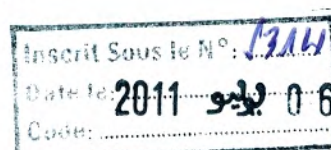


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAID - TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Ecologie et Environnement

Laboratoire de recherche

Valorisation des actions de l'Homme pour la protection de l'environnement
et application en santé publique



MEMOIRE

Présenté par

SEKKAL Arif Abdelillah

en vue de l'obtention du

Diplôme de Magister

En Génétique moléculaire humaine et santé

Thème

Etude de l'effet de la consanguinité sur les paramètres de morbidité de la population du littoral de l'ouest Algérien

Soutenu le 28/06/2011, devant le jury :

Président	KHELIL Mohamed Anouar	Professeur,	Université de Tlemcen
Encadreur	AOUAR-METRI Amaria	M.C.A	Université de Tlemcen
Examineur	CHAABANE SARI Daoudi	Professeur	Université de Tlemcen
	DALACHE Fatiha	M.C.A	Université de Mostaganem
Invitée	DALI YUCEF Majda	M.A.C.C.	Université de Tlemcen

REMERCIEMENTS

A Mme AOUAR METRI A., Professeur au département d'Ecologie et Environnement, Université AbouBekr Belkaid de Tlemcen, qui m'a ouvert les portes en post-graduation. Qu'elle trouve l'expression de mes remerciements pour son enseignement et la confiance qu'elle m'a accordée le long de ces années. Soyez assurée de ma gratitude et de mon profond respect. Je la remercie pour son encadrement et ses précieux conseils.

Je tiens à formuler ma profonde reconnaissance aux membres du jury :

- Mr KHELIL M. A., Professeur, Merci de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.
- Mr CHAABANE-SARI D., Professeur au département de Biologie, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être examinateur de ce mémoire.
- Mme DALACHE F., Maître de conférences au département de Biologie de l'Université de Mostaganem, pour avoir accepté d'être examinatrice de ce mémoire et d'avoir été au rendez-vous.
- Mme DALI-YOUCHEF M., Chargée de cours, pour avoir accepté l'invitation et l'examen de ce mémoire.

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de consacrer une partie de votre temps précieux pour juger ce travail et de m'avoir fourni d'utiles réflexions afin de l'améliorer. Soyez assurés ici de l'expression de mon profond respect.

A mes parents et frères, à ma Femme qui m'a tellement soutenu et à mes enfants, je les remercie vivement pour leur soutien, leur patience et leur compréhension.

A Mr KARAM ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire, qui m'ont aidé au démarrage de mon travail.

A Mr BOUDJEMAA et son équipe, qui m'ont aidé à finir mon travail.

Mes vives remerciements vont à l'encontre de : Dr SEBAA de l'Hôpital d'Ain el Turk, ainsi que Dr TALEB de l'Hôpital d'Ain Temouchent.

Abréviations

AA Acides Aminés

Ac Anticorps

AFLP Amplified Fragment Length Polymorphism

Ag Antigène

CD Classes de Différenciation (Cluster of Differentiation)

CMH Complexe Majeur d'Histocompatibilité

DID Diabète Insulino-Dépendant

DPAT Direction de la Planification et de l'Aménagement du Territoire de la wilaya d'Oran

EC extracellulaire

GR Globules Rouges

HLA Human Leucocyte Antigen

IC Intra-Cytoplasmique

kb kilo-bases

kDa kilo Dalton

Le Lewis

ONS Office National des Statistiques

pb paires de bases

RFLP Restriction Fragment Length Polymorphism

Rh Rhésus

SNP Single Nucleotide Polymorphism

TM Trans-Membranaire

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	8
Partie 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1-ETUDE ANTHROPO-SOCIOLOGIQUE	11
1-1-Les données historiques	11
1-1-1-La période préhistorique et antiquité	11
1-1-2-La période islamique	12
1-1-3-La période espagnole	13
1-1-4-La période ottomane	14
1-1-5-La période française	14
1-1-6-Les personnalités historiques	16
1-2-Les données géographiques	17
1-3-Les données démographiques	17
2-ETUDE ANTHROPO-PHYSIQUE	20
2-1-Les marqueurs classiques	20
2-1-1-Définition	20
2-1-2-Notion de marqueurs antigéniques	20
2-1-3-Les groupes sanguins érythrocytaires	20
2-1-3-1-La nature des antigènes à la surface des GR et leur variabilité inter-individuelle	21
2-1-3-2-Systèmes antigéniques et groupes sanguins érythrocytaires	21
2-1-4-Le système ABO	23
2-1-4-1-Base moléculaire des groupes sanguins ABO	24
2-1-4-2-Phénotypes ABO	26
2-1-4-3-Génétique moléculaire	29
2-1-4-4-Implications des groupes sanguins ABO en clinique	32
2-1-5-Le système Rhésus	33
2-1-5-1-Structure, répartition et fonction des antigènes du système Rhésus	33
2-1-5-2-Le locus du gène RH	34
2-1-5-3-Bases moléculaires des différents antigènes et phénotypes de la série D	35
2-1-5-4-Bases moléculaires des différents antigènes et phénotypes de la série C et E	36
2-1-5-5-Phylogénie du gène RHD	38
2-1-6-Les autres groupes sanguins	39
2-1-7-Le système majeur d'histocompatibilité HLA	39
2-1-7-1-Définition	39

Partie 3 RESULTATS ET DISCUSSION

1-Fréquences alléliques des groupes sanguins	60
2-Comparaison inter-populationnelle	62
3-Diversité génétique	67
4-Consanguinité et lien de parenté	76
5-Maladies enregistrées chez les individus	82
5-1-Maladies globales	82
5-2-Le diabète	85
6-Interaction consanguinité-morbidité	86
CONCLUSION GENERALE	88
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	90
ANNEXES	96

INTRODUCTION GENERALE

de la diversité génétique chez l'Homme du paléolithique moyen a été prouvée par les différentes recherches faites sur les séquences mitochondriales, qui suggère que la population Neandertal était subdivisée géographiquement de manière extensive, et que sa diversité génétique a nettement changé avec le temps (Excoffier, 2006).

Les principaux facteurs pouvant influencer l'évolution des populations peuvent être regroupés en deux catégories : l'une à prédominance biologique, qui comprend la mutation, la dérive génétique et la sélection naturelle ; l'autre est à prédominance culturelle, où on trouve les effets de la consanguinité, de l'assortiment matrimonial, de la fécondité différentielle des couples et des migrations humaines (Afkir, 2004). A l'échelle de l'individu, les mutations génétiques constituent la source principale de la variabilité génétique, en créant de nouveaux allèles.

L'ensemble de ces phénomènes conduit à une variation des fréquences des gènes entre les



résultat des interactions constantes entre son patrimoine génétique et ses structures sociales.

Aujourd'hui, grâce au développement des méthodes d'analyses, la variabilité biologique ne se limite plus aux traits morphologiques mais incluent les polymorphismes sanguins et les marqueurs moléculaires. En effet, il existe dans le sang un certain nombre de facteurs détectables à déterminisme génétique, stables pendant toute la vie de l'individu (Bonnes *et al.*, 1986) ; On distingue entre autres :

- Les antigènes érythrocytaires ou facteurs antigéniques présent sur la membrane du GR.
- Les polymorphismes génétiques des protéines sanguines.

La variabilité génétique émerge clairement lorsqu'on considère les fréquences phénotypiques et génotypiques des polymorphismes ABO et Rh. Ces deux marqueurs génétiques largement utilisés dans le domaine de la génétique des populations fournissent des renseignements précieux sur la structure des populations, et leurs histoires.

La diversité génétique d'une population peut être définie et mesurée au niveau phénotypique, génotypique et allélique, elle peut être étudiée aussi par le biais de maladies autosomiques et hétérosomiques rattachées ou non à la consanguinité (Solignac *et al.*, 1995).

Le degré de consanguinité, les paramètres de morbidité et de mortalité permettent de décrire la constitution génétique d'une population, et sont essentiels pour quantifier l'impact de la

1-1-4- La période ottomane

Les Espagnols sont restés maîtres de la cité jusqu'en 1708, puis ont été chassés par le Bey turc Mustapha Ben Youssef, dit Bouchlaghem. Les Turcs resteront alors pour une période de 24 ans, mais en 1732, les Espagnols reviennent en force pour réoccuper Mers el-Kébir avec l'armada du Duc de Montemar après une victoire remportée à Aïn-el-Turck.

L'année 1790 va plonger, d'une façon foudroyante, la ville d'Oran dans la désolation et dans le deuil ; en effet, un violent séisme fit plus de 3.000 victimes. A la suite de ce terrible événement, le roi d'Espagne Charles IV d'Espagne ne vit plus l'intérêt d'occuper Oran, qui devenait de plus en plus onéreuse et périlleuse ; il entame des discussions avec le Bey d'Alger, et signe un traité le 12 septembre 1792. Seulement, après un long siège et un nouveau tremblement de terre qui désorganise les défenses espagnoles, le Bey Mohamed Ben Othman, dit Mohamed El Kébir (1778-1799), prend possession d'Oran le 8 octobre de la même année.

En 1794, des pèlerins venus de la Mecque apportent une épidémie de peste et la ville redevient pratiquement déserte. En 1799, Cheikh Sidi Mohamed Es-Senni Al Mahaji, un savant érudit qui fut l'un des conseillers du Bey d'Oran Mohamed El kebir, accorda diverses faveurs aux juifs pour s'installer à Oran.

En 1813, le Bey d'Oran se révolte contre le Dey d'Alger, et jusqu'à 1830, les Beys firent d'Oran leur capitale.

1-1-5- La période française

Le 14 décembre 1830, une escadre sous les ordres du capitaine de Bourmand s'empare de Mers-el-Kébir, alors que dès septembre 1830, un commissaire du Roi est installé à Alger. Par la suite, en septembre 1831, le général Berthezène est nommé à Oran, dont l'une des premières mesures fut de raser toutes les habitations du côté de l'est, qui pouvaient favoriser des embuscades.

Après l'arrivée des Français, il y avait à peine 18.000 habitants dans toute la région d'Oran, et un premier recensement indique qu'en 1831, la ville d'Oran comptait 3.800 habitants dont 3.531 juifs, 750 Chrétiens et 250 Musulmans.

En 1832, l'Emir "Abd El Kader", descendant du chef spirituel de la Zaouïa d'El-Guetna, marche sur Oran avec 5000 guerriers à la recherche d'une fatwa sur le "djihad" auprès de Sidi Amer Lekhal chef des tribus d'Al Mahaja. L'Emir attaque la ville d'Oran l'année suivante, ce qui poussa le baron Desmichels, commandant en chef, à signer en 1834 un traité secret pour la

1-1-6- Les personnalités historiques

Les « Aoulias Salihines » (saints patrons) de cette ville sont nombreux : Sidi El Bachir, Sidi Mokhtar, Sidi El Hasni, Sidi Snousi, Sidi Mokhfi, Sidi El Fillali, Sidi Bennacef, Sidi Blel, Sidi Abdelkader Moul-Douma, Sidi Ahmed El Kbayli, Sidi Abdelbaki Benziane, et Sidi Moussa. Cependant le plus célèbre est Ben-Amar El houari, connu sous le nom de "Sid El Houari" (1350-1439), né à Aïn Tadless ; à l'âge de dix ans, il avait déjà acquis le titre de "Hafid" du coran ; il s'est déplacé à Oran pour étudier les sciences coraniques dans les zaouïas des Al Mahaja, et de retour de son pèlerinage à la Mecque, il s'installa définitivement dans

cette ville où il ouvrit une école d'enseignement coranique. Parmi ses disciples, on peut citer Sidi Brahim Tazi et Sidi Saïd (m'rabet de Hassi Ghella).

D'autres personnalités marquèrent l'histoire d'Oran, à savoir :

- Ben Abdelkader ben Abdellah Mohamed Tahar Al Mahaji, théologien du XIX^{ème} siècle. Il versa dans le "fiqh" selon le rite malékite, il fit ses études à Oran et à Fès, puis obtint le poste de cadî d'Oran.
- Cheikh Tayeb Al Mahaji, qui a ouvert en 1912 la première école coranique libre et moderne de la Zaouïa de M'dina-Jdida. Il lèguera un patrimoine culturel de grande valeur dont les œuvres traitent d'histoire, de linguistique et des sciences religieuses.
- Zeddour Brahim, fils de Cheikh Tayeb Al Mahaji, est l'un des "cerveaux" de la révolution algérienne (il animait le mouvement nationaliste au Caire) et premier étudiant martyr.
- Ali Chérif Chriet, originaire de Sig, est un autre martyr, exécuté par la guillotine
- Ahmed Zabana, descendant des Al Mahaja, est le premier martyr de la révolution algérienne, il fut guillotiné à la prison de Barberousse.
- Hamou Boutlelis, originaire de la tribu des Douar M'lata (El Ghoualem), est natif d'Oran où il étudia le Coran à la Zaouia du cheikh Tayeb Al Mahaji.
- Cheikh El Miloud Al Mahaji, qui a construit en 1937 la Medersa "El-Falah" de Médina J'dida. C'est le premier étudiant de l'ouest algérien du cheikh Ben Badis de Constantine.

La ville d'Oran a connu en outre d'autres personnalités pieds-noirs, dont certains ont une renommée internationale : Albert Camus (écrivain français) ; Jean-Pierre Elkabbach (journaliste français) ; Renée Gailhoustet (architecte française) ; Emmanuel Roblès (écrivain français) ; et Yves Saint-Laurent (couturier français).

avec les Ag D, E ou e, et C ou c, et le système "Kell" avec l'Ag K ou k. Les individus présentant une même association d'Ag appartiennent à un même groupe sanguin érythrocytaire.

Les groupes sanguins sont d'autant plus complexes et nombreux que l'on utilise plusieurs systèmes antigéniques : 4 groupes dans le système ABO (A, B, AB, O), 8 groupes si on ajoute le Rhésus D (A+, B+, AB+, O+, A-, B-, AB-, O-), mais on peut définir encore davantage de groupes si on utilise d'autres marqueurs.

Certains Ag sont exclusivement présents à la surface des GR comme ceux du système Rh ; d'autres sont communs à plusieurs lignées cellulaires comme ceux du système ABO qui est donc aussi un « système antigénique tissulaire » (GR, plaquette, foie, rein...).

En fonction de la nature biochimique de leurs épitopes, on distingue classiquement des systèmes dont les molécules sont de nature glucidique portées par des glycoprotéines ou des glycolipides (par ex. ABO) et des systèmes dont les molécules sont de nature peptidique portées par des protéines ancrées dans la membrane via un domaine (par ex. Duffy) ou plusieurs segments transmembranaires (par ex. Rh), ou bien encore par l'intermédiaire d'une liaison à une molécule de glycosyl phosphate inositol (par exemple Cromer).

Les principaux systèmes érythrocytaires sont représentés dans le tableau 3.

Système	Phénotype	Structure Ag	Ac usuel	Risque clinique
ABO	A, B, AB, O	polysaccharidique	anti-A, anti-B	RTH, MHN
Rh	D, d, et Cc, Ee	Protéique	anti-D, anti-E, anti-c	RTH, MHN
Kell	K, k	Protéique	anti-K	RTH, MHN
Kidd	Jk ^a , Jk ^b , Jk ^{ab}	Protéique	anti-Jk ^a , anti-Jk ^b	Surtout RTH
Duffy	Fy ^a , Fy ^b , Fy ^{ab}	Glycoprotéine	anti-Fy ^a , anti-Fy ^b	RTH, MHN
MNS	M, N, MN	Glycoprotéine	anti-M	Réactions faibles
Lewis	Le(a+b-), Le(a-b+), Le(a-b-)	Carbohydrate	anti-Le ^a , anti-Le ^b	RTH faible

Tableau 3. Les principaux groupes sanguins (Virella, 2007).

RTH= Réaction Transfusionnelle Hémolytique; MHN= Maladie Hémolytique du nouveau-né

L'utilisation d'une grande variété de dénominations des Ag érythrocytaires a imposé la mise en place d'une terminologie homogène et informatiquement exploitable. Chaque Ag est identifié par 6 chiffres, les 3 premiers représentent le système (001-029), la collection (205-210) ou la série (700 ou 901) auquel il appartient, les 3 autres identifient l'Ag proprement dit. Par exemple, l'antigène Lu^a est identifié 005001 où 005 définit le système Lutheran et 001 l'antigène Lu^a. Une identification alphanumérique est possible en utilisant le symbole du système suivi du numéro de l'Ag : LU001.

Un phénotype est identifié par le symbole du système suivi de la ponctuation «:» puis par la liste des Ag analysés, séparés par une virgule et précédés du signe «-» s'ils sont absents ; par exemple, le phénotype Lu (a-b+) est noté LU:-1,2.

Chaque gène peut être identifié par le symbole du système suivi du chiffre ou de la lettre en majuscule qui identifiait l'Ag précédée d'un astérisque ; par exemple la nomenclature traditionnelle du gène Lu^a devient LU1 ou LU*A.

Un génotype peut être identifié soit par une inscription en italique du symbole du système suivi des identifiants numériques des allèles séparés par une barre «/» soit par l'ensemble des allèles tels qu'ils ont été précédemment définis séparés par une barre «/» ; par exemple la nomenclature traditionnelle du génotype Lu^a / Lu^b devient LU1/2 ou LU*A/LU*B.

La connaissance des bases moléculaires du polymorphisme des groupes sanguins érythrocytaires a permis de nouveaux développements en immuno-hématologie, il s'agit tout d'abord de l'introduction de méthodes de génotypage qui représentent des outils diagnostiques en médecine transfusionnelle (identification de variants...), dans la surveillance de l'immunisation foëto-maternelle (génotypage du fœtus), en anthropologie biologique ou en médecine légale ; toutefois, pour la routine, elles ne rivalisent pas encore avec les techniques classiques de phénotypage (Chiaroni *et al.*, 2005).

2-1-4- Le système ABO

Le système de groupe sanguin ABO a été le premier découvert par Landsteiner, en 1900. La transfusion des GR de certaines personnes à d'autres a eu, parfois, comme conséquence l'hémolyse rapide ; en d'autres termes, leur sang était incompatible.

Le système ABO comprend deux Ag, A et B, en plus de leur précurseur biochimique, l'Ag H. Leurs phénotypes sont doublement définissables, par leurs Ag et par leurs Ac plasmatiques correspondants (Tableau 4).

Phénotypes (Groupe sanguin)	Génotypes	Antigène membranaire	Anticorps plasmatiques	Fréquence chez les Caucasoïdes
A	A/A ou A/O	A	Anti-B	45%
B	B/B ou B/O	B	Anti-A	9%
AB	A/B	A et B	aucun	3%
O	O/O	H (ni A ni B)	Anti-A et Anti-B	43%

Tableau 4. Le système ABO (Janot *et al.*, 2002)

2-1-4-1-Base moléculaire des groupes sanguins ABO

Les individus des groupes sanguins A, B et AB possèdent des enzymes ayant une activité de glycosyltransférase qui converti l'Ag du groupe de base (Ag H) en Ag A ou B.

Les allèles des groupes A et B diffèrent par 7 substitutions de bases qui résultent en différentes activités de transférase A et B, l'allèle A étant associé avec l'addition des groupes N-acetylgalactosaminyl et l'allèle B avec l'addition des groupes D-galactosyl. L'allèle O est le fait de la délétion d'une base unique, qui résulte en une protéine inactive incapable de modifier l'Ag H.

a- Biosynthèse des antigènes ABH dans les érythrocytes

Sur le plan biochimique, les déterminants antigéniques A, B et H sont de nature glucidique, ils représentent les sucres terminaux des chaînes latérales des glycoprotéines et des glycosphingolipides. Leur synthèse comporte 3 étapes (figure 2) :

- L'étape d'initiation est représentée par la fixation du 1^{er} motif monosaccharidique sur la molécule protéique ou lipidique. Pour les glycoprotéines, deux types de liaisons peuvent être retrouvés, à savoir des liaisons N-glycosidiques caractérisées par la fixation d'un N-acétyl-glucosamine (GlcNAc) à une asparagine, et des liaisons O-glycosidiques caractérisées par la fixation d'un N-acétyl-galactosamine (GalNAc) à une sérine ou une thréonine. En ce qui concerne les glycosphingolipides, ils associent un élément glucidique à une céramide.
- L'étape d'élongation est caractérisée par l'adjonction successive et répétée du motif Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3.
- L'étape de terminaison représente l'adjonction des sucres terminaux spécifiques des Ag A, B et H sur la partie périphérique de ces chaînes (précurseurs disaccharidiques). L'étape sub-terminale est caractérisée par l'addition d'un fucose qui aboutit à la formation de l'Ag H de différents types en fonction du disaccharide de base. Cette synthèse est liée à l'action d'une α (1,2) fucosyltransférase codée par le gène FUT1.

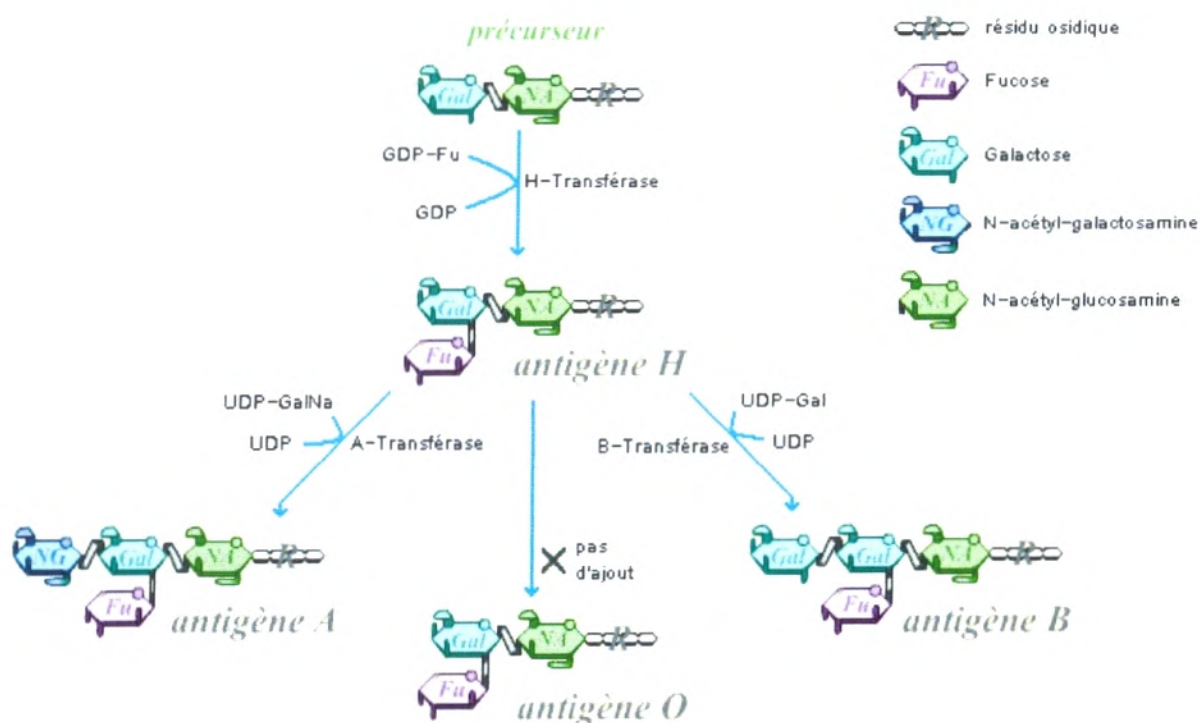


Figure 2. Schéma simplifié de la biosynthèse des antigènes ABH (Janot *et al.*, 2002).

b- Biosynthèse des antigènes ABH dans les sécrétions et statut sécréteur

Chez la majorité des personnes, en plus d'être exprimés sur les GR, les Ag du système ABO sont sécrétés dans divers liquides organiques, ainsi les Ag A, B et H peuvent être retrouvés sous forme soluble dans les glandes du tube digestif, du tractus uro-génital, du tractus respiratoire, dans les larmes et dans le lait maternel. Ils sont exprimés sur des glycoprotéines (au niveau des muqueuses) ou des glycosphingolipides libres (dans le lait et les larmes).

La capacité de sécrétion de ces Ag est un caractère génétiquement transmis, indépendant du locus ABO, mais est contrôlée par le gène FUT2 (Se) localisé sur le chromosome 19 et qui code une autre $\alpha(1,2)$ fucosyltransférase assurant la synthèse des substrats H.

Cette capacité est contrôlée par deux allèles au locus "sécréteur", les personnes étant ainsi sécréteurs positif ou négatif, le premier étant dominant sur le deuxième. L'allèle Se est présent chez 80% des individus qui sont dits "sécréteurs", les individus qui sont "non sécréteurs" (20%) possèdent, au niveau du locus FUT2, un allèle inactif en double dose (due à une mutation).

La quantité de substances ABH sécrétée est variable d'un individu à l'autre, et la sécrétion salivaire est bien développée à la naissance. Par ailleurs, certains individus originaires du Moyen-Orient ou d'Asie du Sud-Est sont porteurs de variants de l'allèle Se (Sew ou Se385) qui codent une enzyme moins performante.

c- Biosynthèse des antigènes ABH dans le plasma et les autres tissus

Rapidement après leur découverte à la surface des GR, les Ag ABH ont été mis en évidence dans de nombreux tissus humains, en particulier dans les cellules endothéliales et épithéliales. Plusieurs revues ont été publiées sur leur distribution tissulaire (Ravn et Dabelsteen, 2000). Des glycoprotéines et glycosphingolipides porteurs d'Ag ABH sont présents dans le plasma quel que soit le statut sécréteur de l'individu. Si celui-ci est porteur de l'allèle Se, les Ag sont synthétisés à partir de disaccharides de type 1 et 2 alors que si cet allèle est absent, seuls les types 2 sont utilisés. Ainsi, 100% des substrats H type 1, et 1/3 type 2, sont sous le contrôle de l'allèle Se, les 2/3 restants sont sous le contrôle de l'allèle H. D'un autre côté, la quantité des substances ABH plasmatiques est influencée par le phénotype Le du sujet.

2-1-4-2- Phénotypes ABO

a- Phénotypes communs

La détermination des groupes sanguins est basée sur la présence ou l'absence des Ag A et B à la surface des hématies et la présence régulière d'agglutinines « naturelles » anti-A et anti-B correspondant aux Ag absents des hématies (tableau 4).

Les allèles au locus ABO pour les Ag A et B sont hérités de façon codominante, mais sont dominants sur le gène de l'Ag O, il y a donc 6 génotypes possibles. Les états homozygotes et hétérozygotes pour les Ag A et B (AA, AO, BB, BO) ne peuvent être déterminés que par des études familiales.

Puisque les individus du groupe AB ne produisent pas d'Ac, ils peuvent recevoir du sang d'un autre groupe ABO et sont désigné "receveurs universels". D'autre part, puisque les individus du groupe O n'expriment pas les Ag A ou B, ils sont désignés "donneurs universels".

b- Phénotypes A1/A2

En mettant en évidence des différences individuelles de l'Ag A, Von Dungern et Hirzfeld (1911) ont subdivisé le groupe A en 2 sous-groupes : A1 et A2 (et le groupe AB en A1B et A2B). Ces GR sont agglutinés par les réactifs anti-A, mais seules les GR A1 et A1B sont agglutinées par l'Ac polyclonal anti-A1. Chez les sujets porteurs de l'Ag A, environ 80% des

sujets sont A1 et 20% A2. Sur le plan phénotypique, cette distinction aboutit à 6 phénotypes ABO courants.

Les différences caractérisant ces hématies sont d'ordre quantitatif, ainsi les GR de sujet A1 expriment environ 1 à 2 millions de copies d'Ag A alors que celles de groupe A2 n'en portent que 500 000 ; mais aussi d'ordre qualitatif puisque les glycosyltransférases A1 et A2, produits de 2 allèles distincts, diffèrent par la nature de leurs substrats. Un GR de groupe A exprime 2 types de substrats : H type 2 et H type 3. Si les deux enzymes peuvent convertir H2 en A2, seule l'enzyme A1 possède la capacité de convertir H3 en A3 (reconnue par l'anti-A1).

c- Phénotypes A faibles

L'analyse en biologie moléculaire a confirmé la grande hétérogénéité des phénotypes A faibles, dont la classification sérologique est basée sur les principes suivants :

- la réactivité des hématies avec les anti-A, -B, -AB, -H
- la présence d'une image de double population
- la présence d'un anti-A1 ou anti-A dans le sérum
- la sécrétion ou non, dans la salive, de substance A et/ou H par les sujets sécréteurs.

	Anti-A	Anti-AB	Anti-A plasmatique	Anti-A1 plasmatique	ABH salivaire	Commentaires
A ₃	Double population	Double population	Absent	Possible	A, H	Le type 1 est caractérisé par la mutation G871A de l'allèle A1
A _{end}	Double population	Double population	Absent	Possible	H	Variant A _{finn} : Allèle A1 avec mutation dans le site d'épissage de l'intron 6
A _x	- ou faible	+	Possible	Constant	A _x (H)	Très hétérogène.
A _m	- ou faible	- ou faible	Absent	Absent	A, H	Gène A1 et A2 normaux avec une probable mutation dans le promoteur
A _y	-	-	Absent	Absent	A, H	Diffère de A _m par l'antigénicité plus faible
A _{el}	-	-	possible	constant	H	

Tableau 5. Principales caractéristiques sérologiques des phénotypes A faibles (Chiaroni *et al.*, 2005)

Ces phénotypes présentent une expression normale ou renforcée de l'Ag H, à l'exception du phénotype A_y, qui est probablement le fait d'une mutation homozygote indépendante du locus ABO. En dehors du phénotype A₃, les GR "A faibles" ne sont pas agglutinées par les anti-A et/ou anti-AB et leur détection est le plus souvent le fait d'une discordance de groupage ABO

(B ou O apparaissant sans anti-A). Les caractéristiques sérologiques principales des groupes A faibles sont résumées dans le tableau 5.

d- Phénotypes B faibles

Ils sont moins fréquents et leur classification sérologique est également délicate du fait de leur extrême hétérogénéité. En effet, de nombreuses études ont prouvé que les caractéristiques des phénotypes B diffèrent d'une famille à l'autre mais que les mêmes caractéristiques sont retrouvées au sein d'une même famille. En l'absence de consensus, une classification des groupes B faibles analogue à la classification des groupes A faibles semble la plus pratique. Leurs principales caractéristiques sérologiques sont décrites dans le tableau 6.

	Anti-B	Anti-AB	Anti-B plasmatique	ABH salivaire	commentaires
B ₃	Double population	Double population	Absent	B, H	Mutation C1054T sur un allèle B
B _x	- ou faible	+	Possible	B _x (H)	Mutation C871A sur un allèle B Comme A3 sur un allèle A1
B _m	- ou faible	- ou faible	Absent	B, H	Allèle rare au locus ABO : enfant homozygote B _m né de parents O et A2B
B _{el}	-	-	Possible	H	Peut être le fait d'allèles rares au locus ABO et d'interaction allélique

Tableau 6. Principales caractéristiques sérologiques des phénotypes B faibles (Chiaroni *et al.*, 2005)

e- Phénotypes déficitaires en antigène H

Sont exceptionnels et présentent une certaine hétérogénéité. Le plus classique est représenté par le phénotype "Bombay" caractérisé par l'absence totale d'Ag H, donc de A et B, à la surface des GR; en fonction de l'allèle ABO présent, ces phénotypes sont notés O_h, O_h^A et O_h^B. Le phénotype « H nul » est lié à la présence en double dose d'une mutation dans FUT1 (codant une enzyme FUT1 inactive) associée à une délétion au niveau de FUT2. Un autre phénotype peut posséder l'Ag H à l'état de traces, et en fonction du génotype ABO, de petites quantités d'Ag A ou B. Ce phénotype "H faible", qui a été décrit dans les populations d'origine européenne est noté O_h, A_h ou B_h.

D'autres phénotypes H déficitaires peuvent posséder des Ag A, B, H dans les sécrétions et dans le plasma en raison de leur statut sécréteur, ils sont dénommés "para-Bombay".

f- Autres phénotypes rares du système ABO

Phénotypes cis-AB. Ce phénotype est caractérisé par un mode de transmission non habituel des caractères A et B. Ceux-ci sont transmis par un seul allèle dénommé "cis-AB".

Phénotypes B(A) et A(B). Les GR d'environ 1% des sujets B sont agglutinés par un Ac anti-A. Ce phénotype, appelé B(A), est le fait d'une enzyme B qui ajoute de grande quantité de D-galactose (sucre de l'Ag B) au substrat H, et de petites quantités de N-acétyl-galactosamine (sucre de l'Ag A). Inversement, un phénotype A(B) a été mis en évidence à l'aide d'un anti-B.

Phénotype B acquis. S'observe dans un contexte d'infection digestive associée à un cancer colique. Le germe responsable produit une désacétylase qui transforme le sucre de l'Ag A, N-acétyl-galactosamine, en galactosamine proche du galactose, sucre de l'Ag B. Ce phénomène est transitoire et dure le temps de la vie des GR ayant subi l'action de cette enzyme.

Phénotype A acquis. Des GR poly-agglutinables peuvent exprimer une antigénicité A.

2-1-4-3- Génétique moléculaire

Dès 1925, il a été démontré que la présence ou l'absence des Ag A ou B à la surface des GR est sous la dépendance de 3 allèles (A, B et O). Les gènes A et B sont codominants, ils s'expriment au niveau du phénotype. L'allèle O est récessif par rapport aux allèles A et B.

a- Le gène FUT1 (H)

Le gène FUT1 est localisé sur 19q13.3, et est présent chez 99,9% des individus. Il code une protéine de 365 AA avec un domaine intracytoplasmique (IC) N-terminal de 8 AA, un domaine transmembranaire (TM) de 15 AA et un domaine extracellulaire (EC) de 342 AA. Le gène FUT1 s'étend sur 9 kb et possède 8 exons, dont la région codante est constituée du seul exon 8. Concernant les aspects génétiques des phénotypes H déficitaires, les bases moléculaires du phénotype Bombay typique reposent sur la présence en double dose, chez un individu non sécréteur (délétion du gène Se), de la transversion T725G dans le gène FUT1 aboutissant à une enzyme FUT1 inactive. D'autres mécanismes aboutissant à des phénotypes « H nuls » non sécréteurs ont été décrits comme par exemple la mutation C948G.

b- Les gènes FUT2 (Se), Sec1 et Sec2

Les gènes FUT1, FUT2 et Sec présentent de très fortes homologies et sont localisés au sein d'une région de 100 kb sur 19q13.3. Les gènes FUT1 et FUT2 sont séparés par 35,5 kb (FUT1 étant en position télomérique). Le gène Sec1 est centromérique et à 12 kb du gène FUT2. Ces données suggèrent donc qu'ils dérivent d'un même gène ancestral par duplication puis divergence.

En 1995, a été décrit, chez des individus non sécréteurs d'origine européenne, un allèle du gène FUT2 (se428) avec une transition G428A qui aboutit à la substitution du codon 143 par un codon stop conduisant à une protéine tronquée de 189 AA, inactive sur le plan enzymatique. Chez des individus de phénotype Bombay indien, il a été observé une délétion du gène FUT2 responsable de l'absence de substance H dans les sécrétions (Koda *et al.*, 2000 ; Pang *et al.*, 2000). Depuis, de nombreuses autres mutations responsables de l'inactivité ou d'une faible activité de la protéine codée par le gène FUT2 ont été rapportées, certaines de ces mutations semblent spécifiques à des groupes ethniques.

c- Le gène ABO

Le locus ABO a été localisé en 1976 sur le chromosome 9 (9q34.1-q34.2), il comprend 7 exons et 6 introns (figure 3). Les exons 6 et 7 codent 91% des AA du site catalytique de l'enzyme.

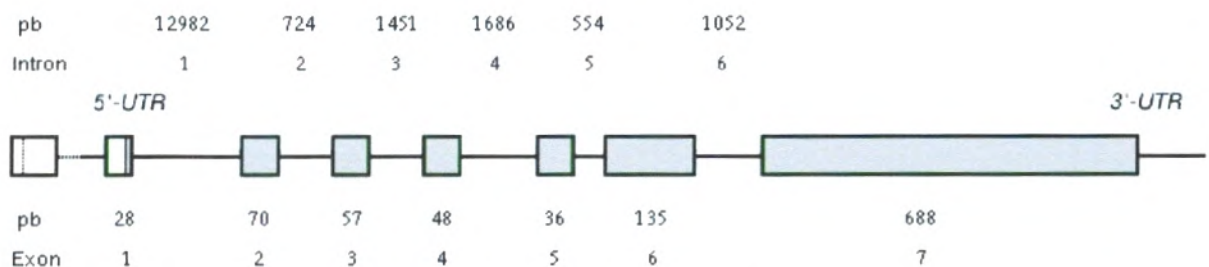


Figure 3. Organisation du gène ABO humain (Seltsam *et al.*, 2003)

Les produits des allèles A ou B sont des protéines membranaires comportant, pour l'enzyme A1, 354 AA avec un domaine IC de 16 AA, un domaine TM de 20 AA et un domaine EC de 218 AA. Les allèles de référence humains A1 (A101) et B (B101) ne diffèrent, au niveau des exons, que par 7 nucléotides (297, 526, 657, 703, 796, 803, et 930), conduisant au changement de 4 AA.

La figure 4 nous montre les différences entre les principaux allèles ABO, avec une mise en évidence des mutations (trait noir) au niveau nucléotidique par rapport à l'allèle A1, et les changements des AA des chaînes peptidiques (marques avec numéros).

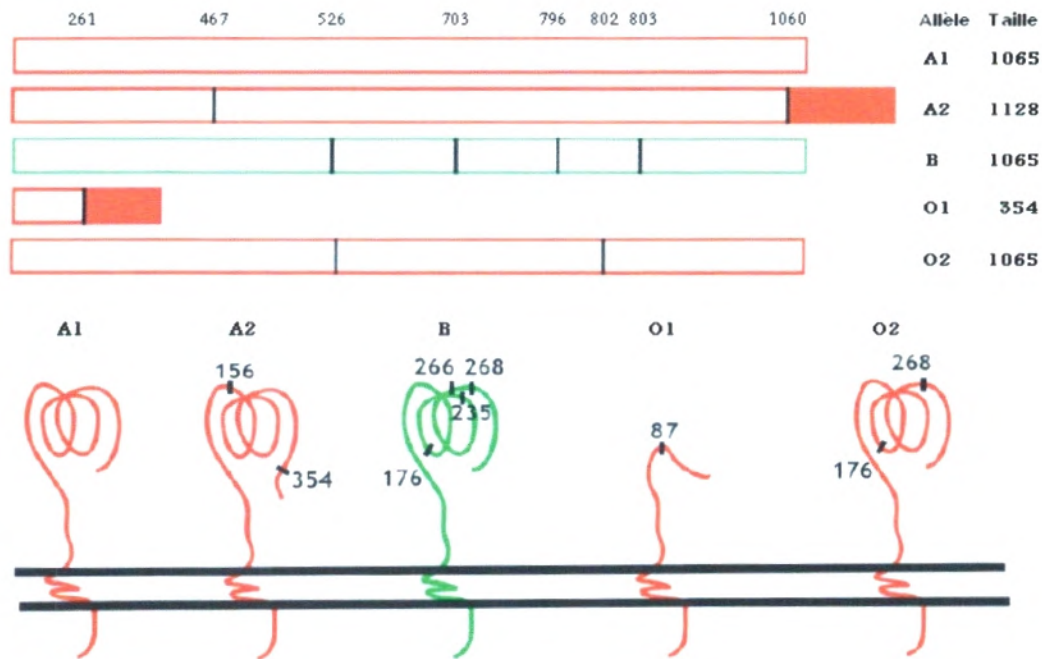


Figure 4. Représentation schématique des chaînes peptidiques codés par les gènes ABO (Smolarek *et al.*, 2008).

Les délétions (par rapport à A102) d'une base en 1059 aboutissent à l'abolition d'un codon stop dans le cadre de lecture, cela explique la synthèse d'une enzyme A2 comportant 21 AA supplémentaires. Pour l'allèle O01, la différence seulement par la délétion du nucléotide 261 abouti à l'apparition d'un codon stop prématuré et la production d'une protéine tronquée de 117 AA, dépourvue du site catalytique (tableau 7).

nucléotide allèle	261	297	467	526	646	657	681	703	771	796	802	803	829	871	930	1054	1059
A101	G	A	C	C	T	C	G	G	C	C	G	G	G	G	G	C	C
A102			T														
A201			T														Δ
A301														A			
Ax01					A												
B101		G		G		T		A		A		C			A		
B301		G		G								⌈					
O01	Δ																
O02	Δ	G			A		A		T				A				
O03		G		G							A						

Tableau 7. Les substitutions nucléotidiques des principaux allèles ABO (Chiaroni *et al.*, 2005) (Δ = délétion)

Par la suite, a été décrit un autre allèle O02 qui se caractérise par la présence de la délétion en 261 mais diffère au niveau des exons 6 et 7 par 9 mutations ponctuelles, et l'allèle O03 dépourvu de la délétion en position 261 et qui présente 5 substitutions, par rapport à l'allèle A101, entraînant le changement de 2 AA ; la disparition de la glycine en 268 semble être responsable de la perte de l'activité glycosyltransférase. Depuis, d'autres types d'allèle O ne possédant pas la délétion en position 261 ont été rapportés (Olsson et Chester, 2001 ; Ogasawara *et al.*, 2001). Ainsi, après la description initiale des principaux allèles ABO (Yamamoto *et al.*, 1995), de nombreux travaux ont montré que l'étude du polymorphisme génétique ABO s'avère bien plus complexe que le polymorphisme sérologique. Les bases moléculaires de ce polymorphisme ont surtout été étudiées au niveau des exons 6 et 7 du gène ABO, la plupart dérivent des allèles fréquents par 1 ou 2 mutations, les autres résultent de phénomènes de recombinaisons (crossing-over ou conversions géniques). A titre d'exemple, il a été décrit 3 nouveaux allèles O chez les habitants de l'Oasis de Siwa (Egypte), après séquençage des exons 6 et 7, ce qui a laissé avancer qu'il s'agit d'une population endogame (Amory *et al.*, 2004). Actuellement, environ une centaine d'allèles ABO ont été décrits dont 40 allèles O ; ce dernier représente le marqueur le plus polymorphe après le système HLA.

2-1-4-4- Implications des groupes sanguins ABO en clinique

Les groupes sanguins ABO sont essentiellement impliqués en clinique transfusionnelle, où le respect de leur compatibilité est obligatoire. En effet, les Ac du receveur peuvent, après fixation sur les GR incompatibles transfusées, aboutir à un choc hémolytique avec coagulation intra-vasculaire disséminée. Les anti-A, anti-B et anti-AB peuvent être à l'origine de maladies hémolytiques néonatales (MHNN), une pathologie qui se voit chez les nouveau-nés de mères O car les sujets de ce groupe présentent une proportion importante d'Ac de type IgG. Cependant, si les incompatibilités fœto-maternelles ABO sont fréquentes, elles ne nécessitent que rarement un traitement, puisque la densité antigénique des hématies fœtales est faible, et le plasma de l'enfant présente des substances solubles neutralisantes.

Dans les greffes d'organes (rein, foie ou cœur) les Ac anti-A et/ou anti-B du receveur peuvent se fixer sur les Ag homologues présents sur les tissus transplantés et être à l'origine de rejets. Toutefois, la compatibilité n'est pas obligatoire pour les greffes de cornée, de peau et d'os.

Les anti-H des sujets de phénotypes Bombay sont impliqués dans des réactions transfusionnelles sévères, leur présence impose la sélection d'hématies de même phénotype, car ils ont été responsables de MHNN sévères.

2-1-5- Le système Rhésus

C'est le système de groupe sanguin le plus complexe, avec 48 Ag définis à ce jour, mais qui ne reflète pas complètement la diversité sérologique de ce système car elle ne prend pas en compte la variabilité qualitative et/ou quantitative de l'Ag D (Daniels, 2002).

Les Ag du système Rh sont localisés sur 2 protéines, la protéine RhD porte l'Ag D (RH1) et la protéine RhCE les Ag C ou c, et E ou e (RH2, RH3, RH4, RH5). D est très fortement antigénique et les personnes sont Rh + (possédant l'Ag D) ou Rh - (manquant d'Ag D).

2-1-5-1- Structure, répartition et fonction des antigènes du système Rhésus

D'un point de vue structural, les Ag du système Rh sont localisés sur 2 protéines non glycosylées comportant 417 AA et présentant une structure basée sur 6 boucles EC, 12 segments TM et 5 boucles IC (Wagner *et al.*, 1999). Les extrémités N et C-terminales apparaissent en position IC. En fonction des allèles RHCE considérés, les protéines RhD et RhCE diffèrent de 34 à 38 AA. Ces différences sont restreintes aux boucles EC3 (exon 4), EC4 (exon 5) et EC6 (exon 7) pour l'allèle C et concernent la boucle EC2 (exon 2) pour l'allèle c.

Au niveau membranaire, les protéines Rh forment un complexe avec une glycoprotéine nommée RhAG (Rh-associated glycoprotein). Cette protéine, codée par un gène localisé sur 6p11-p21, est porteuse d'un Ag de grande fréquence appartenant à la série 901 (l'Ag "Duclos"). D'autres molécules comme CD47 et LW sont aussi associés à ce complexe, mais ne sont pas nécessaires à l'expression Rh, celle-ci dépend uniquement de la fonctionnalité de la protéine RhAG ; en effet, l'absence de cette dernière aboutit à l'absence totale d'Ag Rh et définit le phénotype Rh_{null} de type régulateur. Ce complexe Rh apparaît fortement lié au cytosquelette membranaire (Nicolas *et al.*, 2003) notamment par l'intermédiaire de CD47 et par le lien direct entre Rh-RhAG et l'ankyrine dont la perte d'interaction pourrait être responsable de certaines stomatosphérocytoses héréditaires.

Du point de vue fonctionnel, l'existence de points d'ancrage du complexe Rh au cytosquelette membranaire souligne le rôle des protéines Rh dans la propriété mécanique des hématies. Le nombre moyen de sites RhD à la surface d'une hématie est de l'ordre de 10 à 12.000 ; toutefois, cette densité antigénique est étroitement liée au reste du phénotype Rh et celle-ci décroît de la manière suivante : DcE/DcE > DCe/DcE > DCe/DCe > DcE/dce > DCe/dce.

2-1-5-2- Le locus du gène RH

Les 2 protéines, RhD et RhCE, sont codées par 2 gènes homologues, RHD et RHCE, localisés sur 1p34-p36. En fonction des formes alléliques, on distingue 8 haplotypes qui sont notés DCe, DcE, dce, Dce, dCe, dcE, DCE et dCE où d représente l'allèle RHD en délétion ou inactif. La fréquence des haplotypes est variable en fonction des populations (Tableau 8).

	Haplotypes	Caucasiens (%)	Noirs (%)	Orientaux (%)
DCe	R ¹	42	17	70
DcE	R ²	14	11	21
Dce	R ⁰	4	44	3
DCE	R ^Z	0,2	0	1
dCe	r [']	2	2	2
dcE	r ^{''}	1	0	0
dce	r	37	26	3
dCE	r ^Y	<< 1	<< 1	<< 1

Tableau 8. Fréquence des haplotypes RH en Europe et en Afrique subsaharienne (Wirthner *et al.*, 1998)

L'haplotype porteur de la délétion d est relativement fréquent en Europe de l'Ouest et très rare en Extrême-Orient. Dans les populations originaires d'Afrique subsaharienne, c'est l'haplotype Dce qui est le plus répandu. Ceci est en accord avec les données phylogéniques (figure 6) qui considèrent que cet haplotype est la forme ancestrale, donc il est logique qu'il apparaisse comme le plus fréquent dans des populations considérées génétiquement plus anciennes.

Chaque gène comporte 10 exons qui représentent une séquence de 60.000 pb. Ces 2 gènes, qui ont une orientation opposée, ne sont séparés que par 30.000 pb ; le gène RHD est en position centromérique et est encadré par 2 segments de 9.000 pb nommés « Rhésus box » (Wagner et Flegel, 2000 ; Suto *et al.*, 2000). La différence la plus significative entre les gènes RHD et RHCE est portée par l'intron 4 qui présente une délétion de 600 pb dans le gène RHD. Un troisième gène, nommé SMP1 (small membrane protein 1), est intercalé entre eux, mais aucune donnée ne permet d'établir une relation fonctionnelle de ce gène avec RH ; d'autre part, ce gène apparaît beaucoup plus conservé que RH au cours de l'évolution (Wagner et Flegel, 2002 ; Kumada *et al.*, 2002).

Les analyses comparatives réalisées entre les gènes RH humains et celles de souris concluent au fait que RHCE est le gène ancestral et RHD le gène dupliqué (Wagner et Flegel, 2002).

2-1-5-3- Bases moléculaires des différents antigènes et phénotypes de la série D

Le locus D est présent chez la plupart des personnes et code pour l'Ag D majeur présent chez les personnes qui sont Rh(+). Les individus Rh(-) sont homozygotes pour une délétion du gène D. Il n'est donc pas étonnant qu'un Ac n'ait jamais été soulevé à d.

L'analyse de l'ADNc des réticulocytes chez les personnes Rh(-) qui étaient homozygotes pour dCe, dcE et dce, a permis l'identification des séquences d'ADN génomique responsables des différentes variantes antigéniques, indiquant qu'ils sont produits par épissage alternatif du transcrit. Le polypeptide Ee est un produit intégral du gène CcEe, très semblable en séquence au polypeptide D. Les Ag E et e diffèrent par une mutation ponctuelle dans l'exon 5. Les polypeptides Cc sont, en revanche, des produits d'un transcrit plus court du même gène ayant les exons 4, 5 et 6 ou bien 4, 5 et 8 épissés. La différence entre C et c est due à 4 substitutions d'AA dans les exons 1 et 2. Ces résultats aident à expliquer la complexité de ce système.

a- Mécanismes contribuant au phénotype D négatif

Le phénotype D négatif est caractérisé par l'absence de l'Ag D (RH1) à la surface du GR. Dans certains cas, l'absence de l'antigénicité D est liée à l'absence totale de la protéine RhD, cas des populations européennes. Deux mécanismes principaux peuvent générer cette absence :

Il peut s'agir d'une délétion de la totalité du gène RHD qui est le mécanisme moléculaire le plus fréquent chez les européens et chinois (Wagner et Flegel, 2000). Cette délétion est liée à un crossing-over survenu entre les 2 "Rhésus box". L'haplotype RHD- est ainsi presque identique au gène ancestral tel qu'il était avant la survenue de la duplication du gène RHCE.

Il peut s'agir d'allèles RHD non fonctionnels liés à des mutations, insertions ou autre (Wagner *et al.*, 2001). L'exemple le plus caractéristique est représenté par le pseudogène RHDw qui est l'un des mécanismes les plus fréquents chez les africains (Singleton *et al.*, 2000). Il est caractérisé par la duplication et l'insertion de 37 pb au niveau des derniers nucléotides de l'intron 3 et des premiers nucléotides de l'exon 4 avec des mutations faux sens dans l'exon 6.

Dans d'autres cas, on a une protéine RhD dépourvue d'antigénicité D, codée par des gènes hybrides RHD dont les exons 4, 5 et 7 ont été remplacés par ceux du gène RHCE. Ces allèles donnent une protéine RhD dont les boucles EC 3,4,6 support de la spécificité D, sont substituées par celles de la protéine RhCE. Les deux allèles les plus caractéristiques sont représentés par les gènes hybrides RHDCE(3-8)-D (dCces) des populations africaines et RHD-CE(2-9)-D ou RHD-CE(2-10)-D des populations asiatiques (Shao *et al.*, 2002).

2-1-5-5- Phylogénie du gène RHD

L'étude de la phylogénie permet de bien comprendre la répartition des différents variants au sein des populations et leur association avec un haplotype donné (figure 6).

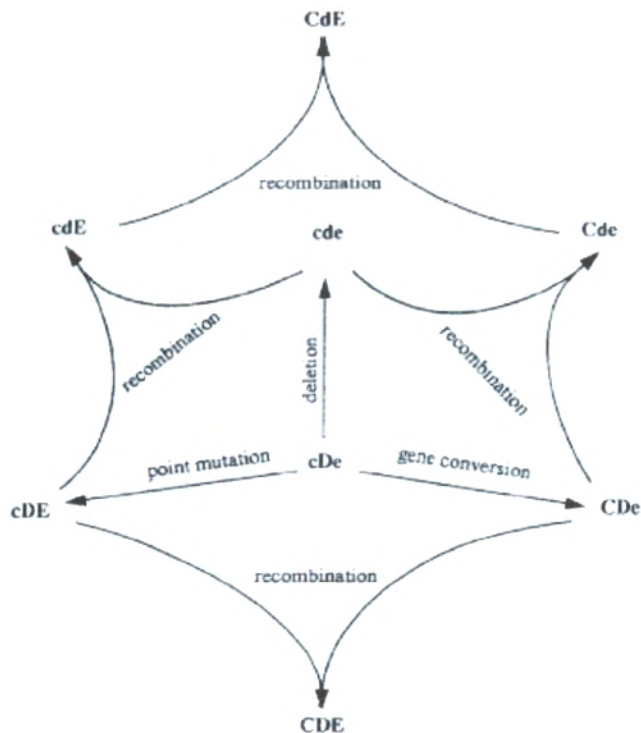


Figure 6. Mécanismes évolutifs générant les différents haplotypes RH (Carritt *et al.*, 1997)

Selon Wagner et Flegel (2002), la phylogénie du gène RHD se décompose en 4 branches, un cluster DIVa, un cluster Dw.4, un cluster DAU et un cluster "Eurasien" comportant l'ensemble des haplotypes. Les allèles des 3 premières branches sont largement répandus dans les populations originaires d'Afrique subsaharienne et apparaissent associés à l'haplotype Dce. Les allèles appartenant à la branche eurasiatique sont prédominants dans les populations d'Europe et d'Asie et apparaissent souvent associés aux haplotypes DCe et DcE. La majorité de ces allèles semblent être dérivés d'un événement unique (mutation, conversion génique). Dans les populations africaines, l'ensemble des 4 clusters sont représentés, et les différents allèles sont dérivés d'événements multiples, reflet d'une évolution phylogénétique plus ancienne. Mais, l'absence d'allèles africains dans les populations eurasiennes est probablement le fait d'un goulet d'étranglement survenu lors de la 1^{ère} migration "out of Africa".

2-1-6- Les autres groupes sanguins

Il y a environ 12 autres systèmes communs d'importance médicale chez l'homme, incluant Lewis, Duffy et MNS. Ceux-ci sont concernés seulement dans le cross-match sanguin pour les personnes qui, en raison de transfusions répétées, ont développé des Ac.

En ce qui concerne Lewis, ce n'est pas un système au sens strict du terme, mais un système de sécrétion, au niveau tissulaire ; la transférase Lewis produit essentiellement des substances de groupe solubles sous formes de glycoprotéines dans la salive et de glycosphingolipides dans le plasma. Ces dernières sont adsorbées secondairement sur la membrane des GR.

2-1-7- Le système majeur d'histocompatibilité HLA

2-1-7-1- Définition

A la surface de toutes les cellules nucléées de l'organisme se trouvent des allo-antigènes appelés Ag d'histocompatibilité responsables du rejet des allogreffes. L'expression de ces Ag est sous le contrôle de gènes codominants présentant un polymorphisme très important. Les Ag d'histocompatibilité, appelés HLA chez l'homme, sont actuellement classés en 2 groupes, les macromolécules de classe I servent de cibles aux cellules cytotoxiques et aux Ac, et sont donc un élément clé dans l'activation de la réponse immunitaire face aux agents pathogènes et aux allogreffes, les Ag de la classe II participent à l'activation des lymphocytes T et donc à l'induction de la réponse immunitaire. Les deux classes sont également impliquées dans la discrimination entre le "soi" et le "non-soi". La connaissance du HLA à partir de 1952 représente le point de départ d'une extraordinaire épopée scientifique et médicale.

Le système immunogénétique « human leucocyte antigen » (HLA) fait partie d'un ensemble complexe, noté "complexe majeur d'histocompatibilité" (CMH), localisé chez l'homme sur le bras court du chromosome 6. La caractéristique essentielle des gènes et Ag HLA est leur polymorphisme, c'est-à-dire leur existence dans la population générale sous la forme de très nombreux variants alléliques. La diversité structurale de ces nombreuses molécules, et leur spécialisation, explique la diversité fonctionnelle observée et donc les implications cliniques variées de ce système HLA (McCluskey et Peh, 1999).

2-1-7-2- Intérêt clinique

L'intérêt principal de la détermination des Ag du CMH se situe dans le cadre général de l'immunologie des greffes, puisque la greffe de tissus ou organes entre des individus génétiquement indépendants est habituellement suivie de rejet du greffon, alors qu'entre des individus génétiquement identiques, le rejet n'a pas lieu.

En outre, la présence de certains Ag HLA peut constituer une aide au dépistage, au diagnostic ou au pronostic de certaines maladies. Ainsi, des progrès importants ont été réalisés dans la définition génétique de la susceptibilité à certaines maladies par l'étude de ce système (Janssens, 2009). En effet, les molécules HLA, selon différents mécanismes, jouent un rôle prépondérant dans la susceptibilité ou la résistance à de nombreuses maladies ; à titre d'exemple, on peut noter qu'une corrélation significative a été mise en évidence entre la spondylarthrite ankylosante et HLA-B27, présent chez 90% des patients par rapport à 10% des sujets de la population générale.

2-1-7-3- Cartographie

Les premières cartes chromosomiques du CMH de l'homme ont bénéficié des travaux faits chez la souris (système H-2), qui ont donnés certaines précision sur les notions génétiques propres à ce système : localisation chez l'homme sur la bande 6p21.3, et ordre des principaux gènes HLA, du télomère vers le centromère HLA-A, -C, -B, -DR, -DQ et -DP (Colombani, 1993). Mais les méthodes de biologie moléculaire moderne ont conduit à des cartes plus détaillées de cette région d'environ 4.000 kb (Rhodes et Trowsdale, 1999) ; schématiquement, le CMH comporte 3 régions notées du télomère vers le centromère (figure 7) :

- région de classe I (abritant les gènes de classe I : HLA-A, -B et -C) s'étalant sur 2.000 kb
- région de classe III (abritant des gènes apparentés ou non HLA, mais dont un grand nombre est impliqué dans la réponse immunitaire, tels les gènes codant certaines protéines du complément ou certaines cytokines) couvrant une longueur de 1.000 kb ;
- région de classe II (abritant les gènes DR, DQ et DP) sur une longueur de 1.000 kb.

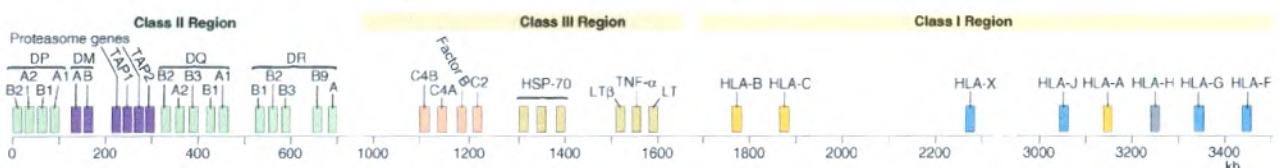


Figure 7. Carte physique de la région chromosomique HLA (Abbas & Lichtman, 2007)

Au total, 224 gènes ont été identifiés, mais seuls 128 seraient exprimés. Selon le « MHC Sequencing Consortium » une fonction immunitaire est attribuée à 40% de ces gènes exprimés.

2-1-7-4- Classification des gènes et produits de gène HLA

Les six loci majeurs du HLA, qui ont été identifiés, sont divisés en 2 classes (tableau 9) : la classe I (HLA-A, HLA-B, et HLA-C) et la classe II (HLA-DP, HLA-DQ, et HLA-DR).

Caractéristiques	Classe I	Classe II
Nomenclature des Loci majeurs	HLA-A, -B, -C	HLA-DP, -DQ, -DR
Chaines polypeptidiques	α (44-47 kD) β 2-microglobuline (12 kD)	α (32-34 kD) β (29-32 kD)
Sites des résidus polymorphes	Domaines α 1 et α 2	Domaines α 1 et β 1
Sites de liaison aux cellules T	Région α 3 se lie au CD8	Région β 2 se lie au CD4
Taille des peptides de liaison	8–11 AA	10–30 AA ou plus
Distribution de produits	Classique : toutes les cellules nucléées Non classique: trophoblastes	Cellules présentatrices d'antigènes, cellules B et T activés

Tableau 9. Les caractéristiques des classes d'antigènes du CMH (Abbas et Lichtman, 2007)

Tous les loci sont polymorphes à des degrés divers, et le nombre d'allèles identifiés à chaque locus augmente constamment ; par exemple, à la fin 2005, 414 allèles A, 728 allèles B, et 210 allèles C ont été identifiés. En plus de ces loci majeurs, il existe quelques loci mineurs qui ne sont pas bien définis : E, F, G, et H pour la classe I, et DM, DN, et DO pour la classe II.

2-1-7-5- Transmission génétique

Un point caractéristique du système HLA est lié à la proximité des loci dans une même région chromosomique de 4 Mb, ce fragment est transmis en bloc à la descendance, chaque individu se caractérise ainsi par 2 haplotypes HLA, l'un provenant du père et l'autre de la mère, et chacun de ces gènes est autosomique dominant. La transmission "en bloc" des haplotypes connaît de rares exceptions, dues essentiellement à des recombinaisons chromosomiques entre loci lors des méioses, et qui conduisent à l'apparition d'un nouvel haplotype dit « recombinant ». Leur fréquence est variable mais d'autant plus élevée que les loci concernés sont éloignés ; la fréquence de cette recombinaison entre les 2 chromosomes



Le coefficient moyen de consanguinité prend diverses valeurs entre 0 et 1, mais faute de pouvoir établir la généalogie exacte de tous les individus et de tous les couples, on ne connaît la valeur exacte de ce coefficient pour aucun groupe humain.

La figure 8 nous donne un aperçu sur la variation du taux de consanguinité à travers le monde.

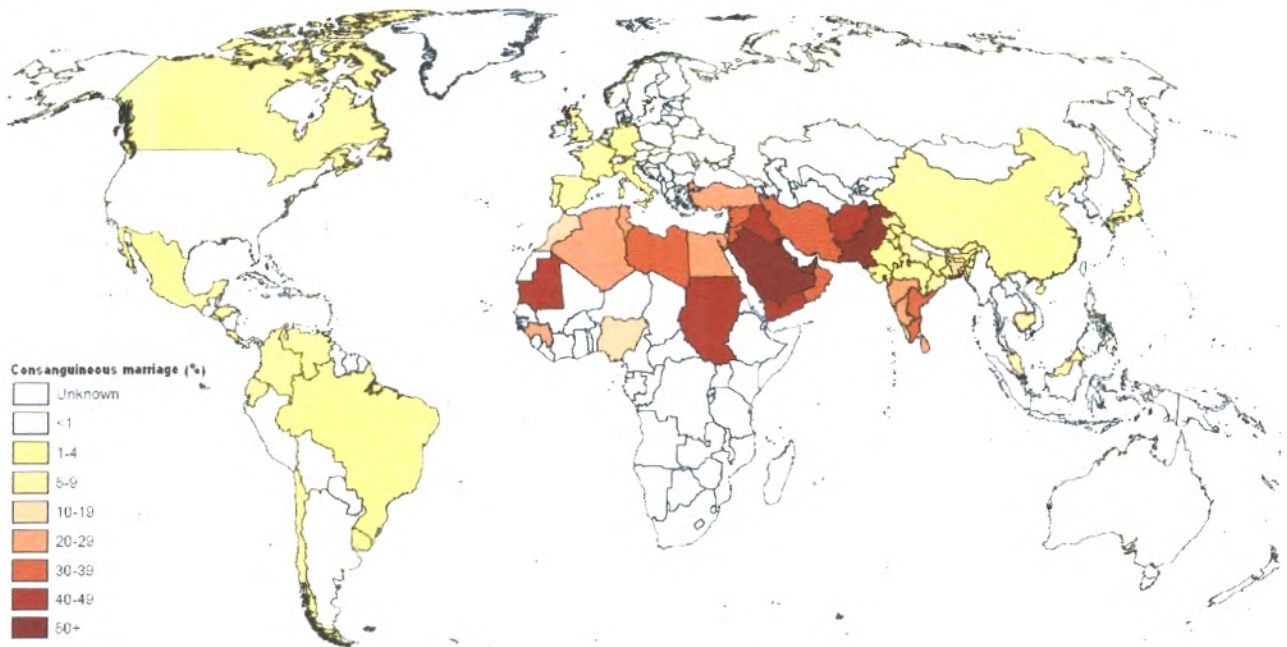


Figure 8. Consanguinité dans le monde (Bittles et Black, 2009).

2-3-2- Effet de la consanguinité sur la morbidité

L'effet de la consanguinité sur la morbidité fut abordé au 19^e siècle. Dans son rapport sur le mémoire d'un collègue, Dally nous livre quelques constatations faites au sujet de la consanguinité dans la ville de Paris. A l'époque, 2 infirmités attribuées à la consanguinité ont été étudiées à savoir la surdi-mutité et la rétinite pigmentaire ; ainsi, on a trouvé, chez les sourds-muets, 205 cas de rétinite pigmentaire dont 3 étaient issus de consanguins, et dans une étude de 8.225 individus, on a trouvé 21 cas de rétinite pigmentaire où 8 cas étaient issus de consanguins (Dally, 1877). On a conclu que l'on n'est fondé à attribuer qu'une part très restreinte à la consanguinité dans la sémiologie de la rétinite pigmentaire. Concernant les sourds-muets, on a trouvé, de 1867 à 1877, que sur 197 enfants admis dans un établissement spécialisé pour sourds-muets, 107 ont été déclarés sourds de naissance dont 17 étaient supposés issus de mariages consanguins ; la consanguinité ne pouvait pas être incriminée dans ce cas.

A la même époque, en Ecosse, un médecin a étudié les mariages consanguins où il a trouvé 15% d'aliénation mentale issus de consanguins dans une population de 627 cas ; il trouva aussi

dans 59 mariages 150 enfants idiots dont 74 issus de consanguins et 76 d'unions croisés, les proportions ne différaient pas notablement. Ce médecin trouva encore sur 408 cas de surditivité 1 individu issu de consanguins. L'étude faite à Balnabruich-Ecosse sur 1.548 habitants et 355 ménages, a montré que 82 unions consanguines avaient donné 340 enfants dont 5 infirmes mentales alors que dans 273 unions croisées on trouve le double, ceci a laissé conclure que les résultats ne sont pas en rapport avec l'idée faite des conséquences des mariages consanguins, puisqu'il n'y avait pas de différence notable entre les consanguins et les non-consanguins. D'un autre côté, certaines localités isolées de France (Pauillac, Granville et Saint-Martin d'Auxigny) où existait un fort pourcentage de consanguinité ont fait l'objet des mêmes études, et les résultats ont montrés un effet avantageux de la consanguinité (Dally, 1877).

En 1875, l'association scientifique à Nantes fait une constatation très intéressante au sujet de la population du Bourg de Batz, une commune de 3.000 habitants où la consanguinité était très élevée, à un point où les noms de familles cantonnés à cette commune ne se retrouvent pas dans le voisinage immédiat de cette région ; il ne se trouvait dans cette commune que 2 infirmes, alors qu'on s'attendait à rencontrer une effroyable accumulation de sourds-muets, bec-de-lièvre, rétinites pigmentaires et idiots. Cette population a montré un état florissant de la santé. On conclut que les alliances entre consanguins ne comportent aucune influence favorable ou défavorable sur la postérité de la race. Par la suite, en 1876 à Madrid, on a remarqué que les statistiques concernant la morbidité et la mortalité trouvée chez les consanguins étaient presque identiques à celles des mariages quelconques.

Dans les années suivant la deuxième guerre mondiale, les études se rapportant aux mariages consanguins se sont multipliées et ont donné une bibliographie exhaustive de la question (Sutter et Tabah, 1948 ; Freire-Maia, 1957 ; Serra et Soini, 1959). L'intérêt a été relancé par les progrès des sciences humaines réalisés dans le domaine du quantitatif avec des notions nouvelles que sont la précision et la prévision. On a démontré l'importance des structures de la parenté dans les sociétés humaines ; l'anthropologie structurale avait alors besoin de plus de connaissances sur la consanguinité. En plus, la génétique des populations humaines, en conceptualisant la notion d'isolat, a permis plus de compréhension sur les possibilités d'évolution des sociétés humaines au niveau du normal et du pathologique. L'aspect biologique du problème soulevé par l'étude de la consanguinité présentait un intérêt considérable sur le plan médical, vu que l'éclatement des isolats a retenti sur l'état sanitaire des populations occidentales, et donné lieu à de nouvelles populations partielles.

La connaissance du coefficient moyen de consanguinité d'une population s'est avérée utile pour caractériser l'ensemble des caractères démographiques se rapportant à la fécondité ou à la mortalité infantile, en plus de l'effet probable sur des caractéristiques touchant à la pathologie ou à l'aspect morphologique. Ainsi, des corrélations intéressantes ont été mises en évidence entre ces coefficients et la mortalité périnatale ; on a trouvé, par exemple, un coefficient de corrélation de $0,74 \pm 0,08$ entre les valeurs de coefficients moyens de consanguinité et celle de la mortalité périnatale (Sutter et Tabah, 1948 et 1951), et un coefficient de 0,57 entre les valeurs de coefficients moyens de consanguinité et le nombre de sourds-muets recensés (Sutter et Tabah, 1952), et aussi une corrélation de 0,57 entre les valeurs de coefficients moyens de consanguinité et l'ensemble des naissances gémellaires (Lamy et Frésal, 1958). Mais, l'interprétation de ces résultats doit se faire d'une manière prudente étant donné que plusieurs facteurs peuvent entrer en jeu dans ces phénomènes, même si on accorde une participation génétique ; ainsi dans leur étude, Lamy et Frésal (1958) ont montré qu'il existait une corrélation entre la consanguinité et l'âge de la mère lors des naissances gémellaires, et ont conclu que les deux facteurs peuvent jouer un rôle simultané (Goux et Sutteret, 1962).

Au début des années 90, Baali (1994) étudie la relation existante entre la consanguinité et les variables de fécondité et de mortalité ; il fait 2 remarques importantes :

- Les couples consanguins ont une fécondité légèrement plus élevée que celle de leurs homologues non consanguins
- Les enfants des couples apparentés subissent une plus forte mortalité, laissant supposer que le mariage consanguin est responsable d'une part importante de cette mortalité

2-3-3- Particularité des pays arabes

Dans les pays arabes, la pratique des mariages consanguins constitue encore aujourd'hui un phénomène social particulièrement préoccupant puisqu'elle est profondément enracinée (figure 9). En effet, c'est une tradition arabo-musulmane, au nom d'une sécurité financière et affective, mais au prix de la santé des enfants, qui courent le risque de maladies génétiques plus que d'autres ; la consanguinité représente l'un des facteurs les plus importants contribuant à la prépondérance d'affections génétiques (Hami *et al.*, 2009).

Tandis que les taux de mariages consanguins demeurent inchangés ou ont diminué dans plusieurs pays, ces taux ont augmenté depuis la dernière génération en Algérie (Zaoui et Biemont, 2002), aux Emirats Arabes Unis (Al-Gazali *et al.*, 1997), et au Yémen (Jurdi et

Saxena, 2003). Les chercheurs qui se sont intéressés à la problématique des mariages consanguins dans plusieurs pays ont pu mettre en évidence que ce type de mariage augmente les risques de malformations congénitales, et de maladies héréditaires rares chez le nouveau né (Zlotogora, 1997 ; Mokhtar *et al.*, 1998 ; Temtamy *et al.*, 1998 ; Al-Gazali *et al.*, 1999 ; Zakzouk, 2002). En outre, d'après plusieurs études, la consanguinité est considérée comme l'une des principaux facteurs déterminants de la mortalité périnatale, néonatale et infantile (Guz *et al.*, 1989 ; Baki *et al.*, 1992 ; Bittles, 1994 ; Banerjee & Roy, 2002).

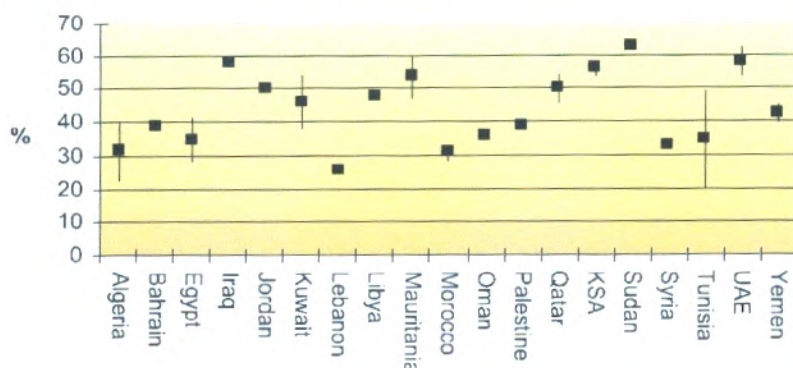


Figure 9. Pourcentage des unions consanguines dans les pays arabes. (Al Ali & Tadmouri, 2006)

Certaines études ont cherché à expliquer ce choix matrimonial, par l'intermédiaire de facteurs liés aux caractéristiques des femmes, à savoir le niveau d'instruction (Al Husain & Al Bunyan, 1997 ; Hussain, 1998 ; Alper *et al.*, 2004), le milieu de socialisation (Hussain & Bittles, 1998), la profession (Khlat, 1988 ; Jurdi & Saxena, 2003), et l'âge d'entrée en première union (Afzal *et al.*, 1994 ; Hussain & Bittles, 1999 ; Gunaid *et al.*, 2004).

Récemment, des études ont montré de fortes corrélations entre la consanguinité et plusieurs pathologies, telle que les allergies respiratoires et l'eczéma (Bener & Janahi, 2005), les anomalies cardiaques congénitales (Yunis *et al.*, 2006), la débilité mentale ou le diabète (Bener et Hussain, 2006), ainsi que le taux de mortalité infantile (Hammami *et al.*, 2005).

2-4- LA MORBIDITE

2-4-1- Définition

La morbidité est l'état de maladie ; au sein d'une population déterminée, elle représente le nombre de personnes malades ou de cas de maladies enregistrés à un moment donné ou pendant une période déterminée. Elle peut être exprimée soit en fonction des cas nouveaux (incidence), soit de l'ensemble des cas, anciens et nouveaux (prévalence).

2-4-2- Considérations générales

Il existe deux approches importantes pour déterminer l'étiologie génétique d'une maladie : l'analyse de liaison et l'analyse d'association. Les termes liaison et association sont souvent utilisés comme synonyme de manière erronée.

La liaison implique que le gène à l'étude et le gène putatif responsable de la maladie sont sur le même chromosome. Il est déterminé par co-ségrégation de la maladie avec un variant génétique particulier dans les familles se composant des individus affectés et non affectés. Cette approche a été utile dans l'identification des gènes pour les maladies qui suivent la transmission mendélienne, comme la mucoviscidose (autosomique récessif) et la chorée de Huntington (autosomique dominant), mais pas pour les maladies complexes comme le diabète. L'association implique qu'un allèle spécifique est trouvé plus souvent (lié à la susceptibilité) ou moins souvent (lié à la résistance) dans un groupe d'individus non liés avec une maladie que dans les sujets sans cette maladie. Cette approche est plus puissante que la liaison dans la détection des gènes pour les maladies complexes.

2-4-3- Groupes sanguins ABO et maladies

2-4-3-1- Antigènes ABH et maladies infectieuses

De très nombreuses études épidémiologiques mettent en évidence des corrélations statistiques entre des Ag de groupes sanguins (ABH et Lewis) et des maladies infectieuses humaines. Les Ac naturels anti-A ou anti-B peuvent, en effet, se fixer sur des Ag glucidiques exprimés par les bactéries ou les virus et diminuer la sévérité de l'infection. Plus fréquemment, les Ag ABH présents sur les cellules épithéliales servent de récepteurs à des agents infectieux ou des toxines. Il est probable que cette interaction entre les pathogènes et les groupes sanguins ABH participe, dans le cadre d'une coévolution, au maintien du polymorphisme ABO.

2-4-3-2- Antigènes ABH et cancer

Des modifications des groupes sanguins ABH ont d'abord été constatées au niveau des GR de patients atteints d'hémopathies malignes puis dans le cadre de tumeurs solides. Une revue publiée en 2001 par Le Pendu fait le point sur les modifications antigéniques, leurs conséquences sur la progression tumorale, et leur intérêt potentiel sur le plan clinique. Les

modifications antigéniques ABH observées dans les hémopathies malignes comme sur les tumeurs solides correspondent le plus souvent à une diminution, voire une disparition de l'expression antigénique A, B ou H. L'Ac correspondant à l'Ag disparu n'est jamais mis en évidence dans le plasma de ces patients. Le Pendu fait l'hypothèse que les Ag ABH et Lewis, fortement exprimés sur les cellules épithéliales dans un stade précancéreux, faciliteraient la cancérogenèse, grâce à l'augmentation de la résistance à l'apoptose, et à l'échappement immunitaire de ces cellules. A un stade plus avancé, la perte des Ag A et B favoriserait le processus métastatique puisque ces Ag inhibent la motilité cellulaire (Le Pendu *et al.*, 2001).

2-4-3-3- Antigènes ABH et autres maladies

Diverses pathologies sont associées aux groupes sanguins ABH, Lewis et surtout au phénotype sécréteur. Les sujets non sécréteurs semblent avoir une prévalence augmentée pour les pathologies auto-immunes, comme la spondylarthrite ankylosante, l'arthrite rhumatoïdale, le syndrome de Sjögren, la sclérose en plaques ou la maladie de Graves.

Dans la sclérose en plaques, il a été mis en évidence un déficit du groupe O, au profit du groupe B, et objective un excès de phénotype Le(a-b-).

Les groupes sanguins ABH sont impliqués dans des anomalies d'ordre hématologique, les problèmes hémorragiques étant plus fréquents chez les sujets de groupe O, surtout s'ils sont non sécréteurs. Ceci semble particulièrement net dans les ulcères gastro-intestinaux (D'Adamo et Kelly, 2001). On observe aussi un excès de sujets de groupe A dans la maladie de Biermer et dans la maladie thromboembolique.

Dans l'allergie, une association positive a été établie entre l'asthme et le phénotype O non sécréteur (Ronchetti *et al.*, 2001).

Au total, de très nombreux articles décrivent des associations entre maladie et groupe sanguin ABO mais autant d'articles vont à l'encontre de ces affirmations. Cela montre les limites de ce type d'études et l'extrême précaution à prendre dans l'exploitation de ces résultats.

2-4-4- Associations HLA-maladie

L'existence d'un système immunogénétique très polymorphe avec des fonctions immunitaires primordiales dans l'initiation et le contrôle de la réponse immune a encouragé très tôt des travaux de recherche de susceptibilité à certaines affections. En 1985, plus de 500 études rapportaient des associations HLA-maladies (Tiwari et Terasaki, 1985). Pour la plupart,

L'association exprimée en termes de risque relatif (RR) restait faible, mais pour d'autres ces associations étaient fortes et se retrouvaient dans différentes ethnies ; elles ont été confirmées régulièrement lors de nouvelles évaluations utilisant les nouveaux outils de biologie moléculaire de typage HLA.

Le tableau 10 rapporte les principales associations HLA-maladies, dont le RR est élevé. Le principe consiste à comparer les fréquences des Ag HLA d'un ou plusieurs locus observées dans une population de malades, à celles observées dans une population témoin (Hors, 1997). L'analyse peut se faire à l'aide du test de khi-2, mais est souvent réalisé par le calcul du RR ; celui-ci exprime simplement combien de fois est plus fréquente une maladie chez les individus ayant un Ag donné que chez ceux qui ne l'ont pas.

Allèles HLA	Maladies	RR
B27	Spondylarthrite ankylosante	100-200
	Arthrite rhumatoïde juvénile	10-12
DR4	Arthrite rhumatoïde adulte	9
Cw6	psoriasis	7
DQ2,DQ8	Maladie cœliaque	30
DQ6	Sclérose multiple	12
DR3	Maladie d'Addison	5
Diabète	DQ8	14
	DQ6	0,02

Tableau 10. Principales associations antigènes HLA et maladies (Virella, 2007)

Les maladies associées à HLA sont le plus souvent le résultat d'interaction de plusieurs gènes avec, dans le cas des maladies auto-immunes, l'intervention de facteurs environnementaux ; mais il semble bien que les gènes du système HLA jouent un rôle majeur dans ces prédispositions génétiques. Ainsi, dans le diabète de type 1, le taux de concordance pour des jumeaux monozygotes est de 40-45%. Pour des frères ou sœurs HLA identiques, ce taux est de 20% comparé au taux de 1% dans le cas de non-identité HLA (2 haplotypes différents) entre individus d'une même fratrie.

L'association HLA B27 et spondylarthrite ankylosante est la plus ancienne et l'une des plus fortes, puisque plus de 90% des patients sont B27 positifs. La biologie moléculaire, qui permet d'individualiser aujourd'hui plus de 13 variants alléliques B27, n'objective toutefois pas d'allèles résistants. D'autre part, certains allèles B27 pourraient exposer à un risque moindre (B*2703, B*2706 et B*2708), laissant entrevoir que des changements de séquences, même

minimes, dans la molécule B27, conduiraient à des modifications de degré de susceptibilité liées à des spécificités différentes de présentation peptidique (Boisgérault *et al.*, 1996).

2-4-5- Détection des maladies par marqueur moléculaire

Aujourd'hui, plusieurs maladies peuvent être détectées par les marqueurs moléculaires. Les séquences des mini-satellites sont hautement variables, et sont souvent associées à certaines maladies telle que le diabète et divers types de cancer. Il en est de même pour les microsatellites qui sont utiles pour la détection des cancers.

Pour les SNP, la plupart d'entre eux se produisent dans des régions non-codante du génome et sont donc non informative vis-à-vis de la maladie (Sachidanandam *et al.*, 2001), mais certains SNP peuvent être impliqués dans l'identification des substitutions responsables d'une maladie humaine ; au niveau d'un gène, plusieurs SNP peuvent exister dont certains contribuent à la détermination d'un phénotype de morbidité, mais pour déterminer leur signification pour une maladie, il faut d'abord les localiser (Carlson *et al.*, 2004 ; Livingston *et al.*, 2004).

2-4-6- Le diabète

2-4-6-1- Généralités sur le diabète

Le diabète mellitus est caractérisé par une hyperglycémie chronique avec perturbation des métabolismes glucidique et lipidique, résultant à des défauts de sécrétion de l'insuline, de l'action de l'insuline, ou des deux. Une fois entièrement exprimé, le diabète est caractérisé par une hyperglycémie à jeûne, mais la maladie peut également être identifiée pendant les étapes moins manifestes, le plus habituellement par la présence de l'intolérance au glucose.

Il existe 2 types de base de diabète :

- Type 1 ou DID : la production de l'insuline est absente ou très faible. Ces personnes ont besoins d'injections quotidiennes d'insuline pour survivre.
- Type 2 : (le plus fréquent) l'utilisation efficace de l'insuline est remise en cause. Ces personnes peuvent parfois contrôler leur état avec seulement des mesures d'hygiène de vie, mais des médicaments oraux sont souvent nécessaires.

Un 3^{ème} type de diabète, le diabète gestationnel, se développe pendant quelques cas de grossesse mais disparaît habituellement après la grossesse.

**MATERIEL
ET
METHODES**

1- Echantillonnage

Pour caractériser la population de l'ouest algérien, on a ciblé la wilaya d'Oran.

Après avoir pris connaissance et signé un formulaire de consentement (voir annexe 1),

300 personnes ont répondu à un questionnaire comportant une partie biologique et une partie anthropologique, puis ont subi une prise de sang. Parmi ces personnes, se trouvaient des malades et des témoins.

2- Questionnaire (voir annexe 2)

Les questionnaires ont concernés la totalité de l'effectif interrogé, à savoir 149 hommes et 151 femmes.

Le questionnaire utilisé comprenait les paramètres anthropométriques (âge, poids, taille, ...), les paramètres sociologiques (niveau d'instruction, profession, ...), l'origine ethnique, les liens de parenté, les données sanitaires de l'individu et de sa famille, ainsi que divers indicateurs sur la qualité de vie individuelle.

3- Analyse des échantillons par marqueur des groupes sanguins

Les groupes sanguins ont été examinés sur les 300 personnes. Environ 5 ml de sang a été prélevé par ponction veineuse à l'aide d'une seringue stérile et recueilli dans des tubes contenant de l'EDTA comme anticoagulant. 1 ml de sang a servi ensuite à déterminer le groupage sanguin, à savoir les systèmes ABO et rhésus, par les méthodes de Beth-Vincent et celle de Simonin.

Le reste du sang a été congelé à - 4°C, pour être utilisé plus tard.

Dans la « méthode de Beth-Vincent », on prend une plaque qu'on nettoie avec de l'alcool, et on dépose 3 gouttes de sang distinctes auxquelles on ajoute les sérums-test anti-A, anti-B et anti-AB, et on mélange avec une baguette en verre stérile, puis on imprime à la plaque un léger mouvement de bascule. On vérifie alors, à l'œil nu, la présence ou l'absence d'agglutination.

Dans la « méthode de Simonin », le principe est le même sauf que ce sont les hématies qui sont connues et le sérum qui est à étudier.

Pour la détermination du rhésus, on a besoin d'une lame placée sur une boîte lumineuse chauffante ; une goutte de sang fraîchement recueilli est mise en contact à 38-40°C avec une goutte de sérum-test agglutinant anti-D. Si les hématies se mettent en amas, le sang est Rh+, si elles restent libres, le sang est Rh-.

4- Extraction de l'ADN (voir annexe 3)

Après décongélation des échantillons de sang stockés quelques jours auparavant, on a effectué une extraction d'ADN des échantillons des malades diabétiques et des témoins.

Pour une quantité relative de 2 ml de sang total, on a pu obtenir des concentrations d'ADN de 125 ± 70 ng/ μ l.

L'ADN devait servir à pratiquer un marquage moléculaire (typage HLA), mais faute de réactifs, on n'a pas pu pratiquer l'amplification par PCR, donc on a créé une banque d'ADN qui fera l'objet d'analyses ultérieures, afin de réaliser le marquage moléculaire de notre population.

5- Analyses statistiques

5-1- Fréquences alléliques des groupes sanguins

L'estimation des fréquences alléliques a été réalisée en utilisant la formule de "Bernstein".

La vérification de l'équilibre de "Hardy-Weinberg" a été faite en comparant les fréquences absolues observées (déterminées à partir du comptage direct des phénotypes) avec les fréquences théoriques.

5-2- L'hétérozygotie

Elle permet d'évaluer le degré d'hétérogénéité intra-populationnelle, elle est calculée en utilisant la formule de "Cavallis-Forza" :

$H = 1 - \sum P_i^2$ où P_i = fréquence de l'allèle i

5-3- Comparaisons et relations inter-populationnelles

Les comparaisons inter-populationnelles des fréquences alléliques de notre population avec celles d'autres populations ont été effectuées par le test du χ^2 à l'aide du logiciel Statistica 7 (StatSoft).

Le coefficient de diversité génétique F_{st} de Wright (1978) estimé par analyse de variances AMOVA (Weir & Cockerham, 1984 ; Excoffier *et al.*, 1992) grâce au logiciel Arlequin 3.5 (Excoffier et Lischer, 2010).

L'analyse en composantes principales a été effectuée grâce au logiciel Xlstat (Addinsoft), selon la méthode de Pearson, type biplot : corrélation/coefficient.

Les distances génétiques entre les différentes populations ont été réalisées grâce au logiciel Arlequin 3.5 (Excoffier et Lischer, 2010).

Les arbres phylogénétiques ont été réalisés grâce au logiciel MEGA 4 (Tamura, Dudley, Nei and Kumar 2007) selon la méthode « Neighbor-Joining » à partir de la matrice des coefficients de co-ancestralité (Reynolds *et al.*, 1983).

5-4- Les paramètres du questionnaire

La signification des réponses recueillies du questionnaire a été traitée par le test d'indépendance du χ^2 qui permet de comparer les écarts entre les valeurs théoriques et les valeurs observées.

RESULTATS
ET
DISCUSSION

Allèle	Oran (population d'étude)	Nationale	Nord-africaine	Moyen-orientale	Européenne
ABO*A	15,6	13,7 – 25,1	6,5 – 33	12 – 29,6	19,8 – 36,3
ABO*B	12,8	9,9 – 14,9	4,4 – 21,1	7,5 – 15,6	2,3 – 13,2
ABO*O	71,6	63,1 – 72,5	52 – 89,1	59,8 – 76,1	41,1 – 74,7

Tableau 14. Variation des fréquences alléliques du système ABO

La comparaison détaillée des distributions des fréquences du système ABO (tableaux 15 et 16) nous montre que :

A l'échelle nationale, le pourcentage de différences non significatives (DNS%) est de 92%, ce qui montre une similitude élevée au niveau des différentes populations de l'Algérie.

	N	ABO*A	ABO*B	ABO*O	χ^2	Signif.	Référence
Oran (population d'étude)	300	0,156	0,128	0,716			Présente étude
ALGERIE							
Oran	15895	0,212	0,105	0,682	2,10	NS	Auzas, 1957
Tlemcen	245	0,182	0,099	0,719	1,22	NS	Ruffié <i>et al.</i> , 1962
Tizi-Ouzou	254	0,170	0,149	0,681	0,59	NS	Ruffié <i>et al.</i> , 1966
Sidi Bel-Abbes	563	0,188	0,122	0,689	0,67	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Saïda	182	0,196	0,143	0,661	1,43	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Miliana	507	0,251	0,117	0,631	4,91	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Alger	347	0,216	0,127	0,656	2,21	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Bejaïa	999	0,222	0,127	0,651	2,61	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Constantine	825	0,195	0,125	0,680	0,98	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Annaba	275	0,227	0,132	0,640	3,14	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Batna	469	0,210	0,116	0,673	1,77	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Msila	183	0,198	0,111	0,690	1,22	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
A. Salah	94	0,137	0,137	0,725	0,30	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Mecheria	100	0,210	0,120	0,670	1,76	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
OUEST-ALGERIE							
Ain Temouchent		0,199	0,115	0,691	1,15	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Beni-saf		0,236	0,103	0,660	3,74	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Remchi		0,232	0,108	0,661	3,26	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Maghnia		0,210	0,111	0,676	1,89	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Ouled Mimoun		0,240	0,123	0,640	3,84	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Nedroma		0,220	0,094	0,690	3,24	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Souk-el-Khemis		0,269	0,079	0,653	8,41	*	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Zaouia Sidi-Benamar		0,200	0,098	0,705	1,94	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Oulhaca	294	0,253	0,110	0,641	4,82	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2009
M'sirda	250	0,180	0,108	0,712	0,69	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Honaine	200	0,272	0,054	0,674	15,35	***	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005

NS : $P \geq 0,05$ * : $0,01 \leq P < 0,05$ ** : $0,001 \leq P < 0,01$ *** : $P \leq 0,001$

Tableau 15. Comparaison inter-populationnelle des fréquences alléliques du Système ABO de notre population au niveau National.

A l'échelle Nord-Africaine, le DNS% est de 76,92%, on retrouve des différences hautement significatives avec les Berbères de Aït-Hadidou du Maroc, et la Tunisie du sud et la région du Caire (Egypte).

A l'échelle du Moyen-Orient, on retrouve un DNS% de 85,71%, on trouve une différence significative la population du Liban.

Par rapport aux populations du Nord-Méditerranéen, on note un DNS% de 27,78%. On remarque que notre population présente des similitudes de fréquences avec les populations de certaines régions de l'Italie, ainsi que certaines régions de la méditerranéenne de l'est, notamment la Turquie et la Grèce. Ce résultat nous laisse conclure que notre population est distante de la rive nord de la méditerranée.

	N	ABO*A	ABO*B	ABO*0	χ^2	Signif.	Référence
Oran (population d'étude)	300	0,156	0,128	0,716			Présente étude
NORD-AFRIQUE							
Berbères de Hoceima	110	0,242	0,090	0,668	5,01	NS	Afkir, 2004
Ber Moyen-Atlas	140	0,192	0,109	0,699	1,05	NS	Harich, 2002
Ber de Ouarzazate	100	0,204	0,133	0,663	1,58	NS	Errahoui, 2002
Ber de Souss-haha	103	0,159	0,097	0,744	1,10	NS	Chadli, 2002
Ber Aït Hadidou	256	0,065	0,044	0,891	32,21	***	Johanson <i>et al.</i> , 1963
Arabes de Beni-Mellal	131	0,218	0,074	0,708	5,71	NS	Ossmani, 2002
Arabes Méridionaux	101	0,173	0,148	0,679	0,64	NS	Kandil, 1999
Tunisie Sud	120	0,330	0,050	0,620	22,83	***	Chaabani <i>et al.</i> , 1988
Tunisie Centre	203	0,190	0,078	0,732	3,85	NS	Chaabani <i>et al.</i> , 1984
Libye	168	0,225	0,132	0,643	2,96	NS	Walter <i>et al.</i> , 1975
Egypte Sinaï	297	0,152	0,147	0,701	0,29	NS	Bonné <i>et al.</i> , 1971
Egypte Caïre	516	0,269	0,211	0,520	15,40	***	Matta, 1937
Egypte Sud	208	0,222	0,104	0,674	2,78	NS	Azim <i>et al.</i> , 1974
MOYEN-ORIENT							
Liban	2259	0,296	0,106	0,598	9,41	**	Ruffié et Taleb, 1965
Koweït	162	0,173	0,127	0,700	0,90	NS	Sawhney <i>et al.</i> , 1984
Jordanie	188	0,180	0,128	0,692	0,40	NS	Saha <i>et al.</i> , 1986
Iraq	2156	0,230	0,156	0,604	5,24	NS	Al-Khafedji <i>et al.</i> , 1980
Arabie Saoudite ouest	210	0,162	0,126	0,712	0,03	NS	Saha <i>et al.</i> , 1980
Arabie Saoudite est	465	0,120	0,150	0,730	1,43	NS	Maranjian <i>et al.</i> , 1966
Yémen	164	0,164	0,075	0,761	4,05	NS	Tills <i>et al.</i> , 1983
NORD MEDITERRANEE							
Tenerife	634	0,272	0,064	0,664	11,75	**	Moral, 1986
Espagne Centre	226	0,272	0,115	0,613	6,82	*	Mesa <i>et al.</i> , 1994
Andalousie	859	0,295	0,066	0,639	13,30	**	Planas <i>et al.</i> , 1966
Catalogne	279	0,334	0,065	0,601	17,79	***	Moreno-Moral, 1983
Basques	586	0,230	0,023	0,747	50,44	***	Manzano <i>et al.</i> , 1996
Portugal (Terra de bouro)	118	0,360	0,052	0,588	25,45	***	Gruz <i>et al.</i> , 1973
France Sud	968	0,275	0,053	0,672	16,05	***	Kherummian, 1961
Corse	616	0,239	0,041	0,720	21,35	***	Memmi, 1999
Italie Sud	4184	0,216	0,088	0,696	3,54	NS	Piazza <i>et al.</i> , 1989
Sicile	227	0,218	0,125	0,657	2,30	NS	Vona <i>et al.</i> , 1998
Sardaigne	109	0,210	0,076	0,714	4,95	NS	Moral <i>et al.</i> , 1994
Grèce Continentale	114	0,214	0,092	0,694	3,05	NS	Tsiakalos <i>et al.</i> , 1980
Grèce platie	1038	0,321	0,072	0,607	14,79	***	Tills <i>et al.</i> , 1983
Grèce crête	901	0,363	0,146	0,491	22,34	***	Barnicot <i>et al.</i> , 1965
Malte	119	0,257	0,052	0,691	15,17	***	Ikin, 1996
Chypre	21311	0,300	0,091	0,609	10,30	**	Poumpourido <i>et al.</i> , 1995
Turquie centre	876	0,288	0,132	0,580	9,25	**	Atasoy <i>et al.</i> , 1995
Turquie rive Médit	506	0,198	0,132	0,670	1,22	NS	Atasoy <i>et al.</i> , 1995

NS : $P \geq 0,05$ * : $0,01 \leq P < 0,05$ ** : $0,001 \leq P < 0,01$ *** : $P \leq 0,001$

Tableau 16. Comparaison inter-populationnelle des fréquences alléliques du Système ABO de notre population au niveau International.

La comparaison des fréquences des 2 allèles du système Rh avec celle des autres populations (tableau 17) montre :

- La fréquence de l'allèle D de notre population s'insère dans tous les intervalles de variations des populations étudiés.
- Celle de l'allèle d s'insère aussi dans tous les intervalles de variations des populations.

Allèle	Population étudié	Nationale	Nord-Afrique	Moyen-Orient	Nord-méditer
D	68	59,9 – 89,3	35,3 – 98,6	44,3 – 99,9	41,5 – 91
d	32	17,6 – 34	15,8 – 65,6	25,7 – 36,7	21,2 – 61

Tableau 17. Variation des fréquences alléliques du système Rh

La comparaison détaillée des distributions des fréquences du système Rh (tableaux 18 et 19) nous montre que :

A l'échelle nationale, le pourcentage de différences non significatives (DNS%) est de 82,61%.

	N	D	d	χ^2	Signif.	Référence
Oran (population d'étude)	300	0,680	0,320			Présente étude
ALGERIE						
Oran	88	0,706	0,294	0,33	NS	Aireche <i>et al.</i> , 1988
Tlemcen	137	0,698	0,302	0,15	NS	Aireche <i>et al.</i> , 1988
Tizi-Ouzou	467	0,701	0,299	0,21	NS	Aireche <i>et al.</i> , 1988
Sidi Bel-Abbes	560	0,707	0,293	0,35	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Saïda	176	0,710	0,290	0,44	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Miliana	475	0,738	0,262	1,74	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Bejaia	973	0,709	0,291	0,41	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Constantine	815	0,747	0,253	2,37	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Annaba	283 864	0,732	0,268	1,38	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Msila	169	0,710	0,290	0,44	NS	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
A. Salah	91	0,792	0,208	7,61	**	Lefevre <i>et al.</i> , 2006
Mechria	100	0,542	0,457	7,56	**	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
OUEST-ALGERIE						
Ain Temouchent		0,665	0,335	0,10	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Beni-saf		0,704	0,296	0,28	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Remchi		0,689	0,310	0,05	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Maghnia		0,678	0,321	0,01	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Ouled-mimoun		0,700	0,300	0,19	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Nedroma		0,727	0,273	1,11	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Souk-el-khemis		0,793	0,206	7,94	**	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Z.Sidi-Benamar		0,625	0,375	1,29	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Oulhaca	92	0,706	0,294	0,33	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2009
M'sirda	50	0,880	0,120	37,88	***	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
Honaine	50	0,660	0,340	0,18	NS	Aouar <i>et al.</i> , 2004 et 2005
NS : $P \geq 0,05$ * : $0,01 \leq P \leq 0,05$ ** : $0,001 \leq P \leq 0,01$ *** : $P \leq 0,001$						

Tableau 18. Comparaison inter-populationnelle des fréquences alléliques du Système Rh de notre population au niveau National.

A l'échelle Nord-Africaine, le DNS% est de 54,54%, on retrouve des différences significatives avec les Berbères de Hoceima, Ouarzazate et Ait-Hadidou du Maroc, ainsi que l'Egypte.

A l'échelle du Moyen-Orient, on retrouve un DNS% de 100% indiquant de très fortes ressemblances avec les populations de cette région.

Par apport aux populations du Nord-Méditerranéen, on note un DNS% de 70,59%. On trouve des différences significatives avec l'Espagne (centre, Basques), le Portugal, et des différences légèrement significatives avec les régions de l'Italie (sud et Sardaigne).

	N	D	d	χ^2	Signif.	Référence
Oran (population d'étude)	300	0,680	0,320			Présente étude
NORD-AFRIQUE						
Berbères de Hoceima	73	0,798	0,202	8,64	**	Afkir, 2004
Ber Moyen Atlas	108	0,661	0,339	0,16	NS	Harich, 2002
Ber de Ouarzazate	100	0,546	0,454	7,24	**	Errahoui, 2002
Ber de Souss-haha	86	0,620	0,380	1,53	NS	Chadli, 2002
Ber Ait Hadidou	256	0,771	0,229	4,69	*	Johonson <i>et al.</i> , 1963
Arabes de beni Mellal	131	0,683	0,317	0,01	NS	Mechali, 1955
Arabes Méridionaux	101	0,626	0,374	1,25	NS	Ossmani, 2002
Tunisie	474	0,665	0,335	0,10	NS	Moullec <i>et al.</i> , 1954
Libye	168	0,655	0,345	0,28	NS	Walter <i>et al.</i> , 1975
Egypte Caire	720	0,837	0,163	18,07	***	El-Dewi, 1951
Egypte Sinai	297	0,531	0,469	8,91	**	Bonné <i>et al.</i> , 1971
MOYEN-ORIENT						
Liban	2255	0,699	0,301	0,17	NS	Ruffi et Taleb, 1965
Koweït	110	0,652	0,348	0,34	NS	Sawhney <i>et al.</i> , 1984
Jordanie	188	0,678	0,322	0,01	NS	Nabulsi, 1997
Arabie Saoudite	178	0,716	0,284	0,64	NS	Saha <i>et al.</i> , 1980
Yémen	254	0,736	0,264	1,61	NS	Tills <i>et al.</i> , 1977
NORD MEDITERRANEE						
Alpoujarras	163	0,672	0,328	0,03	NS	Fernandez <i>et al.</i> , 1999
Espagne centre	226	0,557	0,443	6,13	*	Mesa <i>et al.</i> , 1994
Catalogne	282	0,606	0,394	2,29	NS	Moreno et Moral, 1980
Basques	586	0,440	0,560	23,38	***	Manzano <i>et al.</i> , 1996
Portugal	116	0,458	0,542	19,85	***	Cruz <i>et al.</i> , 1973
France sud	500	0,595	0,405	3,00	NS	Derycke <i>et al.</i> , 1965
Corse	534	0,683	0,317	0,01	NS	Memmi, 1999
Italie centre	1032	0,639	0,361	0,73	NS	Piazza <i>et al.</i> , 1989
Italie Sud	368	0,780	0,220	5,83	*	Sangiorgi <i>et al.</i> , 1982
Sicile	101	0,673	0,327	0,02	NS	Vona <i>et al.</i> , 1998
Sardaigne	105	0,767	0,233	4,23	*	Vona <i>et al.</i> , 1993
Grèce continentale	114	0,677	0,323	0,01	NS	Tsiakalos <i>et al.</i> , 1978
Grèce crête	171	0,649	0,351	0,42	NS	Barnicot <i>et al.</i> , 1965
Grèce platie	1038	0,702	0,298	0,23	NS	Tills <i>et al.</i> , 1983
Malte	119	0,692	0,308	0,07	NS	Ikin, 1963
Chypre	193	0,701	0,299	0,21	NS	Plato <i>et al.</i> , 1964
Turquie centre	108	0,666	0,334	0,09	NS	Aksoy <i>et al.</i> , 1958

NS : $P \geq 0,05$ * : $0,01 \leq P \leq 0,05$ ** : $0,001 \leq P \leq 0,01$ *** : $P \leq 0,001$

Tableau 19. Comparaison inter-populationnelle des fréquences alléliques du Système Rh de notre population au niveau International.

3-La diversité génétique

3-1-Diversité intra-région et inter-région

Le coefficient de diversité génétique F_{st} de Wright (1978) a été calculé pour les différentes populations considérées à partir des fréquences alléliques des deux systèmes ABO et Rh, et comparé à notre population (tableau 20)

	Algérie	Nord-Afrique	Moyen-Orient	Nord-méditerrané
ABO	0,04082 (p=0;***)	0,04023 (p=0;***)	0,02880 (p=0;***)	0,01231 (p=0;***)
Rh	0,00432 (p=0;***)	0,05359 (p=0;***)	-0,00050 (p=0,54;NS)	0,02497 (p=0;***)
Moyenne	0,02257	0,04691	0,01415	0,01864

Tableau 20. Diversité intra-région

A l'échelle nationale, le système ABO est plus hétérogène que Rh

A l'échelle nord-africaine, le système Rh est plus hétérogène que ABO

A l'échelle moyen-orientale, le système ABO est hétérogène alors que Rh a une très faible hétérogénéité

A l'échelle nord-européen, le système Rh est plus hétérogène que ABO

La comparaison inter-populationnelle a révélée les résultats résumés dans le tableau 21 suivant :

	FSC (inter-population)	FCT (inter-groupe)
ABO	0,01045 (p=0;***)	0,00227 (p=0,056;NS)
Rh	0,01955 (p=0;***)	-0,00943 (p=0,68;NS)
Total	56 populations	4 groupes

Tableau 21. Diversité inter-région

Pour les 2 systèmes ABO et Rh, l'hétérogénéité est vue à l'échelle inter-population avec des différences significatives, alors qu'entre les groupes (c.à.d. entre les régions), la différence est non significative. Ces résultats concordent avec la plupart des données bibliographiques.

3-2-Affinités inter-populationnelles

3-2-1-Analyse en composantes principales

Afin de situer notre population d'étude dans l'ensemble des populations avec lesquelles elle a été comparée, on a réalisé une analyse en composantes principales à partir des fréquences déterminées.

Au niveau national (figure 11), la contribution de 75,69% de la variabilité totale est représentée par les 2 axes : F1 (50,18%) et F2 (25,51%). La population étudiée est équidistante à Ain Salah (As), Msirda (Msr), Tlemcen (Tlm), Tizi ouzou (Tzo) et Sidi Belabbes (Sba) ; alors que Souk El-khemis (Sek) et Honaine (Hon) se démarquent de l'ensemble étudié.

Selon l'axe F1, notre population est proche de celles des régions de Msirda (Msr), Tlemcen (Tlm) et Tizi ouzou (Tzo).

Selon l'axe F2, notre population est proche de Sidi Belabbes (Sba) et Ain Temouchent (AT). En prenant en considération les groupes sanguins, on remarque que ce sont les allèles O et B qui contribuent à la corrélation.

A ce niveau, on peut dire que notre population se place du côté de certaines populations de l'ouest mais aussi de différentes régions de l'est et du sud, ce qui nous laisse dire qu'il s'agit d'une population de transit.

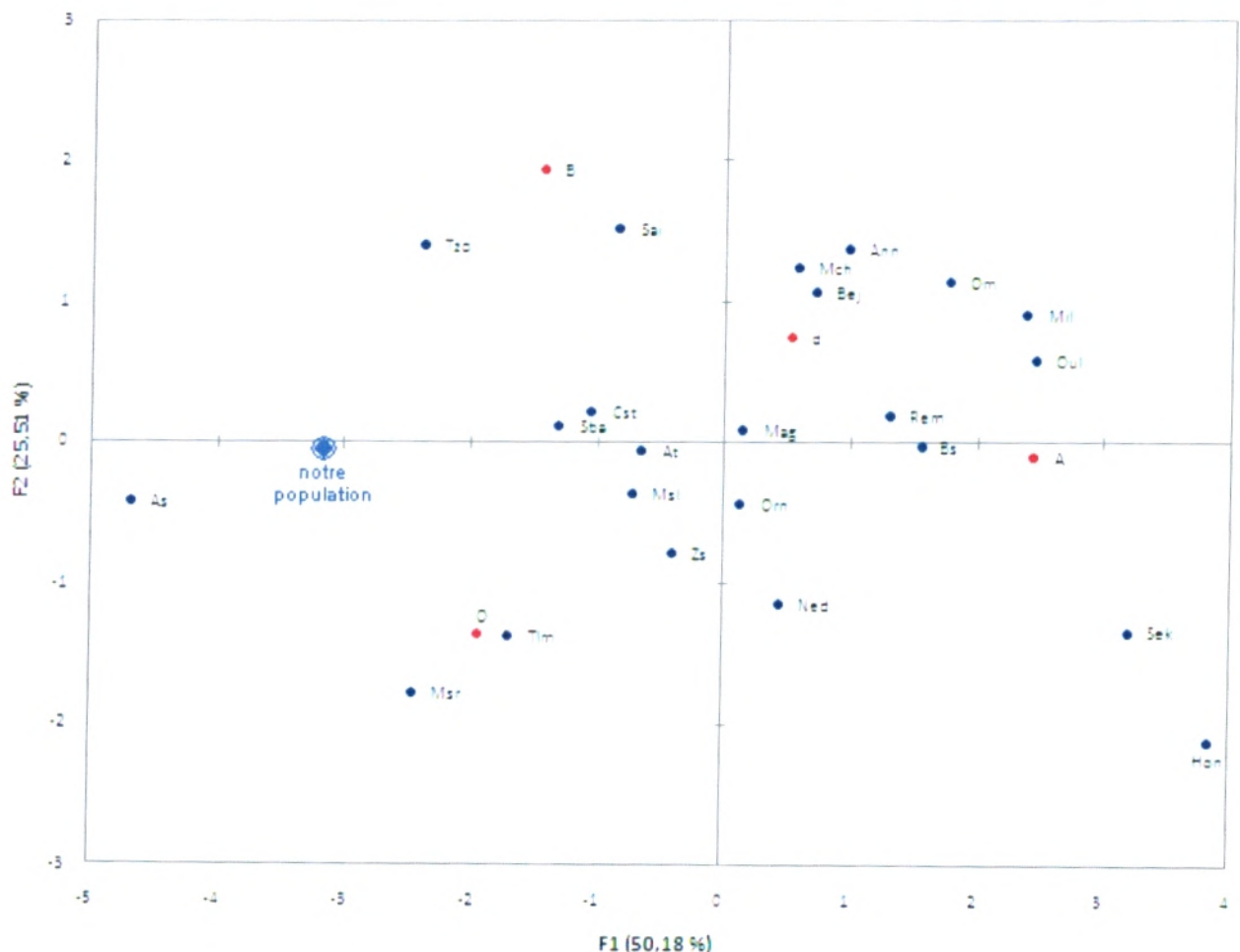


Figure 11. Représentation graphique de l'analyse ACP de la région Algérie

Pop: Population d'étude, Orn: Oran, Tlm: Tlemcen, Tzo: Tizi-ouzou, Sba: Sidi Belabbes, Sai: Saida, Mil: Miliana, Bej: Bejaia, Cst: Constantine, Ann: Annaba, Msl: Msila, As: Ain Salah, Mch: Mecheria, At: Ain Temouchent, Bs: Beni-saf, Rem: Remchi, Mag: Maghnia, Om: Ouled Mimoun, Ned: Nedroma, Sek: Souk El-khemis, Zs: Zaouia Sidi-Benamar, Oul: Oulhaca, Msr: Msirda, Hon: Honaine

Concernant la région « Nord-Afrique et Moyen-Orient » (figure 12), la contribution de 77,64% de la variabilité totale est représentée par les 2 axes : F1 (50,79%) et F2 (26,85%). La population étudiée est équidistante à Souss-haha (Sh), Moyen-Atlas (Ma), Arabie-saoudite ouest (Aso), Arabie-saoudite est (Ase), Jordanie (Jor) et Koweït (Kow). Ait-hadidou (Ah) et Caire (Car) se démarquent complètement de l'ensemble.

Selon l'axe F1, notre population est proche des régions Arabie-saoudite ouest (Aso), Arabie-saoudite est (Ase), Koweït (Kow) et Moyen-Atlas (Ma)

Selon l'axe F2, notre population est proche de Jordanie (Jor) et Souss-haha (Sh).

En prenant en considération les groupes sanguins, on remarque que ce sont les allèles O et d qui contribuent à la corrélation.

A ce niveau, on remarque que notre population est assez proche de certaines régions du Maroc et du Proche-Orient.

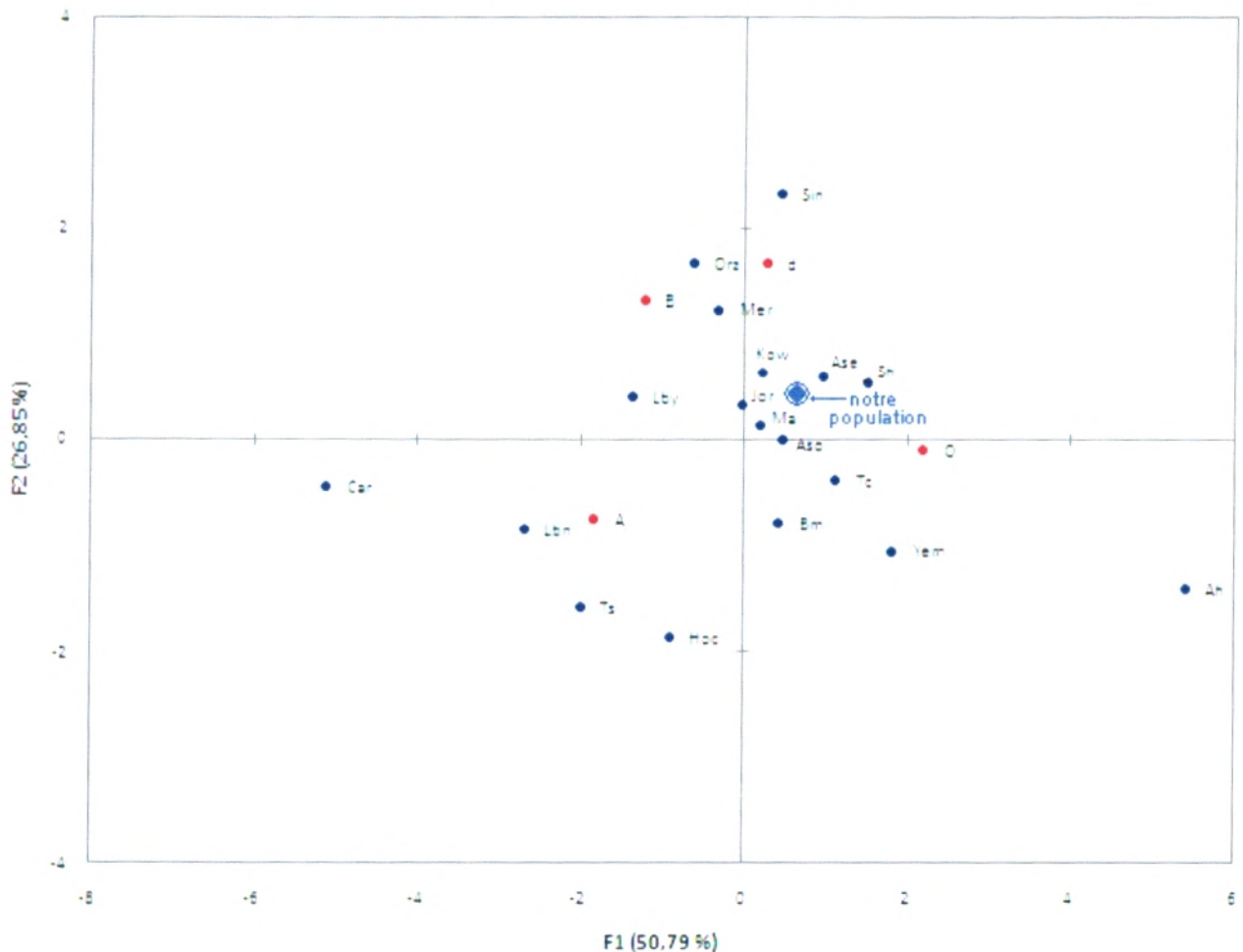


Figure 12. Représentation graphique de l'analyse ACP de la région Nord-Afrique/Moyen-Orient

Pop: population d'étude, Hoc: Hoceima, Ma: Moyen-Atlas, Orz: Ouarzazate, Sh: Souss-haha, Ah: Ait Hadidou, Bm: Arabes Beni-Mellal, Mer: Arabes Méridionaux, Ts: Tunisie sud, Tc: Tunisie centre, Lby: Libye, Sin: Sinaï, Car: Caire, Lbn: Liban, Kow: Koweït, Jor: Jordanie, Aso: Arabie-Saoudite ouest, Ase: Arabie-Saoudite est, Yem: Yémen

Concernant la région « Nord-méditerranée » (figure 13), la contribution par 86,03% de la variabilité totale est représentée par les 2 axes : Axe F1 (49,13%) et Axe F2 (36,91%). La population étudiée est proche des régions Italie sud (Its), Sardaigne (Sar) Turquie méditerranéenne (Tm) Grèce continentale (Gco) et Sicile (Sic) ; alors que Portugal (Por), Basques (Bas) et Grèce crétie (Gcr) se démarquent de l'ensemble étudié.

Selon l'axe F1, notre population est proche de l'Italie sud (Its), Sardaigne (Sar).

Selon l'axe F2, notre population est proche de Sicile (Sic) et Turquie méditerranéenne (Tm).

En prenant en considération les groupes sanguins, on remarque que c'est l'allèle O qui contribue à la corrélation.

A ce niveau, on peut dire que notre population se place du côté de la région sud de l'Europe surtout Italie et Turquie, et qu'il existe des similitudes qu'il faudrait mettre en évidence.

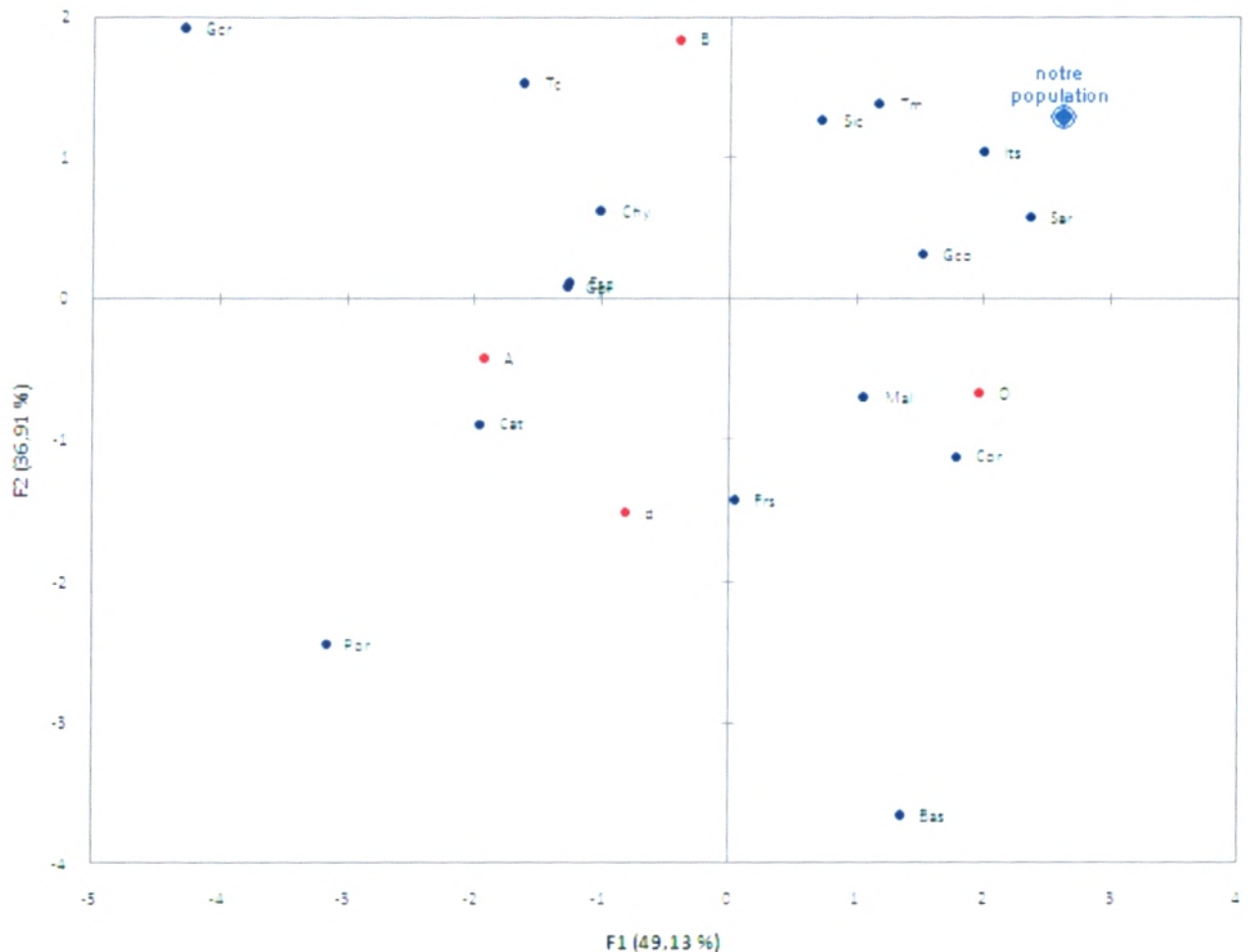


Figure 13. Représentation graphique de l'analyse ACP de la région Nord-méditerranée

Pop: population d'étude, Esp: Espagne centre, Cat: Catalogne, Bas: Basques, Por: Portugal, Frs: France sud, Cor: Corse, Its: Italie sud, Sic: Sicile, Sar: Sardaigne, Gco: Grèce continentale, Gpl: Grèce platie, Gcr: Grèce crétie, Mal: Malte, Chy: Chypre, Tc: Turquie centre, Tm: Turquie méditerranéenne

3-2-2-Distances génétiques et arbres phylogénétiques

Les distances génétiques calculées d'après la formule de Reynolds (Reynolds *et al.*, 1983) entre notre population et les différents groupes populationnels retenus pour les analyses comparatives sont données dans les tableaux 22, 23 et 24.

La distance moyenne (en considérant chaque groupe avec la pop étudié) est :

- pour le groupe Algérie de 0,00328
- pour le groupe Nord-Afrique et Moyen-Orient de 0,01212
- pour le groupe Nord-méditerranée de 0,01084

De manière évidente, notre population est beaucoup plus proche du groupe Algérie. Pour les deux autres groupes, les distances moyennes sont assez proches.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	0																				
2	8,5	0																			
3	0	0	0																		
4	0	2,2	0	0																	
5	0	0	0	0	0																
6	0	0	0	0	0	0															
7	54,2	11,7	30,8	26,5	19,4	0	0														
8	19,4	2,8	10	0	1,3	0	0	0													
9	7	4,3	0	0	0	0	16,6	9	0												
10	19,8	0	8,5	0	0	0	0	0	0	0											
11	5,9	42,3	1,3	8,3	13	24,8	88,3	65	0	50,1	0										
12	56,4	65,4	72,7	48,2	63,8	32,2	82	46,1	119	59,9	236,8	0									
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39,7	0	0								
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	55,9	11,8	0	0							
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	53,5	0	0	0	0						
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31,2	0	0	0	0	0					
17	4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70,6	2,1	0	0	0	0	0				
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	69,4	0	0	0	0	0	0			
19	40,3	2,3	19,8	17,6	10,9	0	0	0	17,4	0	100,2	41,2	0	0	0	0	0	0	0		
20	208,6	188	165,1	204,9	178,5	208,5	212,4	223,1	120,9	200,1	15,4	566	254,5	220,7	236,4	225,2	250,5	119,9	253,7	0	
21	59,9	15,1	26	55,7	34,1	21,9	9,8	15,3	51,3	17,1	157,1	29,9	0	0	0	0	0	0	0	324,5	0

Tableau 22. Distances génétiques Algérie (10⁻⁴)

1-notre population ; 2-Oran ; 3-Tlemcen ; 4-Tizi ouzou ; 5-Sidi Belabbes ; 6-Saida ; 7-Miliana ; 8-Bejaia ; 9-Constantine ; 10-Annaba ; 11-Ain salah ; 12-Mecheria ; 13-Ain Temouchent ; 14-Beni-saf ; 15-Remchi ; 16-Maghnia ; 17-Ouled Mimoun ; 18-Nedroma ; 19-Oulhaca ; 20-Msirda ; 21-Honaine

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	0																		
2	58,4	0																	
3	0	27,5	0																
4	50,8	193,9	1,4	0															
5	0	89,7	0	4,3	0														
6	367,4	481,7	474,8	855,9	399,6	0													
7	0	0	0	34,6	0	458,5	0												
8	0	100,4	0	0	0	613,3	0	0											
9	168,4	75,2	70,8	76,7	142,1	979,4	37,5	106	0										
10	0	32,6	0	48,6	0	376,3	0	0	100,6	0									
11	18,9	58,7	0	0	6,3	704,4	0	0	25,7	14,3	0								
12	57,4	256	30,4	0	9,4	703,1	77,4	0	188,5	72,8	27,9	0							
13	274	128,6	228,5	292	345,7	1011,6	236,7	226,8	201,4	305,7	155,1	385,7	0						
14	127,5	60	56,4	70,8	125,6	749	43,5	72,4	0	96,4	11,4	162,2	125,9	0					
15	0	61,4	0	0	0	489,3	0	0	109,5	0	0	13,4	235,5	80	0				
16	0	37,5	0	11,6	0	469,8	0	0	101,2	0	0	34,8	212,3	71,4	0	0			
17	0	21,7	0	86,2	0	328,9	0	0	171,2	0	29,3	94,9	246,1	126,6	0	0	0		
18	0	94	19,9	142,5	6,2	280	47,8	26,5	300,6	31,5	91,4	124,3	319,1	220,5	12,2	11,4	0	0	
19	16,7	22,8	23,1	210,1	14,5	173,6	7,7	91	239,1	0,1	122,9	209,5	373,2	205,8	44,7	34,1	0	20,3	0

Tableau 23. Distances génétiques Nord-Afrique et Moyen-Orient (10^{-4})

1-notre population ; 2-Hoceima ; 3-Moyen-atlas ; 4-Ouarzazate ; 5-Souss-haha ; 6-Ait Hadidou ; 7-Arabes Beni-mellal ; 8-Arabes méridionaux ; 9-Tunisie sud ; 10-Tunisie centre ; 11-Libye ; 12-Sinaï ; 13-Caire ; 14-Liban ; 15-Koweït ; 16-Jordanie ; 17-Arabie-Saoudite ouest ; 18-Arabie-Saoudite est ; 19-Yémen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	0																
2	144,8	0															
3	210,1	4,3	0														
4	182,5	68,1	117,6	0													
5	383,3	18,7	17,2	102,2	0												
6	104,7	18,2	15,1	52	83,4	0											
7	47,7	147,7	128,6	150,5	307,3	48	0										
8	57,2	282,3	263,1	353	535,9	170,9	41,2	0									
9	3,2	37,1	70,8	131	202	27,6	32,1	68,5	0								
10	21	242,5	225,8	300,2	486,5	130,6	0	0	40,5	0							
11	0	60	81	103,2	231,4	10,9	0	20,6	0	0	0						
12	165,1	69,5	15,5	209	145	42,6	78,7	141,3	51,7	115	49,7	0					
13	374	76,6	53,6	331,4	81,4	170,1	339,9	454,9	185,2	411,1	245,1	101	0				
14	35,4	76,2	49,7	123,8	209	2	0	23,5	0	0	0	10,1	220,7	0			
15	127,9	56,6	22,5	192,6	152,4	39,3	70,6	117,5	29,2	99,3	31,2	0	106,4	7,5	0		
16	139,1	12,2	14,8	181,8	98,5	48,3	130,8	199,1	27,4	171,9	54,4	24,8	48,8	54,4	15,5	0	
17	0,2	58,6	108,1	140	240,4	51	49,2	82,6	0	52,6	0	89,4	230,7	14,2	61,3	55,4	0

Tableau 24. Distances génétiques Nord-méditerranée (10^{-4})

1-notre population ; 2-Espagne centre ; 3-Catalogne ; 4-Basques ; 5-Portugal ; 6-France sud ; 7-Corse ; 8-Italie sud ; 9-Sicile ; 10-Sardaigne ; 11-Grèce continent ; 12-Grèce platie ; 13-Grèce crête ; 14-Malte ; 15-Chypre ; 16-Turquie centre ; 17-Turquie méditerranéenne

La distance génétique la plus élevée est celle retrouvée avec le Portugal (0,03833), cependant on remarque des distances nulles avec différentes régions Tlemcen, Tizi-ouzou, Sidi-Belabbes, Saida, Ain-Temouchent, Beni-saf, Remchi, Maghnia, Nedroma pour le groupe Algérie ; Moyen-atlas, Souss-haha, Arabes Beni-mellal, Arabes méridionaux, Tunisie centre, Koweït, Jordanie, Arabie-Saoudite pour le groupe Nord-Afrique/Moyen-Orient ; et Grèce continent pour le groupe Nord-méditerranée.

Ces résultats confirment partiellement les résultats de rapprochement retrouvés lors de l'analyse en composantes principales.

A partir de ces distances génétiques, on a construit les arbres phylogénétiques qui ont été réalisées selon la méthode « Neighbor-Joining » (figure 14, 15 et 16).

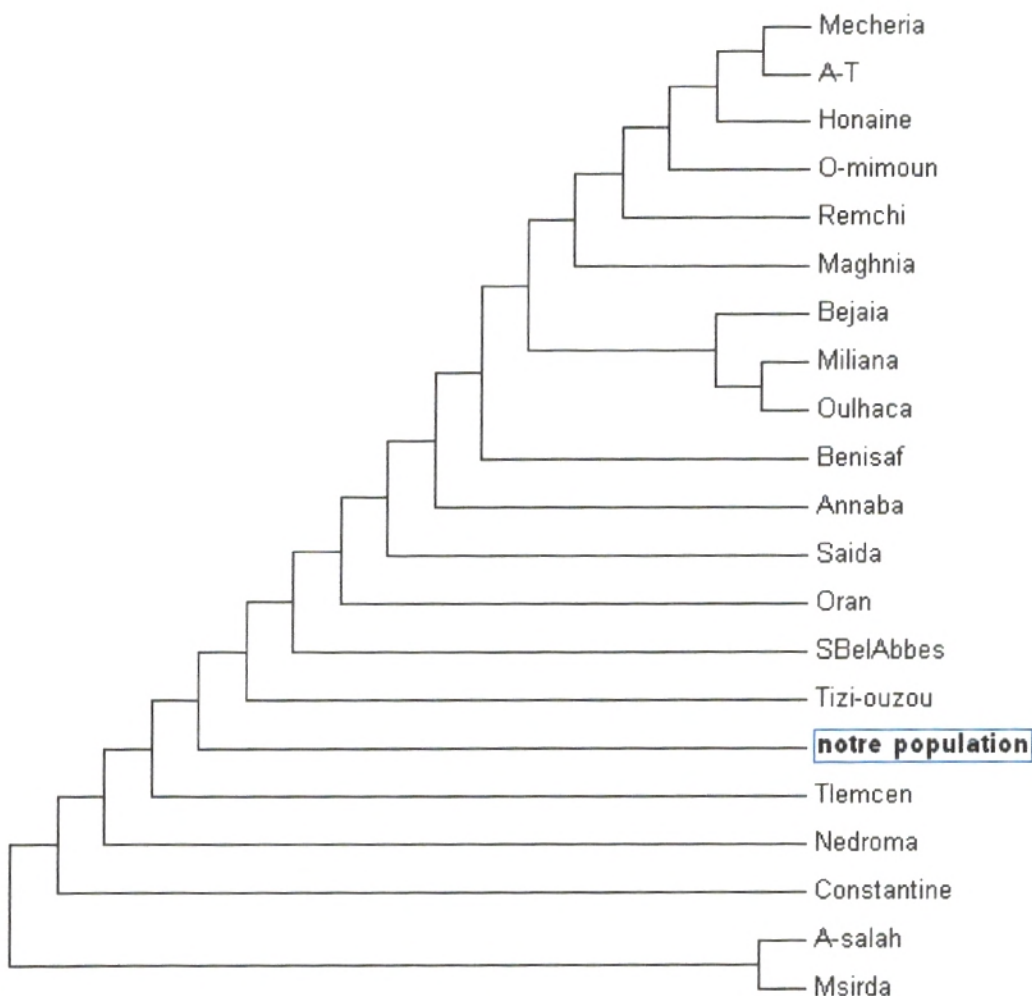


Figure 14. Arbre phylogénétique à l'échelle nationale

Au niveau national, la représentation graphique (figure 14) de l'arbre montre 3 grands groupes :

- le 1^{er} est formé par les régions Mecheria, Ain-Temouchent, Honaine, Ouled-Mimoun, Remchi, Maghnia, Bejaia, Miliana et Oulhaca
- le 2^{ème} est formé par les régions Beni-saf, Annaba, Saida, Oran, Sidi-Belabbes, Tizi-ouzou, Tlemcen, Nedroma et Constantine
- le 3^{ème} est formé par Ain-Salah et Msirda

Notre population est retrouvée avec le 2^{ème} groupe, elle se rapproche ainsi des populations de l'ouest à savoir Tlemcen, Nedroma, Oran et Sidi-Belabbes, mais aussi avec des populations de l'Est qui sont Tizi-ouzou et Constantine. On remarque aussi que le 3^{ème} groupe se détache de l'ensemble.

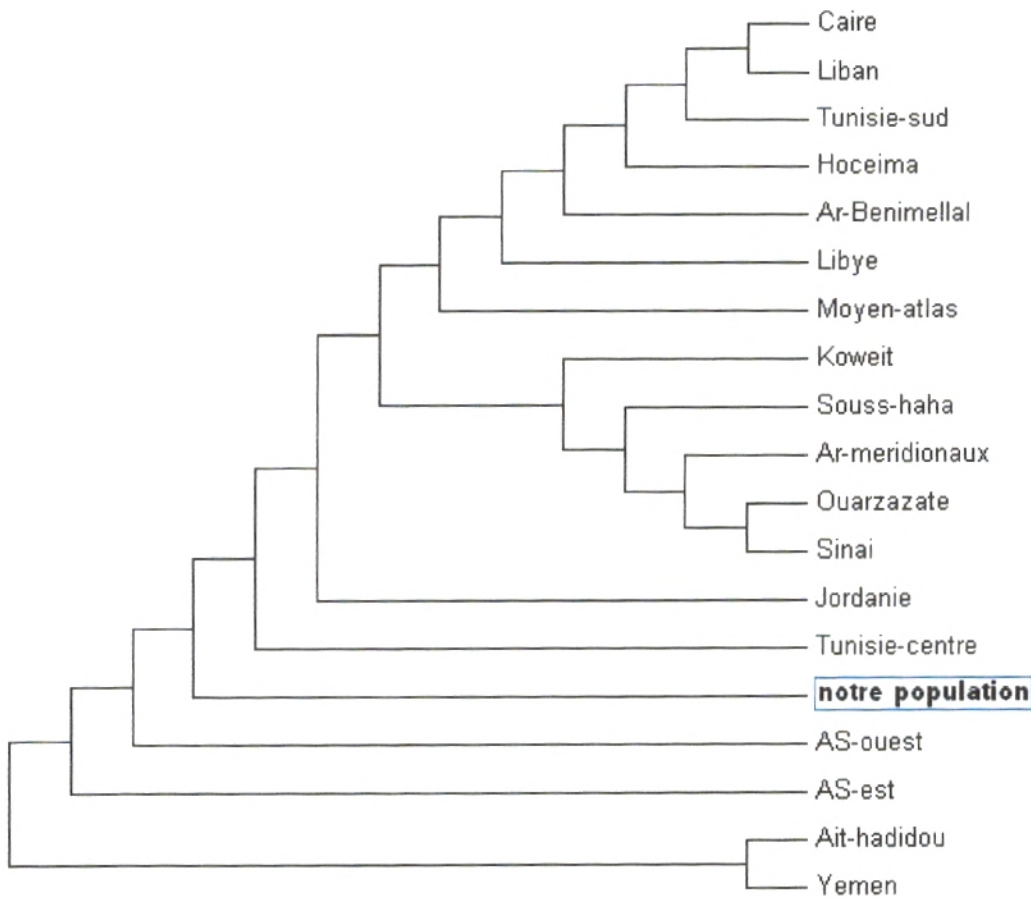


Figure 15. Arbre phylogénétique à l'échelle Nord-Afrique et Moyen-Orient

Au niveau des régions Nord-Afrique et Moyen-Orient, la représentation graphique (figure 15) de l'arbre montre 4 grands groupes :

- le 1^{er} regroupe les régions Caire, Liban, Tunisie sud, Hoceima, Arabes Beni-Mellal, Libye et moyen-Atlas
- le 2^{ème} regroupe les régions Koweït, Souss-haha, Arabes Méridionaux, Ouarzazate et Sinai
- le 3^{ème} regroupe les régions Jordanie, Tunisie centre, Arabie Saoudite Est et Ouest
- le 4^{ème} regroupe les régions Ait-Hadidou et Yémen

Notre population d'étude se retrouve dans le 3^{ème} groupe avec des régions du Proche-Orient, mais est assez proche des 2 premiers groupes. Par contre, le 4^{ème} groupe se détache de l'ensemble.

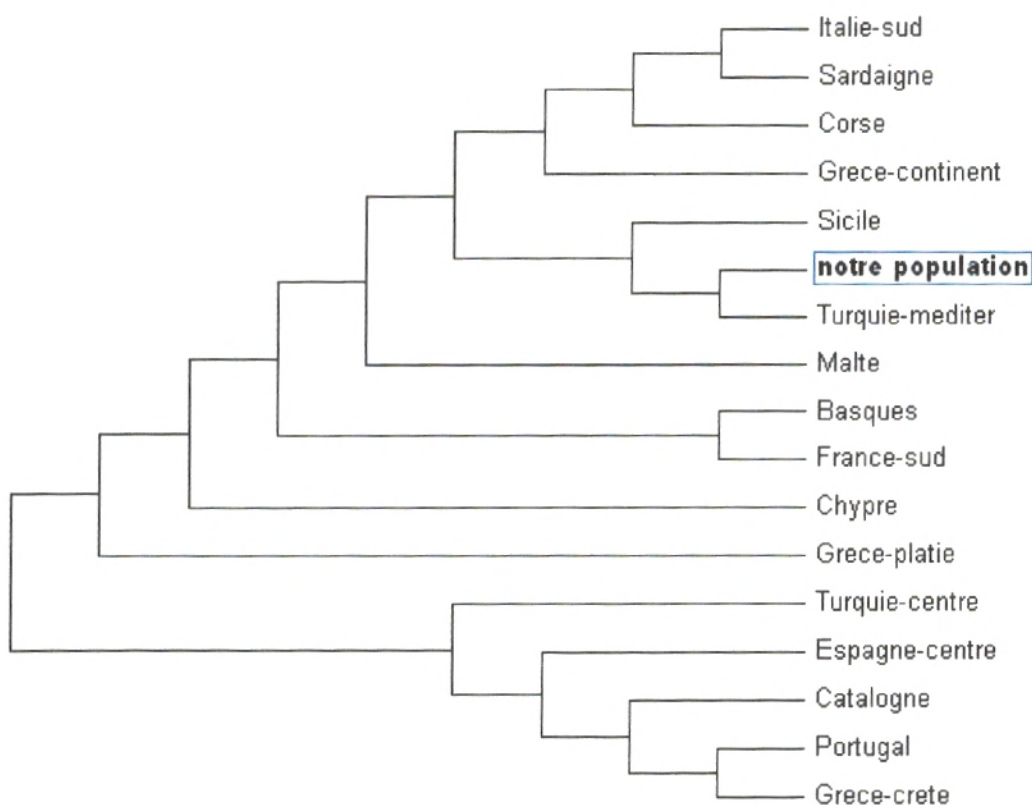


Figure 16. Arbre phylogénétique à l'échelle du Nord Méditerranéen

Au niveau Nord-méditerranéen, la représentation graphique (figure 16) montre 3 grands groupes :

- le 1^{er} regroupe les régions Italie-sud, Sardaigne, Corse, Grèce continentale, Sicile et Turquie méditerranéenne
- le 2^{ème} regroupe les régions Malte, Basques, France-sud, Chypre et Grèce platié
- le 3^{ème} regroupe les régions Turquie centre, Espagne centre, Catalogne, Portugal et Grèce crète

Notre population se retrouve dans le 1^{er} groupe et confirme sa promiscuité avec le sud de l'Europe

3-2-3-Conclusion :

Les résultats de l'analyse des marqueurs des groupes sanguins dans notre population nous ont permis de la situer dans l'ensemble Nord-Africain, Méditerranéen et Moyen-oriental.

L'analyse des systèmes ABO et Rh a permis de localiser notre population surtout vers les populations nationales ; néanmoins, les fréquences alléliques de celles-ci se rapprochent de celles de certaines populations du Moyen-Orient, du Nord-africain et du sud de l'Europe. Schématiquement, notre population présente une hétérogénéité vis-à-vis de certaines populations du Nord de la Méditerranée, ce fait est dû à une fréquence plus élevée de l'allèle ABO*A et une fréquence plus faible des allèles ABO*B et ABO*O, ainsi qu'une fréquence plus élevée de l'allèle d.

Ces résultats mettent en évidence l'existence d'une forte homogénéité dans la population algérienne, y compris celle de l'ouest algérien qui se rattache d'une manière globale aux populations de l'Afrique du nord et du Moyen-Orient, ce qui nous laisse penser que la population algérienne soit un mélange entre les Berbères et les Arabes.

4-Consanguinité et lien de parenté

Le taux de consanguinité total de la population étudié, concernant les individus interrogés et leurs parents est de 27,92%, réparti en 12,92% du 1^{er} degré et 15% du 2^{ème} degré.

4-1-Chez les individus interrogés :

Le taux de consanguinité total est de 20,33%, dont 12,66% 1^{er} degré et 7,67% 2^{ème} degré

La répartition selon le sexe est comme suit (tableau 25, figure 17) :

	Mariages consanguins 1 ^{er} degré	Mariages consanguins 2 ^{ème} degré	Mariages non consanguins	Individus non mariés	Total
Masculin	19	17	66	47	149
pourcentage	6,33%	5,67%	22%	15,67%	
Féminin	19	6	94	32	151
pourcentage	6,33%	2%	31,33%	10,67%	

Tableau 25. Structuration des mariages des individus interrogés

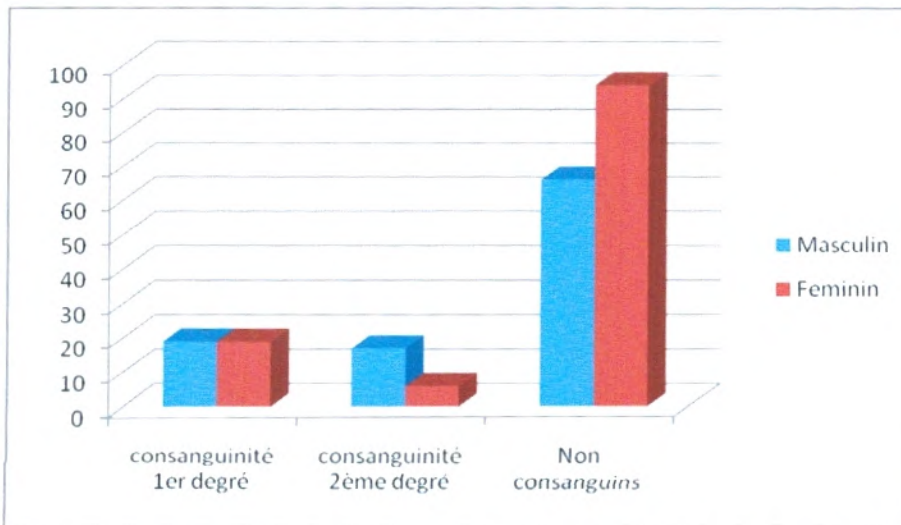


Figure 17. Histogramme de distribution de la consanguinité chez les individus interrogés

On remarque que la consanguinité de 1^{er} degré est réparti de manière égale chez les deux sexes, alors que celle du 2^{ème} degré concerne plus les hommes que les femmes.

En comparant le taux de consanguinité retrouvé avec celles de l'ouest algérien (tableau 26), on remarque qu'elle se situe dans la limite inférieure de la marge réelle 18,85% (Sidi-Ali Benzemra) - 52,12% (Zaouia Sidi-Benamar), mais se rapproche du taux moyen de la population Algérienne qui est de 23% (Benallegue et Kedj, 1984) ; cependant, le taux reste assez faible par rapport à celle des autres pays arabes (figure 8) qui dépasse d'une manière générale le taux de 30%.

Populations	Taux de Consanguinité	Références
Oran (population d'étude)	20,33%	Présente étude
Honaine	29,66%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Msirda	30,85%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Oulhaça	41,30%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Honaine	31,93%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Sidi Driss	24,79%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Souk El Khemis	32,34%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Sidi Bediaf	31,57%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Sidi Ali Benzemra	18,85%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Ain youcef	33,33%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Fehoul	30,33%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Ain El Kebira	18,86%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Hamri Benamar	27,58%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Zaouia Sidi Benamar	52,12%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Nedroma	26,79%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006
Ouled Mimoun	42,80%	Aouar et al., 2004, 2005 et 2006

Tableau 26. Taux de consanguinité dans l'ouest algérien

4-2-Chez les parents :

Le taux de consanguinité total est de 34%, dont la répartition est de 19,33% pour le 1^{er} degré et 14,67% pour le 2^{ème} degré (tableau 27, figure 18)

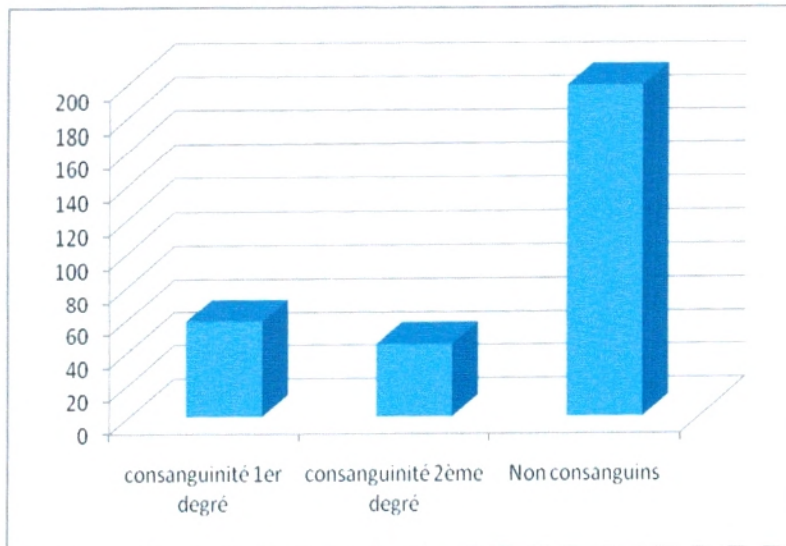


Figure 18. Histogramme de distribution de la consanguinité chez les parents

	Mariages consanguins 1 ^{er} degré	Mariages consanguins 2 ^{ème} degré	Mariages non consanguins	Total
Effectif	58	44	198	300
pourcentage	19,33%	14,67%	66%	

Tableau 27. Structure des mariages chez les parents

4-3-Chez les grands-parents

Le taux de consanguinité total est de 30,71%, dont la répartition est de 10,71% pour le 1^{er} degré et 20% pour le 2^{ème} degré (tableau 28, figure 19).

	Mariages consanguins 1 ^{er} degré	Mariages consanguins 2 ^{ème} degré	Mariages non consanguins	Total
Effectif	60	112	388	560
pourcentage	10,71	20	69,29	

Tableau 28. Structure des mariages chez les grands-parents

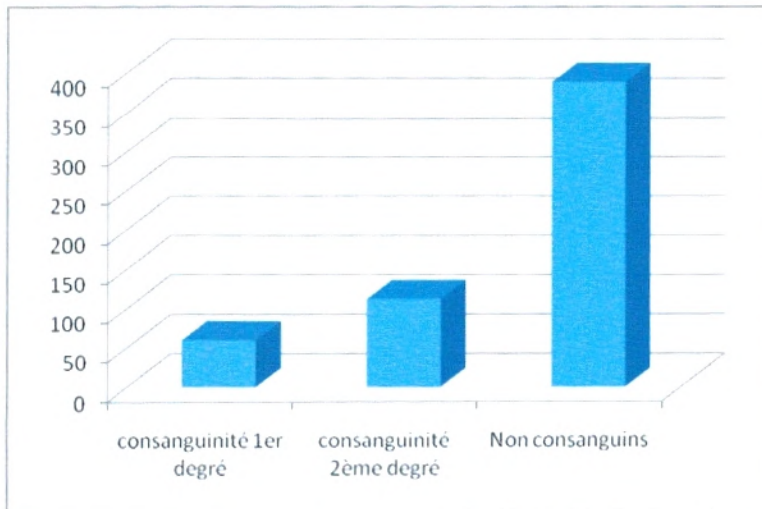


Figure 19. Histogramme de distribution de la consanguinité chez les grands-parents

4-4-Enquête chez les individus interrogés

Une enquête a été menée concernant les facteurs qui sont susceptibles d’influencer le choix matrimonial à savoir le niveau d’instruction, la profession et l’habitat telle que mentionnée par les recherches menées dans certains pays arabes.

Relation consanguinité – niveau d’instruction

Niveau	C		NC		Total
	Homme	Femme	Homme	Femme	
Analphabètes	3 (1,72%)	11 (6,32%)	8 (4,60%)	34 (19,54%)	56
Primaire	4 (2,30%)	1 (0,57%)	1 (0,57%)	6 (3,45%)	12
Moyen	13 (7,47%)	3 (1,72%)	9 (5,17%)	14 (8,05%)	39
Secondaire	6 (3,45%)	4 (2,30%)	10 (5,75%)	10 (5,75%)	30
Supérieur	2 (1,15%)	2 (1,15%)	19 (10,92%)	14 (8,05%)	37
Total					174

Tableau 29. Répartition des mariages selon le sexe et le niveau d’instruction

La comparaison par le test du chi2 (ddl =4) entre les mariages consanguins et non consanguins (tableau 29) a donné les résultats suivants :

Chez les hommes, $\chi^2 = 30,71$ différence significative

Chez les femmes, $\chi^2 = 42,25$ différence significative

On conclut que le niveau d’instruction joue un rôle dans le choix du conjoint en faveur de la non consanguinité et ceci chez les 2 sexes.

Relation consanguinité – profession

Niveau	C		NC		Total
	Homme	Femme	Homme	Femme	
Sans	1 (0,56%)	17 (9,60%)	6 (3,39%)	63 (35,59%)	87
Libérale	12 (6,78%)	0	22 (12,43%)	5 (2,82%)	39
Fonctionnaire	15 (8,47%)	3 (1,69%)	22 (12,43%)	9 (5,08%)	49
Ménage	0	1 (0,56%)	0	1 (0,56%)	2
Total					177

Tableau 30. Répartition des mariages selon le sexe et la profession

La comparaison par le test du chi² (ddl = 3) entre les mariages consanguins et non consanguins (tableau 30) a donné les résultats suivants :

Chez les hommes, $\chi^2 = 10,94$ différence légèrement significative

Chez les femmes, $\chi^2 = 42,59$ différence significative

On conclut que la profession joue un rôle dans le choix du conjoint en faveur de la non consanguinité et ceci chez les 2 sexes, mais elle est beaucoup plus marquée chez les femmes.

Relation consanguinité – habitat

Niveau	C		NC		Total
	Homme	Femme	Homme	Femme	
Individuel	14 (7,78%)	6 (3,33%)	26 (14,44%)	26 (14,44%)	72
Semi-collectif	8 (4,44%)	6 (3,33%)	28 (15,56%)	20 (11,11%)	62
Collectif	4 (2,22%)	8 (4,44%)	16 (8,89%)	18 (10%)	46
Total					180

Tableau 31. Répartition des mariages selon le sexe et l'habitat

La comparaison par le test du chi² (ddl = 2) entre les mariages consanguins et non consanguins (tableau 31) a donné les résultats suivants :

Chez les hommes, $\chi^2 = 28,82$ différence significative

Chez les femmes, $\chi^2 = 30,74$ différence significative

On conclut que l'habitat joue un rôle dans le choix du conjoint en faveur de la non consanguinité et ceci chez les 2 sexes.

4-5-Conclusion :

Les mariages consanguins sont représentés beaucoup plus par le 1^{er} degré que par le 2^{ème} degré chez les individus et leurs parents, par contre, c'est le 2^{ème} degré qui est plus important chez les grands-parents. En outre, les mariages entre conjoints issus d'une même famille sont de moins en moins fréquents au niveau de la population étudié, et ceci est influencé par certains facteurs dont le niveau d'instruction, la profession et l'habitat.

Il est donc évident que la notion de mariage entre cousins est moins perceptible dans notre population, mais sans toutefois disparaître, telle qu'observée dans d'autres régions du globe, et reste un facteur à prendre en considération pour toute étude relatif à la santé dans notre pays.

5-Maladies enregistrés chez les individus interrogés

5-1-Maladies globales

Le nombre de malades est de 141 pour notre effectif de 300 personnes (figure 20).

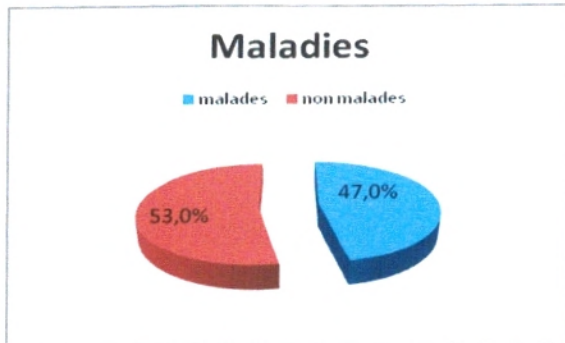


Figure 20. Répartition des maladies selon le sexe

Les maladies enregistrées sont représentées dans le tableau 32 :

Maladies	Masculin	Féminin	Total
DID	7	18	25
pourcentage	4,96%	12,77%	
DNID	22	33	55
pourcentage	15,6%	23,4%	
Autres diabètes	1	6	7
pourcentage	0,71%	4,25%	
HTA	6	14	20
pourcentage	4,25%	9,93%	
MCV	1	4	5
pourcentage	0,71%	2,84%	
Hypercholestérolémie	2	2	4
pourcentage	1,42%	1,42%	
Maladies Thyroïdiennes	0	3	3
pourcentage	0%	2,13%	
Allergies	3	4	7
pourcentage	2,13%	2,84%	
Rhumatisme	3	2	5
pourcentage	2,13%	1,42%	
Autres maladies	3	7	10
pourcentage	2,13%	4,96%	

Tableau 32. Distribution selon le sexe des maladies enregistrées dans notre population

Dans notre population, la morbidité concerne plus les femmes que les hommes (figure 21), avec une différence significatives ($\chi^2 = 27,4$; ddl = 9)

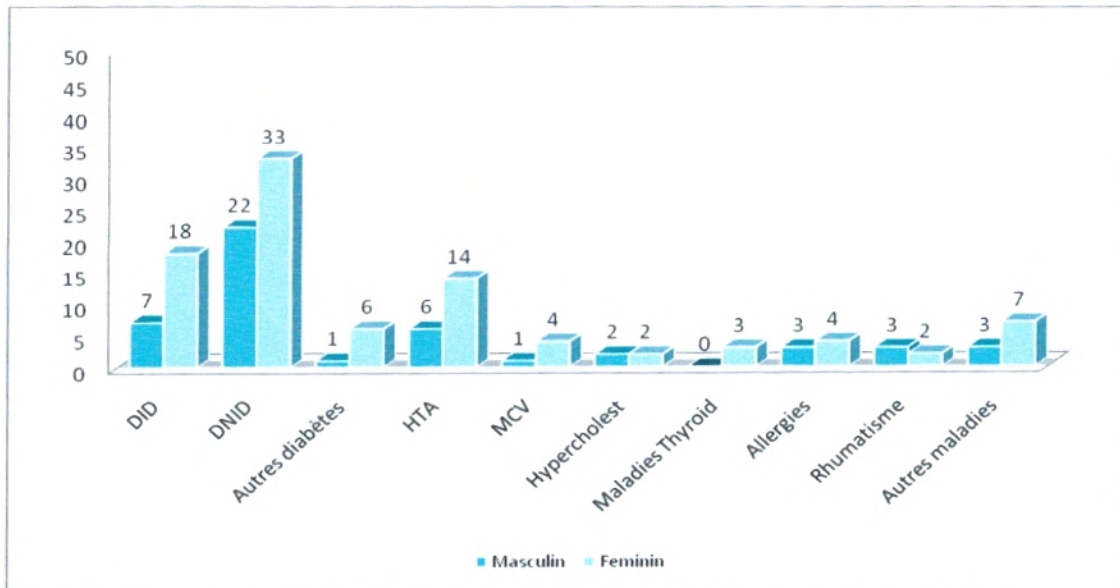


Figure 21. Histogramme de distribution selon le sexe des maladies dans notre population

Maladies	< 33 ans	33 - 66 ans	> 66 ans	Total
DID	22	3	0	25
pourcentage	15,6%	2,13%	0%	
DNID	0	44	11	55
pourcentage	0%	31,21%	7,8%	
Autres diabètes	4	3	0	7
pourcentage	2,84%	2,13%	0%	
HTA	0	13	7	20
pourcentage	0%	9,22%	4,96%	
MCV	1	3	1	5
pourcentage	0,71%	2,13%	0,71%	
Hypercholestérolémie	0	1	3	4
Pourcentage	0%	0,71%	2,13%	
Maladies Thyroïdienne	0	2	1	3
Pourcentage	0%	1,42%	0,71%	
Allergies	4	3	0	7
pourcentage	2,84%	2,13%	0%	
Rhumatisme	0	4	1	5
pourcentage	0%	2,84%	0,71%	
Autres maladies	2	7	1	10
pourcentage	1,42%	4,96%	0,71%	

Tableau 33. Répartition des maladies selon l'âge (par génération)

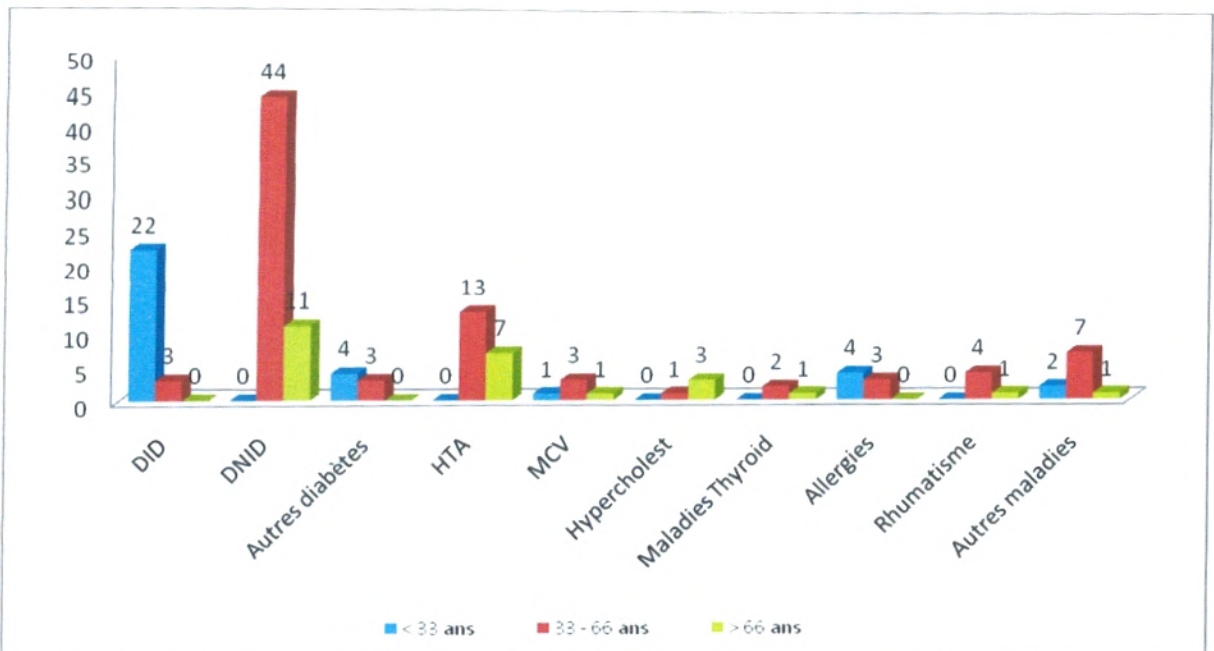


Figure 22. Histogramme de distribution selon l'âge des maladies dans notre population

On remarque que les maladies touchent toutes les catégories d'âge (tableau 33, figure 22), cependant dans notre population, c'est le diabète qui est fréquent avec un taux élevé du DID chez les moins de 33 ans et un taux élevé de DNID dans la catégorie 33-66 ans, ainsi qu'un taux élevé d'HTA dans la catégorie 33-66 ans, ce qui correspond à la réalité retrouvée en Algérie.

D'un autre coté, on a considéré une partie de notre échantillon pour voir si le marqueur de groupe sanguin avait une relation avec la morbidité (tableau 34).

Groupes sanguins	Effectif chez Malades	Effectif chez Personnes saines
A +	20	16
A -	5	2
B +	14	13
B -	1	0
AB +	3	6
AB -	0	2
O +	60	54
O -	2	1

Tableau 34. Répartition des différents groupes du système ABO dans notre

L'application du test de χ^2 nous révèle une différence non significative ($\chi^2 = 10,7436$; ddl = 7). Donc dans notre population, le facteur groupe sanguin n'a pas lieu d'être noté dans le cadre de la relation groupes ABO - morbidité.

5-2-Le diabète

L'enquête menée dans notre population nous donne les résultats suivants :

Diabète	DID	DNID	Autre diabète	non diabétique	Total
effectif	25	55	7	213	300
pourcentage	8,33%	18,33%	2,33%	71%	100%

Tableau 35. Répartition du diabète dans notre population

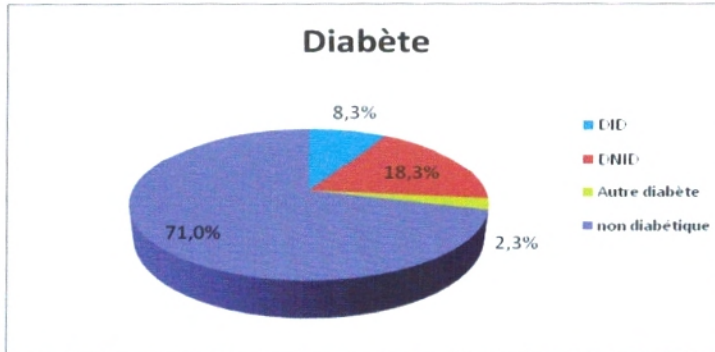


Figure 23. Pourcentage des différents types de diabète dans notre population

La répartition selon le sexe est comme suit :

	M	F	Total
DID	7	18	25
pourcentage	8,05%	20,69%	
DNID	22	33	55
pourcentage	25,29%	37,93%	
Autres diabètes	1	6	7
pourcentage	1,15%	6,9%	

Tableau 36. Répartition du diabète selon le sexe

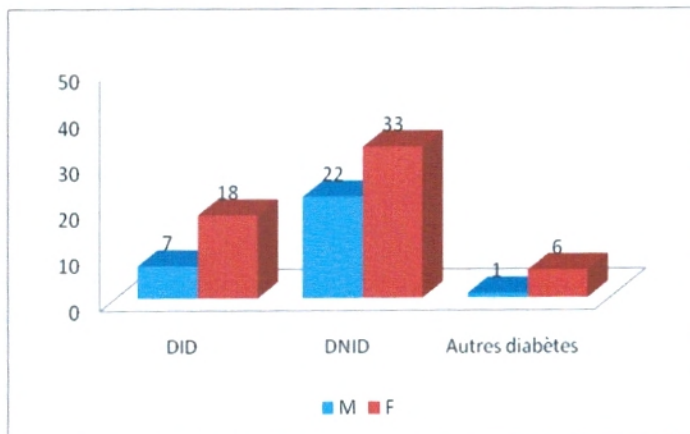


Figure 24. Histogramme de distribution des différents types de diabète selon le sexe

Dans notre population, les femmes sont plus concernées par le diabète que les hommes.

($\chi^2 = 14,5$; ddl = 2)

La répartition selon l'âge est comme suit :

	< 33 ans	33-66 ans	> 66 ans	Total
DID	22	3	0	25
pourcentage	25,29%	3,45%	0%	
DNID	0	44	11	55
pourcentage	0%	50,57%	12,64%	
Autres diabètes	4	3	0	7
pourcentage	4,6%	3,45%	0%	

Tableau 37. Répartition du diabète selon l'âge (par génération)

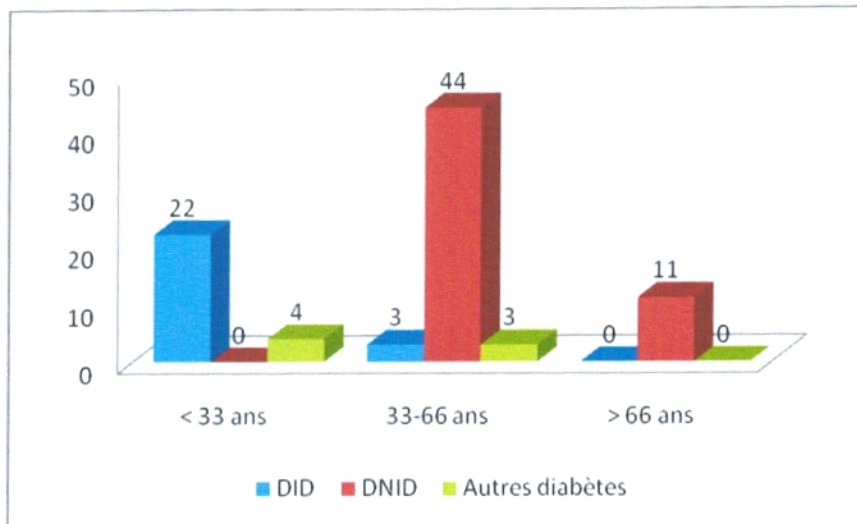


Figure 25. Histogramme de distribution des différents types de diabète selon l'âge

Comme attendu, les résultats nous révèlent que le diabète de type 1 concerne les sujets jeunes, et que le diabète de type 2 est l'apanage des sujets âgés de plus de 33 ans

6- Interaction consanguinité-morbidité

Le nombre de personnes malades est de 141, et dont :

les parents sont consanguins est de 56 (39,72%)

les parents sont non consanguins est de 85 (60,28%)

Le nombre de personnes saines est de 159, et dont :

les parents sont consanguins est de 46 (28,93%)

les parents sont non consanguins est de 113 (71,07%)

En comparant les deux populations malades et non malades, on obtient : $\chi^2 = 0,06$; ce qui nous laisse conclure que la consanguinité n'a pas d'effet sur la morbidité globale.

Concernant le diabète,

Le nombre de diabétiques est de 87, et dont :

les parents sont consanguins est de 37 (42,53%)

les parents sont non consanguins est de 50 (57,47%)

Le nombre de non diabétiques est de 213, dont :

les parents sont consanguins est de 65 (30,52%)

les parents sont non consanguins est de 148 (69,48%)

Ici encore, en comparant les deux populations, on obtient : $\chi^2 = 0,07$; on conclut que la consanguinité n'a pas d'effet sur le diabète.

CONCLUSION GENERALE

Les résultats de notre étude nous révèlent les traits caractéristiques de la société actuelle qui vit dans l'ouest Algérien au niveau du littoral.

En procédant à l'analyse comparative du polymorphisme des groupes sanguins, notamment le système ABO, nous sommes arrivé à positionner notre population dans le contexte régional (à savoir Nord-Africain, Méditerranéen et Moyen-oriental), et d'affirmer que les systèmes ABO et Rhésus sont en équilibre génétique de Hardy-Weinberg. La comparaison inter-populationnelle de la distribution des fréquences alléliques a permis de mettre en évidence les principales caractéristiques de notre population par rapport à celles déjà déterminées. Notre population, qui fait partie de l'ensemble "Algérie", se rapproche de certaines populations du Maghreb et du Moyen-Orient, mais aussi des populations de la rive sud de l'Europe. Cependant, les résultats nous apportent seulement un aperçu, et ne peuvent pas être pris en considération de manière rationnelle, car il faudrait établir des comparaisons de plusieurs systèmes sanguins pour augmenter le nombre d'allèles à considérer.

Quant à l'étude de la consanguinité, nous constatons qu'elle est en régression, telle qu'attendu, vu que le mode de vie moderne a envahi notre société dans toutes ses régions, mais sans pour autant disparaître, telle que l'on peut constater dans plusieurs régions du monde (à l'exemple des Etats-Unis, où la consanguinité est presque nulle) ; cette étude nous a permis de reconsidérer la vision du choix matrimonial qui a changé par rapport aux anciennes générations, mais qui doit être toujours prise en compte dans les diverses études, notamment sur la santé humaine.

L'enquête menée sur la morbidité existante dans notre population nous montre que les maladies enregistrées sont globalement identiques à celles retrouvées dans toute l'Algérie, et que la prévalence du diabète (tous types confondus) et des maladies cardio-vasculaires (surtout l'hypertension artérielle) reste de loin la plus élevée.

D'un autre côté, par l'étude de l'interaction consanguinité-morbidité, on peut prétendre que la consanguinité n'a pas d'effet sur les maladies polygéniques tel que le diabète ; en effet, les maladies dont la pathogénie est sous l'influence de facteurs environnementaux en plus des

facteurs génétiques, ou bien sous l'influence d'autres évènements génétiques telle que les recombinaisons, sont sous l'influence de plusieurs facteurs, qui entrent en jeu et apportent leurs contribution à différents degrés. Afin de confirmer ce fait, on devrait étudier l'influence de la consanguinité sur des maladies génétiques mono-géniques ; dans l'avenir, il serait aussi intéressant de chercher l'existence d'une telle interaction dans le contexte des maladies mentales, des malformations congénitales ou des retards staturo-pondéraux.

Enfin, en perspective, pour mieux caractériser notre population, il faudrait élargir le champ d'étude à d'autres polymorphismes, qu'ils appartiennent aux différents marqueurs classiques ou bien moléculaires, telles que décrits dans notre synthèse bibliographique. Il ne faudrait surtout pas arriver à des résultats erronés ou incomplets, à l'exemple de la population Basque ; en effet, au début, on a avancé l'hypothèse que les ancêtres des Basques étaient différents de ceux des Espagnols, à la suite d'étude basée sur le facteur Rh et qui montrait des différences existant chez les Basques par rapport à d'autres Européens ; mais, la récente étude faite sur les populations Espagnole, Française et Nord-Africaine ne montre aucune différence significative entre elles, en se basant cette fois sur une centaine de marqueurs génétiques moléculaires, laissant émettre une nouvelle hypothèse selon laquelle les ancêtres des Basques et des Espagnols vivaient vraisemblablement au Moyen-Orient il y a de cela 25.000 ans (Laayouni *et al.*, 2010).

1. ABADIE L. (2002). Oran et Mers el Kébir, vestiges du passé Espagnol. Gandini. ISBN2-906431-53-2, p.7-9.
2. ABBAS A.K. et LICHTMAN A.H. (2007). Cellular and Molecular Immunology. Elsevier 5th Ed. p70.
3. AFKIR A. (2004). Caractérisation anthropogénétique de la population berbère d'Al Hoceïma. Analyse comparative du polymorphisme des dermatoglyphes et des groupes sanguins ABO, Rhésus, MNS et Duffy à l'échelle de la méditerranée.
4. AFZAL M., ALI S.M. et SIYAL H.B. (1994). Consanguineous marriages in Pakistan. Pakistan Development Review, 33(4), 663-674.
5. AIRECHE H. et BENABADJI M. (1994). Les fréquences géniques dans les systèmes ABO, P et Lutheran en Algérie. TCB, 3, 279 – 289.
6. Al Ali M.T. et Tadmouri G.O. (2006). Genetic disorders in the Arab world. Vol 2. Centre for arab genomic studies.
7. AL-GAZALI L.I., SZTRIHA L., DAWODU A., BAKIR M., VARGHESE M., VARADY E., SCORER J., ABDULRAZZAQ Y.M., BENER A. et PADMANABHAN R. (1999). Pattern of central nervous system anomalies in a population with a high rate of consanguineous marriages. Clinical Genetics, 55 (2), 95-102.
8. AL-GAZALI L.I., BENER A., ABDULRAZZAQ Y.M., MICALLEF R., AL-KHAYAT A.I. et GABER T. (1997). Consanguineous marriages in the United Arab Emirates. J Biosoc Sci ; 29(4):491-7.
9. AL HUSAIN M. et AL BUNYAN M. (1997). Consanguineous marriages in a Saudi population and the effect of inbreeding on prenatal and postnatal mortality. Annals of Tropical Paediatrics, 17 (2), 155-160.
10. ALPER O.M., ERENGIN H., MANGUOGLU A.E., BILGEN T., CETIN Z., DEDEOGLU N. et LULECI G. (2004). Consanguineous marriages in the province of Antalya, Turkey. Annales de Génétique, 47(2), 129-138.
11. AMORY S., DUGOUJON J.M., DESPIAU S., ROUBINET F., EL-CHENAWI F. et BLANCHER A. (2004). Identification de trois nouveaux allèles O dans une population berbère de Siwa (Egypte). Antropo. 7, 105-112.
12. AOUAR-METRI A., SIDI-YAKHLEF A., DALI-YOUCHEF M., CHAIF O. et SOUR S. (2009). Caractérisation anthropogénétique de la population de Oulhaça dans l'Ouest Algérien: Analyse comparative du polymorphisme des dermatoglyphes et des groupes sanguins (ABO, Rhésus, MNSs et Duffy) à l'échelle de la Méditerranée. Antropo, 20, 57-70.
13. AOUAR-METRI A., MOUSSOUNI A., SIDI-YAKHLEF A., DALI-YOUCHEF M. et CHAIF O. (2004). Caractérisation génétique de la population de l'Ouest Algérien par les marqueurs classiques. Travaux de Laboratoire d'anthropologie, Université de Tlemcen.
14. AOUAR-METRI A., MOUSSOUNI A., SIDI-YAKHLEF A., DALI-YOUCHEF M. et CHAIF O. (2004). Caractérisation génétique de la population de l'Ouest Algérien par la consanguinité. Travaux de Laboratoire d'anthropologie, Université de Tlemcen.
15. AOUAR-METRI A., MOUSSOUNI A., BERRAHOU S., DALI-YOUCHEF M. *et al.* (2005). Caractérisation anthropogénétique des populations du littoral, monts et hauts plateaux de Tlemcen par les marqueurs classiques. Travaux de Laboratoire d'anthropologie, Université de Tlemcen.
16. AOUAR-METRI A., MOUSSOUNI A., BERRAHOU S., DALI-YOUCHEF M. *et al.* (2005). Caractérisation anthropogénétique des populations du littoral, monts et hauts plateaux de Tlemcen par la consanguinité. Travaux de Laboratoire d'anthropologie, Université de Tlemcen.
17. AOUAR-METRI A., DALI-YOUCHEF M. *et al.* (2006). Caractérisation de la population de Tlemcen par le diabète de type 1. Revue socio-anthropologie. Université de Tlemcen. Travaux de Laboratoire d'anthropologie, Université de Tlemcen.
18. AOUAR-METRI A., DALI-YOUCHEF M. *et al.* (2006). Caractérisation de la population de Tlemcen par le diabète de type 2. Revue socio-anthropologie. Université de Tlemcen.

19. BAALI A. (1994). Effet de la consanguinité sur la fertilité, la fécondité et la mortalité des enfants dans une population berbère Guedmiwa (Vallée d'Azgour, cercle d'Amizmiz, Marrakech, Maroc). *Bulletins et Mémoires de la Société d'anthropologie de Paris*, Volume 6, Numéro 3. p155-162.
20. BAKI A., KARAGUZEL A., BESER E., CAKMAKCI T., UCAR F. et OMEROGLU A. (1992). Consanguineous marriages in the province of Trabzon, Turkey. *East African Medical Journal*, 69 (2), 94-96.
21. BANERJEE S.K. et ROY T.K. (2002). Parental consanguinity and offspring mortality: the search for possible linkage in the Indian context. *Asia-Pacific Population Journal*, 17 (1), 17-38.
22. BENABADJI M. et CHEMLA M.C. (1971). Les groupes sanguins ABO et rhésus des algériens. *Anthropologie*; tome 75, 427-442
23. BENALLEGUE A. et KEDJI F. (1984). Consanguinité et santé publique. Une étude Algérienne. *Archives Françaises de Pédiatrie*, 41, pp. 435-440.
24. BENER A. et HUSSAIN R. (2006). Consanguineous unions and child health in the State of Qatar. *Paediatr Perinat Epidemiol* ; 20(5):372-8.
25. BENER A. et JANAHI I. (2005). Association between childhood atopic disease and parental atopic disease in a population with high consanguinity. *Coll Antropol* ; 29(2):677-82.
26. BIGNON J.D. et FERNANDEZ-VINA M. (1997). Protocols of the 12th international histocompatibility workshop for typing of HLA class II alleles by DNA amplification by the polymerase chain reaction (PCR) and hybridization with sequence specific oligonucleotide probes (SSOP). In: Charron D ed. *HLA1996: genetic diversity of HLA, functional and medical implications*. Paris : EDK : 584-595
27. BIGNON J.D., SEMANA G., TIERCY J.M., SIMONS M., LALOUEL J.M. et COHEN D. (1989). DNA-RFLP analysis: HLA-DR beta Workshop report. In : Dupont B ed. *Immunobiology of HLA*. New York : Springer-Verlag: 851-860
28. BITTLES A.H. (1994). The role and significance of consanguinity as a demographic variable. *Population and Development Review*, 20(3),561-584.
29. BITTLES A.H. et BLACK M.L. (2010). Consanguinity, human evolution, and complex diseases. *PNAS*. 107(1):1779-1786.
30. BOIS P.R.J., GRANT G.R. et JEFFREYS A.J. (2002). Minisatellites show rare and simple intra-allelic instability in the mouse germ line. *Genomics* ; 80:1,2-4.
31. BOISGERAULT F., TIENG V., STOLZENBERG M.C., DULPHY N., KHALIL I., TAMOUZA R. *et al.* (1996). Differences in endogenous peptides presented by HLA-B*2705 and B*2703 allelic variants. Implications for susceptibility to spondylarthropathies. *J Clin Invest* ; 98 : 2764-2770
32. CARLSON C.S., EBERLE M.A., RIEDER M.J., YI Q., KRUGLYAK L. et NICKERSON D.A. (2004). Selecting a maximally informative set of single-nucleotide polymorphisms for association analyses using linkage disequilibrium. *Am J Hum Genet* 74:106-120.
33. CARRITT B., KEMP T.J. et POULTER M. (1997). Evolution of the human RH (rhesus) blood group genes: a 50 year old prediction (partially) fulfilled. *Human Molecular Genetics*, 6(6):843-850.
34. CHIARONI J., FERRERA V., DETTORI I. et ROUBINET F. (2005). Groupes sanguins érythrocytaires. *EMC Hématologie 2*. Elsevier. 53-112.
35. COLOMBANI J. (1993). HLA : fonctions immunitaires et applications médicales. Paris : John Libbey Eurotext : 23-30, 39-47, 69-77
36. COTORRUELO C.M., BIONDI C.S., BORRAS S.E., DI MONACO R.A. et RACCA A.A. (2003). Dc-phenotype encoded by an RHCE-D(5-7/8)-CE hybrid allele. *Vox Sang* ;85:102-8.

37. CRUCK E. (1959). Oran et les témoins de son passé : récits historiques et anecdotiques, avec un plan de la ville, imprimerie Heintz, Oran.
38. D'ADAMO P.J. et KELLY G.S. (2001). Metabolic and immunologic consequences of ABH secretor and Lewis subtype status. *Altern Med Rev* ;6:390-405.
39. DALLY E. (1877). Rapport sur le mémoire de M. Lacassagne sur les mariages consanguins. *Bulletins de la Société d'anthropologie de Paris*, Volume 12, Numéro 1. p203-214.
40. DANIELS G. (2002). *Human blood groups*. Oxford: Blackwell Sciences. P195
41. DUNGERN E. VON et HIRZFELD L. (1911). Uber gruppenspezifische strukturen des blutes III. *Z Immun Forsh*; 8: 526-562. (Translation in Camp & Ellis, 1966).
42. EL BEKRI Abou Obeid (1094, 1^{ère} éd. 1859). Description de l'Afrique septentrionale, (traduite par Mac Guckin de Slane). Paris Imprimerie Impériale.
43. EXCOFFIER L. (2006). Neandertal genetic diversity: a fresh look from old samples. *Curr Biol*. 22;16(16):R650-2
44. EXCOFFIER L. et LISCHER H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
45. EXCOFFIER L., SMOUSE P. et QUATTRO J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
46. FREIRE-MAIA N. (1957). Inbreeding level in different countries. *Eugenics Quart.* 4,127-138.
47. GOUX J.M. et SUTTERET J. (1962). Evolution de la consanguinité en France de 1926 à 1958 avec des données récentes détaillées. *Population*, Volume 17, Numéro 4. p683-702.
48. GUNAIID A.A., HUMMAD N.A. et TAMIM K.A. (2004). Consanguineous marriage in the capital city Sanaa, Yemen. *Journal of Biosocial Science*, 36 (1), 111-121.
49. GUZ K., DEDEOGLU N. et LULECI G. (1989). The frequency and medical effects of consanguineous marriages in Antalya, Turkey. *Hereditas*, 111 (1), 79-83.
50. HAMI H., SOULAYMANI A. et MOKHTARI A. (2009). Les déterminants des mariages consanguins dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer (Maroc). *Antropo.* 18, 27-35.
51. HAMMAMI A., CHALBI N., BEN ABDALLAH M. et ELGAZZEH M. (2005). Effects of consanguinity and social factors on mortality and fertility in Mauritania. *Tunis Med* ; 83(4):221-6.
52. HORS J. (1997). HLA et maladies, un anniversaire. *Presse Méd* ; 26 : 1300-1302
53. HUSSAIN R. (1998). The role of consanguinity and inbreeding as a determinant of spontaneous abortion in Karachi, Pakistan. *Annals of Human Genetics*, 62 (2), 147-157.
54. HUSSAIN R. et BITTLES A.H. (1998). The prevalence and demographic characteristics of consanguineous marriages in Pakistan. *Journal of Biosocial Science*, 30 (2), 261- 275.
55. HUSSAIN R. et BITTLES A.H. (1999). Consanguineous marriage and differentials in age at marriage, contraceptive use and fertility in Pakistan. *Journal of Biosocial Science*, 31(1), 121-138.
56. IBN KHALDOUN (1852). Histoire des Berbères. Traduction du baron de Slane. Imprimerie du Gouvernement. Alger - tome 1. ISBN 2705336397.
57. INOUE M., IKEDA R., TAKASE M., TSURI T. et CHIBA J. (2005). Single-nucleotide polymorphism detection with "wire-like" DNA probes that display quasi "on-off" digital action. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:11606-11610.

98. SUTTER J. et TABAH L. (1951). La mesure de l'endogamie et ses applications démographiques. *J.Soc.Stat. Paris*, 92,243-267.
99. SUTTER J. et TABAH L. (1952). Génétique de population et létalité. *Semaine Hôp.*, 28,1848-1851.
100. TAMURA K., DUDLEY J., NEI M. et KUMAR S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599.
101. TAZI D. et BENKADA H. (2010). La clé d'Oran : Guide touristique d'Oran 2010. Editions SPOT.
102. TEMTAMY S.A., ABDELMEGUID N., MAZEN I., ISMAIL S.R., KASSEM N.S. et BASSIOUNI R. (1998). A genetic epidemiological study of malformations at birth in Egypt. *East Mediterr Health J.* 4(2), 252-259.
103. TERZIAN C. et BIEMONT C. (1988). Les théories de l'effet fondateur, Mayr, et la génétique des populations. *Genet. Sel. Evol.*, 2:1, 111-122.
104. TIWARI J.L. et TERASAKI P.I. (1985). HLA and disease associations. New York : Springer-Verlag
105. TODD J.A., BELL J.L. et McDEVITT H.O. (1987). HLA-DQ β gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* ; 329 : 599-604
106. VIRELLA G. (2007). *Medical Immunology*. 6th Ed. Informa Healthcare USA.
107. WAGNER F.F., GASSNER C., MULLER T.H., SCHONITZER D., SCHUNTER F. et FLEGEL W.A. (1999). Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* ;93:385-93.
108. WAGNER F.F. et FLEGEL W.A. (2000). RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood*;95:3662-8.
109. WAGNER F.F., FROHMAJER A. et FLEGEL W.A. (2001). RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC Genet* ;2:10.
110. WAGNER F.F. et FLEGEL W.A. (2002). RHCE represents the ancestral RH position, while RHD is the duplicated gene. *Blood* ;99: 2272-3.
111. WEIR B.S. et COCKERHAM C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370.
112. WICKS S.R., YEH R.T., GISH W.R., WATERSTON R.H. et PLASTERK R.H.A. (2001). Rapid gene mapping in *Caenorhabditis elegans* using a high density polymorphism map. *Nature Genetics* 28:160-164.
113. WIRTHNER D., HOHLFELD P. et TISSOT J-D. (1998). Maladie hémolytique périnatale, *Physiopathologie. J Gynecol Obstet Biol Reprod. Masson.* 27:135-143.
114. WRIGHT S. (1978). *Evolution and the genetics of populations*, Vol. 4. Variability within and among natural populations. Univ. Chicago Press, Chicago.
115. YAMAMOTO F., McNEILL P.D. et HAKAMORI S. (1995). Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. *Glycobiology*. 5:51-58.
116. YUNIS K., MUMTAZ G., BITAR F., CHAMSEDDINE F., KASSAR M., RASHKIDI J., MAKHOUL G. et TAMIM H. (2006). Consanguineous marriage and congenital heart defects: a case-control study in the neonatal period. *Am J Med Genet A*; 140(14):1524-30.
117. ZAKZOUK S. (2002). Consanguinity and hearing impairment in developing countries: a custom to be discouraged. *The Journal of Laryngology and Otology*, 116 (10), 811-816.
118. ZAOUÏ S. et BIEMONT C. (2002). Frequency of consanguineous unions in the Tlemcen area (West Algeria). *Santé*; 12(3):289-95.
119. ZLOTOGORA J. (1997). Genetic disorders among Palestinian Arabs: 1. Effects of consanguinity. *American Journal of Medical Genetics*, 68 (4), 472-475.

ANNEXES

Annexe 1 : Formulaire de consentement

Le protocole est lu et approuvé par le conseil régional de déontologie médicale conformément au décret exécutif n° 92-276 du 6 juillet 1992 portant sur le code de déontologie médicale.

Le formulaire de consentement est éclairé aux personnes participantes (malades ou témoins) :

Je soussigné

atteint de la pathologie

Déclare, après avoir pris connaissance des objectifs et des méthodes relatifs au projet intitulé :
« Caractérisation anthropologique et génétique de la population de l'Ouest Algérien par marqueurs génétiques, consanguinité et morbidité », sous la responsabilité de
Mme AOUAR-METRI A., maitre de conférences classe A, au département d'Ecologie et Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université ABOUBAKR BELKAID – Tlemcen,
accepter d'y contribuer pleinement, à savoir :

- Répondre au questionnaire proposé par les chercheurs
- Donner des échantillons sanguins pour analyse

Signature du participant :

Annexe 3 : Protocole d'extraction de l'ADN

Ce protocole décrit la méthode généralement la plus utilisée pour purifier les préparations d'ADN (Moore D. et Dowhan D. 2002. Current Protocols in Molecular Biology. John Wiley & Sons, Inc.).

Phase de lyse :

Prendre 2 ml de sang total, ajouter 8 ml de solution de lyse I, et mettre dans la glace pendant 10 minutes, puis centrifuger pendant 10 min à 3000 rpm. Ensuite éliminer le surnageant, et ajouter 1 ml de TBS et 1 ml de solution de lyse II et 50 µl de protéinase K. A la fin incuber pendant 2 heures à 55°C dans un bain marie.

Phase d'extraction :

Ajouter 1 ml de phénol et 1 ml de chloroforme-alcool isoamylique, agiter manuellement pendant 5 min, puis centrifuger 7 min à 2500 rpm. Prendre la phase aqueuse et ajouter 2 ml de chloroforme/alcool isoamylique, et agiter manuellement pendant 5 min, puis centrifuger 7 min à 2500 rpm.

Phase de précipitation :

Enlever soigneusement la phase aqueuse contenant l'ADN et la transférer dans un nouveau tube, puis ajouter 625 µl d'acétate d'ammonium 10M. Mélanger brièvement par vortex, puis ajouter 6 ml d'éthanol à 100% glacé. On voit apparaître la méduse d'ADN.

Conservation de l'ADN :

Centrifuger pendant 30 min à 4000 rpm, et éliminer le surnageant, l'ADN se trouve alors dans le culot. Ensuite laver par 6 ml d'éthanol à 70% tout en agitant, puis centrifuger à 4000 rpm pendant 30 min. Éliminer le surnageant et incuber à 56°C pendant 1 heure pour éliminer toute trace d'alcool.

A la fin, resuspendre l'ADN dans du TE 10/1

Composition des solutions :**Tampon de lyse I**

10 ml de Tris-HCl 1M pH 7,5

0,584 g de NaCl

0,61 g MgCl₂, 6H₂O

H₂O MILLI-Q distillé : 1l

Tampon de lyse II

40 ml d'EDTA 0,5M pH8

80 ml de Tris-HCl 1M pH8

60 ml de H₂O MILLI-Q

Ajuster avec 20 ml de SDS 10%

TBS

Pour 100 ml

20 mM Tris pH 7,5 (peser 0,242 g de Tris) + 150 mM NaCl (peser 0,876 g NaCl)

Ajuster à 100 ml avec de l'eau

TE 10/1 (1mM EDTA, 10 mM Tris-HCl)

Pour 100 ml : peser 0,121 g de Tris et 0,0372 g d'EDTA

Mélanger 1 ml Tris-HCl 1M pH8 et 0,2 ml EDTA 0,5M pH8