

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie animale

قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Impact de la nutrition humaine sur la prévention et le traitement des maladies inflammatoires chroniques : cas de la maladie de cœliaque

Présenté par : Melle BOUDIAF roufeida et Melle SAADI assia Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Président : MESSAOUDI Saber (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrant : RAMLI Iman (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : CHAIB Aouatef (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2022 – 2023



Remerciement

Tous d'abord nous tenons à remercier le bon Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Nous exprimons nos profondes gratitude et respectueuses reconnaissances à notre encadrante **Dr. Ramli Iman** pour son encadrement, conseils et sacrifices afin de donner le meilleur et pour son suivi durant la période de préparation de notre mémoire de fin d'études. Nos remerciements vont aux membres du jury

Dr. Messaoudi Saber et **Dr. Chaib Aouatef** qui nous ont fait l'honneur d'accepter de jurer notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées nous sommes là, vraiment un grand remerciement pour leur qualité d'enseignement qui nous a été dispensé.





Dédicace

Je dédie ce travail :

*A moi **ROUFEIDA** ...pour être patient et persévérant et courageuse malgré toutes les difficultés que j'ai rencontrées pour mener à bien ce travail*

*A l'être plus cher de ma vie, ma mère **BACHIRI SOAAD** qui m'a soutenu, sacrifiée et encouragé durant tous mon parcours académique et je suis là grâce à elle*

*A mon père ...**BOUDIAF RIAD** pour leur patience, leur soutien*

*A mes frères **HAYTHEM, AYOUB** et **YASSER** pour leur encouragement*

*A mon binôme ...**ASSIA** pour leur gentillesse*

*A un morceau de mon cœur, mon ami et ma sœur ... **RIHEB** pour leur amour, leur confiance et leur encouragement*

A toute ma famille, mes amis et toutes personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail

ROUFEIDA BOUDIAF



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde :

*A mes chères parents : ma mère **SALIMA OUDJANI** et mon père **LARBI SAADI** pour leur amour, leur tendresse, et pour leur soutien durant toutes les étapes de ma vie. J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu leur prête tout le bonheur.*

A moi Assia..., tu été un travailleur acharné, patiente et stricte,

Merci pour toi..., je suis fière de toi...

*A mes belles sœurs **leila et assma** et A mes frères **amar, smail, seif, brahim**
Pour leurs encouragements et pour leur soutien moral et physique.*

*A mon chère et belle binôme : **roufeida**.*

*A mes très chers amis : **sissi, haithem**.*

A toute ma famille.

SAADI ASSIA

Introduction générale	
Chapitre I	
La maladie de Cœliaque	
I.1. L'inflammation	3
I.1. Les type de l'inflammation	3
I.1.1. L'inflammation aiguë	3
I.1.2. L'inflammation Chronique	3
I.2. Les maladies inflammatoires chroniques de tube digestif	4
I.3. La maladie de cœliaque	7
I.3.1. Anatomie de l'intestin grêle	7
I.3.2. Définition de la maladie de cœliaque	7
I.3.3. Étiologie de la maladie de cœliaque	8
I.3.3.1. Facteurs extrinsèques	9
🚩 Le gluten	9
🚩 Le microbiote intestinal et l'infection virale	10
I.3.3.2. Facteurs intrinsèques	11
I.3.4. Physiopathologie de la maladie de cœliaque	11
I.3.5. Épidémiologie	12
I.3.6. Les manifestations cliniques et biologiques de la MC	13
I.3.6.1. Les formes cliniques de la MC	13
I.3.6.2. Les symptômes de la MC	14
I.3.7. Les pathologies associées à la MC	14
I.3.8. Le Diagnostic de la maladie de cœliaque	15
I.3.8.1. Tests biologiques	16

I.3.8.2. Test histologique	17
----------------------------------	----

Chapitre II

Traitement de la maladie de cœliaque	
II.1. La nutrition humaine	19
II.2. L'apport nutritionnel conseillé	19
II.3. La nutrition clinique	19
II.4. La nutrition humaine préventive et les maladies inflammatoires chroniques	19
II.5. Traitement de la maladie de cœliaque	20
II.5.1. Le traitement d'urgence	20
II.5.1.1. Vaccination	21
II.5.2. Traitement alternative	22
II.5.2.1. Hygiène de vie	22
📌 Régime strict sans gluten	22
📌 Aliments autorisés et interdits lors du régime sans gluten	22
II.5.2.2. Les nouvelles voies thérapeutiques de la MC via l'immunothérapie... ..	23
📌 Supplémentation orale enzymatique	23
📌 Connecteurs de polymère	24
📌 Utilisation d'un inhibiteur de la zonuline	24
📌 L'inhibition de la transglutaminase 2 (TG2)	24
📌 Action sur la réponse inflammatoire	24
📌 Action sur la gliadine	25
II.5.2.3. Utilisation de la phytothérapie et le traitement nutraceutique dans la maladie de cœliaque	26
1. La phytothérapie.....	26
2. Les neutraceutique.....	27

2.1. Les polyphenols.....	28
🚧 Effet de polyphénols sur la gliadine.....	28
🚧 Effet des polyphenols sur la barrière intestinale.....	28
2.2. La graine de Nigella sativa	28
2.3. Formulation de nouveau produit à base de caroube	28

Chapitre III

La partie expérimentale	
III.1. 1. Protocole d'extraction des métabolites secondaires	30
III.1.1.1. Préparation du matériel végétale	30
III.1.1.2. Extraction de type solide-liquide	30
III.1.1.3. Extraction de type liquid-liquid	31
III.1.1.4. Méthodes de séparation chromatographique	31
a) Chromatographie sur couche mince (CCM)	31
b) Chromatographie sur colonne	32
III.1.2. Extraction des huiles essentielles (HE)	32
III.1.2.1. Définition des huiles essentielles	32
III.1.2.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	33
III.2. Introduction	34
III.2.2. Présentation de l'entreprise	34
III.2.3. Description de stage	35
III.2.3.1. L'espace de production des médicaments	35
🚧 L'espace de production des médicaments de forme sèche	35
🚧 L'espace de production des médicaments de forme liquide	35
III.2.3.2. L'espace de conditionnement	36

III.2.3.3. L'espace de contrôle de qualité (CQ) de médicament	36
1. Présentation et contrôle de qualité microbiologique du médicament (Oméprazole physiopharm® 20 mg)	37
1.1 Dénombrement des germes aérobies viables totaux (DGAT) et dénombrement des levures et moisissures totales (DLMT)	37
1.1.1 Préparation de l'échantillon	37
1.1.2. Dénombrement sur plaque	38
1.1.3 Ensemencement en profondeur	38
1.1.4. Lecture et interprétation des résultats	38
1.2. La recherche de micro-organismes spécifiés	39
1.2.1 Recherche des Escherichia coli	39
1.2.2. Recherche des Staphylococcus et Pseudomonas	39
1.2.3. Recherche des salmonelles	40
III.3.Introduction.....	42
III.4. Présentation du centre.....	42
III.5. Description de stage.....	42
III.6. Tâches effectuées.....	42
III.6.1. Les équipements	43
III.6.2. Techniques de production des anticorps monoclonaux « les nanobodies ».....	44
III.6.2.1. La définition des anticorps monoclonaux.....	44
III.6.2.2. Les nanobodies.....	44
III.6.2.3. Les étapes de l'industrie moléculaire des nanobodies	44
a. Choix de l'animale.....	44
b. Immunisation de l'animale.....	45
c. L'obtention des lymphocytes B et d'AR N m totale.....	45

d. Rétrotranscription d'ARNm totale.....	45
e. Technique de PCR.....	45
f. Technique d'électrophorèse	46
g. Le clonage.....	46
• Obtention des plasmides.....	46
• Transformation bactérienne.....	46
h. Technique de phage display.....	47
i. Technique ELISA dans la maladie de cœliaque	47

Conclusion

Référence.....

Annexe.....

Résumé.....

Liste des figures

Figure1. Les vaisseaux sanguins dans l'état normal (hémostasie) et durant une inflammation.....	4
Figure 2. Schéma présente de l'anatomie tube digestif.....	5
Figure 3. La structure de l'intestin grêle.....	7
Figure 4. Coupe histologique de paroi de l'intestin grêle. A. Coupe histologique des parois intestinales d'une personne saine B. Coupe histologique des parois intestinales les d'une personne cœliaque.....	8
Figure 5. Les facteurs interviennent dans l'induction de la MC	9
Figure 6. Interaction du gluten avec les facteurs environnementaux, immunologiques et génétiques dans la MC.....	10
Figure 7. Localisation et Organisation de gènes du complexe HLA.....	11
Figure 8. Physiopathologie de la maladie de cœliaque.....	12
Figure 9. Modèle iceberg représentant le sous-diagnostique la maladie de cœliaque	15
Figure 10. Coupes histologiques de duodénales de l'intestin grêle (colorations hématoxyline et éosine, H&E et CD3) classées selon la classification de Marsh-Oberhuber	18
Figure 11. Endoscopie intestinale pour un diagnostic de la MC.....	18
Figure12. Mentions présentes sur les emballages des aliments	22
Figure13. Mécanismes d'actions des principales alternatives thérapeutiques	25
Figure14. Le rôle de transferrin CD71 dans le transport de complexe IgA/gliadine vers la lamina propria lors de la MC	25
Figure 15. L'évaporateur rotatif	31
Figure 16. Schéma de séparation sur couche mince	32
Figure 17. Schéma de séparation sur colonne	32
Figure 18. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	32

Figure 19. Schéma représente les étapes de production du médicament	36
Figure 20. Boîte de gélules Oméprazole physiopharm® 20 mg.....	37
Figure 21. Schéma représente l'étape d'ensemencement en profondeur d'homogénéisât S...	38
Figure 22. Schéma représente l'étape d'incubation d'homogénéisât A	39
Figure 23. Schéma représente le contrôle de qualité pour la recherche de Pseudomonas, de staphylococcus et d'E. Coli.....	40
Figure 24. Schéma représente le contrôle de qualité pour la recherche des Salmonelles	41

Liste des tableaux

Tableau 1. Les maladies de tube digestif et Pris en charge thérapeutique	5
Tableau 2. Prévalence de la maladie de cœliaque.....	13
Tableau 3. Maladies liées à la MC.....	14
Tableau 4. Les anticorps de test sérologique.....	16
Tableau 5. Classification de Marsh.....	17
Tableau 6. Les traitements d'urgence lors de la MC.....	20
Tableau 7. Les aliments autorisés et interdits au cas de la maladie de cœliaque.....	23
Tableau 8. Les plantes médicinales de tube digestive et leurs usages traditionnels dans la région de M'sila.....	26
Tableau 9. Les équipements de technique de production immuno-biochimie.....	43

Liste des abréviations

µg : Microgramme

ACOEt : Acétate d'éthyle

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

ANC : Apports nutritionnels conseillés

AN-PEP : Endoprotéase propyl dérivée d'*Aspergillus niger*

Anti – CD71: Anti-trensferin-Receptor

Anti-EMA: Anti-Endomysium

Anti-IFN γ : Anti-Interferon-gamma

Anti-TG2: Anti-transglutaminase 2

AV : Atrophie Villositaire

Ca : Calcium

CCL2 : Chemokines C–C motif chemokine ligand 2

CCM : Chromatographie sur couche mince

CD : cluster de différenciation

CD3 : cluster de différenciation 3

CD71 : Trensferin-Receptor

CHCl₃ : Le chloroforme

CMH : Complexe Majeur d'Histocomptabilité

CQ : Contrôle de la qualité

CXCL10 : C-X-C motif chemokine 10

CXCR3: C–X–C motif chemokine receptor 3

DGAT : Dénombrement des Germes Aérobie Total

DMLT : Dénombrement des Moisissures/Levures Totals

E.coli : Escherichia Coli

ED : Dépense Energétique

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

FAO: Food and Agriculture Organisation

Fe : Fer

g /jour : gramme par jour

g/l : gramme sur litre

HE : Huiles Essentielles

HLA : Human Leucocyte Antigen System

IFA : Immunofluorescence Indirecte

IgA : Immunoglobuline de type A

IgG : Immunoglobuline de type G

IL : Interleukine

INN-202 : Acétate de larazotide

IP 10: Interferon gamma-induced protein 10

Kcal : kilocalories

Kg : kilogramme

LIE : Lymphocytes Intra-épithéliaux

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinases

MB : Métabolique Basal

MC : Maladie de Cœliaque

MCB : Mac-Conkey bouillon.

MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein-1

Mg: Magnésium

Mg: milli gramme

NF-Kb: Nuclear Factor-kappa B

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P (HEMA-co-SS): P (Méthacrylate d'hydroxyéthyle-co-styrène sulfonate)

PAMP: Pathogene Associated Molecular Patterns

Pp: Polypropène

PRR : Pattern Recognition Receptor

RSG : Régime sans gluten

RVS : Rappaport Vassiliadis Soja

SAB : Sabraud agar

TG : Transglutaminase

TSA : Gélose tryptone soja

TSB : Bouillon tryptone soja

TSE : Tryptone sel eau

UV : Ultra-violet

XLD : Gélosé-xylose-lysine-désoxycholate

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale

L'inflammation est une réponse naturelle du corps contre les agressions extrinsèques ou intrinsèques. Cependant, lorsque ce processus se déroule de façon inappropriée, il peut conduire à des pathologies tel que les maladies inflammatoire chronique de tube digestif en particulier la maladie de cœliaque (**Adda, 2020**).

La maladie de cœliaque (MC) est une entéropathie auto-immune inflammatoire et multifactorielle, induite par des facteurs extrinsèques et intrinsèques, principalement l'ingestion du gluten qui contient une protéine toxique (la gliadine). Elle affecte l'intestin grêle chez des sujets génétiquement prédisposés (HLA-DQ2/8). Cette maladie fréquente touche environ 1 % de la population (**Verkarre et Brousse, 2013**), (**Weber, 2012**), (**Cerf-Bensussan et Jabri, 2001**), (**Clément, 2015**).

La physiopathologie de la MC comprend l'activation du système immunitaire par la localisation de la gliadine dans lamina propria de l'intestin grêle qui conduit à la production des anticorps anti-gliadine, anti-transglutaminase et anti-endomysium qui sont responsables à la présence des atrophies villositaires entraînant une malabsorption. Ils sont définis par un diagnostic sérologique et histologique (**Racha, 2020**), (**Weber, 2012**), (**Atlas du gluten, 2014**).

Le traitement de la MC consiste à un régime sans gluten à vie. Cependant, sa réalisation est difficile ce qui incite à réfléchir à adapter des nouvelles voie thérapeutique alternative via l'immunothérapie, la phytothérapie et le traitement nutraceutique. Ce dernier repose sur l'utilisation des molécules de source nutritionnelle dans la prévention des maladies chroniques. Actuellement, il suscite une attention particulière en raison de leur potentiel avantage. On indique les polyphénols qui jouent un rôle très important dans le traitement des pathologies gastro-intestinal notamment la MC (**Lamireau et Olives, 2016**), (**Calabriso, 2022**), (**Duerksen et al, 2017**), (**Nasri, 2014**).

L'objectif de ce travail est de mieux comprendre la physiopathologie et les aspects cliniques de la MC afin de prévenir et traiter cette pathologie par des nouvelles voies thérapeutiques notamment la nutrition.

D'après ces données sur le traitement et le diagnostic de la MC, Nous avons jugé utile de réaliser trois stages qui sont consacré à explorer trois axes principales : l'extraction des

Introduction générale

plantes médicinales, l'industrie pharmaceutique à base alimentaire et l'imprégnation des techniques immuno-biochimiques.

Ce mémoire comprend deux parties : la première c'est une étude bibliographique composée de deux chapitres : Le premier présente des généralités sur la MC et Le deuxième chapitre décrit les différentes méthodes de traitement de la maladie de cœliaque. Quant à la partie expérimentale, elle contient des rapports des différents stages réalisés dans trois établissements. Le premier, représente les méthodes d'extraction des produits naturelles et des huiles essentielles à partir d'une plante médicinale dans la première unité de recherche Valorisation des Ressources Naturelles Molécules Bioactives et Analyses Physico-Chimique, Département de Chimie, faculté des Sciences Exactes, université de constantine¹. Le deuxième comprend l'industrie pharmaceutique et le contrôle de qualité microbiologique du médicament d'oméprazole physiopharm 20mg dans l'entreprise de physiopharm. Le dernier c'est une imprégnation décrite les méthodes de l'industrie moléculaire des anticorps monoclonaux (Nanobodies) et la technique d'Elisa pour le diagnostic de la maladie de cœliaque dans le laboratoire d'immuno-biochimie de Centre de Recherche en Biotechnologie.

Chapitre I

La maladie de cœliaque

Généralités

I.1. L'inflammation

L'inflammation est un mécanisme de défense de l'organisme pour lutter contre les agressions d'origine endogène (cellules cancéreuse) ou exogène (bactérie, virus, micro-organisme...), avec l'intervention d'un ensemble des cellules immunitaires (les leucocytes, les lymphocytes, les macrophages, les cellules dendritiques...) (**Mathieu et Guimezanes, 2011**), (**Dupond, 2003**).

I.1.1. Les type de l'inflammation

I.1.1.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate, initiale de l'organisme contre les agents pathogènes. Elle se manifeste par 4 signes typiques qui sont la rougeur, la chaleur, le gonflement, et la douleur (**Gruffat, 2022**). Lors d'une infection, la présence d'un pathogène est détectée et reconnue par les cellules immunitaires via des récepteurs spécifiques aux agents infectieux qui sont les PRR (pattern recognition receptor), et les PAMP (pathogene associated molecular patterns). Les cellules immunitaires activées libèrent des médiateurs chimiques de l'inflammation dans le milieu extracellulaire, ce qui permet le recrutement des cellules circulantes par diapédèse (**figure1**) (**Mayol, 2021**).

I.1.1.2. L'inflammation Chronique

La persistance d'une inflammation aiguë correspond au développement d'une inflammation chronique induite par différents facteurs, notamment un manque de sommeil, une mauvaise alimentation et le stress (**Hijjaj, 2016**). Diverses études ont montrés que l'inflammation peut conduire à de nombreuses maladies, tel que les maladies cardiovasculaire, les maladies chroniques de tube digestif et le cancer.

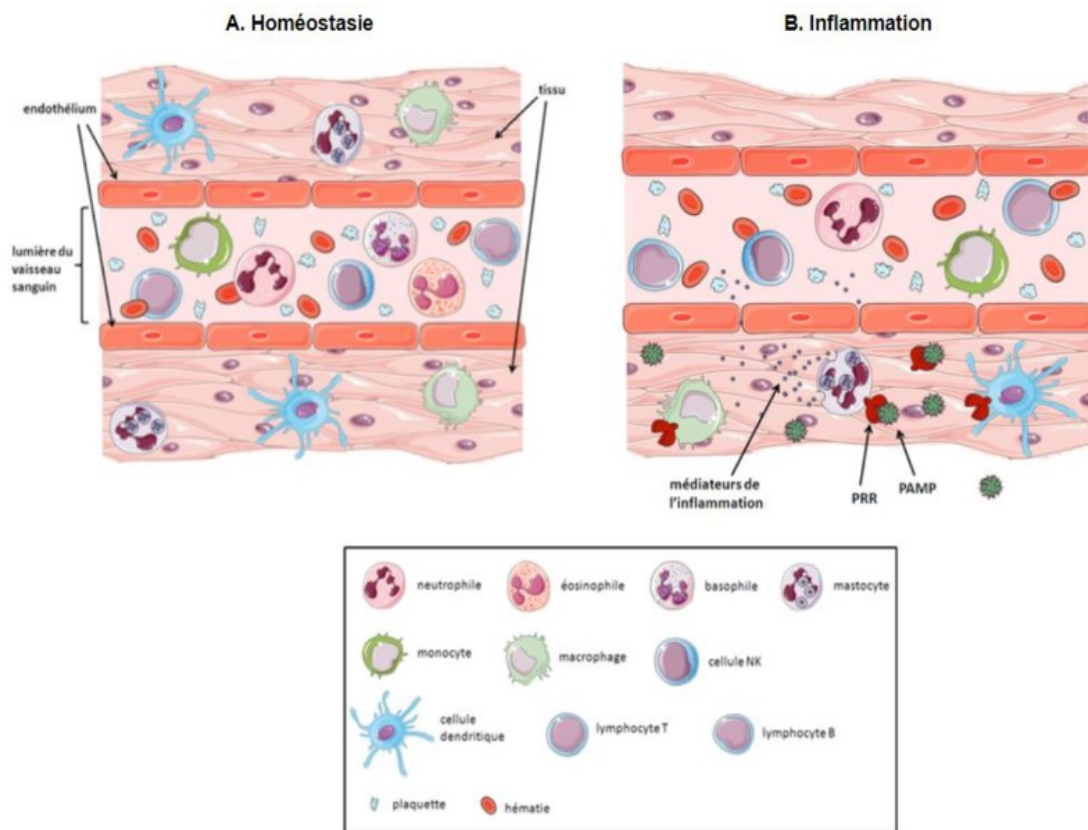


Figure1. Les vaisseaux sanguins dans l'état normal (homéostasie) et durant une Inflammation (Mayol, 2021).

I.2. Les maladies inflammatoires chroniques de tube digestif

Le tube digestif est un tube musculéux qui se trouve dans la cavité abdominale et il est constitué des organes suivants : la bouche, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle et le gros intestin qui se termine par un orifice, l'anus (Boudet, 2013).

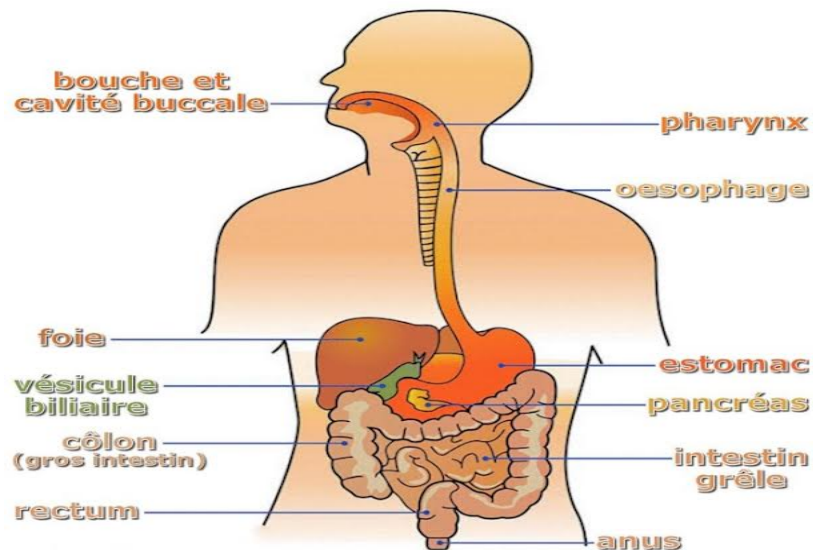


Figure 2. Schéma présente de l'anatomie tube digestif (Aquaportail, 2011).

Le déséquilibre persistant du fonctionnement du tube digestif peut conduire à des pathologies chroniques telles que les aphtes, le côlon irritable ou le côlon spasmodique, le reflux gastro-œsophagien, l'ulcère gastroduodénal, les maladies inflammatoires de l'intestin (la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique), la maladie de cœliaque et le cancer (Oullai et Chamek, 2018).

Tableau 1. Les maladies de tube digestif et Pris en charge thérapeutique (Oullai et Chamek, 2018).

Maladies	Présentation clinique	Traitement
Aphtes	ulcérations douloureuses de la muqueuse buccale.	Les anti-inflammatoires, les antiseptique ou antalgique et rarement les anesthésiques locaux.
Cancers	une masse de cellules anormales, qui forment des tumeurs qui interfèrent le fonctionnement des organes vitaux.	la chimiothérapie, la radiothérapie et la photothérapie (laser).

<p>Côlon irritable</p>	<p>une douleur causée par une contraction anormale des muscles du côlon, ballonnement associé à des diarrhées ou une constipation.</p>	<p>Les anti-diarrhéiques, LesAnticholinergiquesou antispasmodique, régulateurs de la motilité du tractus gastro-intestinale, antidépresseurs.</p>
<p>Maladie de Crohn et colite ulcéreuse (rectolite)</p>	<p>des maladies inflammatoires intestinales chroniques, caractérisé par des diarrhées, des douleurs abdominales et du sang dans les selles. La maladie de Crohn touche n'importe quelle partie de l'appareil digestif, alors que la colite ulcéreuse se limite au côlon et au rectum et elle n'attaque que la muqueuse superficielle.</p>	<p>Les anti-inflammatoire, les immunosuppresseurs, les antibiotiques, les anti-diarrhéiques, les analgésiques, la vitamine B-12, intervention chirurgicale.</p>
<p>Le reflux gastro-œsophagien</p>	<p>Il s'agit de remonté acide associé à des brulures de l'estomac, ainsi que dysphagie et des douleurs thoracique, il peut être compliqué par sténose, métaplasie de l'œsophage, ou ulcère.</p>	<p>Les antiacides, les inhibiteurs des récepteurs H-2 à l'histamine, Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP).</p>
<p>Ulcère gastro-duodéal</p>	<p>caractérisé par une douleur ou une crampe dans le haut de l'abdomen, causée par l'acide gastrique sur la plaie ouverte. Il peut être d'origine bactérienne ou suite à la prise régulière des AINS.</p>	<p>Les antibiotiques, les IPP.</p>

I.3. La maladie de cœliaque

I.3.1. Anatomie de l'intestin grêle

L'intestin grêle est constitué de duodénum, de jéjunum et de l'iléon qui débouche sur le gros intestin. Il contient des nombreuses villosités qui permettent le phénomène d'absorption. Il existe trois structures différentes : les microvillosités, les villosités intestinales et les plis circulaires. Les microvillosités sont de minuscules excroissances de la membrane plasmique des cellules muqueuses. Un réseau de capillaires sanguins et de vaisseaux chylifères existe à l'intérieur de chaque villosité. Les plis circulaires sont des replis profonds dans la muqueuse et la sous-muqueuse (**Boudet, 2013**).

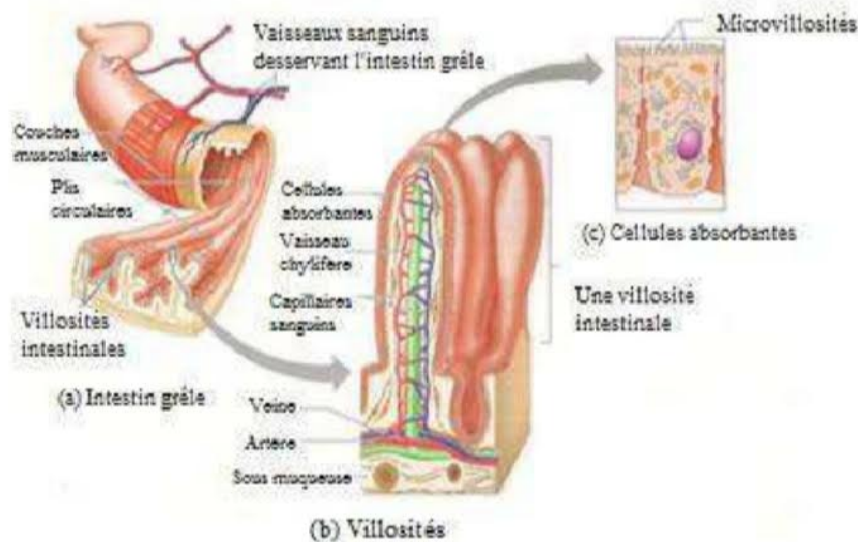


Figure 3. La structure de l'intestin grêle (**Boudet, 2013**).

I.3.2. Définition de la maladie de cœliaque

La maladie de cœliaque (MC) est une pathologie digestive (**battu, 2017**), chronique, auto-immune et inflammatoire qui touche l'intestin grêle chez les personnes génétiquement prédisposées (**panier, 2011**), induit par une mauvaise digestion du gluten (**Pourtalebi-Firoozabadi et al, 2016**). Elle conduit à des atrophies villositaires (AV) au niveau de la surface de la muqueuse intestinale de l'intestin grêle (**Malamut et Cellier, 2010**) (**figure 4**).

Elle est également connue sous le nom de sprue non tropicale, entéropathie au gluten ou sprue cœliaque (**Bai et al, 2012**).

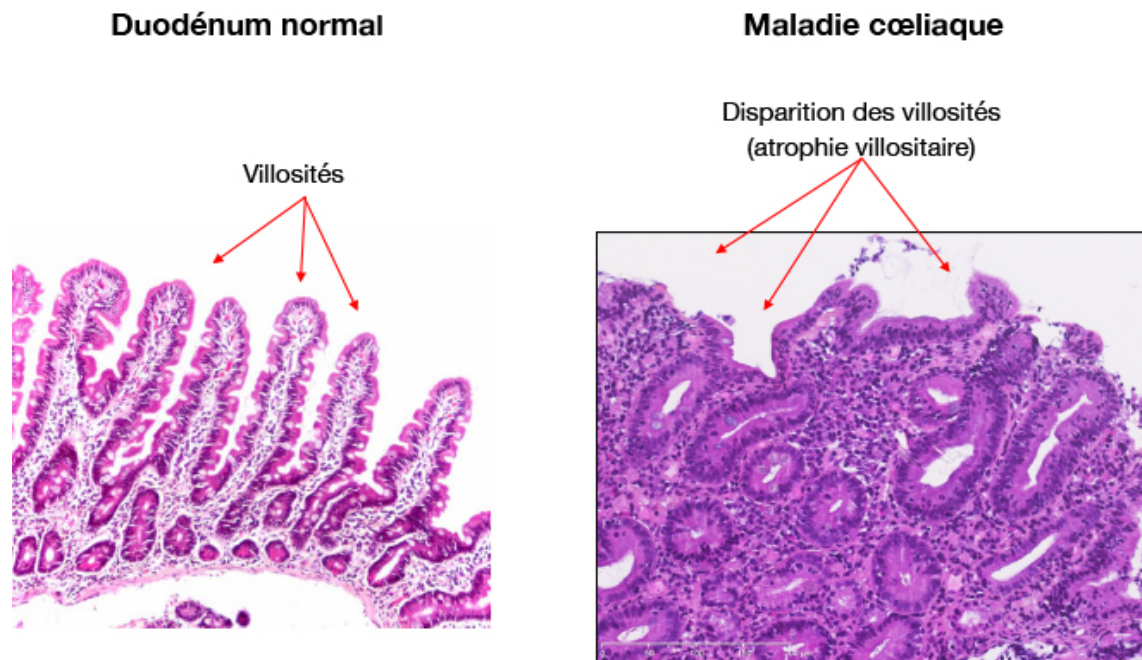


Figure 4. Coupe histologique de paroi de l'intestin grêle. A. Coupe histologique des parois intestinale d'une personne saine B. Coupe histologique des parois intestinales les d'une personne cœliaque (Joubert, 2018).

I.3.3. Étiologie de la maladie de cœliaque

La MC est une pathologie multifactorielle, induites à la fois par des facteurs extrinsèques notamment le gluten, le microbiote intestinale et certains infections virales, mais aussi par des facteurs intrinsèques indiquant la prédisposition génétique des individus touchés (Weber, 2012) (Figure 5).

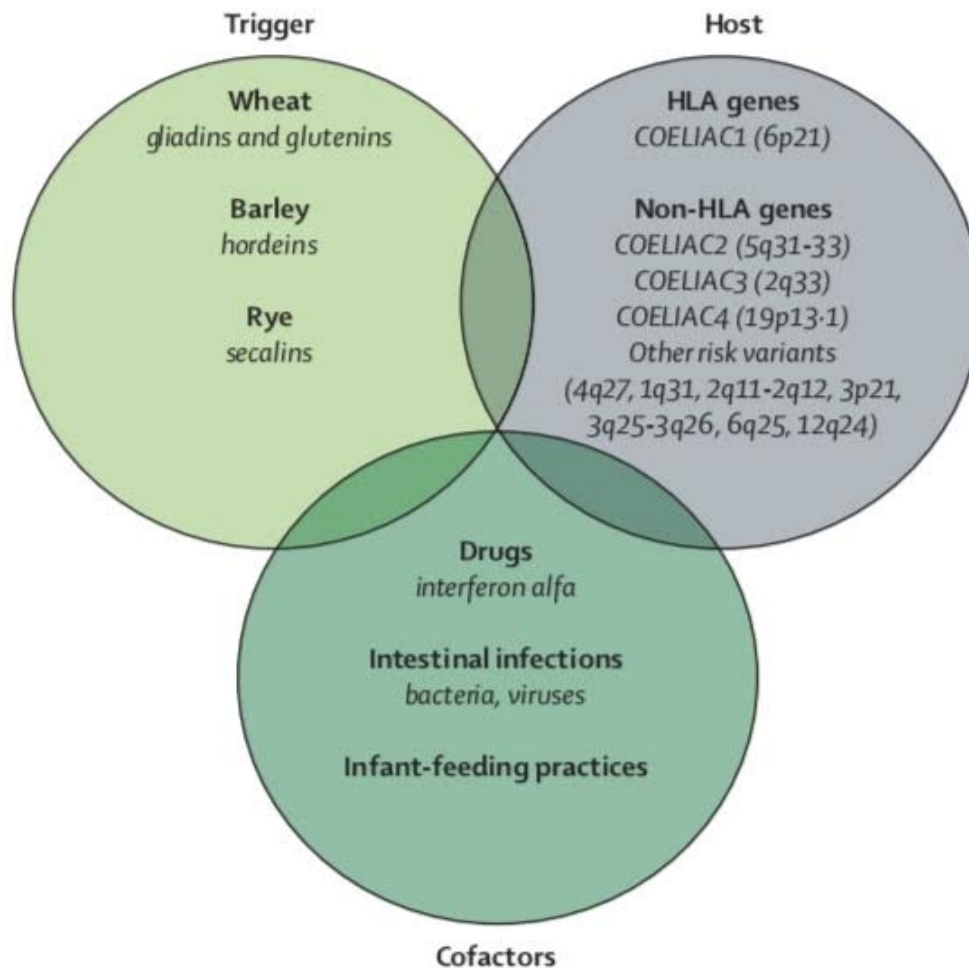


Figure 5. Les facteurs interviennent dans l'induction de la MC (Di Sabatino et Corazza, 2009).

I.3.3.1. Facteurs extrinsèques

🚩 Le gluten

Les facteurs environnementaux de la MC concernent la masse protéique résiduelle issue du blé et d'autres céréales. Cette masse protéique est insoluble dans l'eau et est classée en deux familles de protéines : la gliadine et la glutéine qui diffèrent par leur solubilité dans l'alcool. Les gliadines existent sous forme de protéines monomères et sont classées en gliadines α , β , γ , ω . alors que les glutéines sont constituées de polymères qui peuvent être séparés en sous-unités après réduction des ponts disulfure. La fraction protéique toxique du gluten est l' α gliadine de la famille des prolamines (Bigare, 2016. Weber, 2012).

🚩 Le microbiote intestinal et l'infection virale

Le microbiote intestinal conserve l'état d'équilibre dans le corps humains à travers sa solidité et ses interactions constantes avec le corps. Une dysbiose du microbiote intestinal peut conduire à l'apparition de maladies tractus gastro-intestinal et elle peut agir comme un facteur pathogène dans la maladie cœliaque (Marasco, 2016).

Les infections induites par des rétrovirus ou des adénovirus peuvent conduire à une fragilité de muqueuse de l'intestin. Cette fragilité augmente la perméabilité des tissus, permettant aux peptides immunogènes de pénétrer et de interrompus les mécanismes de tolérance immunitaire. En conséquence, des infections intestinales se produisent et conduisent au développement de la MC (Weber, 2012. bigare, 2016) (Figure 06).

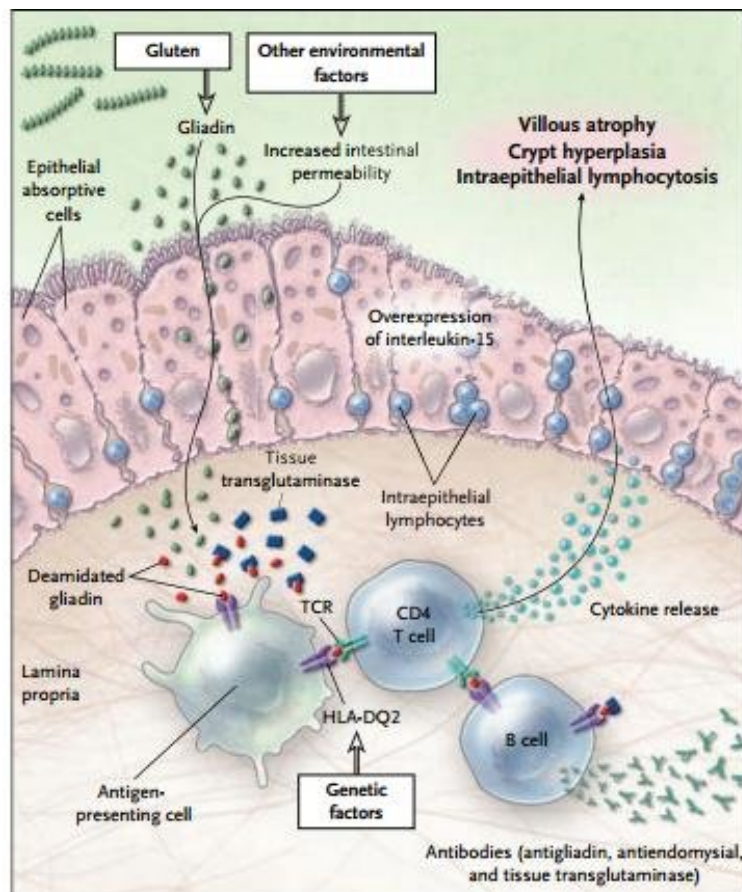


Figure 6. Interaction du gluten avec les facteurs environnementaux, immunologiques et génétiques dans la MC (Hamdaoui, 2019).

I.3.3.2. Facteurs intrinsèques

La prédisposition génétique à la MC est localisée au sein du Complexe Majeur d’Histocompatibilité (CMH), au HLA et particulièrement les allèles HLA DQ2 et l’hétérodimère DQ8 (Weber, 2016). Plus de 90 % des malades de cœliaque expriment le génotype HLA DQ2, alors que 5 à 10 % expriment le génotype DQ8 (Olive, 2013) (Figure7).

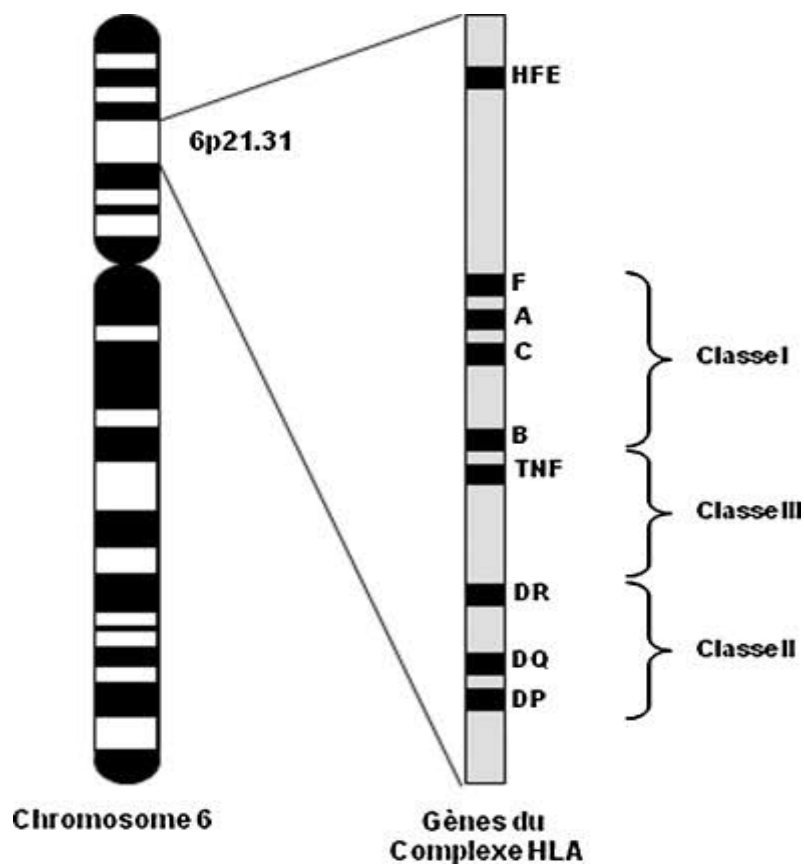


Figure 7. Localisation et Organisation de gènes du complexe HLA (Roujon et al, 2013).

I.3.4. Physiopathologie de la maladie de cœliaque

La MC est induite par une réponse immunitaire dirigée contre des peptides spécifiques du gluten, en particulier la gliadine (Godat et al, 2013). Au cours de la digestion du gluten, la gliadine franchit la barrière épithéliale et se lie avec la transglutaminase2 (TG 2) dans la lamina propria. La transglutaminase 2 déamide la gliadine. Les macrophages et les cellules

dendritiques portant les HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 sont liés avec les complexes de TG2-gliadine déamidée. Ce complexe active les lymphocytes TCD4+ spécifiques de la gliadine qui sécrète des cytokines pro-inflammatoires par voie de th2 et peuvent également activer les lymphocytes intra-épithéliaux cytotoxique CD8+ (LIE). En fin de compte, cette réponse stimule la production d'anticorps anti-gliadine et anti-transglutaminase 2 par les lymphocytes B activées (plasmocytes) qui sont responsable de l'atrophie villositaire (la lésion intestinale) (Weber, 2012).

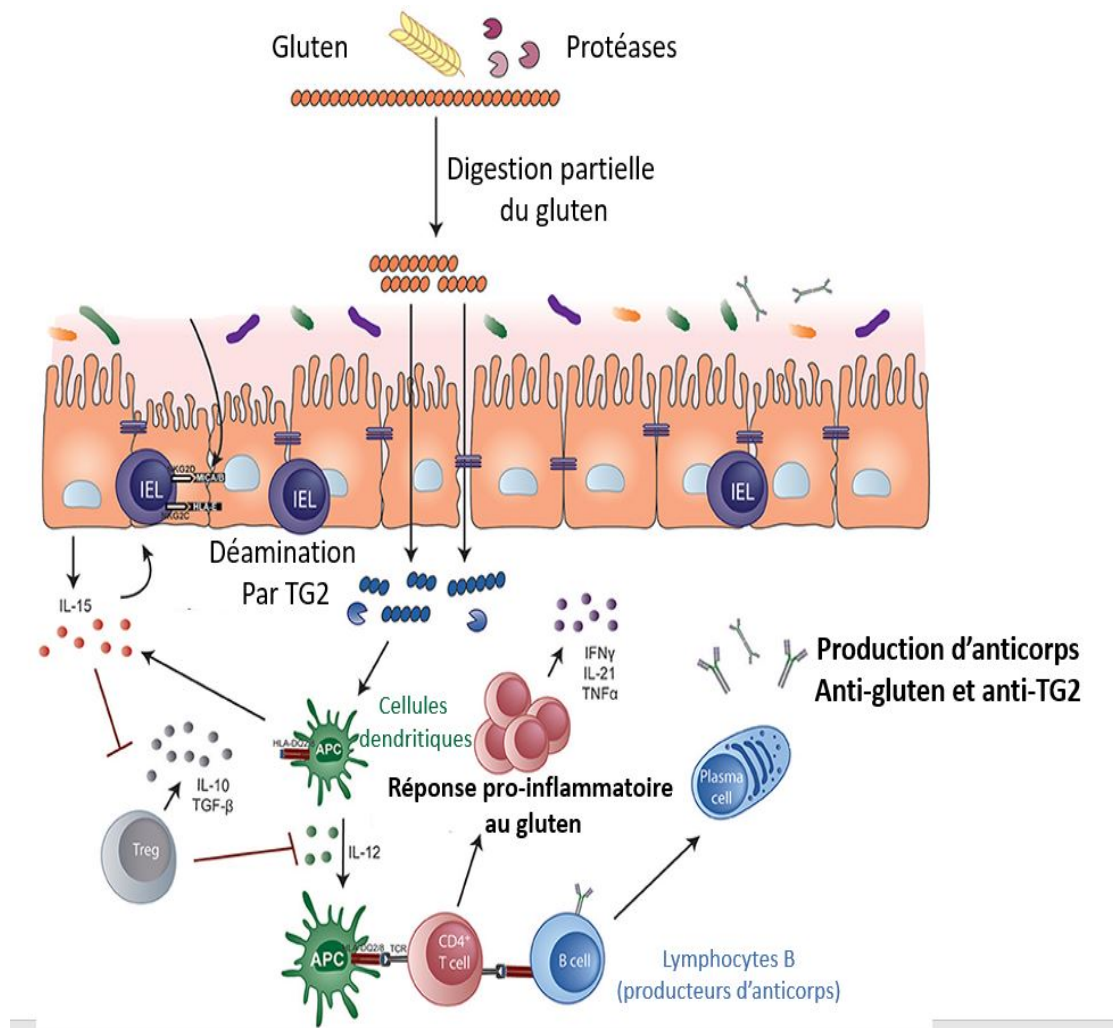


Figure 8. Physiopathologie de la maladie de cœliaque (Tye-Dinet al, 2018).

I.3.5. Épidémiologie

La MC affecte environ 1% de population dans les pays occidentaux. Cependant, cette prévalence est plus élevée dans certains groupes de patients atteints de la MC tels que les

diabétiques de type 1 (3-6%), les parents au premier degré de patients cœliaques (environ 20%) ,les personnes souffrant d'anémie ferriprive (3-15%) et les personnes âgées avec des taux dépassant 2 % chez les personnes de plus de 50 ans. Dans certaines régions du monde, en particulier, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Inde, des études épidémiologiques ont révélées des taux de prévalence variés. Ces dernières années, une augmentation significative de l'incidence de la MC a été observée, avec une augmentation de nouveaux cas chaque année (Lamireau et Clouzeau, 2013, Lionetti et Catassi, 2011).

Tableau 2. Prévalence la maladie de cœliaque (Lionetti et Catassi, 2011).

Régions	Chiffres de prévalence
Afrique du nord :	
Tunisie	0,6 %
Egypte	0,53 %
Libye	0,79 %
Désert (Algérie)	5.6 %
Moyen-Orient :	
Iran	0,88 %
Turquie	0,6 %
Inde	0,7 %

I.3.6. Les manifestations cliniques et biologiques de la MC

I.3.6.1. Les formes cliniques de la MC

Il existe quatre formes cliniques de la MC identifiées. Les formes symptomatiques comprennent deux formes, l'une est la forme typique, dont la maladie se manifeste par une entéropathie sévère avec un syndrome de malabsorption et des symptômes cliniques typiques (diarrhée, distension abdominale). L'autre c'est la forme atypique qui se caractérise par le syndrome de malabsorption, le retard de croissance et/ou un développement pubertaire, une anémie ferriprive. La forme asymptomatique (silencieuse) elle se caractérise par une sérologie positive et une atrophie villositaire plus ou moins sévère. La forme latente ou la muqueuse intestinale est avec une morphologie normale et une séropositivité ou parfois des niveaux

élevés des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) portent généralement le gène HLA-DQ2/DQ8. Pour la forme réfractaire le patient développe une résistance à un régime sans gluten présentant comme une forme d'atrophie villositaire avec prolifération monoclonale de LIE qui constitue une forme transitionnelle entre la MC et le lymphome invasif (Cellier, 2002., Schmitz, 2008., Gargouri, 2017).

I.3.6.2. Les symptômes de la MC

La MC possède un spectre clinique large, allant des manifestations digestives classique, notamment, la diarrhée et les douleurs abdominales, jusqu'aux manifestations immunitaires résultants des altérations de la muqueuse intestinale (Agar et al, 2017). La maladie de cœliaque se manifeste selon l'âge. Chez les nourrissons de moins de deux ans peuvent présenter une diarrhée chronique, un retard de croissance, une distension abdominale et des vomissements. Pendant ce temps, les patients pédiatriques plus âgés peuvent souffrir d'une perte d'appétit et d'un retard de croissance. Chez les adultes, les symptômes intestinaux peuvent ne pas être présents, mais les plaies buccales, la dyspepsie, les ballonnements et la diarrhée sont des manifestations cliniques courantes (Feighery, 1999).

I.3.7. Les pathologies associées à la MC

Les complications de la MC sont diverses, nutritionnelles (retard de croissance de l'enfant, dénutrition, carences vitaminiques), sanguines (anémie), osseuses (ostéoporose de fracture), gynécologiques (troubles de la reproduction), cardiovasculaires (coronaires et veineuses), neuropathies nerveuses (périphériques) et thrombose hépatique (cytolyse, cirrhose), digestives (la colite microscopique et la stomatite réfractaire qui se caractérise par une résistance à un régime sans gluten). La MC est associée aussi à un risque accru de maladies auto-immunes (diabète de type 1, thyroïdite) et surtout de cancers (cancer gastro-intestinal supérieur, carcinome hépatocellulaire, lymphome) (tableau 3) (Cosnes et Nion-Larmurier, 2013).

Tableau 3. Maladies liées à la MC (Elli, 2018).

Type de manifestation	Maladie associées à la MC
Troubles hématopoïétiques	Anémie hémolytique, purpura thrombocytopenique auto-immun.
Manifestations hépatique	Hépatite auto-immune, cirrhose biliaire

	primitive.
Manifestation endocrinologique	Thyroïdite d'Hashimoto, maladie d'Addison, diabète type 1
Altérations cutanées/ muqueuses	Psoriasis, vitiligo, pelade, dermatite herpétiforme.
Manifestation neurologique	Calcifications cérébrales, Leucoencéphalopathie...
Manifestation rhumatologique	Maladie de tissu conjonctif, polymyosite, myasthénie grav.
Autres	Déficit en IgA Maladies intestinales inflammatoires (colite ulcéreuse, maladie de Crohn et colite microscopique).

I.3.8. Le Diagnostic de la maladie de cœliaque

Il n'existe pas un diagnostic unique bien défini pour la MC. Le diagnostic définitif exige une combinaison des tests biologiques et histologiques (Rios et al, 2013) (Figure 9).

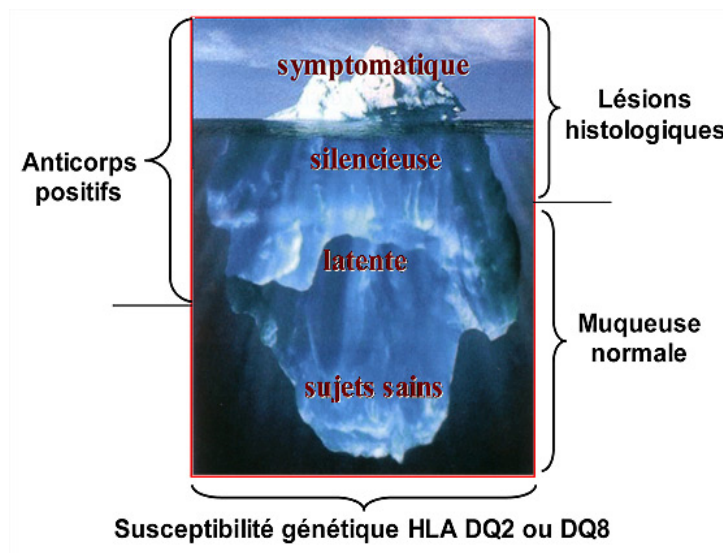


Figure 9. Modèle iceberg représentant le sous-diagnostic la maladie de cœliaque (Lamireau et Clouzeau, 2013).

I.3.8.1. Tests biologiques

Les marqueurs sérologiques sont la première étape du diagnostic en cas de suspicion clinique, Les anticorps anti-gliadine de type IgA et IgG sont le plus utilisées de nos jours. Cependant, ils ne sont plus recommandés ni remboursés en raison de leur manque de sensibilité et de spécificité. La recherche d'IgA anti-endomysium (anti-EMA) a une excellente sensibilité et spécificité, mais nécessite une immunofluorescence indirecte (IFA) (**Husby et al, 2012**). Aussi les anticorps anti-transglutaminase (anti-TG2) sont facilement détectés par la technologie ELISA avec une excellente sensibilité et spécificité.

Les recommandations actuelles recommandent de tester en première intention les anticorps IgA anti-TG2. La recherche d'IgA anti-EMA est recommandée en intention secondaire. Il doit être associé à la détermination du poids des immunoglobulines car ces tests peuvent être défaillants en cas de déficit en IgA ($IgA < 0,2 \text{ g/l}$), ce qui survient chez environ 2 % des patients cœliaque. Dans ce cas, il est recommandé de rechercher des IgG anti-TG2 et anti-EMA et de réaliser une biopsie intestinale. Si la présentation clinique évoque des marqueurs sérologiques négatifs une recherche de HLA DQ2/DQ8 sera discutée (**Haute Autorité de Santé 2008, pointcheval, 2019**) (**Tableau 04**).

Tableau 4. Les anticorps de test sérologique (**Rashid et Lee, 2016**).

Antigène	Type d'anticorps	test	Sensibilité % (intervalle)	Spécificité% (intervalle)
Gliadine	IgA	ELISA	85(57-100)	80(47-94)
	IgG	ELISA	50(42-78)	60(50-87)
Endomysium	IgA	IFA	95(86-100)	99(97-100)
	IgG	IFA	80(70-90)	97 (95-100)
Transglutamine	IgA	ELISA	98(78-100)	98 (90-100)
	IgG	ELISA	70(45-95)	95(94-100)
Peptide déamidé de la gliadine	IgA	ELISA	88(74-100)	90 (80-95)
	IgG	ELISA	80(70-95)	98 (95-100)

I.3.8.2. Test histologique

Les patients avec un test sérologique positif doivent être référés à un gastro-entérologue qui effectuera une biopsie de l'intestin grêle par endoscopie (**figure 11**). Il est important de ne pas initier un régime sans gluten avant la biopsie, car la guérison de la muqueuse intestinale compliquerait l'interprétation des résultats de la biopsie (**Rios et al, 2013**). Le lymphocyte intra-épithélial (LIE), l'AV et l'hyperplasie des cryptes sont les marqueurs histologiques permettant d'évoquer le diagnostic de la MC sur une biopsie intestinale (**Verkarre, 2013**). Le degré de ces lésions est défini par la classification de Marsh (**Bruneau et al, 2018**) (**Tableau 05**).

Tableau 5. Classification de Marsh (**Société de pédiatrie d'ouest, 2017**).

Classification de Marsh
Marsh 0 : muqueuse normale
Marsh I : augmentation isolée des LIE
Marsh II : augmentation des LIE + hyperplasie des cryptes sans atrophie
Marsh IIIA : AV partielle
Marsh IIIB : AV sub-totale
Marsh IIIC : AV totale

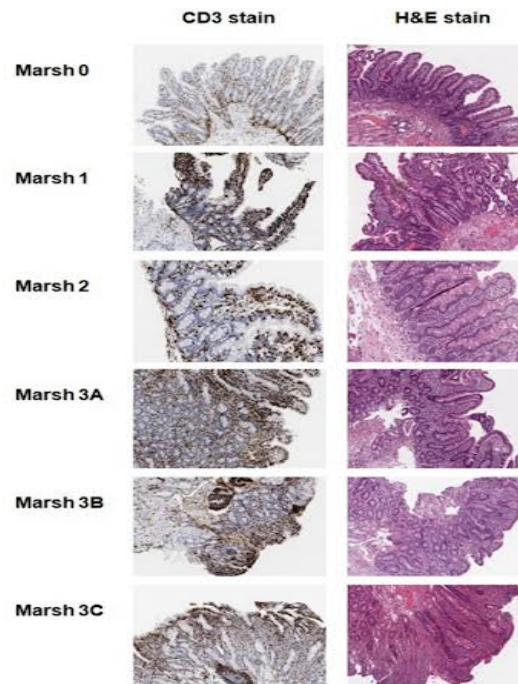


Figure 10. Coupes histologiques de duodénales de l'intestin grêle (colorations hématoxyline et éosine, H&E et CD3) classées selon la classification de Marsh-Oberhuber. Marsh 0. Muqueuse duodénale normale, Marsh 1. Muqueuse duodénale avec une augmentation des LIE, Marsh 2. Muqueuse duodénale caractérisée par une hyperplasie focale des cryptes sans AV avec augmentation des LIE, March 3 (A, B, C). Muqueuse duodénale avec atrophie villositaire partielle / sub-totale / totale (Elli et al, 2018).



Figure 11. Endoscopie intestinale pour un diagnostic de la MC (Barret et al ,2014).

Chapitre II

Le traitement de la maladie de Cœliaque

II.1. La nutrition humaine

La nutrition humaine discute l'alimentation humaine commençant par l'ingestion des aliments jusqu'à l'absorption et l'assimilation des principes nutritifs, elle permet de conserver l'équilibre structural, physiologique et énergétique chez l'être humain (**Amrouche, 2011**).

II.2. L'apport nutritionnel conseillé

Les ANC (apports nutritionnels conseillés) sont un ensemble de valeurs de référence qui diffèrent selon l'âge, le sexe et l'état physiologique. Ils sont utilisés pour évaluer l'insuffisance ou l'excès des apports nutritionnels au sein d'une population, en tenant compte de la variabilité interindividuelle, comme le taux métabolique basal (MB), la dépense énergétique (ED) et l'état corporel. Les données cliniques, épidémiologiques et expérimentales informent sur les apports optimaux qui peuvent réduire le risque des problèmes de santé graves comme les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose, le diabète et le cancer. (**Courcy et al, 2003**).

II.3. La nutrition clinique

La nutrition clinique est un domaine essentiel de la médecine moderne. Bien que l'évaluation de l'état nutritionnel des patients reste un élément essentiel pour diagnostiquer la dénutrition et évaluer les résultats thérapeutiques, limiter le rôle des biologistes à cet aspect serait à courte vue. Plusieurs domaines de la biologie nutritionnelle sont devenus des domaines d'étude prometteurs, comme l'ont révélé des recherches récentes (**Ginguay et al, 2014**).

II.4. La nutrition humaine préventive et les maladies inflammatoires chroniques

En réponse à la recrudescence des maladies chroniques dans le monde en raison d'habitudes alimentaires et de changements de mode de vie de plus en plus malsains, l'OMS et la FAO ont organisé une consultation conjointe d'experts. Cette consultation s'est appuyée sur l'étude précédente de l'OMS sur l'alimentation, la nutrition et les maladies non transmissibles, dans le but de proposer des recommandations pour la prévention et l'atténuation des maladies inflammatoires. Notamment, la consultation a reconnu les récents progrès réalisés dans la recherche scientifique et identifié de nouveaux essais cliniques contrôlés. Cela a permis de mieux comprendre les mécanismes à l'origine des maladies chroniques et l'efficacité des interventions pour réduire les risques (**WHO et FAO Expert, 2003**).

II.5. Traitement de la maladie de cœliaque

II.5.1. Le traitement d'urgence

Avant d'entamer un régime strict sans gluten le patient besoin un traitement d'urgence lors des crises apparier sous la formes des symptômes chroniques, notamment la diarrhée, la constipation, le ballonnement, la fatigue, la fièvre, et des pathologies associées comme l'aphtose buccale récidivante (**Tableau 6**).

Tableau 6. Les traitements d'urgence lors de la MC (**Weber, 2012**).

	Signes cliniques	Traitement
Diarrhée	Emission de selles trop abondantes (> 300g/jour) et trop fréquentes (plus de 3 exonérations par jour de selles non moulées).	Anti-diarrhéiques anti-secretoires (Racecadotril) : Tiorfast, Tiorfan. Ralentisseurs du transit (Loperamide) : Imodium lingual, Imossel, Diaretyl.
Constipation	En général, moins de 3 selles par semaine, selles sèches et dures.	Laxatifs par voie rectale (Microlax), Laxatifs osmotiques (Lactulose), Laxatifs de lest (Normacol), Laxatifs stimulants (Dulcolax), Laxatifs lubrifiants (Huile de paraffine).
Ballonnement		Antispasmodiques musculotropes : Trimebutine. Phloroglucinol (Spasfon lyoc), Produits absorbants : Charbon Belloc. Pansements gastro-intestinaux : Bedelix, Smecta. Antiacide + molécule absorbante : Maalox.
fatigue		Vitamines : Vitamine C Upsa Vitamines + minéraux : Supradyne, AZinc Acides aminés : Berocca, Revitalose Psychostimulants : Arcalion.
fièvre		Paracetamol : Efferalgan, Dafalgan (pas de Doliprane 500mg cp)

		Aspirine : Aspro (pas d'Aspirine Richard 500mg).
Aphthose buccale récidivante	petits ulcères superficiels (aphtes) formes a la surface de la muqueuse des joues, de la langue ou sur la face interne des lèvres, du palais ou des gencives.	<ul style="list-style-type: none"> - des bains de bouches pour soulager la douleur et l'inflammation (Hextril), - des gels (Pansoral a base de salicylate de choline) - des pommades (Dynexan à base de lidocaine, rembourse a 15%) ; - des solutions filmogènes (Urgoaphte a base de dérivés cellulosesiques) - des solutions anti-inflammatoires (Pyravex à base d'acide salicylique et d'extrait de rhubarbe).

II.5.1.1.Vaccination

Le développement du vaccin Nexvax2® vise à améliorer la tolérance immunitaire des personnes atteintes de la maladie de cœliaque, en particulier celles qui possèdent le gène de reconnaissance immunitaire HLA-DQ2.5+ (*HLA-DQA1*05* et *HLA-DQB1*02*), ce vaccin est un tri-peptide qui inhibe les lymphocytes T spécifiques du gluten ce qui permet l'inhibition de la réponse inflammatoire. La première injection de ce vaccin conduit à l'activation de système immunitaire par l'augmentation des interleukines (IL-6, IL-2, IL-10), protéine chimioattractante des monocytes (MCP-1 ou CCL2), protéine induite par l'interféron gamma 10 (IP-10 ou CXCL10) dans le plasma, ainsi à des symptômes intestinaux chroniques. Cependant, des injections ultérieures, le vaccin bloquera progressivement la réponse auto-immune entrainent une réduction de l'inflammation des villosités, qui sont les sites d'absorption des nutriments dans l'intestin grêle (Daverson, 2017).

II.5.2. Traitement alternative

II.5.2.1. Hygiène de vie

Le traitement de la MC consiste à un régime strict sans gluten à vie (Duerksen et al, 2017), permet de diminuer et de prévenir les symptômes et les complications liée à la MC (weber, 2012).

🚦 Régime strict sans gluten

Le régime sans gluten (RSG) nécessite de s'abstenir des céréales toxiques tels que le blé, le seigle, l'orge. Les patients atteints de la MC doivent les remplacées par d'autre céréales non toxiques notamment le maïs ou le riz, d'autres farines (la farine de sarrasin) ou d'autres produits (produit à base légumineuses) (Rezki, 2021). Malheureusement, le gluten se cache dans de nombreux produits commerciaux, les patients devraient apprendre à détecter et lire les mentions liées au gluten présentes sur les emballages des aliments (Weber, 2012) (figure 12).



Figure12. Mentions présentes sur les emballages des aliments (Weber, 2012).

🚦 Aliments autorisés et interdits lors du régime sans gluten

Lors d'un régime sans gluten préventive, il est important de connaître les différents aliments qui sont autorisés ou interdits chez les patients atteints de la MC (Weber, 2012).

Tableau 7. Les aliments autorisés et interdits au cas de la maladie cœliaque (Battu, 2017).

Aliments autorisés	Aliments interdits
-Légumes verts, pommes de terre -Fruits (en privilégiant les fruits frais), graines oléagineuses -Maïs, riz, sarrasin, soja, pois chiche. -Viandes et poissons frais, fruits de mer Œufs, Lait frais, yaourts, fromages blancs, petits suisses nature, fromages -Huile végétale et beurre -Fines herbes -Miel, sucre, sirop d'érable -Eau, café, thé noir, tisane, jus de fruits purs -Produits "garantis sans gluten" vendus en magasin diététique, en pharmacie	Tous les aliments à base de blé (froment, épeautre), d'orge, de seigle, d'avoine et leurs dérivés sous forme de farines, chapelure, semoule, galettes, flocons, couscous, amidons. -Tous les pains, gâteaux, biscuits, viennoiseries ou pâtisseries réalisés avec la farine de ces céréales -Biscottes, pâtes, raviolis, gnocchi, pizza, Figs séchées dans la farine -Bières -Préparations industrielles contenant du gluten : moutardes, sauce tomate et autres sauces

II.5.2.2. Les nouvelles voies thérapeutiques de la MC via l'immunothérapie

L'augmentation des sujets souffrent de la maladie de cœliaque et de son instabilité avec un régime strict sans gluten cela incite à réfléchir de réaliser des thérapies alternatives, notamment via l'immunothérapie et la phytothérapie (Pointcheval, 2019. Calabriso, 2022).

Supplémentation orale enzymatique

Le proline est le composant essentielle du gluten qui se caractérise par une résistance à la digestion enzymatique de tractus gastro-intestinale humain cela conduit à une réaction inflammatoire localisée dans l'intestin grêle, pour l'objectif de réduire l'immunogénicité au gluten l'endoprotéase propyl drivée d'*Aspergillus niger*, AN-PEP, permet une dégradation presque complet du gluten dans l'estomac avant qu'il n'atteigne l'intestin grêle en petits fragments non immunogènes (König et all, 2017).

Connecteurs de polymère

Il a été démontré que l'utilisation d'un polymère connu sous le nom de P (HEMA-co-SS) diminue l'impact de gluten sur la réaction inflammatoire et la perméabilité intestinale. Ce polymère agit en séquestrant les composés toxiques du gluten dans la lumière intestinale ce qui conduit à une amélioration de leur absorption (Nardin, 2017).

Utilisation d'un inhibiteur de la zonuline

Les troubles intestinaux liés à la MC entraînent une perméabilité accrue de la muqueuse. Ce qui permet une surabondance de gliadine dans la lamina propria. La gliadine se lie aux récepteurs CXCR3 présents sur la Zonuline (c'est une molécule qui régule les jonctions serrées intestinales) pour pénétrer dans la muqueuse. L'acétate de larazotide (ou le INN-202) est un type d'antagoniste de la zonuline. Il maintient l'état fermé des jonctions serrées au sein de la muqueuse intestinale et donc il empêche l'entrée de la gliadine et réduit le processus inflammatoire dans l'intestin grêle qui se produit en réponse au gluten (Pointcheval, 2019).

L'inhibition de la transglutaminase 2 (TG2)

Il existe trois classes d'inhibiteurs du TG2 dont les mécanismes d'action sont différents. Les inhibiteurs compétitifs qui bloquent la TG2 par concurrence avec le gluten. Les inhibiteurs irréversibles se lient avec TG2 de façon irréversible et en modifient la covalence de cet enzyme contrairement aux réversibles qui se fixent de façon temporaire. Récemment, l'objet est de déterminer un inhibiteur capable d'atteindre la lamina propria avec des concentrations qui lui permettent d'agir contre les constituants toxiques de gluten. (Nardin, 2017).

Action sur la réponse inflammatoire

Des études sur la suppression des lymphocytes T spécifiques du gluten chez des sujets atteints de la MC réfractaire ont été démontrées et une amélioration histologique significative chez les patients qui sont traités par Infiximab (un anticorps monoclonal). D'autres pistes basées sur l'utilisation des anticorps anti-IFN γ pour inhiber la réponse immunitaire ont été suggérées (pointcheval, 2019).

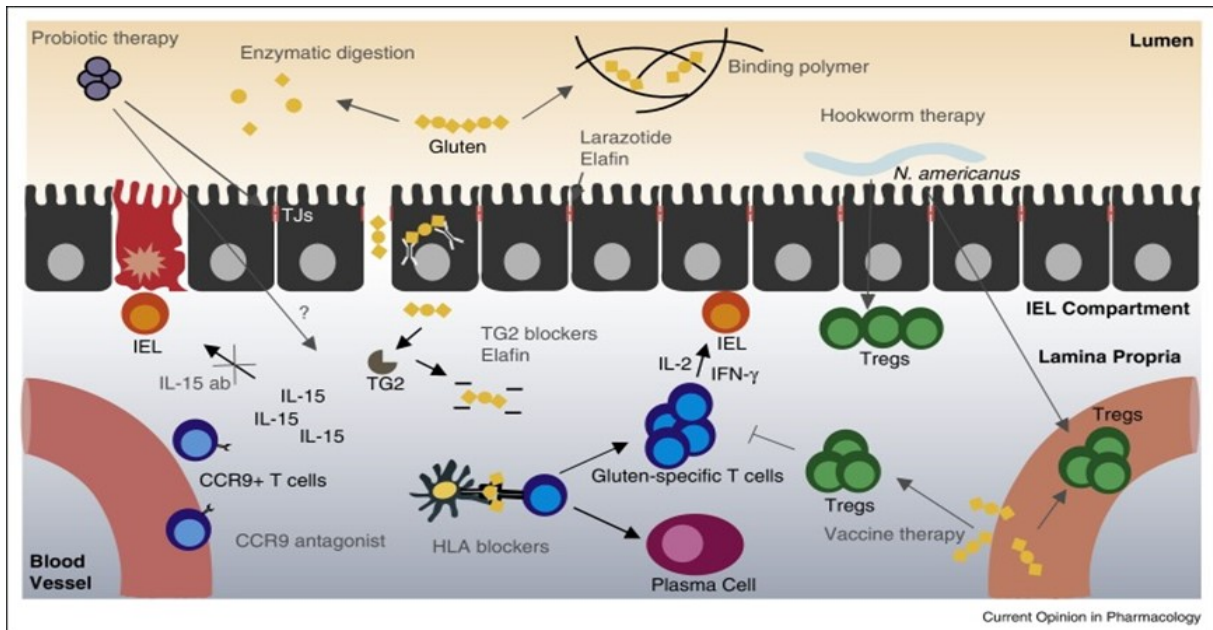


Figure13. Mécanismes d’actions des principales alternatives thérapeutiques (pointcheval, 2019).

🚫 Action sur la gliadine

Les récepteurs de la transferrine CD71 sont surexprimés à la surface apicale des entérocytes lors de la MC et permet la transcytose rétrograde des complexes IgA/gliadine. Des études ont montré que le blocage du transport des complexes-immuns IgA/gliadine vers la lamina propria est induite par l’inhibition de transferrine CD71 via l’anticorps anti-CD71 (pointcheval, 2019).

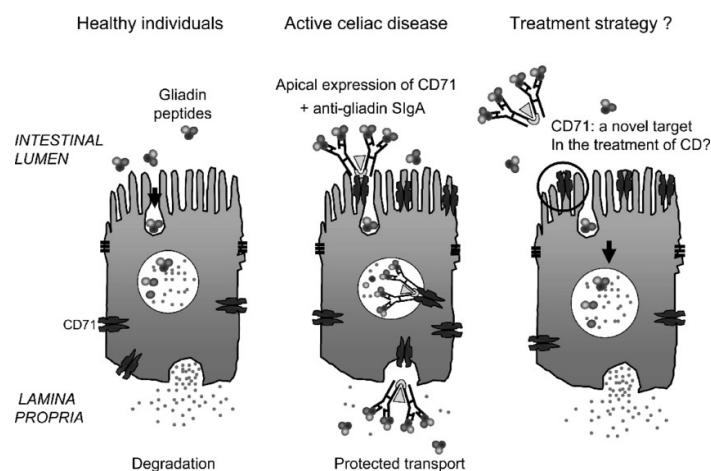


Figure14. Le rôle de transferrin CD71 dans le transport de complexe IgA/gliadine vers la lamina propria lors de la MC (Matysiak-Budnik et al, 2008).

Toutes ces voies thérapeutiques restent à confirmer dans des essais cliniques et ne sont donc pas envisageables dans un futur proche (Nardin, 2017).

II.5.2.3. Utilisation de la phytothérapie et le traitement nutraceutique dans la maladie de cœliaque

1. La phytothérapie

La phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes médicinales à des fins thérapeutiques notamment les plantes utilisées dans le traitement des pathologies digestif causés par la maladie de cœliaque ce qui est présenté dans le **tableau 8**. En médecine classique, les fabricants pharmaceutiques extraient le principe actif des plantes pour en faire des médicaments. Les troubles fonctionnels intestinaux (maladies digestives) est un problème majeur de santé publique. L'utilisation de la phytothérapie est fréquente en Afrique notamment au Algérie (**kabouya et al, 2022**).

Tableau 8. Les plantes médicinales de tube digestive et leurs usages traditionnels dans la région de M'sila (**kabouya et al, 2022**).

Non Vernaculaire	Nom Scientifique	Partie utilisées	Usage Médicinale
Karwiya	<i>Carum carvi</i>	Graine	Spasmes gastro-intestinales, flatulence, aérophagie, ballonnement.
Habet Lehlawa	<i>Anethum graveolens</i>	Graine	Aérophagie, ballonnement
Chih	<i>Artemisia herba</i>	Feuille	Inappétence, douleurs digestives
Caroubier	<i>Ceratonia siliqua</i>	Fruits feuilles	Diarrhée, affections de la bouche, Vomissement
Neanaa	<i>Mentha piperita</i>	Feuilles	Douleurs digestives biliaires, gastrite colite, cœlon irritable, nausées, vomissement, flatulences
Qarfaa	<i>Cinnamum , Zeylanicum</i>	poussés jeunes	Douleurs digestifs, diarrhées, inappétence, spasmes
Arksosse	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Racine	Ulcères gastrique et de la bouche, gastrites, constipation

Altoute	<i>Rubus fruticosus</i>	feuilles	Diarrhées, aphtes
Salmya (Sauge officinale)	<i>Salvia officinalis</i>	Parties aériennes	Diarrhée, Flatulences
Khozama	<i>Lavandula</i>	Feuilles	Ballonnement Douleur d'estomac
alromane	<i>Punica granatum</i>	fruit	Diarrhée Indigestion Des parasites intestinaux
Chamer	<i>Foeniculum vulgare</i>	Comprimé	Régulateur du transit intestinal
اكليل الجبل	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Feuille	ballonnement
الضرو	<i>Pistacia lentiscus</i>	Feuilles	Diarrhée, inappétence, aphtes, Flatulences
Krafes	<i>Apium Graveolens</i>	racine, graines	Indigestion, inappétence et spasmes digestifs
Korkum	<i>Curcuma longa</i>	Rhizome	Douleurs digestives, côlon irritable, ulcères gastriques

2. Les neutraceutiques

La maladie de cœliaque est l'une des maladies inflammatoires chroniques. De nos jours, les neutraceutiques suscitent une attention particulière en raison de leur potentiel d'avantages thérapeutiques donc le recours au traitement neutraceutique est donc une approche prévisible dans la MC. Les produits qui servent de source de nutrition, sont connus sous le nom de neutraceutiques. On peut définir un neutraceutique comme une substance présentant des avantages physiologiques ou une protection contre les maladies chroniques. L'utilisation de neutraceutiques peut avoir un impact positif sur la santé d'un individu en prévenant les maladies chroniques, en prolongeant l'espérance de vie et en soutenant la structure et la fonction corporelles (Nasri et al ,2014).

2.1. Les polyphenols

Les polyphenols sont des métabolites secondaires. Présent dans nombreux aliments correspondant à un régime alimentaire, y compris l'huile d'olive, les raisins rouges, les fruits, les légumes, le thé, le café, et le cacao. Ils sont utilisés dans la thérapie de la MC grâce à leur action anti-inflammatoire et leurs propriétés immunomodulatrices (Calabriso, 2022).

Effet de polyphenols sur la gliadine

Les mécanismes potentiels d'intérêt liés aux interactions gliadine-polyphenol comprennent la diminution de l'activité TG2 via l'inhibition enzymatique ou le masquage d'épitopes, la perturbation de la présentation de l'antigène et la sequestration d'épitopes anti-gliadine IgA (Van Buiten et Elias, 2021).

Effet des polyphénols sur la barrière intestinale

Le polyphénol est un anti-inflammatoire qui régule les gènes clés impliqués dans le processus inflammatoire par l'inhibition d'activation de facteur de transcription (NF-κB) et la voie de transduction du signal (MAPK) et augmente l'expression des protéines de jonction étroite (tight junction) (Calabriso et al, 2022, Dias et al, 2021).

2.2. La graine de *Nigella sativa*

La digestion orale de la poudre de *Nigella sativa* par les sujets atteints de la MC contribue à la diminution des manifestations cliniques, de plus, les analyses sérologiques ont démontré une disparition des anticorps anti-transglutaminases, anti-gliadine et anti-endomysium de type IgA. L'extraction de la graine de *Nigella sativa* qui permet l'obtention d'une protéase leur administration augmente la dégradation du gliadine (Abed et Rouabah, 2017).

2.3. Formulation de nouveau produit à base de caroube

En raison de l'insuffisance des denrées alimentaires pour les malades atteints de la MC en Algérie et de leurs prix élevés, en utilisant la pulpe de caroube pour fabriquer un produit alimentaire « la farine » qui est considéré comme une matière de base dans la fabrication du pain et des sucreries, adapté avec cette catégorie. D'après les résultats retenus à partir des

expériences sur les patients atteints, le produit est efficace et ne présente aucun effet secondaire (**Mines, 2017**).

Une thérapie nutraceutique pour le traitement de la maladie cœliaque est une option attrayante pour les cliniciens et les patients. Les polyphénols, omniprésents dans les aliments à base de plantes, se trouvent déjà dans un régime alimentaire typique et sont pris en toute sécurité comme suppléments par beaucoup. À ce jour, les polyphénols sont le seul composant alimentaire commun exploré comme option de traitement de la maladie de cœliaque, par rapport à une myriade de composés pharmaceutiques synthétiques qui nécessitent des tests approfondis de sécurité et de tolérance avant même que l'efficacité puisse être approchée. Bien qu'il y ait un long chemin à parcourir entre les études décrites ici et la véritable utilisation clinique de cette option de traitement, les bases ont été jetées pour une enquête plus approfondie vers un traitement de la maladie cœliaque qui soit sûr, efficace et bien compris (**Van Buiten et Elias, 2021**).

Chapitre III

La partie expérimentale

Stage N°01 : L'extraction des métabolites secondaires et des huiles essentielles**III.1. Introduction**

Les plantes généralement sont aromatiques, produisent des nombreux composés, notamment les substances métaboliques secondaires actives qui a un effet protecteur contre les agressions exogènes. Ces substances peuvent être sous deux formes : volatiles ou non volatile. L'obtention de ces substances à des fins thérapeutiques exige la méthode d'extraction de plantes médicinales **(Niboucha et Chebbah, 2016)**.

Actuellement en deuxième année de master à l'Université frère Mentouri, nous avons réalisé un stage d'extraction des huiles essentielles et produits naturelles dans la première unité de recherche Valorisation des Ressources Naturelles Molécules Bioactives et Analyses Physico-Chimique, Département de Chimie, faculté des Sciences Exactes, université de constantine1. sous la supervision de Dr.Redouane Lemoui à Chaabat Ersas, ce stage nous a permis d'enrichir nos connaissances pédagogique et théoriques acquises au cours de notre parcours universitaire , notamment dans le domaine de l'extraction.

L'objectif principal de ce stage était de nos permettre de découvrir les différents méthodes et le protocole de l'extraction des principes actif et des huiles essentielles à partir d'un plante médicinales.

III.1.1. Protocole d'extraction des métabolites secondaires**III.1.1.1. Préparation du matériel végétale**

Après avoir récolté et nettoyé la plante, un échantillon a été déposé au rayon solaire pour le séchage. Les parties aériennes de la plante (feuilles, fleurs, tiges) sont coupés en portions. **(Niboucha et Chebbah, 2016, Laggoune et Kebouche, 2017)**.

III.1.1.2. Extraction de type solide-liquide

Au cours de cette étape, le matériel végétal est macéré dans une solution hydroalcoolique (méthanol-eau) ce qui permet le contact entre eux et pour extraire le principe actif. Cette extraction effectuée dans une température et durée donnée. **(Niboucha et Chebbah, 2016., Laggoune et Kebouche, 2017)**.

III.1.1.3. Extraction de type liquid-liquid

L'extrait récupéré est laissé au repos pour la décantation (purification d'impureté). Puis, il est concentré à sec dans un évaporateur rotatif, les résidus secs dilués avec l'eau distillée puis ils sont filtrés. L'extrait brut soumis à une extraction de type liquid-liquid par des solvants de polarités croissantes (de moins polaire au plus polaire), les solvants fréquemment utilisés sont : le chloroforme (CHCl_3), l'acétate d'éthyle (ACOEt) et le n-butanol, pour le but de fractionnement des principes actifs. (Niboucha et Chebbah, 2016., Laggoune et Kebouche, 2017)

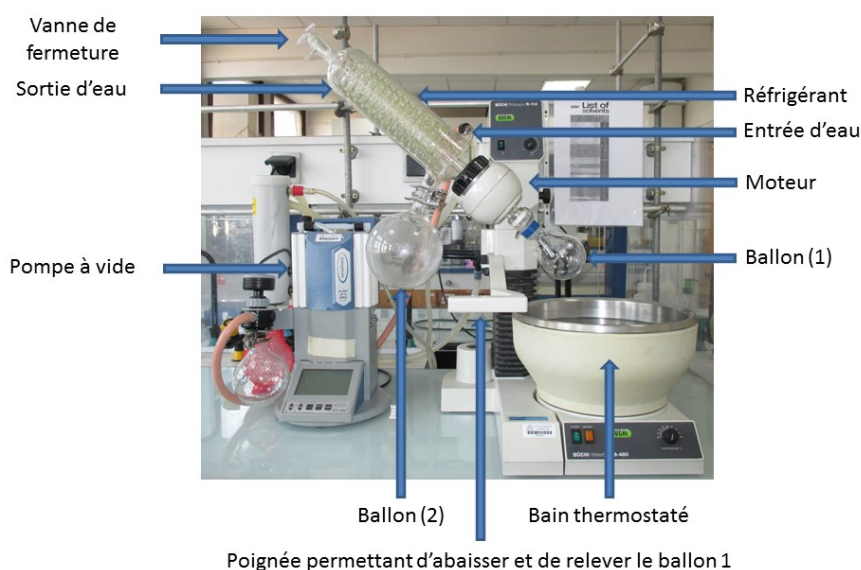


Figure 15. L'évaporateur rotatif

III.1.1.4. Méthodes de séparation chromatographique

La chromatographie est une méthode de séparation de composés d'un mélange qui vise à analyser de temps de migration de ces composés selon le poids moléculaire. On distingue deux classes de séparation chromatographique essentielles l'une sur couche mince et l'autre sur colonne (Alili et Boudissa, 2020, Laggoune et Kebouche, 2017).

a) Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une technique d'exploitation des affinités de constituants d'un mélange selon un adsorbant notamment le gel de silice, qui répartition sur un support de verre ou d'aluminium, cette classe de chromatographie est visualisée sous la lumière UV (Alili et Boudissa, 2020., Laggoune, 2017).

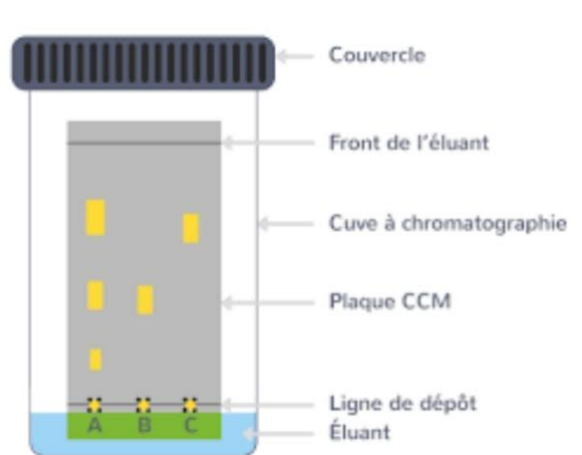


Figure 16. Schéma de séparation sur couche mince (Kenouz, 2020).

b) Chromatographie sur colonne

La technique de chromatographie sur colonne repose sur l'adsorption. La colonne est remplie de longueur variable par la silice qui la partie solide (en bas), puis en haut de la colonne on doit déposer l'extrait aqueuse et un solvant. Le mélange extrait-solvant traversant la silice vers un bicher (Kenouz, 2020).



Figure 17. Schéma de séparation sur colonne (Kenouz, 2020).

III.1.2. Extraction des huiles essentielles (HE)

III.1.2.1. Définition des huiles essentielles

Les HE sont des liquides huileux aromatique concentrés présents dans toutes les parties de la plante et constituées des mélanges complexes de substance volatiles .la quantité et la qualité de l'huile influencé par des facteurs extrinsèque tel que la température, l'irradiante et la

photopériode. L'extraction des HE, se fait par plusieurs techniques telles que hydrodistillation, extraction par solvants volatils, Entraînement par la vapeur d'eau, L'expression à froid ou Expression mécanique (Bassaid Oulhadj et Zerman, 2020).

III.1.2.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

C'est la technique la plus facile, elle comprend à immerger la matière première dans l'eau directement et l'ensemble est porté à ébullition et sous pression atmosphérique. Le système de réfrigération à débit d'eau condense la vapeur formée. La durée de l'extraction est influencée par le stockage des huiles essentielles HE (Soit à l'intérieur du tissu végétal, soit à la surface de la plante) ou l'emplacement des systèmes de production. Si sont à l'intérieur, elles doivent d'abord diffuser dans l'épaisseur du tissu végétal puis s'évaporer comme des sécrétions de surface. Si les HE sont à la surface, la membrane externe ou la couche cornée se brise rapidement lors de l'ébullition et les composés volatils évaporent immédiatement (Baars, 2021).

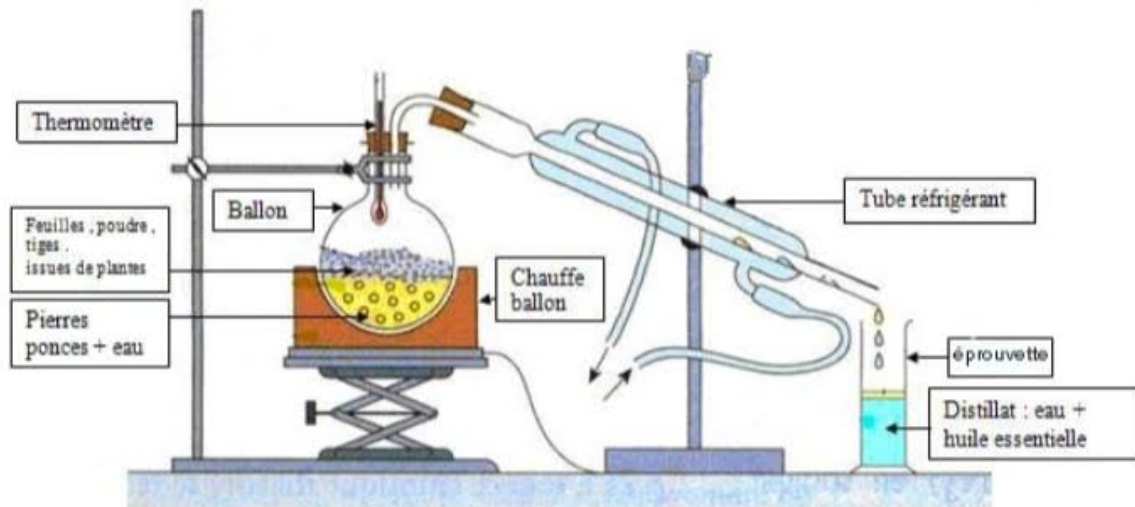


Figure 18. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Baars, 2021).

Stage N 02 : L'industrie pharmaceutique**III.2. Introduction**

L'industrie pharmaceutique est un secteur de production extrêmement fructueux. Il englobe toutes les étapes de la production d'un médicament, de la fabrication au conditionnement. Ce médicament est composé de substances constituées d'un ou plusieurs principes actifs associés à des excipients, ont des propriétés préventives ou curatives vis-à-vis des maladies. La forme pharmaceutique choisie selon les patients, la durée d'action et le site d'action.

Actuellement en deuxième année de master à l'Université des Frères Mentourie, nous avons eu l'opportunité de réaliser un stage de 15 jrs au sein de PHYSIOPHARM, une entreprise leader dans la production pharmaceutique. Ce rapport de stage est le fruit de notre immersion au sein de PHYSIOPHARM du 14 mai au 30 mai 2023.

Notre parcours universitaire, ponctué par de nombreuses expériences d'apprentissage théorique et pratique, nous conduisons à développer un intérêt particulier pour L'industrie pharmaceutique. Dans ce contexte, ce stage au sein de PHYSIOPHARM nos offert une chance de mettre en application notre compétence académiques et de les enrichir dans des expériences professionnelle concrète.

L'objectif principal de ce stage était de nos permettre de découvrir le fonctionnement d'une entreprise de bonne réputation, d'acquérir une expérience pratique en production des médicaments de base alimentaire. À travers divers missions et taches, nous avons eu l'opportunité de participer activement à la vie de l'entreprise et d'interagir avec divers équipes et d'apporter notre contribution à des projets importants

Ce rapports de stage présente en détail notre expérience chez PHYSIOPHARM, en décrivant l'entreprise, notre mission et taches, ainsi que le bilan de notre apprentissage. Il se conclut par une réflexion sur l'impact de cette expérience sur notre parcours académique et notre future carrière.

III.2.2. Présentation de l'entreprise

PHYSIOPHARM, fondée en 2010, est une entreprise privé spécialisé dans le développement, la production, la commercialisation et la distribution des produits pharmaceutiques. Située à la

Zone Industrielle le Rhumel, Constantine, Algérie. PHYSIOPHARM, s'est positionnée comme un acteur majeur dans son domaine, avec une présence notable à l'échelle algérienne.

III.2.3. Description de stage

Le déroulement de travail chez PHYSIOPHARM s'effectue dans des espaces uniques on cite : l'espace de production, de contrôle de qualité et de conditionnement des médicaments. Dans notre stage nous étions intégrés à l'équipe de production, de contrôle de qualité microbiologique et de conditionnement.

III.2.3.1. L'espace de production des médicaments

La fabrication des médicaments s'effectue dans leur espace unique qui constitue des salles appropriées pour chaque forme de médicament (comprimés, gélules, sirops, pommades..). La vérification de la zone de travail, les machines et tous les autres matériels est nécessaire avant le début de la production.

La première étape dans ce processus est la pesée des composants (principes actifs et excipients), il est déroulé dans la salle de pesée en utilisant une balance de précision et chaque composé pesé mis dans un sac étiquetés.

🚧 L'espace de production des médicaments de forme sèche

Dans La salle de granulation, les composants sont mélangées à l'aide d'un granulateur après un muage (eau purifiée + composants + solvant) et un séchage, ce mélange subit à un poudre granulé. La poudre granulé ont été soumis à une compression pour devient comprimée en utilisant un compresseur à la salle de compression. Puis, dans la salle de turbine de pelliculage ou la formation de fin couche se réaliser par l'utilisation des composants de médicament lui-même autour de comprimé pour améliorer leur forme. Les comprimés conformes par le laboratoire de contrôle de qualité physico-chimique et microbiologique mis dans des plaques en plastique transparent fermé par une feuille d'aluminium qui contient le nom de médicament et leur dose, à la salle de blisterage.

🚧 L'espace de production des médicaments de forme liquide

La salle responsable de la production des médicaments de forme liquide est la salle de production liquide. Après, vérification et soufflement des flacons et les ampoules, les composants pesés mélangés avec un solvant à l'aide d'un mélangeur dans une température et atmosphère ambiante. Le liquide obtenu, conforme par le laboratoire de contrôle de qualité

physico-chimique et microbiologique, doit être remplis dans des flacons ou des ampoules par des doses (par exemple 120ml se divise en quatre dose chaque dose remplis 30 ml de flacon).

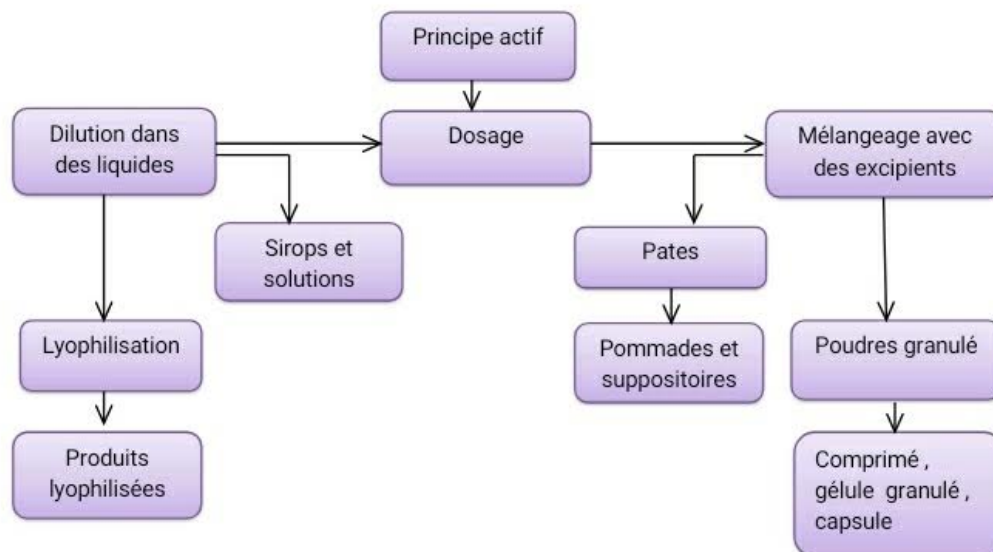


Figure 19. Schéma représente les étapes de production du médicament.

III.2.3.2. L'espace de conditionnement

Le conditionnement est conçu pour protéger le médicament et est considéré comme un complément de mise en forme. Après l'étape de production de médicaments, ses éléments sont stockés dans des boîtes vides et datées et contiennent un nombre précis de médicament et de notice (contient toutes les informations utiles à l'utilisation du produit) les boîtes mises dans des caisses cartonnées portant le nom de l'entreprise PHYSIOPHARM.

III.2.3.3. L'espace de contrôle de qualité (CQ) de médicament

Le Contrôle de la qualité (CQ) est une technique destinée à mesurer et contrôler la qualité du médicament pendant son élaboration pour identifier les erreurs et vérifier leur pureté microbienne. On a deux types de contrôle ; contrôle physico-chimique et contrôle microbiologique. Le laboratoire de PHYSIOPHARM de contrôle de pureté microbienne nous offre de voir cette technique sur le médicament d'Oméprazole physiopharm.

1. Présentation et Contrôle de qualité microbiologique d'oméprazole physiopharm® 20 mg

Oméprazole physiopharm® est un médicament sous forme de gélules, il est préconisé dans le traitement des brûlures d'estomac et de reflux acide. Oméprazole® dosé à 20 mg fabriqué au sein de PHYSIOPHARM est le nom commercial d'Oméprazole (DCI) qui est le principe actif. **(Figure 20).**



Figure 20. Boite de gélules Oméprazole physiopharm® 20 mg

Le contrôle de qualité microbiologique de ce médicament est décrit la technique de contrôle microbiologique des préparations pharmaceutiques non aqueuses pour administration par voie orale. L'analyse doit réaliser par le dénombrement des germes aérobies viables totaux (DGAT), le dénombrement des levures et moisissures totales (DLMT) et la recherche de micro-organismes spécifiés : Escherichia coli (E.coli), Pseudomonas, salmonelles, Staphylococcus

1.1. Dénombrement des germes aérobies viables totaux (DGAT) et dénombrement des levures et moisissures totales (DLMT)

1.1.1. Préparation de l'échantillon

A partir d'un échantillon prélevés (gélule : produit fini), on pèse 10 g et on les dilue dans 90 ml de la solution Tryptone sel eau (TSE). Puis, on les homogénéiser pour obtenir l'homogénéisât S.

1.1.2. Dénombrement sur plaque

Le dénombrement peut être effectué par deux méthodes, l'ensemencement en profondeur ou bien l'étalement en surface, et en deux milieux ; dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et dénombrement des levures et moisissures totales (DLMT) pour oméprazole physiopharm® 20 mg l'ensemencement est fait de manière en profondeur.

1.1.3. Ensemencement en profondeur

Dans des boîtes de pétri, introduire dans chacune d'elles 1 ml de l'homogénéisat S. puis, ajouter à une température de 35°C d'un milieu de solution de Gélose tryptone soja (TSA) et à une température de 25°C d'un milieu de sabraud agar (SAB). Pour les levures et les moisissures, incuber pendant 5 jrs dans milieu TSA et pendant 7 jrs dans le milieu SAB.

1.1.4. Lecture et interprétation des résultats

Sélectionner les boîtes présentant le plus grand nombre des colonies. On doit calculer ce nombre si il est inférieur à 100 le produit est conforme et la production reste en déroulement si il est supérieur à 100 le produit est non conforme.

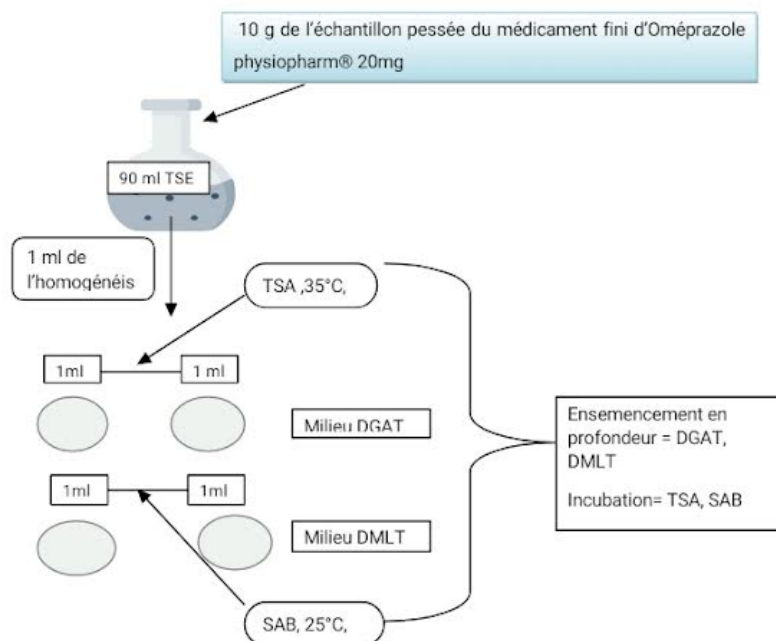


Figure 21. Schéma représente l'étape d'ensemencement en profondeur d'homogénéisat S.

1.2. La recherche de micro-organismes spécifiés

À partir de l'homogénéisât S, prélever 10 ml et l'ajouter dans une solution de Bouillon tryptone soja (TSB) de 90 ml. Homogénéiser et incuber l'homogénéisât A pendant 24 h dans une température de 35°C.

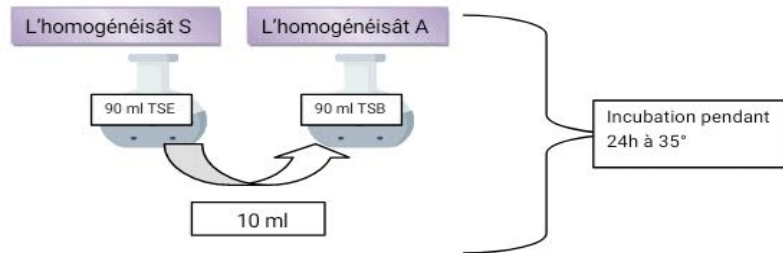


Figure 22. Schéma représente l'étape d'incubation d'homogénéisât A.

Après 24 h :

1.2.1. Recherche des *Escherichia coli*

Prélever 1ml de l'homogénéisât A et l'ajouter dans 100ml de milieu de Mac-Conkey bouillon (MCB). Puis, homogénéiser et incuber à 43°C pendant 48h. Effectuer des subcultures sur le milieu Mac-Conkey Agar à partir de 0,1 ml de l'homogénéisât C, puis il été isolé à 35°C pendant 3jrs.

1.2.2. Recherche des *Staphylococcus* et *Pseudomonas*

Prélever 0.1 ml de l'homogénéisât A et l'isoler dans un milieu de Chapman pour les *Staphylococcus* et dans le milieu de Cetrimide Agar pour les *Pseudomonas* à 35°C pendant 3jrs

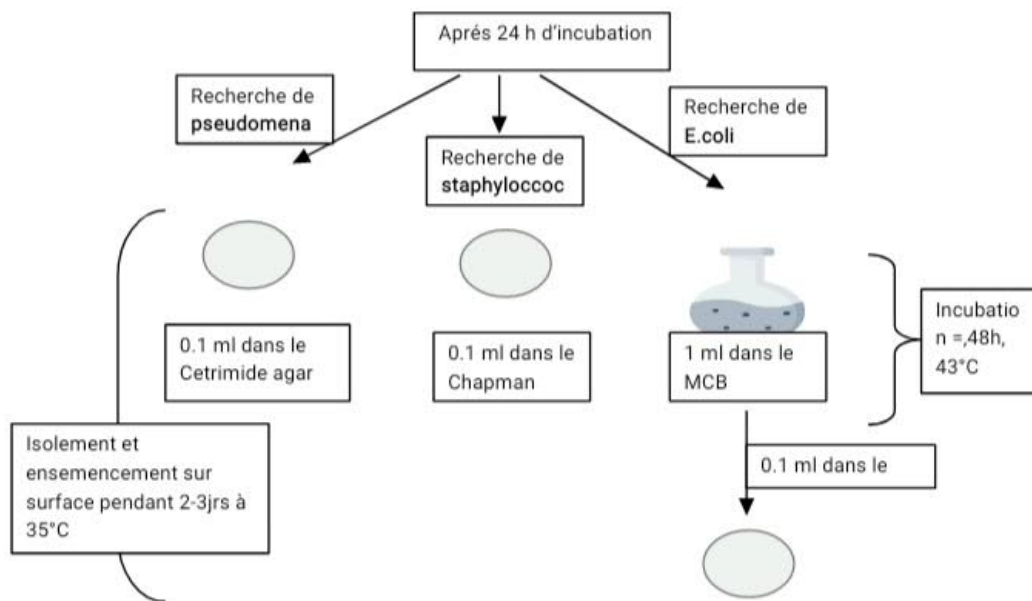


Figure 23. Schéma représente le contrôle de qualité pour la recherche de pseudomonas, de staphylococcus et d'E.coli.

1.2.3. Recherche des salmonelles

A partir d'un échantillon prélevés (gélule : produit fini), on pèse 10 g et on les dilue dans 90 ml de la solution tampon B (TSB). Puis, on les homogénéiser pour obtenir l'homogénéisât N et les incuber pendant 24h à température de 35°C. Après 24h, prélever 1 ml de l'homogénéisât N et enrichisse 10 ml dans milieu Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) à 35°C pendant 24h. Effectuer des subcultures sur le milieu Gélosé-xylose-lysine-désoxycholate (XLD) qui peut isolé les colonies de salmonelles si elles sont présentes.

Si les résultats de contrôle de recherche des microorganismes appariés sont positive le médicament est non conforme ; sinon il est conforme.

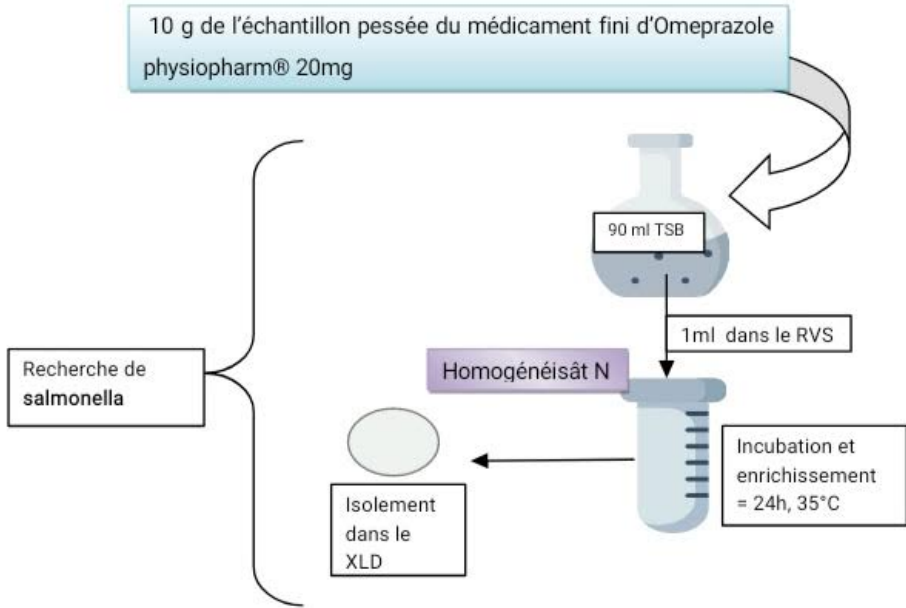


Figure 24. Schéma représente le contrôle de qualité pour la recherche des Salmonelles.

Stage N 03 : La production des anticorps monoclonaux (nanobodies)**III.3.Introduction**

Le stage que nous avons effectué, d'une durée de trois jours, a consisté à faire une imprégnation aux différentes unités au sein du laboratoire d'immuno-biochimie du centre de recherche en biotechnologie (CRBT). Ce rapport est discuté notre expérience au sein du CRBT du 5 juin 2023 au 7 juin 2023.

Notre parcours universitaire, ponctué par des expériences d'apprentissage théorique nous nous conduit à développer un intérêt pour l'industrie moléculaire. Dans ce contexte, ce stage nous offre la chance de voir comment appliquer nos compétences théoriques et enrichir avec une expérience professionnelle.

Ce rapport présente en détail notre expérience de stage chez laboratoire d'immuno-biochimie, en décrivant le centre, nos missions et tâches, ainsi que le bilan de notre apprentissage. Il se conclut par une réflexion sur l'impact de cette expérience sur notre parcours académique et notre future carrière.

III.4. Présentation du centre

Le centre de recherche en biotechnologie, fondée en 2010, est une centre spécialisée dans le développement de la recherche qui s'applique dans le secteur des biotechnologies. Situé à Ali Mendjli Nouvelle Ville UV 03 BP E73, *Constantine*.

III.5. Description de stage

Notre stage s'est déroulé du 5 à 7 juin 2023, sur une durée de 3 jours. Nous étions intégré à l'équipe de laboratoire d'immuno-biochimie chez CRBT, sous la supervision de dr. Dgeghim hanane. Le laboratoire s'intéresse à la production des anticorps monoclonaux (les nanobodies).

III.6. Tâches effectuées

Pendant notre stage nous avons pu observer des applications sur plusieurs paillasse du laboratoire. Nous avons aussi découvert une véritable équipe du travail et les responsabilités

qui incombent à chacun. Nous vais présenter ci-dessous les domaines que nous avons explorés.

III.6.1. Les équipements

Avant de parler des étapes de production des nanobodies, je m'mentionnerai d'abord les équipements utilisés dedans.

Tableau 9. Les équipements de la production immuno-biochimie

Nom	Definition
Centrifugeuse réfrigéré	c'est une centrifugeuse avec frigidaire (centrifugation à froid) qui utilisée dans les laboratoires dont le rôle de séparer les mélanges constitués de parties ayant une densité différente comme la centrifugation du sang RPM : (rotation par minute) : la vitesse de rotation se diffère selon le rayon de routeur RCF (G) : relative centrifugal force
Balance	c'est un instrument de base qui est nécessaire pour faire les mesures.
Incubateur réfrigérée avec un agitateur	c'est un appareil fermé utilisé dans les laboratoires biologiques. Il est utilisée pour cultiver des cultures cellulaires ou microbiologique Il crée un environnement optimal nécessaire à la croissance des micro-organismes en fournissant une température, une humidité et d'autres conditions environnementales optimales .ce type d'incubateur contienne un agitateur qui agite continuellement la culture pour l'aération cellulaire et les études de solubilité.
Ultra centrifugeuse	c'est un appareil de centrifugation à très haute vitesse permet de séparer les composés d'un mélange grâce aux différences de densités de chacun et sépare même les organites des cellules.
Thermocycleur	c'est un appareil destiné à l'automatisation des réactions PCR cette appareil est équipé d'un bloc thermique pouvant accueillir des microplaques ou des microtubes, d'un couvercle chauffant pour éviter l'évaporation du mélange

	réactionnel, d'un régulateur de température et d'un écran d'affichage des principaux paramètres : temps, température et cycle.
Hôte PCR	c'est un appareil qui permet de manipuler de façon stérile et de protéger les échantillons de contaminations lors des opérations d'amplification génique (PCR).
Bain- marie	c'est dispositif de laboratoire permet de chauffer un récipient qui contient des échantillons dans un bain d'eau (en fonction de la température souhaitée).

III.6.2. Techniques de production des anticorps monoclonaux « les nanobodies »

III.6.2.1. La définition des anticorps monoclonaux

Les AC monoclonaux sont des protéines synthétisés naturelle par un seule clone des lymphocytes B dont le rôle de reconnaître les antigènes AG et le non soi. Les ACM thérapeutique sont des AC qui en peuvent produit dans le laboratoire pour le but de traiter une maladie.

III.6.2.2. Les nanobodies

Les nanobodies sont des anticorps qui possède un seul domaine variable situé sur une chaîne lourde, également appelés anticorps VHH des chameaux au contraire du AC humain normal qui contient de deux chaînes (lourdes et légères) on utilise ces AC dans les diagnostique, les infections bactériennes et les cancers.

III.6.2.3. Les étapes de l'industrie moléculaire des nanobodies

a. Choix de l'animale

Le chameau c'est le seul vivant qui produise les nanobodies avec les anticorps conventionnels.

b. Immunisation de l'animale

L'immunisation de chameau s'effectue grâce à des vaccins associées à un adjuvant pour amplifier la réponse immunitaire. La vaccination doit être répétée selon un calendrier précis.

c. L'obtention des lymphocytes B et d'ARN m totale

Les lymphocytes B sont la source de production des anticorps. Lors d'une immunisation, le système immunitaire stimulé par la production des plusieurs cellules et substances dirigés contre l'Ag, parmi eux les lymphocytes B qui sont la source de production des anticorps. Pour obtenir les cellules B on doit fait un prélèvement sanguin. Le sang prélever devient mis à une centrifugeuse, le sérum résultant par centrifugation contient les cellules lymphocytaires B on doit les récupérer. À partir de lymphocytes B récupérés on doit extraire l'ARN m cibler grâce à la présence de Q poly A.

d. Rétrotranscription d'ARNm totale

La rétrotranscription ou la transcription inverse permet la formation d'un ADN double brin à partir d'un extrait (ARNm). Les régions qui code pour les nanobodies est de taille inférieure à celle des anticorps conventionnelles.

e. Technique de PCR

Le principe de la PCR consiste à obtenir in vitro de multiples copies d'un fragment d'ADN (ADNc) à partir d'une amorce.

La technique comporte des cycles successifs. Chaque cycle comprend une succession de trois phases : **Dénaturation, Hybridation, Élongation**. Tous les éléments indispensables à la réaction sont rassemblés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. On utilise le thermocycleur.

- **Dénaturation**

Cette étape consiste à séparer Les doubles brins d'ADN. On chauffant le tube pendant quelques secondes à 95°C.

- **Hybridation**

À cette étape la température est abaissée à 50°C. Les amorces « reconnaissent » leur séquence complémentaire sur les brins d'ADN cibles.

- **Elongation**

La température de la réaction est ensuite accrue à 72°C, ce qui permet à la Taq Pol d'ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5' vers 3'. Un nouveau brin d'ADN, dont la séquence est complémentaire de celle du brin cible, vient d'être synthétisé.

- f. Technique d'électrophorèse**

Cette technique s'effectue dans l'objet de séparer les résidus de PCR « ADN », de taille connue, qui vont le pouvoir de migrer au pôle positive sous l'effet d'un champ électrique dans un gel d'agarose. La vitesse de migration d'une molécule d'acide nucléique sera fonction de sa masse moléculaire donc du nombre de bases (ou de paires de bases). Plus une molécule sera de faible masse moléculaire, plus sa vitesse de migration, sera grande.

Avant de déposer l'échantillon (l'ADN) dans le puits qui contient le gel de migration il faut offrir les compartiments suivant :

- De marqueur de taille pour l'identification (cyber safe).
- Une solution pour entraîner l'ADN au fond du puits.
- De marqueur de mobilité (bleu de bromophénol).

- g. Le clonage**

Cette technique consiste à insérer un fragment d'ADN à étudier dans un vecteur notamment le plasmide cette étape comporte deux étapes

- **Obtention des plasmides**

Les bactéries contenant les plasmides sont mises en culture. On récupère les bactéries. Puis, on perméabilise la paroi bactérienne par un traitement doux permettant d'obtenir un passage en solution des plasmides qui sont plus légers que l'ADN bactérien. La purification des plasmides peut être ensuite réalisée par une ultracentrifugation en gradient de densité.

- **Transformation bactérienne**

L'insertion d'une séquence d'ADN bicaténaire dans un plasmide nécessite un traitement préalable par une enzyme de restriction qui est responsable à la coupure des extrémités de l'ADN de plasmide dans un site unique. L'ADN à insérer est ajouté au plasmide en présence d'une ligase. Les bactéries permettent aux plasmides d'être incorporés à l'intérieur de celles-ci.

On peut utiliser l'électroporateur. L'incorporation des plasmides dans les bactéries est appelée transformation bactérienne.

h. Technique de phage display

Consiste à mettre en contact un phage avec une bactérie porte l'ADN plasmidique. Les phages sont des virus qui infectent les bactéries. Capable de se prendre l'ADN d'une bactérie et les incorpore dans leur ADN, ce processus permet la production d'un phagemide. Les phagemides se traduire et produit une banque de protéines. Les phagemides peuvent afficher les protéines produits (nanobodies).

i. Technique ELISA dans la maladie de cœliaque

Technique d'ELISA (**Enzyme-Linked Immuno Assay**) : c'est une méthode immuno – enzymatique pour détecter et/ou doser de façon quantitative des anticorps, des antigènes d'un échantillon. On l'utilise dans le diagnostic de la MC selon les étapes suivantes :

- coating de la plaque par l'Ag.
- Ajouter des AC spécifique.
- Lavage de la plaque.
- AC secondaire conjugué à une enzyme (péroxydase ou TMP).
- Ajouter le substrat responsable à la fluorescence durant sa fixation avec l'enzyme.
- Stopper la réaction par une forte acide ou forte base.
- La lecture des résultats dans le spectrophotomètre.

Conclusions

Conclusions

Conclusions

La maladie de cœliaque est un problème majeur de santé publique induite par une combinaison des facteurs extrinsèques et intrinsèques. Ses divers symptômes classiques ou générales sont bien définies et différent selon l'âge notamment la diarrhée les douleurs abdominales et qui peuvent aller jusqu'aux altérations intestinales ainsi elle peut s'associer à des autres maladies, comme le diabète de type 1, la thyroïde, maladie de Crohn, la colite intestinal et les cancers. Pour Le diagnostic de la MC des tests sérologiques et histologiques peuvent être réalisés. La prévalence de cette maladie est en augmentation excessive. Actuellement, un régime strict sans gluten est le seul traitement pour éviter les complications associées à la maladie. Cependant, des nouvelles pistes thérapeutiques sont en cours d'élaboration visent à l'induction d'une tolérance immunitaire après une digestion de gluten chez les patients atteints de cette maladie. Les neutraceutiques sont des produit naturelle dérivés de la nutrition humaine ils sont considéré comme des traitements alternative dans la maladie de cœliaque grâce à leur effet anti-inflammatoire et immunomodulateur dans ce contexte on a cité les polyphénols.

Dans ce travail nous avons réalisé trois stages qui nous ont aidées à comprendre mieux cette maladie : l'extraction des produits naturels et des huiles essentielles, l'industrie des compliments alimentaires et des médicaments et une imprégnation des technique immuno-biochimie qui consiste à la production des anticorps monoclonaux (Nanobodies).

Références

Références

Abed, N., & Rouabah, L. (2017). Effets de Nigellasativa L. dans la maladie cœliaque de l'adulte et potentiel protéolytique de la protéase des graines de Nigelle sur la gliadine.

Agar, K., Hamzaoui, M. L., Medhioub, M., Khsiba, A., & Azzouz, M. M. (2017). Profil épidémiologique et évolutif des manifestations auto-immunes associées à la maladie cœliaque. *La Revue de Médecine Interne*, 38, A152.

Amrouche, F. (2011). Introduction à la nutrition. *genie alimentaire*, 71.

Aquaportail. (2011). Définition de tube digestif.

Bai, J. C., Fried, M., Corazza, G. R., Schuppan, D., Farthing, M., Catassi, C., & LeMair, A. (2013). World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease. *Journal of clinical gastroenterology*, 47(2), 121-126.

Barret, M., Rahmi, G., Malamut, G., Samaha, E., Abbes, L., & Cellier, C. (2014). Évaluation endoscopique des patients atteints de maladie coeliaque. *Acta Endosc*, 44(3), 82-88.

Battu, C. (2017). L'accompagnement nutritionnel d'un patient souffrant d'une maladie cœliaque. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(567), 55-58.

Bigare, M. A. (2016). La maladie cœliaque de l'adulte: pourquoi et quand la dépister? Une revue de la littérature.

Boudet, S. (2013). Des conceptions initiales au savoir scientifique: le cas de la digestion.

Bruneau, J., Cheminant, M., Khater, S., Canioni, D., Sibon, D., Trinquand, A., ... & Molina, T. J. (2018). Rôle du pathologiste dans le diagnostic de la maladie cœliaque et de ses complications. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(498), 30-38.

Calabriso, N., Scoditti, E., Massaro, M., Maffia, M., Chieppa, M., Laddomada, B., & Carluccio, M. A. (2022). Non-Celiac Gluten Sensitivity and Protective Role of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 14(13), 2679.

Cellier, C., Nadine, C. B., Hermine, O., & Brousse, N. (2002). Maladie cœliaque, sprue réfractaire et lymphome. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, 9(3), 175-81.

Cosnes, J., & Nion-Larmurier, I. (2013). Les complications de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, 61(2), e21-e26.

Références

- Daveson, A. J. M., Ee, H. C., Andrews, J. M., King, T., Goldstein, K. E., Dzuris, J. L., & Anderson, R. P. (2017).** Epitope-specific immunotherapy targeting CD4-positive T cells in celiac disease: safety, pharmacokinetics, and effects on intestinal histology and plasma cytokines with escalating dose regimens of Nexvax2 in a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 1 study. *EBioMedicine*, 26, 78-90.
- de Courcy, G. P., Frelut, M. L., Fricker, J., Martin, A., & Dupin, H. (2003).** Besoins nutritionnels et apports conseillés pour la satisfaction de ces besoins. *Encycl Médico-Chirurgicale*, 10(308), 32.
- Di Sabatino, A., & Corazza, G. R. (2009).** Coeliac disease. *The Lancet*, 373(9673), 1480-1493
- Dias, R., Pereira, C. B., Pérez-Gregorio, R., Mateus, N., & Freitas, V. (2021).** Recent advances on dietary polyphenol's potential roles in celiac disease. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 213-225.
- Duerksen, D., Pinto-Sanchez, M. I., Anca, A., Schnetzler, J., Case, S., Zelin, J., & Rashid, M. (2018).** Prise en charge de la santé des os chez les patients atteints de la maladie cœliaque: Guide pratique à l'usage des cliniciens. *Canadian FamilyPhysician*, 64(6), e265-e271.
- Dupont, J. L. (2003).** Inflammation et anti inflammatoires: pour la pratique. *Revu Prat*, 53, 520-2.
- Elli, L., Ferretti, F., Orlando, S., Vecchi, M., Monguzzi, E., Roncoroni, L., & Schuppan, D. (2019).** Management of celiac disease in daily clinical practice. *European journal of internal medicine*, 61, 15-24.
- Feighery, C. (1999).** Coeliac disease. *Bmj*, 319(7204), 236-239.
- Gargouri, L., Kolsi, N., Maalej, B., Welli, M., & Mahfoudh, A. (2017).** MALADIE CŒLIAQUE CHEZ L'ENFANT CELIAC DISEASE IN CHILDREN. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, 20
- Ginguay, A., Neveux, N., & Cynober, L. (2014).** Quel rôle en nutrition pour le biologiste en dehors de l'évaluation du statut nutritionnel?. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(466), 59-67.

Références

Haute autorité de santé. (2008). Quelles recherches d'anticorps prescrire dans la maladie cœliaque ? (pdf).

Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I. R., Mearin, M. L., Phillips, A., Shamir, R., & ESPGHAN Gastroenterology Committee. (2012). European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 54(1), 136-160.

Joubert,H., Juanati,O., Pr .Zerbib,F., Dr. Belleannée,G. (2018). Société Nationale Française de Gastro-Entérologie maladie de coelique.

Kabouya,I., Chenni,F., & Bendjeddou,G. (2022). *Les plantes médicinales et formes d'utilisations pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

König, J., Holster, S., Bruins, M. J., & Brummer, R. J. (2017). Randomized clinical trial: Effective gluten degradation by *Aspergillus niger*-derived enzyme in a complex meal setting. *Scientific reports*, 7(1), 13100.

Lamireau, T., & Clouzeau, H. (2013). Épidémiologie de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, 61(2), e1-e4.

Levrey, H., Mornex, J. F., & Bellon, G. (1998). Polarisation Th2 de la réaction inflammatoire dans les réactions allergiques chez l'enfant: mécanismes et implications dans le développement de nouvelles thérapeutiques. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 38(9), 789-796.

Lionetti, E., & Catassi, C. (2011). New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *International reviews of immunology*, 30(4), 219-231.

Malamut, G., & Cellier, C. (2010). Maladie cœliaque. *La Revue de médecine interne*, 31(6), 428-433.

Marasco, G., Di Biase, A. R., Schiumerini, R., Eusebi, L. H., Iughetti, L., Ravaioli, F., & Festi, D. (2016). Gut microbiota and celiac disease. *Digestive diseases and sciences*, 61, 1461-1472.

Mathieu, M., & Guimezanes, A. (2011). Séminaire Ketty Schwartz 2012: Inflammation et maladies. Séminaire Ketty Schwartz.

Références

Matysiak-Budnik, T., Moura, I. C., Arcos-Fajardo, M., Lebreton, C., Ménard, S., Candalh, C., & Heyman, M. (2008). Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease. *The Journal of experimental medicine*, 205(1), 143-154.

Mayol, k. (2021). Les médiateurs de l'inflammation (Ecole normale supérieure de Lyon).

Mines,F. (2017). *Formulation d'un nouveau produit destiné aux maladies cœliaques à la base de la pulpe de caroube* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf-M'Sila).

Mr. Hamdaoui, A. (2019). MALADIE CŒLIAQUE DE L'ADULTE : EXPERIENCE DU SERVICE D'HEPATO-GASTROENTEROLOGIE DU CHU HASSAN II DE FES (à propos de 77 cas).

Nardin, C. (2017). Maladie coeliaque : mieux comprendre pour mieux prendre en charge (prévention et traitement).

Oullai, L., & Chmamek, C. (2018). Contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestif en Kabylie.

Pinier, M. (2011). Une nouvelle stratégie de traitement de la maladie cœliaque basée sur les polymères séquestrants.

Pointcheval, A. (2019). Maladie de cœliaque: de la clinique à la prise en charge à l'officine.

Pourtalebi-Firoozabadi, A., Mohamadian, M., Parsamanesh, N., Moossavi, M., & Naseri, M. (2016). Novel insights to celiac disease: A review article. *Research in Molecular Medicine*, 4(2), 1-8

Rashid, M., & Lee, J. (2016). Tests sérologiques dans la maladie cœliaque : Guide pratique à l'usage des cliniciens. *Canadian FamilyPhysician*, 62(1), e11–e17.

Rezki, M. (2021). *Impact du régime sans gluten sur la santé* (Doctoral dissertation).

Rios, L. P., Khan, A., Sultan, M., McAssey, K., Fouda, M. A., & Armstrong, D. (2013). Approche au diagnostic de la maladie cœliaque chez les patients ayant une faible densité minérale osseuse ou des fractures de fragilité: Rapport d'un groupe de travail multidisciplinaire. *Canadian FamilyPhysician*, 59(10), e441-e448.

Références

Roujon, P., Guidicelli, G., Moreau, J. F., & Taupin, J. L. (2011). Immunogenetics of celiac disease. *Pathologie-biologie*, 61(2), e5-11.

Schmitz, J., & Garnier-Lengliné, H. (2008). Diagnostic de la maladie cœliaque en 2008. *Archives de pédiatrie*, 15(4), 456-461.

Société de pédiatrie d'ouest. (2017). Actualité sur la maladie de cœliaque. 10 ème journée de Mascara (Université Mustapha Stambouli).

Tye-Din, J. A., Galipeau, H. J., & Agardh, D. (2018). Celiac disease: a review of current concepts in pathogenesis, prevention, and novel therapies. *Frontiers in pediatrics*, 6, 350

Van Buiten, C. B., & Elias, R. J. (2021). Gliadin sequestration as a novel therapy for Celiac disease: A prospective application for polyphenols. *International journal of molecular sciences*, 22(2), 595.

Verkarre, V., & Brousse, N. (2013). Le diagnostic histologique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, 61(2), e13-e19.

Weber, A. L. (2012). *La maladie coeliaque : physiopathologie et traitement." Guide" de conseils pour le pharmacien d'officine* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Who, J., & Consultation, F. E. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 916(i-viii), 1-149.

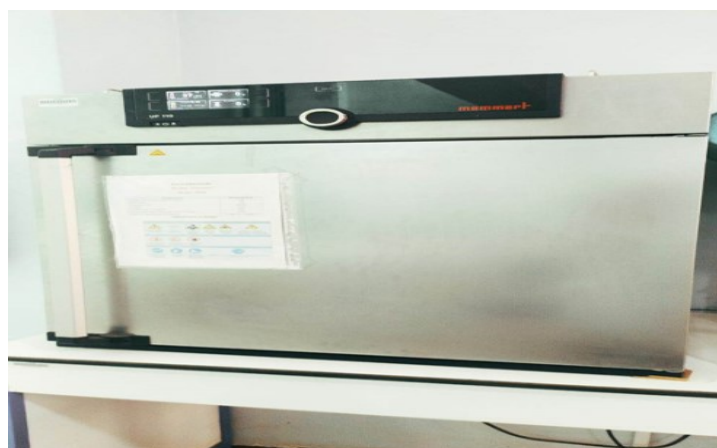
Annexes



Annexe 1. Centrifugeuse



Annexe 2. balance



Annexe 3. Incubateur réfrigérée avec un agitateur



Annexe 4. thermocycleur



Annexe 5. hote PCR



Annexe 6. Bain-marie



Annexe 7. Armoire



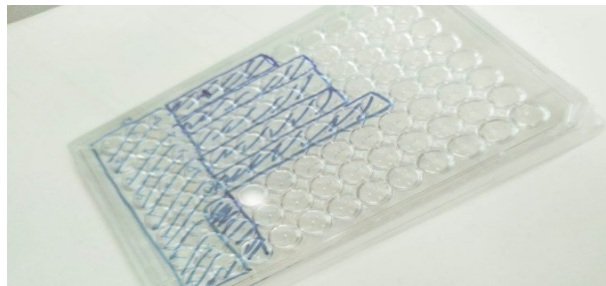
Annexe 8. Hote



Annexe 9. Distilateur



Annexe 10. HPLC Chromatographie liquide à basse pression :



Annexe 11. Plaque de technique ELISA



Annexe 12. Bain ultrason



Annexe 13. Appareil de technique ELISA

Résumé

المخلص

مرض السيلياك (اعتلال معوي) هو مرض مناعي ذاتي، التهابي مزمن، ناتج عن مستضد غذائي وهو الغليادين، المكون السام للغوتين الموجود في القمح ومشتقاته. يؤدي تواجده في الصفيحة المخصصة للمعي الدقيق إلى تحفيز استجابة مناعية تسبب في ضمور الزغابات المعوية، وبالتالي عسر في امتصاص الاغذية وظهور أمراض أخرى. حاليا العلاج الوحيد لمرض السيلياك هو إتباع حمية خالية من الغلوتين والتي تعتبر طريقة صعبة التنفيذ، هذا ما أدى إلى البحث عن علاجات بديلة معتمدة على العلاج المناعي العلاج التغذوي والعلاج بالأعشاب الطبية، نذكر البوليفينول.

في هذا العمل قمنا بتحقيق ثلاثة دورات تدريبية الأول يختص في دراسة طريقة استخلاص المواد الطبيعية –المركبات الثانوية- من النباتات الطبية والتي تكون وفق طريقة التعطين الذي يليه الاستخلاص السائل والسائل وأخيرا الفصل الكروماتوغرافي للمواد المستخلصة الثاني يشمل الصناعة الصيدلانية بدءا من إنتاج الأدوية ثم المراقبة النوعية الميكروبيولوجية تحديدا اومبيرازول فيزيوفارم 20 مع وصولا إلى التعليب. الثالث عبارة عن تلقين للتقنيات المستعملة في علم المناعة والكيمياء الحيوية وكذلك فحص مرض السيلياك نذكر إنتاج الأجسام المضادة وحيدة النسيلة من نوع نانو جسم مضاد.

الكلمات المفتاحية: الإلتهاب، مرض السيلياك، الغلوتين، الغليادين، التغذية، البوليفينول.

Résumé

summary

Celiac disease (enteropathy) is a chronic, inflammatory, autoimmune disease caused by a food antigen, gliadin, the toxic component of gluten. Their presentation in the lamina propria induces villous atrophy which leads to nutrient malabsorption. Currently, the only treatment for celiac disease is to follow a gluten-free diet, which is a difficult method to adapt. This has led to the search for alternative therapies based on immunotherapy, nutraceutical therapy and phytotherapy, including polyphenol.

In this thesis, we carried out three internships, the first concerns the study of the method of extraction of natural substances (Secondary metabolites) from medicinal plants, which is carried out according to the method of solid-solid extraction followed by a liquid-liquid extraction and finally a chromatographic separation. The second includes the pharmaceutical industry, starting with the production of drugs and then the control of the microbiological quality of a drug, we specify Omeprazole Physiopharm® 20mg with conditioning down. The third is an impregnation consists in the study of the techniques used in Immunology and biochemistry, mention the production of monoclonal antibodies of the nanobodies type, as well as the technique of Elisa involved in the diagnosis of celiac disease.

Keywords: inflammation, celiac disease, gluten, gliadin, nutrition, polyphenols.

Résumé

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : BOUDIAF Roufeida SAADI Assia
Impact de la nutrition humaine sur la prévention et le traitement des maladies inflammatoires chroniques : cas de la maladie de cœliaque	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en immunologie Moléculaire et Cellulaire	
<p>La maladie de cœliaque (entéropathie) est une maladie auto-immune, inflammatoire chronique causée par un antigène alimentaire qu'est la gliadine, le composant toxique du gluten. Leur présentation dans la lamina propria induit un atrophie villositaire qui conduit à une malabsorption de nutriments. Actuellement, le seul traitement de la maladie coeliaque consiste à suivre un régime sans gluten, qui est une méthode difficile à l'adaptation. C'est ce qui a conduit à la recherche des thérapies alternatives basées sur l'immunothérapie, la thérapie neutraceutique et la phytothérapie, y compris le polyphenol.</p> <p>Dans ce mémoire, nous avons réalisé trois stages, la première concerne l'étude de la méthode d'extraction des substances naturelles (métabolites Secondaire) à partir de plantes médicinales, qui est effectuée selon la méthode d'extraction solide-solide suivie d'une extraction liquide-liquide et enfin d'une séparation chromatographie. La deuxième comprend l'industrie pharmaceutique, en commençant par la production de médicaments puis le contrôle de la qualité microbiologique d'un médicament, on précise l'Oméprazole Physiopharm® 20mg avec duvet à conditionnement. Le troisième est une imprégnation consiste à l'étude des techniques utilisées dans L'immunologie et la biochimie, mentionnent la production d'anticorps monoclonaux de type nanobodies, ainsi que la technique d'Elisa impliqué dans le diagnostic de la maladie de cœliaque.</p>	
Mots-clefs : inflammation, gluten, gliadine, maladie de cœliaque, nutrition, polyphenols	
président :	MESSAOUDI Saber (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Encadrante :	RAMLI Iman (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice :	CHAIB Aouatef (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

