



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEEN



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

## Département de Biologie

*Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie*

# MEMOIRE

Présenté par

**DJEZIRI HAYAT**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

*En Immunologie*

## Thème

**Conception des amorces pour le gène de l'interleukine 1 $\beta$  et profil pro-inflammatoire au cours de l'Asthme Allergique Pédiatrique**

Soutenu le 09 Septembre 2020, devant le jury composé de :

Président	ARIBI Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	El-Mezouar Chahrazed	MAA	Université de Tlemcen
Examineur	NOUARI Wafa	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

## *DEDICACE*

Tout ce qui commence terminera un jour, et nous y voilà, nous finissons une  
étape pour en commencer une autre.

Avant tout, je remercie Dieu pour sa grâce et sa pitié. Je dédie mon succès au  
frère le plus merveilleux du monde {SIDOU}. À ma grande-mère qui  
m'accompagne en vie. À ma mère, que Dieu ait pitié d'elle, et à ma famille  
surtout Tema et Zaki

Merci à tous ceux qui m'ont soutenue sur

Mes amies : ma clique des 5 mousquetaires, leschahinez, Dalal, Afaf, Issou.

J'adresse mes remerciements à mes professeurs d'immunologie.

A tous mes chers....

# Sommaire

## **I-Définition:**

### **1.1. Asthme**

1.1.1. Définition de l'asthme.....	12
1.1.2. Historique .....	13
1.1.3 .Asthme allergique pédiatrique .....	14
1.1.4. Profil inflammatoire.....	14
1.1.5. Etiologie.....	16
1.1.6. Prévalence.....	20
1.1.7. Types de d'asthme.....	21
1.1.8. Diagnostique.....	22
1.1.9. Traitement.....	23

### **1.2. IL1 beta**

1.2.1. L'interleukine 1 beta.....	24
1.2.2. Activation.....	25
1.2.3. Récepteur.....	25
1.2.4. Régulation.....	26
1.2.5. Légèned'IL1 $\beta$ .....	27
1.2.6. Inhibition.....	27
1.2.7. IL1 $\beta$ et asthme.....	28

### **1.3. PCR**

1.3.1 Définition.....	29
1.3.2 Principe .....	29
1.3.3 Etapes.....	30
1.3.4 Choix des amorces.....	31

## **II-Matériels et Méthodes**

1. Conception des amorces.....	33
2. Sélection des amorces.....	34
A. Spécificité.....	35
B. Efficacité.....	35
C. Longueur d'amorce.....	35
D .Température.....	36
E. Teneur en GC.....	36
3. Recherche des séquences de référence.....	36
4. Primer Blast.....	37

## **III-Résultats**.....38

### **-Confirmation**.....40

### **-Discussion**.....41

### **-Conclusion et perspectives**.....43

### ***-Bibliographie.***

**-LISTE DES TABLEAUX :**

**Tableau 1: Différents gènes impliqués dans l'asthme allergique pédiatrique.**

**Tableau 2 : les facteurs déclencheurs des crises d'asthme.**

**Tableau 3 : classification de la sévérité de l'asthme selon GINA**

**Tableau 4 : stratégie de contrôle d'asthme selon GINA2020**

**Tableau 5 : les propriétés d'une bonne paire d'amorces**

## **LISTE DES FIGURES :**

**Figure 1 : les bronches pulmonaires normales, asthmatiques et lors des crises d'asthme.**

**Figure2 : Mécanisme immuno-pathologique de l'asthme allergique y compris macrophage, DC, neutrophiles et différentes cytokines : IL1 $\beta$ , IL6 et IL23.**

**Figure 3 : La prévalence de l'asthme selon le sexe et l'âge.**

**Figure4: Evaluation du contrôle de l'asthme selon GINA 2020**

**Figure5 : Activation et production de l'interleukine 1  $\beta$**

**Figure6: Localisation du gène codant pour il1 $\beta$  dans chms2.**

**Figure 7:Relation d'IL1 $\beta$  dans stimulation de l'asthme.**

**Figure8: Etapes de PCR**

**Figure 9 : Instructions pour le succès du PCRprimers**

**Figure 10: Séquence du gène codant pour l'interleukine 1 beta « ensembl.org ».**

**Figure 11: Séquence du gène d'intérêt dans le Word**

**Figure 12 : Le Primer blast**

**Figure 13 : Séquence du gène IL1 $\beta$  avec le paramètre qui convient**

**Figure 14: Résultats de la conception sur primer blast**

**Figure 15: Résultats de la conception sur primer blast**

**Figure16 : Site de confirmation**

**Figure 17: Insertion des amorces PCR in-Silico sur le site**

**Figure 18 : La confirmation**

## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

CASP : caspase

Cox2: Cyclooxygenase

DAMPS : damage -associatedmolecular patterns

DC : Cellule dendritique

DEP : débit d'expiration de point

GINA: Global Initiative for Asthma

ICS: Corticostéroïde inhalé

IgE : Immunoglobulines E

IL 17 : Interleukine 17

IL 6 : Interleukine 6

IL\_33 : Interleukine 33

IL13 :interleukine13

IL1R1:récepteur de l'interleukine 1

IL4 :interleukine4

IL5 :interleukine5

ILC3 : Cellule lymphoïde innée de type 3

INF $\gamma$ : interferon gamma

LABA: Long acting  $\beta_2$  adrenergic receptor agonists

LB : Lymphocyte B

LT : Lymphocyte T

LTRA: Leucotriènesreceptor antagonistes

M $\phi$  : Macrophage

NCBI : National Center for Biotechnologie Information

OMS : organisation mondial de sante

PAMPS: Pathogen-associated molecular patterns

PCR:Polymérasechaineréaction

PTGS2: prostaglandin-endoperoxide2 synthase 2

SABA: Short acting  $\beta_2$  adrenergic receptor agonists

Tcd4+: Lymphocyte T cd4+

Th1: Lymphocyte T helper 1

Th17: Lymphocyte T hepler 17

Th2: Lymphocytes T helper 2

Tm : Melting température

Treg: lymphocyte T regulatrice

VEMS : Volume expiratoire maximal par seconde

WHO: World Health organisation



## **Résumé:**

L'asthme allergique pédiatrique est une maladie qui atteint le système respiratoire dans laquelle l'exposition à un allergène induit à une réponse immunitaire avec profil pro- inflammatoire sous l'influence de l'interleukine 1beta et pro inflammatoire. L'expression de cette cytokine fait l'objet de plusieurs études, parmi elles celle de la biotechnologie et l'utilisation de PCR qui donne 0l'importance.

**Objectif :** Concevoir la bonne paire d'amorces à l'aide de la PCR et des logiciels de la bioinformatique tels que le Primer Blast.

**But :** Choisir le bon couple d'amorces par le Primer Blast qui assurel'amplification de la PCR, intérêt de notre étude, concernant le gène IL 1 $\beta$  qui est une cytokine incriminée dans la progression d'une variété de maladies respiratoires.

**Matériels et méthodes :** faire la conception de la bonne amorce par PCR et la confirmer en utilisant les sites de biotechnologie.

**Résultats :** Confirmation de la présence des amorces du gène IL1b visées par le PCR et données par le Primer blast.

**Conclusion :** l'asthme allergique fait intervenir plusieurs médiateurs immunologiques parmi lesquelsl'IL1 $\beta$  comme cytokine pro inflammatoire induisant l'exacerbation de cette maladie.

## **Mots clés :**

Asthme allergique, interleukine 1 beta, PCR, amplification d amorce

## **Abstract**

Pediatric allergic asthma is a disease affecting the respiratory system, in which exposure to an allergen induces an immune response with a pro-inflammatory profile under the influence of interleukin 1beta, the expression of this cytokine is the object of several studies, among had that which interests by biotechnology and the use of PCR which gives the importance to the choice of the good primer for the amplification and the study of gene of interest.

**Objective:** To design the right primer pair using PCR and bioinformatics software such as Primer Blast.

**Goal:** To choose the right pair of primers for the Primer Blast which ensure the amplification of the PCR which is of interest to our study. Associated with the IL 1 $\beta$  gene, a cytokine participates in the progression of a variety of respiratory diseases

**Materials and methods:** design the correct primer by PCR and confirm it using biotechnology sites

**Results:** The results of PCR and primer blast confirming the presence of the primers of the IL1b gene.

Aimed by the pcr and give by the Primer blast

**Keywords :**

Allergic asthma, interleukin 1 beta, PCR, primer amplification.

**ملخص:**

الربو التحسسي للأطفال هو مرض يصيب الجهاز التنفسي، حيث يؤدي التعرض لمسببات الحساسية إلى استجابة مناعية ذات مظهر مؤيد للالتهابات تحت تأثير إنترلوكين 1 بيتا، وكان التعبير عن هذا السيتوكين موضوع العديد من الدراسات، من بينها تلك التي تعتمد التمهيد الجيني و البادئات التي تعطي أهمية لاختيار التمهيد المناسب .

**الهدف:** تصميم الزوج التمهيدي الصحيح باستخدام برنامج برايمر بلاست و Pcr

**الوسائل:** تصميم التمهيد الصحيح بواسطة Pcr والتأكد من ذلك باستخدام مواقع التكنولوجيا الحيوية

**النتائج:** نتائج اختبار تفاعلات البوليميراز المتسلسل و البرايمر المستعمل اكدت وجود بادئات جين الانترلوكين 1 بيتا

**الكلمات الدالة :**

الربو التحسسي، إنترلوكين 1 بيتا، تفاعلات البوليميراز المتسلسل، التضخيم التمهيدي

## INTRODUCTION

L'allergie et l'asthme posent un problème majeur en santé humaine, sa gravité évolue au cours du temps suite au développement urbain et surtout industriel et par conséquent l'exposition aux différents antigènes. cette réponse est contrainte à des réactions du système immunitaire par intervention de différentes cellules et molécules parmi elles les cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine1 beta qui est en corrélation avec l' exacerbation des symptômes et la progression de l'asthme .

Dans cette étude, nous essayerons de traiter le gène de l'il1beta et son rôle dans une réponse inflammatoire au cours d'une crise d'asthme chez les enfants via la conception des amorces de ce gène par PCR afin de révéler une séquence complémentaire à une région du génome que l'on veut amplifier.

### **Objectif :**

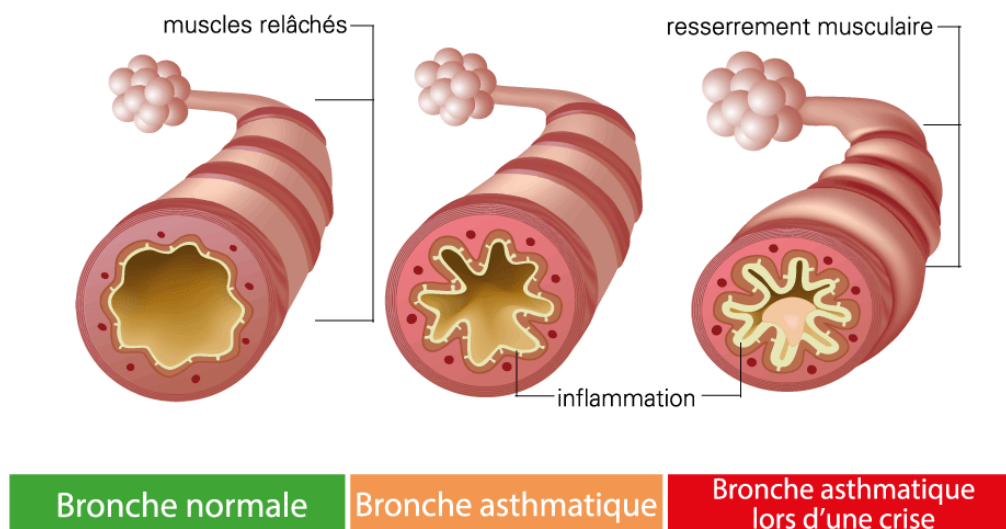
L'objectif de notre travail est de concevoir des amorces qui encadrent le gène de l'interleukine 1beta associé au profil pro inflammatoire dans l'asthme allergique pédiatrique.

## 1.1. Asthme :

### 1.1.1. Définition de l'asthme :

L'asthme en général est défini selon **GINA** comme une maladie chronique commune potentiellement grave qui impose un fardeau substantiel aux patients, à leur famille et à la communauté. Elle entraîne des symptômes respiratoires, une limitation de l'activité et des poussées (attaques) qui parfois nécessitent des soins urgents et peuvent être fatales. (GINA Pocket guide, 2020)

**WHO** à monter que l'asthme est une maladie non transmissible de première importance qui se caractérise par des crises récurrentes où l'on observe des difficultés respiratoires et une respiration sifflante. Les symptômes peuvent se manifester plusieurs fois par jour ou par semaine et s'aggravent chez certains sujets lors d'un effort physique ou pendant la nuit. Lors d'une crise d'asthme, la paroi des bronches gonfle, ce qui entraîne un rétrécissement de leur calibre et réduit le débit de l'air inspiré et expiré. (Selon OMS).



**Figure 1 : les bronches pulmonaires normales, asthmatiques, lors crise d'asthme.**

Selon les estimations de l'OMS, il y a eu 417 918 décès dus à l'asthme au niveau mondial et 24,8 millions de DALYS attribuables à l'asthme en 2016. (Selon organisation mondiale de sante)

On estime que plus de 339 millions de personnes souffraient d'asthme dans le monde en 2016. Il s'agit d'une maladie courante chez les enfants. (Selon OMS)

Les plus gros facteurs de risque pour le développement de l'asthme sont les substances et particules qui sont inhalées et peuvent provoquer des réactions allergiques ou irriter les voies respiratoires

avec l'intervention des effecteurs immunitaires cellulaires tels que les mastocytes, les éosinophiles, les lymphocytes T et B, Mφ, les neutrophiles et les cellules épithéliales (Mims, 2015)

L'asthme peut être maîtrisé par les médicaments et une bonne prise en charge prescrite par les spécialistes pour donner une bonne qualité de vie aux patients.

### 1.1.2. Historique de l'asthme :

Le terme Asthme est cité pour la 1<sup>ère</sup> fois en Grecs Antiques, par Homer, quand il décrit l'état respiratoire d'Hector, dont Achilles a percé la poitrine avec sa lance (il paraît que celui-là ne respirait plus très bien).

Au début de notre siècle, le Grec *Arétée de Cappadoce* a décrit pour la première fois une crise d'étouffement ; il décrit l'asthme comme une soif d'air inextinguible.

C'est donc à *Arétée de Cappadoce* que nous devons la distinction de cette maladie parmi les autres, liée également au dysfonctionnement respiratoire. (LiliyaBelenkoGentet, asthmamuseum).

Moses Maimonide (1135-1204), rabbin et philosophe qui circulait entre l'Espagne, le Maroc et l'Egypte, pratiquait la médecine à la cour des sultans y habitant. Il a écrit pas mal de livres, y compris sur l'asthme. Il a remarqué qu'au cours des humides mois d'hiver (comme ils le sont au Sud), l'aggravation de l'asthme commençait comme un rhume ordinaire et a signalé que les malades se sentaient mieux dans une atmosphère chaude et sèche. Il recommandait d'éviter les remèdes violents, dormir plus, boire plus de liquide, modérer l'activité sexuelle et manger de la soupe au poulet.

Jean Baptiste Van Helmont (1579-1644), un médecin belge, croyait que l'asthme prenait sa naissance dans les tubes pulmonaires

John Floyer, médecin anglais lui-même souffrant d'asthme, a découvert au début du 18<sup>e</sup> siècle de nouveaux composants dans le mécanisme de l'étouffement : la contraction des muscles des bronches (spasme bronchique) et le gonflement (œdème) de la surface intérieure des bronches, réduisent l'éclaircie et empêchent la respiration.

En observant les malades chez lesquels les crises se développaient après leurs visites dans la cave à vin, il a pu suspecter les champignons comme une des causes de l'aggravation.

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle, l'asthmatique avait un large choix de modes de traitement, bien que leur utilité soit douteuse... Dans le guide thérapeutique de poche de Schnirer, paru à Moscou en 1910, on proposait sous le chapitre de l'asthme, injections de morphine, cigarettes à la chanvre et à l'opium, caféine en poudre, atropine, iodure de potassium, l'hydrate de chloral, arséniate et ses sels. Le célèbre poète russe AlexeiTolstoi, qui souffrait de l'asthme, est mort de l'overdose de morphine.(LiliyaBelenkoGentet, asthmamuseum).

Depuis, et malgré les progrès considérables dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques de l'asthme, et bien qu'il existe des thérapeutiques efficaces, cette maladie est souvent sous-diagnostiquée et sous-traitée. (Thèse Fatima Goumiri.2016)

### **1.1.3. Asthme Allergique Pédiatrique :**

L'asthme infantile est une maladie hétérogène.

La classification de l'asthme est généralement basée sur les endotypes, qui sont définis comme des sous-types d'une maladie basée sur des mécanismes physiopathologiques partagés. (KorneliuszGolebski et al ,2020)

L'asthme soit une maladie multifactorielle complexe caractérisée par une inflammation bronchique, l'inflammation des voies respiratoires peut changer au cours de la vie: elle est principalement neutrophile chez les enfants d'âge préscolaire et éosinophiles chez les enfants plus âgés (V. Houdouin, J.-C. Dubus et al, 2019)

-L'enfant tousse, siffle mais en réalité, s'agit-il d'asthme ou d'allergie, en fait l'allergie et l'asthme coexistent le plus souvent. L'allergie déclenche, dans certaines circonstances, des signes qui peuvent toucher de nombreux organes, ces signes peuvent être respiratoires (rhinite, toux, asthme), oculaires, cutanés, digestifs ou généraux. L'allergie n'est donc pas une maladie en soi, mais le facteur déclenchant de nombreux signes.

L'asthme du nourrisson disparaît le plus souvent en grandissant. Si sa mère est asthmatique (facteur héréditaire), s'il a déjà présenté des manifestations allergique comme une allergie alimentaire ou un eczéma, si ses tests cutanés pour les allergènes sont positifs, l'asthme du nourrisson risque plus souvent de perdurer. L'allergie est donc un facteur de moins bon pronostic de l'asthme du nourrisson. (Dr. Lahlou Najib)

Chez le nourrisson, la première définition largement utilisée est celle proposée en 1981 par Tabachnik et Levison, qui considèrent comme asthmatique « tout nourrisson de moins de 24 mois, ayant présenté au moins trois épisodes de dyspnée sifflante (ou wheezing), quels que soient l'âge de début, la fréquence des crises, l'existence ou non d'une atopie ou d'une cause favorisant le wheezing ». (Thèse Fatima Goumiri.2016)

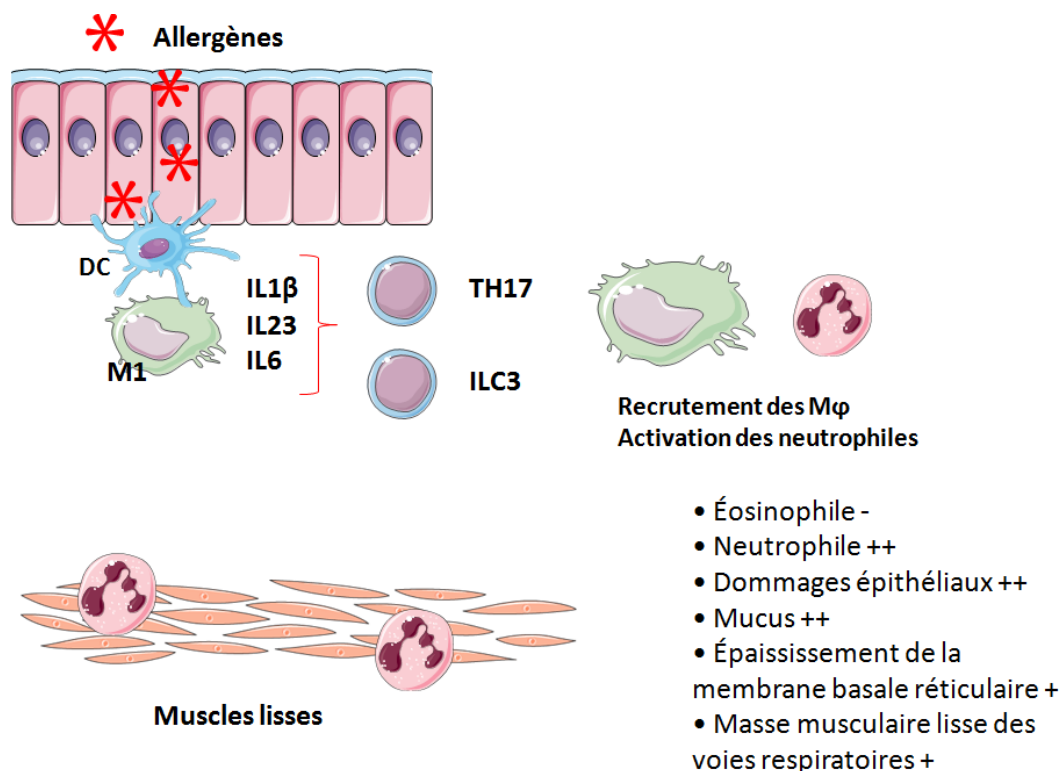
### **1.1.4. Profil inflammatoire :**

Il se caractérise par une infiltration leucocytaire dans la muqueuse des poumons. Les cellules du système immunitaire sont recrutées en réponse aux stimuli -initiateurs de la crise d'asthme et par les dommages

tissulaires associés, et jouent un rôle clé dans le développement des symptômes asthmatiques (Gauvreau *et al*, 2015; Russell et Brightling, 2017).

La réponse inflammatoire asthmatique a longtemps été considérée de type 2, plusieurs profils inflammatoires sont maintenant reconnus et la plupart des classifications distinguent les asthmes à fort profil de « type 2 ».

L'inflammation de type 2 est caractérisée par une infiltration éosinophilique de la muqueuse pulmonaire, l'activation des lymphocytes T auxiliaires (Th) 2 et des concentrations élevées en cytokines de type 2 (IL-4, IL-5 et IL-13) et immunoglobulines (IgE) dans le tissu pulmonaire ou dans le liquide broncho alvéolaire. Au contraire, les asthmes à faibles profils de type 2 peuvent présenter de l'inflammation de type 1 ou mixte, avec activation des lymphocytes Th1 et Th17, et production d'interféron (IFN)  $\gamma$  et IL-17, (Loo et Wark, 2016; Russell et Brightling, 2017), et sa production est dirigée vers profile inflammatoire de Th17 (au lieu de Treg) avec IL-1b, IL-6 et IL-23. (X. Chen, D.B. Corry, E. Li)



**Figure2 : Mécanisme immuno-pathologique de l'asthme allergique y compris macrophage, DC, neutrophiles et différentes cytokines : IL1 $\beta$ , IL6 et IL23.**

La glycolyse renforcée était nécessaire pour que l'IL-1b ou l'IL-1a soient médies en réponses pro-inflammatoires et effets stimulants de l'IL-1b sur les acariens

- L'IL-1b a été impliqué dans un certain nombre de maladies. Bien que les augmentations d'IL-1b observées ici soient non spécifiques aux seuls patients asthmatiques, l'IL-1b émerge comme une cytokine clé pertinente pour la pathogenèse de l'asthme. (X. Qian, R. Aboushousha et al, 2017).

### **1.1.5. Etiologies :**

La prévalence de l'asthme a augmenté rapidement depuis le début des années 70 en raison de l'exposition aux facteurs environnementaux ; qui vont de pair avec des changements de mode de vie, expliquant une telle augmentation rapide. L'exposition aux allergènes est un facteur de risque de sensibilisation allergique et la sensibilisation allergique est un facteur de risque d'asthme allergique. (Bénédicte Leynaert et al ,2019)

### **\*Les facteurs étiologiques et / ou d'aggravation de l'asthme**

#### **Les acariens domestiques**

Les acariens domestiques sont les pneumallergènes les plus prévalent de l'environnement intérieur. . Les symptômes surviennent dans la chambre à coucher, lors des activités de ménage, et sont améliorés en altitude. L'inhalation d'acariens active le système immunitaire inné et adaptatif, et l'exposition aux acariens est un facteur de risque de sensibilisation (Leynaert et al, 2019).

#### **-La pollution de l'air**

Preuve d'un risque accru d'asthme en raison de polluants de l'air intérieur (vapeur des détergents) ou de polluants de l'air extérieur (particules en suspension ou soufre dioxyde de carbone), (OMS 2018).

#### **-Moisissure et humidité**

L'humidité est un facteur de risque d'asthme dans le monde. Ce risque est indépendant de la sensibilisation allergique aux acariens, qui est plus courante dans les maisons humides.

L'exposition au pollen de graminées ambiant est un élément déclencheur important des exacerbations de l'asthme chez les enfants nécessitant une intervention aux urgences et cela a été récemment confirmé par un examen systémique. Il existe également peu de preuves sur le rôle de l'exposition précoce au pollen dans le développement de l'asthme infantile (Shyamali C. Dharmage et al 2019).



## **-Animaux**

L'exposition aux animaux à fourrure est souvent fréquente chez les enfants et les adultes asthmatiques. Il est prouvé que La possession d'un chat a considérablement augmenté le risque de sensibilisation. (Ihouma H, 2017).

Les alvéolites allergiques extrinsèques : la plus fréquente est la maladie des éleveurs d'oiseaux qui est due à l'inhalation de protéines aviaires. (BELOUNI.R et al, 2017)

L'exposition professionnelle : L'asthme professionnel peut se développer après inhalation prolongée de certains agents, chez les personnes sans antécédent de maladie thoracique. Les professions à haut risque comprennent boulangerie, travail du bois, agriculture, exposition aux animaux de laboratoire et l'utilisation de certains produits chimiques, notamment certain type de peintures. (The GlobalAsthma Report 2018)

## **-La fumée de tabac ambiante**

L'impact respiratoire d'une exposition précoce au tabagisme passif est bien connu depuis de nombreuses années. Portant sur 79 études prospectives a ainsi montré que l'exposition au tabagisme passif augmentait de 20 % l'incidence des sifflements et d'asthme chez les jeunes enfants et adolescents, avec un effet marqué de l'exposition prénatale chez les enfants de moins de deux ans. L'exposition précoce au tabagisme passif était associée à un risque accru de développer un asthme à différents âges de la vie. En effet, le tabagisme passif in utero était associé à risque augmenté d'asthme précoce et transitoire (entre 4 et 6 ans et pas après), bien que L'impact du tabagisme sur une mauvaise réponse à la corticothérapie inhalée dans l'asthme est rappelé. (Raheison-Semjen,2019).

## **-Régime alimentaire et obésité**

Les preuves disponibles suggèrent que les régimes largement recommandés pour prévenir les maladies cardiovasculaires et le cancer peuvent réduire légèrement le risque de l'asthme. Ainsi, la «restauration rapide» augmente le risque et les fruits et légumes frais semblent être protecteurs contre l'asthme. Un lien a également été établi entre obésité et risque accru d'asthme, à la fois chez les enfants et les adultes. (The GlobalAsthma Report 2018).

## **-Le sexe :**

Le sexe masculin est un facteur de risque qui prédomine chez l'enfant. Avant l'âge de 14 ans, la prévalence de la maladie asthmatique est deux fois plus fréquente parmi les garçons. À l'âge adulte, la prévalence de la maladie asthmatique devient plus élevée chez les femmes. (B. BOUHAJJA et al).

## -Susceptibilité génétique

. Les chercheurs ont identifié un certain nombre de variantes génétiques qui influencent le risque d'asthme, principalement chez les enfants. Cependant, il y a encore un grande lacune d '« héritabilité manquante »à découvrir, et l'interactionentre les gènes et l'environnement à travers les changements épigénétiques est

Cruellement au centre de la recherche. (The GlobalAsthma Report 2018/ charlotte.E.rutter et al,2020)

La progéniture des parents asthmatiques courent un risque accru de développer l'asthme, et l'asthme maternel est un plus grand risque que l'asthme paternel. (Mims, J.W. 2015).

Tableau 2 Synthèse des résultats des études génétiques réalisées sur les données EGEA. Partie A : principales régions génomiques rapportées liées à l'asthme et aux phénotypes associés à l'asthme. Partie B : principaux gènes et interactions gène–environnement influençant l'asthme et ses phénotypes associés.

Chrom	Partie A : études de liaison génétique		Partie B : études d'association		
	Région	Phénotype	Région	Gènes	Phénotype
1	1p31	Rhinite allergique et asthme [38,42,43]	1p31	<i>NFIA</i>	Rhinite allergique et asthme [44]
	1q43-q44	HRB × tabagisme passif dans la petite enfance [72]	1q23	<i>FCER1A</i>	IgE totales [7]
2	2p23	Score de sévérité de l'asthme [36]	1q31	<i>DENND1B</i>	IMC enfants asthmatiques [46]
	2p22-q13	Asthme [39]	2q12	<i>IL1RL1/IL18R1</i>	Asthme [7]
3	2q32	Rhinite allergique [42]	3q13.2	<i>CD200</i>	Asthme actif non allergique débutant à l'âge adulte [47]
	3p24-p14	Rhinite allergique [42]			
4	3p11-q21	Atopy [39]	3q13.11	<i>ALCAM</i>	Asthme actif non allergique débutant à l'âge adulte [47]
	4q34	HRB et tabagisme passif dans la petite enfance [72]	5q31	<i>IL13</i>	IgE totales [7]
5	5p15	HRB et tabagisme passif dans la petite enfance [72]			
5	5q13	Âge de début d'asthme et score clinique d'asthme [37]	<i>CD14</i>	Asthme et vie à la campagne dans l'enfance [60]	
	5q31	VEMS et polysensibilisation chez les hommes [70]			
6	6p21	IgE totales [38,39]	6p21	<i>HLA-DQ</i> <i>HLA-DRB1</i> <i>HLA-DPB1</i>	Asthme [7] IgE totales [7] Asthme débutant à l'âge adulte et exposition professionnelle à des allergènes de haut poids moléculaire [61]
			6q16	<i>GRIK2</i>	Asthme inactif/modéré non allergique [47]
7	7q36	Asthme avant 16 ans et exposition précoce tabac passif (< 16 ans) [59]	6q25.2-q27	<i>PARK2</i>	FeNO de l'adulte non asthmatique [51]
			7q36	<i>NOS3</i>	VEMS/CV chez les asthmatiques [45]
8	8p22	Dermatite atopique [40]	8p22	<i>TUSC3</i>	Asthme [7]
			11p14	<i>IL33</i>	Dermatite atopique [41]
11	11q23	Polysensibilisation et IgE totales chez les femmes [70]	11p14	<i>MUC15</i>	
			12q13	<i>STAT6</i>	IgE totales [7]
12	13q14	Asthme et tabagisme passif dans la petite enfance [72]	13q14	<i>DLEU7</i>	Déclin du VEMS chez les non-asthmatiques [45]
			14	14q32	
15	15q22	Asthme et tabagisme passif dans la petite enfance [72]	15q15-q21	<i>RAB27A</i>	FeNO de l'adulte [49]
			15q22	<i>SMAD3</i>	Asthme [7]
16	16p12-p11	Asthme et tabagisme passif dans la petite enfance [72]	16p12-p11	<i>IL4R/IL21R</i>	IgE totales [7]
			16q12	<i>FTO</i>	IMC [46]

Tableau 1: Différents gènes susceptibles dans l'asthme allergique pédiatrique

**Tableau2 : Les facteurs déclencheurs des crises d'asthme :**

<b>Facteur déclenchant</b>	<b>Remèdes</b>
<b>Acariens et poussières</b>	-Lavage des couvertures, housses des draps et oreillons et les exposent en soleil  -Secoue et expose des matelas au soleil  -Evite les tapis moquettes dans la maison
<b>Fumée (tabac ou autre)</b>	-Évitez les endroits enfumés et les fumeurs
<b>Poils des animaux</b>	-Évitez d'avoir des animaux
<b>Insectes (allergènes des blattes ...)</b>	-Nettoyage et utilisation des insecticides loin des patients asthmatiques
<b>Pollens</b>	-Nettoyage de maison et rester a la maison lors propagation de pollen
<b>Moisissures des maisons</b>	-Réparation et nettoyage fréquent des endroits humides
<b>Médicaments ou produits chimiques</b>	-Consultez votre médecin concernant les médicaments prends.
<b>Activités physique</b>	- Faire des exercices légers ou prendre des médicaments pour éviter les crises.

**-Gravité :**

L'asthme devenu grave ou mal contrôlé lorsque :

- Aggravation des symptômes nocturnes.
- Limitation ou incapacité de compléter les activités quotidiennes
- Le besoin de la prise des inhalateurs plusieurs fois par jour
- Les hospitalisations à cause des crises d'asthme

### 1.1.6. Prévalence :

L'asthme est une pathologie fréquente qui touche plus de 350 millions de personnes dans le monde, et environ 30 millions de personnes en Europe. Les maladies respiratoires chroniques, dont l'asthme et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) sont les maladies les plus communes, représentent la troisième cause de décès parmi les maladies chroniques, après les maladies cardio-vasculaires et les cancers et devant le diabète. L'asthme représente la 28ème cause d'invalidité dans le monde. En France, la prévalence de l'asthme est estimée entre 7 et 10% pour l'adulte, soit environ 4 millions de personnes. Chez l'enfant, l'asthme est la maladie chronique la plus fréquente et sa prévalence en France est évaluée entre 10 et 16%. Un millier de décès chaque année est attribué à l'asthme. En Europe occidentale, la prévalence de l'asthme a fortement augmenté au cours de la seconde moitié du vingtième siècle, mais depuis une décennie une stabilisation de la prévalence, voire même une diminution, a été observée dans certains pays. (Sofia Temam, 2017)

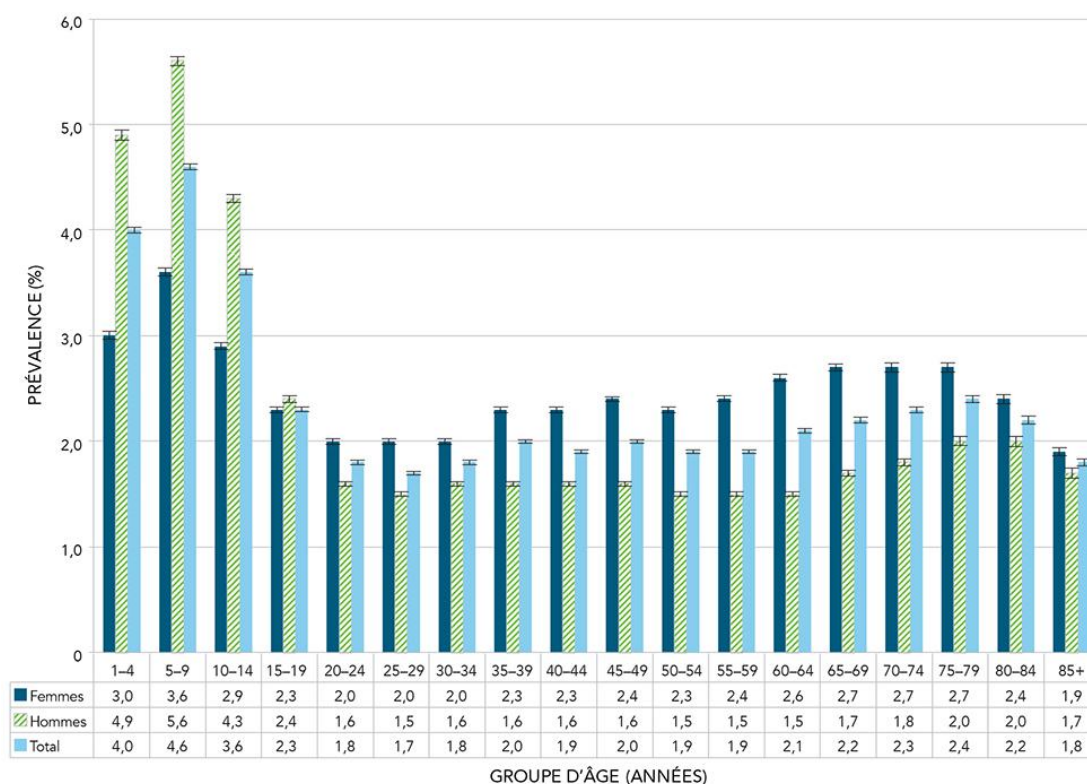


Figure 3 : La prévalence de l'asthme selon le sexe et l'âge.

### -Prévalenced'asthme en Algérie

La prévalence et l'impact de l'asthme en Algérie sont peu connus, bien que très peu de données épidémiologiques sont disponibles qui sont relativement vieux. Une autre enquête menée dans les régions d'Afrique du Nord, L'Algérie, le Maroc et la Tunisie ont indiqué que la prévalence de l'asthme était de 3,45% en Algérie. Les taux de prévalence entre les deux sexes étaient comparables; Néanmoins, il était le plus élevé chez les enfants de moins de 16 ans et chez les aînés au-dessus 54 ans.

-Global data epidemiologistsprédit qu'ilsera d'environ 161 millions de cas courants à avoir del'asthme d'ici 2023, avec une croissance globale de 17% les 10 prochaines années. (JaideepGogtayet al, 2019).

### **1.1.7. Les types d'asthme**

L'asthme peut être classé de différentes manières. Une des classifications proposée est fondée sur l'intensité des symptômes. D'après le CHU Toulouse, Cette classification peut être utile lors de la première évaluation pour le choix du traitement initial. Toutefois, cette classification rend compte de la sévérité de la maladie sous-jacente, mais non de la qualité de la réponse au traitement. Elle n'est pas bien adaptée à l'enfant. Une approche plus récente, fondée sur la qualité du contrôle de la maladie à un moment donné sous un traitement donné a pour objectif de statuer sur la qualité de l'équilibre de la maladie et d'aider aux adaptations thérapeutiques pour atteindre cet équilibre. Cette dernière classification est actuellement préférée pour le suivi des enfants asthmatiques et leurs adaptations thérapeutiques

Il existe deux grandes typologies d'asthme :

1. **l'asthme intermittent** : cela signifie qu'il n'y a aucun symptôme entre les crises qui sont peu fréquentes. Les symptômes peuvent apparaître au cours d'un effort ou d'un stress par exemple. Ils sont occasionnels et brefs.
2. **l'asthme persistant** : les symptômes de l'asthme restent perceptibles entre les crises. Un traitement de fond est instauré en fonction de l'intensité et de la fréquence des symptômes. On dénombre trois sous-types d'asthmes persistant :
  1. **l'asthme persistant léger** : les symptômes ou la prise de bronchodilatateur ont lieu 1 à 2 fois par semaine. L'asthme nocturne est présent au moins deux fois par mois.
  2. **l'asthme persistant modéré** : les symptômes sont quotidiens ainsi que le recours au bronchodilatateur. L'asthme nocturne est présent au moins une fois par semaine.
  3. **l'asthme persistant sévère** : les symptômes sont permanents. L'asthme nocturne est fréquent. Les activités physiques sont limitées par l'asthme

	Intermittent	Persistant		
		Léger	Modéré	Sévère
Symptômes	< 1 fois/semaine  Asymptomatique	≥1 fois/semaine  ±Activités gênées	Quotidiens  Activités gênées	Permanents  Activité physique limitée
Symptômes nocturnes	≤ 2 fois/mois	> 2 fois/mois	>1 fois/semaine	Fréquent
DEP/VEMS	≥80%	≥80%	60–80%	<60%
ΔDEP	< 20 %	20–30 %	> 30 %	> 30 %

**Tableau3 : Classification de sévérité d'asthme selon GINA**

### 1.1.8. Diagnostic de l'asthme :

Pour réaliser le diagnostic de l'asthme il faut tout d'abord que le patient réponde au questionnaire proposé par le spécialiste pour déterminer l'intensité et l'aggravation des symptômes : respiration sifflante, l'essoufflement et l'oppression thoracique afin de confirmer la présence de maladie, son type et l'exacerbation durant le jour ou nuit, mais pour **confirmer le diagnostic et juger de la gravité de l'asthme**, d'autres **examens et tests** peuvent ensuite être réalisés.

- **épreuves fonctionnelles respiratoires** :

Débit expiratoire de pointe (DEP) est un outil basique mais précieux pour le diagnostic et le suivi des asthmes avec démonstration d'une obstruction diurne variable du flux d'air évocateur d'asthme et de mauvais contrôle continu.

Ils permettent de rechercher une hyperréactivité bronchique, La spirométrie constitue le pilier de l'évaluation des maladies des voies respiratoires, mais une mesure de bonne qualité est essentielle. (Thomas L Jones et al)

- La spirométrie est peut-être le test le plus facilement accessible qui puisse être utilisé pour étayer un diagnostic d'asthme. La présence d'un tableau obstructif, avec un rapport FEV1 / FVC <70%, et la réversibilité associée suite à l'administration d'un bronchodilatateur est conforme à l'asthme. Bien que la plupart pensent que la spirométrie est utilisée pour aider à confirmer un diagnostic d'asthme chez les adultes. (Menzie-Gow, Sejal Saglani, 2019)

- **une radiographie pulmonaire** : recherche des signes liés à l'asthme comme la distension thoracique et un foyer infectieux associé.

### Les tests cutanés et les bilans allergologiques :

Recherchent la présence des anticorps spécifiques d'un allergène sur les IgE correspondants, induits une dégranulation mastocytaire et libération d'histamine. (L.Tetu et A, Didier.)

-les Troubles de la santé mentale (p. Ex., Anxiété, dépression et crises de panique) sont plus fréquentes dans l'asthme. Symptômes d'anxiété (hyperventilation, dyspnée et toux) peuvent imiter les poussées d'asthme. Le stress psychologique peut contribuer à une mauvaise observance du traitement, plus grande inflammation des voies respiratoires, et un mauvais contrôle de l'asthme. (Papi et al.2017).

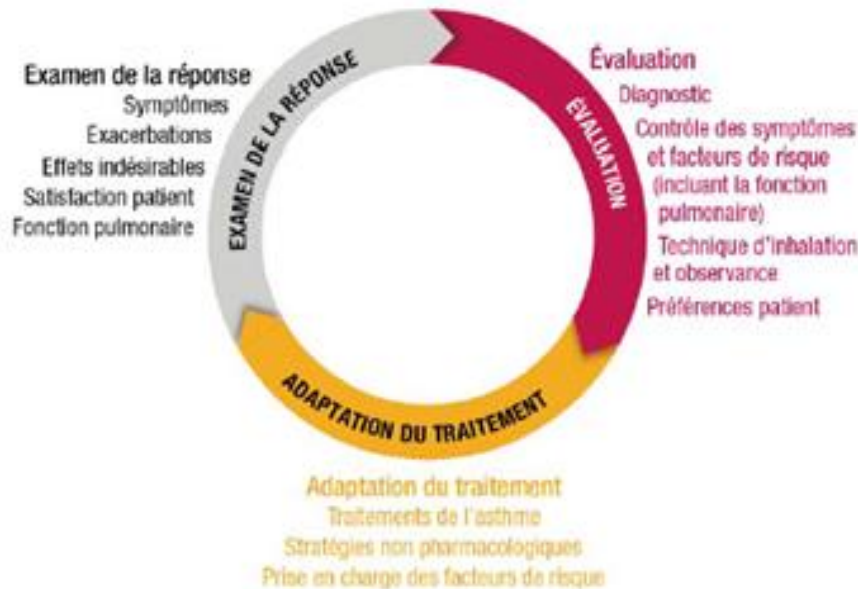
#### **1.1.9. Traitement de l'asthme :**

Les spécialistes voyant la nécessité d'une combinaison entre les médicaments et une prise en charge précise qui va aider les sujets asthmatiques à améliorer leur qualité de vie tout en s'adaptant à la maladie. Etant donné qu'il est obligatoire d'informer le patient ou les parents par les points suivants :

- Informations sur l'asthme
- Différents inhalateurs et leurs utilités
- L'adhérence à certaines normes
- Auto surveillance des symptômes
- Visites médicales régulières

## SUGGESTIONS DU GINA POUR LE TRAITEMENT DE L'ASTHME (6 ANS et+)

La communauté GINA a proposé dernièrement en 2020 des stratégies pour contrôler l'asthme chez les enfants entre 6 -11 ans présenter ci-dessous :



**Figure 4: Evaluation du contrôle de l'asthme selon GINA**

-certains médicaments ont pour but de limiter le déclenchement des crises d'asthme, ils contiennent principalement des corticoïdes à faibles doses sous forme d'inhalateurs en aérosol doseur, médicament analgésiques à action rapide améliorant la respiration et réduisant l'inflammation des bronches. (GINA2019)

-Les médicaments de soulagement : contenant des bêta 2 agonistes ayant une action rapide et effets bronchodilatateurs rapides et continus symptômes (GINA2020)



	ETAPE1	ETAPE2	ETAPE3	ETAPE4	ETAPE5
<b>Contrôleur préféré (pour éviter exacerbation des symptômes)</b>	ICS-LABA a faible dose lors besoin	-Faible dose des corticoïdes inhalés (ICS) ou faible dose ICS/LABA	ICS ou LABA a faible dose.	dose moyenne d ICS_LABA	Forte dose ICS-LABA Référer pour évaluation phénotypique, l ajoute d'un traitement
<b>Autres contrôleurs proposées</b>	ICS a faible dose consommé avec SABA	LTRA quotidienne ou ICS pris chaque fois le SABA pris.	Dose moyenne de ICS ou Faible dose d ICS+LTRA	Forte dose de ICS_LABA ou ajouté soit le Tiotropium ou LTRA	L ajoute d'un anti-IgE, faible dose d OCS prend en considération les effets secondaires
<b>Médicaments de secours</b>	ICS-LABA (formoterol)		ICS-LABA pour les patients suivent un traitement d'entretien et de soulagement prescrit.		
<b>Autres médicaments de secours</b>	B2 agonist a courte durée d'action lors besoin				

**Tableau4 : Stratégies de contrôle d'asthme dans différents stades GINA2020**

## 1.2. L'interleukine 1 beta

### 1.2.1. Interleukine -1 $\beta$ :( aussi IL1F2)

L'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) est une cytokine pro-inflammatoire puissante qui est cruciale pour les réponses de défense de l'hôte à l'infection et aux blessures. Il est également le plus caractérisé et le plus étudié des 11 membres de la famille IL-1. Il est produit et sécrété par divers types de cellules, bien que la grande majorité des études se soient concentrées sur sa production dans les cellules du système immunitaire inné, comme les monocytes et les macrophages.

Il est produit en tant que précurseur inactif de 31 kDa, appelé pro-IL-1 $\beta$ , en réponse à des(PAMP). Les PAMP agissent par le biais des récepteurs de reconnaissance de formes (PRR) sur les macrophages pour réguler les voies qui contrôlent l'expression des gènes. L'induction de l'expression de pro-IL-1 $\beta$  est généralement appelée une étape d'amorçage et est un stimulus de sécrétion inefficace. La cellule amorcée doit maintenant rencontrer un autre PAMP, ou DAMP (modèle moléculaire associé au danger,

molécules endogènes libérées des cellules mortes) pour induire le traitement et la sécrétion d'une molécule active d'IL-1 $\beta$ . (Mayassa J et al 2016)

L'IL-1 $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  sont des cytokines pro inflammatoires pléiotropes qui jouent de nombreux rôles dans les maladies inflammatoires et auto-immunes. Dans l'immunité adaptative, les cytokines IL-1 jouent un rôle fondamental dans l'activation et la différenciation des cellules Th1 et Th17 chez l'homme et la souris. (Xiaoping et al, 2017)

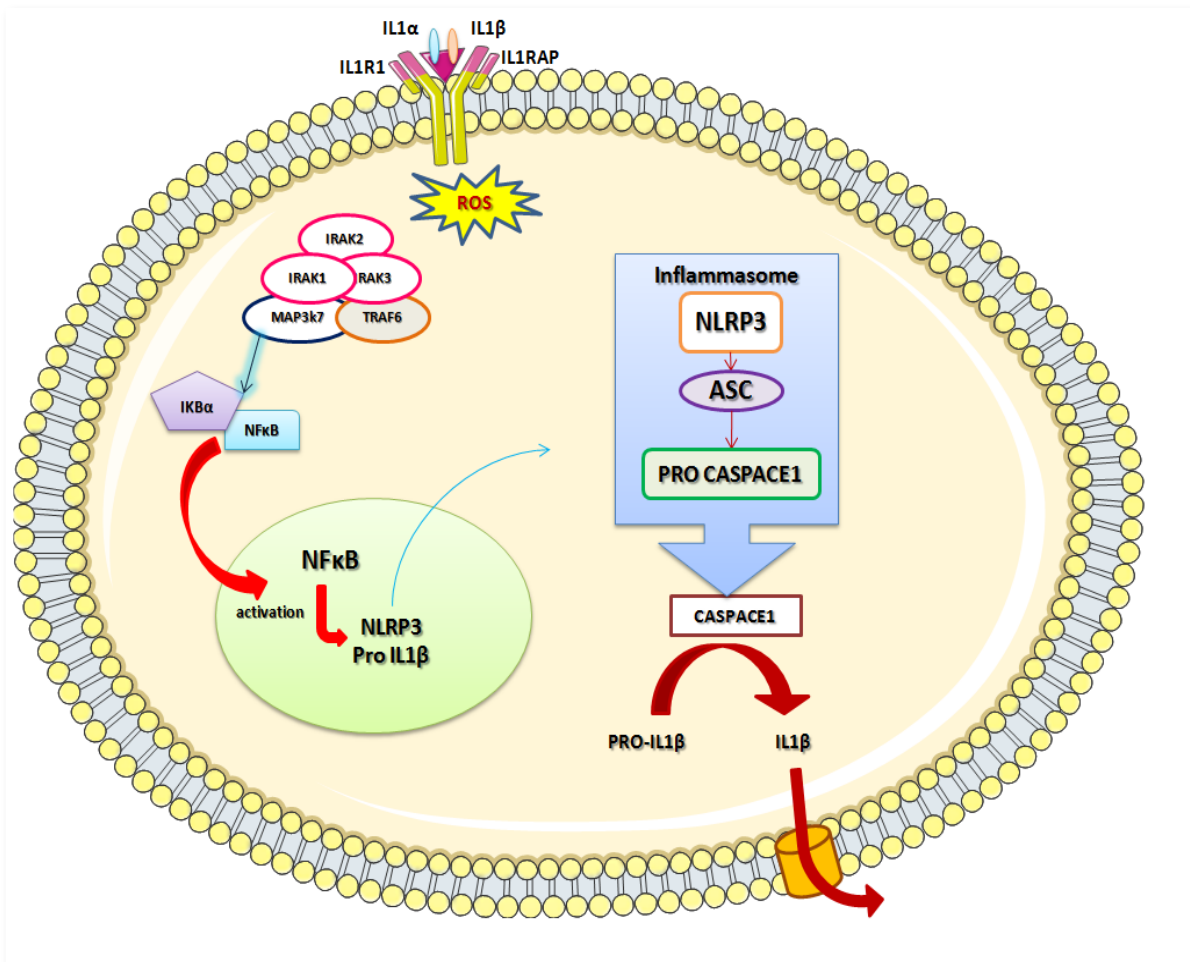
### **1.2.2. Activation IL-1 $\beta$ :**

La protéine codée par ce gène appartient à la famille des cytokines interleukine 1. Cette cytokine est produite par des macrophages activés sous forme de pro-protéine, qui est transformée protéolytiquement en sa forme active par la caspase 1 (CASP1 / ICE). Cette cytokine est un médiateur important de la réponse inflammatoire et est impliquée dans une variété d'activités cellulaires, notamment la prolifération, la différenciation et l'apoptose cellulaires. L'induction de la cyclooxygénase-2 (PTGS2 / COX2) par cette cytokine dans le système nerveux central (SNC) s'avère contribuer à l'hypersensibilité à la douleur inflammatoire. Ce gène et huit autres gènes de la famille des interleukines 1 forment un cluster de gènes de cytokines sur le chromosome. (Mayassa J et al 2016).

### **1.2.3. Récepteurs IL-1 :**

La famille des ligands d'IL1 composée de 11 molécules : 7 molécules avec activité agoniste (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33, IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , IL-36 $\gamma$ ), 3 molécules sont des récepteurs antagonistes (IL 1Ra, IL-36Ra, IL-38) et une molécule anti-inflammatoire (IL37). (Mayassa J et al 2016)

L'IL-1 possède deux récepteurs: le récepteur I de l'interleukine-1 (IL-1R-I) et le récepteur II de l'interleukine-1 (IL-1R-II). Lors de la liaison du ligand, le récepteur s'hétérodimérise avec la protéine accessoire du corécepteur (IL-1RAcP également connu sous le nom d'IL-1R3) pour déclencher les voies de transduction du signal en aval. La transduction du signal provoquée par IL-1 se produit exclusivement par IL-1RI. IL-1RII fonctionne comme récepteur leurre car il manque un domaine Toll / IL-1R (TIR), IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et extracellulaire pro IL-1 $\alpha$  se lie à IL-1RI avec la même affinité. La transduction du signal en aval est initiée par l'activation de l'IRAK (kinase associée au récepteur de l'IL-1), suivie de l'activation de les facteurs de transcription (tels que le facteur nucléaire kappa B [NF- $\kappa$ B] et la signalisation par voie c-Jun N-terminal kinase et p38 mitogen-activé protéine kinase (JNK-MAPK), résultant la régulation ultérieure de l'expression des gènes inflammatoires. (Mayassa J et al 2016)



**Figure5 : différentes activation et production de l'interleukine 1 β**

#### **1.2.4. Régulation d'IL-1 :**

Plusieurs inhibiteurs endogènes régulent l'IL-1 pour éviter une réponse inflammatoire excessive. Ces inhibiteurs naturels comprennent IL-1Ra et IL-1RII. IL-1Ra agit comme un inhibiteur compétitif de l'activité de l'IL-1α et de l'IL-1β. Deux isoformes bien caractérisés d'IL-1Ra sont identifiés: l'isoforme soluble extracellulaire glycosylée (IL-1Ra) principalement produit par les macrophages activés et les monocytes; et l'isoforme intracellulaire non glycosylé (icIL-1Ra) principalement produits par les KC. Les deux isoformessont codés par le même gène, mais l'isoforme intracellulaire à un site de départ de transcription différent et aucune séquence leader pour la sécrétion. IL-1RII est un récepteur leurre qui se lie à IL-1α et IL-1β avec des affinités élevées et peut être soit soluble ou lié à la membrane. La liaison d'IL-1 aux séquestrant IL-1RII sont liés à la membrane IL-1AcP et forment un complexe non signalant, privant la signalisation IL-1 normale par IL-1RI de IL-1AcP. L'isoforme extracellulaire soluble peut se lier avec une affinité élevée aux deux agonistes de l'IL-1R, alors que l'isoforme intracellulaire a une plus grande affinité pour le pro IL-1α et peut donc réguler son activité pro-inflammatoire. Ces mécanismes conduisent à une

neutralisation optimale de l'IL-1 $\alpha$  et IL-1 $\beta$  et donc, l'inhibition de l'inflammation stérile. (Mayassa J et al/2016)

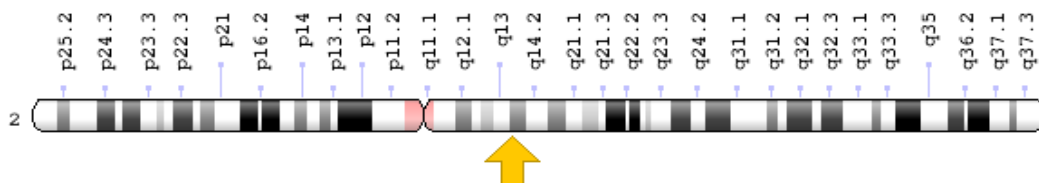
### 1.2.5. Le Gène

La fiche du gène sur la base des données génétiques montre que l'IL1B (Interleukine 1 Beta) est un gène de codage des protéines. Les maladies associées à IL1B incluent le cancer gastrique, les syndromes héréditaires diffus et le choc toxique. Parmi ses voies apparentées figurent la voie de différenciation Th1 et la lignée cellulaire hématopoïétique. Les annotations de Gene Ontology (GO) liées à ce gène incluent la liaison spécifique au domaine protéique et la liaison au récepteur de l'interleukine-1. Un paralogue important de ce gène est IL1RN.

Location génomique du gène d'IL1B

D'après NCBI le gène de l'interleukine 1 beta se situe dans le chromosome 2 locus : 2q14.1.

*chr2:112, 829,751-112, 836, 816, avec 7,066 bases.*



**Figure 6: location de gène codant pour il1 $\beta$  dans chms2.**

### 1.2.6. Inhibition

Contrairement aux membres pro-inflammatoires de la famille IL-1, IL-1ra, IL-36Ra, IL-37 et IL-38 ont des effets anti-inflammatoires. IL-1ra antagonisent l'activité IL-1 en se liant à IL-1 RI. Cela empêche l'IL-1 alpha et l'IL-1 bêta d'interagir avec leur sous-unité de récepteur principal et inhibe le recrutement de l'IL-1 RAcP. De même, IL-36Ra se lie à IL-1 Rrp2 et inhibe la signalisation d'IL-36. On en sait moins sur IL-37 et IL-38, mais les deux ont également été suggérés comme ayant des effets anti-inflammatoires.

<https://www.rndsystems.com/pathways/il-1-family-signaling-pathways>

### **1.2.6. Interleukine 1 $\beta$ et asthme :**

L'IL1 beta est une interleukine pro-inflammatoire (Charles A. Dinarello, 2018), qui peut stimuler la prolifération et la survie d'ILC3. Dalmas et coll. ont confirmé le rôle de l'IL-1 $\beta$  sécrété par les macrophages, dans la production d'IL-17 (MarwaChehimi et al ; 2017), et l'augmentation des neutrophiles (plutôt que des éosinophiles) ou des granulocytes mixtes infiltrant les voies aériennes. (H. Le Thi Thu, A. Nguyen Thi Van et al).

-L'IL1 $\beta$  a récemment été discuté dans l'asthme sévère et dans les exacerbations de la maladie obstructive chronique pulmonaire. Le possible rôle de l'IL-1 $\beta$  dans l'exacerbation est dû à la reconnaissance des formes (PRR). L'infection active les PRR pour augmenter l'expression de la pro-IL-1 $\beta$  qui sera transformée en forme mature et active et qui fait augmenter le NLRP3 dans les neutrophiles des sujets asthmatiques. (Irma MahmutovicPersson et al, 2018)

De nombreuses cytokines, à la fois pro et anti-inflammatoires, ont été détectées dans les maladies inflammatoires, et il a été démontré que l'équilibre entre ces activités de cytokines opposées régule la gravité de la maladie dans l'asthme. L'asthme est étroitement associé à une expression accrue du TNF, de l'IL-1, de l'IL-6 et de l'IL-17A. Ces dernières sont libérées par les cellules CD4 + induites. TNF-, IL-1, IL-6 et IL-17A ont été considérées comme des cytokines essentielles dans la pathogenèse de l'asthme. Ces cytokines sont plus élevées dans le surnageant des asthmatiques par rapport aux témoins sains. (RihabCharrada, B, Anissa Berraïesa. 2015)

-Aussi l'IL-6, l'IL-1 $\beta$ , le TGF- $\beta$ , et l'IL-23 sont impliquées dans la différenciation de Th17 chez l'homme. L'expression de l'IL-17 est augmentée dans les crachats et la muqueuse bronchique des patients asthmatiques. . (H. Le Thi Thu 1, A. Nguyen Thi Van et al).

L'entrée des allergènes à travers l'épithélium bronchique induit au recrutement et à la polarisation des CPA (cellules présentatrices d'antigène) telles que les macrophages et les cellules dendritiques. Ces dernières réagissent en libérant des facteurs chimio attracteurs des cellules immunitaires.

le TGF- $\beta$ , IL1 $\beta$  et IL23 sont orientées pour la stimulation des cellules TH17 et pour activer les ILC3.

Ces cellules enfin (TH17+ILC3) vont sécréter l'interleukine 17 qui est lui-même facteur d'exacerbation des inflammations des maladies chroniques, qui a comme résultat la perturbation et le recrutement des macrophages et des neutrophiles au site d'inflammation pour éliminer les antigènes provoquant un dommage tissulaire.

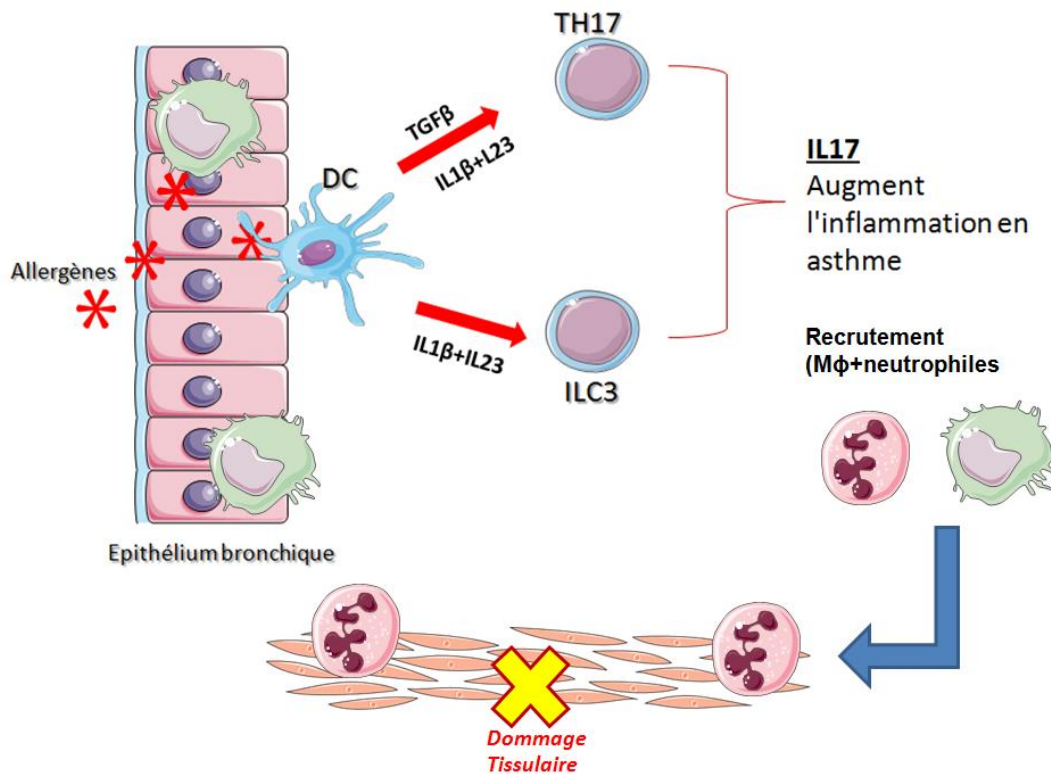


Figure 7: Rôle de l'IL1β dans l'asthme.

### 1.3. La PCR (Polymérase chaine réaction)

#### 1.3.1. Définition

C'est une méthode révolutionnaire développée par Kary Mullis dans les années 1980. La PCR est une technique d'amplification enzymatique (Céline Deluzarche) basée sur l'utilisation de la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser un nouveau brin d'ADN complémentaire du brin matrice proposé. Cet outil est devenu fondamental pour les recherches biomédicales pour avoir la capacité à produire une grande quantité d'ADN ou bien la détection à partir d'une petite amorce. (Hawkins, S. F. C., & Guest, P. C. 2016).

#### 1.3.2. Principe

La technique de la PCR consiste à amplifier une région spécifique de l'ADN in vitro pour obtenir une quantité suffisante pour la détecter et l'étudier en fin.

Il faut prendre en considération que la séquence d'intérêt doit être ciblée comme première étape. Les amorces d'amplification contenant presque une vingtaine d'oligonucléotides, se fait à l'aide d'un thermocycleur en température entre 56-62 °C.

### 1.3.3. Etapes de PCR

Une PCR se réalise en trois étapes :

- **Etape 1** : (dénaturation) les deux brins d'ADN sont séparés pendant 5 minutes (95°C).
- **Etape 2** : (Hybridation) : température (50-70 °C), les amorces sont constituées de courts fragments d'ADN et viennent s'hybrider sur les brins d'ADN,
- **Etape 3** : (Elongation) : une enzyme polymérase, la Taq polymérase, complète la synthèse du brin d'ADN à partir de l'amorce grâce aux oligonucléotides présents pour l'élongation de nouveaux brins complémentaires.

-des cycles consécutifs sont créés à l'aide du thermocycleur ce qui permet d'automatiser la réaction en PCR.

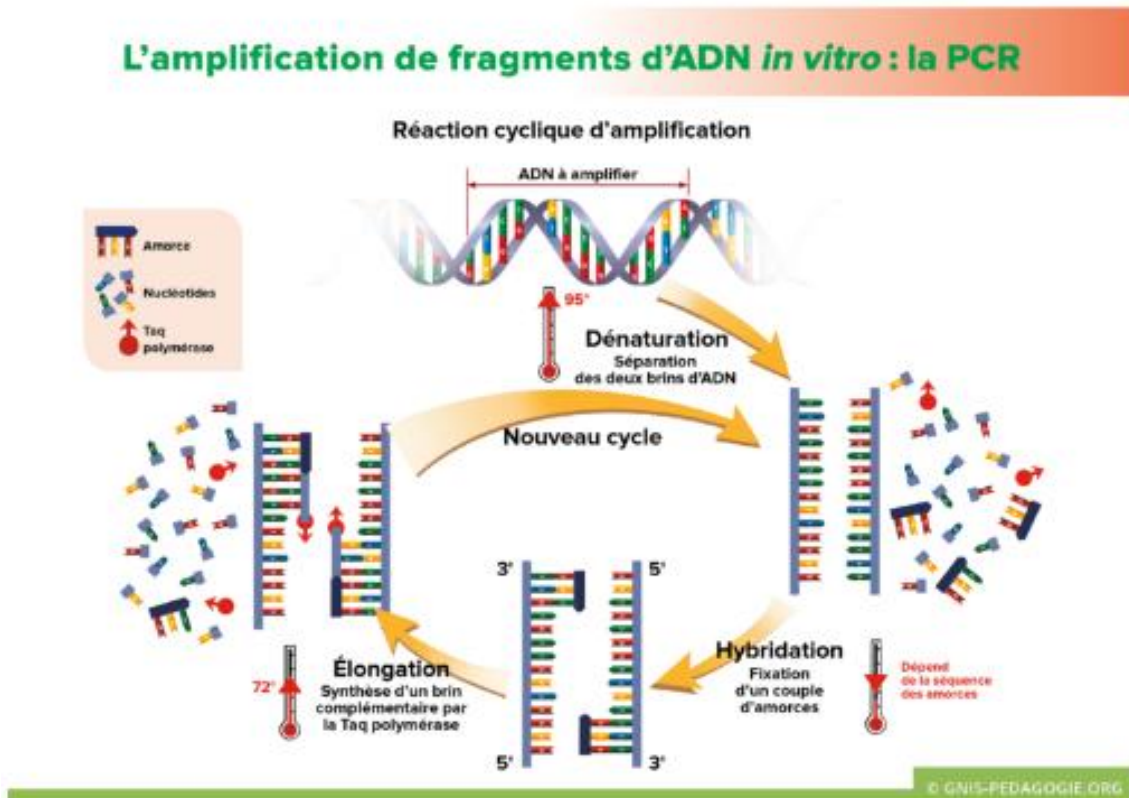


Figure 8: Etapes de PCR

-**Les acteurs de la PCR** sont :

#### 1. **L'ADN**

l'ADN est extrait à partir de l'échantillon que l'on veut analyser. Puis, cet extrait purifié en ADN, contenant le fragment d'ADN que l'on souhaite amplifier par PCR.

#### 2. **Les deux amorces anti sens**

3. La taille de ces amorces est généralement d'une vingtaine de **désoxyribonucléotides** capable de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases, sur l'un des deux brins d'ADN. Les amorces sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier. De plus, les amorces sont en très forte concentration par rapport à celle de l'ADN à amplifier.

#### 4. **Les DésoxyriboNucléotides-Tri-Phosphates (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)**

Des molécules de base, qui constituent l'ADN, utilisés pour la synthèse du nouveau brin d'ADN complémentaire.

#### 5. **L'enzyme, Taq polymérase**

C'est une polymérase, qui synthétise un nouveau brin d'ADN à partir du brin d'ADN matrice après s'être fixée à une amorce.

#### 6. **Le milieu réactionnel**

Contient : la séquence à amplifier, les dNTPs, les deux amorces anti sens, la Taq polymérase, un tampon et des ions magnésium (MgCl<sub>2</sub>).

### 1.3.4. **Choix des amorces**

Le choix des amorces est essentiel pour assurer la meilleure amplification de gène(ADN) cibler du mélange pour éviter la contamination d'échantillon avec d'autres parties ADN non désirées. des logiciel de biotechnologie telque « ensemble.org » sont utilisés pour faciliter le choix des amorces en considérant les points suivants :

- Les températures d'hybridations(T<sub>m</sub>), Les oligonucléotides amorces doivent s'hybrider à l'ADN matrice dans les mêmes conditions de température.
- Les séquences non complémentaires (en particulier en 3').
- des séquences qui ne contiennent pas de séquences répétées inversées (pas de repliement intramoléculaire).

Il est alors possible de synthétiser les deux oligonucléotides (d'une vingtaine de bases).



**\*une bonne paire d'amorces doit être :**

**A-** Spécifique à la région désirée seulement.

**B-** Absence de complémentarité entre les amorces sens et anti sens.

**C-** A une longueur entre 20 a 25 nucléotides.

**D-** Sa teneur en GC =40% en 3'

**E-** La différence entre température d'hybridation ( $T_m$ ) et les amorces est  $<4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Problématique :**

L'interleukine 1 beta est une cytokine de famille 1 à activité pro inflammatoire impliquée dans l'inflammation du système respiratoire des enfants ayant un asthme allergique. Cette cytokine a un effet sur la progression et l'aggravation de la maladie, l'étude du gène codant pour cette molécule en utilisant la biotechnologie et la PCR nous permettra de mieux connaître cette molécule, ce qui optimiserait le traitement de la maladie en ayant recours à une thérapie ciblée, d'où l'objectif de notre étude qui consiste à concevoir les bonnes paires d'amorce afin d'assurer la réussite de la PCR.

**Objectif :**

Concevoir la bonne paire d'amorce à l'aide de PCR et des logiciels de la bio-informatique tels que le Primer Blast.

**But :**

Choisir le bon couple d'amorces pour le Primer Blast qui assure l'amplification de la PCR qui fait l'intérêt de notre étude concernant le gène IL  $1\beta$ , une cytokine qui participe dans la progression d'une variété de maladies respiratoires.

## II-MATÉRIELES ET MÉTHODES :

### 1-Conception des amorces pour la PCR:

La conception d'amorces appropriées est essentielle au succès d'une expérience de PCR. Lors de la conception d'un ensemble d'amorces dans une région spécifique de l'ADN souhaité pour l'amplification, une amorce doit s'hybrider au brin plus, qui par convention est orienté dans la direction 5' → 3' (également connu comme le brin sens ou non modèle) et l'autre amorce doit compléter le brin moins, qui est orienté dans la direction 3' → 5'

Il y a quelques problèmes courants qui se posent lors de la conception des amorces:

- Auto-hybridation avec les amorces entraînant la formation de structures secondaires telles que des boucles en épingle à cheveux.
- hybridation des amorces à l'autre, plutôt que de la matrice d'ADN, la création d'amorce dimères
- Des températures de fusions ( $T_m$ ) pour chaque amorce, ce qui rend difficile de sélectionner une température de recuit. (Todd C. Lorenz)

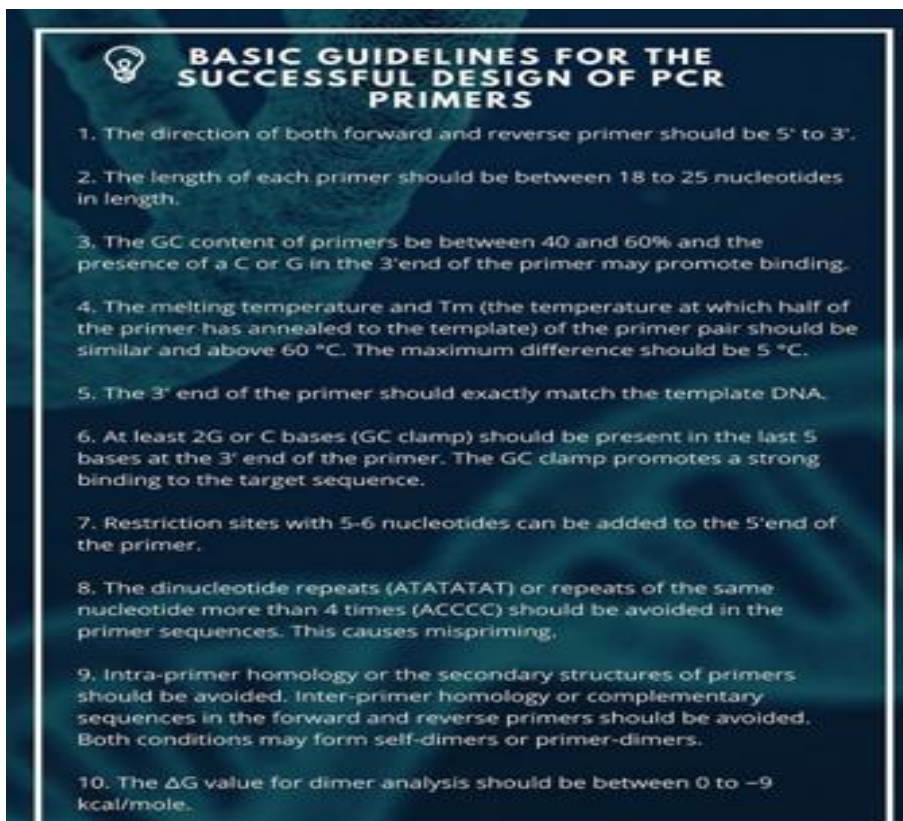


Figure 9 : Instructions

pour le succès du pcrprimers

## **2- La Sélection d'amorce :**

Avant de procéder à la conception, plusieurs facteurs doivent être pris en considération la conception de l'amorce a deux objectifs: la spécificité et l'efficacité de l'amplification.

La spécificité est la fréquence des événements d'amorçage appropriés - dérivations incorrectes aux amplifications hors cible.

### **A. La spécificité**

La spécificité est la fréquence des événements d'amorçage appropriés - dérivations incorrectes aux amplifications hors cible, bien qu'utilisé consciemment, il peut servir à chasser pour les séquences associées.

### **B. L'efficacité :**

C'est L'augmentation du produit à chaque cycle de PCR; l'optimum théorique est une multiplication par deux. L'application détermine l'équilibre entre ces paramètres. Par exemple, dans le diagnostic, l'efficacité est sacrifiée pour une spécificité, minimisant les faux positifs pour un coût moindre de produit PCR

-Plus l'apprêt est court, plus le recuit avec le gabarit est rapide et plus la spécificité est faible par conséquent, les amorces <18 nucléotides de longueur sont susceptible de mal fonctionner avec des modèles complexes.

- Plus l'apprêt est long, plus l'efficacité est faible (une petite inefficacité propagée avec le nombre de cycles). Cependant, un apprêt plus long conduit à une spécificité plus élevée en raison de la longueur de l'amorce (4 fois par base ajoutée) et sa température de fusion. (Ruben Alvarez-Fernández)

En résumé, l'utilisation d'amorces d'une longueur minimale garantissant  $T_m > 54$  C est recommandée pour équilibrer la spécificité et l'efficacité en général conditions (Dieffenbach et al, 1993)

### **C. Longueur :**

La spécificité est généralement contrôlée par la longueur de l'amorce et la température d'hybridation de la réaction PCR. Oligonucléotides entre 18 et 24 bases ont tendance à être très spécifiques de la séquence si la température de recuit de la réaction de PCR est réglée à quelques degrés de l'amorce. En résumé, l'utilisation d'amorces d'une longueur minimale garantissant  $T_m > 54$  C est recommandée pour équilibrer la spécificité et l'efficacité en général conditions. (Álvarez-Fernández, R. 2013)

#### **D. Température :**

Les amorces PCR doivent conserver un contenu GC raisonnable et des Oligonucléotides 20 bases longues avec une teneur en G + C de 50% ont généralement des valeurs T<sub>m</sub> de l'ordre de 56-62 C°, Cela fournit une fenêtre thermique suffisante pour un recuit efficace.

Dans une paire d'amorces, le contenu GC et T<sub>m</sub> doit être bien assortis. Sinon les paires d'amorces correspondantes peuvent être moins efficaces et moins spécifiques. (Dieffenbach et al, 1993)

#### **E. Teneur en GC :**

La teneur optimale en G-C doit être comprise entre 40 et 60%.

L'extrémité 3' des amorces doit contenir un G ou C afin de serrer l'amorce et empêcher la «respiration» des extrémités, augmentant ainsi l'amorçage

L'efficacité de La «respiration» de l'ADN se produit lorsque les extrémités ne restent pas recuites mais s'effilochent ou se séparent. Les trois liaisons hydrogène dans les paires GC aident à empêcher la respiration mais aussi augmenter la température de fusion des amorces. (Todd C. Lorenz)

Il faut éviter également les courses de mononucléotides de plus de 4 nucléotides (par exemple, GGGG) et des répétitions de plus de 4 dinucléotides (par exemple, ATATATAT), car ils peuvent provoquer un mauvais amorçage et un glissement de la polymérase (Álvarez-Fernández, R. 2013)

#### **F. La séquence à l'extrémité 3' :**

Conception des amorces proches du 3'-end est suggérée pour éviter la sous-estimation de la concentration cible. (Álvarez-Fernández, R. 2013), c'est pour cela la présence des bases G et C contenant triple liaisons hydrogéniques assurent la meilleure amplification.

### 3- Recherche de la séquence de référence du gène IL1 beta

La conception des amorces qui encadrent l'IL1 $\beta$  commence par la recherche de la séquence de ce gène (il1 $\beta$ ), Nous avons utilisé la banque des gènes <[www.Ensembl.org](http://www.Ensembl.org)> comme base de données comme le montre la figure.

Gene: IL1B Jobs

**Gene: IL1B** ENSG00000125538

Description interleukin 1 beta [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:5992]

Gene Synonyms IL-1B, IL1-BETA, IL1F2

Location [Chromosome 2: 112,829,751-112,836,816](#) reverse strand.  
GRCh38:CM000664.2

About this gene This gene has 8 transcripts ([splice variants](#)), [257 orthologues](#), [7 paralogues](#), is a member of [1 Ensembl protein family](#), and is associated with [1 phenotype](#).

Transcripts [Show transcript table](#)

**Marked-up sequence**

[Download sequence](#) [BLAST this sequence](#)

Exons IL1B exons All exons in this region

Markup loaded

```
>Chromosome:GRCh38:2:112829151:112837416:-1
TSAGCTATCTCCAGGGTTCCCACTCCGTCAGAGACTGAAACCTGCATACCGTATG
TTCTCTGCCCCAGCCAGAAAGGTCAATTTCTCTGAGAGGCTCTGCAATTGACAGAG
AGCTCTTGAGGACAGAGAACAGCACCAGGTAGAGACCCACCCCTCAATACAGCAGGG
AGGGCTATTGGCCCTTCATTGTACCCATTTATCCATCTGTAGTGGGAAGATTCCTAAC
TTAAGTACAAAGAGTGAATGAGAAAGTATGTGCA7GTATAAATCTGTGTCTTCCA
CTTTGCCACATATACTAATTTAAACATTTCTAAGCTGGGAAATCCAGTATTTTA
ATGAGACATCAACTGCACACGATTTGTCAGGAAACAAATGCAATTTGCATGGTATAC
ATTTGAAATGTTGATATTTGCTACTGCTTCCCTTCCATGAAACAGAGATATCT
CAGTTATAGTCCCTCCCTTAAGAGCTTCCACCAATACTCTTTCCCTTTGCTTTA
ACTTGATGTGAAATCAGGTATTCAACAGAGAAATTTCTCAGCCCTCTACTTCTGCTTT
GAAAGCCATAAAAAACAGGAGGAGAAACTGGCAGATACCAAACTCTTCGAGGACAAAG
GCACAAAGGCTGCTCTGGGATTTCTCTCAGCCAATCTTCAATTGCTCAAGTATGACTTTA
```

Figure 10: Séquence du gène codant pour l'interleukine 1 beta « ensemble.org ».

La figure suivante représente la séquence codant pour le gène de l'IL1 $\beta$  fournis par la base des données ENSEMBL en considérant que :

- Les parties représentées en gris codant pour des introns.
- Les parties représentées en rouge codant pour des exons.

```

GCTTCCTTCCTTCCTTCCTTCAGCATTAAAAATGTAGACCCTCTTTCATTCTCCGTTCCCT
ACTGCTATGAGGCTCTGAGAAAACCTCAGGCCTTTGAGGGGAAACCTAAATCAACAAAA
TGACCCTGCTATTGTCTGTGAGAAGTCAAGTTATCCTGTGTCTTAGGCCAAGGAACCTCA
CTGTGGGTTCCACAGAGGCTACCAAATTACATGTATCCTACTCATGGGGCTAGGGGTT
GGGGTGACCCCTGCACTGCTGTGTCCCTAACCCACAAGACCCCTCTTTCTTCAGTGGTGT
TCTCCATGTCCTTTGTACAAAGGAGAAGAAAGTAATGACAAAATACCTGTGGCCTTGGGCC Exon5
TCAAGGAAAAGAATCTGTACCTGTCTGTGCTGTTGAAAGATGATAAGCCCACTCTACAGC
TGGAGGTAAGTGAATGCTATGGAATGAAGCCCTTCTCAGCCTCCTGCTACCACTATTCC
CAGACAACCACCTTCTCCCCGCCCCATCCCTAGGAAAAGCTGGGAACAGGTCTATTTGA
CAATTTTGCAATTAATGTAATAAATTAACATAATTTTTAACTGCGTGCAACCTTCAATC
CTGCTGCAGAAAATTAATCATTGCGCGATGTTATTATGTCTACCATAGTTACAACCC
CAACAGATTATATATGTTAGGGCTGCTCTCATTGATAGACACCTTGGGAAATAGATGA
CTTAAAGGGTCCCATTATCATGTCCACTCCACTCCAAAATTACCACCCTATCACCTCC
AGCTTCTCAGCAAAAGCTTCATTCCAAGTTGATGTCAATCTAGGACCATAAGGAAAA

```

**Figure 11: Séquence du gène d'intérêt dans le Word**

On a commencé par copier la séquence du gène d'interleukine 1 beta dans le Word afin de déterminer une partie de la séquence encadrée pour réaliser la recherche des amorces sur Prime Blast comme il est montré dans la figure suivante.

#### **4- Primer Blast :**

La base des données **NCBI** a fourni un paramètre appelé Primer Blast sur le site [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) qui est utilisé dans notre étude pour trouver les amorces d'intérêt.

**Figure 12 : Le Primer blast**

Notre choix d'amorce doit prendre en compte les conditions précédemment mentionnées, et donc pour assurer l'amplification du produit spécifique désiré il faut cibler l'amorce avec le moins de produits aspécifiques.

Ensuite on va copier l'amorce choisie dans le primer blast En ajustant les paramètres afin de réaliser la conception.

The screenshot shows the Primer3 web interface. At the top, there is a text area for 'Enter accession, gi, or FASTA sequence' containing a DNA sequence. Below it, 'Forward primer' is set to position 1 and 'Reverse primer' to 474. The 'Primer Parameters' section includes fields for 'Use my own forward primer', 'Use my own reverse primer', 'PCR product size' (70-1000), '# of primers to return' (10), and 'Primer melting temperatures (Tm)' (57.0-63.0). The 'Exon/intron selection' section has 'Exon junction span' set to 'No preference' and 'Exon junction match' with values 7, 4, and 8.

Figure 13: Séquence

du gène IL1 $\beta$  avec le paramètre qui convient

### I-Résultats de conception des amorces « Primer Blast » :

Primer pair 2									
	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGCACTGCTGTGCCCTAAC	Plus	20	131	150	60.25	55.00	6.00	0.00
Reverse primer	CAATGAGAGCAGCCCTAACA	Minus	21	576	556	58.28	47.62	5.00	1.00
Product length	446								
Products on potentially unintended templates									
>NC_000002.12 Homo sapiens chromosome 2, GRCh38 p12 Primary Assembly									
product length = 446									
Features associated with this product:									
interleukin-1 beta preproprotein									
interleukin-1 beta isoform XI									
Forward primer	1 TGCACTGCTGTGCCCTAAC 20								
Template	112831466 .....								112831447
Reverse primer	1 CAATGAGAGCAGCCCTAACA 21								
Template	112831821 .....								112831041
>NC_000020.11 Homo sapiens chromosome 20, GRCh38 p12 Primary Assembly									
product length = 2666									
Features associated with this product:									
phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-dependent Rac ex...									
Forward primer	1 TGCACTGCTGTGCCCTAAC 20								
Template	48792126 A.....C.....C.... 48792145								
Forward primer	1 TGCACTGCTGTGCCCTAAC 20								
Template	48794791 A.....C.....C.... 48794772								
product length = 1878									
Features associated with this product:									
ras and Rab interactor 2 isoform X2									

Figure 14: Résultats de la conception sur primer blast

```

product length = 1878
Features associated with this product:
  ras\_and\_Rab\_interactor\_2\_isoform\_X2
  ras\_and\_Rab\_interactor\_2\_isoform\_1
Forward primer 1      TGCACCTGCTGTGCCCTAAC  20
Template            19954704  CT...CC.....C..  19954723

Forward primer 1      TGCACCTGCTGTGCCCTAAC  20
Template            19956581  ....G.A.CA.T.....  19956562

product length = 1848
Features associated with this product:
  ras\_and\_Rab\_interactor\_2\_isoform\_X2
  ras\_and\_Rab\_interactor\_2\_isoform\_1
Forward primer 1      TGCACCTGCTGTGCCCTAAC  20
Template            19954734  CT...CC.....G..  19954753

Forward primer 1      TGCACCTGCTGTGCCCTAAC  20
Template            19956581  ....G.A.CA.T.....  19956562

```

**Figure 15: Résultats de la conception sur primer blast**

D'après « Ensemble .org » le gène d'interleukine IL1 β est composé de 6 exons et 7 introns.

Dans notre recherche nous ciblions l'exon 4 précisément lorsque les trois exons précédents induisant l'amplification des produits aspécifiques de moins 1000 paires de bases résultants des séquences du gène IL1 beta ,non désiré et non spécifique surtout .

Donc, l'exon 4 conçu par le primer blast offrira 10 paires d'amorces ou la deuxième paire correspond aux conditions requises.

	<b>Normes</b>	<b>Forwardprimer</b>	<b>Reverse primer</b>
<b>Longueur d'amorce</b>	18 à 24 Nucléotides	20nucleotides	21 nucléotides
<b>Teneur en GC</b>	40-60%	55%	60.25%
<b>Température de fusion</b>	56 jusqu'à 62 C°	60.25 C°0	58.28 C°
<b>Le produit spécifique</b>	<1000 Pb	446 paires de bases.	3 produits tous supérieurs a 1000 paires de bases =aspécifiques.
<b>Le produit aspécifique</b>	>1000 Pb		

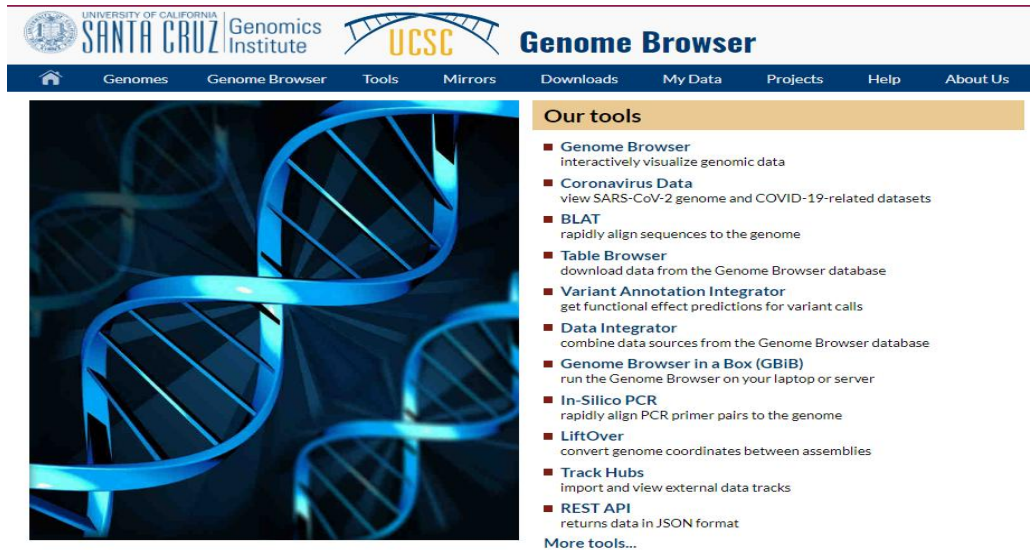
**Tableau 5 montrant les propriétés d'une bonne amorce.**



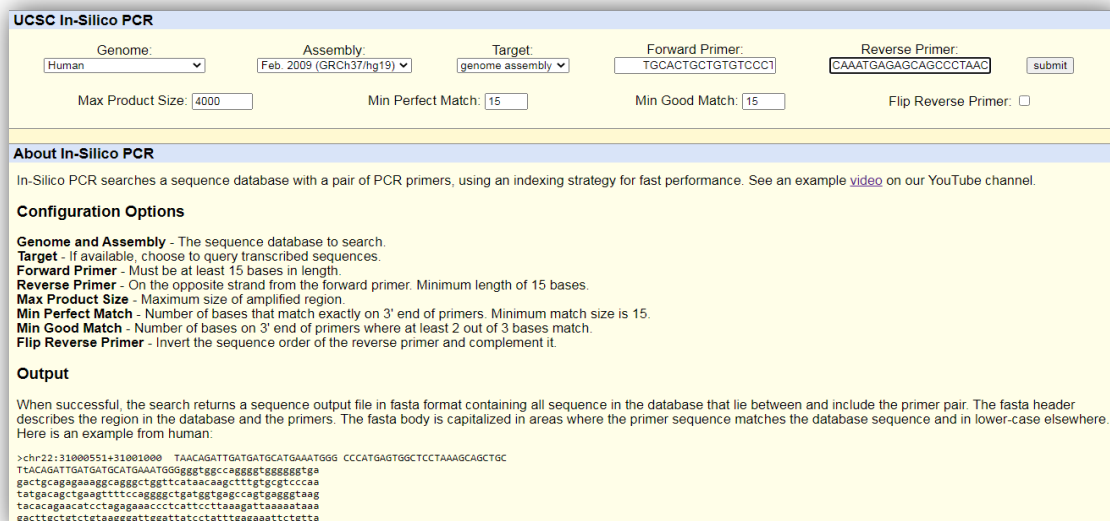
La température de fusion de cette amorce est environ 59 c° donnera un meilleur résultat pour une longueur de 21 nucléotides, une teneur en GC située entre 40 à 60 % ce qui augmente la spécificité ainsi que l'efficacité de l'amplification.

**- Confirmation des résultats :**

Les résultats de confirmation sont confirmés dans le site « [www.genome.ucsc.edu](http://www.genome.ucsc.edu) ».

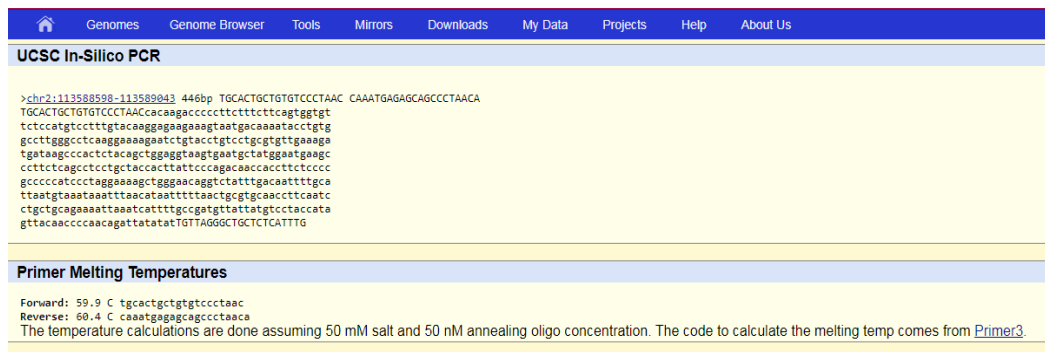


**Figure16 : Site de confirmation**



**Figure 17 : Insertion des amorces PCR in-Silico sur le site**

Les résultats de la confirmation Nous ont montrés que notre produit est situé sur le chromosome 2  
Comme la montre la figure ci-dessous.



**Figure 18: La confirmation**

\*Ces résultats valident la spécificité de l’amorce que nous avons conçue.

### **-Discussion :**

L’asthme allergique pédiatrique fait intervenir plusieurs molécules parmi elles l’interleukine 1 beta qui contribue à l’exacerbation des symptômes, la conception des amorces réalisée par technique du PCR pour l’étude moléculaire montre certaines concentrations importantes de cette interleukine au cours de l’état pro inflammatoire de la maladie.

La conception des amorces par technique PCR pour l’étude du gène de l’interleukine. A confirmé leur présence comme agent pro inflammatoire lors les crises d’asthme.

Certaines études consistent à prouver le rôle de l’interleukine 1 beta dans d’autres inflammations des poumons et pas seulement dans l’asthme

- La revue **“Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases”** écrite par (Marwa Chehimi et al, 2017), a montrée le rôle important du l’interleukine 1 beta dans différents maladies inflammatoires, comme le psoriasis, multiple scléroses et la résistance de l’insuline qui est une cause de l’obésité.
- L’étude **“Facteurs génétiques et environnementaux de l’asthme et de l’allergie : synthèse des résultats de l’étude EGEA”** réalisée par E. Bouzigon et al, 2015a montré le criblage des différents gènes qui interviennent dans l’asthme allergique.
- L’article: **“ Interleukin 1 $\beta$  polymorphism and serum level are associated with pediatric asthma “** (Mahmutovic Persson et al. Respiratory Research 2018) a validé que la signalisation IL-

1 $\beta$  était nécessaire pour induire les facteurs chimiotactiques des neutrophiles, ET que l'IL-1 $\beta$  a un rôle à la fois dans l'inflammation neutrophile et Th2 lors d'exacerbations d'asthme d'origine virale.

- Une autre étude réalisée par (Paulina Sobkowiak MD, et al, 2017) sous le titre de **“Interleukin 1 $\beta$  polymorphism and serum level are associated with pediatric asthma a constaté que trois polymorphismes de l'IL-1 $\beta$  rs1143634, rs1143633 et rs1143643”** étaient associés à un risque d'asthme allergique.
- L'article de [Xiaopeng Qi](#) et al (2017) qui étudie **“Critical role of caspase-8-mediated IL-1 signaling in promoting Th2 responses during asthma pathogenesis”** soutient le critère que l'IL-1 $\beta$  est l'un des cytokines proinflammatoires pléiotropes qui joue de nombreux rôles dans les maladies inflammatoires et auto-immunes. Dans l'immunité adaptative, les cytokines IL-1 jouent un rôle fondamental dans l'activation et la différenciation des cellules.

## **Conclusion :**

L'asthme allergique est un problème de santé publique mondial et est devenu plus sévère avec le développement de la pollution, aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Son mécanisme inflammatoire induit une réponse immunitaire orchestrée par différentes cellules et cytokines pro inflammatoires telles que l'interleukine 1 beta qui joue son rôle dans l'exacerbation des crises.

C'est une maladie chronique faisant intervenir différents effecteurs qui sont parfois difficiles à détecter, ce qui nécessite l'utilisation des techniques de biotechnologie comme la PCR pour étudier l'impact de l'interleukine 1 beta sur cette maladie.

La PCR réalisée pour étudier le gène qui code pour cet interleukine, demande des paires d'amorces correspondant aux critères proposés afin de les mettre pour la conception dans le primer blast qui assure la meilleure amplification des séquences cibles.

**\* Références :**

1. GINA patient guide print Pocket. (2019). Global initiative for asthma, [www.gonasthma.org](http://www.gonasthma.org).
2. GINA patient guide print Pocket. (2020). Global initiative for asthma, [www.gonasthma.org](http://www.gonasthma.org).
3. World Health Organisation. 20 mai 2020.
4. Organization mondiale de santé.
5. Mims, J.W. (2015). Asthma: definitions and pathophysiology: Asthma: definitions and pathophysiology. *International Forum of Allergy and Rhinology* 5, S2–S6.
6. . Liliya Belenko Gentet, asthramuseum .
7. (Fatima Goumiri. 2016). Prise en charge de l'Asthme de L'enfant de moins de 36 mois, en dehors de l'épisode aigu : Analyse des pratiques auprès des médecins généralistes de la région du Val d'Oise
8. (Dr. Lahlou Najib sur 8 Décembre 2018, 12:05pm)
9. Asthma allergique
10. (Fatima Goumiri. 2016). Prise en charge de l'Asthme de L'enfant de moins de 36 mois, en dehors de l'épisode aigu : Analyse des pratiques auprès des médecins
11. Gauvreau, G. M., El-Gammal, A. I., & O'Byrne, P. M. (2015). *Allergen-induced airway responses. European Respiratory Journal*, 46(3), 819–831. /
12. Russell, R. J., & Brightling, C. (2017). *Pathogenesis of asthma: implications for precision medicine. Clinical Science*, 131(14), 1723–1735. doi:10.1042/cs20160253
13. Su-Ling Loo 1, Peter A B Wark 1. *Recent advances in understanding and managing asthma*. 2016 Aug. DOI: 10.12688/f1000research.9236.1.
14. McGeachie MJ, Yates KP, Zhou X, et al. (2016). Patterns of growth and decline in lung function in persistent childhood asthma. *N Engl J Med*, 374 : 1842–52.
15. X. Qian, R. Aboushousha, C. van de Wetering, S.B. Chia, E. Amiel, R.W. Schneider, J.L.J. van der Velden, K.G. Lahue, D.A. Hoagland, D.T. Casey, N. Daphtary, J.L. Ather, M.J. Randall, M. Aliyeva, K.E. Black, D.G. Chapman, L.K.A. Lundblad, D.H. McMillan, A.E. Dixon, V. Anathy, C.G. Irvin, M.E. Poynter, E.F.M. Wouters, P.M. Vacek, M. Henket, F. Schleich, R. Louis, A. van der Vliet, Y.M.W. Janssen-Heininger, IL-1/inhibitory  $\kappa$ B kinase  $\epsilon$ -induced glycolysis augment epithelial effector function and promote allergic airways disease, *J. Allergy Clin. Immunol.* 142 (2018) 435-450.e10. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.08.043>.
16. V. Houdouin, J.-C. Dubus, What is the impact of outdoor pollution on children's asthma?, *Arch. Pédiatrie*. 26 (2019) 487–491. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2019.10.007>.
17. [https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=asthme\\_pm](https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=asthme_pm)

18. X. Chen, D.B. Corry, E. Li, Mechanisms of allergy and adult asthma:, *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 20 (2020) 36–42. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000601>.
19. V.N.C. Leal, I.R. Genov, M.C. Mallozi, D. Solé, A. Pontillo, Polymorphisms in inflammasome genes and risk of asthma in Brazilian children, *Mol. Immunol.* 93 (2018) 64–67. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.11.006>.
20. G. Passalacqua, M. Landi, D.G. Peroni, Allergen immunotherapy for pediatric asthma: current evidence and knowledge gaps, *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 20 (2020) 162–167. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000618>.
21. Marcos, charlotte.E.rutter/richard.J.silverwood /M3Innesasher/Luis Garcia. *Comparison of individual-level and population-level risk factors for rhinoconjunctivitis, asthma, and eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three.* 2018. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.waojou.2020.100123>.
22. Leynaert, B., Le Moual, N., Neukirch, C., Siroux, V., and Varraso, R. (2019). Facteurs environnementaux favorisant le développement d'un asthme. *La Presse Médicale* 48, 262–273.
23. Raheison-Semjen, C. *Vulnérabilité des femmes vis-à-vis du tabac :consequences broncho-pulmonaires.* 17 septembre 2019. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2019.09.001>.
24. Belouni.R/LOUNICI Y, CHERGUELAINE K , GHAFFOR M , DJIDJIK R.*DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ALVÉOLITE.* 2017.
25. Mims, J.W. (2015). Asthma: definitions and pathophysiology: Asthma: definitions and pathophysiology. *International Forum of Allergy and Rhinology*5, S2–S6.
26. Épidémiologie de la maladie asthmatique aux urgences B. BOUHAIJA 1, S. SOUISSI 1, A. BALMA 2, N. BORSALI 3, N. KAROUÏ 4, S. MARGHELI 5, S. NOUIRA 6, N. REKIK 7
27. S.C. Dharmage, J.L. Perret, A. Custovic, Epidemiology of Asthma in Children and Adults, *Front. Pediatr.* 7 (2019) 246. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00246>.
28. Temam, Sofia.*Déterminants sociaux et asthme : approche.* 22 juin 2017.
29. J. Gogtay, L. Laouar, V. Gaur, Preference of diagnostic tools, medications, and devices for asthma management: A survey of doctors in Algeria, *Perspect. Clin. Res.* 10 (2019) 67–72. [https://doi.org/10.4103/picr.PICR\\_63\\_18](https://doi.org/10.4103/picr.PICR_63_18).
30. ] <https://www.chu-toulouse.fr/les-differents-types-d-asthme>
31. DELMAS, Guillaume.*EVALUATION DES CONNAISSANCES DES PARENTS D'ENFANTS DE 3 A15 ans ADMIS POUR EXACERBATION D'ASTHME AUX URGENCES.* 2017.
32. M.J. Bou-Dargham, Z.I. Khamis, A.B. Cognetta, Q.-X.A. Sang, The Role of Interleukin-1 in Inflammatory and Malignant Human Skin Diseases and the Rationale for Targeting

Interleukin-1 Alpha: TARGETING IL-1 ALPHA IN HUMAN SKIN DISEASES, *Med. Res. Rev.* 37 (2017) 180–216. <https://doi.org/10.1002/med.21406>.

33. RÉGULATION DE L'EXPRESSION DU RÉCEPTEUR DE TYPE 1 DES CYSTÉINYLL-LEUCOTRIÈNES PAR L'INTERLEUKINE-33 DANS LES LYMPHOCYTES DU SANG PÉRIPHÉRIQUE HUMAIN

34. The Humain Gene Database.

<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL1B>

35. Hawkins, S.F.C., and Guest, P.C. (2017). Multiplex Analyses Using Real-Time Quantitative PCR. In *Multiplex Biomarker Techniques*, P.C. Guest, ed. (New York, NY: Springer New York), pp. 125–133.

36. <https://www.rndsystems.com/pathways/il-1-family-signaling-pathways>

37. Céline Deluzarche.

<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-pcr-91/>

37. Menzie-Gow, Sejal Saglani and Andrew N. *Approaches to Asthma Diagnosis in Children and Adults*. s.l. : <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00148>, 17 avril 2019.

38. Dieffenbach, C.W., Lowe, T.M., and Dveksler, G.S. (1993). General concepts for PCR primer design. *Genome Research* 3, S30–S37.

39. L.Tetu et A, Didier. *exploration allergologique de l'athme*.

40. C.A. Dinarello, Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity, *Immunol. Rev.* 281 (2018) 8–27. <https://doi.org/10.1111/imr.12621>.

41. M. Chehimi, H. Vidal, A. Eljaafari, Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases, *J. Clin. Med.* 6 (2017) 68. <https://doi.org/10.3390/jcm6070068>

42. R. Charrad, A. Berraïes, B. Hamdi, J. Ammar, K. Hamzaoui, A. Hamzaoui, Anti-inflammatory activity of IL-37 in asthmatic children: Correlation with inflammatory cytokines TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6 and IL-17A, *Immunobiology.* 221 (2016) 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2015.09.009>.