bilan du receveur :

1) Groupe sanguin : Rhésus D: Phénotype :

2) Sérologie :

HBs : Pos Nég HBc : Pos Nég

HBe : Pos Nég CMV : Pos Nég

EBV : Pos Nég HIV : Pos Nég

HTLV : Pos Nég Herpes : Pos Nég

Syphilis : Pos Nég Toxoplasmose : Pos Nég

Bilan demandé :

- Typage HLA

- Recherche d'anticorps anti-HLA

- Cross Match

- Autres :

DONNEUR :

Vivant

Cadavérique

NOM : PRENOM :

Date et lieu de naissance: à

Adresse :

Origine : N° de tel :

Antécédents familiaux :

.....
.....

Antécédents personnels :

.....
.....

Lien de parenté avec le receveur:

.....

Bilan du donneur :

1) Groupe sanguin : Rhésus D: Phénotype :

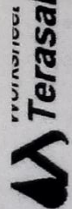
2) Sérologie :

HBs : Pos Nég HBc : Pos Nég

HBe : Pos Nég CMV : Pos Nég

EBV : Pos Nég HIV : Pos Nég

HTLV : Pos Nég



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

AB72D

Catalogue#

Name _____ Center/Institution _____

Sample I.D. _____ Complement Lot# _____ C' Exp. Date _____

Disease _____ Relationship to patient _____ ABO/IRH _____ Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

Race _____ Birth Date _____

Patient Male
 Donor Female

Phenotype Assignment

PBL Fresh Spleen Other
 PBL Frozen Lymph Node

Test Method _____ Room Temp _____

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6F	6E	6D	6C	6B	6A				
Reaction																																								
Specificity																																								
Serum I.D.	NS	AL3	X7993	Z1797	X6736	Z1169	Z5182	Z1199	X7216	Z3832	X7097	X7853	Z1231	X7498	X8902	Z1152	Z0885	X8899	Z1211	X7406	X9852	Z2081	X2370	X6312	X8461	X8375	Z1573	Z2352	Z1444	Z1434	Z6194	Z2319	Z1151	Z1789	X9544	Z2328				
Reaction	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	
Specificity																																								
Serum I.D.	X8301	Z3009	Z3015	Z1192	X8617	Z0733	X8770	Z1171	Z7343	Z1907	Z1210	Z5380	Z0987	X5312	X7780	Z0746	X7005	X8637	Z5424	Z1223	Z2322	X9027	X1213	Z1207	Z6643	Z5504	Z3482	X7408	X1282	Z1934	Z1574	Z3047	X7014	X7023	Z4748	W6654				

HLA Broad Specificities and Their Spills

A2	A203R, A210R	A8001	A80
A9	A23, A24, A2403R	B15	B62, B63, B75, B76, B77, B1508, B1511
A10	A25, A26, A34, A6601, A6602	B16	B38, B39
A19	A28, A30, A31, A32, A33, A74	B17	B57, B58
A28	A68, A69	B21	B49, B50, B4005R
B5	B51, B52, B5102R, B5103R	B22	B54, B55, B56
B7	B703R, B705R	B22N	B5603R
B12	B44, B45	B40	B60, B61
B14	B64, B65	B70	B71, B72
B14	B76R	B70	B51, B63
5Y	B76R	B81	BDT
		B1524	B5102, B77
		B1304	B51, B63
		B3905	B54, B67
		B39	B50, B65
		B35	B44, B75
		B32	B46, B75
		B2708	B45, B72
		B18	B45, B72
		B1511	B42, B60, B71
		B1508	B41, B5603, B703
		B27	B5103
		B27	B52
		B37	B52
		B34	B53
		B44	B57
		B47	B58
		B49	B69
		B1524	B5102, B77

Bw4
B5103

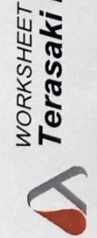
Bw6
B703

Please refer to product insert for testing conditions

Test Performed by _____ Date _____

Read by _____ Date _____

(Bw58) 5Y B76R



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

Catalogue# **DR72D**

Name _____ Center/Institution _____

Sample I.D. _____ Race _____ Birthdate _____

Disease _____ Relationship to patient _____ ABO/RH _____

Room Temp _____

Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

PHENOTYPE ASSIGNMENT

- Lymphocyte Source:
- PBL Fresh
 - PBL Frozen
 - Spleen
 - Lymph Node
 - Other

Tray Position	7A	7B	7C	7D	7E	7F	7G	7H	7I	7J	7K	7L	7M	7N	7O	7P	7Q	7R	8A	8B	8C	8D	8E	8F	8G	8H	8I	8J	8K	8L	8M	8N	8O	8P	8Q	8R	9A	9B	9C	9D	9E	9F	9G	9H	9I	9J	9K	9L	9M	9N	9O	9P	9Q	9R	10A	10B	10C	10D	10E	10F	10G	10H	10I	10J	10K	10L	10M	10N	10O	10P	10Q	10R	11A	11B	11C	11D	11E	11F	11G	11H	11I	11J	11K	11L	11M	11N	11O	11P	11Q	11R	12A	12B	12C	12D	12E	12F	12G	12H	12I	12J	12K	12L	12M	12N	12O	12P	12Q	12R
REACTION																																																																																																												
SPECIFICITY																																																																																																												
Serum I.D.	KURT																																																																																																											

PREDICTED DR 13 AND 14 EPITOPES
 13A 1301, 1302, 1304
 13B 1301, 1302
 13C 1301, 1302, 1305
 14A 1401, 1404, 1405, 1407, 1408, 1410, 1411
 14B 1402, 1403, 1406, 1409
 14C 1401, 1404, 1407
 14D 1401, 1402, 1404, 1405, 1406, 1410, 1411
 14E 1401, 1402, 1404, 1405, 1410, 1411
 14G 1401, 1404, 1405, 1407, 1410, 1411

COMMON DR1Q ASSOCIATIONS
 DR4, DR8, DR17
 DR1, DR10, DR14, DR16, DR103
 DR13, DR15
 DR4, DR11, DR12
 DR7, DR9
 DR15, DR16, DR17*
 DR3, DR11, DR12, DR13, DR14, DR1403, DR1404
 DR4, DR7, DR9
 * Rarely observed haplotype

RECONSTITUTION INSTRUCTIONS
 Reconstitute each well with 1 µl sterile water followed by 5 l mineral oil.
NEW 1-HOUR TESTING CONDITIONS
 1. Add 1 µl B lymphocytes (approximately 2,000 cells) to each well.
 2. Immediately add 1ul of reconstituted complement to each well.
 3. Incubate for one hour at 22 - 25 C.
 4. Add 5 µl eosin.
 5. Wait two minutes, then add 5 µl of formalin.
 * FOAOIEB or 10 µl of Stain-Fixru may be substituted.

ONE LAMBDA, INC. 21001 KITTRIDGE ST., CANOGA PARK, CA 91303-2801 TEL: (818) 702-0042 FAX: (818) 702-6904 Rev. 1

Test Performed by	Date
Read by	Date
Reviewed by	Date

Fiche de résultats de Cross Match

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
LABORATOIRE DE BIOLOGIE
Unité Hospitalo-Universitaire d'Immunologie

Blida, le :

Résultats Cross Match Final : CXMF

Receveur :

Donneur :

Nom :

Nom :

Prénom :

Prénom :

Technique de microlymphocytotoxicité

Date des sérums

Résultat

— : →
— : →
— : →
— : →
— : →
— : →

Le chef d'unité

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
LABORATOIRE DE BIOLOGIE
Unité Hospitalo-Universitaire d'Immunologie

Blida, le :

Résultats Cross Match Final : CXMF

Receveur :

Donneur :

Nom :

Nom :

Prénom :

Prénom :

Technique de microlymphocytotoxicité

Date des sérums

Résultat

— : →
— : →
— : →
— : →
— : →
— : →

Le chef d'unité

Annexe 4 : Taille et densité des cellules sanguines.

	Taille (µm)	Densité (la masse volumique)	Vitesse de sédimentation
Globules rouges ●	7 (6.5-7.5)	1.098 (1.089-1.105)	
Eosinophiles	12 (12-15)	1.091 (1.087-1.096)	
Neutrophiles ●	12 (12-15)	1.088 (1.082-1.097)	
Basophiles	9.5 (9-10)	1.078 (1.074-1.082)	
Monocytes ○	15 (15-20)	1.071 (1.065-1.075)	
Lymphocytes ○	9 (8-10)	1.063 (1.057-1.067)	
Plaquettes	2-3	1.040	

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



1-Dilution



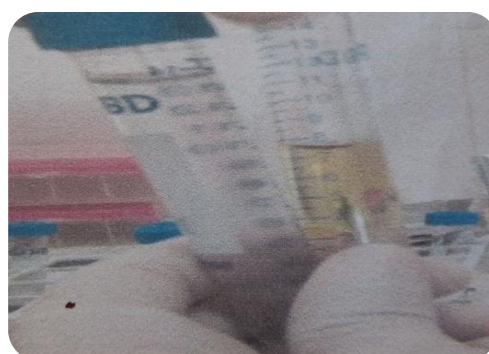
2-Dépôt de sang



3-Centrifugation

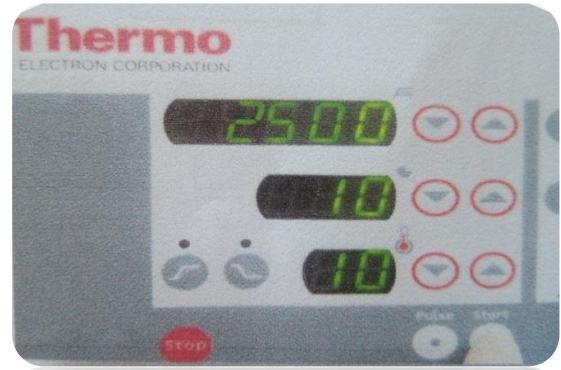


4-Aspiration de la couche lymphocytaire





**6-Addition de la solution
de Hanks**



5-Centrifugation

Annexe 6 : Le protocole de typage par biologie moléculaire PCR-SSP

1- Extraction de l'ADN par technique de QIAGEN :



1-Prélèvement



2-Centrifugation



4-Aspiration de Buffy-Coat



3-Le Buffy-Coat



5-Le Buffy-Coat dans un eppendorf



6-Agitation au vortex



8-Addition de l'éthanol



7- L'épendorf dans le thermoblock



9-Agitation au vortex



10-Transfert de contenu dans une colonne de QUIAGEN



12-Addition de la solution AW1



11-Centrifugation



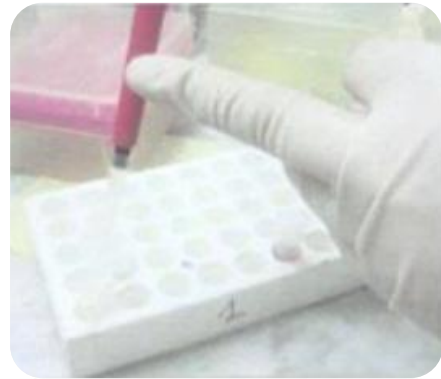
14-Addition de la solution AW2



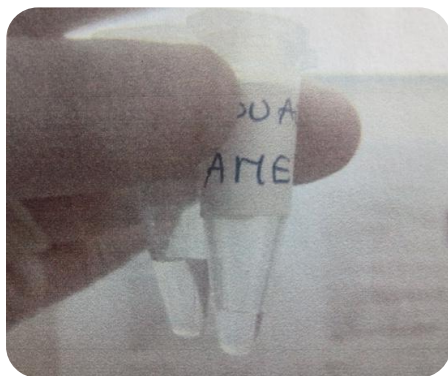
13-Centrifugation



15-Centrifugation



16-Addition de la solution AE



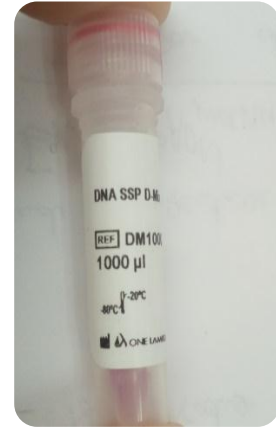
18-L'ADN après extraction réparti en deux Eppendrofs et prêt pour le typage



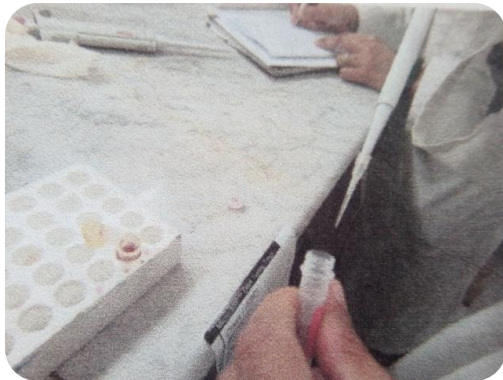
17-Centrifugation

2- Le typage par PCR-SSP :

A) Préparation de la plaque micro-SSP :



1-Sortir la plaque et les réactifs

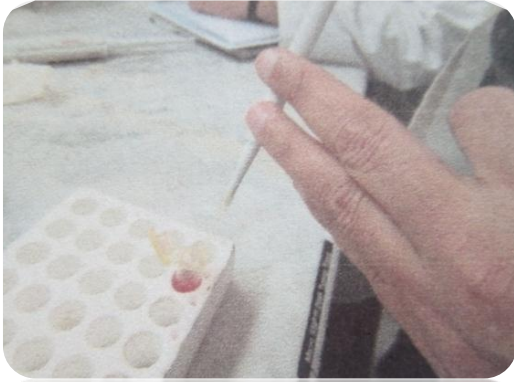


2-Mélange D-Mix / Taq polymérase

1H



3-Dépôt de contrôle négatif



4-Addition de l'ADN sur le mélange D-Mix/Taq



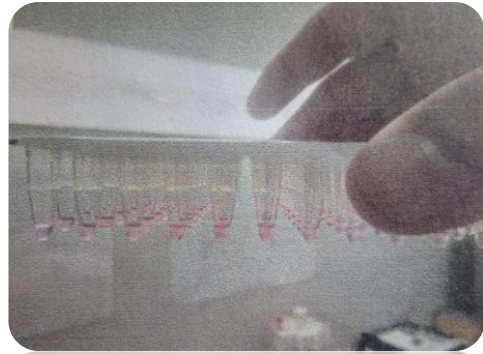
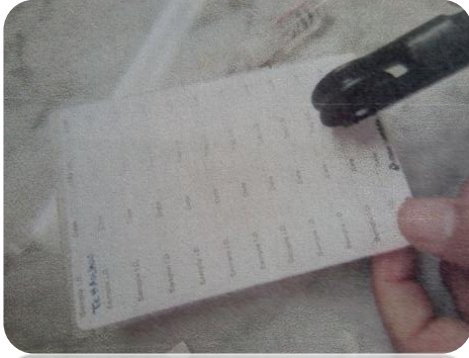
6-Prendre 10µl de mélange



5-Agitation au vortex



7-Répartition de mélange DNA/D-mix/Taq dans les puits de la plaque



8-Fermeture de la plaque

B-Réalisation de la PCR :



9-Placement de la plaque dans le thermocycleur

C-Electrophorèse sur gel d'agarose :

- Préparation de gel :



1-Peser d'agarose

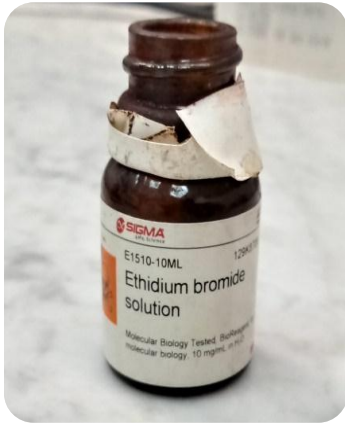


2-Addition de la solution tamponne



3-Placement de mélange dans la micro-onde (3 à 4 min)





4-Addition de bromure d'éthidium au gel d'agarose après dissolution



5-Ecoulement de mélange sur la plaque de migration



7-Addition de tampon

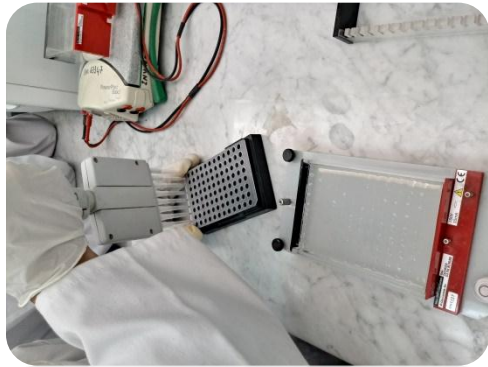


6-Placer les empreintes



8-Sortir la plaque du thermocycleur

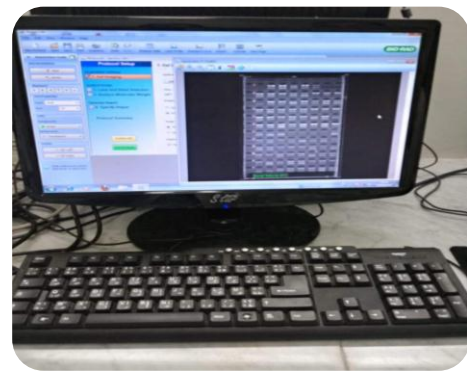
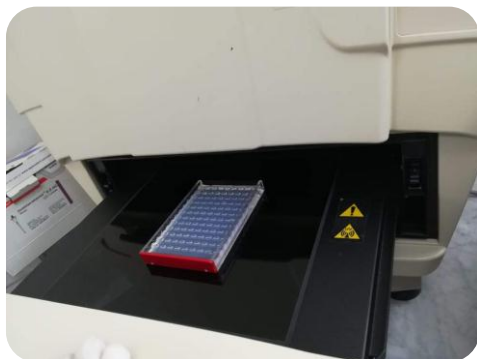
- **La migration sur gel :**



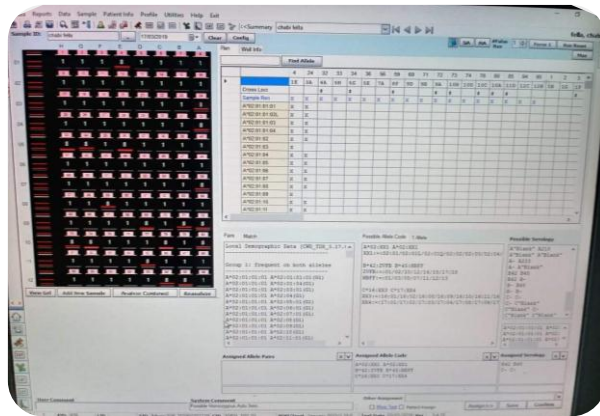
9-Transfert de produits d'amplification dans les puits de la plaque de migration



10-La migration



11-Lecture sous UV Gel Doc



12-Interprétation des résultats par un logiciel HLA Fusion

Annexe 7 : le protocole de typage HLA par la technique sérologique (LCT).

1-Préparation de la plaque de Terasaki :

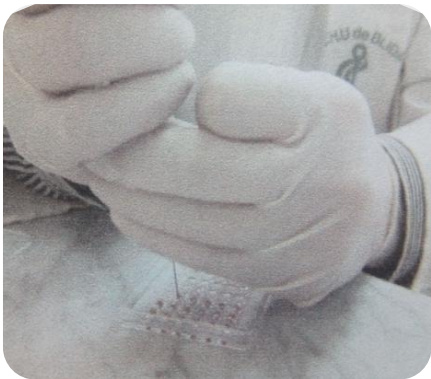


1-Addition de l'huile de paraffine

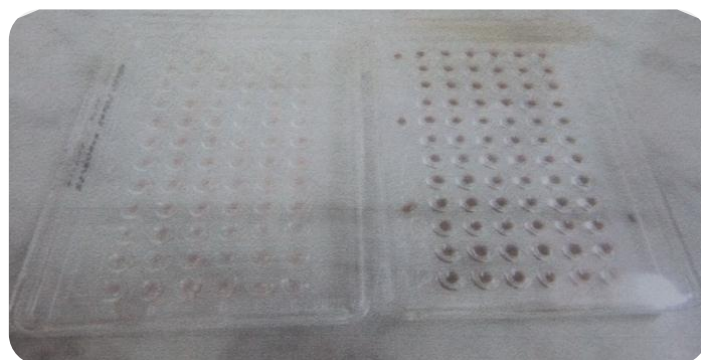


2-Addition de l'eau physiologique

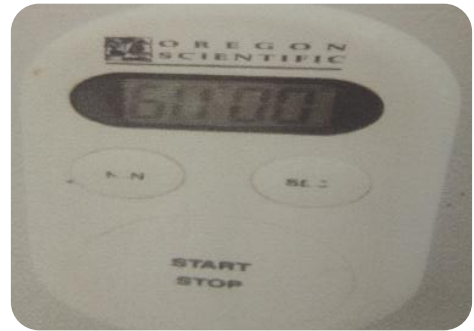
2-Le typage par LCT proprement dit :



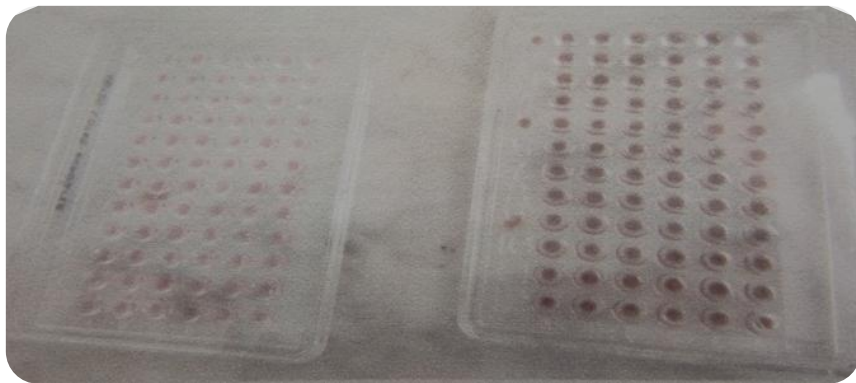
3-Rempissage des plaques de Terasaki



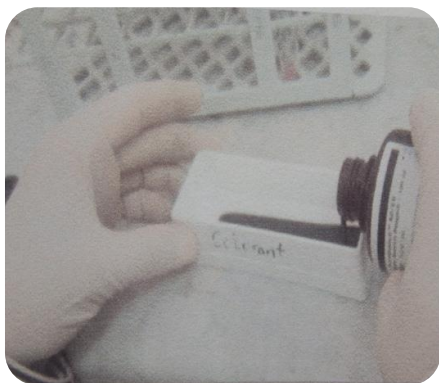
4-Les plaques de typage remplies



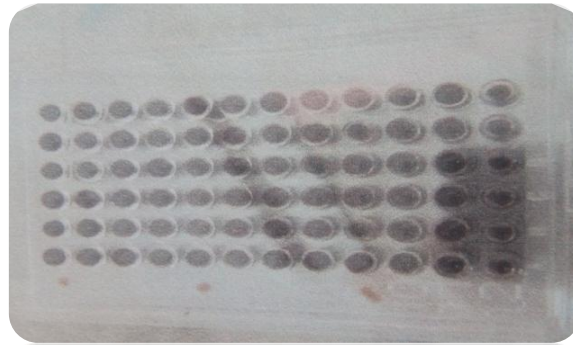
5-Incubation des plaques



6-Les plaques après incubation



7-Addition de colorant

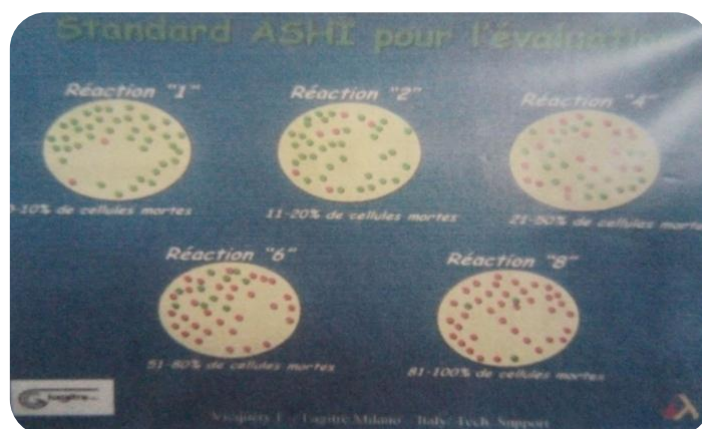


8-Incubation des plaques

3-La lecture :




**9-La lecture sur microscope à fluorescence
inversée**



Les résultats possibles

Annexe 8: Les batteries d'anticorps pour typage sérologique.



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

Catalogue# AB72D

Center/Institution _____

Complement Lot# _____ C' Exp. Date _____

Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

Room Temp _____

Name _____

Sample I.D. _____

Disease _____

Phenotype Assignment

Lymphocyte Source: PBL Fresh Spleen Other

PBL Frozen Lymph Node

Test Method _____

ABO/RH _____

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6E	6D	6C	6B	6A			
Reaction	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B		
	1	1	1	1	2	2	3	3	1	9	23	24	10	26	28	33	33	11	1101	2	3	10	29	30	30	31	32	32	32	5	5	51	52	51	51	51	76	44
Specificity	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	
	44	38	13	14	15	15	16	16	39	17	17	18	50	49	50	50	41	27,42	22	42	54	42	27	27	37	37	35	35	35	40	61	60	48	48	70	70	76	4
Serum I.D.	X8301	Z3009	Z3015	Z1192	X8617	Z0733	X8770	Z1171	Z7343	Z1907	Z1210	Z5380	Z0957	X5312	X7790	Z0746	X7095	X8637	Z5424	Z1223	Z2322	X9027	X213	Z1207	Z0643	Z5604	Z2482	X7408	X1282	Z1834	Z1574	Z2047	X7014	X7023	Z4748	W6654		

HLA Broad Specificities and Their Splits

A2 A203W, A210W
 A8 A82, A24, A2403#
 A10 A25, A28, A34, AR601, AR602
 A19 A29, A30, A31, A32, A33, A34
 A28 A68, A69
 B5 B51, B52, B5102#, B5103#
 B7 B703#, B705#
 B12 B44, B45
 B14 B64, B65
 B14 B78#

Bw4 Bw6 Associations

Bw4: A23, A24, A2403, A25, A28, A34, AR601, AR602, B5, B51, B52, B5102#, B5103#, B7, B703#, B705#, B44, B45, B64, B65, B70, B71, B72, B81, B82, B83, B84, B85, B86, B87, B88, B89, B90, B91, B92, B93, B94, B95, B96, B97, B98, B99, B100, B101, B102, B103, B104, B105, B106, B107, B108, B109, B110, B111, B112, B113, B114, B115, B116, B117, B118, B119, B120, B121, B122, B123, B124, B125, B126, B127, B128, B129, B130, B131, B132, B133, B134, B135, B136, B137, B138, B139, B140, B141, B142, B143, B144, B145, B146, B147, B148, B149, B150, B151, B152, B153, B154, B155, B156, B157, B158, B159, B160, B161, B162, B163, B164, B165, B166, B167, B168, B169, B170, B171, B172, B173, B174, B175, B176, B177, B178, B179, B180, B181, B182, B183, B184, B185, B186, B187, B188, B189, B190, B191, B192, B193, B194, B195, B196, B197, B198, B199, B200, B201, B202, B203, B204, B205, B206, B207, B208, B209, B210, B211, B212, B213, B214, B215, B216, B217, B218, B219, B220, B221, B222, B223, B224, B225, B226, B227, B228, B229, B230, B231, B232, B233, B234, B235, B236, B237, B238, B239, B240, B241, B242, B243, B244, B245, B246, B247, B248, B249, B250, B251, B252, B253, B254, B255, B256, B257, B258, B259, B260, B261, B262, B263, B264, B265, B266, B267, B268, B269, B270, B271, B272, B273, B274, B275, B276, B277, B278, B279, B280, B281, B282, B283, B284, B285, B286, B287, B288, B289, B290, B291, B292, B293, B294, B295, B296, B297, B298, B299, B300, B301, B302, B303, B304, B305, B306, B307, B308, B309, B310, B311, B312, B313, B314, B315, B316, B317, B318, B319, B320, B321, B322, B323, B324, B325, B326, B327, B328, B329, B330, B331, B332, B333, B334, B335, B336, B337, B338, B339, B340, B341, B342, B343, B344, B345, B346, B347, B348, B349, B350, B351, B352, B353, B354, B355, B356, B357, B358, B359, B360, B361, B362, B363, B364, B365, B366, B367, B368, B369, B370, B371, B372, B373, B374, B375, B376, B377, B378, B379, B380, B381, B382, B383, B384, B385, B386, B387, B388, B389, B390, B391, B392, B393, B394, B395, B396, B397, B398, B399, B400, B401, B402, B403, B404, B405, B406, B407, B408, B409, B410, B411, B412, B413, B414, B415, B416, B417, B418, B419, B420, B421, B422, B423, B424, B425, B426, B427, B428, B429, B430, B431, B432, B433, B434, B435, B436, B437, B438, B439, B440, B441, B442, B443, B444, B445, B446, B447, B448, B449, B450, B451, B452, B453, B454, B455, B456, B457, B458, B459, B460, B461, B462, B463, B464, B465, B466, B467, B468, B469, B470, B471, B472, B473, B474, B475, B476, B477, B478, B479, B480, B481, B482, B483, B484, B485, B486, B487, B488, B489, B490, B491, B492, B493, B494, B495, B496, B497, B498, B499, B500, B501, B502, B503, B504, B505, B506, B507, B508, B509, B510, B511, B512, B513, B514, B515, B516, B517, B518, B519, B520, B521, B522, B523, B524, B525, B526, B527, B528, B529, B530, B531, B532, B533, B534, B535, B536, B537, B538, B539, B540, B541, B542, B543, B544, B545, B546, B547, B548, B549, B550, B551, B552, B553, B554, B555, B556, B557, B558, B559, B560, B561, B562, B563, B564, B565, B566, B567, B568, B569, B570, B571, B572, B573, B574, B575, B576, B577, B578, B579, B580, B581, B582, B583, B584, B585, B586, B587, B588, B589, B590, B591, B592, B593, B594, B595, B596, B597, B598, B599, B600, B601, B602, B603, B604, B605, B606, B607, B608, B609, B610, B611, B612, B613, B614, B615, B616, B617, B618, B619, B620, B621, B622, B623, B624, B625, B626, B627, B628, B629, B630, B631, B632, B633, B634, B635, B636, B637, B638, B639, B640, B641, B642, B643, B644, B645, B646, B647, B648, B649, B650, B651, B652, B653, B654, B655, B656, B657, B658, B659, B660, B661, B662, B663, B664, B665, B666, B667, B668, B669, B670, B671, B672, B673, B674, B675, B676, B677, B678, B679, B680, B681, B682, B683, B684, B685, B686, B687, B688, B689, B690, B691, B692, B693, B694, B695, B696, B697, B698, B699, B700, B701, B702, B703, B704, B705, B706, B707, B708, B709, B710, B711, B712, B713, B714, B715, B716, B717, B718, B719, B720, B721, B722, B723, B724, B725, B726, B727, B728, B729, B730, B731, B732, B733, B734, B735, B736, B737, B738, B739, B740, B741, B742, B743, B744, B745, B746, B747, B748, B749, B750, B751, B752, B753, B754, B755, B756, B757, B758, B759, B760, B761, B762, B763, B764, B765, B766, B767, B768, B769, B770, B771, B772, B773, B774, B775, B776, B777, B778, B779, B780, B781, B782, B783, B784, B785, B786, B787, B788, B789, B790, B791, B792, B793, B794, B795, B796, B797, B798, B799, B800, B801, B802, B803, B804, B805, B806, B807, B808, B809, B810, B811, B812, B813, B814, B815, B816, B817, B818, B819, B820, B821, B822, B823, B824, B825, B826, B827, B828, B829, B830, B831, B832, B833, B834, B835, B836, B837, B838, B839, B840, B841, B842, B843, B844, B845, B846, B847, B848, B849, B850, B851, B852, B853, B854, B855, B856, B857, B858, B859, B860, B861, B862, B863, B864, B865, B866, B867, B868, B869, B870, B871, B872, B873, B874, B875, B876, B877, B878, B879, B880, B881, B882, B883, B884, B885, B886, B887, B888, B889, B890, B891, B892, B893, B894, B895, B896, B897, B898, B899, B900, B901, B902, B903, B904, B905, B906, B907, B908, B909, B910, B911, B912, B913, B914, B915, B916, B917, B918, B919, B920, B921, B922, B923, B924, B925, B926, B927, B928, B929, B930, B931, B932, B933, B934, B935, B936, B937, B938, B939, B940, B941, B942, B943, B944, B945, B946, B947, B948, B949, B950, B951, B952, B953, B954, B955, B956, B957, B958, B959, B960, B961, B962, B963, B964, B965, B966, B967, B968, B969, B970, B971, B972, B973, B974, B975, B976, B977, B978, B979, B980, B981, B982, B983, B984, B985, B986, B987, B988, B989, B990, B991, B992, B993, B994, B995, B996, B997, B998, B999, B1000.

HLA Broad Specificities and Their Splits

A8001 A80
 B15 B82, B63, B75, B75V, B76, B77, B1508, B1511
 B16 B38, B39
 B17 B57, B58
 B21 B49, B50, B4005#
 B22 B54, B55, B56
 B22N B5603#
 B40 B60, B61
 B70 B71, B72
 BDT B81

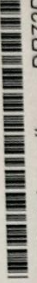
Please refer to product insert for testing conditions

Test Performed by _____ Date _____

Read by _____ Date _____

WORKSHEET

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



Catalogue# DR72D

Name _____

Patient Male
 Donor Female

Sample I.D. _____

Race _____

Birthdate _____

PHENOTYPE ASSIGNMENT

Lymphocyte Source:
 PBL Fresh Spleen Other
 PBL Frozen Lymph Node

Center/Institution _____

Tray Exp. Date _____ Cell Viability _____

Disease _____ Relationship to patient _____ ABO/RH _____

Test Method _____

Room Temp _____

Tray Position	1A	1B	1C	1D	1E	1F	2F	2E	2D	2C	2B	2A	3A	3B	3C	3D	3E	3F	4F	4E	4D	4C	4B	4A	5A	5B	5C	5D	5E	5F	6F	6E	6D	6C	6B	6A		
REACTION					DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR
SPECIFICITY					1	1	1	103	15	15	15	15	3	3	3	18	18	4	4	4	4	4	4	7	7	7	9	9	9	10	10	11	11	11	8	8	8	
Serum I.D.					103	103	405	1402	1402	1406																											1464	1464

Tray Position	7A	7B	7C	7D	7E	7F	8F	8E	8D	8C	8B	8A	9A	9B	9C	9D	9E	9F	10F	10E	10D	10C	10B	10A	11A	11B	11C	11D	11E	11F	12F	12E	12D	12C	12B	12A		
REACTION					DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR	DR
SPECIFICITY					8	12	12	13B	13A	13A	302	1302	13B	14E	14G	14C	3	51	51	52	52	52	52	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53
Serum I.D.					11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

PREDICTED DR 13 AND 14 EPITOPES

- 13A 1301, 1302, 1304
- 13B 1301, 1302
- 13C 1301, 1302, 1305
- 14A 1401, 1404, 1405, 1407, 1408, 1410, 1411
- 14B 1402, 1403, 1406, 1409
- 14C 1401, 1404, 1407
- 14D 1401, 1402, 1404, 1405, 1406, 1410, 1411
- 14E 1401, 1402, 1404, 1405, 1410, 1411
- 14G 1401, 1404, 1405, 1407, 1410, 1411

COMMON DR/DQ ASSOCIATIONS

- DQ2 DR7,DR9,DR17
- DQ4 DR4,DR8,DR18
- DQ5 (Q1) DR1,DR10,DR14,DR16,DR103
- DQ6 (Q1) DR13,DR15
- DQ7 (Q3) DR4,DR11,DR12
- DQ8 (Q3) DR4,DR8
- DQ9 (Q3) DR7,DR9
- DR51 DR15,DR16,DR1*
- DR52 DR3,DR11,DR12,DR13,DR14,DR1403,DR1404
- DR53 DR4,DR7,DR9

* Rarely observed haplotype

RECONSTITUTION INSTRUCTIONS

Reconstitute each well with 1 ul sterile water followed by 5 l mineral oil.

NEW 1-HOUR TESTING CONDITIONS

- Add 1 ul B lymphocytes (approximately 2,000 cells) to each well.
- Immediately add 1 ul of reconstituted complement to each well.
- Incubate for one hour at 22 - 25 C.
- Add 5 ul eosin.
- Wait two minutes, then add 5 ul of formalin.

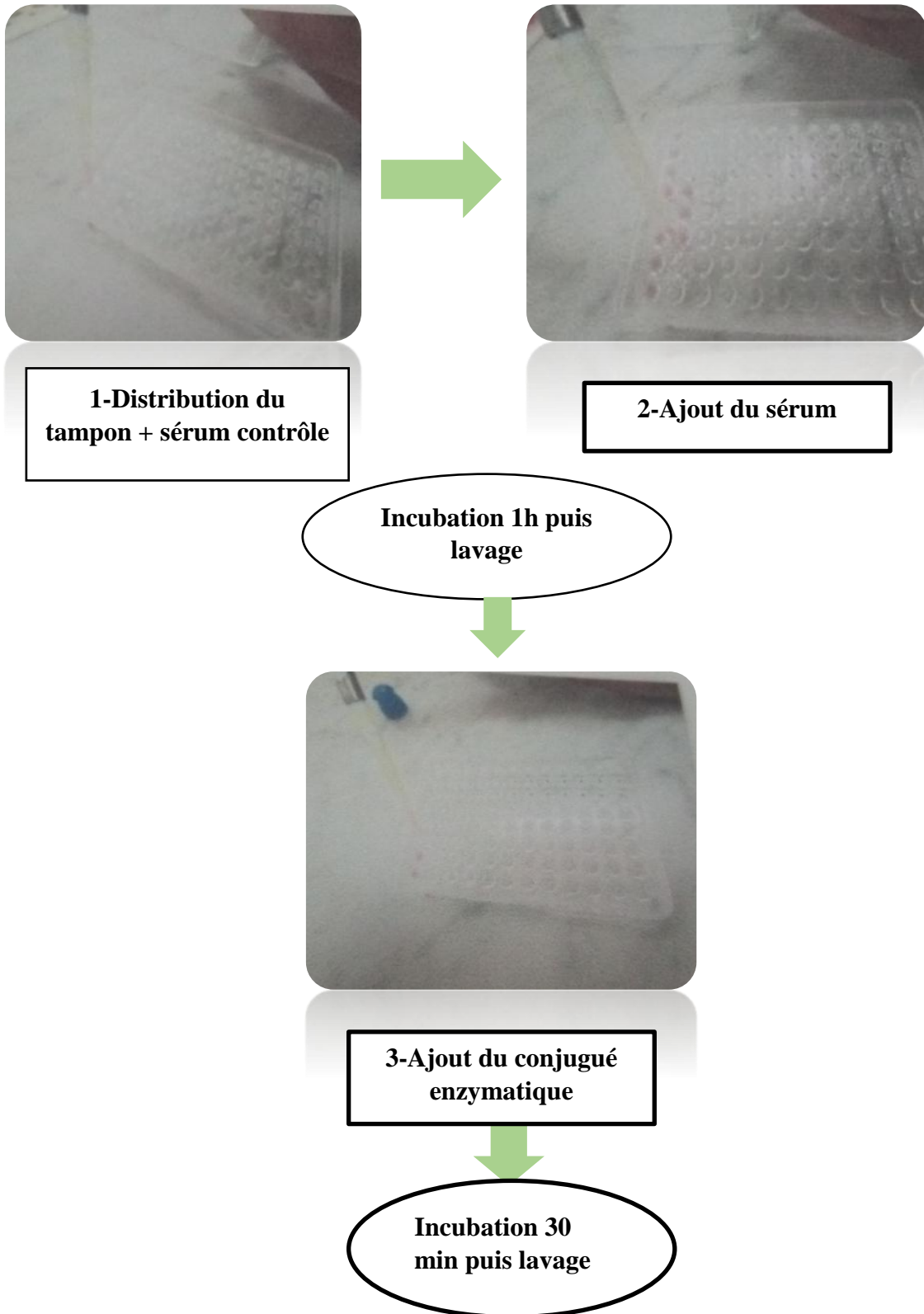
* FOAOEB or 10 ul of Stain-Fixm may be substituted.

Test Performed by _____ **Date** _____

Read by _____ **Date** _____

Reviewed by _____ **Date** _____

Annexe 9 : Protocole de la technique ELISA :





4-Préparation du substrat et son ajout

30 min



5-Ajout de solution d'arrêt



7-Résultats

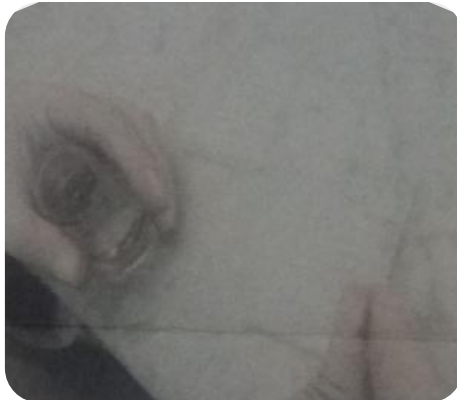


6-Lecture avec un lecteur ELISA

Annexe 10 : Protocole du Cross match par LCT.



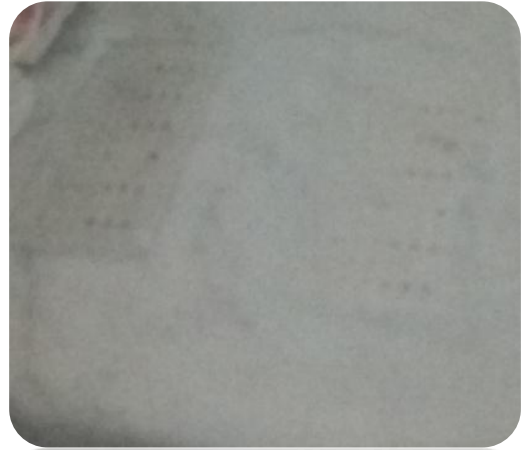
1-Séparation des Lym totaux, LT et Lb à partir du sang dilué



2- Huiler la plaque



3-Répartition du sérum

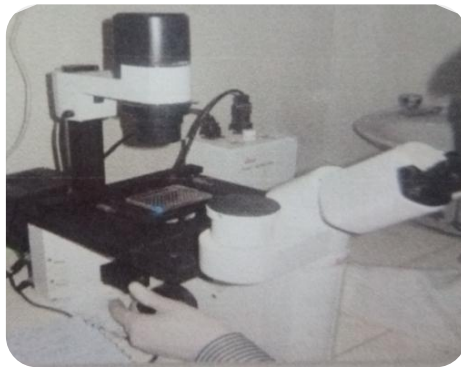


4-Ajout des cellules



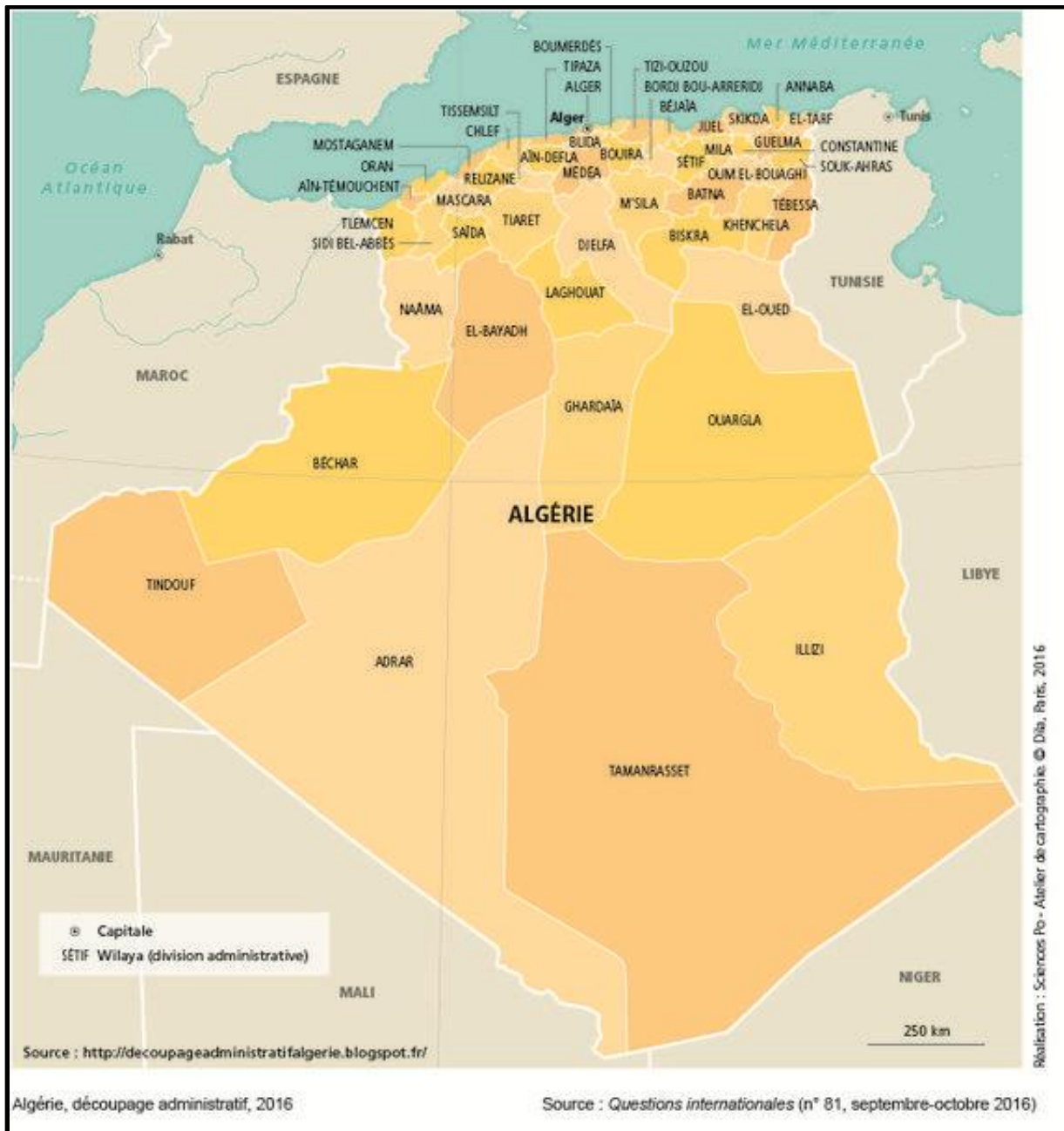
6-Coloration

5-Ajout du complément



**7-Lecture par microscope à
fluorescence inversée**

Annexe 11 : Carte géographique de répartition des wilayas de l'Algérie.



Annexe 12 : Version informatisée des dossiers des malades.

Nom	Prénom	Désignation	N° du dossier	Date de pvt	Age	G sanguin	Sexe	D/R	Lien de parenté	Service CHU	Origine	Pathologie
B	F	R88	190/07	23/12/2007	24 ans	O+	F	R		CHG BLIDA	SETIF	
B	T	D88	190/07	23/12/2007	21 ans	O+	H	D	Frère		SETIF	
M	D	R89	192/08	06/01/2008	26 ans	B+	H	R		CHG BLIDA	TIZI OUZOU	
M	F	D89	193/08	06/01/2008	23 ans	B+	H	D	Frère		TIZI OUZOU	
A	S	R90	194/08	09/01/2008	11 ans	O+	F	R		CHG TIZI OUZOU	TIZI OUZOU	HTA
S	D	D90	195/08	09/01/2008	40 ans	O+	F	D	Mère		TIZI OUZOU	
Z	M	R92	200/08	22/01/2008	35 ans	O+	H	R		CHG PARNET	BEJAIA	HTA
Z	E	D92	201/08	22/01/2008	24 ans	O+	H	D	Sœur		BEJAIA	
M	W	R93	202/08	27/01/2008	34 ans	O+	F	R		CHG BNI MESSOUS	SETIF	
M	F	D93	203/08	27/01/2008	28 ans	O+	H	D	Frère		SETIF	
B	D	R94	204/08	27/10/2008	18 ans	AB+	H	R		CHG BLIDA	AIN DEFLA	
B	B	D94	205/08	27/10/2008	54 ans	A+	H	D	Père		AIN DEFLA	
B	H	R95	206/08	29/01/2008	5 ans	O+	F	R		CHU BNI MESSOUS	TIZI OUZOU	
L	F	D95	207/08	29/01/2008	44 ans	O+	F	D	Mère		TIZI OUZOU	
B	H	R96	210/08	05/02/2008	35 ans	A-	H	R		CHU TIZI OUZOU	TIZI OUZOU	HTA
B	H	D96	211/08	05/02/2008	29 ans	A-	H	D	Frère		TIZI OUZOU	
E	F	R97	212/08	05/02/2008	43 ans	A+	F	R		CHU Parnet	GHARDAIA	HTA
E	R	D97	212/08	05/02/2008	32 ans	A+	F	D	Sœur		GHARDAIA	
A	H	R98	214/08	10/02/2008	19 ans	O+	F	R		CHU SBA	CHLEF	
M	F	D98	215/08	10/02/2008	50 ans	O+	F	D	Mère			
T	M	R99	216/08	10/02/2008	27 ans	B+	H	R		CHG BLIDA	TELEMEN	Néphropathie tubulaire
T	A	D99	217/08	10/02/2008	29 ans	B+	F	D	Sœur		TELEMEN	

HLA A	HLA A	HLA B	HLA B	HLA C	HLA C	HLA DR B1	HLA DR B1	HLA DR B3	HLA DR B3	HLA DR B4	HLA DR B4	HLA DR B4	HLA DR B5	HLA DQ	C match I	Anti HLA I	Anti HLA II	C match F	Suivie
23(9)	32(19)	65(14)	50(21)												N	N	N		
32(19)	60(28)	65(14)	51(5)																
30(19)	26(10)	65(14)	44(12)												N	N	N	N	Greffé
11	30(19)	45(12)	42																
26(10)	11	44(12)	X			3	4	52						3	x	N	N	N	Greffé
3	11	44(12)	X			4			53					3	4				
3	30(19)	35	60(40)			11	X								N	N	N		T non faite
3	32(19)	27	41			11		52						7	x				
11	32(19)	52(5)	40			1	15			51				1	X	N	N		Greffé
32(19)	30(19)	18	40			1	3	52						1	2				
3	33(19)	65(14)	27			1	11	52						7	3	N	N	N	Greffé
1	33(19)	65(14)	8			3	1	52						6	X				
32(19)	26(10)	44(12)	35			4	11	52						x	7	N	N	N	
1	26(10)	8	35											6	7				
23(9)	1	8	44(12)			7	11	52						2	3	N	N	N	Greffé
23(9)	24(9)	44(12)	X			3	7	52						2	X				
24(9)	5601(10)	44(12)	47			1	15			51				1	6	N	P	N	Greffé
3	5601(10)	44(12)	X			1	13	52						1	6				
1	24(9)	35	49(21)			4	8							6	9	N	N	N	
3	24(9)	35	58(17)			8	13	52						6	9				
1	31(19)	51(5)				10	15							6	x	N	N	N	Greffé
1	31(19)	51(5)				1	X							6	X				

Annexe 13 : Répartition géographique des wilayas selon les régions d'origine.

Centre	Kabylie	Est	Ouest	Sahara
Ain defla	Bedjaia	Annaba	Ain timouchent	Adrar
Alger	Bouira	Batna	Chlef	Bechar
Blida	Tizi ousou	Bordj bouariridj	Mascara	El beyedh
Boumerdess		Constantine	Mostaghanem	Biskra
Medea		Jijel	N'aama	Laghouat
Tiaret		Khenchla	Oran	Ouargla
Tipaza		Oum el bouaghi	Relizane	Tamanrasset
		Sétif	Saida	Djelfa
		Tebessa	Sidi bel abbas	Ghardaia
			Telemcen	M'sila
			Tissemsilt	

RESUME :

Le système HLA est un complexe immunogénétique de plus de 200 gènes, qui régit les lois de l'histocompatibilité et qui est impliqué dans la présentation des peptides antigéniques aux lymphocytes T. Ce système est caractérisé par son extrême polymorphisme propre à un individu issu d'une population donnée qui pourra elle aussi être caractérisée par une série de spécificités HLA.

Notre travail est une série de cas rétro-prospective qui s'est intéressé à l'étude des allèles HLA chez **1046** patients algériens recrutés principalement dans le cadre de la transplantation rénale et dans le cadre de la recherche d'une association HLA et maladies au niveau de l'unité d'immunologie Hassiba Ben Bouali du CHU de BLIDA entre 2006 et 2019.

Nos résultats montrent que les allèles HLA les plus fréquemment retrouvés au sein de la population algérienne sont : HLA-A*02 (32,52%), HLA-A*01(21 %), HLA-B*44(16,36%), HLA-B*51(15,68%), HLA-C*07(42 ,45%), HLA-C*06(22,04%), HLA-DRβ1*04(32,09%), HLA-DRβ1*03(30,14%), HLA-DQβ1*03(53,38%) et HLA-DQβ1*02 (44,74%). Et Pour les allèles les moins fréquents sont : HLA-A*36 (0,58 %), HLA- A*69 (1,36%), HLA-B*55 (0,68%), HLA-B*60 (0,87%), HLA-C*10 (0,41%), HLA-C*09 (0,82%), HLA- DRβ1*19 (0,17%) et HLA- DQβ1*04 (8,83%).

Pour les haplotypes les plus fréquents dans notre population étudiée nous avons trouvé : A2 B51 (1,53%), A2 B7 (1,27%), A33 B65 DR52 (0,59%), A33 B14 DR1 (0,51%), A2 B41 DR4 DQ2 (0, 34%), A2 B50 DR7 DQ2 (0, 43%), B14 C8 (0,77%), B8 C7 (0,43%), B14 C8 DR1 (0,43%), DR13 DQ6 (1,53%) et DR4 DQ3 (3,48%).

Notre travail a permis de définir les allèles HLA et les haplotypes les plus fréquemment rencontrés en Algérie et de les comparer avec ceux retrouvés chez d'autres populations.

Mots clés : HLA, transplantation, polymorphisme, Algérie, allèles, haplotypes.

ملخص:

نظام مولدات ضد الكريات البيضاء البشرية HLA عبارة عن مركب مناعي يتكون من أكثر من 200 جينة، والذي ينظم قوانين التوافق النسيجي ويشارك في تقديم الببتيدات المضادة للخلايا التائية، وهذا النظام له العديد من الخصائص بما في ذلك تعدد الأشكال الشديد.

يتضمن هذا العمل دراسة خصوصية نظام HLA لدى 1046 مريض جزائري مسجلين في إطار التبرع بالكلية والبحث عن خلل في نظام HLA في وحدة المناعة بالمركز الاستشفائي الجامعي حسيبة بن بوعلي بالبلدية في الفترة ما بين 2006 و2019.

النتائج تظهر أن الأليلات الأكثر شيوعًا عند سكان الجزائر هي:

, HLA-B*51(15,68%), HLA-B *44(16,36%), HLA-A *01(21%), HLA-A *02(32,52%)

HLADR β 1* 03(30,14%), HLA-DR β 1*04(32,09%), HLA-C*06(22,04%) C*07(42,45%),
DQ β 1*02 (44,74%) و HLA-DQ β 1*03(53,38%)

وبالنسبة للأليلات الأقل شيوعًا هي:

HLA-A*36 (0,58 %), HLA-A*69 (1,36%), HLA-B*55 (0,68%), HLA-B*60 (0,87%),
HLA-C*10 (0,41%), HLA-C*09 (0,82%), HLA- DR β 1*19 (0,17%) و HLA- DQ β 1*04
(8,83%).

بالنسبة إلى أكثر الأشكال الفردية شيوعًا لدينا:

A33 B14 DR1 (0,51%), A33 B65 DR52 (0,59%), A2 B7 (1,27%), A2 B51 (1,53%)

B8 C7 (0,43%), B14 C8 (0,77%), A2 B50 DR7 DQ2 (0, 43%), A2 B41 DR4 DQ2 (0, 34%)

. DR4 DQ3 (3,48%) و DR13 DQ6 (1,53%), B14 C8 DR1 (0,43%)

هذا العمل سمح لنا بتحديد خصائص وانماط نظام HLA الأكثر شيوعًا في الجزائر ومقارنتها مع دراسات أخرى.

الكلمات المفتاحية: مولدات ضد الكريات البيضاء البشرية HLA، زرع الكلية، تعدد الأشكال، الجزائر، أليل.

ABSTRACT:

The HLA system is an immunogenetic complex of more than 200 genes, which regulates the laws of histocompatibility and is involved in the presentation of antigenic peptides to T lymphocytes. This system is characterized by an extreme polymorphism specific to an individual coming from a given population which can also be characterized by a serie of HLA specificities.

Our work is a retro-prospective case serie that investigated HLA alleles in 1046 algerian subjects recruited mainly as part of kidney transplantation and as part of the search for an HLA association and diseases from the UHU-Hassiba Ben Bouali immunology unit at Blida CHU between 2006 and 2019.

Our results show that the HLA alleles most frequently found in the Algerian population are: HLA-A*02 (32,52%), HLA-A*01(21 %), HLA-B*44(16,36%), HLA-B*51(15,68%),HLA-C*07(42 ,45%) ,HLA-DR β 1*04(32,09%),HLADR β 1*03(30,14%), HLA-DQ β 1*03(53,38%) and HLA-DQ β 1*02 (44,74%) . And for the least frequent alleles are: HLA-A*36 (0,58 %), HLA- A*69 (1,36%), HLA-B*55 (0,68%), HLA-B*60 (0,87%), HLA-C*10 (0,41%), HLA-C*09 (0,82%), HLA- DR β 1*19 (0,17%) and HLA- DQ β 1*04 (8,83%).

For the most frequent haplotypes in our studied population we found: A2 B51 (1,53%), A2 B7 (1,27%), A33 B65 DR52 (0,59%), A33 B14 DR1 (0,51%), A2 B41 DR4 DQ2 (0, 34%), A2 B50 DR7 DQ2 (0, 43%), B14 C8 (0,77%), B8 C7 (0,43%), B14 C8 DR1 (0,43%), DR13 DQ6 (1,53%) and DR4 DQ3 (3,48%).

Our work allowed us to define the most common HLA alleles in Algeria and to compare them with those found in other populations.

Key words: HLA, transplantation, polymorphism, Algeria, alleles, haplotypes.

BENDAHMANE Fatima Zohra fatimazohrabendahmane09@gmail.com	BENROKIA Faiza faizabenrokia94@gmail.com	SELAHI Khadidja selahikhadidja94dr@gmail.com
---	--	--

ملخص:

نظام مولدات ضد الكريات البيضاء البشرية HLA عبارة عن مركب مناعي يتكون من أكثر من 200 جينة، والذي ينظم قوانين التوافق النسيجي ويشترك في تقديم الببتيدات المضادة للخلايا التائية، وهذا النظام له العديد من الخصائص بما في ذلك تعدد الأشكال الشديد.

يتضمن هذا العمل دراسة خصوصية نظام HLA لدى 1046 مريض جزائري مسجلين في إطار التبرع بالكلية والبحث عن خلل في نظام HLA في وحدة المناعة بالمركز الاستشفائي الجامعي حسيبة بن بو علي بالبلدية في الفترة ما بين 2006 و2019.

النتائج تظهر أن الأليلات الأكثر شيوعًا عند سكان الجزائر هي:

, HLA-B*51(15,68%), HLA-B *44(16,36%), HLA-A *01(21%), HLA-A *02(32,52%)

HLADR β1* 03(30,14%), HLA-DRβ1*04(32,09%), HLA-C*06(22,04%) C*07(42,45%),
DQβ1*02 (44,74%) و HLA-DQβ1*03(53,38%)

وبالنسبة للأليلات الأقل شيوعًا هي:

HLA-A*36 (0,58 %), HLA- A*69 (1,36%), HLA-B*55 (0,68%), HLA-B*60 (0,87%),
HLA-C*10 (0,41%), HLA-C*09 (0,82%), HLA- DRβ1*19 (0,17%) و HLA- DQβ1*04
(8,83%).

بالنسبة إلى أكثر الأشكال الفردية شيوعًا لدينا:

A33 B14 DR1 (0,51%), A33 B65 DR52 (0,59%), A2 B7 (1,27%), A2 B51 (1,53%)

B8 C7 (0,43%), B14 C8 (0,77%), A2 B50 DR7 DQ2 (0, 43%), A2 B41 DR4 DQ2 (0, 34%)

. DR4 DQ3 (3,48%) و DR13 DQ6 (1,53%), B14 C8 DR1 (0,43%)

هذا العمل سمح لنا بتحديد خصائص وانماط نظام HLA الأكثر شيوعًا في الجزائر ومقارنتها مع دراسات أخرى.
الكلمات المفتاحية: مولدات ضد الكريات البيضاء البشرية HLA، زرع الكلى، تعدد الأشكال، الجزائر، الأليل.

ABSTRACT:

The HLA system is an immunogenetic complex of more than 200 genes, which regulates the laws of histocompatibility and is involved in the presentation of antigenic peptides to T lymphocytes. This system is characterized by an extreme polymorphism specific to an individual coming from a given population which can also be characterized by a serie of HLA specificities.

Our work is a retro-prospective case serie that investigated HLA alleles in 1046 algerian subjects recruited mainly as part of kidny transplantation and as part of the search for an HLA association and diseases from the UHU-Hassiba Ben Bouali immunology unit at Blida CHU between 2006 and 2019.

Our results show that the HLA alleles most frequently found in the Algerian population are: HLA-A*02 (32,52%), HLA-A*01(21 %), HLA-B*44(16,36%), HLA-B*51(15,68%),HLA-C*07(42, 45%),HLA-DRβ1*04(32,09%),HLADRβ1*03(30,14%), HLA-DQβ1*03(53,38%) and HLA-DQβ1*02 (44,74%) . And for the least frequent alleles are: HLA-A*36 (0,58 %), HLA- A*69 (1,36%), HLA-B*55 (0,68%), HLA-B*60 (0,87%), HLA-C*10 (0,41%), HLA-C*09 (0,82%), HLA-DRβ1*19 (0,17%) and HLA- DQβ1*04 (8,83%).

For the most frequent haplotypes in our studied population we found: A2 B51 (1,53%), A2 B7 (1,27%), A33 B65 DR52 (0,59%), A33 B14 DR1 (0,51%), A2 B41 DR4 DQ2 (0, 34%), A2 B50 DR7 DQ2 (0, 43%), B14 C8 (0,77%), B8 C7 (0,43%), B14 C8 DR1 (0,43%), DR13 DQ6 (1,53%) and DR4 DQ3 (3,48%).

Our work allowed us to define the most common HLA alleles in Algeria and to compare them with those found in other populations.

Key words: HLA, transplantation, polymorphism, Algeria, alleles, haplotypes.