

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



الوكالة الموضوعاتية للبحث في علوم الصحة
Agence Thématique de Recherche En Sciences de la Santé

ACTES DES 7^{ème} JOURNEES SCIENTIFIQUES DE L'ATRSS

04 et 05 Mai 2014 à l'Université de Bechar

Evaluation Finale des Projets PNR santé 2011

الرائد الوطني للبحث في ميدان الصحة والعلوم البيوطبيية
Le pilote national de la recherche dans le domaine biomédical et en santé

TOME 2

Sommaire

TOME1 COMMUNICATIONS ORALES :

CYTOKINES ET MONOXYDE D'AZOTE : MECANISMES IMMUNO-INFLAMMATOIRES ET ACTION THERAPEUTIQUE DANS L'UVEITE DE BEHÇET.....	05
VIEILLESSE ET MALADIES CHRONIQUES : LES USAGES SOCIAUX DU CORPS.....	24
PEVALENCE DE L'OBESITE CHEZ LES ENFANTS ET LES ADOLESCENTS SCOLARISES DANS L'OUEST ALGERIEN.....	31
DETECTION AVANCEE DU CANCER DU SEIN PAR IMAGERIE MICRO-ONDES.....	43
EXTRACTION DE CONNAISSANCES RELATIVES AUX FACTEURS DE RISQUE DU CANCER DU SEIN INFLAMMATOIRE ET NON INFLAMMATOIRE.....	49
LA PRISE EN CHARGE INSTITUTIONNELLE DES FEMMES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN ET DU COL.....	61
EXPOSITION AU STRESS PSYCHOSOCIAL EN MILIEU PROFESSIONNEL.....	71
LA MALADIE DE PARKINSON ET FACTEURS DE RISQUE PROFESSIONNELS ET ENVIRONNEMENTAUX : ENQUETE CAS-TEMOINS A L'OUEST ALGERIEN.....	84
DEPISTAGE DES EPAISSISSEMENTS PLEURAUX CHEZ DES TRAVAILLEURS EXPOSES A LA POUSSIERE DE TABAC EN ENTREPRISE.....	93
EVALUATION DE LA PENIBILITE AU TRAVAIL ET CONTRAINTES ENVIRONNEMENTALES CHEZ LES CORONARIENS APRES LEUR REINSERTION PROFESSIONNELLE.....	110
MODELISATION ET SIMULATION DU SYSTEME CARDIOVASCULAIRE.....	124
EVALUATION DE LA SENSIBILITE DE LEISHMANIA MAJOR A LA N METHY GLUCAMINE (GLUCAMINE) EN ALGERIE.....	130
ELABORATION DE REVETEMENTS PROTHETIQUES A BASE D'HYDROXYAPATITE DOPES PAR DES AGENTS ANTIBACTERIENS.....	143
GENETIQUE DES AFFECTIONS NEUROMUSCULAIRES FREQUENTES EN ALGERIE.....	162
THROMBOPENIES FETALES ET NEONATALES ALLO-IMMUNES : DEPISTAGE SYSTEMATIQUES DES GROSSESSES A RISQUE D'ALLO-IMMUNISATION.....	165
DETERMINATION IMMUNOHISTOCHEMIEQUE DES SOUS-TYPES MOLECULAIRES EN CARCINOLOGIE MAMMAIRE DANS UNE POPULATION DE L'OUEST ALGERIEN.....	174
EFFET THERAPEUTIQUE DE L'EXTRAIT DE POLYPHENOLS DE GLOBULARIA LYPUM SUITE A UNE GLUCOTOXICITEE SUR LES CARDIOMYOCYTES DE RATTUS NORVEGICUS.....	187
EVALUATION DE L'EFFET ANTI-HYPERGLYCEMIANT DES EXTRAITS AQUEUX DE GLOBULARIA ALYPUM ET MARRUBIUM VULGARE SUR DES RATS DIABETIQUES A L'ALLOXANE.....	192
EFFET DE NIGELLA SATIVA SUR LE DIABETE ALLOXANIQUE CHEZ RATTUS NORVEGICUS.....	204
POUVOIR ANTIOXYDANT ET ANTICANCEREUX DES EXTRAITS DU CYCLAMEN AFRICAIN.....	211
PRODUCTION DE PLANTS MYCORHIZES PAR LES TRUFFES DU DESERT : ESSAI D'APPLICATION DE TERFEZICULTURE DANS LES ZONES ARIDES ET SEMI-ARIDES.....	219

TOME2 COMMUNICATIONS AFFICHEES :

PLAIDOYER POUR LACREATION D'UNITE HOPITAL DU JOUR EN CHIRURGIE DE LA MAINDANS LES WILAYAS DE SIKKDA, GUELMA et EL TAREF.....	05
L'INTERET D'UNE PRISE EN CHARGE PRECOCE DES UROPATHIES MALFORMATIVES DE DIAGNOSTIC ANTE NATAL.....	15
L'ACTIVITE PHYSIQUE COMME MOYEN DE PREVENTION DE LA OBESITE INFANTILE.....	30
LA PRISE EN CHARGE DE L'ENFANT DIABETIQUE PAR LES FAMILLES.....	42
PLACE DU TRAITEMENT NON OPERATOIRE DANS LES APPENDICITES AIGUES NON COMPLIQUEES.....	62
LES ASPERGILLOSES ISOLEES ET INFECTIONS FONGIQUES.....	65
EXPOSITION PROFESSIONNELLE AU PERCHLORETHYLENE DANS L'OUEST ALGERIEN.....	68
ETUDE DE L'IMPACT DES STRATEGIES DE RESSOURCES HUMAINES SUR LA PERFORMANCE DES SALARIES ÂGES A L'HÔPITAL :Le cas de CHU de SIDI BEL ABBES.....	80
REPONSE IMMUNO-INFLAMMATOIRE DANS LA PATHOGENIE DE L'ENVENIMANTION SCORIONIQUE: ROLE DU RECEPTEUR HISTAMINE-H1R.....	92
DEVELOPPEMENT D'UNE APPROCHE VACCINALE POUR LE TRAITEMENT DE L'ENVENIMATION SCORPIONIQUE.....	99
CARACTERISATION DES DETERMINANTS GENETIQUE MAJEURS DE LA MORBIDITE DU SYNDROME DE L'INSULINORESISTANCE A ORAN.....	106
EFFET DU STRESS DE CONTENTION SUR LE COMPORTEMENT DU RAT MALE WISTAR : REPARATION PAR UN IMMUNOSUPPRESSEUR ; LACYCLOSPORINE.....	121
ETUDE DE L'EFFET ANTIDIABETIQUE POTENTIEL DE LA COMBINAISON DE TRAITEMENT DU GLIMEPIRIDE ET L'EXTRAIT DE ZYGOPHYLLUM CORNUTUM COSS SUR DES RATS DIABETIQUES A L'ALLOXANE.....	142
ACTIVITES BIOLOGIQUE DES EXTRAITS DE PLANTES MEDICINALES LOCALES:CLEMATIS FLAMMULA ,FRAXINUS ANGUSTIFOLIA ET PISTACIA LENTISCUS.....	153
EFFETS DU LYCOPÈNE SUR LE TISSU HÉPATIQUE ET CARDIAQUE CHEZ LE RAT WISTAR SOUMIS A UN RÉGIME SUPPLÉMENTÉ EN MÉTHIONINE.....	163
VALORISATION DES DECHETS LIGNOCELLULOSIQUES PAR FERMENTATION SUR SUBSTRATS SOLIDES.....	181

PLAIDOYER POUR LA CREATION D'UNITE HOPITAL DU JOUR EN CHIRURGIE DE LA MAIN DANS LES WILAYAS DE SKIKDA, GUELMA et EL TAREF.

MENADI.A(1), SID S(2), MENIGUED.F(2), BEHAILIL.T(3),
HAMDI.M.R(4), YAHOUCHE.N(1)

1-Faculté medecine –Université Badji Mokhtar d'Annaba

2- EH Skikda

3- EPH Bouchegouf Wilaya Guelma

4- EPH Bouhadjar Wilaya El Taref

5- Faculté madecine –Université Badji Mokhtar d'Annaba

INTRODUCTION

Le développement de la chirurgie du jour en chirurgie de la main au niveau des hôpitaux régionaux est un défi national qu'il faut accomplir dans la décennie à venir permettant la formation des jeunes chirurgiens a la pratique de la chirurgie de la main, l'apprentissage de nos collègues médecins anesthésistes aux développement de la pratique de l'anesthésie loco régional sous échographie guidée ,a la diminution des listes d'attente des malades permettant le soulagement immédiat et la récupération dans les meilleurs délai ,la rentabilité des lits d'hospitalisations permettant une bonne occupation par la diminution de la durée de séjour moyenne et par delà rentabiliser les dépenses inutiles au niveau des hôpitaux et surtout des caisses d'assurances .

MATERIEL ET METHODES

Nous avons répartis notre projet en quatre étapes

1° ETAPE/ contact par courrier officiel des directeurs de santé de chaque wilaya

2°ETAPE/ réunion et sensibilisation des chefs d'établissements hospitaliers et les présidents des commissions médicales (PCM) a notre projet.

3° ETAPE/ Formation continue auprès des médecins généralistes des wilayates ayant répondu à notre projet en collaboration avec les médecins spécialistes de chaque wilaya.

4° ETAPE/ Début des interventions chirurgicales en collaboration avec les collègues chirurgiens orthopédistes et médecins anesthésistes

RESULTAT

Sur les cinq wilayates auparavant contactés trois seulement ont répondu favorablement (SKIKDA,GUELMA et EL TAREF ,l'adhésion complète des directeurs de santé et des PCM a notre projet et désignation de trois centres formateurs et a chaque centre un médecin spécialiste responsable du centre,DR SID SABRINA EH SKIKDA DR BEHAILIL TAHAR EPH BOUCHEGOUF (wilaya de guelma)-DR HAMDI MED RAOUH EPH BOUHADJAR (wilaya d'EL TAREF) .

14 regroupements de médecins généralistes ont été réalisés dans le cadre de formation continue nous avons sollicités en moyenne 400 médecins généralistes des wilayates de GUELMA , SKIKDA et EL TAREF afin de les sensibiliser aux recrutement de malade porteur de pathologie froide de la main et surtout établir un lien entre ces médecins généralistes véritable poumon des structures sanitaires hors chu et les médecins spécialistes responsable du projet.

Nous avons Opérés 350 MALADES au niveau des wilayates de SKIKDA et GUELMA

DISCUSSION ET COMMENTAIRE

la formation de 300 médecins généralistes issues des wilayates de SKIKDA, GUELMA et EL TAREF a été d'apport considérable dans le cadre de formation continue

Le médecin généraliste des hôpitaux périphériques est la cheville ouvrière des EPH, EH et des EPSP c'est l'équivalent des internes et des externes des CHU, ont leur rappelant les grands principes de BISKRA 1 et BISKRA 2(rôle du médecin généraliste dans le système de santé national) était d'un apport précieux pour qu'il adhère a notre projet.

La Diminution considérable des évacuations des malades vers les centres hospitalo universitaires opéré 350 MALADES c'est éviter le déplacement de 350 familles vers les grandes villes et part de la le déplacement des familles hors de chez eux et évitant le risque d'accident de circulation,

Ont opérés 350 malades au niveau des wilayates de SKIKDA et GUELMA, c'est faire gagner environ 700 JOURS d'hospitalisations a ces deux structures sanitaires puisque ces malades avaient l'habitude de séjourné deux jours (la veille de l'intervention, le jour de l'intervention et la sortie au troisième jour) ,si la journée d'hospitalisation est de 6000 DA par jour ajoutée a cela le personnel médical, paramédical, administratif, de soutien (restauration, literie.....) et le consommable utilisée (sérum, médicament) c'est des sommes considérables économisés par ces structures hospitalières.

CONCLUSION

L'apport de la chirurgie du jour dans la pathologie froide et traumatique de la main a été considérable sur le plan de formation continue des jeunes médecins généralistes et des médecins spécialistes, le gain considérable sur le plan socio économique et la limitation des évacuations intempestive ver les CHU.

RESUME EN ANGLAIS

INTRODUCTION

The development of day surgery hand surgery at regional hospitals is a national challenge that must be accomplished in the next decade for the training of young surgeons practice of hand surgery, learning colleagues anesthetists to develop the practice of doctors in regional anesthesia guided ultrasound, a reduction of waiting lists of patients for immediate relief and recovery in the best time, the profitability of beds for hospitalization a good occupation by reducing the average length of stay profitable and beyond wasteful spending in hospitals and especially insurance funds.

MATERIEL ET METHODES

We divided our project into four stages

STEP 1 / official mail contact health directors of each wilaya

STEP 2 / awareness meeting and heads of hospitals and medical boards presidents (PCM) for our project.

STEP 3 / Upbringing among general physicians wilayates who responded to our project in collaboration with specialists in each wilaya.

STEP 4 / Early surgical interventions in collaboration with colleagues orthopedic surgeons and anaesthesiologists

RESULTAT

Of the five wilayates previously contacted only three responded favorably (SKIKDA, GUELMA and EL TAREF, full membership of the governing health and PCM our project and appointment of three trainers centers and each center has a specialist center manager, DR SID SABRINA EH SKIKDA DR BEHAILIL TAHAR EPH Boucheougouf (wilaya guelma)-DR MED Hamdi Raouh EPH BOUHADJAR (wilaya TAREF EL).

14 groups of GPs were conducted as part of training we contacted an average of 400 general practitioners wilayates of GUELMA, EL TAREF SKIKDA and to sensitize them to recruit patient with cold pathology of the hand and especially establish a link between GPs true lung health facilities outside chu and medical specialists responsible for the project.

We Operated 350 PATIENTS at wilayates of SKIKDA and GUELMA

DISCUSSION ET COMMENTAIRE

training of 300 GPs from the wilayates of SKIKDA , GUELMA and EL TAREF was considerable contribution in the context of continuing education GP peripheral hospitals is the linchpin of EPH , EH and EPSP is the equivalent internal and external UHC have reminded them of the principles BISKRA 1 and 2 BISKRA (role of the GP in the national health system) was a valuable contribution to accede to our project. The considerable decrease evacuations of patients to university hospital centers operated 350 SICK is to avoid the displacement of 350 families to the cities and from the displacement of families from their homes and avoiding the risk of traffic accident, 350 patients have operate at wilayates of SKIKDA and GUELMA is to save 700 DAYS of hospitalizations these two health structures since these patients had usually spent two days (the day before surgery , on the day intervention and exit on the third day), if the day of hospitalization was 6000 dinars per day added to this the medical, paramedical , administrative support (food , bedding) and consumables used (serum , drug) is considerable sums saved by these hospitals .

CONCLUSION

he contribution of surgery day in the cold and traumatic pathology of the hand has been significant in terms of training of young GPs and specialists, the significant gain on the socio economic and limiting accidental discharges worm the CHU.

MOTS CLES : Chirurgie de la main, hospitalisation du jour, économie de santé.

I/INTRODUCTION

La surcharge des listes d'attente de malades au niveau des hôpitaux public a l'échelle nationale pose un véritable problème de santé public pour les spécialités chirurgicales ,d'une part les malades sont angoissés par l'attente d'une intervention chirurgicale secondaire a une maladie très handicapante et de l'autre coté les chirurgiens sont étouffés par les urgences chirurgicales qui ils reçoivent de tous bord et les évacuations intempestives des malades des régions environnantes dans des conditions déplorable.

Ce procédée d'hôpital du jour va répondre a cette problématique entre les malades, les chirurgiens et dont l'administration hospitalière est prise entre l'enclume et le marteau, parmi les spécialités chirurgicales qui peuvent répondre a cette attente est la chirurgie de la main ,chirurgie qui ne demandent pas un matériel sophistiqué, de pratique facile entre des mains expérimentées et surtout par la fréquence de cette pathologie au niveau des urgences chirurgicales qui avoisinent les 40 % de l'ensemble des urgences traumatiques et l'émergence des maladies de la main a risque professionnelle telle le syndrome du canal carpien ,les tendinites de la main dont il existe une panoplie grandissante.

Le développement de la chirurgie du jour en chirurgie de la main au niveau des hôpitaux régionaux (1,2,3) est un défi national qu'il faut accomplir dans la décennie à venir permettant la formation des jeunes chirurgiens a la pratique de la chirurgie de la main, l'apprentissage de nos collègues médecins anesthésistes aux développement de la pratique de l'anesthésie loco régional sous échographie guidée (4, 5,6) a la diminution des listes d'attente des malades permettant le soulagement immédiat et la récupération dans les meilleurs délai ,la rentabilité des lits d'hospitalisations permettant une bonne occupation par la diminution de la durée de séjour moyenne et par delà rentabiliser les dépenses inutiles au niveau des hôpitaux et surtout des caisses d'assurances .

II/BESOINS DE L'ALGERIE A L'HOSPITALISATION DU JOUR

L'ALGERIE accuse un retard considérable dans le développement de la chirurgie ambulatoire dans le secteur public qui peut rendre un grand service sur le plan socio économique par la diminution, du taux d'occupation des lits, dépenses d'hospitalisations, réduction des infections nosocomiales, des économies considérables pour les services de sécurités sociales par la diminution des dépenses de séjour,des durées d'arrêt de travail aux assurés permettant une reprise de travail le plus rapidement possible.

Pourquoi doit-on développer cette chirurgie ambulatoire dans nos hôpitaux ? Parce qu'il y a des contraintes qui nous imposent à la développer :

La première est que nos services d'orthopédie traumatologie sont quasiment occupées par le nombre considérable des poly fracturés provenant suite aux accidents de la circulation en dehors des accidents de travail puisque chaque année ces services doivent assurer les soins aux 40 000 blessés que compte notre pays chaque année rendant les occupations de lit quasiment occupés laissant peu de place pour la pratique de la chirurgie dite « froide » ,

La deuxième est que la chirurgie de la main est une chirurgie du jour puisque la majorité de cette pathologie peut être réalisé dans ce cadre rendant un grand service à la société (caisse d'assurance, budgets des hôpitaux) et aux malades sur le plan socio économique.

La troisième réside dans le développement de l'anesthésie locale, locorégionale, les progrès de l'anesthésie générale et en anesthésie vigile ont apporté un réel confort à la pratique de la chirurgie ambulatoire dans des conditions de sécurité acceptable.

La quatrième initier nos collègues jeunes chirurgiens des wilayates limitrophes de bénéficier de cette innovation chirurgicale par la formation et la diminution des évacuations des malades vers les centres hospitalo universitaires.

III/ MATERIEL ET METHODES

Nous avons répartis notre projet en quatre étapes

1° ETAPE/ contact par courrier officiel des directeurs de santé de chaque wilaya

2°ETAPE/ réunion et sensibilisation des chefs d'établissements hospitaliers et les présidents des commissions médicales (PCM) a notre projet.

3° ETAPE/ Formation continue auprès des médecins généralistes des wilayates ayant répondu à notre projet en collaboration avec les médecins spécialistes de chaque wilaya.

4° ETAPE/ Début des interventions chirurgicales en collaboration avec les collègues chirurgiens orthopédistes et médecins anesthésistes.

IV/ RESULTATS

1/RESULTATS DE LA PREMIERE ETAPE.

Après trois mois de contact avec nos partenaires, TROIS wilayates ont répondu favorablement à notre projet a savoir la wilaya de GUELMA, wilaya de Skikda et la wilaya D'EL TAREF.

2/RESULTATS DE LA DEUXIEME ETAPE.

Réunion et sensibilisation des chefs d'établissements hospitaliers et les présidents des commissions médicales (PCM) notre projet des trois wilayates ayant répondu favorablement a notre projet.

3/RESULTATS DE LA 3° ETAPE

Formation continue auprès des médecins généralistes des wilayates ayant répondu à notre projet .Après avoir identifié les personnes ressources de notre projet au niveau de chaque wilaya nous avons jugé utile regrouper les médecins généralistes de chaque ville qui sont a notre avis l'interne et le résident en leur faisant le role du médecin généraliste dans le système de santé en leurs rappelant les objectifs de biskra 1 et 2 (tableau 1) puis prendre connaissance de notre projet pour qu'ils puissent nous orienter les malades porteurs de pathologie de main « froide » et les adresser au chef des unités de leur ville

Ainsi au niveau de la wilaya de Guelma ont pu faire 6 (six) regroupements de médecins généralistes, au niveau de la wilaya de SKIKDA nous avons pu faire 3 (trois) regroupements et au niveau de la wilaya d'EL TAREF ont a réalisé 4 regroupements

Au cours de ces 14 regroupements nous avons sollicités en moyenne 400 médecins généralistes des wilayates de GUELMA , SKIKDA et EL TAREF afin de les sensibiliser aux recrutement de malade porteur de pathologie froide de la main et surtout établir un lien entre ces médecins généralistes véritable poumon des structures sanitaires hors chu et les médecins spécialistes responsable du projet.

4/RESULTATS DE LA QUATRIEME ETAPE

Depuis le 9 AVRIL 2012 nous avons opérés 300 (trois cent) MALADES

a/ au niveau de la wilaya de Skikda entre les malades froid et urgences, les pathologies froide opérés comportées les pathologies suivantes (tableau 2)

b/ Depuis le 13 JUIN 2012 nous avons opérés 50 (CINQUANTE) MALADES au niveau de la wilaya de GUELMA entre les malades froid et urgences, pourquoi ? ce chiffre restreint par rapport a SKIKDA, parce ce que a BOUCHEGOUF il y a un seul bloc opératoire pour 20 chirurgiens toutes spécialités confondues par contre a SKIKDA IL y a un bloc opératoire réservé uniquement pour notre projet.

V/ DISCUSSION ET COMMENTAIRE.

La chirurgie ambulatoire ou chirurgie de jour correspond à la réalisation d'actes chirurgicaux ou d'investigation sans hospitalisation. Ces actes sont programmés et réalisés dans des conditions techniques de sécurité d'un bloc opératoire, sous une anesthésie de mode variable et selon des modalités permettant sans risque majoré la sortie du patient le jour même de son admission. Cette définition a été donnée lors de la conférence de consensus sur « la chirurgie sans hospitalisation » organisée par la Mutualité Française et la Fondation de l'Avenir pour la Recherche Médicale Appliquée en mars 93. Répartition des actes réalisés en chirurgie ambulatoire selon leur nature

La chirurgie ambulatoire permet au patient une sortie de l'hôpital le Jour de son admission suite à une intervention chirurgicale ou un acte exploratoire. Dès les années 70, trois pays encouragent cette pratique (USA, Canada, Grande-Bretagne). Celle-ci est rapidement considérée comme un élément de contribution à la diminution des dépenses hospitalières. En 1994 EN France, près de deux millions d'interventions chirurgicales ont été réalisées en ambulatoire dans les secteurs opératoires et obstétricaux, représentant 20 % de l'ensemble de l'activité chirurgicale en France. Cette activité est beaucoup plus soutenue dans le secteur privé qui réalise en mode ambulatoire 30 % de ses interventions chirurgicales (7,8) . Dans le secteur public, l'activité ambulatoire représente seulement 7 % des interventions chirurgicales qui y sont réalisées. Les actes réalisés en chirurgie ambulatoire sont deux fois moins lourds que ceux effectués en Hospitalisation complète. En effet, seulement 9% du nombre total de k, lettre de cotation des actes chirurgicaux et de spécialité médicale, sont réalisés en chirurgie ambulatoire.

Dès le début des années 80, la chirurgie ambulatoire avait été pressentie dans de nombreux pays comme un élément de Contribution à la diminution des dépenses hospitalières. Aux Etats-Unis, la chirurgie ambulatoire a connu essor important .Aujourd'hui, elle représente en effet la moitié de l'activité chirurgicale dans ce pays. Deux motivations sont à l'origine de ce développement : le désengorgement des lits hospitaliers, problème important aux Etats-Unis à la fin des années 60, et la réduction des Coûts hospitaliers, apparue nécessaire dans le contexte économique et social des années 80. Ainsi de nombreux organismes payeurs dont Medicare, décident de rembourser la totalité des frais engagés lorsqu'il s'agit d'une intervention réalisée en ambulatoire alors que le remboursement n'est que partiel lorsqu'il s'agit d'une intervention classique.

Il est commun de penser que la chirurgie ambulatoire est un mode de prise en charge moins « coûteux » qu'une hospitalisation

Traditionnelle. Elle permet notamment une réduction de la durée de Séjour et une utilisation moindre des ressources que la chirurgie classique. Ainsi, les actes de radiologie sont moins nombreux, le temps d'utilisation des ressources matérielles et humaines plus court et la prescription médicamenteuse moins importante. En contrepartie, les actes de biologie sont plus fréquents ainsi que les visites de généralistes. Enfin, la chirurgie ambulatoire serait génératrice de gains de productivité (9, 10). En effet, la pratique chirurgicale ambulatoire améliorerait L'utilisation du bloc opératoire par un nombre plus élevée de malades que l'hospitalisation classique (11, 12).

La chirurgie ambulatoire, génératrice de gains de productivité a su répondre aux problèmes de listes d'attente dans certains pays tels que les Etats-Unis, le Canada ou la Grande-Bretagne. Néanmoins, la chirurgie ambulatoire est appelée certainement à se développer dans l'avenir. En effet, fondée principalement sur le développement des technologies de pointe, la chirurgie ambulatoire reste une innovation où le progrès technique est le facteur essentiel et garant du développement de cette alternative(13).

Qu'en est-il de la pratique de cette chirurgie du jour à travers le territoire national à l'heure actuelle ? la réponse est entre les mains des décideurs parce que ont a tous les moyens matérielles et humaines pour le démarrage de cette chirurgie qui est entrain de prendre un ascendant fulgurant dans les pays développés par exemple en France il y a actuellement une vingtaine d'hôpitaux du jour en chirurgie de la main.

En Algérie Le cout des dépenses alloués a la santé a dépasse les 445 milliards de dinars en 2012 dont plus de 396 millions de dinars pour l'alimentation des malades en augmentation de 5,57% par rapport à l'année 2010 et Plus de 3,5 milliards de dinars pour les médicaments, une question s'impose comment peut on réduire ces dépenses colossales ?

La réponse est simple, encouragé la pratique des unités d'hospitalisation du jour en chirurgie de la main pour les pathologies d'urgences et froide, un exemple simple si ont arrive a opéré 5 MALADES/ jour a travers les structures sanitaires (CHU,EH,EPH) des 48 WILAYAS du territoire national pendant une année c'est avoir l'équivalent de 100 000 MALADES qui vont bénéficier de cette pratique et vous constaté les économies générés pour les pouvoirs publics (ministère de la santé et les assurances.

VI/CONCLUSION

L'apport de la chirurgie du jour dans la pathologie froide et traumatique de la main a été considérable sur le plan de formation continue des jeunes médecins généralistes et des médecins spécialistes, le gain considérable sur le plan socio économique et la limitation des évacuations intempesive ver les CHU.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1- MENADIA ET COLL

La chirurgie ambulatoire et pathologie du membre supérieur

Communication orale présenté au 12 congrès national de chirurgie orthopédie et traumatologie (SACOT)

ALGER-27-30 novembre 2005

2-MENADIA ET COLL

Les urgences traumatiques de la main et hôpital du jour, communication orale présenté au

1 °congrès national de santé public

9 DECEMBRE 2009-ANNABA –université BADJI MOKHTAR

3-MENADI A et coll

Promotion et développement des unités d'hôpital du jour en chirurgie de la main dans le nord est ALGERIEN

Conférence d'enseignement présenté aux 8° journées « HICHEM BAHRI » de chirurgie de la main, société tunisienne de chirurgie de la main.

27-28 avril 2012 hotel golden tulip EL MECHTEL TUNIS

4- AFCA, Congrès National de Chirurgie ambulatoire, 7 et 8 juin 1996, Février 1997, 690 pages.

5- Chung F, Mezei G. Adverse outcomes in ambulatory anesthesia.

Can J Anaesth 1999 ; 46 : R18-R2624- Ecoffey C, Samii K.

6-L'anesthésie locorégionale chez le patient ambulatoire.

Ann Fr Anesth Réanim 1990 ; 9 : 367-370

7-CNAMTS, Direction du service médical de la région Rhône-

Alpes "Chirurgie ambulatoire, une pratique avantagée, 1994"

455pages.

8- H.COUDANE,P.LANDREAU,B.MICHEL,S. SLIMANI

LA CHIRURGIE AMBULATOIRE :REGLEMENTATION ET ETATS DES LIEUX. SUPP.AU N°8,REV.CHI.ORTHOP.2005,91,4S9-4S13. 25-

9-évaluation médico-économique de 161 patients randomisés.

Revue médicale de L'Assurance maladie n°4, 1996.

10- ENSP, mémoire de HOOP P., “Les potentialités de la chirurgie ambulatoire à l’hôpital Henri Mondor”, 1994, 100 pages.

11- Ecoffey C, Samii K. L’anesthésie locorégionale chez le patient ambulatoire. Ann Fr Anesth Réanim 1990 ; 9 : 367-37044-

12- Revue médicale de l’Assurance Maladie, n°4, 1996,

“Chirurgie ambulatoire et chirurgie classique : évaluation Médico-économique de 161 patients randomisés”.

13- François Sztark-Charles Bourdallé-Badie

Comment mettre en place un centre de chirurgie ambulatoire ?

Le Praticien en Anesthésie Réanimation Volume 12, Issue 6,

Décembre 2008, Pages 457-461

TABLEAU 1

Rôle du médecin généraliste dans le processus de sante publique

BISKRA 1 et 2

+FONCTION 1

Identifie les problèmes et les besoins de santé publique

(taux mortalité infantile, mortalité et morbidité- HTA- diabète...) +FONCTION 2

Participer a la promotion de la santé

(Orientation femme enceinte et nouveau né vers les PMI)

+FONCTION 3/

URGENCES MEDICO CHIRURGICALES

-définir état pathologique aigu

- identifie les signes cliniques

-poser les indications des investigations

-interpréter rapidement les donnés cliniques et paracliniques .

-établir surveillance adaptée

-décider fonction critères gravité transfert++++

+FONCTION 4

-SANTE DE LA FEMME

-SANTE DE L’ENFANT

-MALADIES TRANSMISSIBLES

- HANDICAPS+++++
- SANTE MENTALE
- SANTE TRAVAILLEUR
- MALADIE CHRONIQUE NON TRANSMISSIBLE
- +FONCTION 5
- FORMATION DE TOUTE L'EQUIPE DE SANTE
- ASSURER SA PROPRE FORMATION CONTINUE
- AMELIORER SA COMPETENCE

TABLEAU 2

PATHOLOGIE FROIDE DE LA MAIN EN HOPITAL DU JOUR

- +SYNDROME DU CANAL CARPIEN
- +MALADIE DE DUPUYTREN A LA MAIN
- +TENOSYNOVITE DE DE QUERVAIN
- +DOIGT A RESSAUT
- +COMPTODACTYLIE
- +TUMEUR DES PARTIES MOLLES A LA MAIN
- +CHIRURGIE SECONDAIRES DES TENDONS EXTENSEURS ET FLECHISSEURS
- +COMPRESSION DU NERF CUBITAL AU COUDE
- +EPICONDYALGIES
- +DOIGT EN CROCHET
- +CHIRURGIE SECONDAIRE DES NERFS COLLATERAUX
- +DOIGT SURNEMERAIRE
- +SYNDACTYLIE
- +DUPLICATION POUCE
- +GREFFE DE PEAU LIBRE
- +Kystes de poulie A1

L'INTERET D'UNE PRISE EN CHARGE PRECOCE DES UROPATHIES MALFORMATIVES DE DIAGNOSTIC ANTE NATAL

TOUABTI.S¹, LADJADJ.Y², LAOUAMRI.S¹, ZOUAK.N¹; SOUALILI.Z²

1. Faculté de médecine Setif

2 .Faculté de médecine Alger centre

Code :18 Sante

Diagnostic ante natal et prise en charge des uropathies malformatives.

Introduction :

La détection prénatale des uropathies a un intérêt considérable en raison de la fréquence des anomalies du tractus urinaire et de l'importance d'une prise en charge précoce. La reconnaissance précoce présente un intérêt évident pour éviter une dégradation du parenchyme rénal par l'infection.

Matériels et méthodes

La population ciblée de l'étude est représentée par l'ensemble de femmes enceintes consultants pendant le 3ème trimestre de grossesse au niveau des structures de base du secteur sanitaire de Sétif, dans le cadre des activités de suivi de la grossesse.

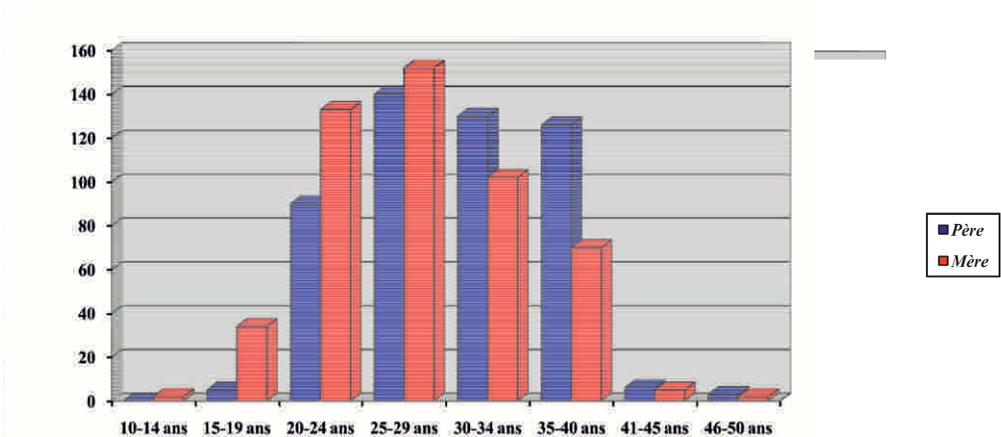
Protocole d'étude

Le dépistage anténatal portera sur un échantillon représentatif de 500 femmes enceintes au niveau des centres de P.M.I .Une échographie est réalisée au 3ème trimestre dont le résultat est confirmé 15 jours à 1mois après par une 2ème échographie.

Résultats

– Résultats du dépistage anté-natal

Un échantillon représentatif de 500 femmes a été soumis à une échographie systématique au cours du troisième trimestre de gestation. La découverte d'une malformation urinaire sera confirmée par une deuxième échographie 15 jours ou 1 mois après. En cas de positivité de cette dernière, une échographie est faite au nouveau-né à J7 suivi d'un bilan complet si l'anomalie est confirmée.

Age des parents**Figure 1:** Age des parents

L'âge des mères se situe entre la tranche 18ans – 34ans qui correspond à l'âge de procréation :

02 cas âgés de 14 ans.

33 cas âgés entre 15 – 19 ans

133 cas âgés entre 20- 24 ans

152 cas âgés entre 25 29 ans

102 cas âgés entre 30 – 34 ans

77 cas âgés au delà de 35 ans.

L'âge des pères se situe entre la tranche 25 – 40 ans.

90 cas âgés entre 20– 24 ans

140 cas âgés entre 25 – 29 ans

130 cas âgés entre 30 – 34 ans

126 cas âgés entre 35 – 40 ans.

2. Age gestationnel:

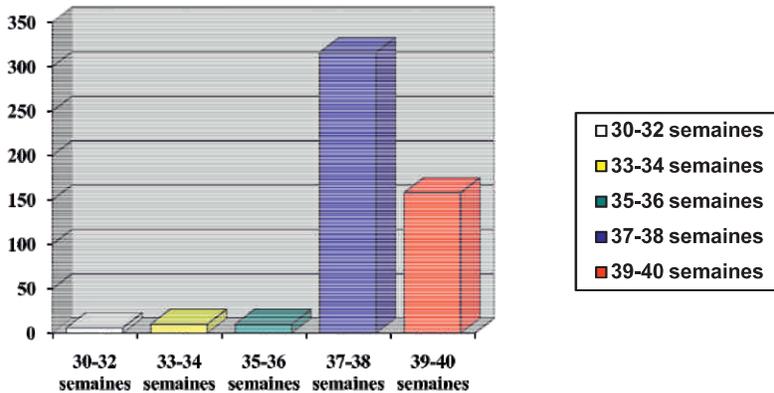


Figure 2: Age gestationnel

Le dépistage des uropathies malformatives est fait lors des échographies obstétricales systématiques au début du troisième trimestre de grossesse (32 S.A).

06 échographies réalisées entre 30 – 32 SA

10 échographies réalisées entre 33 – 34 SA

10 échographies réalisées entre 35 – 36 SA

Afin d'augmenter le taux de détection, nous avons amplifié notre dépistage le dernier mois de gestation :

316 échographies réalisées entre 37 – 38 SA

158 échographies réalisées entre 39 – 40 SA.

3. Age gestationnel et répartition des examens ultrasonographiques normaux et pathologiques lors du dépistage anténatal:

Tableau V: Age gestationnel et répartition des examens ultrasonographiques normaux et pathologiques

Echographie Age gestationnel (semaine)	Echographie Normale	Echographie Pathologique	TOTAL échographie
30 – 32	5	1	6
33 – 34	6	4	10
35 – 36	5	5	10
37 – 38	301	15	316
39 – 40	144	14	158
TOTAL	461	39	500

L'échographie anténatale a permis de détecter 39 malformations à partir de la 30^{ème} semaine de gestation:

30 – 32 SA : une malformation urinaire.

33 – 34 SA : 4 malformations: 2 urinaires / 2 neurologiques.

35 – 36 SA : 5 malformations: 3 urinaires / 2 neurologiques

37 – 38 SA : 15 malformations: 7 urinaires / 8 neurologiques

39 – 40 SA : 14 malformations: toutes neurologiques.

La meilleure détection des anomalies du système excréteur est obtenue le dernier mois de grossesse.

Chaque anomalie a été contrôlée par une deuxième échographie réalisée 15 jours à un mois après.

4. Malformations découvertes en anténatal**Tableau VI:** Malformations découvertes en anténatal

Malformations	Effectif	Pourcentage	Intervalle de confiance à 95
malformations neurologiques	26	5,2	3,3 - 7,1
malformations urinaires	13	2,6	1,3 - 3,9
TOTAL	39	7,8	6,4 - 10,2

39 anomalies ont été détectées chez 500 fœtus. Elles se répartissent en:

- 26 anomalies neurologiques représentées par: 11 anencéphalies et 15 hydrocéphalies avec une incidence de: $26/500 = 5,2\%$

Intervalle de confiance à 95%: 3,3% - 7,1%

- 13 anomalies urinaires avec une incidence de: $13/500 = 2,6\%$.

Intervalle de confiance à 95%: 1,3% - 3,9%

- L'incidence globale des malformations rencontrées: $39/500 = 7,8\%$

Intervalle de confiance à 95%: 6,4% - 10,2%.

- Sur les 13 anomalies urinaires, nous avons enregistré: 2 décès à la naissance qui n'ont pu être contrôlés.

01 faux positif, avec une échographie post-natale normale et vérifiée un mois après.

- **L'incidence des malformations urinaires contrôlée est de: $10/500 = 2\%$**

Intervalle de confiance à 95%: 0,8% - 3,4%

- Le taux de naissance est de 1048 par année, à Sétif nous pouvons escompter 21 malformations urinaires par année. Cette enquête de dépistage anténatal a permis de sensibiliser la population et les obstétriciens, ces derniers nous adressent depuis, toutes les femmes enceintes dont l'échographie révèle une anomalie urinaire.

20 autres cas ont ainsi été détectés et notre étude portera sur l'ensemble des uropathies malformatives détectées en anténatal soit 33 cas.

5. Malformations urinaires dépistées au cours de la 1^{ère} échographie :

Tableau VII: Malformations urinaires dépistées au cours de la 1^{ère} échographie

N = 33

Malformations urinaires	Effectifs
Hydronéphrose	15
Urétéro-hydronéphrose	13
Reins multi kystiques	5
TOTAL	33
Liquide amniotique	
Oligoamnios	16
Hydramnios	2

La première échographie anténatale réalisée a permis de détecter 33 cas d'uropathies malformatives, l'hydronéphrose est retrouvée dans 15 cas, l'urétérohydronéphrose dans 13 cas, les reins multi kystiques dans 05 cas, quant à l'étude du liquide amniotique, un oligoamnios est le plus souvent mis en évidence: 16 fois.

6. Evolution des lésions rénales au cours des échographies anténatales:**Tableau VIII:** Evolution des lésions rénales au cours des échographies anténatales

Evolution des lésions	Effectifs
Lésions stables	26
Accentuation de l'hydronéphrose	1
Accentuation de l'urétérohydronéphrose	3
Accentuation de la dilatation vésicale	3
Liquide amniotique	
Accentuation de l'oligoamnios	5
Accentuation de l'hydramnios	1
Apparition de l'oligoamnios	1

Le contrôle échographique pratiqué 15 jours à 1 mois après, objective une stabilité des images 26 fois, une accentuation de l'urétérohydronéphrose 3 fois, une accentuation de l'hydronéphrose 1 fois, une accentuation de la dilatation vésicale 3 fois.

-Quant au liquide amniotique pathologique dans 18 cas, il est resté stable 11 fois et il a été observé:

- Une accentuation de l'oligoamnios dans 05 cas
- Une aggravation d'un hydramnios.

Par ailleurs, nous avons enregistré un oligoamnios récent.

7. Les hydronéphroses de diagnostic anténatal:**Tableau IX:** Les hydronéphroses N = 15.

Atteinte unilatérale	11 cas
Atteinte bilatérale	04 cas
Oligoamnios	10 cas
Hydramnios	00 cas

L'échographie anténatale a permis de détecter 15 dilatations pyélocalicielles dont 11 atteintes unilatérales.

Quant au liquide amniotique il est normal 5 fois, l'oligoamnios est le plus souvent retrouvé (10 fois).

8. Les urétéro-hydronéphroses de diagnostic anténatal:**Tableau X:** Les urétéro-hydronéphroses N = 13

Atteinte unilatérale	04 cas
Atteinte bilatérale	09 cas
Oligoamnios	09 cas
Hydramnios	02 cas

L'échographie anténatale a permis de détecter 13 dilatations urétéropyeliques dont 9 atteintes bilatérales.

Quant au liquide amniotique, l'oligoamnios est le plus souvent retrouvé (9 fois), l'hydramnios retrouvé dans 02 cas, il a été normal dans 02 cas

9. Les reins multikystiques de diagnostic anténatal:**Tableau XI:** Les reins multikystiques N= 5

Atteinte unilatérale	00 cas
Atteinte bilatérale	05 cas
Oligoamnios	05 cas

05 cas de reins multikystiques ont été diagnostiqués en anténatal, l'atteinte bilatérale est retrouvée dans tous les cas ainsi que l'oligoamnios.

10. Concordance entre les échographies anténatales et l'échographie post-natale

Toute anomalie urinaire détectée in utéro devra conduire à la naissance à une échographie afin de confirmer ou d'infirmer l'anomalie.

Si l'échographie est positive, les autres examens urologiques et isotopiques permettront de caractériser de façon précise les anomalies.

Tableau XII: Concordance entre échographie anténatale et échographie post-natale

Echographie anténatale	Echographie post-natale	Nbr e Cas
Hydronéphrose	Même aspect	09
Hydronéphrose, agénésie rénale controlatérale	Même aspect	01
Urétéro hydronéphrose	Même aspect	09
Urétéro hydronéphrose, agénésie rénale contro latérale	Même aspect	01
Reins multi kystiques bilatéraux	Urétéro hydronéphrose bilatérale	03
Reins multi kystiques bilatéraux	Hydronéphrose bilatérale	01
Reins multi kystiques bilatéraux	Hydronéphrose droite	01
Hydronéphrose gauche	Urétéro hydronéphrose gauche	02

Hydronéphrose unilatérale	Urétéro hydronéphrose bilatérale	02
Hydronéphrose droite	Urétéro hydronéphrose droite	01
Urétéro hydronéphrose	Rein normal	01
Urétéro hydronéphrose bilatérale	Décès à la naissance	02

20 cas de dilatations anténatales se sont révélés exactes en période post-natale.

10 cas sont des diagnostics incomplets ou confus. La confusion la plus fréquente se fait entre reins multikystiques et urétérohydronéphrose témoignant de la sévérité de l'uropathie.

Nous avons enregistré 2 décès à la naissance qui n'ont pu être contrôlés.

Un seul faux positif a été enregistré correspondant à une urétéro hydronéphrose dont l'échographie post natale était normale, et vérifiée un mois après (voir observation 1)

Sur les 31 nouveaux-nés contrôlés, la concordance des images retrouvées a été de 60,6% des cas.

Même si l'échographie anténatale a été peu précise sur les lésions, 31 nouveaux nés contrôlés sont cependant porteurs d'uropathie. Dans ce cas, nous pouvons dire que la concordance des images retrouvées est de 90,9% des cas.

La meilleure concordance a été retrouvée pour les hydronéphroses ainsi que les urétéro hydronéphroses.

11. Diagnostic étiologique définitif post-natal:

Chez les 30 nouveaux-nés pour qui une échographie post-natale a confirmé une uropathie, le bilan radiologique a été complété par une cystographie réalisée après vérification de la stérilité des urines, vers la 3^{ème} ou 4^{ème} semaine, sauf pour suspicion de valves de l'urètre postérieur où l'exploration est réalisée plus tôt. Les autres exploitations (UIV + scintigraphie) dépendent des résultats du couple échographie + cystographie.

Le diagnostic définitif est établi dans un délai de quelques jours à quelques semaines après la naissance.

Tableau XIII: Diagnostic étiologique définitif

Diagnostic étiologique définitif / 30 cas	Effectif
Syndrome de jonction pyélo-urétéral	12
Méga-uretère	09
Reflux vésico-rénal	02
Diverticule vésical droit avec urétéro hydronéphrose	01
Valves de l'urètre postérieur	03
Duplicité pyélo-urétérale	02
Méga vessie Méga uretère	01

Le diagnostic définitif se répartit en:

- **Syndrome de jonction pyélo-urétéral** 12 fois observées chez 3 filles et 7 garçons, il est bilatéral 5 fois. On note 2 formes minimales, 4 formes moyennes et 6 formes sévères selon les données de l'U.I.V.
- **Méga-uretère** 9 fois observé chez 2 filles et 7 garçons, il est unilatéral 8 fois. Ce sont des méga uretères obstructifs non refluant dont 03 de grade II et 6 de grade III.
- **Le reflux vésico-rénal** a été en cause 2 fois, le reflux est unilatéral et primitif chez 2 garçons, de grade III et V.
- **Duplicité pyélo-urétérale bilatérale** 2 fois rencontrée chez 2 garçons
- **Valves de l'urètre postérieur:** 3 fois, dont 1 présente un reflux vésicorénal bilatéral stade IV.
- **Diverticule vésical droit avec urétéro hydronéphrose droite** 1 fois chez un garçon.
- **Méga vessie, Méga uretère** 1 fois chez une fille.

Evolution des uropathies de diagnostic anténatal pendant la première année de vie.**N=30**

Evolution des uropathies de diagnostic anténatal pendant la première année de vie

Décès > 40 jours	03
Survivants	27
Perdus de vue	00
Simple surveillance avec traitement prophylactique	18
Opérés	09
Insuffisance rénale	00

Au cours de la 1^{ère} année de vie, nous avons déploré 03 décès survenus à 40, 60, 70 jours de vie, il s'agit des 2 cas de duplicité pyélo-urétérale ayant présenté une détresse urologique irréversible et du cas de méga-vessie-méga-uretère, décédé à la suite d'une septicémie .

Pour les autres cas (27cas) l'évolution a été:

- 09 nourrissons ont été opérés, il s'agit :

- 06 cas de maladie de jonction pyélo-urétérale. La décision opératoire a été prise sur la détérioration parenchymateuse à l'échographie et l'aspect manifestement obstructif à la scintigraphie.

Des interventions conservatrices ont été réalisées à un âge variant entre 5 et 12 mois. Elles ont toujours été conduites par une voie d'abord antérolatérale extraperitonéale. La résection anastomose a été réalisée selon le principe de kuss - Anderson à l'aide de fils résorbables 5/0, 6/0 (vicryl).

Tous les reins ont été drainés par une sonde multiperforée 8ch intubant l'anastomose, extériorisée en néphrostomie par le groupe caliciel inférieur, l'ablation étant réalisée à partir du 8^{ème} jour post opératoire.

Parmi ces 6 cas, notons 2 formes bilatérales. Nous avons jugé utile d'opérer le côté le plus atteint et de surveiller le rein controlatéral. Pour un malade après 4 mois, le

deuxième rein a été opéré en raison de l'accentuation de l'obstruction jugée par l'augmentation du diamètre antéropostérieur du bassinot : 65mm .

Les suites opératoires immédiates ont été favorables dans tous les cas. La surveillance des malades opérés a été clinique et échographique.

Après une année aucune infection urinaire n'a été enregistrée, une diminution nette de l'hydronéphrose a été observée, index parenchymateux satisfaisant et la croissance rénale correcte.

- 03 cas de valves de l'urètre postérieur parmi lesquelles 1 seul a présenté une perturbation biologique de la fonction rénale qui s'est amélioré après simple sondage urinaire. Dans les 3 cas, une résection endoscopique des valves a été réalisée à partir de l'âge de 1 mois à Alger (voir observation 4).

Après une année de surveillance, nous avons observé une nette amélioration, sauf pour le cas présentant un reflux associé. L'échographie a montré une accentuation de l'urétérohydronéphrose avec un index parenchymateux réduit. Notre attitude a été de refaire un examen endoscopique sous anesthésie générale qui a montré une résection incomplète des valves. La résection a été complétée puis une réimplantation des deux uretères selon la technique de Cohen a été pratiquée 18 mois après.

- 18 cas font l'objet d'une surveillance clinique et échographique sous couvert d'une désinfection urinaire prophylactique.

Evolution des uropathies de diagnostic anténatal pendant la deuxième année de vie. N=27

Evolution des uropathies pendant la 2^{ème} année de vie N= 27

Perdus de vue	00
Décès	00
Surveillances avec traitement prophylactique	12
Opérés	06
Insuffisance rénale	00

Au cours de la 2^{ème} année, sur les 27 survivants, l'évolution des 18 cas sous surveillance est comme suit:

- 12 cas continuent à être surveillés médicalement avec une bonne évolution

- L'indication opératoire a été portée chez 06 autres cas il s'agit de :

- 03 jonctions pyélo-uretérales, l'âge d'intervention est respectivement 14 mois, 15 mois et 16 mois. Pour les deux premiers cas, l'indication opératoire est portée sur l'augmentation du diamètre antéropostérieur du bassinet (75 mm et 60 mm) et l'aspect manifestement obstructif à la scintigraphie au DTPA. Pour le troisième nourrisson âgé de 15 mois, les échographies plaidaient en faveur d'une amélioration, le nourrisson a subitement présenté une insuffisance rénale aigue avec anurie (malade présentant un rein unique). Une néphrostomie chirurgicale en urgence a été réalisée. La chirurgie conservatrice a été réalisée un mois après amélioration clinique et biologique de la fonction rénale. Nous avons réalisé une résection anastomose selon le principe de Kuss Anderson avec drainage du groupe calicelle inférieur par une sonde multi perforée N° 8 CH intubant l'anastomose, enlevée au 12^{ème} jour opératoire. Les suites opératoires immédiates et lointaines ont été satisfaisantes, avec reprise de la courbe pondérale, urines stériles, fonction rénale correcte, bonne évolution échographique avec diminution nette de l'hydronéphrose et index parenchymateux correct.

- 02 méga uretères obstructifs non refluant: l'un bilatéral a été opéré à 16 mois (observation 5), l'autre sur rein unique a été opéré à 19 mois. L'indication opératoire est posée sur la survenue d'infections urinaires à répétition et l'aggravation de la dilatation urétéropyélocalicelle surtout pour le rein unique. Il a été réalisé par voie sus pubienne horizontale, une résection de l'uretère terminal (radicelle) avec une réimplantation urétéro-vesicale sans modelage selon la technique de Cohen.

Le drainage de l'uretère est assuré par un drain perforé de calibre 4 – 6 CH. La vessie est drainée par un drain multiperforé 09 CH extériorisé à travers le dôme vésical et la paroi abdominale. L'espace de retzius est drainé par un redon 08 CH et le décollement sous cutané par un redon 8 CH.

Les suites opératoires immédiates sont bonnes, les sondes urétérales sont enlevées autour du 8^{ème} jour, les malades sont sortis au 10^{ème} jour avec un traitement désinfectant.

Les contrôles à 1 mois, 3 mois, 6 mois montrent une diminution nette de la dilatation à l'échographie, des urines stériles et un bon développement staturo-pondéral.

- 01diverticule vésical avec méga uretère droit a été opéré à l'âge de 24 mois en raison des infections urinaires répétées et de l'augmentation de la dilatation aux échographies de contrôle. Il a été réalisé une résection du diverticule avec réimplantation urétéro-vesicale type Cohen.

Le malade est sorti au 10^{ème} jour après des suites opératoires simples. L'évolution a été satisfaisante puisqu'on a constaté une disparition totale de la dilatation au bout de 12 mois.

Discussion :

L'essor de l'échographie foetale amène aujourd'hui à la consultation de chirurgie pédiatrique un nombre croissant de nouveaux-nés porteurs de malformations urinaires.

La découverte d'une uropathie in utéro pose avant tout le problème de son identification et de la détermination de sa gravité.

Pour notre série, 13 uropathies ont été dépistées chez 500 femmes enceintes avec une incidence de 2% de naissances vivantes qui n'est pas loin de l'incidence théorique qui est de 0,9 à 1%.

Le taux de détection des malformations urinaires est très performant d'autant plus qu'il est réalisé le dernier trimestre de grossesse où le risque d'erreur est moindre.

La performance de diagnostic anté-natal par rapport à la période post-natale est excellent (90% des cas), alors que la littérature rapporte une concordance entre 80% Creigj 1989) et 89 % des cas (Schmitt 1998) .

La confusion la plus fréquente se fait entre reins multikystiques et uretérohydronéphrose témoignant de la sévérité de l'uropathie.

Le volume du liquide amniotique qui paraissait être un critère pronostique de l'état rénal, est complètement mis à défaut

CONCLUSION :

Le diagnostic anté-natal est certainement le progrès le plus important de ces dix dernières années en urologie pédiatrique. Grâce à lui, les enfants peuvent être opérés avant les complications infectieuses.

L'échographie anténatale et post natale jouent un rôle fondamental dans la prise en charge précoce des uropathies malformatives. Bien que le bilan diagnostique et fonctionnel des uropathies ne repose pas exclusivement sur l'échographie, celle-ci demeure l'examen de première intention dans la période post-natale immédiate, guidant la conduite à tenir du bilan ultérieur.

L'ACTIVITE PHYSIQUE COMME MOYEN DE PREVENTION DE L'OBESITE INFANTILE

MIMOUNI.S*, ABDELMALEK.M *, ASSAM.S**, MEGHLAOUI.F***, PARISKOVA.Y****

*Laboratoire des Sciences Biologiques appliquées au Sport

**Université de Boumerdès

***CNMS, Amokrane Maouche, Alger

**** University de Prague

Introduction

Un enfant en surpoids ou obèse le restera à l'âge adulte ce qui aggravera, pour les générations futures, les risques de maladies cardio-vasculaires et les problèmes psycho-sociaux liés à l'image de soi. Cette situation pèsera très lourd sur l'économie de l'état, comme c'est le cas dans plusieurs pays occidentaux qui ont fini par installer des politiques afin de parer à ce problème qu'ils considèrent comme un problème de santé publique majeure.

Dans les pays occidentaux, le programme national nutrition santé (PNNS) a permis une mobilisation des pédiatres qui prennent en charge les enfants et adolescents obèses. Ces spécialistes, issus principalement de centres hospitaliers, ont créé une association l'APOP (Association pour la prévention et la prise en charge de l'obésité en pédiatrie) afin qu'elle puisse être un interlocuteur si ce n'est privilégié, au moins reconnu, pour cet axe stratégique majeur du PNNS qu'est l'obésité. En effet, l'objectif est de stopper l'augmentation de la prévalence de l'obésité chez l'enfant (16 % en France). Si les moyens en sont donnés, cet objectif sera atteint, il faut souligner le mérite de ce programme unique en Europe, ayant pour cible de promouvoir la santé des français par la nutrition et l'activité physique.

A l'instar des pays industrialisés, l'obésité est en progression dans les pays en développement comme l'Egypte (6,5 % chez les filles et 4,5% chez les garçons) et la Tunisie (3.1%) durant l'année (2000). Beaucoup d'indicateurs montrent aujourd'hui que le surpoids et l'obésité sont en nette progression dans la majorité des pays, y compris l'Algérie.

Cet accroissement alarmant touche les pays développés comme les pays en voie de développement, où, aussi bien l'adulte que l'enfant y sont concernés. Les conséquences néfastes pour la santé ne sont plus à démontrer. En effet selon l'OMS (2011) « ... la présence d'un surpoids et d'une obésité accroît le risque de maladie cardiovasculaire, de diabète et de plusieurs types de cancer, ainsi que celui de pathologies non fatales comme l'arthrite... ». Allam et al. (2011) voient que l'obésité est caractérisée comme un des facteurs de risque de maladies chroniques graves et invalidantes telles que l'hypertension artérielle, le diabète non insulino-dépendant (de type II), certaines maladies cardiaques, les cancers de l'intestin et du sein.

Aussi, l'excès de cholestérol, l'apnée du sommeil, l'arthrose, l'infertilité, l'insuffisance veineuse, le reflux gastro-œsophagien et l'incontinence urinaire ont-ils une relation avec l'obésité. Cette dernière, qualifiée comme première maladie non infectieuse de l'histoire, occupe actuellement le statut de pandémie. L'excès pondéral ou l'obésité sont inventoriés parmi les facteurs de risques évitables associés à une mortalité ou à une morbidité accrue (OMS, 2011).

L'obésité à l'enfance et à l'adolescence est un facteur prédictif de l'obésité à l'âge adulte et s'accompagne alors de risques élevés de morbidité et de mortalité chez les sujets adultes ayant été en surpoids à l'adolescence. Selon l'OMS (2011), on dispose de peu de données sur le nombre d'enfants en excès pondéral, même si, pour de nombreux pays, on obtient de plus en plus d'éléments prouvant l'existence d'une double charge de malnutrition, avec une fréquence élevée des déficits pondéraux ou des retards de croissance dans certains groupes de la population, couplée à une fréquence importante des excès pondéraux dans d'autres groupes ».

Une activité physique régulière et des habitudes alimentaires correctes semblent être un remède efficace pour atténuer cette épidémie. Cependant, nous ne trouvons pas d'études proposant un modèle d'activités physiques (spécifiant les types d'activités, leur agencement et les charges physiques concomitantes : durées et intensités) adapté au contexte algérien, pour les sujets en surpoids et obèses. La seule étude, dans ce sens, que nous connaissons en maladies non infectieuses chez des sujets algériens, concerne le diabète de type 2, effectuée par Lakhdar et al. (2011) sur des patients d'âge moyen de 52 ans des deux sexes.

Qu'en est-il des sujets en surpoids et obèses enfants et adolescents ? Quel est le moyen d'atténuer leurs indices de surcharge pondérale et d'obésité ?

A travers la littérature, en Egypte, Marsaud (2003) a montré que 3% des filles et 1,7% des garçons étaient obèses chez les 2-6 ans, 6,5% des filles et 4,5% des garçons l'étaient chez les 6-11 ans. Au pays du Maghreb, les statistiques de l'OMS entre 1990 et 1999, encore, publiées en 2011, font état pour les enfants de moins de 5 ans, de taux élevés de prévalence d'excès pondéral dont obésité (8% pour la Tunisie, 13,3% pour le Maroc, 22,4% pour la Libye et 12,9% pour l'Algérie), dépassant la moyenne mondiale (6,8%). Pour les sujets adultes de plus de 15 ans, les données de l'OMS de 2008 d'excès pondéral dont obésité font apparaître la gravité du fléau, en Libye, avec 21,5% d'hommes et 41,3% de femmes, en Tunisie avec 33,4% chez les femmes et 13,9% chez les hommes, au Maroc avec 11,1% chez les hommes et 23,1% chez les femmes et en Algérie avec 10,7% chez les hommes et 24,3% chez les femmes.

Les hommes mauritaniens sont les moins touchés (4,3%) contrairement aux femmes qui enregistrent des valeurs quasi similaires à celles des marocaines et des algériennes, mais nettement inférieures à celles des tunisiennes et des libyennes.

Les statistiques nationales sur le surpoids et l'obésité infantiles, particulièrement celles touchant les âgés de 6 à 15 ans sont quasi inexistantes, si ce n'est les quelques tentatives effectués dans certaines wilayet. A l'est algérien, l'étude menée à Constantine en 2001 et 2002, chez les âgés de 10 à 16 ans, a enregistré en surpoids et obésité des valeurs de 6,9% chez les garçons et de 14% chez les filles. L'obésité seule touche 1,7% des garçons et 4,7% des filles (Mekhancha-Dahel, 2005). A Tébessa, la prévalence du surpoids et de l'obésité pour les enfants de 5 à 8 ans est de 6,36% : elle est passée de 7,44% en 1998 à 5,81 % en 2005. Les garçons sont plus en surpoids que les filles (5,60% contre 4,18%) et les filles sont plus obèses que les garçons (1,58% contre 1,26%) (Taleb et al, 2010). De 8 à 12 ans, la prévalence du surpoids et de l'obésité à l'est algérien est de 21,5%. Le surpoids seul touche 15,9% et l'obésité 5,6% (Oulamara et al, 2006). A Alger (Centre algérien), une étude menée dans 06 communes sur 2832 adolescent de 12 à 17 ans déterminé une prévalence de surpoids dont obésité de 18% (15% chez les garçons et 21% chez les filles) et une prévalence d'obésité seule de 4% (4% pareillement chez les deux sexes) (Allam et al, 2011). A Mascara, la prévalence du surpoids incluant obésité chez les enfants de 9 à 12 ans et de 9% (Mehenni et al, 2011). A Sidi Bel Abbès (ouest algérien) Soulimane, et al. (2008) ont montré que la prévalence du surpoids chez les enfants scolaires de 13-18 ans en 2007 est de 8,3% et celle de l'obésité est de 1,7%. Pour leur part, Diaf et Khaled (2011) ont trouvé, dans la même wilaya en 2008 chez des élèves de 8 à 15 ans, un taux de prévalence globale de surpoids, selon différentes méthodes, variant de 7,23 à 7,94 et celui de l'obésité de 3,73% à 4,43%. En outre l'étude de Diaf et Khaled (2011) a montré que les filles ont une plus forte prévalence de surpoids que les garçons et au contraire, les garçons ont une plus forte prévalence d'obésité que les filles. Quant à Soulimane (sd), la prévalence de l'obésité à Sidi Bel Abbes chez les adolescents de 10 à 19 ans est de 4% chez les garçons et de 11% chez les filles.

Pour la quasi-totalité des études menées en Algérie, il y a consensus sur le fait que le taux de prévalence du surpoids et de l'obésité est considéré comme élevé. Il constitue, vraisemblablement, un problème majeur de santé publique, qui nécessite une intervention préventive affectant les différents facteurs exogènes de cette pandémie, notamment l'alimentation non équilibrée et la tendance au grignotage et un mode vie de plus en plus sédentarisé.

La littérature sur la physiologie de l'activité musculaire s'accorde sur un effet bénéfique de l'activité physique des enfants et des adolescents sur leur santé et de la garantie qu'elle procure pour une continuité d'une activité à l'âge adulte et par conséquent un effet bénéfique sur la santé à l'âge adulte (Blair *et al.*, 1989). Selon Baquet *et al.* (2007), la relation charge et effet entre le niveau et le type d'activité physique et son impact sur la santé n'est pas encore déterminée chez les enfants. Cependant, Strong *et al.* (2005) avaient montré, avant terme, qu'en règle générale les effets bénéfiques de l'activité physique sur les différents déterminants de la santé sont plus marqués que les enfants obèses ou en surpoids. Pour Baquet *et al.* (2007), les enfants qui sont les plus actifs ont un pourcentage de masse grasse moins important. Un programme composé d'activités physiques modérées permet de réduire sensiblement la masse et la masse grasse d'adolescents et d'enfants en surpoids, mais est sans effet sur une population normale. Un programme composé d'activités physiques intenses pourrait avoir un effet bénéfique sur cette dernière.

Aussi, compte tenu du fait que les habitudes alimentaires soient un facteur prépondérant déterminant l'obésité infantile (Mehenni *et al.* 2011) et des adolescents (Allam *et al.* 2011), il est utile d'accompagner le programme d'activités physiques d'un programme de sensibilisation aux sujets en surpoids et obèses ainsi qu'à leurs parents, afin d'avoir un impact le plus positif possible.

Notre étude a donc comme **objectif**, de proposer et évaluer un programme d'activités physiques, basé sur des exercices continus (marche, course à pied d'intensité modérée, exercices physiques) et intermittents (basketball, football sur terrain réduit, jeux physiques), afin de déterminer l'effet sur la variation ou non des indicateurs de surpoids et d'obésité (Poids, IMC, Masse grasse), et de capacité physique (mobilité articulaire, Force musculaire abdominal)

Activité physique et obésité :

De nombreuses études ont prouvé qu'une activité physique régulière était source de bien-être et de santé [American College of Sports Medecine (1988), Blair SN, Cheng Y, Holder JS.(2001)]. Connaître la quantité d'Activité physique pratiquée est donc essentiel pour le suivi de l'état de santé des individus et des collectivités.

L'Activité physique est un comportement et la dépense énergétique est le coût de ce comportement. La dépense énergétique est le produit de la fréquence, la durée, l'intensité et le type d'activité réalisée.

C'est la mesure de la quantité d'exercice, qui détermine un plus ou moins grand bénéfice sur la santé. L'Activité physique est exprimée par une dépense énergétique en Mets (en multiple du métabolisme de repos), ou par un indice symbolisant un niveau d'activité. Plusieurs facteurs peuvent l'influencer : l'âge, le poids et le niveau d'aptitude physique entre autres. L'Aptitude physique est synonyme de « fitness», c'est l'habilité ou la capacité à accomplir et à pratiquer une activité [Kesaniemi et al. 2001]. L'Aptitude physique est caractérisée par ses composantes musculaire, motrice, métabolique et cardiorespiratoire. Plus souvent qu'autrement, on ne mesure que cette dernière composante (VO2max), laquelle est reconnue comme un indice important de l'Aptitude Physique.

De nombreuses méthodes permettent de connaître la dépense énergétique ou VO2max. Ces paramètres peuvent être mesurés avec précision en laboratoire mais cela est très coûteux et peu réaliste dans le cadre d'études épidémiologiques.

Une autre étude réalisée par N. Khelifi, et al. (2005) portant sur l'impact de l'activité physique sur le profil métabolique de l'adulte obèse, rapporte que l'obésité, problème sérieux de sante, est due à l'accumulation simultanée de plusieurs facteurs de risque, en particulier les mauvaises habitudes alimentaires et la sédentarité.

Méthodologie de la Recherche

L'enquête nationale sur le surpoids, l'obésité, et les facteurs associés que nous avons engagé auprès des enfants scolarisés au primaire (enfants du 1^{er} et 2^{eme} palier élémentaire) en se référant aux normes de l'IOTF " international obesity task force" qui détermine l'obésité 1 (surpoids) pour un IMC compris entre 25 et 29,9 et l'obésité 2 pour un IMC supérieur à 30, répondra à plusieurs questionnements au sujet des enfants scolarisés dans le cycle primaire qui se résumeront comme suit:

1. *quel est la prévalence de l'obésité 1 et 2 ?*
2. *quel est la répartition des prévalences d'obésité 1 et 2 à travers les âges et les sexes?*
3. *quels sont les facteurs qui peuvent influés sur la prévalence de l'obésité 1 et 2.*

Cette recherche est extrêmement complexe vu les le nombre de paramètres qui interviennent, d'une part et d'une autre part à cause des difficultés particulières de l'enquête de terrain (séances de mesure, distribution et récupération de questionnaires). L'importance de cette étude sur plusieurs plans, pour notre pays, nous a encouragé à persévérer, essentiellement à finaliser l'échantillonnage national.

Nous avons débuté par lancer l'enquête au niveau de la capitale comme opération pilote pour étendre l'enquête sur le reste du pays.

Cette recherche est extrêmement complexe vu les le nombre de paramètres qui interviennent, d'une part et d'une autre part à cause des difficultés particulières de l'enquête de terrain (séances de mesure, distribution et récupération de questionnaires). L'importance de cette étude sur plusieurs plans, pour notre pays, nous a encouragées à persévérer, essentiellement à finaliser l'échantillonnage national. On a débuté par lancé l'enquête au niveau de la capitale (ALGER) comme opération pilote pour étendre l'enquête sur le reste du pays.

Pour les besoins organisationnels de l'enquête, nous avons constituée six équipes de trois enquêteurs chacune, chapeautées par les membres de l'équipe de recherche et qui fonctionnent selon un planning préalablement établis.

Echantillon et Méthodes :

L'enquête transversale a été réalisée selon le découpage des trois directions de l'éducation de la wilaya d'Alger ; Alger ouest, Alger centre et Alger ouest avec les mesures anthropométriques et questionnaires et cela depuis septembre 2011.

Population :

L'étude porte sur 851 établissements scolaires d'enseignement élémentaire au niveau de la wilaya d'Alger qui totalisent 10865 classes. La population est estimée à 322099 élèves qui sont répartis comme suit:

- *Direction Alger Centre qui totalise 61894 élèves, 211 établissements et 2825 classes.*
- *Direction Alger Est qui totalise 138956 élèves, 346 établissements et 4306 classes.*
- *Direction Alger Ouest qui totalise 121249 élèves, 294 établissements et 3734 classes.*

Nous avons procédé par la technique d'échantillon aléatoire simple au sein de chaque DE (direction d'éducation) sans exclure les écoles privées qui sont au nombre de 78 écoles recensées.

L'enquête transversale a été réalisée selon le découpage des trois directions de l'éducation de la wilaya d'Alger ; Alger ouest, Alger centre et Alger ouest avec les mesures anthropométriques et questionnaires et cela depuis septembre 2011.

Tableau 1 : Répartition des établissements à travers les DE

Echantillon Direction d'éducation	Nombre d'écoles		Nombre d'élèves
	publiques	privées	
Alger est	45	2	8958
Alger centre	30	5	6510
Alger ouest	40	2	7951
Direction wilaya d'Alger	115	9	23419

Déroulement de l'enquête

Parmi les étudiants de 5^{ème} année à l'Ecole Supérieure en Sciences et Technologie du Sport et des résidents en médecine du sport, des enquêteurs ont été formés pour la réalisation de l'enquête durant 2 semaines puis repartis sur en équipes sous l'égide des membres de l'unité de recherche. La formation a porté sur la standardisation des prises de mesures anthropométriques, l'heure, le respect du planning des visites, les questionnaires qui doivent être remplis individuellement mais lus à haute voix et surveiller sans intervenir (toute l'équipe doit être présente lors de la distribution des questionnaires. La présence de l'enseignant d'un ou des enseignants est préférable).

Informations récoltées (14461 élèves)

a- Anthropométrie

- Poids, points anthropométriques, longueurs, périmètres et plis cutanés, en prenant soin de mentionner clairement la date et lieu de naissance, le jour et l'heure de l'enquête et le nom de l'enquêteur.

b- Caractéristiques socio économiques

- Date et lieu de naissance, fratrie, catégorie socioprofessionnelle, habitat, distance école domicile et moyen de la parcourir.

c- Habitudes alimentaires:

- Prise ou non de petit déjeuner
- Collation de 10h00
- Consommation de fruits

- Collation de 16h00
- Consommation boissons sucrées et friandises
- Environnement des repas.

d- Activités physiques et dépenses énergétique

- Temps passé devant la télévision et jeux vidéo
- Temps de marche entre la maison et l'école
- Nombre de marches d'escaliers entre la maison et l'extérieur
- Cours de soutien privés à l'extérieur et à domicile
- Activité physique à l'extérieure
- Activité physique encadrée

Résultats sommaires

Pour l'ensemble de l'échantillon, la moyenne d'âge est de 8.02 ± 0.86 ans la moyenne de taille est de $127,23 \pm 3,93$ cm et le poids moyen est de $27,73 \pm 4,79$ kg.

Tableau 2 : Paramètres totaux pour l'ensemble de l'échantillon

Paramètres	Poids (Kg)			Taille (cms)		
	Filles ans	Garçons ans	moyenne	Filles ans	Garçons ans	moyenne
6 ans	2 2.56	23. 62	23,09±2, 58	11 8.33	11 9.66	118,99±4, 52
7 ans	2 3.36	23. 30	23,33±3, 12	12 0.68	12 2.36	121,52±4. 66
8 ans	2 9.71	28. 65	29,18±5. 69	12 6.98	12 6.12	126,55±3, 85
9 ans	2 9.98	31. 47	30,72±5, 18	13 1.51	13 1.02	131,26±5, 12
10 ans	3 2.25	32. 45	32,35±4, 82	13 8.32	13 7.36	137,84±5, 67

La prévalence de l'obésité de type 1 chez les filles (18,52%) est plus élevée que chez les garçons (17,56%), par contre la prévalence de l'obésité de type 2 est plus élevée chez les garçons (2,9) que chez les filles(2,1).

La prévalence de l'obésité 1 chez les filles est la plus élevée à l'âge de 10, par contre la prévalence de l'obésité de type 2 chez les garçons est la plus élevée à l'âge de 7 ans.

Caractéristiques socio-économiques

Le ratio fille/garçon est de 0,86. La part des élèves résidants en milieu rural est de 26%. En ce qui concerne la fratrie 7% sont enfant unique et 45% ont entre 2 et 3 frères et sœurs, 29% ont en plus de 3.

Tableau 3 : Prévalence de l'obésité 1 et 2 selon la catégorie socioprofessionnelle

CSP Père*	Enfants en surpoids Obésité 1 et 2 %
Cadre sup	11,61
Cadre moyen	12,52
Chef d'entreprise	11,96
Artisan**	13,67
employer	14,36
journalier	16,62
Sans emploi	19,25

*csp: catégorie socioprofessionnelle. ** artisan, commerçants

Tableau 4 : Prévalence de l'obésité 1 et 2 selon la catégorie socioprofessionnelle mère en%

Csp* mère	Enfants en surpoids Obésité 1 et 2 %
Cadre sup	11,58
Cadre moyen	11,81
Chef d'entreprise	12,76
Artisan**	13,67
employer	14,86
journalier	16,62
Sans emploi	18,65

*csp: catégorie socioprofessionnelle. ** artisan, commerçants

Les prévalences de l'obésité de type 1 et 2 sont plus importantes chez les catégories de famille à bas revenus. Les corrélations statistiques avec le type d'alimentation sont à relever, mais

selon le champ théorique, cette situation peut être reliée au manque, voire à l'absence de consommation de fruits et viandes. Plusieurs paramètres sont à l'étude statistique qui nous informera plus en profondeur.

Activités Physiques

Les résultats préliminaires de l'enquête font ressortir que seulement 12.56% d'enfants font de l'activité physique en milieu organisé (clubs et associations), parmi eux 61.12% ont entre 7 et 8 ans ce qui laisse penser que les parents ont tendance à retirer leurs enfants de la pratique physique au fur et à mesure qu'ils avancent dans leurs scolarités. 22.68% des élèves marchent moins de 30 minutes par jour, 29.68% parmi eux sont en surpoids et ont 9.58 ans. 21% des élèves prennent des cours de soutien le mardi et vendredi (36% à Alger Centre) ce qui les élimine de la pratique sportive en milieux organisés. Les corrélations avec les cas de surpoids sont à relever.

Habitudes Alimentaires

Parmi l'échantillon, 19% ne prennent pas de petit déjeuner et 42,14% d'entre eux sont en surpoids, 12,52 % sont en obésité de type 2. En ce qui concerne la consommation de boissons sucrées, 60.56% de l'échantillon en consomme régulièrement. 61.21% des élèves consomment régulièrement des friandises comme collation à 10h00 ou à 16h00, parmi eux les 36.72% des élèves de 10 ans sont en surpoids.

Conclusions

Nous avons procédé à l'échantillonnage de la population, à l'organisation de l'enquête, à la formation des enquêteurs et la récolte des informations pour un échantillon de plus de 23000 enfants. Les informations récoltées font l'objet d'une étude statistique en attendant d'étendre le reste de l'enquête sur le reste du pays. En plus de l'utilité immédiate des informations qu'on va recueillir, elles nous serviront pour des études longitudinales dans les années à venir, ce qui nous aideront à comprendre la dynamique du développement du phénomène de surpoids dans notre pays et les moyens de le prendre en charge de manière efficace et à moindre coût.

Beaucoup de mesures anthropométriques ont été réalisés au CNMS grâce au partenaire socio-économique.

Introduire ABSOLUMENT la séance d'éducation physique dans le programme d'enseignement du cycle primaire !!

Aménager des espaces de jeux de base (saut de cordes, marelle, saute moutons...)

ACCESSIBILITE A LA PRATIQUE SPORTIVE

Utilisation commune des moyens humains et matériels des différents ministères
Textes de lois à appliquer ou à prévoir.

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

Références

Allam F., Sais, Z., Ouchefoun A., et al., (2011). Etude du surpoids, de l'obésité et des facteurs associés au surpoids chez les élèves du cycle moyen scolarisés dans les collèges publics de l'EPSP Bouzaréah, SMEP.

American College of Sports Medecine (1998) : Opinion statement on physical fitness in children and youth. *Med Sci Sports Exerc*;20:422-3.

Baquet, G., Blaes, A., Berthoin, S., (2007). L'activité physique chez l'enfant et l'adolescent, in Van Pragh, E., *Physiologie du sport : Enfant et adolescent*, De boeck, Bruxelles, pp. 17-47.

Blair SN, Cheng Y, Holder JS.(2001) : Is physical activity or physical fitness more important in defining health benefits? *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(6 Suppl.):S379-99.

Blair, S. N., Kohl, H. W., Paffenbarger, R. S. et al. (1989). Physical fitness and all causes mortality point prospective study of healthy men and women, *J. Am. Med. Assoc.*, 262: 17, pp. 2395-2401.

Soulimane, A., Bradai, S., Allal, I. O., Merbouh, M. A., (2008). Prévalence du surpoids et de l'obésité chez les enfants et les adolescents scolarisés dans la wilaya de sidi bel abbes, *Rev. Epidemiol. Santé publique*. 56 : 5S (Abstract).

Diaf, M., Khaled, M. B., (2011). Prévalence de surpoids et d'obésité chez des enfants de 8-15 ans à sidi bel abbes, Congrès international de nutrition, Oran du 22 au 23 mai (2011) (Résumé).

International Obesity Task Force. EU Platform Briefing Paper 2005. EU Platform on Diet, Physical Activity and Health. (décembre 2005).

Kesaniemi YA, Danforth EJR, Jensen MD, Kopelman PG, Lefebvre P, Reeder BA. (2001) : Dose-response issues concerning physical activity and health: an evidence-based symposium. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33 (Suppl.):S351-8.

Khelifi N., F. Hammami, H. Jammoussi, A. Falfoul, S. Bhouiri, C. Amrouche, S. Blouza (2011) : Impact de l'activité physique sur le profil métabolique de l'adulte obèse. 2011. Editions Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Lakhdar, D. A., Meddah, B. A., Bedjaoui, M. B., (2011). L'importance de l'activité physique dans l'équilibre du diabète de type 2. Congrès international de nutrition, Oran du 22 au 23 mai (2011) (Résumé).

Marsaud, O., (2003). L'Égypte des gros : L'obésité des égyptiens. Découverte-Afrique du nord- Égypte-Santé. [www.afrik.com/article6465htm].

Mehenni, F., Tir Touil, A, Meddah, B., (2011). Prévalence du surpoids et de l'obésité et facteurs associés chez les enfants scolarisés dans la région de Mascara (Algérie), Congrès international de nutrition, Oran du 22 au 23 mai (2011) (Résumé).

Mekhancha-Dahel, C., (2005). Cadre pour la surveillance nutritionnelle des enfants et adolescents (cas du Khroub constantine, Algérie) 1996/97, 1999/00, 2001/02, Thèse de doctorat d'état en nutrition, Université de Constantine.

OMS, (2011). Facteurs de risques, Statistiques sanitaires mondiales, OMS

Oulamara, H., AGLI, A., Frelut, M.-L., (2006). Alimentation, activité physique et surpoids chez des enfants de l'Est algérien, *Cahiers de nutrition et de diététique*, 41 : 01, 2006, pp. 46-54.

Soulimane, A., (sd). Santé scolaire et des jeunes en Algérie : Peut-on parler de promotion de la santé ?, Colloque francophone International « promotion de la santé et éducation pour la santé : état des connaissances et besoins de recherches. [http://pses.crp-santé.lu/fr/Soulimane.A3J3.pdf].

Strong, W. B., Malina, R. M., Blimkie, C. J. R., (2005). Evidence based physical activity, for school age youth. *J. Pediatr.*, 146, pp. 732-737.

Taleb, S., Oulamara, H., Agli, A. N., (2010). Prévalence du surpoids et de l'obésité chez les enfants scolarisés à Tébessa entre 1998 et 2005, *Eastern Mediteranean Health journal*, 16 : 07.

World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series no°894. Geneva: World Health Organization; 2000.

LA PRISE EN CHARGE DE L'ENFANT DIABETIQUE PAR LES FAMILLES

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

The care of the child diabetic by families

SALEMI.O

Université Abdelhamid Ben Badis, Mostaganem.

Résumé

Cet article repose sur les premiers résultats d'un travail de recherche en cours, mené dans le cadre de notre thèse de doctorat, ayant comme thème la prise en charge de l'enfant diabétique par les professionnels de santé et les familles. Nous tenterons ici de comprendre et d'analyser la façon dont les familles prennent soin de leur enfant atteint de diabète. Il s'agit précisément de décrypter leurs façons de faire et leurs logiques « profanes », en nous appuyant sur les représentations, les pratiques et les différentes expériences socio-sanitaires déployées principalement par les mères, dans l'accomplissement d'un ensemble d'actes techniques et sociaux quotidiens, assurés de façon invisible, gratuite et peu reconnue, aussi bien à la clinique que dans les espaces domestiques. Notre étude a montré l'impact psychosocial de la survenue du diabète de l'enfant, causant un véritable ébranlement au sein de la famille. Cette dernière et principalement la mère, actrice incontournable du prendre soin de son enfant, participe à la reconfiguration des savoirs profanes et professionnels, endossant ainsi un nouveau rôle. L'incertitude, qui caractérise cette affection chronique, met la mère dans un processus perpétuel d'innovation, à la recherche d'un équilibre entre les contraintes inhérentes à la maladie et le vécu au quotidien.

Mots clefs : prise en charge, diabète, enfant, mères, savoir d'expérience, innovation

Abstract :

This article bases on the first results of a current research work, led within the framework of our doctoral thesis, having for theme the care of the child diabetic by the healthcare professionals and the families. We shall here try to understand and to analyze the way families take care of their child affected by diabetes. It is exactly a question of deciphering their manners to make and their "profane" logics, supported by the representations, the practices and the various socio-sanitary experiences deployed mainly by the mothers, in the fulfillment of a set of daily technical and social acts, assured in a invisible, free and little recognized way, as well to the private hospital as in the domestic space. Our study showed the psychosocial impact of the arisen of the diabetes of the child, causing a real shaking within the family. The latter and mainly the mother, the major actress of to take care of her child, participates in the reconfiguration of the profane and professional knowledges, so assuming a new role. The uncertainty, which characterizes this chronic affection, puts the mother in a perpetual process of innovation, in search of a balance between the constraints inherent to the disease and the real-life experience on a daily basis.

Key-words : care, Diabet, child, mothers, knowledge of experience, innovation

Plan:

Introduction

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

Approche théorique

Cheminement méthodologique

De l'annonce du diagnostic à l'insuline : l'ébranlement des mères

Le rôle des mères dans le diagnostic de la maladie

L'annonce du diagnostic : un marquage social

L'injection d'insuline : un acte empreint de violence symbolique

Le diabète de l'enfant : une charge physique et mentale assurée par les mères

Relation fusionnelle : privation et sacrifice de soi

Une surveillance soutenue et sans relâche

Une nouvelle gestion du temps

Rupture de l'activité professionnelle

Une discipline temporelle accentuée

De l'importance des regroupements des mères d'enfants diabétiques

La clinique : un lieu de socialisation et d'apaisement

Les regroupements : transmission des savoirs entre mères

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction

Actuellement, les maladies chroniques prennent de plus en plus d'importance dans les sociétés où l'espérance de vie ne cesse de croître. Elles constituent ainsi un enjeu capital non seulement du point de vue scientifique et médical mais aussi du point de vue économique et social (Carricaburu, Ménoret, 2004).

En Algérie, le diabète est le deuxième état morbide le plus fréquent (8.78%) après l'hypertension artérielle (16,23) (TAHINA, 2007). Affectant les couches les plus jeunes de la société, le diabète de type 1(DT1) est en forte progression chez l'enfant. Il constitue un réel problème de santé publique, en raison de l'impact financier lié à ses multiples dépenses (insuline, bandelettes, examens et analyses, etc.), son incurabilité, mais aussi en rapport aux multiples contraintes qui affectent aussi bien l'enfant qui en est atteint, sa famille, que ses complications potentielles (cécité, pied diabétique, complications rénales, etc.).

L'objet de notre étude est de mettre l'accent sur les savoirs, les pratiques et les représentations sociales autour de la prise en charge du diabète de l'enfant. Il s'agit d'étudier précisément la façon les familles prennent en charge l'enfant diabétique aussi bien au sein de la clinique pédiatrique qu'à l'intérieur des espaces domestiques. Nous entendons par prise en charge les différents actes socio sanitaires déployés au quotidien par les familles, à savoir les prises d'insuline, le régime alimentaire, les mesures de glycémie, la prévention des complications, la surveillance, etc. Nous avons tenté précisément de décrypter leurs façons de faire et leurs logiques « profanes », en nous appuyant sur les représentations, les pratiques et les différentes expériences socio-sanitaires déployées principalement par les mères, dans l'accomplissement d'un ensemble d'actes techniques et sociaux quotidiens, assurés de façon invisible, gratuite et peu reconnue, aussi bien à la clinique que dans les espaces domestiques. Il s'agit de mettre en exergue la notion de complexité (Morin, 2008), liée en grande partie à l'incertitude au cœur de la maladie chronique (Strauss, 1992). Cette complexité révèle des trajectoires de la maladie discontinues, houleuses, dramatiques, marquées de façon dominante par l'errance sociale et thérapeutique des familles. Elle dévoile aussi l'ampleur de la gestion du diabète de l'enfant, nécessitant la rencontre avec une multiplicité d'acteurs (familles, professionnels de la santé, pharmaciens, biologistes pour les différentes analyses etc.).

Approche théorique

Il est important de rappeler que les travaux sociologiques précurseurs sur les maladies chroniques ont été l'œuvre de chercheurs américains appartenant à l'école interactionniste. Celle-ci a produit des études microsociologiques qui montrent bien la construction sociale de la réalité socio sanitaire par les différents acteurs de la santé (médecins, infirmiers, familles, etc.). En effet, Anselm Strauss (1916-1996), sociologue américain et l'une des figures emblématiques de l'interactionnisme symbolique, avait appelé dès 1973, à revoir le modèle de soin élaboré pour les maladies aiguës et qui ne convenait plus aux affections chroniques et où l'acteur principal ne serait plus le médecin mais le patient. L'hôpital ne serait donc plus le centre géographique mais le domicile du malade (Strauss, 1992). Ses recherches ont eu le mérite d'objectiver les savoirs profanes déployés par les patients et leurs familles et de mettre en exergue les dynamiques socio sanitaires produites dans un double espace sanitaire et domestique. Sa démarche est pertinente dans la mesure où il appréhende la prise en charge de la maladie chronique en termes d'action. En effet, la gestion quotidienne de la pathologie chronique, n'est pas uniquement une modification du travail assuré par les médecins de l'hôpital, elle met en interaction pour une période de temps indéterminée, les acteurs de la maladie chronique (patients, soignants, familles, etc.)

et ce dans toutes les sphères de la vie sociale (Baszanger, 1986). Feudtner (1995), dans son analyse de l'histoire de la prise en charge du diabète insulino-dépendant, a montré les tensions engendrées par la découverte et l'utilisation de l'insuline en 1922 « modelant les vies

des personnes diabétiques, de leurs familles et également des médecins en charge de cette maladie qui peu à peu va devenir une maladie chronique » (Carricaburu,2004).

On rappellera que les études d'Augé et de Herzlich (1984) ont montré que la maladie recouvre une dimension sociale. Celle-ci est indissociable des pratiques et des représentations sociales à l'œuvre dans une société. Face à la maladie, le patient et sa famille sont conduits à devenir des acteurs sociaux, en la nommant, en l'identifiant, en l'interprétant et en décidant de recourir à telle ou telle offre thérapeutique. Cette perspective de recherche a le mérite d'insister sur la non-autonomie de la maladie et de la santé qui viennent s'imbriquer dans le social et le politique.

Mebtoul (2003), dans son article intitulé « les significations attribuées par les médecins et les patients à la prise en charge du diabète en Algérie », a insisté sur la complexité de la prise en charge de la maladie. Cette dernière « ne s'enferme pas mécaniquement dans l'imposition de la norme médicale. C'est en réalité toute la société qui impose aussi ses normes sociales et ses règles qui ont des effets pervers sur le mode de gestion de la maladie chronique » (Mebtoul, 2003). En outre Salemi (2010), dans une recherche récente, montre bien les différentes contraintes sociales (dimensions financière, hédonique, gustative, etc.) auxquelles font face les femmes diabétiques dans le suivi de leurs régime alimentaire. Elle a aussi mis en exergue l'importante charge de travail physique et mentale assurée par les femmes. Ces dernières, « en plus des charges domestiques habituelles, elles doivent aussi faire face à la nouvelle situation engendrée par l'avènement de la maladie de leur enfant. Pour cela, elles se doivent d'être très assidues en suivant des cours durant lesquels, elles apprennent des gestes très techniques, comme mesurer la glycémie, calculer les types et les doses d'insuline à injecter mais aussi reconnaître et agir face à l'hypoglycémie ou à l'hyperglycémie. Elles doivent aussi s'astreindre à un planning concernant la préparation des repas et sur la disponibilité des aliments dont elles ont besoin ». Toutes ces recherches nous semblent originales et importantes pour nous permettre d'approfondir notre nouveau questionnement centré sur la prise en charge de l'enfant diabétique.

Cheminement méthodologique

Les recherches qualitatives constituent des outils privilégiés pour appréhender les comportements de manière plus globale car elles s'attachent aux dimensions subjectives des situations et des actions. En effet, travaillant sur le sens que les gens donnent à leurs actions, cette forme de recueil de données empiriques, permet de saisir les mécanismes et processus par lesquels, ils sont venus à se retrouver dans une situation donnée mais aussi, comment ils s'efforcent pour la gérer (Bertaux, 1997). Cette posture méthodologique est basée sur des entretiens individuels, approfondis, répétés et de longue durée (entre une heure et demi et deux heures environ) et l'observation fine et détaillée des différents espaces investis et des interactions entre les différents intervenants. Ces deux techniques jumelées nous paraissent les mieux adaptées afin de « relever les discours et les situations permettant d'accéder aux croyances, aux représentations, aux pratiques et aux institutions qui donnent sens à une société » (Fassin, 1990).

Dans un premier temps, nous nous sommes limités à des observations parcellaires et des entretiens informels qui nous ont permis de construire le guide d'entretien. Nous avons observé les interactions entre les différents acteurs impliqués dans la gestion de la maladie, à savoir le jeune diabétique, les professionnels de santé et les familles.

Nous avons assisté aux séances d'éducation thérapeutique menées auprès des enfants diabétiques et de leurs proches au sein de la clinique et aux regroupements des mères

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

d'enfants diabétiques, sous égide associative et avec l'aide de laboratoires pharmaceutiques, assurant l'hébergement et la restauration des familles. Un programme étalé sur 4 jours (voir annexe 14) est composé de cours présentés par les résidents et maîtres-assistants de la clinique. Il s'agit de présentations illustrées sur la maladie du diabète, comportant les modalités de prise d'insuline, l'activité sportive, l'alimentation, etc. Ces séances sont entrecoupées et suivies de questions réponses. Des activités de loisirs sont prévues aussi bien pour les enfants que pour les mères.

Notre enquête a eu lieu à la clinique pédiatrique C spécialisée dans le suivi des enfants diabétiques et d'autre part, dans les domiciles des familles ayant un enfant atteint de diabète. Notre investigation a permis la réalisation de 20 entretiens approfondis et répétés avec les membres les plus proches du patient (mère, sœur, grand-mère, père, etc.). Dans le choix des familles, l'accent a été mis sur la diversité des statuts et des conditions sociales. Le nombre des enquêtés a été déterminé en fonction de la saturation de l'information. Il ne s'agit nullement d'un échantillon représentatif, dans la mesure où, comme le montre Sylvie Fainzang (1994) : « *une réalité donnée ou une situation donnée n'a pas besoin d'être représentative au sens strict pour être pertinente anthropologiquement, et où à cet égard, l'étude de quelques cas individuels, peut nous apprendre autant de choses que celles de cas multiples.* »

De l'annonce du diagnostic à l'insuline : l'ébranlement des mères

La survenue du diabète de l'enfant constitue un « évènement social malheureux », menaçant et modifiant parfois de façon irrémédiable la vie individuelle, l'insertion sociale et l'équilibre collectif, particulièrement au sein de la famille (Adam ; Herzlich, 1994). Ses conséquences significatives sur le plan identitaire, font qu'elle est vécue comme une véritable « rupture biographique », selon l'expression de Bury (1982), dans la mesure où elle désorganise durablement les ajustements de la vie quotidienne (Baszanger, 1986). Sa prise en charge ne consiste pas seulement à se conformer aux prescriptions médicales. S'agissant de l'enfant et parfois encore de nourrisson, le travail de gestion de la maladie est dévolu à la famille, et surtout à la mère, qui en fait un acteur central dans la réalisation des soins de santé.

Notre investigation a montré à quel point le diabète est vécu comme un bouleversement, un véritable drame. Nos interviewées, les mères, sont unanimes à le qualifier de choc. Choc à l'annonce de la maladie, « *la maladie de mon fils, c'est comme une bombe qui a explosé dans ma maison* ». La métaphore de la bombe indique bien cette image très forte de l'explosion et de l'effondrement et qui opère une rupture brutale avec la vie antérieure. Le choc est également exprimé quant à la cause présumée de sa survenue (circoncision, choc émotionnel, etc.).

Ainsi, l'annonce du diagnostic engendre des tensions et modèle les vies, non seulement des personnes qui en sont atteintes, mais aussi l'entourage familial et particulièrement les mères. Ces dernières, se retrouvent et de façon quotidienne face à une maladie qui s'inscrit dans le long terme et avec laquelle, il va falloir composer et ce, dans les différentes sphères de la vie sociale (clinique, domicile, école, etc.). Elles doivent acquérir une multitude de données sur la maladie et la maîtriser.

Occupant un rôle pivot, elles sont omniprésentes à la clinique, du matin jusqu'au soir pour apprendre à faire les injections, à calculer les doses d'insuline, surveiller leur enfant, apprendre à faire face en cas d'incidents d'hypoglycémie ou d'hyperglycémie, bref à connaître tout ce qui a trait à la prise en charge de leurs proches diabétiques, occupant ainsi

« une position de relais entre les univers domestique et extra domestique » (Saillant, 1999). Elles prennent ainsi une part importante dans la dynamique sanitaire « profane » intégrée à leurs autres activités quotidiennes (Mebtoul, 2000).

La mère de l'enfant diabétique qui assure le rôle essentiel de la gestion de la maladie. Un travail relativement peu visible et tenu pour naturel, et qui révèle une inégale répartition des tâches entre les mères et les pères au sein des familles d'enfants diabétiques, une division sexuée du travail, au détriment des mères, mettant en lumière **leur grande solitude**.

Les propos issus des entretiens avec les mères d'enfants diabétiques, montrent la rupture brutale provoquée par l'annonce du diagnostic. Celui-ci opère un véritable marquage social, s'incrétant profondément dans la vie des familles. Il provoque un bouleversement dans leurs comportements et un changement dans leurs habitudes quotidiennes. La survenue du diabète est perçue comme un événement dramatique qui ébranle toute la famille et principalement la mère. D'autant plus qu'elle est accompagnée par la peur de l'hypoglycémie, assimilée à la mort, mais aussi de la difficulté de faire les injections d'insuline et d'en calculer les doses. L'utilisation des termes « ndirah fi hadjri » (je le mets sur mes genoux), « nlezahandi » (je le mets près de moi), la douleur ressentie dans l'injection de l'insuline, révèlent une proximité des corps. Cette relation fusionnelle, où les frontières personnelles ne sont pas clairement établies entre la mère et l'enfant, laisse entrevoir un rapport de dépendance mutuel l'un à l'autre autour du besoin de l'enfant d'être soigné et de la mère, d'assurer d'abord la survie physique de son enfant. D'où un imaginaire focalisé de façon constante sur l'état de santé de son enfant, une forte identification et une projection sur lui. Cette surveillance soutenue et sans relâche de jour comme de nuit, a pour conséquence une importante charge de travail mentale et physique et une nouvelle organisation du temps. Enfin, la clinique Saint Michel, en plus de prodiguer les soins, contribue fortement à apaiser la douleur des familles, en organisant des regroupements de mères et de leurs enfants diabétiques, créant ainsi un espace de convivialité et de transmission des savoirs.

L'objet de ce premier chapitre consistera à aborder le processus vécu par les mères suite à la découverte du diabète chez leur enfant et les transformations qui en résultent. Mais tout d'abord, il nous semble important d'évoquer en premier l'importance des connaissances profanes de la mère dans l'élaboration rapide et efficace du diagnostic du diabète. Nous montrerons ensuite l'impact de l'annonce de la maladie, vécu de façon dramatique par les familles. Dans le dernier volet, nous verrons comment l'injection d'insuline, exprime une violente portée symbolique.

Le rôle de la mère dans le diagnostic du diabète

Le premier recours des individus en situation de maladie commence dans la famille. Les femmes (mères, conjointes et filles) jouant dans ce contexte un rôle pivot, en continuité de leurs fonctions « naturelles » associées à la sphère reproductrice au sens large pour prendre soin d'autrui (Saillant, 1999). Au-delà de ce constat relativement trivial, qui apparaît comme relevant du sens commun, il nous semble que l'activité sanitaire effectuée par les femmes et principalement par les mères, mériterait plus d'attention. Ce travail relativement peu visible et tenu pour naturel, révèle une inégale répartition des tâches entre les femmes et les hommes.

« On est bien en présence d'une production sexuée de santé parce qu'elle est assurée essentiellement par la femme. » (Mebtoul, 2008).

Dans le processus de prise en charge de la maladie diabétique aussi bien dans les services professionnels de santé qu'au sein du domicile familial, il nous est apparu clairement que le soin filial de première ligne est très majoritairement une affaire relevant quasi exclusivement du domaine des mères. En effet, les mères sont détentrices d'un savoir sanitaire profane. Celui-ci renvoie à une pluralité de compétences basée sur un savoir d'expériences. Ce dernier est déployé devant des situations aussi ordinaires qu'évaluer l'état de santé de son enfant et mettre l'accent sur « ce qui ne va pas ».

Le savoir détenu par les femmes et plus particulièrement les mères, peut fournir des éléments décisifs dans l'élaboration rapide et efficace du diagnostic de la maladie chez leurs enfants. En effet, la question du rôle majeur de la mère dans la découverte du diabète a été souvent soulevée. Son savoir d'expériences fournit les éléments qui éclairent l'usage du savoir médical. L'illustration suivante le montre bien :

« J'ai remarqué qu'il prenait beaucoup d'eau et urinait beaucoup, alors comme son père est diabétique je l'ai piqué au doigt et qu'elle était ma surprise quand j'ai lu : 04g ». (Entretien n°7)

Les connaissances profanes sont bien réelles, dans la mesure où elles sont bien adaptées à leurs objectifs. Leur ignorance pourrait expliquer une bonne partie des erreurs de diagnostic médical, de même que leur prise en compte expliquerait une bonne partie de leur efficacité (Cresson, 1995). Mayall l'avait déjà souligné en 1986, en invitant les professionnels de la santé à faire plus confiance aux mères et à être plus attentifs à leurs demandes qui sont le plus souvent justifiées.

Devant des signes qui alertent, mais qui n'offrent pas d'explication, les familles ont recours aux médecins, aussitôt le diagnostic posé, le désarroi est tel que les familles multiplient leurs recours, dans plusieurs laboratoires d'analyses :

« Ça a commencé durant une semaine, il mangeait beaucoup et surtout il buvait beaucoup d'eau, sans arrêt sans arrêt et de manière anormale alors qu'il ne faisait pas chaud, c'était au mois de janvier !! mon mari a tout de suite fait le lien, étant du domaine médical, mais moi je n'y avais pas pensé, je me suis dis c'était peut-être une infection urinaire, mais je n'ai pas pensé au diabète, on lui a fait l'examen de l'ECB des urines au départ, dans un laboratoire privé et 3 jours après, on a eu les résultats et ils étaient négatifs, en voyant ces résultats mon mari m'a dit qu'il faut qu'on mesure sa glycémie, on est allé aux urgences de l'hôpital, on lui a pris la glycémie à jeun, puis après le repas et on l'a trouvée élevée, tout le personnel de l'hôpital était choqué, ils ne croyaient pas leurs yeux, certains pleuraient, tout le monde nous connaît, c'était un moment très douloureux, mon fils avait 3 ans et 8 mois.

Quand mon mari lui a pris la première fois sa glycémie, il n'a pas voulu me dire, il m'a dit que les résultats ne sont pas encore sortis, mais moi je voyais bien qu'il ne voulait pas me dire, le lendemain, on est allé chez le privé pour refaire l'analyse, la glycémie était toujours élevée, on a refait l'analyse 4 fois, on n'arrivait pas à y croire !! » (Entretien n° 14)

Ainsi la proximité de la mère avec son enfant constitue une dimension centrale dans l'élaboration du sens du mal. Le toucher, observer ses réactions, représentent les premiers éléments qui lui permettent d'identifier et d'interpréter les premiers symptômes. Appréhendant finement les modes de réaction de son enfant, sa posture à l'égard de la maladie s'appuie sur une dimension affective et démontre l'impact douloureux de l'annonce du diagnostic du diabète de l'enfant.

L'annonce du diagnostic : un marquage social

L'annonce du diagnostic de la maladie du diabète chez l'enfant est un événement vécu de façon dramatique par les familles et particulièrement les mères :

« Je n'ai pas encore oublié le choc quand on m'a annoncé le diagnostic de la maladie...la fille qui m'avait remise les analyses m'a dit : « madame le sucre dans ce bilan est 05g, c'est le diabète, il faut faire vite »...alors je ne te dis pas ce que j'ai ressenti...j'ai failli m'évanouir... ». (Entretien N°5).

« Alors c'est le grand événement, le grand deuil...Son père s'est évanoui (bouhghacha)...Ma belle mère et ma belle sœur pleuraient...une nuit noire (lilakahla)...on attendait le matin pour l'emmener à St Michel...personne n'avait diné...personne n'avait dormi... ». (Entretien N°7)

Ces deux extraits illustrent l'ébranlement causé par l'annonce du diabète et ce d'autant plus que cette dernière s'opère de façon très brève et rapide par le médecin traitant:

« Alors écoute bien comment le diagnostic m'a été lancé et le choc que j'ai reçu...debout rongée par la peur et l'inquiétude je tenais Yacine dans mes bras, un médecin venu vers moi me disait directement : « ta fille est diabétique (bentek diabétique) maintenant en urgence elle doit prendre l'insuline »...je m'ébranlais à mon tour sur le sol où on me réveille d'une ampoule de (Calcibronat)... » (Entretien n°2)

Le marquage social résultant de l'annonce du diagnostic du diabète de leurs enfants, soumet les familles et particulièrement les mères à une épreuve douloureuse, « l'opération par laquelle les prétentions des personnes sont confrontées à la réalité » (Boltanski). Il s'agit d'une « épreuve de force », au sens que lui donne Latour, dans la mesure où, au choc de la nouvelle de l'atteinte de leur enfant du diabète, s'ajoute le fait que la mère est directement confrontée aux injections d'insuline. Ces dernières se révèlent comme des moments empreints de douleur et de crispation.

'injection d'insuline : un acte empreint de violence symbolique

L'injection de l'insuline est étiquetée négativement. Elle est un moment crucial, vécue de façon pénible et douloureuse par les proches parents. Elle est d'autant plus insupportable pour les mères, dans la mesure où ce sont elles qui en assurent la tâche. Elles éprouvent une forte tension qui leur rappelle à chaque fois le choc de l'annonce de la maladie :

« Ce qui me fait surtout horreur c'est l'injection ».

Une forte émotion accompagne ce geste très difficile, générant un effroyable sentiment de souffrance très profonde de la mère et la peur de blesser son enfant :

« J'ai accepté difficilement d'apprendre, au début j'ai refusé...quand l'infirmière m'appelle pour y assister je me sauve...j'ai peur de l'insuline...je ne voulais pas la regarder ni la toucher de mes doigts...alors pour piquer les doigts de ma fille ? C'est l'enfer...c'est très dur...je pleure de peur... ». (Entretien N°5).

« Je ne te raconte pas comment je deviens quand c'est le moment de l'injection...la première fois à la maison je ne cache pas, j'avais peur, je tremblai et j'ai même jeté la seringue...quelque chose m'empêchait de le piquer, c'est tellement dur...j'étais devenue une ignorante, une non croyante (djahla)... » (Entretien no7).

« Quand ils lui font l'injection je ne peux pas supporter et jusqu'à ce jour...je sens la tension me monter au moment de l'injection...alors quand le moment de l'injection arrive...c'est infernal...je sens ma tête bouillonner (nhassrassiyatbakh)...je le pique difficilement (ndirhalah bessif)...j'ai demandé à sa tante de le faire à ma place, elle a refusé...alors quand le moment de l'insuline arrive...je souhaite que ce moment ne vienne jamais...ma tête bouillonne, je vais éclater...des fois il s'enfuie, je cours après lui...il se cache...parfois je reste comme ça pendant presque deux heures pour lui faire son injection...jusqu'à ce que le frappe... son père n'a jamais assisté à l'injection...s'il est présent et que c'est le moment de le faire, il sort tout de suite...dès qu'il sait que c'est fini il rentre...je ne te cache pas on espère qu'ils vont lui retirer cette insuline.» (Entretien n°1).

Produisant un imaginaire négatif sur les parents, l'injection d'insuline apparaît ainsi comme une torture morale. Elle semble avoir bouleversé leur vie quotidienne. Le refus du père d'assister au moment de l'injection montre bien que c'est la mère qui va subir tout le fardeau. Cet extrait d'entretien montre bien la solitude de la mère dans sa confrontation à l'insuline. Les autres membres de la famille refusant d'accomplir ce geste parce qu'ils ne le supportent pas. Ceci démontre bien la violence symbolique de l'acte de l'injection de l'insuline. Néanmoins, prendre soin de l'enfant diabétique intègre d'autres membres de la famille, comme la tante, la grand-mère, ou le père n'hésitant pas à le gâter, à faire en sorte qu'il « ne souffre pas » au moment de l'injection. Leur refus d'assister la mère ou de le faire à sa place exprime fortement la charge émotionnelle qui en ressort :

« C'est sa tante qui le prend en charge, qui l'a élevé (mrabyathou). Au moment de l'injection, elle sort. Elle ne supporte pas. Sa grand-mère a pleuré, mais beaucoup plus sa tante (tutrice). Elle sort au moment de l'injection. Elle l'aime énormément.... Sa tante (amteh) le prend toujours en charge, le chérie, le surveille, elle m'avertit sur le moment venu de l'injection et même quand je suis chez mes parents, elle ne cesse de me faire rappeler par téléphone l'horaire de l'insuline...elle le prend en charge depuis sa naissance, elle lui donne ses biberons, le nettoie, le nourrit, le fait sortir en promenade, lui achète des choses, comme si c'était son propre enfant...et il dort aussi près d'elle et jusqu'à ce jour...». (Entretien n°1)

L'absence du père au moment de l'injection et son refus de piquer son enfant, cachent une forte charge affective. Cette dernière s'exprime, entre autres, par le fait qu'il veille toujours à ce que son fils soit parvenu de petites choses « habituelles » qui lui font plaisir :

« Son père n'a jamais assisté à l'injection de l'insuline...s'il se trouve présent et que c'est le moment de le faire, il sort tout de suite...dès qu'il sent que c'est fini il rentre...le matin il lui achète son pain-chocolat avant de partir au boulot, même s'il doit avoir des problèmes de retard...il l'aime beaucoup, il l'a toujours gâté...il n'a jamais abordé le sujet de cette maladie avec Hamza, il ne veut pas lui faire de mal...il a un ami médecin, il lui demande chaque jour un avis à propos des glycémies de Hamza et même les analyses, il les lui montre toujours avant c'était avec les médecins de St Michel...et jusqu'à ce jour, même quand le sucre s'est normalisé... »

La gestion très complexe des doses de l'insuline renforce l'inquiétude et l'ébranlement chez la mère. En effet, la peur de l'hypoglycémie est centrale, elle est liée aux risques encourus : coma, mort :

« Le problème des hypo est très sérieux, la plupart du temps on ne réussit pas toujours à lui ouvrir la bouche ».

« Il m'a fait un coma hypoglycémique trois fois ...la première fois je ne te raconte pas le drame...affolés, on a pris l'enfant et dehors les taxis ne voulaient s'arrêter, mon mari furieux a traversé la rue et au milieu des voitures il criait fort comme un fou : « arrêtez bon sang, prenez mon enfant est en train de mourir »...la deuxième fois...au moment où je sombrais dans le sommeil j'ai entendu du ronronnement (chkhir) et Mounir ne faisait pas ce bruit d'habitude...alors je me suis réveillée en sursaut, mon mari a introduit tout de suite son doigt imbibé de miel dans sa bouche avant qu'il ne la serre...la troisième... j'ai fait l'insuline et j'ai oublié de lui donner son lait...tu sais comme si le bébé venait d'être touché par une force étrange, il criait de toutes ses forces ses yeux fixés sur le plafond, tout son corps serré, on courait ça et là et on le prend en urgence à la clinique Sr Michel ». (Entretien n°8).

« Le problème des hypo est très sérieux...la plupart du temps on ne réussit pas toujours à lui ouvrir la bouche et c'est le coma...alors le temps de chercher un clandestin et surtout quand c'est la nuit...quand je ne trouve pas de clandestin je cours comme une folle, elle va sombrer dans un coma profond et qui me dit si elle va s'éveiller ou non ? Comment sera son réveil ? Elle va sûrement être handicapé...ou bien elle va mourir...». (Entretien n°5).

La réalité de la prise en charge du diabète de l'enfant est une expérience très pénible qui oblige la vigilance, une surveillance H24 sans répit. Ceci accentue l'épuisement moral et physique de la mère.

« Je ne te dis pas que je vis...j'ai oublié que j'existe...je ne dors pas, je n'ai pas un moment de répit, je me néglige en totalité...c'est de la vraie souffrance... moi j'ai un goitre que je traîne depuis 04 ans, je ne prends ni traitement ni je fais les bilans...ma santé je la néglige, elle ne compte plus pour moi...j'ai arrêté le traitement, je sais que c'est grave que je n'épargnerai un handicap, d'ailleurs je n'arrive plus à monter les escaliers sans essouffler...et je suis stressée elle gonfle, elle sort du cou, je ne lui prête aucune attention...ma tête ne travaille que pour elle. » (Entretien n°4)

« je suis seule à le prendre en charge, je suis la maman et le papa...je suis infirmière et j'ai pris une année sans solde pour m'occuper de mon fils parce qu'il prend tout mon temps...je dois le surveiller sans relâche pendant toute la journée et même toute la nuit...

c'est moi qui prend en charge tout le fardeau...ça fait je me suis oublié moi...il n'y a que mon fils qui compte pour moi...j'ai laissé de côté ma vie et toute ma personne...je ne te dis pas l'enfer dans lequel je vis... ». (Entretien N°3).

Le diabète de l'enfant et surtout le traitement à l'insuline ont des répercussions très négatives sur la famille et particulièrement sur la mère. Face au refus de son enfant de faire son injection, elle utilise toutes sortes de stratagèmes (souplesse, promesse de lui offrir un cadeau, changement de position et de place de l'injection, la force, etc.). Elle déploie dans une logique de construction inlassable de compromis afin qu'il accepte mieux son traitement :

« Maintenant, je le mets sur la cuisse (fi houdjri) et je lui fais l'injection en intramusculaire... lui il préfère l'épaule... L'injection de 12h je la mets sur le bras...maintenant, même la bouffe, il la prend sur les cuisses en me disant : « Tu me fais manger et boire ».

La pris en charge de l'enfant semble peser lourdement sur les épaules des mères, dans une relation fusionnelle caractérisée par cette proximité des corps et des sentiments. Elle exprime ainsi un lourd fardeau, qui dénote une dimension affective et un engagement volontariste très forts de leur part. Ainsi elles se doivent d'acquérir un savoir-faire plus performant par l'acquisition de connaissances pertinentes et de techniques. Il s'agit par exemple de reconnaître une hypoglycémie et savoir comment y faire face ou alors mesurer la glycémie, calculer la dose d'insuline et l'injecter, mais aussi organiser les repas selon les prises médicamenteuses et déterminer les besoins alimentaires de leurs enfants.

Le diabète de l'enfant : une charge physique et mentale assurée par les mères

Relation fusionnelle : privation et sacrifice de soi

Dans la vie d'un enfant la relation affective à la mère est primordiale. La dyade mère-enfant, reste encore un sujet de prédilection des psychanalystes, du fait qu'elle constitue une relation singulière, à la limite du normal et du pathologique, dans la mesure où, elle fait l'objet « d'une suspicion générale au motif qu'il ne répond plus aux exigences de la réalisation de soi des individus » (Bastard, 2007). Selon les termes utilisés par Gautier (1979), elle décèle « une vulnérabilité de la relation ». Celle-ci se définit comme cette sensibilité particulière de la relation aux facteurs de risque, variant avec le temps en fonction du développement de l'enfant. Ces trois facteurs de risque, sont liés, à l'enfant, à la mère et aux situations particulières de risque. Dans le cas du diabète, on peut dire que cette sensibilité est liée aux besoins particuliers de l'enfant, suite à l'avènement de la maladie et des risques encourus particulièrement, celui de l'hypoglycémie. Cette relation fusionnelle, marquée par une interaction du corps à corps avec la mère, renvoie au lien initial sécurisant, du cordon ombilical relié à l'enfant en situation de dépendance absolue. Montagu (1971) le résume bien, en affirmant : « À travers la preuve tangible du corps de sa mère, le bébé va prendre conscience de son corps et de celui de sa mère ». Cet attachement est ce « lien affectif, durable et caractérisé par la tendance d'un enfant à rechercher la sécurité et le réconfort auprès de la figure significative en période de détresse » (Ainsworth. M et Wittig. B.A, 1969). Il est aussi cette recherche à maintenir la proximité avec l'autre, aussi bien de la mère que de l'enfant ((Bowlby. J, 1978).

Mais peut-être que cette disponibilité à tout épreuve, assurée totalement par la mère, est certes d'ordre affectif et fusionnel, mais elle révèle aussi le sens donné à sa vie focalisée sur l'enfant, comme élément de compensation face aux contraintes familiales, dominées par la logique patriarcale. Elle prend sa revanche, en s'investissant corps et âme auprès de son enfant.

Dans les discours des mères interviewées, transparait cet attachement fort à leurs enfants. Les mots privation et sacrifice de soi, sont souvent évoqués, exprimant la forte charge affective envers leur progéniture.

« Je me suis toujours occupée de mes enfants, tous sans exception, et de la même manière. On aime leur faire plaisir, leur acheter des jouets, ce qu'ils aiment, les faire sortir, d'ailleurs, je me prive pour eux. C'est normal ce sont nos enfants, ce qu'on a de plus cher dans la vie. On se sacrifie pour eux et on veut leur offrir tout ce qui est bien dans la vie... » (Entretien n° 14)

« C'est un combat que je mène, dit la mère de Ayoub : « Je vis pour mes enfants. C'est ma base et mon capital de voir les enfants grandir. Cette maladie c'est comme quelque chose qui pénètre la maison et qui vit avec toi ». (Entretien n°3).

La focalisation affective de la mère sur son enfant diabétique la conduit à s'investir totalement au profit du malade de jour comme de nuit. Chaque geste, chaque parole, chaque bruit émis par l'enfant sont immédiatement mémorisés, enregistrés par la mère et font l'objet d'une attention soutenue et permanente :

« Je continuai à faire cela pendant des nuits et des nuits, qu'est ce que je faisais ? Je restai tout simplement bien assise, lui dans mes bras jusqu'au matin...Je ne dors pas, à minuit, je suis réveillé et à 4 heures du matin je suis réveillée Je suis assise, bien éveillée et je lui fais les analyses, comme si c'est le jour. Mes mains posées sur lui, pour bien sentir sa respiration, son bruit, sa sueur, ou son tremblement et j'attends. Le médecin m'a dit que : « s'il prend du poids c'est qu'il répond bien à l'insuline, sinon il faut l'hospitaliser.». Je ne pleurai pas à cette période, je n'avais pas le temps peut-être. Jusqu'à l'âge de 2 ans, la glycémie commençait à se stabiliser (1g, 1,2g). Je me suis rendue compte que je n'ai pas dormi deux ans...Deux bonnes années, de véritables nuits blanches. » (Entretien N°6)

Cet investissement total et sans relâche de la mère se traduit par une surveillance continue et sans relâche de l'enfant diabétique avec la hantise permanente et la peur de la survenue d'une hypoglycémie. Un état qui pourrait conduire à un coma, évoquant la mort :

« Mais depuis qu'il est tombé malade et qu'il est diabétique, jusqu'à maintenant, je ne me souviens pas avoir passé une nuit jusqu'au matin, jamais !!! Psychiquement, je n'arrive pas à dormir. Depuis ce choc, depuis que mon fils est tombé diabétique et que je lui faisais l'insuline et qu'ils nous disaient « attention à l'hypo, le soir », quotidiennement, tous les jours et toutes les nuits, je me lève 3 à 4 fois par jour ! Quand je suis au travail et lui à l'école, j'appelle la maîtresse. J'ai son numéro. Elle a le mien. Je l'appelle pour demander des nouvelles et j'ai le numéro d'une autre femme qui travaille à l'école comme agent de sécurité et qui prend soin des enfants. Je l'appelle. »

Prendre soin de son enfant apparait fortement comme une véritable « charge » évoquée clairement par une de nos interviewées, elle dit :

« Pour moi le diabète ce n'est pas une maladie, c'est une charge, il faut savoir s'en occuper et tout peut se passer très bien. C'est vrai que les débuts sont difficiles et qu'il fallait accepter ce qui nous est arrivé car c'était un choc, mais Dieu merci, avec le soutien de ma famille, ma mère, mes sœurs, les amis, les collègues, j'ai pu passer cette étape difficile. »

Une surveillance soutenue et sans relâche :

Il ressort de l'ensemble des entretiens réalisés, l'importance accordée à la surveillance de l'enfant diabétique et qui semble liée tout particulièrement à la peur de l'épisode d'hypoglycémie :

« Le plus important dans le diabète est la surveillance, la surveillance de tout ce qu'on mange de la quantité de nourriture qu'on mange, des symptômes d'hypo de l'hyper. C'est une maladie très contraignante surtout lorsqu'il s'agit des enfants de bas âge, ils aiment jouer, manger avec leurs amis et puis chez nous on donne les bonbons et toutes sortes de sucreries aux enfants, c'est quelque chose de bien qui fait plaisir mais pour les pauvres enfants diabétiques non... Je me soucie tout le temps pour elles jour et nuit. Au moindre souffle la nuit au moindre mouvement, je me réveille pour voir ce qu'elles ont » (tante et mère adoptive de deux filles diabétiques)

Cette surveillance concerne tout particulièrement l'alimentation. La mère semble y prêter une attention toute particulière, dans la mesure où elle établit une corrélation avec l'éventualité d'une possible hypoglycémie :

« Je surveille mon fils quand il mange et je fais attention à la quantité de nourriture qu'il mange pour voir s'il va faire une hypo ou pas. C'est comme ça que je peux savoir. S'il ne mange pas le jour, c'est un demi-mal. Mais le soir non ! je fais en sorte qu'il mange et qu'il mange bien. Parce que c'est par rapport à la quantité de ce qu'il mange que je peux savoir s'il va faire une hypo ou pas. »

Devant la résistance à tel ou tel aliment et le refus de manger, la mère a recours à certaines astuces :

« Des fois, je demande à ma voisine de me donner ce qu'elle a préparé quand il n'aime pas ce qu'il y a à la maison. Je lui donne et elle me donne. C'est normal. On le fait sans protocole. Vu qu'il doit prendre de l'insuline, il doit manger, obligatoirement manger. C'est pour cela que je veille à ce qu'il mange bien. Dès fois, je pleure quand il ne veut pas manger. Et quand il me voit pleurer, je lui dis : tu vas tomber malade, tu vas aller à l'hôpital. Alors il a peur et il mange. »

La gestion quotidienne de la maladie de leur enfant, dévoile la complexité de l'alimentation. Au-delà de sa dimension bio-nutritionnelle, liée à la satisfaction d'un besoin physiologique, elle est un acte complexe qui renvoie à des réalités psychologiques, sociales et culturelles. L'alimentation, à travers les pratiques et les représentations, a une dimension sociale qui ne peut se réduire à la seule quantité de nutriments ingérés. Elle est une production sociale et un système de comportements et de représentations de la vie sociale (Garabau-Moussaoui, 2002). « Les hommes ne mangent pas des nutriments mais des aliments cuisinés, combinés entre eux au sein de préparations culinaires...selon un protocole fortement socialisé » (Poulain, 2002). Devant cet état de fait, les mères se trouvent face à des dilemmes, ou il faut veiller à l'alimentation de son fils, mais aussi gérer les susceptibilités et les goûts des autres membres de la famille :

« (...)Chaque jour apporte des soucis et des questionnements et surtout comment savoir y faire avec son enfant diabétique, ne pas le frustrer et en même temps ne pas le laisser faire ce qu'il veut et en même temps ne pas frustrer ses frères et sœurs et trouver un équilibre avec tout ça, chose qui n'est pas facile à faire et tous les jours il faut y penser et essayer de trouver la solution adéquate et qui puisse arranger tout le monde(...) A la maison, on n'achète plus de la limonade, « matedkhlchgaalddarakhatrah »(...)

Maintenant on n'achète plus les bonbons d'antan « halwetessoug » c'est trop sucré et je sais que s'il la voit il en mangera, mais en même temps ça me fait mal au coeur de vouloir interdire à mes autres enfants ce qu'ils aiment manger surtout ces sucreries tu sais combien les enfants aiment manger ce genre de friandises « eskayet » et il m'arrive souvent de leur crier dessus et leur dire qu'ils ne doivent pas en ramener à cause de leur frère, qui lui aussi ne me laisse pas le choix, c'est difficile de faire la part des choses entre lui et ses autres frères et sœurs et en plus des fois je le laisse faire parce que ça me fait trop mal au cœur le fait qu'il ne puisse pas manger ce qu'il aime et faire comme tous les autres enfants de son âge...(Silence et larmes). »

« Quand je fais le couscous, je lui prépare autre chose à lui, mais je dis à mes autres enfants s'ils veulent prendre un sandwich ou prendre autre chose comme Youssef, pour qu'ils ne se sentent pas lésés et généralement ils ne demandent pas, en plus quand Youssef prend du couscous, il me fait toujours des hypo, 3 h ou 4 h du matin il me fait des hypo et il me dit mama j'ai faim, quand je mesure sa glycémie, effectivement, je la trouve basse c'est pour ça que je lui donne toujours autre chose pour éviter ça. Il aime les haricots, les lentilles, les pâtes, sinon il mange avec nous et comme nous » (Entretien n° 14)

La mère est toujours en alerte et fait en sorte qu'il y ait toujours des aliments spécifiques pour parer à une éventuelle hypoglycémie :

« Quand mon fils a faim et qu'il me dit, je lui prépare a à manger. il n'aime pas manger tout seul, alors que je lui donne juste pour corriger l'hypo, après il mange avec nous tous ensemble. Tout a l'heure, je lui ai donné ioul (bourek). Après, il s'est assis avec ses frères et sœurs pour manger. Sinon, je lui donne du pain et du fromage ou avec de la confiture. Je fais toujours attention à ce qu'il y ait du fromage et de la confiture a la maison. Pour la confiture, j'ouvre la conserve et je mets dans une boîte au frigo pour tout le monde et je garde une autre boîte en cachette, en cas de besoin. Je lui donne toujours quand la glycémie descend avant de manger son repas correctement. Des fois, je lui donne des dattes et du pain chocolat, des crêpes aussi. L'essentiel, c'est que je trouve à portée de main. Je lui donne aussi un morceau de pâtisserie ; quelque chose qui va augmenter sa glycémie rapidement. »

Cette surveillance est d'autant plus pesante qu'elle semble ne la concerner qu'elle seule, la plongeant ainsi dans la solitude et le désarroi :

« Il n'y a que moi qui m'occupe d'elle...J'ai perdu du poids...Aujourd'hui, je pèse 40 kgs. Mais quand elle fait l'hypo on est choqué. Ces derniers jours, elle a fait une hypo durant une demi-heure, elle tremblait puis elle a piqué une crise et elle a fermé la bouche. J'ai réuni toutes mes forces avec un grand courage, je suis arrivée à lui ouvrir la bouche pour lui faire passer l'eau sucrée »

Cette épreuve douloureuse et qui mobilise tout le corps de la mère, lui interdisant tout sommeil, la met continuellement en alerte :

« C'est une dure épreuve...Quand je me rappelle... (les yeux rouges). La nuit, je ne dors pas, je ne ferme pas les yeux, lui il dort mais moi non, je ne dois pas fermer les yeux, je passe la nuit éveillée, je mets un oreiller sur mes genoux et je le fais dormir en le surveillant jusqu'au matin »

Cet investissement permanent et tout azimut qui oblige la mère à se consacrer entièrement à son enfant, va imposer une nouvelle organisation du temps. Ce dernier, défini par Durkheim comme « une catégorie sociale de pensée qui rythme la vie des individus ».

Ainsi, selon les modalités des interactions entre les individus et le fonctionnement des institutions, chaque société produit ses propres temporalités, induisant un cadre collectif, conditionnant la vie quotidienne. Ceci apparaît clairement dans la prise en charge de l'enfant diabétiques par les mères, où leur temps se décline en deux dimensions, l'une est objectivée et l'autre subjectivée (Montulet, 1998). La première se manifeste par la coordination des activités, l'organisation et l'établissement d'une vie collective. La deuxième touche particulièrement les activités concrètes de la vie quotidienne.

Gestion du temps

Le rapport au temps renvoie ainsi à des normes et à des valeurs propres à une société. Si l'on prenait l'exemple des rôles sociaux traditionnels de sexe, ceux-ci se caractérisent par « un confinement du temps des femmes dans les activités de soin et d'éducation, et celui des hommes dans le travail » (Damhuls, 2008). Ce modèle patriarcal, encore dominant en Algérie, même si les femmes ont à exercer des activités professionnelles, dévoile dans le cas des mères d'enfants diabétiques, une nouvelle distribution des rôles en adéquation avec les contraintes temporelles occasionnées par la survenue du diabète de leur enfant.

Rupture temporaire de l'activité professionnelle

Devant l'importante charge de travail lié à la survenue du diabète, les mères qui travaillaient ont été dans l'obligation d'arrêter temporairement leur travail, de demander une mise en disponibilité pour se consacrer entièrement à leur enfant diabétique :

« J'ai pris une année de mise en disponibilité, sans solde. Un enfant diabétique, de bas âge, il faut l'alimenter, lui donner son traitement à temps précis, le surveiller continuellement, H24 et ce n'est guère facile. .. Une année de travail forcé... fort heureusement, j'ai réussi à bien suivre mon enfant...C'est alors que j'ai repris le travail pour aider mon mari à cause des dépenses et des frais qui ne cessent d'augmenter.. Même en étant assuré, il faut acheter les aiguilles, les seringues à insuline, les pansements, l'alimentation, les couches, etc. Avant, on achetait même l'insuline, parce qu'il a fallu plusieurs mois pour ramasser la grosse paperasse pour faire la carte Chiffa. J'ai repris parce que je comptais sur l'aide de ma mère aussi, qui a accepté de le prendre en charge pendant mon absence. »

Mme M, quant à elle, tout en renonçant à travailler pendant une période de trois mois, n'a pas eu à demander de mise en disponibilité, dans la mesure où elle a bénéficié du soutien et de la sympathie de tout le personnel avec le quel elle travaillait :

« Le personnel de l'hôpital ou je travaillais était très compréhensif, je n'ai pas eu à demander congé ou maladie ou autre chose, ils n'ont pas cherché à savoir, ils savaient bien ce que je faisais et les raisons de mon absence. Tout le personnel était affecté par ce qui m'est arrivé, la directrice aussi était très touchée. Ils demandaient de mes nouvelles, m'appelaient au téléphone, m'envoyaient des crédits de téléphone et me demandaient si j'avais besoin de la moindre chose, ils ont été vraiment à mes côtés pour me reconforter et m'apporter leur soutien. Tout le monde était choqué et c'était comme si c'était leur propre fils, ils ont été très patients avec moi et je n'ai repris le travail qu'après avoir bien appris comment m'occuper de mon fils et de son diabète. Je n'ai pas repris le travail qu'après plus de deux mois, le temps que j'ai pris dans les cours à St Michel, mais aussi la période où je recevais les gens qui venaient nous rendre visite suite à la maladie de mon fils, j'ai vraiment pris le temps pour m'habituer bien bien à la nouvelle situation à l'insuline et à bien le suivre. » (Entretien n°14)

Une discipline temporelle accentuée

Néanmoins, en retournant au travail et malgré l'existence d'une organisation spécifique précédant la survenue du diabète, liée à son travail, la mère de Youssef met l'accent sur l'importance du respect de l'horaire du dîner :

« Ce qui a vraiment changé ce sont surtout les horaires du dîner, avant je n'étais pas très à cheval sur ça, je leur faisais à dîner comme je veux mais depuis que Youssef est diabétique, l'heure c'est l'heure. Par exemple le matin je me réveille, je lui prends sa glycémie, je lui donne la dose d'insuline adéquate je lui donne son petit déjeuner. En rentrant le soir, je prends mon café et je rentre directement dans la cuisine pour préparer le dîner, pas comme avant, je pouvais faire autre chose avant, depuis le diabète de mon fils le dîner est prioritaire, après je fais autre chose. Pour le repas de midi, je n'ai pas de problème, mais pour le dîner, je dois être à l'heure. Des fois j'ai des obligations sociales, je dois rendre visite à une amie, ou aller à une fête ou autre, je vois avant si ma fille est disponible, si elle n'a pas d'examen ou de devoir, je compte sur elle pour faire le dîner et s'occuper de Youssef, sinon, je ne pourrais pas le faire, mon fils est plus important que tout. »

« Le diabète demande beaucoup d'attention et tout le temps, c'est dur de toujours les surveiller, même pour leur déplacement on a toujours peur pour elles, on doit toujours les surveiller, leur dire de faire attention, s'inquiéter pour elles, même pour passer la nuit chez une tante ce n'est pas évident, si je sors je les emmène avec moi » (tante et mère adoptive de deux filles diabétiques, Oran)

Devant cet investissement lourd et sans fin et qui influe considérablement sur le moral des mères et de leurs enfants, le fait de se retrouver à la clinique et dans les regroupements, apparaissent comme de véritables échappatoires du tourbillon dans le quel ils vivent.

De l'importance des regroupements des mères d'enfants diabétiques

La clinique St Michel : un espace de socialisation et d'apaisement

L'immersion des mères d'enfants diabétiques au sein de la clinique Saint Michel, ne se réduit pas à l'acquisition d'un savoir faire pour « gérer » la maladie de leur enfant. Elle représente aussi un moment important leur permettant de construire une relation sociale entre elles et leurs enfants. Ceci a pour effet de construire un regard moins douloureux, apaisé et distant face à la survenue de l'évènement social dramatique qui les a frappées.

« Chaque jour je l'emmène à la clinique St Michel de 08h à 14h, le premier jour était un jour noir (nharkhal) je dois le surveiller, j'étais assise par terre et Nabil sur mes cuisses dans la cuisine, on lui a fait l'injection de l'insuline et tout de suite ils ont posé une assiette de lentilles, alors il mangeait comme un affamé, il mangeait vite, il avait une faim de loup après l'insuline...alors chaque jour que je viens à la clinique St Michel je pleure (kount min ma ndji St Michel nbki)...lui il mange et moi je pleure (nebki ou houwayakoul)...à chaque fois je fais rappeler cet évènement à son papa, je ne l'oublierai jamais (dima nedjbedhalbough, dima, ma nenssahache)...après je me suis habituée...les médecins nous encourageaient beaucoup, ils discutent avec nous avec modestie, normal, c'est eux qui nous reconfortaient, et nous envoient à la patience, les infirmières aussi, toutes nous disaient : « ce n'est pas grave, c'est rien du tout, il va vivre normalement, c'est possible, il ne court aucun risque » (ma fihawalou, yaïicheadi, ma yassralehwalou)... c'est eux qui nous ont aidés et apaisé notre peur, en plus chaque jour il y a un enfant nouveau diabétique qui rentre à la clinique, chaque jour... » (Entretien N° 7)

Cette socialisation des mères dans l'espace de soins est appréhendée positivement, les autorisant à une transformation de leur regard et de leur posture.

« En allant à St Michel, c'est comme si j'étais endormie et je me suis réveillée, j'ai vu les nombreux cas d'enfants diabétiques, surtout ceux qui l'avaient aux premiers mois après leur naissance, c'était pire que ce que je vivais, je me suis que ce sont des choses qui viennent du bon Dieu, il faut avoir le courage et la foi de les accepter. En fait je pensais que j'étais la seule à vivre ça, à être dans ce cas. Quand j'ai vu des enfants diabétiques et des cas qui ressemblaient au mien, je ne croyais pas mes yeux et suite à cela, j'étais apaisée. » (Entretien N° 14)

En plus d'offrir un espace de soins, la clinique St Michel organise périodiquement des regroupements de mères et de leurs enfants diabétiques, en collaboration avec des associations, des bénévoles et des laboratoires pharmaceutiques, où pendant 5 jours, ces familles sont logées dans des chambres d'hôtel, en pension complète ou en demi pension, selon le lieu de leurs résidences et de leurs conditions socio-économiques. Des séances d'éducation avec les maîtres assistants et des diététiciens sont organisées, Elles sont entrecoupées de repas, de mesure d'insuline et d'activités de loisirs aussi bien pour les enfants que pour les mères.

Les regroupements : espace de convivialité et de transmission des savoirs

Le regroupement des mères d'enfants diabétiques montre bien qu'au-delà de l'apprentissage du soin strictement technique, il est aussi et surtout un moment fort marqué par la convivialité, l'échange d'expériences et le croisement des regards aussi bien pour les mères que pour les enfants. Une normalisation, contribuant fortement à atténuer la souffrance renforcée par l'isolement et la solitude, ayant marqué la survenue du diabète.

« Quand à l'annonce du diagnostic j'avais déprimé, je me disais que j'étais la seule à être affligée de la maladie de mon fils, il pensait qu'il était le seul enfant qui avait le diabète et le seul à faire de l'insuline, mais en voyant des enfants comme lui prendre leurs glycémies comme lui, c'est devenu une chose normale pour lui, je voudrais aussi que de plus en plus que l'enfant grandisse, on le fait rencontrer avec des enfants diabétiques comme lui, pour moi c'est vraiment très important pour lui « nchekafrassi » l'essentiel c'est qu'on les regroupe ensemble ces enfants, s'il le faut je payerai pour ça !! son séjour au regroupement lui a fait le plus grand bien, même sa mentalité a changé un peu, ça l'a vraiment changé, le fait de prendre sa glycémie, de prendre de la glycémie est devenu normal pour lui et quand je lui dis qu'on va aller à St Michel, il ressent une joie indescriptible, on dirait qu'il va aller au paradis, il me disait quand est ce que je vais à l'autre St Michel (rires), il voulait dire la MUNATEC. Les enfants diabétiques qui vivent dans les environs comme nous ici à Mohammadia, ne se connaissent pas, ils n'ont pas l'occasion de se rencontrer, c'est pour ça que mon fils ressentait qu'il n'était pas comme les autres. En plus les c'est important pour nous aussi les mères, pour se soulager, ça nous a permis de parler de nos souffrances et de dégager un peu ce qu'on avait sur le cœur. »

Ces regroupements révèlent aussi l'occasion de l'échange d'informations et d'expériences entre les mères :

« Je comprends très bien quand le médecin me parle et ils font des efforts pour ça, n'empêche que l'information passe mieux entre nous mères de diabétiques, parce qu'entre nous, on se sent plus à l'aise, on est dans la même situation une mère d'un enfant diabétique comme toi et voudrait apprendre comme toi, tu donnes et tu reçois, on s'échange des informations, chacune apprend à l'autre.

Chacune venait à la chambre de l'autre, quand on était au regroupement, on parlait, on discutait et l'information passait.» (Mme M, 44 ans, niveau terminale, employée à l'hôpital, Mascara)

« En tout cas je suis contente d'être là au regroupement, mon fils se sent vraiment bien ici il joue avec les autres enfants, il passe du bon temps et ça le change un peu !! ils s'occupent bien de nos enfants et leur font plaisir et c'est vraiment bien, en plus c'est une révision pour nous en ce qui concerne les choses qu'on a apprises avec Rkia, en plus c'est l'occasion de poser des questions, il y a toujours des choses à savoir sur le diabète et comment s'y faire, c'est tellement compliqué de s'occuper d'un enfant diabétique, c'est une lourde charge !! en plus entre femmes et surtout entre mères on parle, surtout entre mères d'enfants on a des choses en commun des expériences à échanger, des astuces et chacune peut apprendre. En plus c'est l'occasion de se changer les idées et de rencontrer des gens avec qui on partage les mêmes préoccupations, on est entre mères ayant des enfants diabétiques et forcément on a des choses en commun à se dire à s'échanger, en plus quand on parle entre nous on se comprend, tu sais je ne maîtrise pas le français je connais juste l'arabe et c'est difficile de comprendre quand on nous parle en français, alors des fois j'ai honte de parler parce que j'ai des difficultés à poser les questions aux médecins qui parlent français, même si je vois bien qu'ils font des efforts et parlent en arabe un peu, c'est normal ils ont fait des études en français mais entre nous les mères ça passe mieux, en plus j'apprends de celles qui comprennent le français je leur demande et elles me répondent. » (Entretien N°17)

Ainsi l'information échangée entre les mères semble avoir un impact positif, dans la mesure où elles parlent sensiblement le même langage, traversent les mêmes épreuves et sont dans une logique plus conviviale et que dans une relation moins asymétrique que celle partagée avec les professionnels de santé, s'échangent leurs expériences et leurs savoirs.

Conclusion

Il ressort des différentes catégories issues des entretiens, la forte charge émotionnelle et physique du diabète sur la famille et qui pèse particulièrement sur les mères. L'annonce du diagnostic apparaît comme un choc important, causant un **ébranlement** dans l'entourage de l'enfant diabétique. L'injection de l'insuline représente un acte de **violence symbolique** et révèle la complexité de gérer les dosages. Le discours des mères montre bien le **marquage social** qui en résulte et l'investissement intense, caractérisé par une « **surveillance H24** » de leurs enfants malades. La charge de travail est telle qu'elle impose à la mère une **surveillance** continue de son enfant malade et est suivie d'un **épuisement** physique et moral. Ainsi, le modèle fusionnel qui caractérise la relation mère-enfant révèle le sacrifice de la mère et le don de soi. Ainsi, prendre soin de son enfant diabétique ne relève pas uniquement de gestes techniques standardisées, mais d'une véritable pratique de soins, sans cesse renouvelée et interrogée. Une pratique qui se nourrit du savoir médical, s'inspire de la vie quotidienne et qui s'enrichit de l'expérience individuelle et de l'échange avec d'autres mères d'enfants diabétiques. Une logique de soins dans laquelle les mères, en véritables actrices de la prise en charge de leur enfant, sont confrontées sans cesse, à s'adapter aux multiples contingences de la maladie, liées à l'incertitude qui caractérise le diabète en lui-même, aux fluctuations de la glycémie, aux dosages de l'insuline, aux tempéraments et aux goûts alimentaires de leurs enfants. Il apparaît aussi que la clinique et les regroupements sont un lieu de socialisation importante où se font l'acceptation et la normalisation de la maladie aussi bien pour les mères que pour les enfants diabétiques, ainsi qu'un échange mutuel et enrichissant des différentes expériences vécues par les mères.

Références bibliographiques

- Adam P., Herzlich C., 1994, *Sociologie de la maladie et de la médecine*, Nathan.
- Augé M., Herzlich C., 1994, *Le sens du mal, anthropologie, histoire, sociologie de la maladie*, Paris, édition des archives contemporaines.
- Bastard B., « La séparation, mais le lien », *Terrain* [En ligne], 36 | 2001, mis en ligne le 08 mars 2007, 06 août 2013. URL : <http://terrain.revues.org/1147> ; DOI : 10.4000/terrain.1147.
2013. URL : <http://terrain.revues.org/1147> ; DOI : 10.4000/terrain.1147
- Baszanger I., 1986, les maladies chroniques et leur ordre négocié, *Revue française de sociologie*, Vol.27, N°1, Janvier-Mars, (3-27)
- Bury M., « Chronic illness as Biographical Disruption », *Sociology of Health and Illness*, Juin 1982, Vol. IV, n°2, pp. 167-182
- Carricaburu D., Ménoret M. 2004.*Sociologie de la santé. Institutions, professions et maladies*, Paris, Armand Colin.
- Chauvin, Parizot, 2005, *Santé et expériences de soin*, Coédition Vuibert/INSERM.
- Cresson G., 1995 *le travail domestique de santé*, Paris, l'Harmattan.
- Coussaert A., *Les vêtements de la santé ; le cas du diabète insulino-dépendant*, Projection. La santé au futur, 1, p 95-104.
- Damhuls L., *Le rapport au temps aujourd'hui, Des repères pour penser le temps*, Notes Education Permanente, N° 2008-10- Mai 2008.
- Drulhe M., 1996, *Santé et société, le façonnement sociétal de la société*, Paris, PUF.
- Fainzang S., 2006, *la relation médecins-malades : information et mensonge*, collection « ethnologies » dirigée par Jean Cuisenier, presses universitaires de France.
- Fainzang S., 2000, « la maladie, un objet pour l'anthropologie sociale », *revue électronique du CERCE*, centre d'études et de recherches comparatives en ethnologie, ethnologies comparées, n°1. <http://alor.univ-montp3.fr/cerce>
- Fassin D. (1990) : *Décrire, entretien et observation, Sociétés, développement et santé*, Ellipses.
- Freidson E., 1984, *la profession médicale*, Payot.
- Gauthier Y., 1979, De la « mauvaise mère » à la vulnérabilité de la relation prents-enfants, *Revue canadienne de psychiatrie*, 24, 633-643.
- Goffman E. 1967, *Les rites d'interaction*, le sens commun, Paris, Editions de Minuit.
- Herzlich C., 1970, *Médecine, maladie et société*, Mouton.
- Herzlich C., Pierret J., 1984, *Malades d'hier, malades d'aujourd'hui*, Paris, Payot.
- Herzlich C., 1996, *Santé et maladie, analyse d'une représentation sociale*, Paris, édition de l'école des hautes études en sciences sociales.

Jaffré Y., 1990, Comprendre les mots du malade, société, développement et santé, sous la direction de Ellipses, Collection médecine tropicale, (126-133)

Massé R., 1995, *culture et santé publique, les contributions de l'anthropologie à la prévention et à la promotion de la santé*, Montréal/Paris/Casablanca, Gaëtan Morin.

Mebtoul M., 1994, Une anthropologie de la proximité, les professionnels de la santé en Algérie, Paris, l'Harmattan.

Mebtoul M., 2003, Les significations attribuées par les médecins et les patients à la prise en charge du diabète (Algérie), Coopérations, conflits et concurrences dans le système de santé, Editions ENSP, p 251-268.

Mebtoul M., 2005, Médecins et patients en Algérie, Oran, Dar-el Gharb.

Merzouk M., 1996, éducation sanitaire et résistance culturelle :le cas des maghrébins diabétiques soignés en France, annuaire de l'Afrique du nord, édition CNRS, tome XXXV (35), 811- 819.

Montagu (1971) : la peau et le toucher, un premier langage. Seuil, Paris.

Montulet B., 1998, Les enjeux spatio-temporels du social, Paris, L'Harmattan.

Morin M., La Méthode (6 volumes), coffret des 6 volumes en 2 tomes, collection Seuil Opus, 2008.

Nguyen-Vaillant M.F., 2010, « Le carnet de surveillance dans le diabète », Revue d'anthropologie des connaissances, Vol. 4, N°2, p380 408, URL : www.cairn.info/revue-anthropologie-des-connaissances-2010-2-page-380.htm

Saillant F., « femmes, soins domestiques et espace thérapeutique », revue *anthropologie et sociétés*, volume 23, n°2, université Laval, 1999.

Salemi O., 2010, « Ramadhan et alimentation, le cas des femmes diabétiques d'Oran »,Revue *Sociologie Santé*, n°31, Mars 2010, (93-113).

Salemi O., 2010, « Pratiques alimentaires des diabétiques, étude de quelques cas à Oran, Revue Economie rurale, numéro double 318-319, juillet-septembre 2010, (80-95).

**PLACE DU TRAITEMENT NON OPERATOIRE
DANS LES APPENDICITES AIGUES NON COMPLIQUEES**

AIT YAHIA.S , SOUALILI.Z, CHOUTRI.H
LSEHPS, Université Ferhat Abbas de Sétif

Code : 18

Introduction :

L'appendicite est une inflammation de l'appendice iléo-coecal. Il s'agit de l'urgence chirurgicale viscérale la plus fréquente chez l'enfant. Non traitée, elle peut être mortelle.

L'objectif de cette étude est de proposer un algorithme de prise en charge qui inclut le traitement médical ambulatoire comme option thérapeutique dans les formes non compliquées.

Matériel et méthode :

Il s'agit d'une étude prospective sur une série de cas d'appendicites aiguës traitées médicalement colligées au niveau du service de chirurgie pédiatrique durant la période qui va de janvier 2012 à août 2013.

Sont inclus dans cette étude tous les malades âgés de 5 à 15 ans ayant bénéficié d'un traitement médical pour le diagnostic d'appendicite aiguë non compliquée. Sont exclus de l'étude les plastrons appendiculaires traités médicalement et les appendicites aiguës traitées chirurgicalement.

Résultats :

Sur l'ensemble des 250 cas de pathologies appendiculaires colligés, 40 cas (42% garçon, 58% fille) âgés entre 5 et 15 ans (45% entre 5 et 10 ans, 55% entre 10 et 15ans), présentant une appendicite aiguë non compliquée selon le score clinico-biologique [Annexe 1] du service de chirurgie pédiatrique de Sétif (20% score à 6, 30% score à 7, 50% score à 8) et ne présentant pas d'épanchement ni de stercorite à l'échographie, ont bénéficiés d'un traitement médical ambulatoire. L'évolution était favorable dans 87% des cas. Dans 13% des cas un traitement chirurgical était nécessaire devant l'absence d'amélioration clinique et biologique.

Discussion :

Cette étude démontre l'efficacité du traitement médical non opératoire comme option thérapeutique dans les appendicites aiguës non compliquées au prix d'une sélection rigoureuse et d'une surveillance rapprochée. Les résultats à court et à moyen terme sont positifs avec un impact psychologique, économique et sociétal indéniable.

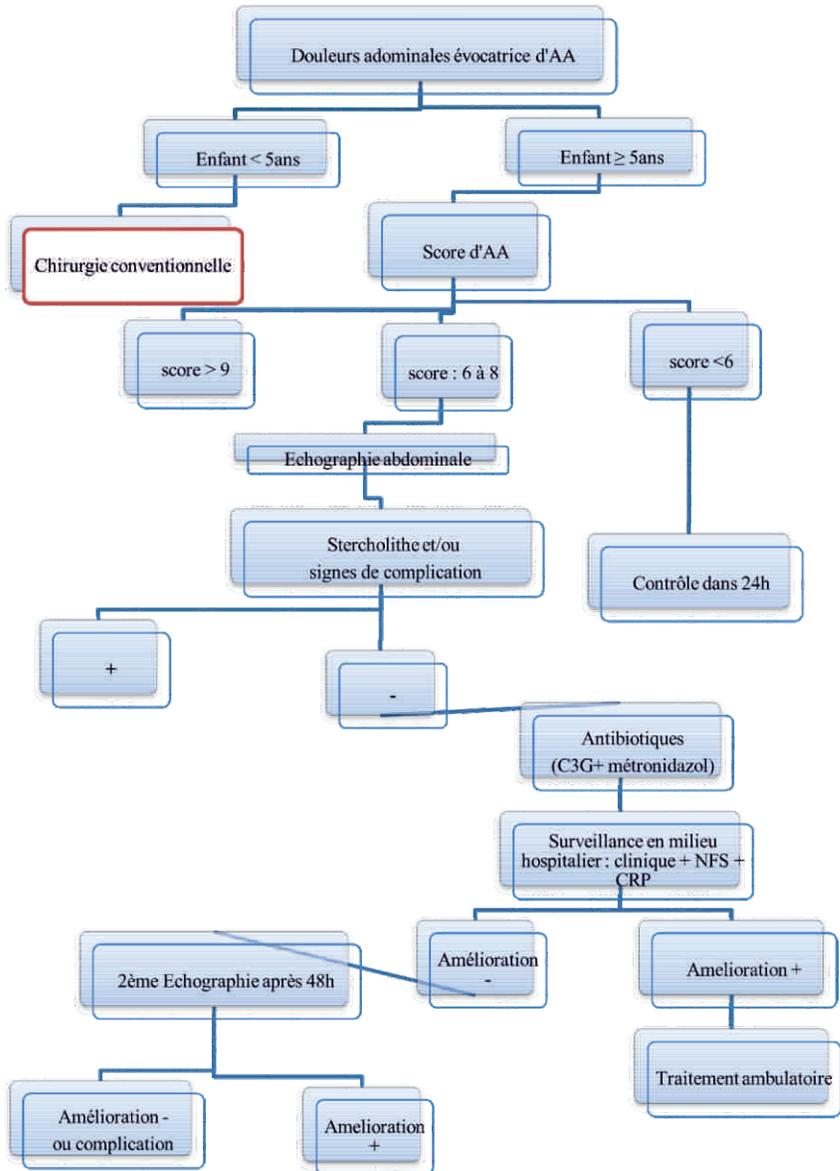
L'algorithme proposé [Annexe 2] permet d'améliorer la prise en charge globale avec une diminution du nombre d'interventions chirurgicales et des taux de morbidité et de mortalité.

Les résultats obtenus permettent d'envisager la réalisation d'autres études qui visent à améliorer le triage des malades candidats à un traitement médical ambulatoire.

ANNEXE 1 : Score des appendicites aiguës du service de chirurgie pédiatrique.

PARAMETRES	RE	SCO
Douleur migrante		... /1
Inappétence		... /1
Nausées ou vomissements		... /1
Douleur à la détente		... /1
Hyperthermie 37,8°-38,5°		... /1
Hyperleucocytose		... /2
Hyperleucocytose à Polynucléaires Neutrophiles		... /1
CRP positive		... /2
Douleur inhibant l'inspiration et l'expiration profonde		... /1
Défense de la fosse iliaque droite		... /2
TOTAL	3	... /1

ANNEXE 2 : Algorithme de prise en charge des appendicites aigues.



LES ASPERGILLUS ISOLES ET INFECTIONS FONGIQUES

BENMANSOUR.Z

Maitre de conférences .A.

Service parasitologies & mycologie CHU Oran

1.Introduction

L'infection fongique dans les structures hospitalières est un réel problème de santé. La contamination est favorisée par des actions diverses et augmentant ainsi le risque s'ajoutant à ceci une difficulté d'établir un diagnostic rapide différant ainsi un traitement adéquat. Dans notre étude nous avons réalisé une identification régulière des champignons rencontrés au sein des services hospitaliers du centre hospitalo universitaire d'Oran. Un changement épidémiologique considérable de souches fongiques répertoriées avec une liste sans cesse modifiée. Principalement le *Candida* et *Aspergillus* agents fongiques retrouvés chez les patients immunodéprimés avec une neutropénie

2.Matériel et méthodes

1. Choix du prélèvement et de la technique d'extraction, dans notre étude, le choix du milieu d'extraction s'est porté sur le sérum (1 mL). Ce milieu possède des performances équivalentes au sang total avec des avantages intéressants par rapport à celui-ci (en termes de praticité). La sensibilité sur le sérum est optimale pour des volumes extraits d'1 mL. Cet échantillon permet d'utiliser des techniques automatisées d'extraction de l'ADN qui limitent le risque de contamination des échantillons et des réactifs par des spores aspergillaires. La technique utilisée est celle du « MagNA Pure » de Roche Diagnostics, avec le kit « MagNA Pure LC DNA Isolation Kit - Large Volume » adapté à l'extraction de volumes importants. Le volume d'éluat est fixé à 50 µL, ce qui est en accord avec les recommandations européennes

2. Choix de la technique d'amplification et de la cible. Le choix de la technique d'amplification s'est porté sur une PCR en temps réel, technique faisant actuellement référence dans la pratique clinique quotidienne en raison de ses nombreux avantages (rapidité, simplicité, robustesse) et également en terme de performances (quantification, sensibilité, spécificité). L'appareil utilisé au laboratoire est un « LightCycler 2.0 ». Le kit de PCR utilisé est le « LightCycler®FastStart DNA Master HybProbe ». La détection de l'amplification est réalisée par sonde d'hydrolyse qui a pour principe : a. étape de dénaturation, la fluorescence du reporter est absorbée par le quencher : il n'y a aucune émission de fluorescence

b. étape d'hybridation : même situation

c. étape d'élongation au cours de laquelle la TAQ polymérase hydrolyse la sonde, libérant ainsi le reporter de son quencher : il y a émission de fluorescence et détection par l'appareil de PCR. La cible choisie est l'ARNr 28S spécifique d'*A. fumigatus* pour les filamenteux.

Le fragment amplifié fait 68 paires de bases, de séquence :

«
TCGGAATGTATCACCTCTCGGGGTGTCTTATAGCCGAGGGTGCAATGCGGCCT
GCCTGGACCGAGGA».

Les amorces utilisées seront :

- Amorçe sens : 5'-CTCGGAATGTATCACCTCTCGG-3'

- Amorçe antisens : 5'-CCTGCCTGGACCGAGGA-3'

La détection est faite par une sonde d'hydrolyse qui émet à 530 nm en cas d'amplification

positive : 5'-FAM-TGTCTTATAGCCGAGGGTGCAATGCG-TAMRA-3'.

Cette cible possède plusieurs avantages :

- Très spécifique de l'espèce la plus souvent responsable d'AI
- Fait partie d'une région répétée du génome aspergillaire
- A montré de bons résultats dans des études antérieures

3. Mise au point de la méthode au sien du service et dans le cadre du projet

- Gamme de concentration d'ADN d'A. fumigatus

La gamme de concentration a été préparée à partir de solution mère d'ADN contenant la séquence cible. Cette solution mère doit être préparée antérieurement par clonage de la cible à l'aide du kit TOPO TA Cloning®, extraction de l'ADN plasmidique et dosage de la concentration d'ADN à l'aide du NanoDrop® 2000. A l'aide de dilutions successives dans un tampon adapté à la conservation des acides nucléiques, nous aurons obtenu les points de gamme suivants : 105, 104, 103, 102 et 101 copies du gène cible par µL. Cette gamme testée en PCR puis sauvegardée comme référence dans le logiciel. Ainsi, pour obtenir la quantification lors du passage de patients, il suffit de n'utiliser qu'un point de gamme (le 104 copies/µL) qui permet une calibration par rapport à la gamme précédemment sauvegardée.

- Optimisation des conditions de PCR en temps réel

La concentration en MgCl₂ peut faire varier la spécificité et la sensibilité de la PCR pour sa cible dans le milieu. Une concentration inadaptée peut aboutir à des faux positifs ou des faux négatifs. Différentes concentrations ont été testées, selon les recommandations du kit de PCR « LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe » de Roche Diagnostics. Les concentrations testées, soit 2,0 mM, 2,5 mM, 3,0 mM et 3,5 mM, ont permis d'aboutir au choix de la concentration de 2,5 mM qui est la première concentration avant la perte de sensibilité due à une concentration trop basse ne permettant pas une réalisation correcte de la PCR: optimisation de la concentration en MgCl₂

- Mise au point du contrôle interne

L'utilisation d'un CI permet de valider le résultat de la PCR pour chaque patient en tant que contrôle d'extraction et d'inhibition. L'utilisation d'un CI est recommandée pour la réalisation de PCR dans le diagnostic des AI. Le CI utilisé correspond à de l'ADN de phage phiX174 commercialisé par Norgene®. Les amorces utilisées sont :

- amorce sens : 5'-TCAGCAAACGCAGATCAG-3',
- amorce antisens : 5'-GTTCCAAGTATCGGCAACAG-3'.

Les concentrations d'amorces ont été optimisées et réduites au minimum imposé par le kit

« LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe » soit 0,2 µM. La détection de l'amplification du CI est faite par une sonde d'hydrolyse qui émet à 610 nm : 5'-TEXASTCTAATGTCGCTACTGATGCTGCTTCT- BHQ2-3'. Le Ct du CI doit être 30 ± 1,5 (déterminé statistiquement sur 31 passages de contrôle interne par des opérateurs différents à des jours différents, en l'absence d'inhibition suspectée) pour être validé. Si le Ct obtenu est situé en dehors de ces limites, une inhibition de la réaction par une substance interférente est fortement suspectée

3.Rrésultat:

Un total de 1300 échantillons de sérum de 310 patients adultes a été testé pour la présence GM. l'infection fongique (probable/prouve) a été diagnostiquée dans 42 (4.6 %) d'entre eux. les taux() de sensibilité, la spécificité, la valeur p positive et négative de détection galactomannan pour le diagnostic dans notre service étaient, respectivement, 95.2 %, 90.0 %, 31.5 % et 99.7 %. les causes principales de la valeur positive limitée du test étaient des résultats faux-positifs de test (principalement causées par l'administration concomitante de quelques antibiotiques de pénicilline).

1. discussion :

notre étude, qui a observé l'évaluation environnementale fongique dans des services hospitaliers à haut risque, se réfère à ceux élaborés par Meunier en 2005, qui confirme, les cas, de champignons. Cette même étude est utilisée pour évaluer le risque fongique des sites. Cependant, peu d'enquêtes concernant l'hôpital, particulièrement la réanimation. L'oncologie d'hématologie: les échantillons ont été pris régulièrement des patients aussi bien que des sites

2. conclusion :

les galactomannanes recherchés et leur détection dans le sérum est associée à la haute sensibilité et la valeur excellente dans le diagnostic d'infection fongique chez les patients d'hémo-oncologiques et de la réanimation en effet la connaissance et l'élimination des causes possibles de résultats « faux-positifs » dans le cadre du dépistage de l'infection est nécessaire pour une meilleure exploitation du test. Quand la simple inhalation de spores fongiques cause le début de la maladie

Le risque d'infections est réel. le contrôle et l'étude de l'écologie de services cliniques fongiques devraient fournir une meilleure compréhension.

EXPOSITION PROFESSIONNELLE AU PERCHLORETHYLENE DANS L'OUEST ALGERIEN

BELHADJ.Z, KANDOUCL.C, ZEGOUN.D, KANDOUCLA.B

*Laboratoire de recherche en environnement et santé.
Service de médecine du travail. CHU de Sidi bel Abbés Algérie*

Code :150/ANDRS/2011

Résumé

Objectif : Evaluation du retentissement clinique de l'exposition chronique au perchloréthylène dans une population de salariés de pressing dans l'ouest d'Algérie.

Moyens et méthode : Il s'agit d'une étude transversale de type exposé non exposé qui c'est déroulée d'octobre 2012 à Avril 2013 sur un groupe de travailleurs exposés au perchloréthylène (N=60) qui travaillent dans le secteur du Pressing de la wilaya de Sidi Bel Abbes, et un groupe de travailleurs non exposés (N=120) qui travaillent dans le CHU de Sidi Bel Abbés. Le recueil des données faites par un questionnaire (d'Hogstedt). On a réalisé des tests psychométriques. L'évaluation de l'exposition professionnelle faite par prélèvement atmosphérique réalisé dans deux pressings à l'aide des tubes réactifs colorimétriques par mesure ponctuelle (pompes dräger). La première dans n'importe quel point dans le local, la deuxième lors de l'ouverture de l'hublot.

Résultats : 50 % des salariés exposés ont présenté un ou plusieurs des symptômes recherchés, ce sont en majorité des symptômes neurologiques, avec prédominance le plus souvent de la fatigue en fin de poste(50%), s'endormir facilement le plus souvent (58,3%), parfois une irritabilité (63,3%), et réveil au milieu de la nuit(31,7%), troubles de mémoire (25%), avec une différence statistiquement significative entre les sujets exposés et les

sujets non exposés pour tout ces symptômes sauf pour la présence des cauchemars, des troubles digestifs et les fourmillements aux niveaux du bras. Pour les tests psychométriques, Il ya une différence significative entre les deux populations. Les taux atmosphériques en perchloréthylène lors de l'ouverture de l'hublot est supérieure ou égal à 100 ppm et les deux sont supérieures selon les valeurs limite d'ACGIH 2005.

Discussion : Le faible effectif, de notre étude, nous a permis d'émettre des hypothèses sans toutefois pouvoir les affirmer. La répétition des pics de perchloréthylène entraîne une exposition supérieure aux valeurs recommandées.

La clinique est indiquée dans le suivi des expositions mais doit être associée à la biométrie pour les expositions chroniques.

Conclusion : Cette étude vient confirmer l'existence d'une exposition professionnelle au perchloréthylène des salariés des pressings ou les résultats du questionnaire nous ont permis d'identifier un nombre important de renseignements sur les symptômes observés chez la population étudiée en fonction de l'exposition

Mots clés: Exposition professionnelle au perchloréthylène, test psychométrique, Evaluation métrologique.

OCCUPATIONAL EXPOSURE PERCHLORÉTHYLÈNE IN WEST ALGERIEN

Samuray

Objective: Evaluation of the clinical impact of chronic exposure to perchlorethylene in a population of salaries laundry in western Algeria.

Means and methods: This cross-sectional study of the type described which is not exposed to place from October 2012 to April 2013 a group of workers exposed to perchlorethylene (N = 60) working in the area of Dry the wilaya of Sidi Bel Abbes, and a group of non-exposed (N = 120) workers who work in the Sidi Bel Abbes University Hospital. Data collection made by a questionnaire (of Hogstedt). Were performed psychometric tests. The evaluation of occupational exposure made by air sample taken in two pressings using a colorimetric detector tubes for spot metering (Dragger pumps). The first in any point in the space, when the second opening of the window.

Results: 50% of employees were presented, one or more symptoms of research are mostly neurological symptoms, most often with a predominance of fatigue at the end of job (50%), easily sleep more often (58.3%), sometimes irritability (63.3%), and waking up in the middle of the night (31.7%), memory impairment (25%), with a statistically significant difference between

the exposed and non topics exposed for all these symptoms except for the presence of nightmares, digestive problems and tingling at the arm.

For psychometric tests, there is a significant difference between the two populations. Atmospheric perchlorethylene rate upon opening of the window is greater than or equal to 100 ppm and both are superior to the values of limit ACGIH 2005.

Discussion: The small number of our study allowed us to speculate without being able to say. Repeating peaks perchlorethylene causes a greater exposure to the recommended values. The clinic is indicated in monitoring exposure but must be associated with biometry for chronic exposures.

Conclusion: This study confirms the existence of an occupational exposure to perchlorethylene dry cleaners or employees of the questionnaire results allowed us to identify a number Important information on the symptoms observed in the study population according to exposure

Keywords: Occupational exposure to perchlorethylene, psychometric testing, metrology Evaluation.

Introduction :

Le service de médecine du travail du CHU Sidi Bel Abbas a réalisé, en 2013 et auprès des pressings adhérents, une étude au cours de laquelle le médecin du travail a évalué les risques professionnels au sein de cette profession. Cette étude a mis en exergue le risque lié au perchloréthylène, notamment par le biais des pics d'exposition, avec dépassement de la valeur limite à court terme.

Le perchloréthylène est encore actuellement le solvant le plus utilisé dans les pressings commerciaux, structure le plus souvent de petite taille [1,2,3]. Il est classé cancérigène de catégorie 3 (substance préoccupante pour l'homme) selon la classification européenne et dans le groupe 2A (cancérigène probable pour l'homme) selon le Centre international de recherche contre le cancer (CIRC) [5].

Le perchloréthylène fait partie de la famille des solvants reconnus à l'origine de troubles neurologiques. Une méta-analyse de 2009 n'a pu conclure à un lien statistique probant entre l'exposition au perchloréthylène et le risque de déficits neurocomportementaux en raison d'insuffisances méthodologiques des études analysées.

L'objectif de notre étude est le suivant : Evaluer le retentissement clinique de l'exposition chronique au perchloréthylène dans une population de salariés de pressings des trois wilayas de l'ouest Algérien (Sidi Bel Abbas ; Ain-Témouchent et Oran), comparés à des travailleurs non exposés du CHU de Sidi Bel abbés.

Patients et méthode

C'est une enquête transversale de type exposés non exposés, qui a été menée d'octobre 2012 à avril 2013, auprès de l'ensemble des salariés des pressings des trois wilayas de l'ouest Algérien.

La population source étaient constituée de 60 salariés répartis dans 45 pressings.

Les critères d'inclusion pour le groupe exposé étaient : tous les salariés travaillant dans les pressings et qui ont une ancienneté au moins d'une année.

L'accord des salariés et des employeurs pour leur participation à l'étude devait avoir été obtenu au préalable, son absence entraînait systématiquement une exclusion de l'étude.

Pour le groupe non exposé, les témoins ont été appariés selon l'âge, sexe, avec les sujets exposés.

Tous les salariés et témoins présentant au moins l'un des signes suivants ont été exclus: antécédents de traumatisme crânien grave, d'épilepsie, de dépression sévère, de maladie neurologique et la consommation d'alcool.

Huit entreprises, d'un à deux salariés chacune, n'ont pu être incluses par refus de l'employeur.

Soixante salariés et 120 témoins ont été inclus dans l'étude.

L'exploitation statistique des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 17. Elle comprend une phase descriptive des résultats cliniques avec comparaison entre les exposés et les témoins. Ensuite, une analyse des résultats du questionnaire, du test psychométrique et métrologiques avec recherche de corrélation entre ces paramètres, ainsi qu'une recherche de lien avec les activités professionnelles.

Pour l'analyse et le croisement :

Les données quantitatives étaient exprimées sous forme de pourcentage, de moyenne, et d'écart type de moyenne.

La recherche d'une association statistique entre facteurs d'exposition et les troubles neurologiques à l'aide de test du Khie2 de Pearson.

Données recueillies

-Le recueil des données individuelles a été effectué, dans les deux groupes, à travers un questionnaire qui est une traduction de celui d'Hogstedt qui a permis de recueillir des renseignements chez les sujets exposés aux solvants.

Ce questionnaire contient deux grands items :

1- les signes cliniques observés pendant l'année précédant l'étude :

L'Asthénie, les céphalées, les vertiges, les troubles de la vigilance, les troubles de mémoire, les perturbations du sommeil, les troubles de l'humeur, les troubles du comportement, sensation de faiblesse musculaire, de paresthésie aux membres et/ou crampes, les troubles digestifs. Les réponses étaient scorées en jamais/rare=1, parfois=2, souvent/fréquent=3

2-Examen clinique (neurologique et autres examens).

Nous avons réalisé les tests psychométriques : le pointage, le Codage (wais), le Digit-span et le Benton, seulement quatre tests disponibles.

Pour la population exposée, les données du questionnaire et les tests ont été recueillies par le médecin du travail sur le lieu du travail. Pour la population témoin, le recueil été effectué aussi par les médecins du travail au cours des visites périodiques.

L'évaluation de l'exposition professionnelle au poste de travail a été faite par prélèvement atmosphérique à l'aide des tubes réactifs colorimétriques par mesure ponctuelle (pompes dräger). On a effectué quatre mesures d'ambiance dans deux pressings seulement pris au hasard.

La première mesure été effectuée dans n'importe quel point du local, la deuxième lors de l'ouverture de l'hublot.

Résultats de l'étude

Description environnementale

Dans les 45 pressings, les salariés étudiés travaillaient dans des pressings traditionnels. Les locaux dans lesquels ils travaillaient ne comportaient pas de ventilation mécanique et il existait au moins une machine à perchloréthylène dans chaque entreprise. Le parc était composé de machines à perchloréthylène de plus de dix ans dans la plus part des pressings sans moyens de prévention (pas d'aspiration vers l'arrière et/ou au dessus du hublot).

Description de la population

Finalement, 60 salariés de 38 pressings ont été inclus dans l'étude.

La population exposée est composée de 33 hommes(55%) et 27 femmes(45%), dont la moyenne d'âge est de 39 ± 12 . Les sujets dont l'âge dépasse les 45 ans prédominent avec un pourcentage de 28,3%.

Presque la moitié des salariés (48,3%) ont une ancienneté de moins de 05 ans dans ce type d'activité. La moyenne d'ancienneté dans la profession est de $9,3 \pm 9,5$ ans.

La population témoin était composée de 65 hommes et 55 femmes avec une moyenne d'âge de $37,5 \pm 9,1$ ans.

Il ya aucune différence significative concernant la consommation du tabac entre les exposés et les non exposés.

Symptômes et résultats de la métrologie

En ce qui concerne la symptomatologie clinique, 50 % des salariés exposés ont présenté un ou plusieurs des symptômes recherchés, ce sont en majorité des symptômes neurologiques, avec prédominance le plus souvent de la fatigue en fin de

poste(50%),s'endormir facilement le plus souvent (58,3%), parfois une irritabilité (63,3%), et réveil au milieu de la nuit(31,7%), troubles de mémoire(25%),avec une différence statistiquement significative entre les sujets exposés et les sujets non exposés pour tout ces symptômes sauf pour la présence des cauchemars, des troubles digestifs et les fourmillements aux niveaux du bras(**Tableau I**).

Concernant les tests psychométriques qui ont été pratiqués chez tous les travailleurs, ont remarque que la moyenne des scores pour les tests de codage et de pointage, digit-span, et le benton, chez les sujets exposes est faible par rapport à celle des sujets non exposés avec une différence statistiquement significative $P < 0,0001$, (**Tableau II**).

Pour les résultats métrologiques :

On a effectué quatre mesures d'ambiance dans deux pressings a l'aide des tubes réactifs colorimétriques par mesure ponctuelle (pompes dräger).

La première dans n'importe quel point dans le local, la deuxième lors de l'ouverture de l'hublot.

Les résultats sont les suivant:

pressing1: mesure normal : 50ppm

Lors de l'ouverture de l'hublot: >100ppm.

pressing2: mesure normal:25ppm.

Lors de l'ouverture de l'hublot : =100ppm. On comparant nos résultats aux valeurs de référence recommandées en France et aux Etats-Unis (**tableau III**), les résultats atmosphériques relèves sont supérieurs à la valeur moyenne d'exposition professionnelle VLE (25 ppm).

Discussion

Limite d'étude :

Cette étude a nécessité la collaboration de multiples intervenants, majorant les difficultés de récolte des informations.

Le décalage dans le temps du recueil des informations cliniques pour une partie des exposés a pu également constituer un biais.

Ces difficultés propres, à toute étude, prennent ici une importance plus grande en raison du faible effectif dans notre population géographique et ce, malgré l'association des trois wilayas (Sidi Bel Abbes ;Ain Témouchent et Oran)et cela est du aussi à la non collaboration de plusieurs pressings.

Cela peut expliquer la faible puissance statistique de certains résultats.

Dans notre étude, La totalité des pressings sont des petites entreprises traditionnelles qui emploi là 2 personnes ce qui explique le nombre faible des travailleurs des pressings: sur 45pressings il ya que 60 ouvriers.

La réalisation de deux mesures seulement est du à un manque de seringues colorimétriques.

Métrologie :

Puisqu'il ya une absence des valeurs limites d'exposition Algérienne au perchloréthylène, on a compare nos résultats aux valeurs de référence recommandées en France et aux Etats-Unis ACGIH(2005).Nos résultats étaient supérieurs à la valeur normale.

La comparaison des concentrations atmosphériques, mesurées dans cette étude aux données de la littérature indiquent qu'elles sont proches de celles rapportées dans les publications les plus récentes dans les pressings commerciaux [17,23] , mais diffèrent avec d'autres études qui ont utilisés des badges GABIE [8,6,9,22]

Les données du questionnaire:

Prenant en considération l'exposition dans notre étude, les différences entre sujets exposés et non exposés sont significatives pour tous les symptômes sauf pour les cauchemars, les Fourmillements au niveau du bras et les Troubles digestifs.

Dans cette étude, les salariés exposés au perchloréthylène dans les entreprises de nettoyage à sec se plaignaient surtout de manifestations neurologiques subjectives : la fatigue et l'irritabilité.

Cependant, l'âge et le sexe sont des paramètres qui peuvent Interférer dans ces résultats.

Nos résultats rejoignent ceux de la littérature concernant la présence de la fatigue en fin de travail [6-21]

Contrairement à nos résultats concernant le reste des symptômes ; des enquêtes transversales ou longitudinales très nombreuses , retrouvent des plaintes chez des sujets exposés comparativement à des sujets non exposés[6-7-11-13-14-15-18-19-21].

Mutray 1999 retrouve chez un homme exposé au perchloréthylène pendant 29ans une perte de la concentration et de la mémoire. [12]

Les résultats des tests psychométriques:

La différence est significatives pour les tests psychométriques, les exposés étaient moins performants aux tests que les non exposés, ceci rejoint les résultats de l'étude faite en 2001[24] qui a trouvé une différence significative entre les exposés aux solvants et les non exposés en 2003.

Les premières enquêtes scandinaves montrent souvent des différences dans les performances aux tests psychométriques. [4]

Des études rétrospectives, réalisées dans les pays nordiques indiquent pour plusieurs catégories de travailleurs exposés à des solvants (en comparaison avec des ouvriers non exposés professionnellement), un risque au moins deux fois plus élevé de développer des troubles neuropsychiatriques chroniques invalidants. [4]

Hanninen[10] trouve une diminution des résultats dans l'exploration de la mémoire, de la perception et de la dextérité chez 102 sujets exposés à des mélanges de solvants comparativement à 101 sujets de référence ,Arlien Soborg[20]note une diminution des performances pour la mémoire des chiffres (Digit-Span), la dextérité, le vocabulaire ,dans une étude transversale sur des sujets exposés à des mélanges de solvants compares à des sujets non exposés.

Fidler[16] trouve des différences significatives pour les tests du codage et de la mémoire des chiffres ,et du WAIS-R.

Mais certains auteurs retrouvent des performances inchangées en fonction de l'exposition à des solvants c'est le cas de Cherry (1984). [4]

Notre population est de 45% de femme et dont la moyenne d'âge de 39,2 ± 12, donc en âge de procréer.

Le perchloréthylène est un solvant liquide volatil qui passe la barrière foetoplacentaire et qui, expérimentalement présente une foetotoxicité et une embryotoxicité à doses toxiques pour la mère. Au niveau épidémiologique, les études rapportent des résultats contradictoires. Le risque d'avortements serait augmente pour certains auteurs mais d'autres études se révèlent négatives, on s'oriente actuellement vers une absence probable de risque d'avortement a faibles doses (inferieures a` la VME) et risque possible a fortes doses [25].

Des doutes existent sur le risque de malformations (fentes palatines, anomalies rénales et urinaires, du système nerveux central) et un risque d'augmentation de troubles psychiatriques

graves de l'enfant et de l'adulte après exposition prénatale a été évoque par une étude [26].

Le perchloréthylène n'a pas été classé comme reprotoxique lors de la 29e, 30e et 31e adaptation au progrès technique ATP du règlement CLP du parlement européen. Cependant, dans le cas de cette substance non classée neurotoxique mais dont des effets sur le développement fœtal sont suspects, il paraît justifié d'appliquer les recommandations de la Société française de médecine du travail de novembre 2004 sur la surveillance médicale des salariées enceintes exposées à des substances toxiques pour le développement fœtal, même en l'absence de disposition réglementaire.

Conclusion

Notre étude vient confirmer l'existence d'une exposition professionnelle, par voie respiratoire au perchloréthylène des salariés des pressings, en particulier, lors de certaines tâches exposantes (ouverture de l'hublot),

Notre enquête a aussi permis d'évaluer en partie le retentissement clinique de l'exposition chronique au perchloréthylène représenté essentiellement par la fatigue (au début, au milieu et à la fin du travail) et l'irritabilité avec diminution des performances psychométriques chez la population des salariés exposés dans les pressings.

Il semble important de poursuivre les recherches de solutions de substitution et, pour l'existant utilisant le perchloréthylène, la promotion des moyens de prévention collective et individuelle. Dans le cadre du suivi médical des salariés, l'information sur le risque pour les femmes enceintes et les femmes en âge de procréer, et de l'ensemble des salariés, sur les tâches exposantes et les moyens de protection à mettre en œuvre est essentielle. De plus, associée à l'examen clinique et le suivi de la fonction rénale, la place du dosage sanguin en perchloréthylène dans le suivi de l'exposition professionnelle des salariés est prépondérante.

Références

1-Organic solvent intoxications in occupational neurology. - Acta Neurol. Scand., 1984, Suppl. 98, 105-120.

2-l'activité de nettoyage à sec, ED6025; INRS 2008.

3- Fiche d'aide à la substitution : produit à substituer perchloréthylène, INRS 2013.

4-B Proust, B Mihout, JF Caillard. Troubles neurologiques et psychiatriques induits par les solvants. EMC (Elsevier Masson SAS), Pathologie professionnelle et de l'environnement, 16-536-A-10, 1989

5-TETRACHLORETHYLENE, IARC, monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans 1995, vol 63, pp 159-221.

6-D. Lucas , A. Hervé, C. Cabioch, P. Capellmann, A. Nicolas, A. Bodenès ,D. Jegaden.Evaluation de l'exposition au tétrachloroéthylène et de son retentissement clinique au sein d'une population de 50 employés de pressing:Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement 2011;72:439-448

7- Ben Omar A, Bessalah M, Jemni H, Mlaiki N, Magrouni I, Ladhari N, Romdhani S, Rejeb A, Bensalah F, Gharbi R.analyse du risque lie au perchloroéthylène dans les unités de lavage à sec : XXIV emes journées medetiraniennes internationales de médecine du travail Alger ,18,19 & 20 Mai 2007 :

8- Azimi Pirsarai SR, khavanin A, Asilian H, Soleimani A: occupational exposure to perchloroethylene in dry cleaning shops in Tehran, Iran. Occupational Health Department , Faculty of Health and Paramedical Sciences, Zanjan University of Medical Sciences, Parvin Etesaami Ave, 2009 Apr;47(2):155-9

9-Lauwerys R, Herbrand J, Buchet JP, Bernard A, Gaussin J: Health surveillance of workers exposed to tetrachloroethylene in dry cleaning shops. Int Arch Occup Environ Health. 1983; 52(1): 69-77

10-Hanninen H, Eskelinen L, Husman K, Nurminen M.Behavioral effects of long-term exposure to mixture of organic solvents. Scand J Work Environ Health.1976 Dec; 2(4):240-55

11- Kilburn KH.Is neurotoxicity associated with environmental trichloroethylene (TCE)? Arch Environ Health. 2002 Mar-Apr; 57(2):113-20.

12-Muttray A, Randerath W, Rühle KH, Gajsar H, Gerhardt P, Greulich W, Konietzko J.[Obstructive sleep apnea syndrome caused by occupational exposure to solvents]. Dtsch Med Wochenschr. 1999 Mar 12; 124(10):279-81.

13-Sińczuk-Walczak H. [Status of the nervous system and bioelectric activity of the brain in dry cleaning plant workers exposed to tetrachloroethylene]. Med Pr. 1988; 39(2):91-9.

14-Dudek B, Nowacki H. [Use of subjective symptom measurements in evaluating the health effects of exposure of workers to neurotoxic compounds]. Med Pr. 1987; 38(2):102-7.

15- Antti-Poika M.Overall prognosis of patients with diagnosed chronic organic solvent intoxication. Int Arch Occup Environ Health. 1982; 51(2):127-38.

16-Fidler A T, Bakcr E L, Letz R E. Neurobehavioral effects of occupations exposure to organic solvents amont constriction lainiers, coti. Ind Med 1987 May, 44 (5) 292-308.

17-Gold LS, Roos DE, Waters AJ, Stewart MP. Systematic review of literature of uses and levels of occupational exposure to Tétrachloréthylène. *J Occup Environ Hyg* 2008;5:807-39.

18- AXELSON, O. HANE, M. and HOGSTEDT, C. A case-referent (case-control) study on neuropsychiatric disorders among workers exposed to solvents. *Scand. j. work environ & health* 2 (1976) 14-20.

19-Nasreddine KHAYATI. Evaluation du risque de l'exposition aux solvants dans le secteur de la transformation du cuir (à propos de 84 cas). Université de Tunis El Manar - Mastere spécialisé en médecine du travail 2004.

20-[Arlien-soborg P. HENRIKSEN L., Gade A, Gyldenstend C. Paulson O.B: Cerebral blood flow in chronic toxic encephalopathy in house pointues exposés à des solvants organiques. *Acta neurol, Scand.* 1982, 66.34-41

21-S. Ginja, L. Bensefa-Colas, F. Conso. Épilepsie et atrophie cérébrale chez une employée de pressing : rôle du perchloroéthylène ? *Arch Mal Prof Env* 2007

22- McKernan LT, Ruder A, etersen MP, Hein MJ, et al. Biological exposure assessment to tetrachloroethylene for workers in the dry cleaning industry. *Environ Health* 2008;7:12. Doi:10.1186/1476-069X-

23-Poirot P, Leclmer MT, Galland B, Hubert-Pelle G, Nicot T, Grosjean J. Profils d'exposition au perchloroéthylène dans le secteur du nettoyage à sec. Cah Notes Documentaires 4cesupe/cesup Trimestre 2007; 209:43-58.

24-H.M. Benachenhou. Intérêt des tests psychométriques dans la détection précoce du psychosyndrome dû aux solvants: **intérêt** en médecine du travail.

Université DJILALI LIABES SIDI BEL ABBES ; faculté de médecine. 2003.

25-Windham GC, Shusterman D, Swan SH, Fenster L, Eskenazi B. Exposure to organic solvents and adverse pregnancy outcome. *Am J Ind Med* 1991;20:241-59.

26-Perrin MC, Opler MG, Harlap S, Harkavy Friedman J, et al. Tétrachloréthylène exposure and risque of schizophrénia: offspring of dry cleaners in a population birth cohort, preliminary findings. *Schizophr Res* 2007;90:251-4

Tableau I: Répartition des fréquences des symptômes

Symptômes	Fréquences des symptômes	Exposés		Non exposés		P
		N	%	N	%	
Troubles digestifs	Jamais	51	85	109	90,8	0.09
	Parfois	4	6.7	9	7,5	
	Souvent	5	8.3	2	1,7	
Fourmillement Bras	Jamais	57	95	118	98,3	0.28
	Parfois	2	3.3	2	1,7	
	Souvent	1	1.7	/	/	
Fourmillement Doits	Jamais	51	85	119	99,2	0.001
	Parfois	4	6.7	1	0,8	
	Souvent	5	8.3	/	/	
Fourmillement Jambe	Jamais	55	91.7	120	100	0.006
	Parfois	3	5	/	/	
	Souvent	2	3.3	/	/	
Trouble de gout	Jamais	55	91.7	120	100	0.006
	Parfois	4	6.7	/	/	
	Souvent	1	1.7	/	/	
Trouble d'olfaction	Jamais	52	86.7	120	100	0.00
	Parfois	4	6.7	/	/	
	Souvent	4	6.7	/	/	
Trouble de mémoire	Jamais	42	70	104	86,7	0.02
	Parfois	15	25	14	11,7	
	Souvent	3	5	2	1,7	
Trouble de vigilance	Jamais	50	83.3	116	96,7	0.002
	Parfois	10	16.7	4	3,3	
	Souvent	/	/	/	/	

Tableau I: Répartition des fréquences des symptômes (suite).

Symptômes	Fréquences des symptômes	Exposés		Non exposés		P
		N	%	N	%	
Troubles digestifs	Jamais	51	85	109	90,8	0.09
	Parfois	4	6.7	9	7,5	
	Souvent	5	8.3	2	1,7	
Fourmillement Bras	Jamais	57	95	118	98,3	0.28
	Parfois	2	3.3	2	1,7	
	Souvent	1	1.7	/	/	
Fourmillement Doigts	Jamais	51	85	119	99,2	0.001
	Parfois	4	6.7	1	0,8	
	Souvent	5	8.3	/	/	
Fourmillement Jambe	Jamais	55	91.7	120	100	0.006
	Parfois	3	5	/	/	
	Souvent	2	3.3	/	/	
Trouble de gout	Jamais	55	91.7	120	100	0.006
	Parfois	4	6.7	/	/	
	Souvent	1	1.7	/	/	
Trouble d'olfaction	Jamais	52	86.7	120	100	0.00
	Parfois	4	6.7	/	/	
	Souvent	4	6.7	/	/	
Trouble de mémoire	Jamais	42	70	104	86,7	0.02
	Parfois	15	25	14	11,7	
	Souvent	3	5	2	1,7	
Trouble de vigilance	Jamais	50	83.3	116	96,7	0.002
	Parfois	10	16.7	4	3,3	
	Souvent	/	/	/	/	

Tableau II: résultats des tests psychométriques

Test	Exposé	Non exposé	P
pointage	127,77 ± 35,53	168,53 ± 24,9	0,003
Codage(wais)	23,7 ± 6,93	31,05 ± 6,14	0,001
Digit-span	8,82 ± 2,74	11,30 ± 2,31	0,001
Benton	0,95 ± 0,34	1,13 ± 0,66	0,001

Tableau III Valeurs limites indicatives d'exposition professionnelle

PAYS	VLEP	Moyenne pondérée sur 8 heures		Court terme (15 minutes max.)	
		ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³
France (circulaire 1983)		50	335	-	-
France (projet de décret 2012*)		20	138	40	275
Etats-Unis (ACGIH)		25	170	100	685

(*) VLEP contraignantes établies suite à l'avis (octobre 2010) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) et Introduites dans un projet de décret à paraître en 2012.

ETUDE DE L'IMPACT DES STRATEGIES DES RESSOURCES HUMAINES SUR LA PERFORMANCE DES SALARIES ÂGES A L'HÔPITAL

Le cas des établissements de santé en Algérie

EL HOUARI.D, EZZINE.A, BELKHRESSAT.R, ATTOU.M

Université de Djilali LIABES – SIDI BEL ABBES

Résumé

L'avancée en âge des personnels à l'hôpital est l'une des préoccupations majeures dans le monde du travail. Ceci se manifeste de manière spécifique en raison de la particularité du travail qui est effectuée, de la pénibilité de certaines tâches et des tensions propres à la prise en charge de la maladie. L'analyse du problème de vieillissement des personnels à l'hôpital tient compte de la complexité de plusieurs facteurs liés à l'environnement, aux relations du travail mais aussi aux modes d'organisation de travail dans les services hospitaliers. Au total, 262 soignants ont participé à notre enquête. L'âge moyen des répondants est de 49 ans. La profession accuse un vieillissement sensible qui se traduit en effet par l'alourdissement du poids des 40 ans au sein de l'hôpital. Cela constitue une contrainte dans le fonctionnement des services (54%) et une démotivation au travail (70%). L'avancée en âge procure néanmoins un gisement de savoir et de compétence dont il faut l'exploiter (75%). Pour prendre en charge les salariés âgés, 72% des soignants retiennent la stratégie de l'amélioration des conditions de travail. Alors que seulement 56% d'entre eux envisagent la solution de développement de la formation. L'analyse multivariée montre qu'il existe une corrélation multivariée significative entre la dépendante la réalité de l'avancée en âge et vieillissement au travail avec la variable aménagement des conditions du travail ($p < 0.001$) qui semble être un déterminant de cette dépendante. Les conditions de travail semblent influencer le vieillissement de la population soignante. Les politiques hospitalières doivent aujourd'hui conduites à accroître les capacités d'adaptations des personnels âgés dans le milieu du travail. La formation continue et la gestion de la mobilité doivent également s'intégrer dans une véritable stratégie des Ressources Humaines à l'hôpital.

I. Introduction

La question de l'âge au travail dans les établissements est devenue ces dernières années une préoccupation grandissante. Cette situation résulte en grande partie des effets démographiques, de l'allongement de l'espérance de vie et de la baisse de fécondité. L'Algérie n'est pas épargnée et connaît désormais un vieillissement plus au moins accéléré qui se répercute inévitablement sur celle dite active. Les projections de l'Office National des Statistiques [1] prévoient une augmentation inexorable de la population active âgée de plus de 55 ans et va atteindre un million en 2030. Ce phénomène de l'avancée en âge, certes, n'est pas spécifique à l'organisation hospitalière, mais il se manifeste dans cet établissement de manière spécifique en raison de la particularité du travail qui est effectuée, de la pénibilité de certaines tâches et des tensions propres à la prise en charge de la maladie, de la souffrance et la mort. L'analyse du problème de l'âge tient compte de la complexité de plusieurs facteurs liés aux relations du travail mais aussi aux modes d'organisation de travail des personnels soignants à l'hôpital. Au regard du management des Ressources humaines,

Les mécanismes de sélection des personnels soignants vieillissants qui ont contribué à tenir à l'écart de certaines contraintes ou exigences souvent technique de travail, deviennent plus délicats à mettre en œuvre si le poids démographique des tranches d'âge moyennes s'accroît dans nos établissements hospitaliers. Ces derniers se trouvent donc confrontés à des défis contradictoires, car il faut à la fois mieux accueillir les nouveaux arrivants sur le marché du travail en l'occurrence les jeunes diplômés et maintenir en place et intégrer les personnels plus âgés (les seniors). D'abord pour faire face aux déséquilibres croissants des régimes de retraite, ensuite parce qu'il faut ménager l'avenir d'un nombre de plus en plus important de travailleurs de plus de 40 ans et enfin pour profiter davantage du savoir-faire et des compétences des salariés plus âgés. Le rôle de management des ressources humaines dans les établissements hospitaliers est primordial. Il doit contribuer à définir et mettre en place un ensemble de mesures qui permettent le développement des capacités de travail des salariés aux différentes étapes de la vie professionnelle. L'amélioration des conditions de travail reste le principal levier de prévention de la pénibilité et de l'usure professionnelle. Ceci constitue un enjeu majeur de l'emploi des seniors [2]. Outre les actions de prévention, c'est l'ensemble de la politique des dirigeants hospitaliers en matière d'emplois et des caractéristiques de travail qui doit être interrogée. Ces politiques doivent favoriser le développement des compétences tout au long de la vie et aménager les fins de carrières. L'importance des questions de coopération entre les générations est nécessaire. Le plus souvent, aucune stratégie explicite ne vient favoriser les échanges et la transmission de savoir-faire dans nos établissements. Alors que les salariés âgés peuvent constituer un gisement d'expériences et de compétences qu'il faut exploiter. Ce travail s'inscrit dans cette thématique en analysant la question de l'âge et la performance des soignants âgés ainsi que leurs adaptations dans la relation au travail. On s'interroge également sur les stratégies des ressources humaines adoptées à l'égard des personnels vieillissants et leurs conséquences managériales. Comment peut-on favoriser l'émergence de pratiques de gestion prenant en compte le vieillissement des salariés dans les services de CHU de Sidi bel Abbas ?

II. Objectifs de l'étude

- Produire une connaissance scientifique sur la question de gestion des âges et ses contraintes sur l'emploi des salariés âgés.
- Repérer les représentations du vieillissement des personnels soignants et leur performance à l'hôpital
- Explorer les pratiques des ressources humaines à l'égard du vieillissement et ses implications managériales dans le milieu hospitalier

III. Matériels et Méthodes

La méthode de recherche choisie par l'équipe de recherche consiste à mener une étude empirique à l'hôpital de Sidi Bel Abbas :

- **Un questionnaire** : Cette instrument qui permet l'interprétation approfondie des statistiques. La méthodologie quantitative utilise l'enquête par questionnaire pour essayer d'atteindre les objectifs et rechercher ainsi les informations relatives à la gestion du

vieillesse et les stratégies adoptées par les responsables hospitaliers au CHU de Sidi bel abbes.

Ce questionnaire portait sur la perception qu'ont les personnels soignants sur la gestion du vieillissement et ses implications managériales en termes de formation, conditions du travail, mobilité, polyvalence, aménagement des postes de travail et des horaires...

La constitution d'un comité de Pilotage de l'étude qui rassemble le groupe de travail et des acteurs hospitaliers permettra de faciliter le travail en termes de faisabilité de cette l'étude auprès des personnels du CHU de Sidi Bel Abbes.

- **La documentation** : nous avons constitué un groupe de recherche bibliographique effectuant un recensement et une lecture détaillée d'articles, d'ouvrages et de rapports susceptibles d'être utiles à la recherche.

- **Des entretiens** : Un entretien de type semi directif permettant de vérifier nos hypothèses testées dans la phase de l'enquête par questionnaire. Nous avons réalisé quelques entretiens environ 30 avec les différentes catégories des personnels. L'enquêteur utilise un guide d'entretien structuré. Ce travail nous permet d'obtenir des informations sur la manière habituelle auquel le répondant vit son expérience quotidienne et réduire ainsi les biais d'une enquête par questionnaire plus subjective.

- **La population étudiée** : Elle représente l'ensemble des catégories professionnelles à savoir les infirmières, sage femme, aides soignantes, agents des services hospitaliers ...Pour que cette population soit représentative nous avons procéder à la méthode d'échantillonnage des quotas.

L'enquête était exhaustive et a touché l'ensemble des services du CHU à savoir : Chirurgie- Médecine interne- Hématologie- Orthopédie- Radiologie- Pédiatrie- Psychiatrie- Réanimation- urgences -Gynécologie...L'étude a été effectuée entre la période de mois d'Avril jusqu'à la fin du mois de mai 2012. Selon la disponibilité de chaque chercheur. Nous avons administré environ 700 questionnaires dont 280 ont été recueilli durant cette période.

- **Analyse des données** : Les analyses seront menées pendant et après l'étude empirique.

Il s'agit de classifier et structurer les données recueillies dans des fiches d'analyse par entretien ensuite par questionnaire. Le traitement, le codage des questionnaires et la saisie des données sont effectués sur le Logiciel XLSTAT. Pour l'analyse multivariée on a utilisé le logiciel SPSS 17.0 ».

V. Résultats

Tableau I : Rôle positif et performances des salariés au CHU SBA

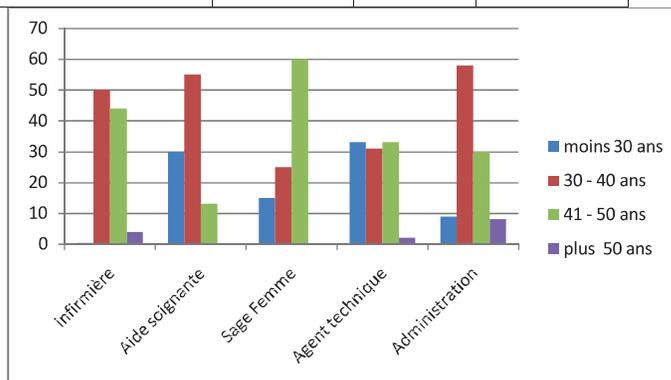
Variables	n=262 %
Plus d'expériences, de compétences et de savoir-faire	75
Avancée en âge permet de jouer le rôle de l'encadrement et le rappel des règles de travail	80
La meilleure image de marque vis-à-vis des malades	64
Relation avec l'équipe soignante et médicale	67
Le dialogue avec les malades	66
Un meilleur suivi de rythme du service et mémorisation des tâches	72
Une baisse d'efficacité dans les services	41
Le fait d'être plus âgé constitue des perspectives bloquées pour les plus jeunes dans le travail	39

Tableau II : Analyse des réponses en fonction des caractéristiques sociodémographiques des personnels soignants du CHU SBA - variables explicatives (synthèse des résultats)

ANOVA (n=262)

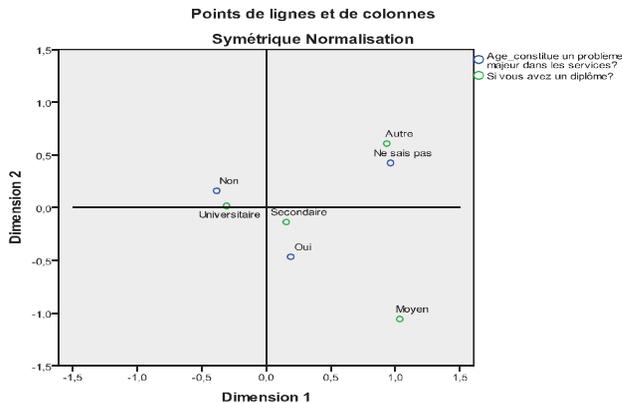
Variables	Valeur	ddl	signification
Âge des soignants			
Une meilleure image de marque vis-à-vis du malade	10.47	4	0.034
De l'expérience de la compétence et de savoir faire	10.04	4	0.04
Diplôme			
Age permet de jouer le rôle de l'encadrement et la formation des plus jeunes	21.18	6	0.002

Une meilleure image de marque vis-à-vis du malade	9.067	6	0.17
La même performance jusqu'à l'âge de la retraite	17.23	6	0.008
Ancienneté			
Meilleure suivi de rythme du service et mémorisation des tâches	10.33	4	0.035
Plus de relation avec les équipes (soignantes et médicales)	9.56	4	0.048
Une meilleure image de marque vis-à-vis du malade	10.91	4	0.028
La même performance jusqu'à l'âge de la retraite	12.50	4	0.014
Des perspectives de carrière bloquées pour les plus jeunes	9.58	4	0.048
Type de service			
recul fait qu'on prend de meilleures initiatives	12.38	4	0.015
La même performance jusqu'à l'âge de la retraite	13.21	4	0.010



Graphique 1 : Répartition des âges des soignants en fonction des catégories professionnelles au CHU

Source : Exploitation des données statistiques extraites par notre équipe à partir des bilans sociaux du CHU Sidi bel abbes



Graphique 2 : Problématique de l'âge selon les appréciations des personnels du CHU

VI. DISCUSSION

Les résultats obtenus nous permettent de mieux connaître les différentes appréciations des soignants ainsi que les politiques adoptées par les dirigeants hospitaliers au sein de CHU de Sidi Bel Abbes à l'égard des personnels jeunes et anciens et ceci en fonction des différentes variables explicatives retenues. Dans un premier temps, ces données dressent un portrait descriptif des pratiques des Ressources humaines des responsables du CHU de Sidi Bel abbes à l'égard des personnels hospitaliers ayant répondu à notre sondage. Dans un second temps, ces données seront utilisées pour effectuer une analyse multivariée par régression linéaire multiple afin de mesurer l'impact des stratégies des ressources humaines adoptées sur la performance des travailleurs âgés en termes de gestion hospitalière.

I. Caractéristiques socio-démographiques de la population soignante

262 soignants ont participé à cette enquête soit 38%. 59% travaillant dans des services médicaux et 37% représentent les personnels administratifs. Cette répartition est très importante car elle permet de d'analyser de façon plus fine les politiques managériales adoptées par les responsables sur ces différentes catégories professionnelles. L'âge moyen des salariés ayant répondu à notre questionnaire est de 49 ans. Les soignants accusent un vieillissement qui se traduit en effet par l'alourdissement du poids des 40 ans. Ceci peut s'expliquer par le renouvellement moins élevé dans cette catégorie professionnelle durant les dernières années. La répartition par sexe dans cette étude se caractérise par une population plus au moins équilibrée entre homme (52%) et femme (48%). Cette distribution permet de connaître davantage les réponses aux problématiques posées par l'avancée en âge des personnels et ses performances en termes de management hospitalier.

L'échantillon étudié se caractérise par un niveau d'étude qualifié. 63% ont un diplôme universitaire. Cela peut nous aider à diagnostiquer les représentations de l'âge et les pratiques en termes de gestion hospitalière par les dirigeants hospitaliers.

II. Une démographie qui se déplace progressivement vers les âges avancés

La relation entre l'âge et le travail à l'hôpital se traduit par un alourdissement du poids relatif de la proportion des personnels âgés de 45 ans et plus. L'exercice en établissement hospitalier public est moins prisé par les tranches d'âge des plus jeunes 29% et les plus de 40 ans représentent 37%. Il s'agit d'un gonflement de la classe d'âge médiane. Ceci semble résulter de la combinaison de l'augmentation des catégories les plus âgées des effectifs et la diminution du poids des catégories les plus jeunes. Une population vieillit plus vite lorsqu'il y a de moins en moins de jeunes par le simple effet mécanique du temps qui passe [3]. Ces résultats correspondent bien aux données disponibles dans les bilans sociaux fournis par le service des personnels de CHU de Sidi Bel Abbes (graphique 1). Il s'agit, en effet, de l'alourdissement du poids relatif de la proportion des 45 ans et plus, et la diminution de la part des moins de 30 ans. L'utilisation de la pyramide des âges constitue le meilleur outil de diagnostic pour les gestionnaires enclins à se pencher sur les questions de vieillissement de son personnel. Maintenir l'équilibre entre les tranches d'âges des effectifs est nécessaire. Cependant, les hôpitaux doivent mettre en œuvre ce type d'instrument indispensable dans la stratégie de restructuration des ressources humaines et d'anticiper en prenant des décisions dans le cadre notamment d'une gestion prévisionnelle des emplois et des compétences. Ceci peut apporter à la prise de décision en matière d'analyse des dysfonctionnements et de gestion du changement notamment organisationnel dans les services hospitaliers.

III. Représentation de l'âge en termes de gestion et d'adaptation au travail

Les résultats de l'étude montrent que l'avancée en âge des personnels au travail semble constituer une contrainte dans la gestion et le fonctionnement des services (54%). L'analyse croisée fait apparaître une différence significative en fonction du diplôme et le niveau d'étude de la population soignante notamment par les universitaires car il existe une attraction entre les deux variables « problématique que constitue l'avancée en âge et diplôme universitaire des soignants » (graphique 2). Les avis des soignants titulaires d'un diplôme universitaire illustrent que l'avancée en âge ne constitue pas un problème majeur dans leurs services. Ce constat semble différent de celui de certains managers très influencés par la représentation négative de l'âge qui considèrent que les salariés âgés constituent des sources de blocages qui pourraient empêcher leur établissement de s'adapter aux nouvelles conditions de l'environnement notamment technologique. Il s'agit d'une approche qui consiste à dire que le salarié âgé est un individu qui ne pourrait ou ne voudrait plus s'adapter aux conditions de vie que lui impose son environnement, à savoir ici l'organisation du travail conçue et mise en œuvre par les dirigeants. Il faut dire que la mobilisation de l'âge par décideurs cache souvent une interrogation sur les possibilités d'un changement organisationnel. Elle se traduit encore très fréquemment par une marginalisation des plus âgés. Gilles Guérin évoque une stratégie d'élimination des salariés les plus âgés [4].

La question de l'adaptation des seniors dans le travail est loin d'être culpabilisée par les personnels soignants. Les perceptions des personnels au CHU se distinguent avec celles des dirigeants hospitaliers caractérisées par une logique managériale axée sur l'efficacité et la productivité. Souvent, les questionnaires évoquent des difficultés en termes d'évolution technologique, la stagnation de l'évolution de carrière à partir d'un certain âge et l'absence d'objectifs professionnels des soignants à l'hôpital.

Les résultats obtenus mettent en exergue que l'avancée en âge des soignants entraîne une démotivation au travail (70%). L'analyse croisée fait apparaître une différence significative en fonction du sexe ($p < 0,001$). Cette représentation négative du vieillissement constitue un des facteurs pouvant influencer le travail des soignants notamment les tâches des personnels infirmiers. La motivation au travail semble liée à la perception de l'intérêt et de la richesse et le contenu du travail. Le besoin des personnels vieillissants d'avoir un travail utile pour l'organisation hospitalière est extrêmement fort. L'intérêt du travail se traduit par la richesse et le besoin de l'autonomie qui reste synonyme d'indépendance et de marge de manœuvre pour atteindre les résultats. Marbot souligne que lorsqu'un senior se sent autonome, qu'il perçoit que son travail est riche et varié, il n'a pas de sentiment de fin de vie professionnelle [5]. Souvent, le désengagement des salariés âgés dans leur travail est lié non seulement à des situations de travail peu valorisantes mais aussi aux pratiques de management qui semblent inadéquates à l'égard des plus âgés. De ce point de vue, il faut s'interroger sur la relation que cherche à construire certains directeurs des ressources humaines entre âge, vieillissement et diminution des capacités de travail et d'adaptation [6]. Il s'agit de développer la motivation des salariés avec la mise en place des procédures visant à aménager les carrières et les parcours professionnels. La politique de promotion et l'évolution interne participe et contribue pour une grande part à la motivation du personnel vieillissant.

IV. Représentations positives du travailleur âgé

Les seniors représentent le patrimoine et la véritable richesse d'une organisation. Leur rôle est essentiel dans la transmission des savoirs et des compétences. En effet, tout au long de leur carrière, les plus âgés ont acquis l'expérience et ont appris à repérer les enjeux stratégiques en prenant des actions d'anticipation. Les résultats de notre étude vont dans ce sens. L'avancée en âge des soignants s'accompagne d'une augmentation de l'ancienneté qui procure une expertise professionnelle difficilement remplaçable par un savoir théorique (75%) En effet, les appréciations des soignants ont mis en valeur les traits positifs du vieillissement et l'avancée âge des salariés (Tableau 1). L'analyse statistique de ces réponses varient significativement en fonction de l'âge ($p < 0,04$) (Tableau 2). L'accroissement des capacités d'anticipation des soignants âgés leur permet de compenser les déficits liés à l'âge par une meilleure organisation de leurs activités. Cependant, il est nécessaire de reconnaître les compétences acquises par les salariés âgés pour ne pas perdre brutalement ces gisements accumulés pendant des années, indispensables pour assurer le changement dans les hôpitaux. L'introduction de nouvelles techniques doit être accompagnée d'un effort de formation suffisant et adapté en direction des personnels soignants vieillissants [7]. L'augmentation des compétences techniques constitue en effet, une des meilleures garanties contre les risques de marginalisation des personnels soignants vieillissants à l'hôpital.

Les relations avec les équipes soignantes et médicale constituent (67%) avec un $p < 0.048$ en fonction de l'ancienneté. Les résultats de l'enquête montrent également que l'avancée en âge entraîne une baisse d'efficacité dans les services (41%). Ces avis sont fréquemment évoqués par les personnels soignants les plus diplômés. L'analyse de ces réponses fait apparaître une différence significative $p < 0.008$. Mais, les travaux de Rosen B et Jerdee T montrent qu'il n'existe aucune relation significative entre l'avancée en âge et la baisse de productivité. C'est la perte de motivation et non la perte de capacité qui semble en cause lors de la baisse d'efficacité des travailleurs vieillissants [8]. La productivité est une notion collective qui ne peut pas être liée à un individu et encore moins à son âge. Par conséquent, au-delà de l'aspect physique, l'âge des salariés n'agit pas sur le travail. Il est compensé par l'expérience et la compétence constituant ainsi la performance. L'analyse de l'évolution des performances cognitives en fonction de l'âge montre que celles-ci sont faiblement affectées jusqu'à un âge avancé, hors cas de pathologie. D'autres recherches indiquent que les différences en performances et en productivité sont plus grandes entre individus qu'entre groupes d'âge. Selon le Gérontologue Cornet, il n'y a pas de fatalité à l'inadaptation des travailleurs âgés aux changements technologiques, mais leur capacité d'adaptation dépend des mécanismes d'incitation et de motivation dont leurs emplois auront été dotés [9]. Du point de vue ressources humaines, l'impact de la technologie impose donc une gestion anticipatrice de l'emploi et la recherche des modalités d'adaptations pertinentes. L'évolution des techniques nouvelles modifient les emplois et transforment les métiers et les compétences requises. La baisse de capacité des salariés âgés pourrait être dépassée par la formation continue. Pour Perritti l'adaptation de chaque salarié requiert un investissement de formation [10]. Cependant, l'analyse des résultats obtenus doivent conduire les responsables d'établissements hospitaliers à s'interroger sur les parcours des personnels soignants et sur l'accompagnement des évolutions techniques, tant en termes de formation que l'organisation du travail. Il faudrait donc repenser les pratiques des établissements ainsi que leur fonctionnement.

V. Les pratiques managériales à adopter pour prendre en charge les soignants vieillissants : une nécessité pour améliorer la productivité et la performance des salariés âgés

Les résultats de notre enquête montrent que les avis des soignants sur les pratiques de ressources humaines adoptées à leur égard sont susceptibles d'avoir des effets positifs sur l'employabilité et la productivité des salariés seniors dans les services hospitaliers. Il s'agit de la stratégie de l'amélioration des conditions de travail comme première action perçue par les soignants pour prévenir de vieillissement des salariés (72%). L'exposition aux différentes pénibilités avec un travail physiquement exigeant durant le parcours professionnel et l'usure prématurée induite est souvent évoquée comme des facteurs susceptibles de concourir à la dégradation de la santé des personnels soignants et accélère ainsi leur vieillissement. L'évolution des capacités individuelles du personnel et sa performance dépend des contraintes posées par l'organisation du travail (postures physiques, attention mentale, cadences de production, rythme et durée de présence). C'est l'organisation qui fait donc de vieillir les salariés [11]. Le problème intègre une dimension organisationnelle.

L'amélioration des conditions de travail, la diminution de l'usure professionnelle, la promotion de la santé, et plus largement, du bien être au travail sont des défis organisationnels
Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

qui peuvent s'avérer utiles quel que soit l'âge des travailleurs. Cette première action est suivie par de recrutement des personnels plus jeunes (71%). Le recrutement de jeunes porteurs d'attentes et de valeurs nouvelles semble un défi auquel les responsables de l'hôpital sont régulièrement confrontés. La tranche d'âge des 45 ans et plus est très importante et qu'elle s'accroîtra encore dans les années à venir au CHU de Sidi bel abbes. La perception de la vie professionnelle s'élabore dès les premières phases du recrutement. Affronter la question du vieillissement des personnels à l'hôpital nécessite une stratégie d'emploi des plus jeunes. Ceci permet de normaliser les pyramides d'âge des personnels soignants et de maintenir ainsi l'équilibre entre les générations. La caractéristique principale durant ces dernières années pour nombre d'établissements hospitaliers a été la raréfaction des embauches. La question de l'insertion des jeunes formés est nécessaire pour assurer un bon fonctionnement des services. Le processus d'intégration doit être individualisé pour favoriser leur performance, leur satisfaction ainsi que leur engagement dans le travail. ECG G. souligne qu'il faut de temps pour informer et convaincre, pour recruter et intégrer de nouveau salarié, pour perfectionner le personnel en place [12]. Ceci peut avoir un impact important dans la réduction des risques de l'usure professionnelle des personnels soignants des plus âgés. L'importance de la coopération entre les générations doit être prise en compte, ceci pour assurer une bonne transmission des savoir-faire et une bonne coexistence entre les générations les anciens salariés et les nouveaux embauchés. La stratégie de réduction du temps de travail perçu e par les soignants peut également être une solution permettant de gérer efficacement les salariés à l'hôpital (69%). Cette possibilité va permettre aux salariés de réduire leur temps de travail pour préparer leur départ en retraite. Cette réduction sera néanmoins vécue par ces derniers comme une exclusion ou une marginalisation du système de production et donc de ses rétributions. Les salariés âgés se sentent également stigmatisés en raison de leur âge [13]. Au regard des conditions de travail, la solution de réduction du temps de travail semble inadaptée, car cela peut accélérer le processus du vieillissement et d'usure professionnelle. Adapter le poste de travail, aménager les horaires et préserver l'intérêt et l'autonomie au travail sont des éléments nécessaires à l'entretien du sentiment de vie professionnelle. Par ailleurs, la réalité et les perspectives du vieillissement des personnels au CHU doivent encourager les salariés et les inciter aux actions de formation. 56% envisagent la stratégie de développement de la formation. Cette stratégie est devenue un élément capital dans le développement des carrières et la lutte contre l'exclusion des personnels âgés. Les programmes de formation doivent être adaptés aux caractéristiques des travailleurs vieillissants. Ceci doit permettre à chacun de réaliser son potentiel sans être désavantagé par son âge [14].

L'analyse multivariée montre qu'il existe une corrélation multivariée significative entre la dépendante la réalité de l'avancée en âge et vieillissement au travail avec la variable aménagement des conditions de travail « $p < 0.001$ ». Les conditions de travail semblent influencer le vieillissement, La relation entre l'âge et le travail ne peut être appréhendée sans l'introduction de l'organisation du travail et son rôle de médiateur entre l'âge du salariée et la mise en œuvre de ses capacités [15].

Les responsables établissements hospitaliers doivent disposer des moyens pour organiser le milieu et le contenu du travail et soulager ainsi les contraintes qui pèsent sur les soignants âgés. Pour réagir aux mutations accélérées de son environnement, pour s'enrichir et disposer du

savoir-faire notamment des personnels les plus anciens, les organisations hospitalières doivent aujourd'hui conduire à accroître leurs capacités d'adaptations. Pour Acar J-L : l'adaptation des emplois c'est à la fois une réponse aux contraintes extérieures et un moyen nouveau d'atteindre les objectifs interne de l'organisation [16]. La gestion du poste de travail doit s'intégrer dans une stratégie des Ressources Humaines à l'hôpital.

VI. Conclusion

L'objectif de ce travail était d'explorer les pratiques de ressources humaines à l'égard du vieillissement et ses implications managériales dans le milieu hospitalier. Notre étude a permis d'illustrer la réalité du vieillissement de la population soignante et que le nombre de salariés des 40 ans et plus est sensible au CHU de Sidi Bel Abbes. Ceci risque de rendre extrêmement difficile l'instauration d'une gestion dynamique et efficace des carrières, offrant des perspectives d'évolution pour tous les salariés. La gestion des âges et la confrontation entre les conditions de travail difficiles semblent réduites à la résolution de problèmes individuels, sans une véritable politique à long terme. Les résultats de notre étude ont mis en valeur les traits positifs du vieillissement sur l'employabilité et la productivité des salariés âgés dans les services hospitaliers. Les plus âgés représentent le patrimoine et la véritable richesse de l'établissement. Leur rôle est essentiel dans la transmission des savoirs et des compétences. L'évolution des capacités individuelles du personnel vieillissant et sa performance dépend essentiellement des contraintes posées par l'organisation du travail. L'introduction de nouvelles techniques doit être accompagnée d'un effort de formation suffisant et adapté en direction des personnels soignants vieillissants. D'où la nécessité d'une nouvelle orientation politique susceptible de relever ce défi majeur pour l'avenir des institutions hospitalières et ceci à travers une révision motivante des politiques de gestion des ressources humaines et de la performance globale du personnel âgé avec une meilleure analyse de son potentiel, de ses apports en compétences et stabilité dans le travail.

Enfin ce travail peut ouvrir d'autres axes de recherches liés à la problématique de l'âge au travail des personnels et ses conséquences économiques et sociales en termes notamment de la reconnaissance au travail des seniors et absentéisme au travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bulletin statistique de l'Office National des Statistiques, Algérie, 2009.

[2] Schneider G., « Problèmes et perspectives des travailleurs âgés dans une société vieillissante ». Le travail dans le monde, Paris, 1995.

[3] Godelier E., « Pyramide des âges et gestion des ressources humaines », La Découverte, Paris, 2006.

[4] Guérin G., « La gestion du vieillissement : un bilan », revue de gestion des ressources humaine, 2, décembre, 1991, p. 3 -27.

[5] Marbot E., « Les DRH face au choc démographique », Organisations, Paris, 2005.

[6] Teiger C. Villat R., 1983. : « Condition de travail et vieillissement différentiel », Travail et Emploi, 16, avril-juin 1983, p. 27 -36.

[7] Blanchet D., « Le vieillissement de la population active doit-il affecter les politiques de formation et les politiques salariales ? », in. Les retraites, genèse, acteurs, enjeux, Armand Colin, 1995.

[8] Rosen B. et Jerdee T.; "Olderemployees : New roles for valued resources" Dow Jones Irvin, 1985.

[9] Cornet G., « Les atouts des salariés âgés : approche gérontologique » in Retraites choisies et progressives, rapport du CAE de D. Taddei, n°21, La documentation Française, 2000, Paris, p. 163-170.

[10] Perretti J-M., « Ressources Humaines », Vuibert, Paris, 2003.

[11] Marquié J-C. et Paume D. Volkoff S., « Le travail au fil de l'âge », Octarès. 1995.

[12] ECG G., « Adapter la gestion de l'emploi » In Tous DRH, Organisations, Paris, 2002.

[13] Kohli M., Künemund H. (2002) : « Gestion des âges et fin d'activité », Retraite et société n° 36, juin 2002.

[14] Walker Alan, « La lutte contre les barrières de l'âge dans l'emploi », Fondation Européenne pour l'Amélioration des conditions de travail, Paris, 1997.

[15] Volkoff S., Laville A., Maillard M C., (1992) : Ages et travail : contraintes, sélection et difficultés chez les 40-50 ans, une analyse de l'enquête ESTEV, Travail et emploi, avril, n° 54

[16] Acar J-L, « L'adaptation des emplois au quotidien », in Tous DRH, Editions, Organisations Paris, 2002

IMMUNO-INFLAMMATORY RESPONSE IN SCORPION ENVENOMATION PATHOGENESIS: ROLE OF HISTAMINE H1-RECEPTOR

ADI-BESSALEM.S¹, LAMRAOUI.A¹, LARABA-DJEBARI¹

¹USTHB, Faculty of Biological Sciences, Laboratory Cellular and Molecular Biology,
BP32, EL Alia, Bab Ezzouar, Algiers, Algeria.

Corresponding author: flaraba@hotmail.com

Code : 42/ANDRS/2011.....

Abstract

Activation and release of pro-inflammatory mediators such as cytokines and vasoactive substances may play an important role in the pathophysiology of scorpion envenomation. The mechanism of inflammatory process induced by scorpion venom has not yet been elucidated.

The aim of this study is to investigate the potential role of histamine H1-receptors in inflammatory response and in oxidative stress following scorpion envenomation by *Androctonus australis Hector* venom. Tissue injury was assessed by evaluating: *i*) the index of increased vascular permeability, *ii*) histological analysis and *iii*) measuring the myeloperoxidase and eosinophil peroxidase activities in the lungs. Product of lipid peroxidation and *catalase activity* were determined to assess the oxidative stress status.

Pre-treatment of animals with antagonist H1-receptor, 30 min before venom injection, significantly inhibited edema formation and tissue recruitment of neutrophil and eosinophil cells. It seems that the inflammatory cell infiltration in tissue was significantly reduced after inhibition of histamine effects on vascular permeability and leukocyte chemotaxis. Lipid peroxidation products, including malondialdehyde, nitric oxide products were significantly reduced in the lung.

In conclusion, these results suggest that the histamine by acting with the H1 receptors is involved in the triggering of the inflammatory response and also imbalance between oxidant and antioxidant level in the lung tissue due to the scorpion venom.

Introduction

Histamine is one of the most biogenic amines with multiple roles during the immune response and in pathological disorders of different organ systems (Hill *et al.*, 1997). The pharmacological interaction of histamine with four distinct G-protein coupled receptors (H1R, H2R, H3R and H4R) promotes change in vascular permeability, levels of cyclic nucleotides, neutrophil and eosinophil chemotaxy, gastrointestinal secretion and smooth muscle contraction (Marquardt, 1983 ; Hill *et al.*, 1997). Histamine affects also immune cells maturation and specifically regulates the development of the Th₁ and Th₂ T cells (Dunford *et al.*, 2006). The H1R and H4R play an important role in inflammatory responses. In the lungs, H1Rs mediate deleterious effects such as bronchoconstriction, vasoconstriction and edema formation (Parsons and Ganellin, 2006).

Several studies on scorpion envenomation reported the involvement of vasoactive substances such as histamine, platelet activation factor, leukotrienes, prostaglandins in the biological changes and tissue damage (Freire-Maia and De Matos, 1993 ; Nascimento *et al.*, 2005 ; Coelho *et al.*, 2007 ; Pessini *et al.*, 2008). In the most severe cases of envenomation, the clinical findings are congestive heart failure, pulmonary edema, respiratory and cardiac failure. These cardio-respiratory disturbances are attributed to different pathways of activation and to interaction between inflammatory cells and humoral factors (De Matos *et al.*, 2001 ; Coelho *et al.*, 2007).

The aim of this study is focused on the assessment of the involvement of histamine H1-receptors in the onset of pulmonary manifestations during a scorpion envenomation.

Methodology

To explore involvement of histamine H1-receptors in the lung injury after envenomation by *Androctonus australis hector* (*Aah*) venom (0.5 mg /kg, subcutaneous (s.c.) route), promethazine, selective H1-receptor inhibitor (5 mg/kg, intraperitoneally route (i.p.)), was administrated 30 min before envenomation of mice (20 ± 2 g, $n = 5$).

Lung injury was assessed by (i) measuring **vascular permeability** via **Evans blue dye** and lung-to-body weight ratio (pulmonary index), (ii) histological analysis of lung tissue, (iii) assessing **inflammatory** cell sequestration by measuring myeloperoxidase (MPO) and eosinophy peroxidase (EPO) activities, markers of neutrophil and eosinophil tissue accumulation, respectively, (iiii) Estimation of biochemical indicators of oxidative stress. Lipid peroxidation was estimated via malondialdehyde (MDA) using thiobarbituric acid assay while antioxidant defense status was assessed spectrophotometrically, via catalase using standard enzymatic assay techniques. Nitrosative stress was assessed by measuring the nitric oxid metabolite production using the Griess reagent.

All results were expressed as the mean \pm SD ($n = 5$). Statistical significance of differences between groups was analyzed by a Student *t*-test

Results

Aah venom induced leukocytosis (data no shown), increase in vascular permeability, accumulation of fluid in the lungs and severe lung edema (*Figure 1A*). The obtained results showed also that *Aah* venom induces rapid infiltration of polynuclear cells in lungs which was confirmed by increased levels of myeloperoxidase and eosinophil peroxidase activities (*Figure 1B*). Plasma extravasation and edema-forming in response to *Aah* venom suggested the involvement of vasoactive mediators such as histamine derived probably from mast cell granules.

Microscopic analysis of the lung tissue architecture of mice 24 hours after envenomation revealed a disorganization of the pulmonary parenchyma characterized mainly by the thickening of interalveolar septa associated to hemorrhage, edema, and inflammatory cells in alveolar lumens (*Figure 2*).

Administration of promethazine induces a significant decrease of lung edema when compared to the non-treated mice. Vascular permeability and pulmonary index are significantly reduced (Figure 1A). The MPO and EPO activities decreased from 0.313 ± 0.061 to 0.191 ± 0.06 U/100 mg tissue and 0.65 ± 0.034 to 0.304 ± 0.039 U/100 mg tissue, respectively. Histological analysis confirmed the inhibition of edema forming and inflammatory cell recruitment in pulmonary parenchyma compared to envenomed mice (Figure 2).

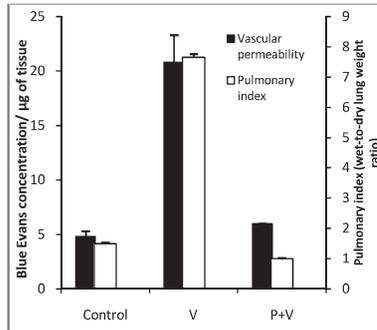


Fig. 1 : Assessment of pulmonary edema (A) and recruitment of neutrophil and eosinophils in lungs by measuring MPO and EPO activities (B) after envenomation (0.5 mg/kg, s.c.) with and without H1-receptor antagonist (promethazine, 5 mg/kg; i.p), (n=5, * p<0.05, ** p<0.01)

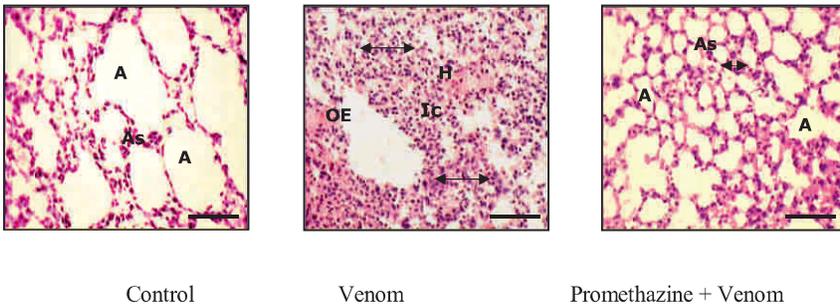
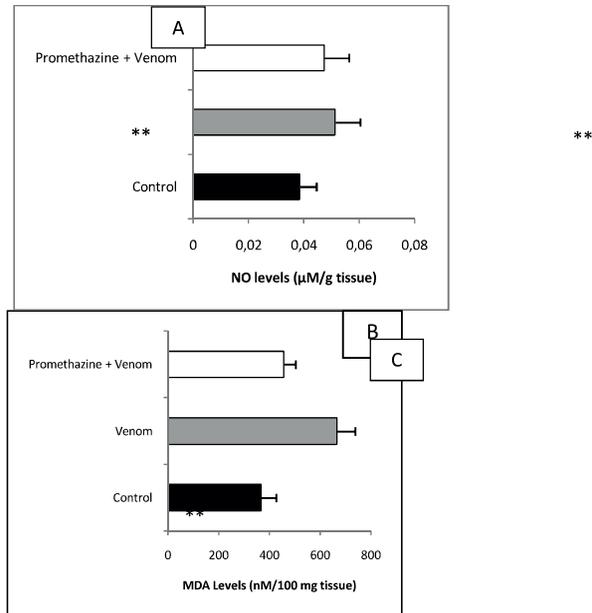


Fig. 2: Lung light micrographs from pretreated mice 24 h after scorpion venom injection (0.5 mg/kg, s.c.) with promethazine (5 mg/kg; i.p). Staining hematoxylin-eosin. Bar: 33 µm. Alveolar (A), Alveolar septa (As), pulmonary edema (E), hemorrhage (H) inflammatory cell infiltrates (Ic). The arrows indicate the alveolar septa thickening.

The obtained results showed also that Aah venom increased significantly MDA (p<0.05) and nitrite/nitrate (NOx) levels in tissue homogenates but decreased catalase activity in lung tissue compared to the control group (Figure 3A, B and C). Enhanced production of MDA, NO and MPO observed in this study is in agreement with the *in vivo* study of El Alfy et al. (2008) and Raouraoua-Boukhari et al. (2012). Important lipid peroxidation in most vital organs was also observed after experimental envenomation of rats by toxic fractions of *Androctonus australis Hector* venom (Douset et al., 2005). Several mechanisms

were postulated to explain severe tissue damage after envenomation. One of these mechanisms depend on the enhanced release of cytokines that promote the formation and release of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide from inflammatory cells (Petricevich and Peña, 2002). Reactive oxygen species and NO product interact and act as cytotoxic agents by cross-linking lipids, leading to lipid peroxidation and resulting in a loss of cell membrane integrity (Folkerts *et al.*, 2001).

Other studies suggest that the release of inflammatory factors such as histamine and also eicosanoids, kinin from activated inflammatory cells that could be involved in severe tissue injury (Coelho *et al.*, 2007). Previous injections of H1R-inhibitor (promethazine) to envenomed mice decreased the nitrosative stress and peroxidation rates in lung tissue (Figure 3A, 3B). The altered enzymatic antioxidant system was partially prevented by pretreatment with H1 receptor antagonist in the lungs (Figure 3C). Leukocyte infiltration and concomitant generation of free radicals reversed in presence of promethazine could be related to the reduced vascular permeability which precedes inflammatory cell infiltration, and also to the fact that histamine H1 receptor stimulation activates the transcriptional factor NF-kappa B (Bakker *et al.*, 2001), which controls the expression of adhesion molecules on the endothelium such as E-selectins, VCAM-1, and ICAM-1 (Collins *et al.*, 1995). ICAM-1 was found to be activated during scorpion envenomation, leading to neutrophil and eosinophil recruitment (Borges *et al.*, 2011 ; Raouraoua-Boukhari *et al.*, 2012 ; Adi-Bessalem *et al.*, 2012]. The nuclear factor kB controls also the expression of the inducible NO synthase (Kones *et al.*, 1995), explaining the reduction of NO production in the lungs of promethazine-pretreated mice.



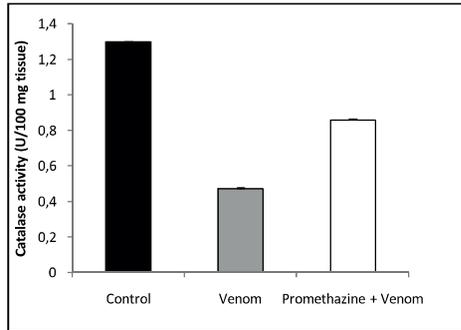


Fig. 3: Effects of previous i.p. administration of promethazine (5 mg/kg) on nitric oxid content (A), lipid peroxidation (B) and catalase activity (C) in the pulmonary tissues of NMRI mice envenomed by *Aah* venom (0.5 mg/kg; s.c). All data were presented as mean \pm S.D. (n=5); *P<0.05; **P<0.01; groups treated with venom versus controls (Vehicle NaCl).

Conclusion

Lung tissue inflammation in envenomated mice is modulated by histamine H₁-receptors, but it could be interesting to well characterized function of histamine H₁-receptors and H₂-H₄R in modulation of inflammatory response after envenomation. It would be of value to assess whether treatment with antioxidants after scorpion envenomation could display a protective effect against deleterious manifestations and cellular damages induced by the scorpion venom.

Bibliography

Adi-Bessalem S., Ladjel-Mendil A., Hammoudi-Triki D., Laraba-Djebari F. (2012). Lung Immunoreactivity and Airway Inflammation: Their assessment after Scorpion envenomation. *Inflammation*. **35** (2): 501-508.

Bakker R.A., Schoonus S.B., Smit M.J., Timmerman H., Leurs R. (2001). Histamine H1-receptor activation of nuclear factor-k B: roles for Gbg- and Gaq/11-subunits in constitutive and agonist-mediated signaling. *Mol Pharmacol*. **60**: 1133–1142.

Borges A., H.J.M. Op den Camp, and J.B. De Sanctis. (2011). Specific activation of human neutrophils by scorpion venom: a flow cytometry assessment. *Toxicology in vitro*. **25** (1): 358–367.

Coelho F., Pessini A. C., Coelho A. M., Pinho V. S., Souza D.G, Arantes E.C., Teixeira M.M., Teixeira A. L. (2007). Platelet activating factor receptors drive CXC chemokine production, neutrophil influx and edema formation in the lungs of mice injected with *Tityus serrulatus* venom *Toxicon* **50**: 420-427

Collins P.D., Marleau S., Griffiths-Johnson D.A., Jose P.J., Williams T.J. (1995). Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *J Exp Med* **182**: 1169-1174.

De-Matos IM, Talvani A, Rocha OO, Freire-Maia L, Teixeira MM. (2001). Evidence for a role of mast cells in the lung edema induced by *Tityus serrulatus* venom in rats. *Toxicon* **39**: 863-867

[Dousset E](#), [Carrega L](#), [Steinberg JG](#), [Clot-Faybesse O](#), [Jouirou B](#), [Sauze N](#), [Devaux C](#), [Autier Y](#), [Jammes Y](#), [Martin-Eauclaire MF](#), [Guieu R](#). (2005). Evidence that free radical generation occurs during scorpion envenomation. [RComp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol](#).

[Dunford P.J](#), [O'Donnell N](#), [Riley JP](#), [Williams KN](#), [Karlsson L](#), [Thurmond RL](#). (2006). The histamine H4 receptor mediates allergic airway inflammation by regulating the activation of CD4+ T cells. [J Immunol](#). 176(11):7062-70.

Freire-Maia L., De Matos I.M. (1993). Heparin or a PAF antagonist (BN-52021) prevents the acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in the rat. *Toxicon* **31**: 1207-1210

El-Alfy AT, Ahmed AA, Fatani AJ, Kader, F. (2008). Amelioration of the cardiovascular manifestations of the yellow scorpion *Leiurus quinquestriatus* envenomation in rats by red grape seeds proanthocyanidins *Toxicon* **51**(3):321-33

Folkerts G., Kloek J., Muijsers R.B., Nijkamp F.P. (2001). Reactive nitrogen and oxygen species in airway inflammation. *Eur. J. Pharmacol*. **429** : 251– 262.

Hill S.J., Ganellin C.R., Timmerman H., Schwartz J.C., Shankley N.P., Young J.M., Schunack W., Levi R. and Haas H.L., (1997) International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors, *Pharmacol. Rev.* 49 (1997), pp. 253–278.

[Kone B.C.](#), [Schwöbel J.](#), [Turner P.](#), [Mohaupt M.G.](#), [Cangro C.B.](#) (1995). Role of NF-kappa B in the regulation of inducible nitric oxide synthase in an MTAL cell line. *Am J Physiol.* **269** (5 Pt 2): 718-729.

Marquardt D.L., (1983). Histamine. *Clinical Reviews in Allergy* **1** (3) (1983 Sep), pp. 343–351

Nascimento E.B.Jr., Costa K.A., Bertollo C.M., Antônio Carlos P. Oliveira, Leonardo T.S. Rocha, Adriano L.S. Souza, Beatriz M.A. Glória, Tasso Moraes-Santos, Coelho M.M (2005). Pharmacological investigation of the nociceptive response and edema induced by venom of the scorpion *Tityus serrulatus*. *Toxicon*, 45(5), 585-593

Parsons M.E. and Ganellin C.R. (2006). Histamine and its receptors, *British Journal of Pharmacology* **147** (Suppl. 1), 127–135.

Pessini A.C., Kanashiro A., Malvar D.DC., Machado R.R., Soares D.M., Figueiredo M.J, Kalapothakis E, Souza G.E.P. (2008). Inflammatory mediators involved in the nociceptive and oedematogenic responses induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom injected into rat paws. *Toxicon* **52** (7), 729-736

Petricевич, VL, Peña, CF: (2002). The dynamics of cytokine and nitric oxide secretion in mice injected with *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Mediators Inflamm* 11: 173–180.

Raouraoua-Boukhari R., [Sami-Merah S](#), Hammoudi-Triki D, [Laraba-Djebari F.](#) (2012). [Immunomodulation of the inflammatory response induced by *Androctonus australis Hector* neurotoxins: biomarker interactions.](#) *Neuroimmunomodulation.* **19** (2): 103-10.

DEVELOPPEMENT DE STRATEGIES BIOTECHNOLOGIQUE DANS LA CARACTERISATION DE NOUVELLES MOLECULES BIOACTIVES ET/OU BIOMARQUEURS DE PRONOSTIC DE PATHOLOGIES ENDEMIQUE :LEUR INTERET DANS LE DIAGNOSTIC ET LA BIOTHERAPIE.

LARABA DJEBARI.F, ADI-BESSALEN.S, LADJEL-MENDIL.A, BOUSSAG-ABIB.I, CHERIF.LF

ÉTAT DE LA QUESTION

Les sécrétions biologiques et notamment les venins de scorpions et de serpent présentent pour la recherche scientifique une double facette ; i) ils peuvent constituer un problème de santé publique lors d'envenimations accidentelles dans les régions tropicales et sub-tropicales selon leur toxicité et le degré de gravité pouvant mener jusqu'au décès du patient envenimé. ii) ces sécrétions biologiques peuvent constituer des outils biologiques de grand intérêt pharmacologique en tant qu'antigènes pour préparer des immun-sérums pour traiter les personnes envenimées, mais ils contiennent des molécules biologiquement actives pouvant être utilisées dans le diagnostic de certaines pathologies mais aussi dans le traitement de certains dysfonctionnements ou déficiences.

La seule thérapie entreprise à ce jour reste l'administration d'un immun-sérum monovalent associée à un traitement symptomatique et ce quelque soit l'espèce de scorpion incriminée. La préparation de ces immun-sérums nécessite leur optimisation et standardisation. L'utilisation d'un antigène ou d'un mélange d'antigènes est encore un sujet de controverses. Par ailleurs, la taille de la molécule d'anticorps est également souvent remise en question au vu de la taille des neurotoxines et de leur distribution dans l'organisme.

Par ailleurs, les venins constituent des mélanges complexes de substances actives qui interfèrent dans plusieurs fonctions physiologiques avec une haute spécificité. Elles induisent des effets toxiques et neuro-immuno-inflammatoires locaux et systémiques, conduisant souvent au décès des victimes. Les molécules responsables de ces effets sont classées en toxines, phospholipases, protéinases. ... Leur apport dans la compréhension des mécanismes physiologiques ou leur utilisation en biothérapies serait d'un très grand intérêt. Cette étude pourrait aider à mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques induits lors d'envenimation accidentelle et proposer des traitements adéquats. Elle pourrait également déboucher sur l'obtention de nouvelles molécules hautement purifiées et caractérisées pouvant être utilisées dans le diagnostic de certaines pathologies.

OBJECTIFS

Les travaux que nous avons entrepris dans le cadre de ce projet comportent plusieurs aspects qui tournent toujours autour de ces sécrétions biologiques, les problèmes qu'elles peuvent engendrer suite à des accidents dans les régions à risques mais aussi par leur richesse en molécules pharmacologiquement actives.

Les objectifs entrepris dans le cadre de ce projet visent plusieurs aspects inter-reliés par rapport à cette question i) la compréhension des mécanismes moléculaire et cellulaire impliqués
Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

dans les effets physiopathologiques induits lors d'une envenimation et la recherche et l'étude des molécules/récepteurs intervenant dans le processus physiopathologiques lors des envenimations afin de mieux comprendre cette pathologie accidentelle, réel problème de santé publique dans nos régions, et ce pour une meilleure prise en charge. Ce projet a pour objectif également de proposer ; ii) un immun-sérum thérapeutique trivalent plus efficace, iii) d'utiliser le venin ou ses constituants toxiques, dans une perspective de conception d'un vaccin, en utilisant l'irradiation gamma comme procédé de détoxification. iv) La purification et la caractérisation des molécules bioactives présentes dans les venins contribueraient aussi au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques et/ou de diagnostic.

1. - Compréhension des mécanismes physiopathologiques induits par les venins ou par leurs composants

Les envenimations en général et l'envenimation scorpionique en particulier constituent un sérieux problème de santé publique notamment dans certaines régions à risque du Maghreb. En Algérie trois espèces de scorpions dangereuses sont retrouvées *Androctonus australis hector* (Aah), *Androctonus amoreuxi* (Amx), *Buthus occitanus tunetanus* (Bot).

Le pouvoir toxique de leurs venins est attribué principalement à des neurotoxines de faible masse moléculaire ayant pour principale cible biologique, les canaux ioniques des cellules excitables, avec lesquels elles se lient avec une forte affinité. La conséquence de cette liaison, est une libération massive de neuromédiateurs, un blocage de la transmission du potentiel d'action ayant pour conséquence le déclenchement d'une réponse immuno-inflammatoire. Cette réponse se traduit par des perturbations multi-viscérales, qui sont souvent fatales pour la victime.

La compréhension des mécanismes qui sous-tendent ces manifestations physiopathologiques est nécessaire pour entreprendre tout traitement de ce syndrome

Le premier aspect de cette étude concernera la compréhension de certains mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la genèse des dysfonctionnements immuno-pathologiques observés après une envenimation scorpionique ou une intoxication avec une neurotoxine isolée à partir des venins de scorpions, en l'occurrence la kaliotoxine (KTX).

Compréhension de certains mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la genèse des dysfonctionnements immuno-pathologiques observés après une envenimation scorpionique

Le venin d'*Androctonus australis hector* (Aah) provoque une réaction inflammatoire, caractérisée par une augmentation de la perméabilité vasculaire cardiaque, pulmonaire et gastrique. Cette modification de la perméabilité vasculaire s'est accompagnée d'une infiltration de cellules inflammatoires telles que les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles évaluée indirectement par l'augmentation des activités de la myeloperoxydase (MPO) et de l'éosinophile peroxydase (EPO).

Ces cellules immunitaires sont des sources importantes de produits intermédiaires réactifs de l'oxygène, tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'anion superoxyde, et les espèces réactives de nitrogène.

Les paramètres du stress oxydatif ont révélé que le venin de scorpion d'Aah a augmenté de manière significative la peroxydation lipidique dans l'ensemble de tissus étudiés et réduit l'activité des enzymes antioxydantes. La libération excessive du monoxyde d'azote et des espèces réactives de l'oxygène se produisant au cours du stress oxydatif, a compromis les défenses antioxydantes naturelles des cellules. En effet, l'équilibre pro-oxydant et anti-oxydant est déterminant dans la fonction des cellules immunitaires, non seulement pour maintenir l'intégrité et la fonctionnalité des lipides membranaires, les protéines cellulaires et les acides nucléiques, mais également pour le contrôle de la transduction de signal et l'expression des gènes dans des cellules immunitaires.

Ces désordres inflammatoires sont accompagnés par de sévères altérations tissulaires, caractérisées par des hémorragies, des œdèmes et des infiltrations de cellules inflammatoires dans les trois organes étudiés (cœur, poumon et estomac).

Afin d'étudier l'implication des récepteurs histaminergiques H1 et H2 dans cette physiopathologie de l'envenimation scorpionique, des antagonistes sélectifs des cibles pharmacologiques de l'histamine ont été utilisés comme prétraitement lors d'une envenimation scorpionique expérimentale.

Le prétraitement des animaux avec l'antagoniste des récepteurs H1 de l'histamine, a significativement réduit l'extravasation plasmatique seulement au niveau des tissus cardiaque et pulmonaire. L'infiltration leucocytaire et la génération concomitante de radicaux libres sont également inhibées. L'antagoniste du récepteur H2 semble être plus efficace dans la prévention des troubles induits par le venin au niveau de la muqueuse gastrique. Le récepteur H2 est connue pour jouer un rôle crucial dans la stimulation de la sécrétion de l'acide gastrique, mais son implication dans l'immunomodulation n'est pas à exclure.

L'infiltration des éosinophiles au niveau des tissus des animaux envenimés a été réduite après l'inhibition du récepteur H2. La fixation de l'histamine libérée principalement par les mastocytes et les basophiles sur le récepteur H2 joue un rôle important dans l'induction de la libération de l'IL-5 par les cellules TH2. Cette cytokine possède un rôle primordial dans l'activation des éosinophiles, ce qui pourrait expliquer la réduction du recrutement des éosinophiles dans les tissus étudiés en présence de l'antagoniste du récepteur H2.

Les résultats obtenus sont prometteurs et ouvrent des perspectives de développement d'une thérapie utilisant la cible des récepteurs H2 en plus de celle des récepteurs H1 afin d'atténuer les désordres physiopathologiques observés lors des envenimations scorpioniques.

Compréhension des mécanismes physiopathologiques induits par la kaliotoxine active sur les canaux potassium

Les neurotoxines de venins scorpions sont de puissants outils pharmacologiques nécessaires à la compréhension des mécanismes d'action des canaux ioniques dont le dysfonctionnement entraîne l'installation de certaines de pathologies inflammatoires.

Les neurotoxines de la famille des Kaliotoxines (KTX) bloqueurs des canaux potassium voltage dépendant, provoquent des troubles neurophysiopathologiques sévères lorsqu'elles sont administrées par voie intra-cérébro-ventriculaire (i.c.v.). En effet, une hyperexcitabilité du système nerveux central et des atteintes fonctionnelles se caractérisant par un dysfonctionnement cérébral et cardio-respiratoire, associés une hépatotoxicité, et une néphrotoxicité.

Des altérations tissulaires sévères se manifestant par des nécroses, des œdèmes hémorragiques, des hémorragies, et une désorganisation de la structure glomérulaire rénale associée à un élargissement de l'espace urinaire, avec une infiltration de polynucléaires au niveau de tous les tissus analysés. Ces modifications tissulaires observées lors de l'envenimation des animaux par voie i.c.v. avec la KTX, sont accompagnées par une libération intense des enzymes cellulaires dans le compartiment vasculaire.

L'évaluation des activités de la myéloperoxydase (MPO) dans les homogénats des tissus montrent une augmentation importante de cette activité myéloperoxydase au niveau du cerveau, poumons, cœur, foie, et reins, 24 heures après intoxication par la KTX. Les résultats obtenus montrent également une peroxydation lipidique qui serait due à la libération de taux élevés de radicaux libres par les macrophages et les polynucléaires après explosion oxydative, responsables des dommages membranaires des cellules corrélé par des perturbations métaboliques et physiopathologiques dans les organes cibles du venin ou de ses composants.

L'ensemble des résultats montre que les canaux potassium jouent un rôle important dans le déclenchement et la régulation de la réponse neuro-physiopathologique et inflammatoire via des médiateurs cellulaires et moléculaires impliqués directement dans la genèse des réponses cellulaires.

2. Production d'immun-sérum antiscorpionique trivalent.

Les trois espèces de scorpions les plus dangereuses retrouvées en Algérie sont *Androctonus australis hector* (Aah), *Androctonus amoreuxi* (Amx), *Buthus occitanus tunetanus* (Bot). Dans ce contexte, trois immun-sérums mono-, bi -et trivalents ont été préparés, leur efficacité a été évaluée par la détermination et variation des paramètres biochimique, métabolique et histologique dans les sérums d'animaux envenimés avec l'un des trois venins. Les trois immun-sérums préparés présentent une immuno-réactivité identique vis-à-vis des espèces des trois venins. L'administration de l'immun-sérum trivalent 30 min après envenimation des animaux avec le venin d'Aah, de Bot ou de Amx a permis une restauration des altérations tissulaires induites par les venins (hémorragie, œdème, infiltration leucocytaire...) au niveau du parenchyme hépatique et du myocarde.

L'utilisation de ces anticorps a réduit également les activités enzymatiques marqueurs de pathologie et les perturbations métaboliques (urémie, créatinémie et cholestérolémie) ainsi que la leucocytose sanguine. Cependant, l'hyperneutrophilie et l'hyperéosinophilie induite par les

venins n'ont pas été significativement modifiées. Par ailleurs, les résultats montrent également une efficacité similaire des trois préparations d'anticorps vis-à-vis du venin d'Aah. Cependant, la préparation de l'immun-sérum trivalent présente un meilleur pouvoir neutralisant des venins Amx et Bot comparativement aux l'immun-sérums monovalent ou bivalent.

Ces résultats sont très compétitifs avec ceux obtenus avec l'immunothérapie monovalente déjà normalisée. L'administration d'anticorps trivalents peut donc être bénéfique pour traiter les effets physiopathologiques induits par les venins de scorpions lorsque l'espèce ne peut être identifiée.

3- Immunothérapie et vaccinothérapie: étude expérimentale

3.1 - Immunothérapie

Cette approche a été abordée par l'atténuation des antigènes toxiques en l'occurrence le venin du scorpion *Androctonus australis hector* et sa fraction toxique majoritaire G50 (Ftox-G50) par irradiation gamma en utilisant plusieurs doses d'irradiation et des débits de doses variables. Les résultats ont permis de montrer que la dose 2 kGy avec un débit de dose de 765 Gy/heure semble être des conditions optimales permettant d'obtenir des antigènes atténués avec préservation de leurs propriétés immunologiques.

Ces antigènes utilisés dans un protocole d'immunisation ont permis d'obtenir des anticorps neutralisants avec des titres très élevés.

L'évaluation de la réponse inflammatoire induite par le venin et sa fraction toxique majoritaire FtoxG50 avant et après irradiation gamma a été également étudiée après immunisation des lapins avec les différents antigènes selon un protocole d'immunisation préétabli. Les résultats obtenus montrent une forte leucocytose chez les animaux immunisés avec le venin natif comparés à ceux immunisés avec le venin irradié. L'augmentation du nombre des neutrophiles chez les animaux immunisés avec le venin natif persiste jusqu'à 2 semaines.

Le groupe des lapins immunisés avec le venin irradié montre une légère augmentation du nombre des neutrophiles à la première semaine après l'injection, ce nombre revient à la normale au cours des semaines suivantes.

Ces antigènes irradiés induisent une forte réponse immunitaire avec une production élevée d'anticorps neutralisants avec une réponse inflammatoire atténuée. Les anticorps produits sont décelables même à long terme à la fin de l'immunisation indiquant une forte immunogénicité des antigènes irradiés et l'implication des plasmocytes à long durée de vie.

3.2 – Approche Vaccinale

Le développement d'une stratégie vaccinale contre l'envenimation scorpionique en utilisant ces antigènes irradiés pourrait être aussi une alternative prometteuse dans la prévention des populations à risque où l'envenimation scorpionique est très élevée.

Les immunogènes obtenus dans les conditions optimales précitées ont été utilisés dans une étude d'immunoprotection. Les résultats obtenus ont révélé une protection des animaux vaccinés

avec le venin irradié ou avec sa fraction toxique majoritaire Ftox G50; à court-terme (1 mois) et à moyen-terme (3 et 6 mois) selon un protocole d'immunisation préétabli.

La protection des animaux contre des doses élevées de venin natif est améliorée à long-terme (9 mois) après la fin du protocole d'immunisation pour les deux antigènes utilisés. Les animaux immunisés avec le venin irradié ont résisté à des doses supérieures à une dose qui tue 50% des animaux d'expérience (DL50). La protection des animaux va au-delà de 12 et 14 DL50 (avec 100 % de protection), les animaux immunisés avec la fraction toxique majoritaire Ftox G50 irradiée sont quand à eux protégés contre de plus fortes doses de venin natif, estimées à 14 et 16 DL50.

Une sur-envenimation des animaux vaccinés aussi bien avec le venin irradié qu'avec la fraction Ftox G50 irradiée à un intervalle de 3 mois après la première envenimation a montré une amélioration de la protection contre de fortes doses de venin natif. La protection des animaux vaccinés passe de 10 à 12 DL50 après la première envenimation et de 12-14 DL50 après la deuxième envenimation à 3 mois d'intervalle.

Ce résultat nous permet de conclure que la surenvenimation des animaux vaccinés a joué le rôle de « rappel » qui a permis de renforcer le système immunitaire et mieux protéger l'organisme contre l'administration de venin

4- Biomolécules d'intérêt

Les venins des vipéridés sont des sources très riches en molécules d'intérêt pharmacologiques. Dans cette étude, trois molécules appartenant à la classe des hydrolases: une serine protéinase CC3-SPase, une métalloprotéinase CCSV-MPase et une phospholipase A2 CC2-PLA2, ont été purifiées à partir du venin de *Cerastescerastes*, en utilisant une série de techniques chromatographiques, Gel-Filtration sur Sephadex G-75, chromatographies échangeuses d'anions sur DEAE-Sephadex A-50, de cations sur CM-Sephadex C-50, chromatographie d'affinité et HPLC-reverse. Les fractions correspondantes aux activités, serine protéinase (CC3-SPase) et métalloprotéinase (CCSV-MPase) sont douées également d'activités caséinolytique et amidase. La fraction CC3-SPase présente également une activité arginine-éster hydrolase. La fraction douée d'activité phospholipasique est dépourvue de toute activité protéolytique. Cette activité vraisemblablement de type PLA2 a été nommée CC2-PLA2. L'homogénéité de chaque molécule purifiée a été confirmée par HPLC analytique sur des colonnes C8 pour CCSV-MPase et CC2-PLA2 et Vydac® C4 pour la serine protéase CC3-SPase ainsi que par électrophorèse sur SDS-PAGE à 15%.

Les résultats obtenus révèlent des masses moléculaires apparentes de 14, 40 et 70 kDa respectivement pour les molécules dénommées, CC2-PLA2, CC3-SPase et CCSV-MPase.

Les résultats montrent que les molécules CC3-SPase et CCSV-MPase présentent une activité protéolytique comparable à celle du venin et à celle de la thrombine utilisée comme témoin d'activité.

Seule la sérine-protéinase CC3-SPase est pourvue d'une activité arginine ester hydrolase alors que la métalloprotéinase CCSV-MPase en est dépourvue.

PRODUCTION :

Les résultats obtenus ont été valorisés par des publications et communications nationales et Internationales

Publications internationales

1. Boukhalfa-Abib H, Laraba-Djebari F. [CcMP-II, a new hemorrhagic metalloproteinase from Cerastescerastes snake venom: Purification, biochemical characterization and amino acid sequence analysis.](#) CompBiochemPhysiol C ToxicolPharmacol. 2014 Sep 22;167C:65-73.
2. Lamraoui A, Adi-Bessalem S, Laraba-Djebari F. [Modulation of tissue inflammatory response by histamine receptors in scorpion envenomation pathogenesis: involvement of h4 receptor.](#)Inflammation. 2014 Oct;37(5):1689-704.
3. Kabrine M, Laraba-Djebari F. [Immunomodulatory and protective properties of tacrolimus in experimental scorpion envenomation.](#)Int J ImmunopatholPharmacol. 2014 Jan-Mar;27(1):69-78.
4. Chérifi F, Namane A, Laraba-Djebari F. [Isolation, functional characterization and proteomic identification of CC2-PLA₂ from Cerastescerastes venom: a basic platelet-aggregation-inhibiting factor.](#)Protein J. 2014 Feb;33(1):61-74
5. Chérifi F, Laraba-Djebari F. [Isolated biomolecules of pharmacological interest in hemostasis from Cerastescerastes venom.](#)J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2013 May 1;19(1):11. doi: 10.1186/1678-
6. Saidi H, Adi-Bessalem S, Hammoudi-Triki D, Laraba-Djebari F. [Effects of atropine and propranolol on lung inflammation in experimental envenomation: comparison of two buthidae venoms.](#)J VenomAnimToxinsIncl Trop Dis. 2013 Apr 9;19(1):8.
7. Ladjel-Mendil A, Martin-Eauclaire MF, Laraba-Djebari F. [Neuropathophysiological effect and immuno-inflammatory response induced by kaliotoxin of androctonus scorpion venom.](#)Neuroimmunomodulation. 2013;20(2):99-106
8. Boussag-Abib L., Laraba-Djebari F. [Enhanced immune sera and vaccine: safe approach to treat scorpion envenoming.](#)Vaccine. 2011 Nov 8;29(48):8951-9.
9. Adi-Bessalem S, Mendil A, Hammoudi-Triki D, Laraba-Djebari F. [Lung immunoreactivity and airway inflammation: their assessment after scorpion envenomation.](#)Inflammation. 2012 Apr;35(2):501-8.

Publications nationales

- 10- Laraba-Djebari Fatima, Adi-Bessalem Sonia, Sami-MerahSassia, Hammoudi-TrikiJelila (2013) Immunopathogénie de l'envenimation scorpionique et approches thérapeutiques. Revue de la Société Algérienne d'Asthmologie, d'Allergologie et d'Immunologie Clinique Vol 20- Juin 2013 pp 65-73. www.saaic-dz.com.

-**Nombre de livres édités** : Deux chapitres dans un livre édité par les éditions springer (SpringerReference) *visible online ; Edition sous press.,.*

-**Autres** : valorisation des travaux par de nombreuses communications internationales et nationales

CARACTERISATION DES DETERMINANTS GENETIQUE MAJEURS DE LA MORBIDITE DU SYNDROME DE L'INSULINORESISTANCE A ORAN

Impact des polymorphismes du gène de l'APOE sur les lipides plasmatiques et le syndrome métabolique.

BOULENOUAR.H¹, MEDIENE BENCHEKOR.S^{1,2}, MEROUFEL.D.N¹, LARDJAM HETRAF.S.A¹, OUHAIBI DJELLOULI.H^{1,2}, Xavier HERMANT³, Benjamin GRENIER-BOLEY³, HAMANI MEDJAOUI.I⁴, SAIDI MEHTAR.N¹, Philippe AMOUYEL³, HOUTI.L^{1,5,6}, Aline MEIRHAEGHE³, GOU MIDI.L³

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université des Sciences et de Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran, Algeria.*

(2) *Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Oran, Oran, Algeria*

(3) *INSERM, U744; Institut Pasteur de Lille; Université Lille Nord de France, Lille, France.*

(4) *Caisse Nationale des Assurances Sociales des travailleurs salariés, Clinique Spécialisée en Orthopédie et Rééducation des Victimes des Accidents de Travail, Oran, Algeria.*

(5) *Faculté de Médecine de Sidi Bel Abbès, Sidi Bel Abbès, Algeria.*

(6) *LABORATOIRE DES SYSTÈMES D'INFORMATION EN SANTÉ, UNIVERSITÉ D'ORAN, ORAN, ALGERIA.*

I. Introduction

L'augmentation de la fréquence des facteurs de risques associés aux maladies cardiovasculaires et au diabète tels que l'obésité, l'hypertension artérielle, l'insulino-résistance et les dyslipidémies a fait émerger la notion de syndrome métabolique. Le syndrome métabolique est considéré comme une association non fortuite de petites anomalies du métabolisme qui ne présentent pas ou peu de risque individuellement, mais qui, lorsqu'elles sont combinées, augmentent fortement le risque de maladies cardio-vasculaires (MCV) [1,2,3] et de Diabète de type 2 (DT2) [4,5]. L'origine du syndrome métabolique est multifactorielle, résultant de l'interaction entre facteurs génétiques [6,7] et environnementaux [8,9,10]. Le nombre de sujets atteints par le Syndrome métabolique ne cesse d'augmenter dans les populations des pays industrialisés. Cette épidémie, révélatrice d'un problème croissant de santé publique, est liée à des conditions principalement environnementales, où les habitudes alimentaires occupent une place prépondérante.

En Algérie, les données concernant la prévalence du syndrome métabolique restent peu connues, cependant une transition socio-économique, démographique et épidémiologique est en cours depuis trois décennies.

Plusieurs facteurs environnementaux, y compris l'urbanisation rapide, l'inactivité physique et de nouvelles habitudes alimentaires contribuent à l'augmentation des différentes maladies et anomalies chroniques constituant le syndrome métabolique. Une étude nationale menée en 2005 a montré une prévalence élevée de l'hypertension (24,9%) et du diabète (12,2%) dans la

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

population algérienne [11]. Le surpoids est devenu un problème de santé publique réel, en particulier chez les femmes, 66,5% sont en surpoids et 30,1% sont obèses [11]. Les maladies cardiovasculaires et le diabète représentent respectivement 26,1% et 4,4% des décès en 2002 [12]. Cependant, très peu de données sur le syndrome métabolique sont disponibles en Algérie.

De nombreuses études ont mis en cause la susceptibilité génétique comme facteur de risque du syndrome métabolique, et identifié un certain nombre de variants génétiques en association avec le syndrome métabolique; en particulier dans les gènes associés à une résistance à l'insuline, l'obésité, la dyslipidémie et l'hypertension [13, 14].

L'objectif de ce travail est de caractériser les polymorphismes rs429358, rs7412, rs419358 et rs4420638 de l'APOE, intervenants dans le métabolisme des lipides plasmatiques, afin de rendre compte de l'impact de ces polymorphismes sur les composants du bilan lipidique, et d'analyser l'association de ces polymorphismes avec le risque du syndrome métabolique dans une étude en population menée dans la population oranaise (étude ISOR).

II.

Méthodes

II.1. Population ISOR

L'étude ISOR (InSulino-résistance à Oran) est une étude transversale réalisée sur des adultes résidants dans la ville d'Oran. Cette étude a pour but de caractériser les déterminants génétiques et environnementaux liés au métabolisme plasmatique des sucres et des lipides, et à d'autres aspects de la maladie cardiovasculaire (hypertension, obésité...).

L'étude réalisée entre 2007 et 2009 a été approuvée par le comité d'éthique de l'ANDRS (Agence Nationale pour le Développement de la Recherche en Santé). Un échantillon représentatif de 787 sujets répartis en 378 hommes et 409 femmes a été tiré au sort sur les listes des assurés sociaux de la ville d'Oran ont été retenus pour l'étude après un consentement éclairé

Après une nuit de jeûne (12h), deux échantillons de 15 ml de sang sont prélevés pour chaque sujet (dans un tube EDTA disodique pour analyse ultérieure de l'ADN et dans un tube héparine pour les tests de chimie clinique).

II.2. Analyses biochimiques

Un analyseur multi-canal et des kits (Humastar®, diagnostics humains, Wiesbaden, Allemagne) spécialisée ont été utilisés pour la mesure colorimétrique et enzymatique du cholestérol (kit : cholestérol monostest avec la cholestérol estérase, cholestérol oxydase et

peroxydase), des triglycérides (kit : peridochrom triglycérides avec le glycérol phosphate oxydase et la peroxydase) et de glucose (kit : le glucose , la glucose oxydase et la peroxydase). Pour les participants ayant des niveaux de triglycérides inférieurs à 4,56 mM, les concentrations de LDL- cholestérol dans le plasma ont été calculées selon la formule de Friedewald.

Les niveaux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité ont été mesurées après précipitation des chylomicrons, VLDL et LDL- cholestérol au phosphotungstate sodium / chlorure de magnésium, puis centrifugation. Les taux plasmatiques d'insuline ont été mesurées par un test de micro-enzyme immunitaire fonctionnant sur un analyseur AxSYM (Abbott Laboratories , Abbott Park, Illinois , USA). Le financement PNR a permis le dosage de l'insulinémie.

II.3. Extraction d'ADN

L'ADN génomique a été extrait des globules blancs à l'aide du kit Stratagene® (Agilent Technologies, Les Ulis, France), selon le protocole du fabricant. L'extraction a été en partie réalisée dans notre laboratoire (financement PNR) et en partie dans l'U744 INSERM (Institut Pasteur de Lille) (Financement INSERM)

II.4. Génotypage par la Technologie KASPar

La technique de génotypage utilisée pour la caractérisation des 215 marqueurs est la technologie KASPar (sous-traitée par Genoscreen et KBioscience, Hoddesdon, Royaume-Uni). Ce système est basé sur la technique de FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfer) homogène, qui permet la détection de SNPs sans étape de séparation, et sur la PCR (Polymerase Chain Reaction) compétitive spécifique d'allèle, qui permet d'avoir un fort pouvoir discriminatoire pour déterminer les allèles d'un locus particulier. Ce système utilise une Taq ADN polymérase sans activité exonucléase 3'-5' et permet le génotypage de SNP ou d'insertion/délétion. Les différentes étapes du génotypage par la méthode KASPar sont représentées dans la figure ci-dessous.

II.5. Analyse des données

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). La valeur de P est considérée statistiquement significative lors qu'elle est inférieure ou égale à 0,05. Le test de χ^2 a été utilisé pour calculer l'équilibre d'Hardy Weinberg.

La comparaison des moyennes intergroupe a été réalisée par GLM (General Linear Model). Les données sur les taux de triglycérides, de glucose et d'insuline ont été log-transformées pour obtenir des distributions normales. Les moyennes estimées ont ensuite été reconverties pour la présentation des tableaux. Pour l'analyse des variables anthropométriques, les variables de confusion (et donc d'ajustement) étaient l'âge, le statut de tabagisme et l'activité physique. Pour l'analyse des variables biologiques et biochimiques, les variables de confusion sont l'âge, l'IMC, le tabagisme et l'activité physique.

Des analyses de régression logistique multivariées ont été utilisées pour calculer les odds ratios pour le syndrome métabolique de la définition du NCEP ATP III (SM NCEP), et ont été ajustés pour l'âge, le sexe, le niveau d'activité physique et le tabagisme.

II.6. Critères de diagnostic du syndrome métabolique

Dans la présente étude, nous avons adopté la définition du syndrome métabolique selon les critères du NCEP-ATP III (National Cholesterol Education Program- Adult Treatment Panel III) (Alberti, Zimmet et al. 2005), le syndrome métabolique est diagnostiqué quand un sujet présente trois ou plusieurs des facteurs de risque suivants:

- L'obésité abdominale: tour de taille > 102/88 cm (hommes / femmes);
- Les triglycérides $\geq 1,50$ g / l (1,69 mmol / l);
- HDL-cholestérol $< 0,40/0,50$ g / l (1,04/1,29 mmol / l) (hommes / femmes);
- La pression artérielle $\geq 130/85$ mmHg;
- Glycémie à jeun $\geq 1,10$ g / l (6,1 mmol / l).

III. Résultats

Caractéristiques générales des sujets

Les caractéristiques anthropométriques, biochimiques et cliniques ont montré des différences significatives entre les hommes et les femmes (tableau 1). Les hommes présentent des valeurs plus élevées de pression artérielle, de glycémie à jeun, de triglycérides, de tour de taille et rapport taille-hanche que les femmes.

Les femmes montrent un IMC plus élevé, des valeurs plus élevées d'insuline à jeun, HOMA-IR et HOMA-B que les hommes. L'obésité est plus fréquente chez les femmes (32,5%) que chez les hommes (9%, $p=0,0001$). La prévalence globale du syndrome métabolique est de 20,0%, elle est plus élevée chez les femmes que chez les hommes (25,9% vs 13,7%, $p < 0,0001$).

Les deux sexes affichent des prévalences similaires de diabète de type 2 (~ 7%) et l'hypertension (~ 20%), mais 58% des cas d'hypertension étaient inconnus parmi les hommes.

Les études d'association

Les associations entre les trois polymorphismes APOE et les phénotypes anthropométriques (poids, tour de taille et des hanches et de l'IMC), les paramètres biochimiques (concentrations de glucose, d'insuline à jeun de triglycérides du plasma, de cholestérol total, le HDL-cholestérol et le LDL-cholestérol) et les phénotypes cliniques (SBP et DBP) ont été évalués.

Le polymorphisme epsilon de l'APOE

Dans l'étude ISOR, aucune association significative n'a pu être détectée lorsque l'on compare les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ avec les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$ (tableau 2). En revanche, les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ ont montré des concentrations significativement plus élevées de triglycérides plasmatiques ($p=0,0002$), de cholestérol total ($p=0,009$), de LDL-cholestérol ($p=0,003$) et de rapport LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ($p=0,001$) en comparaison avec les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$ dans la population générale (tableau 2)

Les polymorphismes rs4420638 et rs439401

Aucune association significative n'a été détectée avec les paramètres étudiés pour le SNP rs4420638 dans l'étude ISOR (tableau 3). En revanche, l'allèle T du rs439401 est significativement associée à des concentrations plus basses de triglycérides plasmatiques ($p = 0,005$) (tableau 3). Cette association a disparu après ajustement supplémentaire pour le polymorphisme epsilon APOE ($p=0,25$).

Association du gène de l'APOE avec le syndrome métabolique

Aucune association significative entre les polymorphismes du gène de l'APOE et le syndrome métabolique n'a été détectée dans la population ISOR. Les tableaux 4 et 5 montrent les Odds ratio et les intervalles de confiance obtenus.

IV. Discussion

Compte tenu du rôle déterminant de l'APOE dans le métabolisme des lipoprotéines, nous avons évalué l'effet des différents polymorphismes génétiques sur les concentrations

plasmatiques de lipides. Il a été démontré par différents auteurs une association entre ces polymorphismes et des variations significatives des paramètres du bilan lipidique. Cependant, les distributions alléliques de ces polymorphismes révèlent une très grande disparité selon les populations. De plus, leur effet sur le métabolisme des lipides est sujet à variation, ce qui pourrait être dû à l'interaction de facteurs environnementaux. La population algérienne n'ayant jamais bénéficié, à notre connaissance, de ce type d'exploration il nous a semblé important de réaliser cette étude d'épidémiologie génétique.

Etudes d'association

Polymorphisme epsilon de l'APOE

Dans l'étude ISOR, l'allèle $\epsilon 2$ n'est pas significativement associé à des variations de concentrations des lipides plasmatiques ce qui peut être dû au trop faible nombre de porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ ($n = 67$). Seuls les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ ont montré des concentrations plus élevées de cholestérol total, de LDL-cholestérol total et de LDL-cholestérol et de ratio LDL-cholesterol/HDL-cholesterol en comparaison avec les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$. L'allèle $\epsilon 4$ est également associé à des concentrations plus élevées de triglycérides, comme précédemment observé par Kofler et al dans une étude réalisée au Royaume-Uni [15]. L'isoforme $\epsilon 4$ de l'APOE (qui se lie préférentiellement aux VLDL) peut interférer avec l'activité de la lipase plasmatique ou avec le système d'élimination des triglycérides, ce qui se traduit par une lipolyse ou une clairance retardée des triglycérides plasmatiques chez les sujets de phénotype $\epsilon 4/\epsilon 3$ [16]. Par conséquent, nos résultats sont cohérents avec des études antérieures [17-20].

Contrairement aux études précédentes dans des populations multi-ethniques [15,21-23] mais en cohérence avec d'autres études chez les sujets tunisiens [24,25], nous n'avons pas détecté d'associations significatives entre le polymorphisme epsilon APOE et les concentrations de HDL-cholestérol dans l'échantillon ISOR. D'autres études menées dans des échantillons de population arabes sont donc nécessaires pour conclure.

Polymorphismes rs439401 et 4420638

Dans l'étude ISOR, nous avons trouvé une association significative entre le SNP rs439401 et les concentrations de triglycérides. Cette association a déjà été observée dans des GWAS européennes de lipides [26,27]. Cependant, cette association a disparu après ajustement supplémentaire sur le polymorphisme epsilon APOE, ce qui suggère que l'effet de rs439401 a été éclipsé par le polymorphisme epsilon. Le SNP rs4420638 n'est significativement associé à aucun trait métabolique, contrairement à ce qui a été décrit précédemment [28]. Ces différences pourraient s'expliquer par des différences dans la structure de DL entre le rs4420638 et le polymorphisme epsilon APOE dans les populations algérienne et européennes ($D' = 0$ et 16 avec rs7412 et rs429358, respectivement dans l'étude ISOR contre $D' = 66$ et -69 avec rs7412 et rs429358, respectivement dans le panel EUR de la base de données 1000 Génomes (Décembre 2012, <http://browser.1000genomes.org>)). Par conséquent, l'effet du SNP rs4420638 pourrait être principalement dû au polymorphisme epsilon dans les échantillons européens, mais indépendant dans l'étude ISOR. Ce résultat doit être analysé dans d'autres populations d'Afrique du Nord.

Les trois polymorphismes du gène de l'APOE semblent ne pas être associés au syndrome métabolique, aucune association significative n'a été détectée entre les polymorphismes du gène de l'APOE et le syndrome métabolique, cela peut être dû au critère de définition du syndrome métabolique utilisé (NCEP ATP III), dont les seuils pourraient ne pas être appropriés à la population algérienne, cette hypothèse doit être vérifiée en utilisant d'autres définitions.

Table 1. Caractéristiques anthropométriques, biochimiques et cliniques des sujets de l'étude ISOR

Parameters	All (n=787)		Men (n=378)		Women (n=409)		P
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Age (yrs)	44.0	10.1	45.0	10.9	43.0	9.3	0.007
Height (cm)	165.5	9.6	172.8	6.4	158.6	6.7	4.9x10⁻¹³⁸
Weight (kg)	71.3	14.6	73.5	14.2	69.3	14.7	5x10⁻⁵
BMI (kg/m ²)	26.1	5.1	24.6	4.2	27.5	5.5	1.5x10⁻¹⁶
Waist (cm)	87.7	12.4	89.1	11.5	86.4	13.0	2.2x10⁻³
Waist-to-hip ratio	0.86	0.09	0.90	0.07	0.83	0.09	1.8x10⁻³²
Fasting plasma glucose (mmol/L)	5.34	1.85	5.49	1.84	5.20	1.85	0.001
Fasting insulin (µU/mL)	8.44	6.54	7.14	5.93	9.64	6.84	2.2x10⁻¹⁴
HOMA-IR	2.08	2.27	1.80	2.05	2.33	2.43	7.3x10⁻⁹
HOMA-B	132.43	126.31	96.72	94.51	165.42	142.15	1.1x10⁻²¹
Total Cholesterol (mmol/L)	4.45	0.91	4.45	0.76	4.44	1.03	0.92
Triglycerides (mmol/L)	1.17	0.51	1.21	0.55	1.13	0.47	0.04
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.25	0.31	1.27	0.30	1.23	0.32	0.10
LDL-cholesterol (mmol/L)	2.68	0.87	2.64	0.73	2.72	1.10	0.19
SBP (mm Hg)	123.6	18.1	125.4	17.7	122.1	18.4	0.01
DBP (mm Hg)	76.9	9.9	77.7	9.7	76.1	10.0	0.02

	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%	<i>N</i>	%	
Inbreeding	197	25.9	92	25.0	107	26.8	0.57
Hypertension	<i>known</i>	12.3	34	9.0	63	15.4	0.005
	<i>Total</i>	20.3	80	21.2	80	19.6	0.58
T2D	<i>known</i>	7.5	30	7.9	29	7.1	0.15
	<i>Total</i>	10.6	42	11.6	38	9.7	0.39
Obesity	167	21.2	34	9.0	133	32.5	3.0x10⁻¹⁴
Metabolic Syndrome	155	20.0	51	13.7	104	25.9	2.5x10⁻⁵

Les valeurs représentent les moyennes ± Ecart type.

Tableau 2 : Association du polymorphisme epsilon de l'APOE avec les variables anthropométriques, biochimiques et cliniques.

	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 4$	p^a	p^b
N	67	522	137		
Weight (kg)	74.6 ± 17.9	71.0 ± 14.2	70.7 ± 13.6	0.05	0.6
Waist (cm)	89.4 ± 13.3	87.6 ± 12.5	87.4 ± 11.6	0.33	0.81
Hip (cm)	103.0 ± 10.6	101.9 ± 9.7	101.0 ± 9.3	0.16	0.6
BMI (kg/m ²)	27.3 ± 6.2	26.1 ± 5.1	25.5 ± 4.5	0.02	0.42
Waist-to-hip ratio	0.87 ± 0.08	0.86 ± 0.09	0.87 ± 0.08	0.93	0.71
Fasting glucose (mmol/L)*	4.98 ± 1.28	5.04 ± 1.30	5.20 ± 1.53	0.23	0.25
Fasting insulin (µU/mL)*	9.18 ± 6.65	7.95 ± 5.48	8.65 ± 8.31	0.76	0.35
Triglycerides (mmol/L) [‡]	1.34 ± 0.78	1.09 ± 0.44	1.24 ± 0.48	0.1	0.0002
Total cholesterol (mmol/L) [‡]	4.25 ± 0.95	4.41 ± 0.86	4.63 ± 1.11	0.1	0.009
HDL-cholesterol (mmol/L) [‡]	1.27 ± 0.34	1.26 ± 0.30	1.22 ± 0.32	0.4	0.06
LDL-cholesterol (mmol/L) [‡]	2.47 ± 0.85	2.64 ± 0.82	2.88 ± 1.05	0.06	0.003
LDL-cholesterol /HDL-cholesterol ratio [‡]	2.14 ± 1.07	2.25 ± 1.00	2.55 ± 1.23	0.18	0.001
SBP (mmHg) ^{††}	122.6 ± 16.3	120.6 ± 14.8	122.7 ± 17.8	0.95	0.13
DBP (mmHg) ^{††}	75.5 ± 8.8	76.6 ± 9.8	76.3 ± 11.1	0.83	0.38

Les valeurs représentent les moyennes ± SD. PAS: pression artérielle systolique; PAD: pression artérielle diastolique.

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables anthropométriques.

p^a : valeurs de p obtenues en comparant les sujets $\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$

p^b : valeurs de p obtenues en comparant les sujets $\epsilon 3\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 4$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$.

* les sujets traités pour le diabète ont été exclus (n=54).

† les sujets traités avec des hypolipémiants ont été exclus (n=36).

†† les sujets traités pour l'hypertension ont été exclus (n=89).

Tableau 3. Association des polymorphismes rs439401 et rs4420638 avec les variables étudiées dans la population ISOR.

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

	rs439401			rs4420638		
	CC 288	CT 335	TT 115	AA 596	AG 149	GG 10
n						
Weight (kg)	71.6 ± 14.5	71.5 ± 15.0	70.8 ± 13.6	71.7 ± 14.9	69.4 ± 13.4	67.7 ± 5.9
Waist (cm)	88.1 ± 12.6	87.7 ± 12.2	87.4 ± 12.4	88.0 ± 12.5	86.7 ± 11.9	83.5 ± 11.2
Hip (cm)	102.2 ± 10.0	102.0 ± 10.00	101.3 ± 9.1	102.2 ± 9.9	100.8 ± 9.3	97.0 ± 6.2
BMI (kg/m ²)	26.0 ± 5.2	26.3 ± 5.1	26.0 ± 4.9	26.2 ± 5.2	25.4 ± 4.6	24.5 ± 2.9
Waist-to-hip ratio	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.10	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.11	0.86 ± 0.11
Fasting glucose (mmol/L)*	5.04 ± 1.20	5.10 ± 1.52	5.06 ± 1.14	5.03 ± 1.26	5.20 ± 1.60	5.03 ± 0.70
Fasting insulin (µU/mL)*	8.02 ± 6.09	8.57 ± 6.53	7.58 ± 5.62	8.07 ± 5.62	8.75 ± 8.28	6.61 ± 2.89
Triglycerides (mmol/L) [†]	1.20 ± 0.51	1.14 ± 0.50	1.07 ± 0.47	1.14 ± 0.49	1.19 ± 0.55	1.21 ± 0.41
Total cholesterol (mmol/L) [†]	4.50 ± 1.02	4.42 ± 0.86	4.35 ± 0.82	4.44 ± 0.90	4.43 ± 0.98	4.51 ± 1.02
HDL-cholesterol (mmol/L) [†]	1.24 ± 0.31	1.26 ± 0.33	1.27 ± 0.27	1.25 ± 0.30	1.27 ± 0.34	1.17 ± 0.24
LDL-cholesterol (mmol/L) [†]	2.74 ± 0.97	2.66 ± 0.82	2.58 ± 0.82	2.69 ± 0.87	2.64 ± 0.88	2.78 ± 0.88
LDL-cholesterol /HDL-cholesterol ratio [†]	2.39 ± 1.15	2.38 ± 2.12	2.17 ± 0.88	2.37 ± 1.76	2.25 ± 1.02	2.36 ± 0.52
SBP (mmHg) ^{††}	121.4 ± 16.4	120.9 ± 14.8	121.1 ± 15.1	120.9 ± 14.8	121.0 ± 17.6	128.1 ± 18.9
DBP (mmHg) ^{††}	75.4 ± 10.1	75.9 ± 8.7	76.4 ± 8.6	75.7 ± 9.0	75.7 ± 10.1	78.1 ± 12.2

Les valeurs représentent les moyennes ± SD. PAS: pression artérielle systolique; PAD: pression artérielle diastolique.

p[†]: ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables anthropométriques.

p^{††}: ajustés sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables biochimiques.

p[‡]: Même ajustement, plus un ajustement sur l'APOE

Tableau 4: Polymorphisme epsilon de l'APOE et risque de syndrome métabolique

APOE ε	ε3+	ε2+	ε4+
MNCEP			
No/yes	424/96	48/18	108/28
OR(95% CI)	1.00 (ref)	1.74 (0.92-3.32)	1.29 (0.78-2.14)
<i>P</i>		0.09	0.33

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme

Tableau 5: Polymorphismes rs439401 et rs4420638 et risque de syndrome métabolique

SM NCEP	Major/ minor allele	Genotypes		OR [95% CI]
		MetS-	MetS+	
rs439401	C/T	CC (228)	CC(56)	1.06[0.80-1.40] P=0.69
		CT (265)	CT (65)	
		TT (90)	TT (24)	
rs4420638	A/G	AA (473)	AA (117)	1.10[0.71-1.70] P=0.66
		AG(118)	AG(27)	
		GG (7)	GG (3)	

OR ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme.

OR obtenu pour le modèle additif.

Références bibliographiques

[1] Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA *et al.* Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll. Cardiol.* 2007; 49: 403-414.

[2] Hillier TA, Rousseau A, Lange C, Lepinay P, Cailleau M *et al.* Practical way to assess metabolic syndrome using a continuous score obtained from principal components analysis. *Diabetologia.* 2006; 49: 1528-1535.

[3] Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28: 2289-2304.

[4] Meigs JB, Rutter MK, Sullivan LM, Fox CS, D'Agostino RB, Sr. *et al.* Impact of insulin resistance on risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in people with metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 2007; 30: 1219-1225.

[5] Wilson PW, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 2005; 112: 3066-3072.

[6] Liese AD, Mayer-Davis EJ, Tyroler HA, Davis CE, Keil U *et al.* Familial components of the multiple metabolic syndrome: the ARIC study. *Diabetologia.* 1997; 40: 963-970

[7] Chen LH, Wattler S, Nehls M, Lewis KB 1999 Identification of a mammalian angiopoietin18 related protein expressed specifically in liver. *Genomics* 62:477-482.

[8] Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR *et al.* The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Intern. Med.* 2003; 163: 427-436.

[9] Dallongeville J, Delcroix AG, Wagner A, Ducimetière P, Ruidavets JB *et al.* The APOA4 Thr347->Ser347 polymorphism is not a major risk factor of obesity. *Obes. Res.* 2005b; 13: 2132-2138.

[10] Wamala SP, Lynch J, Horsten M, Mittleman MA, Schenck-Gustafsson K *et al.* Education and the metabolic syndrome in women. *Diabetes Care.* 1999; 22: 1999-2003.

[11] Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. Transition épidémiologique et système de santé. Projet TAHINA. Résultats Enquête Nationale Santé. May 2007 (on: www.ands.dz)

[12] Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. Les causes de décès Algérie en 2002: analyse au niveau d'un échantillon de 12 wilayas. Projet Tahina, Algérie (on : www.ands.dz).

- [13] Chuang, L.-ming. (2008). Human genetics of the metabolic syndrome, 17 (December 2007), *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17 (S1):43-46.
- [14] Joy, T., Lahiry, P., Pollex, R. L., & Hegele, R. A. (2008). Genetics of Metabolic Syndrome. *Current Diabetes Reports* 2008, 8:141-148.
- [15] Kofler BM, Miles EA, Curtis P, Armah CK, Tricon S, Grew J, Napper FL, Farrell L, Lietz G, Packard CJ et al.: Apolipoprotein E genotype and the cardiovascular disease risk phenotype: impact of sex and adiposity (the FINGEN study). *Atherosclerosis* 2012, 221:467-470.
- [16] Dallongeville J, Lussier-Cacan S, Davignon J: Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res* 1992, 33:447-454.
- [17] Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, Sandholzer C, Menzel HJ, Csazar A, Utermann G: The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 1991, 49:338-349.
- [18] Xhignesse M, Lussier-Cacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J: Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arterioscler Thromb* 1991, 11:1100-1110.
- [19] Howard BV, Gidding SS, Liu K: Association of apolipoprotein E phenotype with plasma lipoproteins in African-American and white young adults. The CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults. *Am J Epidemiol* 1998, 148:859-868.
- [20] Wilson HM, Patel JC, Russell D, Skinner ER: Alterations in the concentration of an apolipoprotein E-containing subfraction of plasma high density lipoprotein in coronary heart disease. *Clin Chim Acta* 1993, 220:175-187.
- [21] Alvim RO, Freitas SR, Ferreira NE, Santos PC, Cunha RS, Mill JG, Krieger JE, Pereira AC: APOE polymorphism is associated with lipid profile, but not with arterial stiffness in the general population. *Lipids Health Dis* 2010, 9:128.
- [22] Medina-Urrutia AX, Cardoso-Saldana GC, Zamora-Gonzalez J, Liria YK, Posadas-Romero C: Apolipoprotein E polymorphism is related to plasma lipids and apolipoproteins in Mexican adolescents. *Hum Biol* 2004, 76:605-614.
- [23] Liang S, Steffen LM, Steffen BT, Guan W, Weir NL, Rich SS, Manichaikul A, Vargas JD, Tsai MY: APOE genotype modifies the association between plasma omega-3 fatty acids and plasma lipids in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis* 2013, 228:181-187.
- [24] Jemaa R, Elasmî M, Naouali C, Feki M, Kallel A, Souissi M, Sanhaji H, Hadj TS, Souheil O, Kaabachi N: Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: frequency and effect on lipid parameters. *Clin Biochem* 2006, 39:816-820.

[25] Bahri R, Esteban E, Moral P, Hassine M, Ben Hamda K, Chaabani H: Apolipoprotein gene polymorphisms and plasma levels in healthy Tunisians and patients with coronary artery disease. *Lipids Health Dis* 2008, 7:46.

[26] Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, Pirruccello JP, Ripatti S, Chasman DI, Willer CJ et al.: Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature* 2010, 466:707-713.

[27] Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I, Boomsma D, Heid IM, Pramstaller PP, Penninx BW, Janssens AC, Wilson JF, Spector T et al.: Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet* 2009, 41:47-55.

[28] Pendergrass SA, Brown-Gentry K, Dudek S, Frase A, Torstenson ES, Goodloe R, Ambite JL, Avery CL, Buyske S, Buzkova P et al.: Phenome-Wide Association Study (PheWAS) for Detection of Pleiotropy within the Population Architecture using Genomics and Epidemiology (PAGE) Network. *PLoS Genet* 2013, 9:e1003087.

EFFET DU STRESS DE CONTENTION SUR LE COMPORTEMENT DU RAT MALE WISTAR : REPARATION PAR UN IMMUNOSUPPRESSEUR ; LA CYCLOSPORINE

FACI.H.;FRIH.H.;GUEDRI.K.;CHETTOUM.A.;METAL.A.;BOUKHRIS.N.;

A.TAHRAOUI

*Laboratoire de Neuro-endocrinologie Appliquée. Département de biologie,
Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar Annaba.Bp12 EL Hadjar –Algérie
Projet ATRSS Code: 08/06/02/03/43*

1. Introduction

Notre étude s'est intéressée à la réparation d'un stress de contention chez le rat Wistar par une molécule habituellement administrée dans le but d'empêcher des rejets d'organes, de tissus ou de parties d'organes ou de tissus transplantés aussi bien chez les espèces animales qu'humaine. Cette hypothèse a fait que ces animaux stressés par un stress habituellement éprouvant en l'occurrence le stress de contention ; cette épreuve ayant été mise en évidence par différents tests comportementaux (Open field, Plus Maze Elevated et nage forcée = SWT) selon (Belda *et al.*, 2008) ; ceux-ci ayant montré chez les animaux expérimentaux différentes altérations psychosomatiques, par contre chez le lot témoin nous n'avons observé aucune manifestation de ce genre.

Avec l'administration par la voie intra-péritonéale de la cyclosporine aux lots expérimentaux, il s'est avéré qu'à la posologie de 20 mg/kg/j, chaque jour pendant une durée de 14 jours successifs, que ces animaux n'ont pas été affectés autant que le lot expérimental n'ayant pas été traité par la cyclosporine.

L'immobilisation étant un modèle capable de provoquer un stress lié à des troubles psychiatriques comme l'anxiété et la dépression. Il a déjà été signalé dans la littérature qu'une seule exposition à l'immobilisation chez le rat provoque à long terme une désensibilisation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA) en réponse à un même facteur de stress.

La Cyclosporine est un médicament employé habituellement pour ses effets immunosuppresseurs lors de la transplantation d'organes et fait actuellement l'objet de recherches et d'essais contre un grand éventail de maladies auto-immunes.

Objectif de notre étude

Evaluation des effets d'un stress réputé pour être très éprouvant, il s'agit du stress de contention chez des rats mâles Wistar et si la Cyclosporine, associée à celui-ci, est capable de réparer les symptômes de la dépression et de l'anxiété engendrés par ce type de stress.

2. Matériels et méthodes :

2.1. Matériel biologique Le matériel biologique utilisé lors de cette étude est le rat mâle adulte *Wistar* provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. A leur arrivée à l'animalerie, les animaux âgés d'environ 6 mois, pesaient en moyenne 200 ± 20 g.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène contenant des copeaux de bois comme litière. Les cages sont nettoyées et la litière changée tous les deux jours. Les rats sont acclimatés pendant une semaine aux conditions de l'animalerie, à une température moyenne de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et à une hygrométrie de 50%. Ils reçoivent un aliment à base de maïs, son, remoulage, soja et CMV (Société de production d'aliment pour souris et rats de Bouzaréah, Alger). Les animaux disposent d'eau de boisson ad libitum dans des biberons.

2.2. Méthodes

2.2.1. Administration de la Cyclosporine

La Cyclosporine (Wenger RM., 1990) est un décapeptide cyclique, formé de dix acides aminés et d'un dérivé de la thréonine. Elle est extraite d'un champignon, le *Tolyposcladium inflatum*, doué de propriétés immunodépressives qui la font utiliser dans les transplantations d'organes (reins, poumons, pancréas, peau, foie, moelle osseuse et cœur) et dans certaines maladies auto immunes. L'action immunosuppressive est liée à l'inhibition d'une protéine intracellulaire, la calcineurine, qui intervient dans la chaîne de la synthèse de l'interleukine 2 (IL-2); de ce fait, la cyclosporine inhibe la production de l'IL-2 des lymphocytes T2.

Application du stress de contention

Les rats sont contraints (stressés) à la même heure le matin, pendant 2 h30, et durant 14 jours. Chaque rat est introduit dans une bouteille en plastique transparent, qui n'offre qu'une possibilité très restreinte de bouger. La bouteille est ouverte à l'avant pour permettre au rat de respirer, et bouchée à l'arrière pour restreindre le plus possible ses mouvements.

Mode de traitement

Les animaux sont répartis en quatre lots expérimentaux de cinq rats chacun. Le premier lot constitue le témoin, et les 3 autres lots vont subir respectivement : un stress de contention ; un traitement à la Cyclosporine associé à un stress de contention ; un traitement à la Cyclosporine.

La cyclosporine est dissoute dans de l'huile d'olive, et administrée aux rats par injection intra péritonéale à raison de 20 mg /kg de poids corporel chaque jour pendant 14 jours, entre 9h et 9h30 du matin.

Lot témoin (n = 5) : T ;

Lot Cyclosporine (n = 5) : Cyc : 20 mg/j/kg PC de cyclosporine pendant 14 jours ;

Lot stress de contention (n = 5) : SC : 2h30/j de contention pendant 14 jours ;

Lot Cyclosporine + stress de contention (n = 5) : Cyc + SC : mêmes modalités que les 2 lots précédents.

2.2.2. Dissection et prélèvement des organes

A l'issue de la période expérimentale, les animaux sont sacrifiés et les surrénales, testicules, rate, thymus, cerveau et foie sont prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision (Scaldtec Instrument, Germany). Le poids relatif des organes est calculé selon la formule :

$$\text{Poids relatif (g/100g PV)} = (\text{poids de l'organe} / \text{poids corporel individuel}) \times 100$$

2.2.2. Etude comportementale

Le comportement anxieux inné est une composante fondamentale du comportement général des rongeurs. Il se manifeste par l'attitude de l'animal à avoir peur lorsqu'il est mis, sans expérience préalable, dans un environnement non protégé. Ce comportement peut être évalué à l'aide de dispositifs expérimentaux dont le Labyrinthe en croix surélevé ou Elevated Plus Maze (EPM), le Test des champs ouverts ou Open Field (OF), le Labyrinthe aquatique de Morris ou Morris Water Maze (MWM) et le Test de la nage forcée ou Forced Swimming Test (FST).

2.2.2.1. Procédure de l'*Open field test* (Test des champs ouverts)

Le test de l'Open field, décrit par Hall (1934, 1938), a été développé dans le but de mesurer les différences de réactivité émotionnelle chez le rat. Le test consiste à placer l'animal dans une enceinte inconnue puis à observer son comportement et l'évolution de ce comportement au cours de plusieurs sessions d'exposition. Parmi les mesures de la réactivité émotionnelle, le principal est l'activité ambulatoire, en distance parcourue par unité de temps. L'activité locomotrice, considérée comme un index d'anxiété des rats, est mesurée dans le test de l'Open field, grâce à un dispositif constitué d'une enceinte rectangulaire en plexiglas de 1 mètre de long et de 50 cm de haut. Il est divisé en 7 parties de même superficie: 1 partie centrale et 6 parties périphériques. La partie centrale sert de point de départ aux animaux à chaque test.

Parmi les variables mesurées, on peut citer :

- Distance totale parcourue (cm).
- Nombre de redressements.
- Nombre d'entrées au centre.
- Temps d'immobilité.
- Nombre des grimps.



Figure 1. Dispositif du test des champs ouverts (Open Field Test)

2.2.2.2. Labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze)

Ce test est basé sur l'aversion des rongeurs pour l'espace vide et la hauteur lors des séances d'exploration libre à partir d'un milieu familier. Sur cette base le labyrinthe en croix surélevé ou Elevated Plus Maze, sera rapidement validé chez le rat (Pellow et al., 1985) puis chez la souris (Lister, 1987), comme un dispositif de mesure de l'anxiété chez les rongeurs. C'est l'efficacité des composés pharmacologiques, en particulier les benzodiazépines, qui ont conduit à l'utilisation du terme « anxiété » au sujet de ce dispositif.

Le dispositif a la forme d'une croix, élevée à 60 cm du sol. Il se compose d'une partie centrale (10 × 10 cm), de deux bras protégés ouverts sans parois (50 × 10 × 50 cm) qui s'opposent à deux autres bras, perpendiculaires aux précédents, fermés par des parois en plexiglas.

Ce test est réalisé pendant 5 minutes en plaçant l'animal dans l'aire centrale face à un bras ouvert, les séquences étant filmées à l'aide d'une caméra vidéo pour la lecture ultérieure. Etant donné que le rat craint les espaces vides et hauts, son exploration des bras ouverts témoigne d'un comportement moins anxieux. A l'inverse, plus l'animal est localisé dans les bras fermés, et plus son comportement est désigné comme anxieux (Pellow et al., 1985).

Variables mesurées

- *Temps au centre (Sec).*
- *Temps dans les bras fermés (Sec).*
- *Entrées dans les bras ouverts.*
- *Entrées dans les bras fermés.*
- *Temps d'immobilité (sec).*
- *Nombre de redressements.*
- *Nombre de prises d'information sur les profondeurs.*



Figure 2. Labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze)

2.2.2.4. Test de la nage forcée (Forced swimming test)

La FST est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (Porsolt et al., 1977), chez le rat et la souris. Le test consiste à placer individuellement le rat dans un aquarium de 40 cm de haut sur 30 cm de large. Ces dimensions permettent de s'assurer que le rat ne pourra pas s'enfuir en s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau à 25°C. La hauteur de l'eau atteint 35 cm, pour s'assurer que le rat ne se servira pas de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface, et donc l'obliger à nager. Après une phase d'activité vigoureuse (temps d'adaptation), l'animal cesse de nager et se fige, adoptant un comportement de désespoir. On considère que l'animal est immobile lorsqu'il flotte en position horizontale et ne réalise que des mouvements de faible amplitude, suffisant à maintenir sa tête hors de l'eau.

La FST se déroule chez le rat en deux phases, le pré-test (FST1) et le test (FST2), séparées par un intervalle de 24 heures au cours duquel le traitement est administré. Lors du pré-test, le rat est placé pendant 15 minutes dans l'aquarium rempli d'eau dont il ne peut s'échapper. A la fin de la session, l'animal est immobile. Le jour suivant, l'animal est replongé dans l'aquarium pendant 5 minutes, période pendant laquelle le temps d'immobilité est enregistré. Un traitement antidépresseur efficace diminue le temps d'immobilité seulement lors du jour du test (Porsolt et al., 1978 et 1979). En plus de l'évaluation de l'immobilité posturale, deux comportements actifs sont directement impliqués dans la diminution de l'immobilité, à savoir la nage et l'escalade.

Durant la FST, différentes variables sont mesurées :

- Temps d'immobilité;
- Temps de nage;
- Temps d'escalade.



Figure 3. Test de la nage forcée (Forced Swimming Test)

2.2.3. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm SEM dans des tableaux et histogrammes. Deux tests de comparaison des moyennes ont été utilisés. Le test t de Student pour la comparaison de deux moyennes.

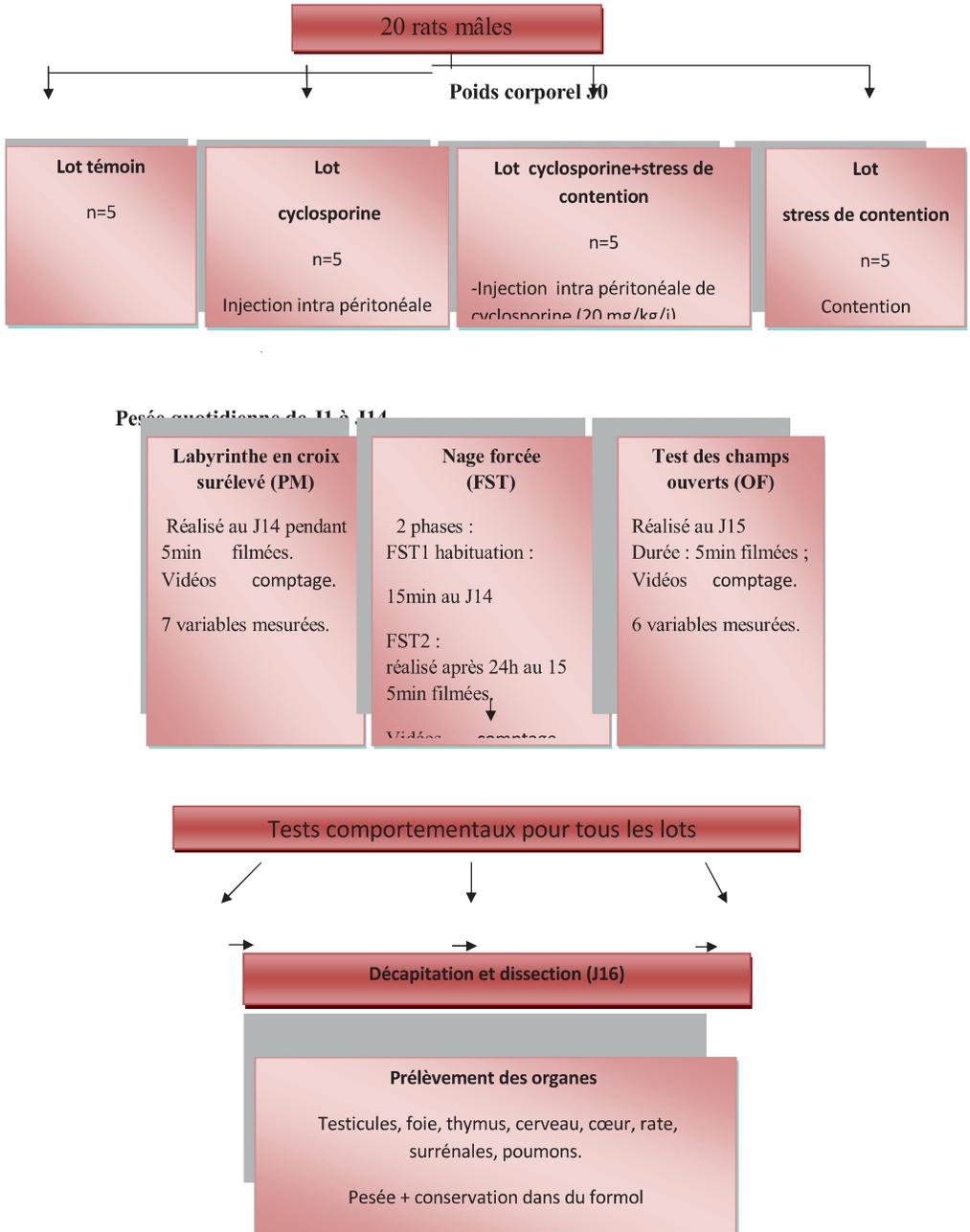


Figure 4. Protocole expérimental

3. Résultats

3.1. Variation du poids corporel moyen

L'évolution du poids corporel des rats des différents lots durant 14 jours d'expérimentation est illustrée dans la Figure 5. On remarque que le poids corporel le plus faible est enregistré pour les animaux du lot SC, suivi par celui du lot SC + Cyc. Le témoin montre un poids corporel plus élevé et qui va en augmentant avec le temps, suivi par la Cyclosporine seule.

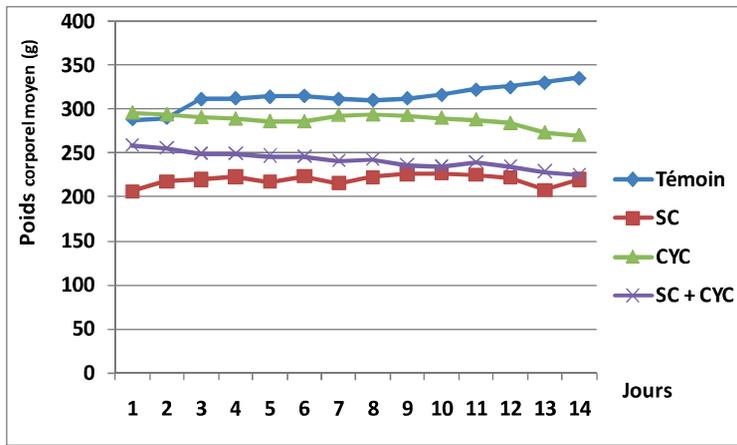


Figure 5. Variation du poids corporel moyen quotidien (g) chez les rats Témoins, soumis à un stress de contention (SC) et traités à la Cyclosporine (SC + Cyc)

3.2. Poids des organes

Le poids des organes est donné dans le Tableau 1. Le poids des testicules est plus élevé chez le lot Témoin par rapport aux 3 autres lots (1.1800 ± 0.1158 vs 0.9100 ± 0.3929 ; 1.1500 ± 0.1726 ; 1.0342 ± 0.1342), les différences étant significatives, ce qui indique que le stress de contention a provoqué la diminution du poids des testicules.

Le poids du thymus le plus élevé se rencontre chez le lot SC (0.1325 ± 0.0544) par rapport au Témoin et aux 2 autres lots SC + Cyc et Cyc, mais ces différences ne sont pas significatives. Ceci montre que le stress de contention provoque l'augmentation du poids de thymus.

Le poids des surrénales le plus élevé se rencontre chez le lot traité aux SC + Cyc (0.0487 ± 0.01719) par rapport au Témoin (0.0309 ± 0.02257) et les lots Cyc et SC (0.0406 ± 0.01581 et 0.0417 ± 0.00981), mais ces différences ne sont pas significatives.

Le lot ayant subi un stress de contention (SC) manifeste une augmentation significative de poids du cerveau (0.6725 ± 0.11206) par rapport au lot Témoin (0.4814 ± 0.08783) et aux lots Cyc + SC et Cyc, qui ne présentent aucune différence significative.

Le poids du foie est plus élevé chez les lots SC et SC + Cyc, et il diminue de manière significative chez le lot Cyc.

Tableau 1. Poids relatif moyen des organes (g/100gPV) chez les rats du lot Témoin, subissant un stress de contention et traités à la Cyclosporine.

Lots	T	SC	Cyc	SC+Cyc
Testicules	1.1800± 0.1158	0.9100 ± 0.3929 NS	1.1500 ± 0.1726 NS	1.0342 ± 0.1342 NS
Thymus	0.0829 ± 0.02812	0.1325 ± 0.05439 NS	0.0686 ± 0.03781 NS	0.0742 ± 0.02204 NS
Surrénales	0.0309 ± 0.02257	0.0417 ± 0.00981 NS	0.0406 ± 0.01581 NS	0.0487 ± 0.01719 NS
Cerveau	0.4814 ± 0.08783	0.6725 ± 0.11206 **	0.5768 ± 0.05587 **	0.6375 ± 0.09912 **
Foie	3.8443± 0.3783	3.9050 ± 0.2883 NS	3.3660 ± 0.251 *	3.9025 ± 0.3284 NS

* $P \leq 0.05$ vs T** $P \leq 0.01$ vs T

3.3. Test de la nage forcée (FST)

Les résultats du test de la nage forcée (FST), test comportemental fréquemment utilisé pour évaluer l'efficacité des antidépresseurs potentiels chez le rat, sont présentés dans le Tableau 2.

Tableau 2. Résultats du Test de la nage forcée chez les lots Témoin, SC, Cyc et Cys+SC

Paramètres/Lots	T	SC	Cyc	SC+Cyc
Temps d'immobilité (sec)	95,40 ± 65,72	203,75 ± 47,73 **	73,60 ± 17,74 NS	118,20 ± 42,6 NS
Temps de nage (sec)	200,60 ± 69,53	96,25 ± 47,73 **	226,40 ± 17,74 NS	179,40 ± 44,72 NS
Temps d'escalade (sec)	60,80 ± 30,70	22,94 ± 18,07 *	69,00 ± 7,31 NS	50,37 ± 22,57 NS

NS : non significatif.

** $p \leq 0.01$ vs T

* : hautement significatif

3.3.1. Temps d'immobilité

La mesure de temps d'immobilité durant ce test a permis d'évaluer le niveau de dépression des rats. Le temps d'immobilité est plus élevé chez le lot soumis un stress de contention (203,75 ± 47,73), ce qui se traduit par un faible temps de nage et d'escalade, signe de dépression (Fig.7). L'immobilité la plus faible est observée chez le lot traité à la Cyc (73,60 ± 17,74), par rapport aux lots Témoin et SC+Cyc, respectivement de 95,40 ± 65,72 et 118,20 ± 42,6, avec une différence hautement significative entre le lot SC et le Témoin ($p \leq 0.01$).

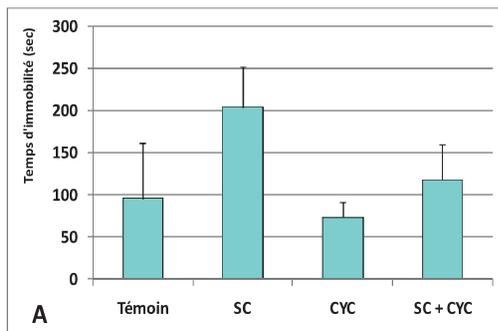
3.3.2. Temps de nage

Le temps de nage moyen (Fig.7) est moins élevé chez le lot SC (96,25 ± 47,73), alors que le plus élevé se rencontre chez le lot Cyc (226,40 ± 17,74) par rapport aux lots Témoin et SC + Cyc (200,60 ± 69,53, 179,40 ± 44,72), la différence étant hautement significative entre le lot SC et le lot Témoin ($p \leq 0.01$). Par contre, on n'observe pas de différence significative entre les 3 lots Cyc, SC + Cyc et Témoin.

3.3.3. Temps d'escalade

La moyenne de temps d'escalade du lot Cyc (69,00 ± 7,31) est la plus élevée, alors que celle de lot SC est la plus faible (22,94 ± 18,07) (Fig.7). On remarque que la différence est significative entre le lot SC et le lot Témoin.

Sachant que le temps d'immobilité est proportionnel au niveau de dépression, il semble que le stress de contention ait été à l'origine d'une augmentation du niveau d'anxiété qui se traduit par un temps d'immobilité le plus élevé chez le lot SC, alors que la Cyclosporine semble avoir opéré une réparation et avoir provoqué une diminution du niveau d'anxiété, d'où la diminution du temps d'immobilité chez le lot SC + Cyc.



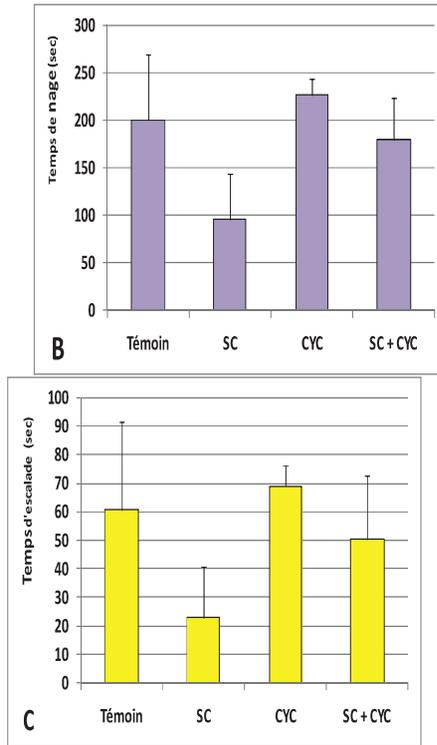


Figure 6. Temps d'immobilité (sec) (A), Temps de nage (sec) (B) et Temps d'escalade (sec) (C) au Test de la nage forcée (FST) chez les 3 lots de rats : Témoins, soumis à un stress de contention (SC) et traités à la Cyclosporine (SC + Cyc)

3.4. Test des champs ouverts (Open Field)

Les résultats concernant le test de l'Open Field sont présentés dans le Tableau 3. Les différents paramètres mesurés ont permis d'évaluer l'activité locomotrice et le niveau d'anxiété des rats, sachant que l'exposition à un stress aigu de contention entraîne une diminution de la distance parcourue lors du Test de l'Open field. Nos résultats montrent que la distance parcourue par les animaux est plus élevée chez le lot Témoin par rapport aux lots Cyc, Cyc + SC et SC ($718,30 \pm 55,20$ vs $354,00 \pm 24,30$; $414,0 \pm 21,40$; $293,30 \pm 23,10$), mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives. On remarque aussi que la distance parcourue est moins élevée chez le lot SC+ Cyc par rapport au lot SC et au lot traité à la Cyclosporine. On peut donc constater que le stress de contention et la Cyclosporine induisant la diminution de l'activité locomotrice des rats de ces 2 lots, et donc une baisse de la capacité exploratrice, montrant un état d'anxiété (Fig.8).

Tableau 3. Résultats du Test de l'Open Field chez les rats Témoins, subissant un SC, traités à la Cyclosporine et SC + Cyc.

Paramètres	T	SC	Cyc	SC+Cyc
Distance totale parcourue (cm)	718.30 ±55.20	354.00 ± 24.30 NS	414.00 ± 21.40 NS	293.30 ± 23.10 NS
Nombre de redressements	11.750 ± 9.50	1.80 ± 0.84 *	6.60 ± 4.16 NS	2.00 ± 1.00 *
Temps d'immobilité (sec)	208.50 ± 52.89	256.40 ± 29.45 NS	221.60 ± 31.44 NS	254.00 ± 6.08 NS
Temps au centre (sec)	1.80 ± 1.30	2.60 ± 1.52 NS	3.20 ± 2.17 NS	1.33 0.577 NS
Nombre d'entrées au centre	1.00 ± 0.00	1.20 ± 0.44 NS	1.00 ± 0.00 NS	1.00 ± 0.00 NS
Nombre de grimpes	4.00 ± 3.85	2.00 ± 1.94 NS	10.00 ± 5.15 *	8.00 ± 6.93 NS

NS : Non significatif

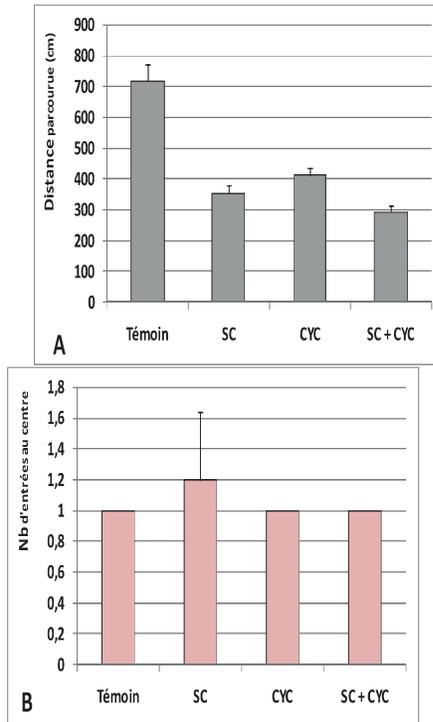
* : Significatif

*P 0.05 vs T

Le Tableau 3 montre que le nombre de redressements est plus élevé chez le lot Témoin par rapport aux lots SC, Cyc + SC et Cyc (11.75 ± 9.50 vs 1.80 ± 0.84 ; 6.60 ± 4.16 ; 2.00 ± 1.00). Il reste cependant significativement moins élevé chez les lots SC, SC + Cyc et chez le lot Cyc (Fig. 7). Ceci indique que le stress de contention et la Cyclosporine induisent une diminution du nombre de redressements, la distance parcourue et le nombre de redressements reflétant l'activité exploratrice du rat et son état émotionnel.

Le temps d'immobilité apparaît plus élevé chez le lot SC (256.40 ± 29.45) par rapport aux lots Cyc et SC + Cyc (221.60 ± 31.44 et 254.00 ± 6.08) et moins élevé chez le lot Témoin (208.50 ± 52.89) (Fig.8). On peut donc conclure que le stress de contention augmente le temps d'immobilité et diminue la capacité d'exploration des rats.

Par ailleurs, le nombre d'entrées au centre du dispositif n'a pas significativement varié suivant les différents lots expérimentaux. En revanche, le nombre de grimps est significativement plus élevé chez le lot traité à la Cyclosporine ($10,00 \pm 5,15$) que chez le lot Témoin ($4,00 \pm 3,85$) et les deux lots SC et SC + Cyc ($2,00 \pm 1,95$ vs $8,00 \pm 6,93$) et le nombre de grimps le moins élevé est observé chez le lot SC ($2,00 \pm 1,95$) par rapport aux deux autres lots, mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives (Fig.7).



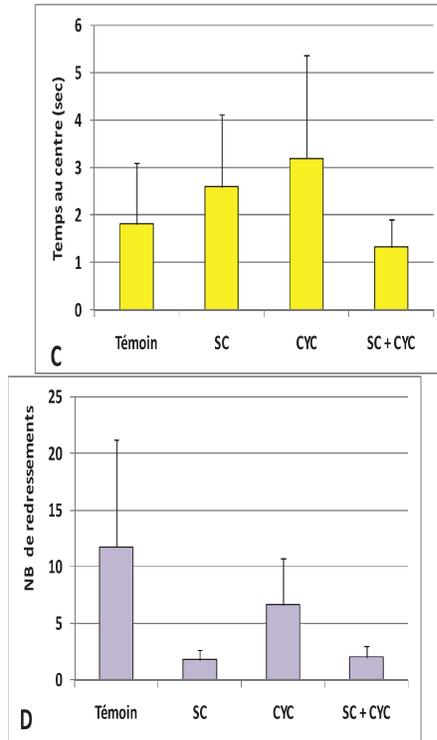


Figure 7. Distance parcourue (cm) (A), Nombre d'entrées au centre (B), Temps passé au centre (sec) (C) et Nombre de redressements (D) au test de l'Open field chez les rats Témoin, soumis à un stress de contention (SC) et traités à la Cyclosporine (SC + Cyc).

3. 5. Labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze)

Les résultats concernant le Test du labyrinthe en croix surélevé sont présentés dans le Tableau 4. Le temps au centre (sec) est plus élevé chez le lot SC + Cyc ($30,40 \pm 14,69$) par rapport au lot Témoin ($14,12 \pm 6,64$) et aux 2 autres lots SC et Cyc ($21,51 \pm 17,36$ et $10,00 \pm 8,91$), mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives.

Tableau 4. Paramètres du Labyrinthe en croix surélevé (EPM) chez les rats des différents lots.

Paramètres	T	SC	Cyc	SC+Cyc
Temps au centre (sec)	14,12 ±6,64	21,51± 17,36 NS	10,00 ± 08,91 NS	30,40 ± 14,69
Temps passé bras ouverts (sec)	17,86 ±5,52	8,50 ± 06,39 NS	30,40 ± 12,60 *	13,67 ± 9,60 *
Temps passé bras fermés (sec)	265,88 ± 14,81	279,00 ± 11,30 *	259,40 ± 53,14 *	275,33 ± 7,23 ***
Nombre d'entrées bras ouverts	1,80 ± 0,45	1,00 ± 0,82 NS	1,60 ± 0,89 NS	1,20 ± 0,84 NS
Nombre d'entrées bras fermés	4,37 ± 2,26	1,50 ± 0,58 **	1,80 ± 1,09 **	1,40 ± 0,55 NS
Temps d'immobilité (sec)	159,80 ± 35,40	271,80 ± 26,30 ***	163,50 ± 15,50 NS	237,00 ± 25,00 *
Nombre de redressements	8,75 ± 4,10	2,00 ± 0,82 **	3,80 ± 2,95 **	2,60 ± 2,07 **

Le temps passé dans les bras ouverts est significativement plus élevé chez le lot Cyc (30,40 ± 12,60) par rapport au lot Témoin (17,86 ± 5,52) et aux 2 autres lots SC et SC + Cyc (8,50 ± 6,39 et 13,67 ± 9,60), mais sans différences significatives. Le temps passé dans les bras ouverts le moins élevé est observé chez le lot SC (Fig.9). Le temps passé dans les bras ouverts fournit une évaluation du niveau d'anxiété des animaux, et plus l'animal est anxieux, moins il passera de temps dans cette partie du dispositif. On peut conclure que le lot SC montre le niveau d'anxiété le plus élevé, sachant que les bras ouverts fournissent des conditions spatiales aversives aux rats alors que ce n'est pas le cas pour les bras fermés.

Le nombre d'entrées dans les bras ouverts apparait comme étant plus élevé chez les lots Témoin et Cyc, respectivement de $(1,80 \pm 0,45)$ et $(1,60 \pm 0,89)$ (Fig.9). Il s'effondre chez les rats subissant un SC ($1,00 \pm 0,82$), mais il est plus élevé chez le lot SC + Cyc ($1,20 \pm 0,84$).

Le nombre de redressements est plus élevé chez le lot témoin ($8,75 \pm 4,10$) par rapport aux lots SC, Cyc + SC et Cyc ($2,00 \pm 0,82$ et $2,60 \pm 2,07$; $3,80 \pm 2,95$), la diminution étant hautement significative (Tab.4).

Le temps d'immobilité le plus élevé est observé chez le lot SC ($271,80 \pm 26,30$) (Fig.9). Quand la Cyclosporine est associée au SC, le temps d'immobilité diminue ($237,00 \pm 25,00$), d'où l'effet réparateur de la Cyclosporine.

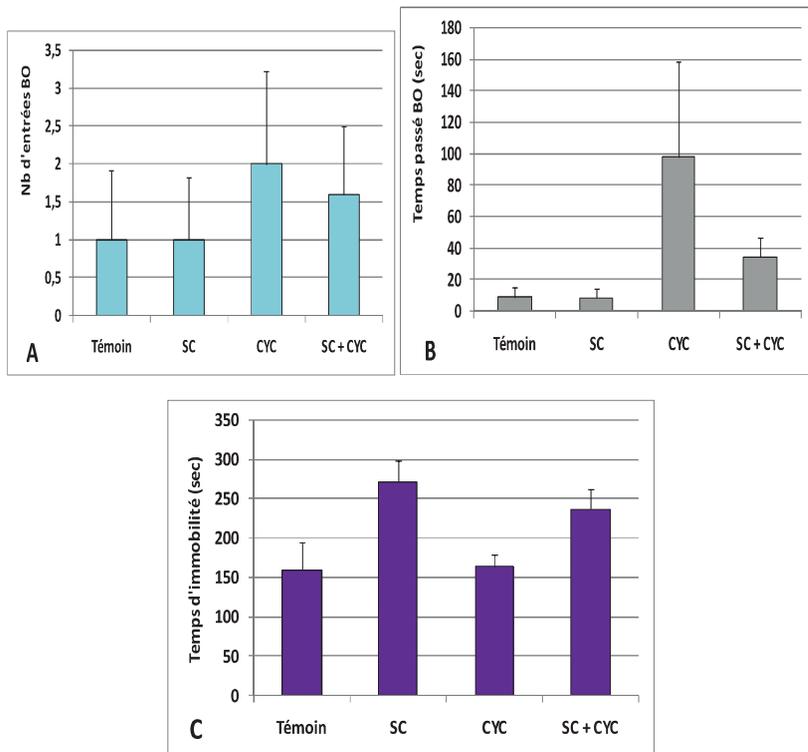


Figure 9. Nombre d'entrées (A) et Temps passé (sec) dans les bras ouverts (B) et Temps d'immobilité (sec) (C) au Plus maze test chez les rats Témoin, soumis à un stress de contention (SC) et traités à la Cyclosporine (SC + Cyc).

4. Discussion

Le trouble dépressif majeur est un problème psychiatrique grave. Malgré les efforts continus pour éclaircir son étiologie et sa physiopathologie, de nombreuses questions restent posées. La majorité des recherches en neurobiologie et les schémas classiques de pharmacothérapie ont abordé cette maladie comme la conséquence d'une défaillance du système de neurotransmetteurs monoaminergiques (Dagyté, 2011). Les états anxieux et le stress chronique s'accompagnent d'une immunosuppression attribuée, au moins en partie, aux effets inhibiteurs qu'exercent les glucocorticoïdes sur les réponses immunitaires (Kanitz et al 2004). Durant les dernières décennies, la participation de la neurogénèse hippocampique adulte dans la pathogenèse et le traitement de trouble dépressif a gagné un important intérêt. De nombreux systèmes neurobiologiques et circuits semblent donc être à l'origine de cette maladie complexe multifactorielle. L'un d'entre eux est le système cholinergique, qui joue un rôle majeur dans la régulation des fonctions du système nerveux central, tels que l'excitation, l'attention, la cognition et la mémoire (Dagyté, 2011). Lors de l'exposition à des situations de stress chronique, la sensibilité aux glucocorticoïdes de zones du système nerveux central contrôlant l'activité hypothalamique comme l'amygdale et l'hippocampe peut être altérée à très long terme. On croit que le stress répété peut entraîner des changements de structure dans le cerveau et, progressivement, occasionner des symptômes plus graves : de l'anxiété, de la dépression, et des troubles de l'alimentation (Kanitz et al., 2004).

Dans ce travail, nous avons examiné l'effet d'administrations par voie intra-péritonéale de Cyclosporine sur le comportement de rats soumis à un stress de contention pendant 14 jours. Les résultats obtenus ont montré que le poids corporel diminue chez les rats subissant un stress de contention par rapport aux rats du lot Témoin. D'autre part, le poids des surrénales, thymus et cerveau augmente chez ce même lot. D'un autre côté, il a été observé que le stress de contention provoque un état de dépression chez les rats, qui a été mis en évidence par une batterie de tests comportementaux (Open field, Plus maze et Nage forcée). Ses effets se manifestent principalement par une perte de la mémoire et des troubles dans l'apprentissage mis en évidence au Plus maze (EPM) chez le lot subissant un stress de contention pendant une durée de 14 jours. La diminution de l'activité locomotrice chez le même lot a été montrée au test des champs ouverts (OF) et confirmée au Plus maze, alors que le Test de la nage forcée a provoqué une augmentation du temps d'immobilité au détriment du temps de nage et du temps d'escalade, ce qui montre l'état de désespoir des rats après les 14 jours du SC. La mémoire spatiale a aussi été altérée par le SC, les animaux de ce lot ayant montré un temps de latence et un indice de rétention différent par rapport au Témoin, ce qui implique une dégradation de l'état des rats de ce lot. De même, l'apprentissage a été perturbé par le stress de contention, les animaux stressés présentant une distance parcourue plus élevée et un temps passé dans le quadrant cible plus faible.

Des troubles cognitifs sont souvent observés dans la dépression, en même temps qu'une mauvaise humeur, une anhédonie et d'autres symptômes cliniques. Des dysfonctionnements cholinergiques peuvent expliquer l'apparition de symptômes cognitifs au cours de la dépression.

Les changements dans la neurogénèse hippocampique, souvent associés à un stress chronique dans les modèles animaux, peuvent être en partie médiés par un dysfonctionnement cholinergique, ce qui pourrait à son tour sous-tendre des troubles cognitifs observés dans la dépression (Dagyté, 2011).

La cyclosporine est un médicament immunosuppresseur utilisé principalement dans les rejets de greffes, a été utilisée dans notre étude comme molécule de réparation au stress de contention. D'après Fujisaki, (2003), la Cyclosporine peut avoir un effet, antidépresseur, et il est intéressant de noter que le stress peut détériorer la barrière hémato-encéphalique (BHE), et le stress de contention peut augmenter la perméabilité de cette BHE. La Cyclosporine, quand elle est injectée seule, peut avoir un effet sur le cerveau, et nous suggérons qu'à plus faible dose, la Cyclosporine peut pénétrer dans le cerveau à travers une BHE dégradée par un état de stress et par l'influence de neurotransmetteurs. Il est aussi possible d'affirmer que la cyclosporine cause la suppression de l'IL1 et l'IL2 et du TNF alpha dans le système nerveux périphérique et prévient la diminution de la 5HT et de la norépinephrine (NE) qui sont la cause de la dépression. Ainsi, la Cyclosporine agit comme un antidépresseur dans les tests comportementaux, et peut aussi réguler le contenu des monoamines dans le cerveau des rats soumis à un stress (Fujisaki, 2003).

Ces effets antidépresseurs de la Cyclosporine ont été observés durant ce travail, puisqu'il a été observé un effet réparateur au niveau du test de la nage forcée, où le temps d'immobilité est plus faible chez le lot SC + Cyc que chez le lot SC seul et il en est de même pour le temps de nage qui est augmenté chez le lot SC + Cyc, ce qui montre que l'activité locomotrice est plus importante que chez les rats stressés. Le temps de nage étant plus élevé au détriment de l'escalade et de l'immobilité, la voie noradrénergique est privilégiée dans ce cas. De plus, la Cyclosporine montre à l'Open field un Temps passé au centre, une distance parcourue et un nombre de redressements plus élevés que pour les rats soumis à un stress de contention. Ceci témoigne d'une activité locomotrice et une activité exploratrice importantes dues à l'effet de la Cyclosporine.

Dans le même contexte, le Plus maze indique un effet réparateur de la Cyclosporine après des dégradations due au stress de contention, visibles dans le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts, signe d'un état d'anxiété très faible, les bras ouverts étant un lieu anxiogène du dispositif où les rats pénètrent et se déplacent sans problème. Le temps d'immobilité diminue aussi, signe d'une anxiété faible.

Nos résultats montrent que le poids des organes subit aussi des variations importantes en fonction de l'application du stress de contention et/ou du traitement à la Cyclosporine. En effet, le poids du thymus augmente chez le lot stressé et diminue de façon très importante quand les rats subissent des injections de Cyclosporine. Les glucocorticoïdes sont immunosuppresseurs, ils réduisent la taille du thymus et abaissent le nombre de lymphocytes T4 et T8 en induisant leur apoptose ou mort programmée précoce. L'activité nyctémérale du système immunitaire est associée à une synchronisation inverse des concentrations plasmatiques de cortisol (Eicher et al., 2004). La réponse inflammatoire est une réponse innée non spécifique qui a pour objet d'attirer les molécules sériques et les cellules du système immunitaire vers un site lésé, afin d'éliminer les pathogènes éventuellement présents et d'initier la cicatrisation.

Dès que l'inflammation locale atteint une certaine importance, les cytokines inflammatoires produites par les macrophages et les polynucléaires passent dans la circulation sanguine et activent le système nerveux central. Elles induisent alors un comportement de maladie et activent l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien.

Le poids du cerveau augmente aussi de manière hautement significative chez le lot SC et SC + Cyc, de même que le poids des surrénales augmente aussi chez le lot SC + Cyc, ce qui témoigne d'une importante activité de la glande. La libération de cortisol par les glandes surrénales effectue un rétrocontrôle négatif sur la réponse inflammatoire. Une réponse harmonieuse suppose un équilibre réussi entre les cytokines inflammatoires et les facteurs chargés d'en limiter la production et l'action (glucocorticoïdes et cytokines anti inflammatoires). Dans le cas contraire, par des mécanismes d'auto-entretien et d'amplification, la réponse inflammatoire s'accroît et peut entraîner un état pathologique (Eicher et al., 2004).

Selon Kubera (2011), la dépression induite par un stress de type comportemental est associée à une augmentation de l'interleukine-IL1 β , du facteur de nécrose tumorale α - (TNF α), de l'IL-6, du facteur nucléaire KB, et de la peroxydation des lipides. Elle est aussi accompagnée d'effets antineurogeniques, réduit les niveaux du facteur brain-derived neurotrophiques (BDNF), et l'apoptose. L'inflammation induite par le stress a augmenté l'IL-1 β , mais ne réduit pas la neurogénèse, et elle est suffisante pour causer la dépression. Les antidépresseurs réduisent les voies inflammatoires centrales et périphériques en diminuant les niveaux d'IL-1 β , TNF et IL-6, d'une part, et d'autre part ils stimulent la différenciation neuronale, la plasticité synaptique, la croissance axonale et la régénération par les effets stimulants sur l'expression de différents facteurs neurotrophiques, le récepteur du facteur neurotrophiques dérivé du cerveau, et enfin, ils atténuent l'apoptose (Kubera, 2011).

Cependant, les enquêtes sur les effets de la Cyclosporine sur le tissu neuronal ont souvent été contradictoires, probablement parce que la barrière hémato-encéphalique BHE est pratiquement imperméable à la Cyclosporine (Uchino et al., 1998). Outre son activité immunosuppressive / anti-inflammatoire, la Cyclosporine peut protéger les tissus endommagés de la peroxydation lipidique (LP) par les radicaux libres (Diaz-Ruiz et al., 1999).

Ainsi, les facteurs de stress externes peuvent provoquer des comportements dépression-like grâce à l'activation de mécanismes inflammatoires, le stress oxydatif, les mécanismes apoptotiques et antineurogeniques. L'efficacité clinique des antidépresseurs peut être attribuée à leur capacité à inverser ces différentes voies.

Conclusion

Durant ce travail, nous avons étudié les effets d'un stress de contention sur des rats Wistar, et nous avons observé son effet au niveau du comportement grâce à une batterie de test comme la Nage forcée, le Test des champs ouverts, le Labyrinthe en croix surélevé. Nous avons d'autre part étudié son effet sur le poids corporel et la variation du poids des organes.

Le deuxième volet de cette expérimentation a été de vérifier l'effet réparateur d'un médicament immunosuppresseur, la Cyclosporine, sur les modifications comportementales, neuroendocriniennes, immunitaires et histologiques dues au stress de contention. Il a été observé une diminution de la locomotion et de l'activité exploratrice et une baisse de la cognition et de la mémoire des rats aux tests de l'Open Field, de la Nage forcée, et du Plus maze, une diminution du poids corporel et une modification du poids de certains organes comme le thymus, les glandes surrénales et le cerveau. Le traitement à la cyclosporine a eu des effets réparateurs sur une grande partie des paramètres étudiés, notamment l'anxiété, la locomotion et l'activité exploratrice.

Un complément de travail serait souhaitable pour parfaire cette étude, en particulier la FNS, des dosages biochimiques et hormonaux, la réalisation de coupes histologiques des organes prélevés, et la possibilité de travailler sur un nombre plus important d'individus.

Références bibliographiques

Anglade F., Christin D., Marchaland C., Trouiller G., Baudoin C., Chapouthier G., 1993. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3. Sciences de la vie. 316(6) : 603-606.

Belda X., Fuentes S., Nadal R., Armario A., 2008. A single exposure to immobilization causes long-lasting pituitary-adrenal and behavioral sensitization to mild stressors. *Hormones and Behavior*. 54: 654–661.

Brown E.S., Rush A.J., McEwen B.S., 1999. Hippocampal remodeling and damage by corticosteroids: implications for mood disorders. *Neuropsychopharmacology*. 21: 474–84.

Dagyté G., Den Boerb J.A., Trentani A., 2011. The cholinergic system and depression *Behavioural Brain Research*. 221: 574–582.

Diaz-Ruiza A. , Riosc C., Duarte I., Corread D., Guizar-Sahaguna G., Grijalva I., Ibarra A., 1999. Cyclosporin-A inhibits lipid peroxidation after spinal cord injury in rats. *Neuroscience Letters*. 266: 61-64.

Eicher S.D., McMunn K.A., Hammon H.M., Donkin S.S., 2004. Toll-like receptors 2 and 4 and acute phase cytokine gene expression in dexamethasone and growth hormone treated calves. *Vet. Immun. Immunopathol*. 98: 115-125.

Fujisaki C., Utsuyama M., Kuroda Y., Watanabe A., Seidler H., Watanabe S., Kitagawa M., Hirokawa K., 2003. An immunosuppressive drug, cyclosporine-A acts like antidepressant for rats under unpredictable chronic stress. *J. Med. Dent. Sci*. 50: 93-100.

Hall C.S., 1934. Emotional behavior in the rat. 1. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*. 18: 382-403.

Hall C.S., 1938. Emotional behavior in the rat. 3. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J. Comp. Psychol*. 22: 345-352.

Joo Y., Choi K.M., Lee Y.H., Kim G., Lee D.H., Roh G.S., Kang S.S., Cho G.J., Choi W.S., Kim H.J., 2009. Chronic immobilization stress induces anxiety- and depression-like behaviors and decreases transthyretin in the mouse cortex. *Neuroscience Letters*. 461: 121–125.

Kanitz E., Tuchscherer M., Puppe B., Tuchscherer A., Stabenow B., 2004. Consequences of repeated early isolation in domestic piglets (*Sus scrofa*) on their behavioral, neuroendocrine, and immunological responses. *Brain Behav. Immun.* 18(1): 35-45.

Kubera M., Obuchowicz E., Goehler L., Brzeszcz J., Maes M., 2011. In animal models, psychosocial stress-induced (neuro) inflammation, apoptosis and reduced neurogenesis are associated to the onset of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.* 35: 744-759

Lister R.G., 1987.The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology.* 92(2): 180-5.

Morris R.G.M., 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation.* 12: 239-260.

Pellow, C.P., File, S.E., Briley, M., (1985).Validation of open: closed arm entries in Elevated plus maze as a measures of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 14 :149.

Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M., 1977. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 266: 730 –732.

Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M (1978): Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 47: 379-391

Porsolt RD, Bertin A, Blavet N, Deniel M, Jalfre M.,1979. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Eur J Pharmacol* 57:201-210

Uchino H., Elmerb E., Uchino K., Lib P.A., He Q.P., Smith M.L., Siesjo B.K., 1998. Amelioration by cyclosporin A of brain damage in transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Research.* 812: 216-226.

Ulloa J.L., Castañeda P., Berríos C., Díaz-Veliz G., Mora S., Bravo J.A., Araneda K., Menares C., Morales P., Fiedler J.L., 2010. Comparison of the antidepressant sertraline on differential depression-like behaviors elicited by restraint stress and repeated corticosterone administration. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 97 : 213-221.

**ETUDE DE L'EFFET ANTIDIABETIQUE DE LA COMBINAISON DE
TRAITEMENT DU GLIMEPIRIDE ET L'EXTRAIT DE ZYGOPHYLLUM
CORNUTUM COSS SUR DES RATS DIABETIQUES A L4ALLOXANE**

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

OUAZOUAZ M. ^(*), DERRADJ M. ^(*) & HENCHIRI C. ^(*)

^(*) *Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie Appliquées, Université Badji- Mokhtar
Annaba, Algérie.*

E-mail 1 : meryouazouaz@gmail.com

E-mail 2 : meriem.derradj@gmail.com

E-mail 3 : CHERIFA_HENCHIRI@yahoo.fr

RESUME

Introduction:

L'utilisation de la médecine complémentaire est devenue indispensable pour de nombreux patients diabétiques. Afin d'évaluer son efficacité thérapeutique, on a étudié l'effet antidiabétique d'une combinaison d'une plante médicinale, *Zygophyllum cornutum Coss*, avec un médicament générique de glimépiride sur des rats diabétiques à l'Alloxane.

Matériel et Méthodes:

Les animaux ont été répartis en groupes : les témoins sains et le groupe diabétique, ce dernier a subi une injection intrapéritonéale unique de 150mg/kg p.c. d'Alloxane. Les rats avec un taux de glucose >300 mg/dl ont été subdivisés en quatre lots: lot témoin diabétique, lot traité par 2 mg/jour du générique, lot traité par 80 mg/jour de l'extrait de la plante, le dernier lot traité par la combinaison générique- extrait de plante: soient 2mg/jour du générique le matin et le soir par 80mg/jour de l'extrait de plante ; le traitement a duré un mois.

Résultats et Discussion:

La supplémentation du générique avec la plante posséderait un effet antihyperglycémiant, car on a observé une baisse non négligeable de la glycémie, avant et après sacrifice, chez les rats diabétiques traités par l'association comparés au lot diabétique témoin et aux lots traités par l'extrait et le générique seuls. Une diminution des triglycérides et cholestérol total a été également observée chez les rats traités par la combinaison, plus importante que celle obtenue chez les diabétiques témoins et les lots qui ont subi une monothérapie. Ces traitements ont entraîné une baisse des LDLc (mauvais cholestérol) et une hausse des HDLc (bon cholestérol).

Mots clés : *Zygophyllum cornutum Coss – diabète expérimental – Glimépiride – Plantes*

Le diabète de type 2 est une maladie chronique très répandue, son traitement est l'un des principaux défis du 21^{ème} siècle en termes de santé et de développement; Selon l'OMS, le diabète a atteint des niveaux critiques, chaque année, pas moins de quatre millions de personnes meurent du diabète, et quelque dix millions d'autres souffrent de handicaps et de complications potentiellement mortelles [1]. L'objectif du traitement est de cibler un contrôle glycémique par le maintien d'une hémoglobine Glyquée (HbA1c) le plus près possible des valeurs normales en évitant des hypoglycémies.

En Algérie et dans la majorité des pays, l'utilisation de plantes médicinales est une pratique très courante ; elle est considérée comme une stratégie thérapeutique plus sûre et moins coûteuse pour le traitement de diverses maladies chroniques en particulier le diabète [2].

L'utilisation de plantes médicinales pour le traitement du diabète est connue depuis longtemps ; il existe une abondante littérature sur les plantes antidiabétiques, mais il est très rare d'isoler et de caractériser un composé antidiabétique à partir de ces plantes [3, 4].

Bien qu'un excès de travaux est réalisé pour la détermination du potentiel antidiabétique de ces plantes, les études systémiques n'ont pas été effectuées pour leurs effets comparatifs et complémentaires avec des médicaments antidiabétiques standards commercialisés.

La médecine complémentaire est devenue indispensable pour de nombreux patients diabétiques. Afin d'évaluer son efficacité thérapeutique, l'objectif principal de cette étude est d'explorer l'effet antidiabétique d'une combinaison d'un extrait de plante médicinale, *Zygothymum cornutum* Coss, avec un médicament générique de glimépiride sur des rats diabétiques à l'Alloxane.

Matériel et méthodes

1. Produits pharmaceutiques

Dans cette étude, nous avons utilisé un générique de la molécule Glimépiride fabriqué dans une industrie nationale algérienne.

2. Matériel végétal

La plante «*Zygothymum cornutum* Coss» utilisée dans ce travail a été cueilli au mois de Mars 2011 dans la wilaya de Biskra.

2.1 Présentation de l'espèce

Zygothymum cornutum Coss, de la famille des Zygothymaceae, nom vernaculaire : Bougriba- Agga - Agaya. [5, 6].

C'est un arbrisseau vivace de terrains salés, endémique dans les régions présahariennes et les hauts plateaux. Il pousse en buissons ramifiés, possède des feuilles composées par deux folioles cylindriques et charnues de même couleur que les rameaux.

A l'aisselle des feuilles naissent de très petites fleurs blanches à cinq pétales. Les fruits composés de cinq segments cornus au sommet, prennent une coloration ocre-violacé à maturation. Certaines variétés ont des fruits assez gros de couleur violacée et à segments recourbés au sommet, comme des crochets (**Fig.1**) [6].



Fig.1: Photos prises de la plante *Zygodhymallium cornutum* Coss.

2.2 Préparation de l'extrait

Après récolte et sélection des parties aériennes ; celles-ci sont lavées, séchées dans l'étuve puis broyées et conservées à l'abri de l'humidité dans des boîtes hermétiques jusqu'au moment de leur utilisation.

L'extrait aqueux est préparé par décoction de la poudre de la plante pendant 10 min ; la dose administrée est calculée par rapport au poids corporels des rats et correspond à une dose de 80 mg/jour.

3. Matériel biologique

Des rats Wistar albinos, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, pesant entre 180 et 200 g ont été utilisés dans cette étude. Ils ont été séparés et répartis en lots de 6 rats par cage ayant un accès ad libitum à l'eau et à un régime standard pour rat (UAB: Unité d'Aliment de Bétail. Bejaia). Ils sont maintenus dans des conditions de luminosité et de température ambiantes et d'hygiène rigoureuse, pendant quelques jours pour l'acclimatation. Les expérimentations ont été réalisées selon les directives du Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [7].

4. Etude biologique

Nous avons évalué les effets antidiabétiques du générique seul et de l'extrait seul, comparé à une combinaison générique plus un extrait de *Zygophyllum*, sur des rats Wistar albinos, rendus diabétiques à l'alloxane.

3.1. Induction du diabète

Les rats ont été traités par injection intrapéritonéale de 150 mg/kg de poids corporel d'alloxane [8].

Pour s'assurer de l'installation du diabète, nous avons mesuré les glycémies des rats après 72 heures de l'injection d'alloxane; les rats présentant une glycémie supérieure à 300 mg/dl sont considérés comme diabétiques et sont retenus pour la suite de l'étude [9].

3.2. Protocole expérimental et traitement des animaux

Les rats ont été repartis en 5 lots de 6 rats selon le Tableau I.

Tableau I : Protocole expérimental

Lots	Caractéristiques
TS	Lot témoin sain, les rats reçoivent de l'eau dans les mêmes conditions que les autres lots.
DNT	Témoins diabétiques non traités, les rats reçoivent de l'eau dans les mêmes conditions que les autres lots.
2mg-G	Diabétiques traités par le générique dans l'eau à raison de 2 mg/jour .
80 mg-Plt	Diabétiques traités par 80 mg/jour de l'extrait aqueux de la plante.
2mg-G+ 80mg-Plt	Diabétiques traités par une dose matinale du générique à raison de 2 mg/jour et une dose de 80 mg/jour de l'extrait aqueux de la plante.

Les doses choisies : 2 mg/jour pour le générique est préconisée pour l'homme [10]; 80 mg/jour pour l'extrait de plante est une dose utilisée localement par les diabétiques, elle correspond au poids d'une cuillère à café de poudre. Les doses administrées aux rats sont calculées par rapport à leurs poids corporels. Les traitements ont été administrés quotidiennement aux rats par voie orale, à raison d'une dose unique, pendant 30 jours. Les rats ont été pesés et leurs glycémies ont été mesurées à l'aide d'un glucomètre Accu-check tous les trois jours, pendant toute la période du traitement.

4.3. Dosage des paramètres biochimiques

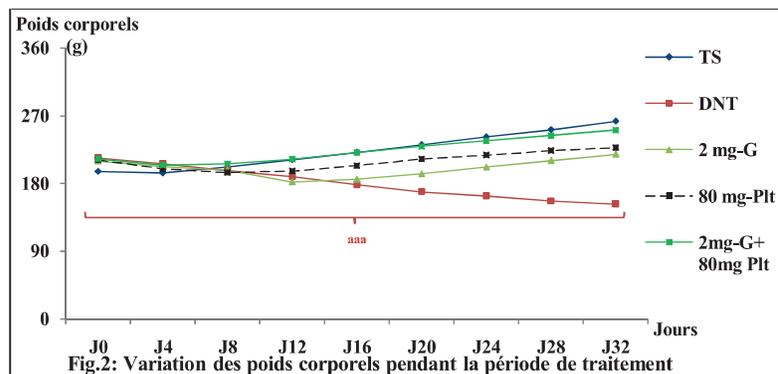
Après sacrifice par décapitation des rats à jeun, le sang est immédiatement recueilli dans des tubes polyéthylènes étiquetés. Après centrifugation, le sérum obtenu servira aux dosages de la glycémie et du profil lipidique. Les dosages ont été effectués par spectrophotométrie selon les fiches techniques des Kits SpinReact.

5. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été présentés sous forme de moyennes plus ou moins l'écart type (Moy±SE). L'analyse statistique des données a été réalisée par l'analyse de la variance suivie par le test de Tukey pour les comparaisons deux à deux et Dunnet pour les comparaisons avec un contrôle en utilisant MINITAB (version 16). Les différences sont considérées comme: Significative lorsque $P \leq 0,05$; Hautement significative lorsque $P \leq 0,01$; Très hautement significative lorsque $P \leq 0,001$.

Résultats et discussion

1. Evaluation des poids corporels



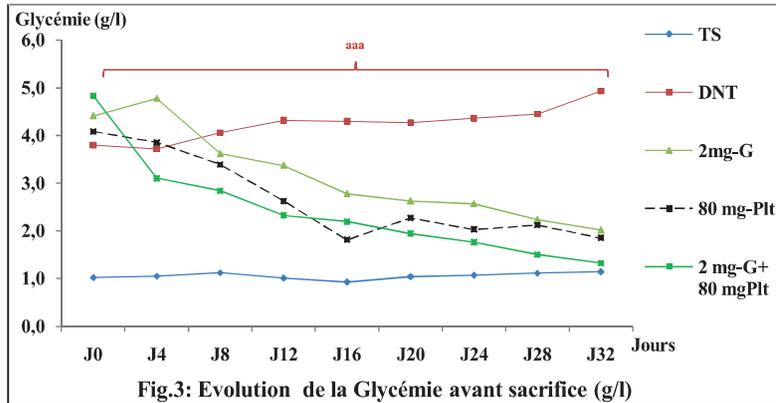
Vs TS: ^{aaa} ($P \leq 0,001$) différence très hautement significative

D'après les résultats obtenus (Fig.2), on remarque une augmentation des poids corporels des rats témoins sains (TS) qui serait liée à la croissance normale des animaux, ainsi qu'une chute des poids des rats du lot diabétique non traité (DNT) qui serait liée aux troubles métaboliques dus au diabète. L'absence d'insuline activerait la lipolyse au niveau du tissu adipeux et entraînerait un amaigrissement [11]; de plus, ces animaux n'ont pas reçu de traitement.

Une augmentation des poids des lots diabétiques ayant reçu les différents traitements, a été observée; cependant elle demeure inférieure à celle observée chez les rats témoins sains, TS. Ceci suggérerait que ces traitements ont exercé un léger effet sur l'activité insulinaire du pancréas, entraînant une légère lipogenèse, ce qui a permis cette récupération des poids corporels; ce gain de poids est du aussi en partie à la croissance normale des rats.

Le lot traité par le mélange, générique et extrait aqueux de la plante (*Z. cornutum* Coss), a donné un résultat meilleur, proche de celui des témoins sains.

2. Evaluation des glycémies à jeun avant sacrifice



Vs TS: ^{aaa} ($P \leq 0,001$) différence très hautement significative

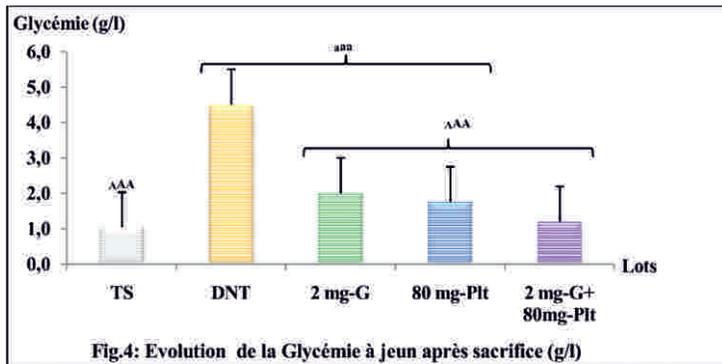
Les mesures des glycémies à jeun (Fig.3) montrent que le lot diabétique non traité présente une augmentation très hautement significative de la glycémie (29,74%) pendant la période de traitement; ce qui serait liée à l'effet toxique de l'alloxane sur les cellules β pancréatiques [12], à la maladie et à la non prise en charge des rats [11].

Les lots diabétiques traités par la dose 2 mg/jour montrent des diminutions de glycémies significatives (54,20% pour le générique et 59,98 % pour l'extrait de plante seul) comparés aux diabétiques non traités.

La combinaison du générique à raison de 2 mg/jour avec l'extrait aqueux de *Z. cornutum* Coss à la dose de 80 mg/jour, a entraîné une baisse des glycémies de 72,67%; cette baisse est significative comparée aux traitements par le médicament et l'extrait pris séparément, alors qu'elle est très hautement significative par rapport au lot diabétique non traité, DNT.

Ce résultat est en accord avec celui de Yadav et collaborateurs qui ont montré que la combinaison de plusieurs extraits de plantes avec le glimépiride réduit la glycémie chez des animaux diabétiques en évitant les doses élevées du médicament [13].

3. Evaluation de la glycémie après sacrifice



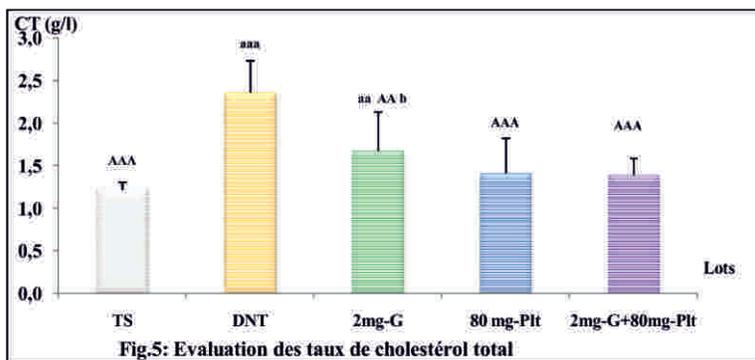
Vs TS: ^{aaa} ($P \leq 0,001$); Vs DNT: ^{AAA} ($P \leq 0,001$).

Les résultats montrent un taux élevé de glycémie chez les contrôles diabétiques par rapport aux témoins sains, ce qui pourrait être la conséquence du diabète [14] (Fig.4). En revanche, les différents traitements ont entraîné une diminution de la glycémie, avec une différence très hautement significative chez les lots diabétiques traités comparés au lot diabétique non traité (DNT).

Seule la combinaison médicament-extrait de plante a donné un effet antihyperglycémiant supérieur à celui des lots traités par le générique et l'extrait seuls; la glycémie observée pour ce lot est proche de celle des TS [13]. Ce résultat a été aussi obtenu avec la glycémie avant sacrifice.

4. Evaluation du profil lipidique

- Cholestérol total



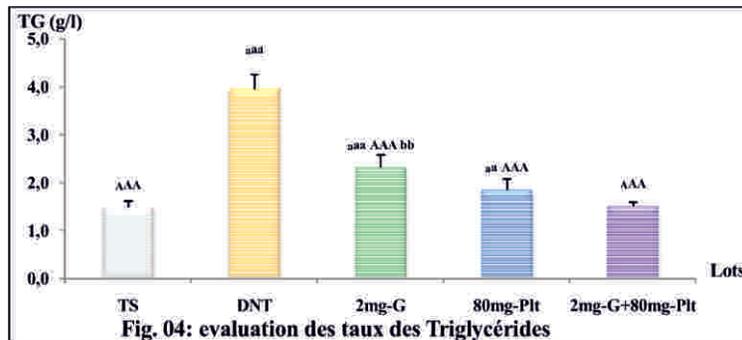
Vs TS: ^{aa} ($P \leq 0,01$), ^{aaa} ($P \leq 0,001$); Vs DNT: ^{AA} ($P \leq 0,01$), ^{AAA} ($P \leq 0,001$); 2mg-G Vs 80mg-Plt: ^b ($P \leq 0,05$)

D'après les résultats montrés sur la figure 5, des taux très élevés en cholestérol total chez les rats DNT ont été constatés, comparés à ceux des témoins sains.

Par contre, le lot traité par le générique montre des taux plus faibles que le lot DNT avec une différence hautement significative ; ce résultat pourrait être expliqué par l'amélioration du profil lipidique suite au traitement par le glimépiride [15].

Le meilleur résultat a été obtenu chez les rats traités par la plante seule ainsi que la combinaison plante –générique.

- Triglycérides



Vs TS: ^{aa} ($P \leq 0,01$), ^{aaa} ($P \leq 0,001$); Vs DNT: ^{AA} ($P \leq 0,01$), ^{AAA} ($P \leq 0,001$); 2mg-G Vs 80mg-Plt: ^{bb} ($P \leq 0,01$)

D'après les résultats, on a noté une augmentation très hautement significative de la concentration des TG chez le lot DNT par rapport au lot TS, ce qui serait liée à l'insulinodéficience responsable d'une lipolyse au niveau du tissu adipeux [16].

Chez le lot traité par le générique seul, le taux des TG est réduit, montrant ainsi un effet hypolipémiant du Glimépiride [15, 17]. Le traitement par l'extrait seul a donné un résultat meilleur que celui du médicament seul. Mais ces baisses restent inférieures aux triglycérides des témoins sains.

On a également observé un taux réduit de TG chez le lot traité par la combinaison générique-extrait de la plante, proche de celui des témoins sains, ce résultat a déjà été obtenu précédemment avec la glycémie.

- LDLc et HDLc

La concentration des LDLc a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{LDLc} = \text{TC} - ((\text{TG}/5) \text{ HDLc}) \text{ [18].}$$

Les résultats sont montrés sur le **Tableau II**.

Tableau II: Résultats des dosages des paramètres lipidiques

Paramètres	LDLc (g/l)	HDLc (g/l)
Groupes		
TS	0,81 ± 0,16	1,36 ± 0,28
DNT	1,41 ± 0,62	0,90 ± 0,18
2mg-G	1,26 ± 0,47	1,27 ± 0,32
80mg-Plt	0,90 ± 0,39	1,30 ± 0,33
2mg-G+ 80mg-Plt	0,87 ± 0,25	1,83 ± 0,14

Vs TS: ^a (P≤0,05), ^{aa} (P≤0,01); Vs DNT: ^A (P≤0,05), ^{AA} (P≤0,01); 2mg-G Vs 80mg-Plt: ^b (P≤0,05); 2mg-G+ 80mg-Plt Vs 80mg-Plt: ^B (P≤0,05); 2mg-G+ 80mg-Plt Vs 2mg-G: ^c (P≤0,05).

Un taux très élevé en LDLc chez le lot DNT a été constaté, comparé à celui du lot témoin sain. Par contre les lots traités par l'extrait seul ou combiné au médicament, montrent une réduction de ces taux, significative, comparés au lot DNT. Le taux le plus faible est observé chez le lot traité par la combinaison ; sa valeur est semblable à celle des TS. Ce résultat montre que les traitements ont un effet bénéfique en diminuant le taux des LDLc (mauvais cholestérol), facteurs de risque de maladies cardiovasculaires chez les diabétiques [19].

Le dosage des HDLc sériques (bon cholestérol) a révélé un taux plus faible chez le lot DNT comparé au lot TS, avec une différence hautement significative. Cette concentration chez le lot traité par le générique ainsi que l'extrait seuls est similaire à celle des TS. Comparés aux deux lots TS et DNT, le lot 2mg-G+80mg-Plt présente un taux élevé en HDLc, avec une différence hautement significative. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Araki et collaborateurs, qui ont étudié l'effet du Glimépiride sur l'augmentation des taux d' HDLc [20].

Conclusion

La combinaison du générique avec l'extrait de plante posséderait un effet antihyperglycémiant meilleur que le générique ou l'extrait seuls ; en effet, une baisse non négligeable de la glycémie a été observée avant et après sacrifice chez les rats diabétiques traités. Pour le profil lipidique, une diminution des taux de triglycérides, cholestérol total et LDLc a été également observée chez les rats traités par la combinaison plus importante que celle obtenue chez les diabétiques qui ont subi une monothérapie.

Les taux de HDLc des diabétiques traités par l'extrait et le générique seuls sont similaires à ceux des témoins sains alors que ce taux est plus élevé chez le lot traité par la combinaison.

Ces résultats suggèrent que la combinaison de traitement médicamenteux avec la phytothérapie pourrait posséder une efficacité antidiabétique à une dose donnée.

Remerciements

Cette étude a été soutenue par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRS) de l'Algérie dans le cadre du PNR (Projet Santé 2011).

Références bibliographiques

- 1 **Mbanya JC., 2010** ; Global Diabetes Plan, 2011-2021. *International Diabetes Federation*. <http://www.idf.org/global-diabetes-plan-2011-2021>. Consulté le: 26/04/2014.
- 2 **Ambady R. & Chamukuttan S., 2008**; Early diagnosis and prevention of diabetes in developing countries. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 9(3), 193–201.
- 3 **Bhat M., Zinjarde SS., Bhargava SY., Kumar AR. & Joshi BN., 2008** ; Antidiabetic Indian plants: A good source of potent amylase inhibitors. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011(2011), 1–6.
- 4 **Modak M., Dixit P., Londh J., Ghaskadbi S., Paul A. & Devasagayam T., 2007**; Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 40(3), 163–173.
- 5 **Perez CMM. & Paris R., 1958** ; Sur une nouvelle plante hypoglycémiante, le *Zygophyllum cornutum* Cosson. Mémoire présenté à l'Académie de Pharmacie. Paris.
- 6 **Baba Aissa F., 2000**; Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident. PP : 228, 252, 276.
- 7 **National Research Council, 2010**; Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition. pp: 1-248. ISBN: 0-309-15401-4.
- 8 **Matteucci E. & Giampietro O., 2008**; Proposal open for discussion: defining agreed diagnostic procedures in experimental diabetes research. *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 163–72.
- 9 **Eidi A. & Eidi M., 2009**; Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research Review*, 3, 40–44.
- 10 **VIDAL, 2010**; Glimépiride. <http://www.vidal.fr/substances/17244/glimepiride/>
Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

Consulté le : 11/04/2014.

11 Guillausseau PJ. & Laloi-Michelin M., 2003; Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Revue de Medecine Interne*, 24, 730–737.

12 Lenzen S., 2008; The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, 216–226.

13 Yadav M., Lavania A., Tomar R., Prasad GBKS, JainS. & Yadav H., 2010; Complementary and comparative study on hypoglycemic and antihyperglycemic activity of various extracts of *Eugenia jambolana* seed, *Momordica charantia* fruits, *Gymnema sylvestre*, and *Trigonella Foenum graecum* seeds in rats. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160, 2388–2400.

14 Mahato RV., Gyawali P., Raut P., Regmi P., Singh K., Pandeya DR. & Gyawali P., 2011; Association between glycaemic control and serum lipid profile in type 2 diabetic patients: Glycated haemoglobin as a dual biomarker. *Biomedical Research*, 22(3), 375–380.

15 Xu D., Zhao SP., Huang Q., Du W., Liu Y., Liu L. & Xie X., 2010; Effects of Glimpiride on metabolic parameters and cardiovascular risk factors in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 88, 71–75.

16 Rigalleau V., Lang J. & Gin H., 2007 ; Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition*. [10-366-D-10].

17 Draeger E., 1995; Clinical profile of Glimpiride. *Diabetes Research and Clinical Practice Supplement*, 28, S139–S146.

18 Friedewald WT., Levy RI. & Fredrickson DS., 1972; Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18, 499–502.

19 American Diabetes Association, 2000; Management of dyslipidemia in adults with diabetes. *Diabetes Care*, 23(Suppl 1), S57–S60.

20 Araki T., Emoto M., Konishi T., Ikuno Y., Lee E., Teramura M, Motoyama K., Yokoyama H., Mori K., Koyama H., Shoji T. & Nishizawa Y. 2009; Glimpiride increases high density lipoprotein cholesterol via increasing adiponectin levels in types 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 58,143–148.

BIOLOGICAL-ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM LOCAL MEDICAL PLANTS: *CLEMATIS FLAMMULA FRAXINUS ANGUSTIFOLIA AND PISTACIA LENTISCUS*.

ATMANI.D¹, AYOUNI.K¹, BERBOUCHA.M¹, Dina ATMANI.D¹, Mohand Zine AIT MEZIANE.M.Z², SAIDENE.N¹

¹Laboratory of Applied Biochemistry, Faculty of Life and Nature Sciences, University of Bejaia 06000 Algeria

²National Institute of Agronomic Research (INRA), Oued Ghir, Bejaia 06000 Algeria

Abstract

Oxidative stress is thought to be responsible for many pathologies. The objective of this study was to examine the hepato-protective, anti-inflammatory and hypo-uricemic activities of three medicinal plants: *P. lentiscus*, *F. angustifolia* and *C. flammula* used in traditional Algerian medicine.

The hepato-protective effect of the plant extracts was estimated by the analysis of histological sections of mice livers, while the anti-inflammatory activity was evaluated by the carrageenan-induced paw edema model. The hypo-uricemic potential was evaluated by the quantification of serum uric acid and the inhibition of hepatic xanthine oxidoreductase (XDH/XO) activity.

Histological analysis indicated that the hepato-protective effect was significant after treatment with *F. angustifolia* and *P. lentiscus* leaves extracts (50mg/kg). Ethanollic leaf extracts of *F. angustifolia* (200mg/Kg) and aqueous of chloroform of *C. flammula* (200mg/Kg) exhibited an interesting anti-inflammatory effect, comparable to that of diclofenac (50mg/Kg).

Obtained results contribute to validate the therapeutic effects of tested medicinal plants which can be considered as a source of new drugs of therapeutic value.

Key words: Anti-inflammatory, hypouricemic, diuretic, xanthine oxidoreductase.

1. Introduction

Oxidative stress is implicated in many diseases such as inflammation, liver disorders and gout. Inflammation is a complex process involving many neurobiological mechanisms and humoral systems (Monassier, 2005). Prostaglandins (PGs), synthesized by cyclooxygenases are lipid mediators that participate in the genesis and maintenance of inflammation. Their inhibition by nonsteroid anti-inflammatory drugs (NSAID) are often associated with severe adverse effects, the most common being gastrointestinal bleeding (Fung and Kirschenbaum, 1999). Free radicals produced by macrophages and neutrophils can aggravate the inflammatory reaction by stimulating the production of cytokines. Thus, it is argued that eradication of these free radicals can help to combat inflammation.

Gout is an inflammatory-associated disease characterized by hyperuricemia (Rasaratnam and Christophidis 1995). Xanthine oxidase is also a pro-inflammatory enzyme that produces free radicals in arthritic joints.

The inhibition of xanthine oxidase can therefore alleviate the symptoms of both gout and rheumatoid arthritis by reducing the production of uric acid and free radicals, respectively. Allopurinol is the classical drug given to patients suffering from gout. However, despite the efficiency of this drug, it might be highly toxic. Liver disorders are closely associated to lipid peroxidation and can be fatal if not treated. Nowadays, it is widely accepted that the beneficial effects of natural remedies are closely associated to their antioxidant character.

Medicinal plants are commonly used in traditional medicine in Algeria against rheumatoid arthritis and superficial burns (*Clematis flammula*), for the treatment of throat infections, diarrhea and jaundice (*Pistacia lentiscus*) and against rheumatism, inflammation and as a laxative (*Fraxinus angustifolia*). In addition, the plants are known for their diuretic properties (Beloued, 1998; Lahsissen et al., 2009). It has been proven that extracts derived from these plants are potent free radical scavengers, prevent lipid peroxidation *in vitro* (Atmani et al., 2009) and are strong inhibitors of xanthine oxidase *in vitro* (Berboucha et al., 2010). However, since the biological activities of medicinal plants depend on their absorption and metabolism by the body, animal experimentation should be carried out to validate their medicinal virtues. This study was therefore undertaken to investigate *in vivo* the hepatoprotective, anti-inflammatory, diuretic and hypouricemic potentials of extracts from the three plants.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material and extraction

Leaves of *Pistacia lentiscus* and *Fraxinus angustifolia* were collected in early summer, those of *Clematis flammula* in spring, stem bark of *Fraxinus angustifolia* in autumn and fruits of *Pistacia lentiscus* in winter. Plants were identified in the department of Botany, university of Bejaia, Algeria. Plant parts were shade-dried and ground to a fine powder (63 μ m) and further subjected to a multi-solvent extraction procedure (Atmani et al., 2009) to obtain of the desired extracts.

2.2. Effect of plant extracts on CCl₄-induced hepatotoxicity

Animals were randomized in different groups (n=6) as follows: Group I received liquid saline: paraffin (1: 2 v/v, 1 mL/kg) only, group II CCl₄: paraffin (1: 2 v/v, 1 mL/kg) every 72 h for 7 days and groups III, IV, V and VI were administered oral doses (50 mg/kg/day) of individual plant extract and Vitamine E (50 mg/kg/day)(positive control), respectively, two hours prior to CCl₄ administration (Naskar et al., 2010). Animals were sacrificed and livers were harvested, washed in normal saline and subjected to histopathological examination under light microscopy.

2.3. Anti-inflammatory activity of plant extracts by Carrageenan-induced edema in mice

Acute inflammation was induced by subcutaneous injection of 1% carrageenan in physiological saline (0.1 mL) into the sub-plantar region of left hind paw of mice (Winter et al., 1962). Plant extracts (200 mg/kg) or Diclofenac (50 mg/kg) were administered orally 1 h prior to carrageenan injection. The inhibitory activity was calculated using the following formula:

percentage inhibition = $\frac{(C_t - C_0) \text{ control} - (C_t - C_0) \text{ treated}}{(C_t - C_0) \text{ control}} \times 100$, where C_0 and C_t are paw diameters before and after carrageenan injection, respectively.

2.4. Hyperuricemic mice and drug administration

Hyperuricemia was induced in mice by injection of potassium oxonate (250mg/kg), as previously described (Zhu et al., 2004). Experimental animal groups were given plant extracts (100, 200 and 400 mg/kg) and allopurinol (10mg/kg) orally, one hour after potassium oxonate administration, for three consecutive days. Whole blood was collected, allowed to clot at room temperature, and then centrifuged at 5000 g for 5 min. Simultaneously, livers were excised rapidly after dissection of the mice, washed in KCl (0.15%) and stored at -80°C. The serum uric acid levels were determined spectrophotometrically by a colorimetric method. The liver, on the other hand, was homogenized in 50 mM ice-cold potassium phosphate buffer (pH 7.4) and the homogenate was centrifuged at 5000g at 4°C for 15 min and the resulting supernatant was used for determination of XDH/XO activities. The XDH/XO activities were assayed by monitoring uric acid formation using a spectrophotometric method (Kong et al., 2002). Briefly, 100 µl of the liver homogenate were added to a reaction mixture containing 50 µM xanthine and 5 mM EDTA and the absorbance was recorded at 290 nm. The XDH/XO activities were expressed as nmole uric acid produced per min per mg protein. Protein concentration was determined by the Bradford (1979) method.

2.5. Statistical analysis

All data was expressed as the mean \pm S.E.M and statistical analysis was performed using Graph Pad Prism version 5.00 software. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test allowed the determination of significant difference between values at $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Hepatoprotective effect of plant extracts on CCl₄- induced hepatotoxicity

The effect of plant extracts and Vitamin E (50 mg/kg) on liver histopathology of CCl₄-treated mice are presented in Figure 1. Light microscopic study of normal liver from mice treated with saline: paraffin (1:2) (Figure 1d) showed the typical lobular architecture and normal hepatocyte cords. CCl₄ induced severe morphological and histopathological deformations in the liver (Figure 1, a,b,c), mainly lymphocytic infiltration around the central vein, sinusoidal congestion, and perivenular macrovesicular steatosis. The level of fatty degeneration, necrosis and vacuole formation were obvious after acute CCl₄ treatment. Pre-treatment with Vitamin E protected the liver against CCl₄-induced hepatic damage as observed in figure 1 (d), with remaining sinusoidal dilatation.

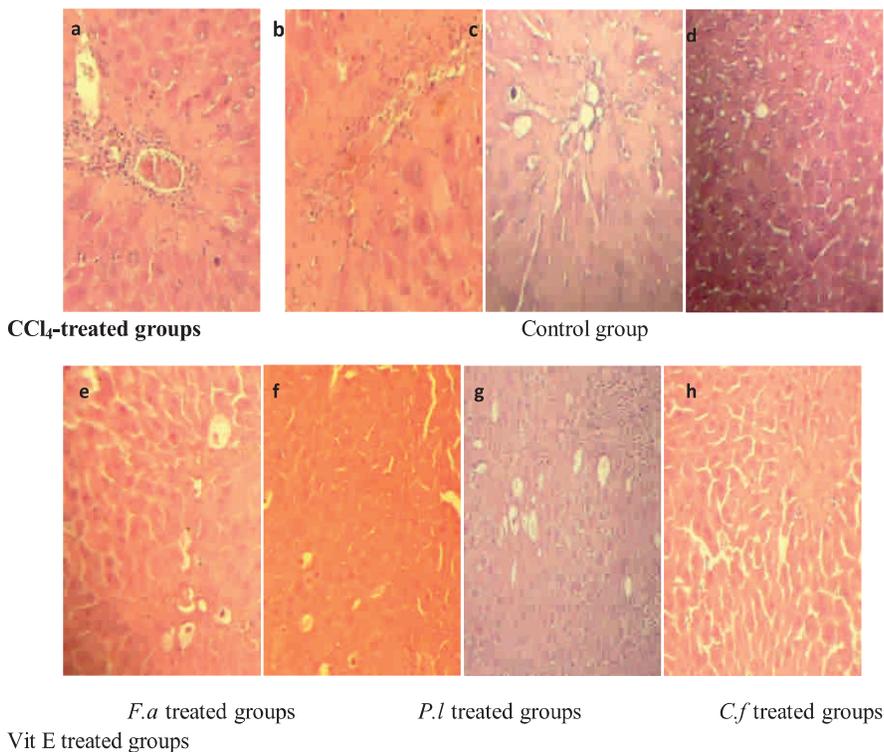


Figure 01 : Photomicrographs of liver sections from mice stained with H&E

Animals treated with ethanolic extract of *F. angustifolia* and aqueous ethyl acetate extract of *P. lentiscus* (50 mg/kg) were protected against CCl₄ effect, showing a normal tissue similar to the control group with less steatosis and inflammation. On the other hand, histological examination of animal livers treated with *C. flammula* ethanolic extract showed vacuoles of lipid acids, resulting from poor liver protection.

3.2. Anti-inflammatory activity using carrageenan-induced mice paw edema model

Ethanolic leaf extracts of *F. angustifolia* (200 mg/kg) reduced edema by 50% after 4h of carrageenan administration (Table I), followed by *P. lentiscus* (40.5%) and *C. flammula* (47%), less important than sodium diclofenac (65.31%).

Table I: Effect of *Fraxinus angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, *Clematis flammula* extracts and diclofenac in carrageenan-induced paw edema in mice.

Groups	Paw thickness at different time intervals (mm) edema inhibition (max)						
	0H	1H	2H	3H	4H	5H	24H
Control	2.31 ±0.20	3.11 ±0.22	3.2 8±0.31	3.48 ±0.19	3.70 ±0.26	3.5 8± 0,16	3.56±0.09
<i>C.Fla</i> <i>mmula</i> (200mg/kg)	2.35 ±0.045	3,08 ±0.017	3,0 9±0.03 47. 07%*	3,64 ±0.025	3,76 ±0.032	3,9 0±0.03	3,82 ±0.025
<i>F.</i> <i>angustifolia</i> (200mg/Kg)	2.37 ±0.19	2.99 ±0.32	3.0 0±0.39	3.02 ±0.41	3,06 ±0.38 47.8 1%*	3.1 9±0.29	3.21 ±0.36
<i>P.</i> <i>lentiscus</i> (200mg/Kg)	2.33 ±0.07	3.11 ±0.16	3.0 2±0.16 40. 47%*	3.07 ±0.14	3.27 ±0.06	3.3 1±0.15	3.28 ±0.16
Diclofenac (50mg/Kg)	2.41 ±0.03	2.88 ±0.30	2.7 4±0.11 65. 31%*	2.64 ±0.30	2.91 ±0.36	2.9 2±0.26	2.91 ±0.30

Each value is the mean±S.E.M. of results from 8 to 10 mice. Statistical differences from the controls were determined by ANOVA followed Dunnett's test.*p<0.05.

3.3. Effect of extracts on serum uric acid levels in hyperuricemic and normal mice

Intra-peritoneal injection of potassium oxonate (250mg/kg) caused a significant (p<0.01) increase in serum uric acid levels, compared to normal control mice. However, allopurinol (10 mg/kg), used as positive control, exhibited a remarkable reduction of serum uric acid levels in hyperuricemic mice (Figure 3).

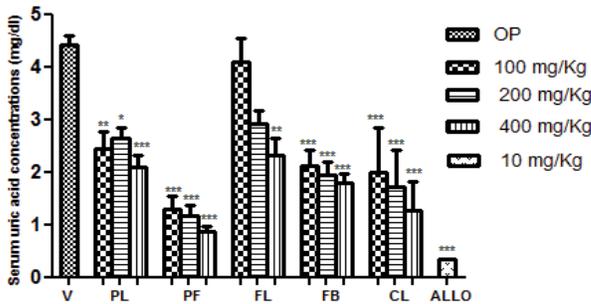


Figure 3: Effect of allopurinol (10mg/kg) and ethanolic extracts of *Pistacia lentiscus* leaves (PL) and fruits (PF), *Fraxinus angustifolia* leaves (FL) and barks (FB) and aqueous ethyl acetate of *Clematis flammula* leaves (CL) at 200mg/kg on serum urate level in hyperuricemic mice. Mean±S.E.M., n=6. *p<0.05 vs. control, **p<0.01 vs. control, ***p<0.001 vs. control.

However, in normal mice, only ethanolic extracts of *P. lentiscus* fruits, *F. angustifolia* barks and aqueous ethyl acetate of *C. flammula* exhibited a decrease in serum urate levels (Figure 4).

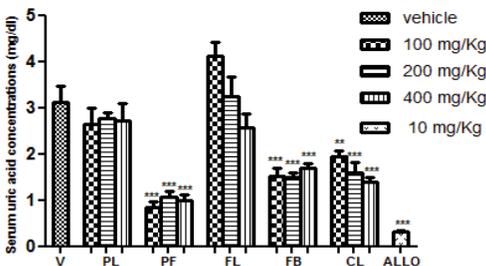


Figure 4: Effect of allopurinol (10mg/kg) and ethanolic extracts of *Pistacia lentiscus* leaves (PL) and fruits (PF), *Fraxinus angustifolia* leaves (FL) and barks (FB), and aqueous ethyl acetate of *Clematis flammula* leaves (CL) at 200mg/kg on serum urate level in normal mice. Mean±S.E.M., n=6. *p<0.05 vs. control, **p<0.01 vs. control, ***p<0.001 vs. control.

3.4. Effect of plants extract on XOD activity in mice liver

Hyperuricemia induction did not cause any appreciable changes in liver xanthine oxidoreductase activity in the control group. In contrast, allopurinol (10 mg/kg) caused a significant reduction of liver XOD ($\approx 70\%$) (Table III).

Table III: Effect of ethanolic extracts of *Pistacia lentiscus* leaves (PL) and fruits (PF), *Fraxinus angustifolia* leaves (FL) and barks (FB) and aqueous ethyl acetate of *Clematis flammula* leaves (CL) on liver xanthine oxidoreductase activities in normal and potassium oxonate (PO)-pretreated mice. Mean±S.E.M., n=6. *p<0.05 vs. control, **p<0.01 vs. control, ***p<0.001 vs. control.

Treatments	Dose (mg/kg)	D	XO (nmole/min/mg of proteins)	of	XDH (nmole/min/mg of proteins)	% Inhibition	
						O	X
PO	50	2	2.59±0.1		2.83±0.17	--	--
PO	+	2	2.18±0.0		2.40±0.07	1	1
PL EtOH	00	5*		*		5.95	5.29
PO	+	4	2.09±0.1		2.30±0.08	1	1
PL EtOH	00	0*		*		9.46	8.79
PO	+	2	2.97±0.1		3.28±0.23	--	--
PF EtOH	00	7				--	--
PO	+	4	2.88±0.2		2.82±0.16	--	--
PF EtOH	00	1				--	--
PO	+	2	1.37±0.0		1.31±0.10	3	4
FL EtOH	00	7**		***		7.15	9.42
PO	+	4	1.56±0.2		1.44±0.31	2	4
FL EtOH	00	5**		***		8.44	4.40
PO	+	2	2.39±0.0		3.75±0.25	--	--
FB EtOH	00	2				--	--
PO	+	4	2.40±0.2		2.72±0.14	--	--
FB EtOH	00	1				--	--
PO+	00	2	0.78±0.0		0.84±0.09	7	7
CL AqAE	00	7***		***		0.31	1.95
PO	+	4	1.00±0.0		1.15±0.06	6	6
CL AqAE	00	4***		***		2.07	1.71
PO+	0	1	0.62±0.1		0.60±0.10	7	7
Allopurinol	0	1***		***		1.55	6.83

Treatment with aqueous ethyl acetate of *C. flammula* inhibited xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase strongly ($\approx 60\%$); However, *P. lentiscus* leaf extracts inhibited liver XOD only slightly (20%). Fruit ethanolic extracts did not exhibit any inhibition despite the high reduction of serum urate levels, indicating that the anti-hyperuricemic effect described previously is not XOD-dependant.

4. Discussion

CCl₄-induced hepatic injury is commonly used as an experimental model to study hepatoprotective effects of various drugs or medicinal plant extracts (Zhi-Feng, 2014). The ethanolic extract of *F.angustifolia* leaves and aqueous ethyl acetate of *P.lentiscus* leaves extract showed good hepatic

protection against CCL₄-induced damage that might be due to their antioxidant and free radical scavenging activities, reported in our previous study (Atmani et al., 2009). This strong antioxidant activity is related to the presence of high amounts of phenolics compounds which are known for their antioxidant and hepatoprotective activities (Sintayehu et al., 2012).

Peak inflammatory inhibition exerted by *F.angustifolia* extract, 4 h after carrageenan injection coincides with maximum prostaglandins synthesis. The anti-inflammatory effect of this extract may be due to its possible well studied antioxidant activity (Atmani et al., 2009). *P. lentiscus* and *C. flammula* extracts were also more potent after 2h. Therefore, the similar pattern of the anti-inflammatory response shared by the extracts and diclofenac reflects a common mechanism of action through inhibition of prostaglandin synthetase (Bjarnason et al., 1993).

Oral administration of oxonate (250mg/kg) successfully induced hyperuricemia (Chen et al., 2012). Previous *in vitro* studies indicated that several flavonoids did not affect XO activity, however, significant increases and decreases in XO activities were observed *in vivo* (Huang et al., 2011).

P.lentiscus leaf ethanolic extract was able to inhibit XOR moderately at 400mg/kg consistent with our previous results regarding XOD inhibition *in vitro* (Borboucha et al., 2010). On the other hand, hypouricemic effect of aqueous ethyl acetate of *C. flammula* may be related directly to the inhibition of hepatic XOR. However *P. lentiscus* fruits and *F. angustifolia* bark extracts failed to inhibit hepatic XOR. Thus, the hypouricemic effect observed in experimental animals did not seem to parallel the change in liver XDH/XO activities, but rather involving other mechanisms such as enhanced uric acid excretion or enhanced activity of other purine-metabolizing enzymes (Enomoto and Endou, 2005; Shi et al., 2012).

Conclusion

Obtained results indicate that *Clematis flammula*, *Fraxinus angustifolia* and *Pistacia lentiscus* extracts exhibited promising anti-inflammatory and hypouricemic potential and can be used in hepatoprotection, thus validating their traditional use as antioxidants, anti-inflammatory and anti-hyperuricemic.

Acknowledgements: This work was sponsored by ATRSS (Thematic Agency for Research in Health Sciences, Algeria (Grant: PNR 72/2011/ANDRS).

References

Atmani, D., Chaher, N., Barboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112: 303–309.

Beloued A. (1998). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des Publications Universitaires (OPU), Alger, Algérie pp: 162.

Berboucha M., Ayouni K., Atmani D., Atmani Dj, Benboubetra M. (2010). Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *J. of med. food*, 13 (4): 1-9.

Bjarnason I, Hayllar J, MacPherson AJ, Russell AS. (1993). Side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. *Gastroenterology*. 104(6):1832-47.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. 72(1), 248.

Chen, L., Yin, H., Lan, Z., Shuwei, M., Zhang, S., Yang, S., Li, P and Lin, B. (2011). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china* L. *J. of Ethnopharmacol.*135: 399–405.

Dutta, S., Mariappan, G., Sarkar, D &Sarkar, P. (2010). Anti-inflammatory effect of chloroform and aqueous extracts of *AcalyphaIndicalinn*. against carrageenan induced paw edema in wistar albino rats. *J.of Herbal Med. and Toxicol.* 4 (1): 153-156.

Enomoto, A and Endou, H. (2005). Roles of organic anion transporteur (OATs) and urate transporter (URAT1) in the pathophysiology of human disease. *Clin. Exp. Nephrol.* 9: 195-205.

Ferreira, S.H. and Vane J.R. (1974). New Aspects of the Mode of Action of Nonsteroid Anti-Inflammatory Drugs. *Pharmacol. and Toxicol.* 14: 57-73

Hall, I.H., J.P. Scoville, D.J. Reynolds, R. Simlot and P. Duncan. (1990). Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. *Life Sci.* 46: 1923–1927.

Huang, J., Wang, S., Zhu, M., Chen, J., Zhu, X., (2011). Effects of Genistein, Apigenin, Quercetin, Rutin and Astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. *Food and Chemical Toxicol.* 49: 1943-1947.

Kong, D., Chen, Y., Fei, G., Wang, D and Guo, S. (2004). A chinese herbal medicine Ermiao wan reduces serum uric acid level and inhibition liver xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase in mice. *J.of Ethnopharmacol.* 93: 325-330.

Lahsissene H., Kahouadji A. 2010. Usages thérapeutiques traditionnels des plantes médicinales dans le Maroc occidental : cas de la région de Zaër, *Phytothérapie* 8: 210-217.

Monassier L. (2006). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Faculté de médecine de Strasbourg. Pharmacologie clinique* (3): 10p.

Naskar S., Islam A., Mazumder U.K., Saha N., Halder P.K., Gupta M., (2010). In vivo and in vitro Antioxydant Potentiel of Hydromethanolic Extract of *Phoenix dactylifera* Fruits. *J of Sci. Res.* 2(10): 144-157.

Rasaratnam I, Christophidis N. (1995). Gout: 'a disease of plenty'. *Aust Fam Physician*, 24: 849–851, 855–856, 859–860.

Scholer D.W. and Ku E.C. (1986). Pharmacology of diclofenac sodium. *Am. J. of Med.* 80(4): 34-38.

Shi, Y., Wanga, P., Wanga, X., LiZhang, Y., Liu, L and Wang, R. (2012). Uricosuric and nephroprotective properties of *Ramulus Mori* ethanol extract in hyperuricemic mice. *J. of Ethnopharmacol.* 143: 896–904.

Sintayehu B., Bucar F., Veeresham C., Asres K. (2012). Hepatoprotective and Free Radical Scavenging Activities of Extracts and a Major Compound Isolated from the Leaves of *Cineraria abyssinica* Sch. Bip. exA. *Rich. Pharmacognosy J.* 4 Issue 29: 40-46.

Vinegar R., Schreiber W., Hugo R., (1969). Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 166: 96-103.

Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W., 1962. Anti-inflammatory and antipyretic activities of ibdomethacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indole-3-acetic acid. *J. Pharmacol.* 141: 369–376.

Zhao, X., Zhu, S.F., Pan, Y and Kong, D. (2006). Effects of cassia oil on serum and hepatic uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *J. of Ethnopharmacol.* 103: 357–365.

Zhu, J. X., Wang, Y., Kong, L. D., Yang, C., and Zhang, X., (2004). Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *J. of Ethnopharmacol.* 93: 133-140.

EFFETS DU LYCOPÈNE SUR LE TISSU HÉPATIQUE ET CARDIAQUE CHEZ LE RAT WISTAR SOUMIS A UN RÉGIME SUPPLÉMENTÉ EN MÉTHIONINE

YEFSAH-IDRES A¹, ZENATI A², OTHMAN A² CHERIFI M³, ARAB M³, MEKHALFIA L³, OTHMANI K¹, AOUICHAT S⁴, HENEB A⁵, BENAZZOUG Y¹

Laboratoire de Biochimie & Remodelage de la Matrice extracellulaire, LBCM (FSB/USTHB), Alger (Algérie)

Laboratoire central du CHU Bab El Oued Alger (Algérie)

Laboratoire de Biologie Centrale du CHU Parnet, Alger (Algérie)

Laboratoire de Physiopathologie Cell. & Mol LBPO. (FSB/USTHB), Alger (Algérie)

Laboratoire d'anatomopathologie, CHU de Tizi-Ouzou (Algérie)

Résumé

Introduction : L'Hyperhomocystéinémie, reconnue comme facteur de risque cardiovasculaire, est une pathologie le plus souvent liée à un déficit en vitamines et/ou à une mauvaise hygiène de vie. C'est pourquoi développer une démarche thérapeutique visant à normaliser ou réduire l'homocystéine est un enjeu de santé publique.

Matériel et méthodes : Pour ce faire, des rats Wistar males sont répartis en un Lot Témoin, un lot soumis à 500 mg de méthionine /Kg de poids corporel/jour) et un lot recevant simultanément 5 mg de lycopène et 500 mg de méthionine /Kg de poids corporel/jour) pendant trois mois.

La pesée corporelle ainsi que le dosage des paramètres biochimiques telles que l'homocystéine, les lipides plasmatiques, la CRPus, le fibrinogène, les transaminases (ALAT et ASAT) sont réalisés. Au terme de l'expérimentation, nous avons procédé à une analyse histologique du tissu hépatique et cardiaque avec une attention particulière à la matrice extracellulaire (MEC).

Résultats : L'administration d'un régime supplémenté en méthionine a révélé au niveau plasmatique, une augmentation de l'homocystéinémie ($P < 0.01$), des lipides ($p < 0.01$), des transaminases ($p < 0.01$) et une diminution des HDLc. Au niveau tissulaire, nous avons noté la présence de diverses altérations touchant aussi bien les cellules que la matrice extracellulaire.

Le traitement préventif par le lycopène a réduit significativement les valeurs des paramètres biochimiques analysés et rehaussé la fraction cardioprotectrice (HDLc) ainsi qu'une amélioration des altérations tissulaires.

Conclusion : Nos résultats montrent que par une approche nutritionnelle, il est possible de diminuer le taux de l'homocystéine plasmatique et de prévenir certaines maladies liées à l'Hyperhomocystéinémie.

Mots clé : Homocystéine, lipides, lycopène, rats.

1. Introduction

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé soufre généré par le métabolisme de la méthionine (Finkelstein et Martin., 2000). L'homocystéine, est formée au niveau intracellulaire à partir de la méthionine apportée par l'alimentation. Celle-ci, est synthétisée par toutes les cellules de l'organisme. Le catabolisme de l'homocystéine se produit principalement dans le foie et dans les reins par deux voies: la voie de la reméthylation et la voie de la transsulfuration. Le plasma humain contient des quantités réduites et oxydées d'homocystéine (Mc Cully et *al.*, 1975). L'homocystéine libre ne compose que 1 à 2% de l'homocystéine totale (tHcy). Les formes oxydées d'homocystéine représentent habituellement 98–99% de l'homocystéine totale dans le plasma humain, 80-90% sont liées aux protéines (McCully et *al.*, 1975 ; Mudd et *al.*, 2000). L'homocystéine totale est donc la somme de toutes les formes d'homocystéine présentes dans le plasma ou sérum. L'élévation de l'Hcy plasmatique est maintenant reconnue comme un facteur de risque des maladies cérébrovasculaires et thrombotiques (**Welch GN, 1998 et Selhub J., 1999**). L'hyperhomocystéinémie (Hhcy) définit l'élévation anormale de la concentration plasmatique d'homocystéine. Le métabolisme par lequel cette dernière augmente le risque des maladies cardiovasculaires n'est pas complètement élucidé. Cependant, il ya une multitude d'hypothèses qui suggère que Hhcy provoque un dysfonctionnement au niveau de la circulation sanguine et altère la réponse vasomotrice de l'endothélium dépendant (Lenz S.R., 2001). En effet l'endothélium vasculaire est impliqué à la fois dans la régulation de l'homéostasie vasculaire et dans les transformations structurales des vaisseaux prenant place lors d'évolutions pathologiques. De par sa localisation, il est au contact de diverses macromolécules comme les LDL oxydées, le cholestérol ou les antioxydants, mais également des forces de cisaillement, exercées par les variations du flux sanguin ou d'étirement, liées à des modifications de la pression sanguine (Brown and Hu., 2001). Au niveau de ces cellules endothéliales, ces différents facteurs peuvent moduler la motricité vasculaire. Parmi les signes cliniques observés chez les personnes atteintes d'hyperhomocystéinémie, se retrouve le développement précoce d'une fibrose hépatique. Ainsi, il a été démontré qu'une altération du métabolisme hépatique de la méthionine était associée au développement d'une fibrose hépatique (Kinsell et *al.*, 1947), et que ce développement était liée à une augmentation du taux d'homocystéine plasmatique (Lambert et *al.*, 1997). Le comportement du tissu hépatique en cas de lésions chroniques, comme l'administration d'une dose chronique de méthionine aboutit à la formation d'une fibrose. La fibrose suit en général une nécrose hépatocytaire et l'inflammation. Elle peut se développer dans différentes zones du lobule hépatique avec, au stade avancé, la formation de ponts fibreux porto-porte ou centro-porte. La conséquence de ce processus est l'altération de l'architecture normale du foie, constituée par le lobule hépatique avec l'espace porte à sa périphérie et la veine hépatique au centre. Ainsi la matrice extracellulaire normale hépatique, qui se trouve réduite aux espaces entre les hépatocytes et les cellules endothéliales, subit des modifications qualitatives et quantitatives aboutissant à la formation du tissu fibrotique. Le dépôt de la fibrose dans le tissu hépatique n'est pas un processus statique, mais un processus dynamique avec une balance entre la synthèse de collagènes et des autres composants, et leur dégradation.

L'alimentation des méditerranéens est sensée protéger des maladies cardiovasculaires, grâce aux variétés de fruits et légumes surtout ceux de couleur rouge.

Ces derniers font partis de la famille des caroténoïdes comme le lycopène dont la capacité antioxydante est probablement la plus élevée (Di Mascio., 1989). Le lycopène est principalement présent dans les fruits et légumes rouges, comme la pastèque, les tomates, le raisin et les abricots (Rao, et Agarwal., 2000).

Il est capable de piéger l'oxygène singlet et de contrer les radicaux libres. Récemment, le stress oxydatif induit par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) est considéré comme un facteur jouant un rôle important dans l'étiologie de plusieurs maladies chroniques inclus dans les maladies cardiovasculaires (Halliwell., 1992). Les caroténoïdes empêchent la progression des dommages oxydatifs dans des systèmes biologiques, tels que les lésions des membranes cellulaires, des molécules d'ADN, des lipides, des protéines et autres structures de la cellule (Heller., 1998 ; Morris et *al.*, 1974). L'oxydation des LDL circulants qui transportent le cholestérol dans le sang, joue aussi un rôle important dans les pathologies athérosclérotiques conduisant au désordre qui initie l'attaque cardiaque et l'ischémie (Witztum., 1994 ; Parthasarathy et *al.*, 1992 et Heller., 1998).

Récemment le lycopène a reçu une attention particulière des chercheurs, car des études épidémiologiques ont montré une relation inverse entre la consommation de lycopène, sa concentration plasmatique et l'incidence des maladies cardiovasculaires (Rissanen et *al.*, 2003).

Le but de la présente étude est d'évaluer les effets du lycopène, un antioxydant naturel contenant notamment des composés bioactif, sur l'hyperhomocystéinémie et sur les marqueurs biochimiques plasmatiques, associés à la dysfonction hépatique et cardiaque avec une attention particulière au remodelage de la matrice extracellulaire (MEC) chez le rat hyperhomocystéinémique. C'est pourquoi, développer une démarche thérapeutique visant à normaliser ou réduire l'homocystéinémie est un enjeu de santé publique.

2. Matériel et méthodes

2. 1. Expérimentation animale

L'expérimentation a comporté 40 rats Wistar *Rattus norvegicus* de sexe mâle, provenant de l'Institut Pasteur d'Alger, ayant un poids corporel moyen de $152 \pm 11,20$ g en début d'expérimentation. Après une période d'adaptation de 02 semaines, ils sont répartis, dans des cages individuelles en plastique, en quatre (04) lots égaux de 10 rats chacun : un lot Témoin (Lot1ou NaCl), 02 lots d'animaux traités. Le lot 2 (Met) a reçu 500 mg de méthionine/Kg de poids corporel (500mg/kg/pc), dans de l'eau physiologique chaque jour ; un lot 3, lot Lycopène (Lyc). Ce dernier est dissout dans une solution d'huile d'olive, pour obtenir une concentration finale de 5mg. Le lot 4(Met/Lyc) a reçu simultanément 500 mg de méthionine et 5 mg de lycopène /Kg de poids corporel et enfin Notons que les rats ont accès à la nourriture et à l'eau *ad libitum*. La température de l'animalerie est maintenue constante à environ 25°C et l'éclairage est réalisé par la lumière artificiel 12h/12h

2. 2.Traitement et procédure d'analyse

Dans le cadre de ce travail, un état d'hyperhomocystéinémie est induit expérimentalement par administration *per os* d'un excès de DL-Méthionine (Sigma) dissoute dans une solution de NaCl à 0.9%. La dose journalière est de 500mg/kg de poids corporel.

Le lycopène oléorésine sous forme gélules de 10 mg est préparé fraîchement chaque jour dans de l'huile d'olive afin d'obtenir une concentration de 5mg/kg p.c. Le traitement a duré 3 mois. Les pesées sont réalisées de façon hebdomadaire en vue d'une étude de l'évolution pondérale. Pour le suivi des paramètres plasmatiques, des ponctions mensuelles sont effectuées au niveau du sinus rétro-orbital. Le sang aussitôt prélevé est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 15 minutes. Le plasma est récupéré, réparti dans des cryotubes puis conservé à -80°C pour le dosage des paramètres biochimiques plasmatiques à savoir l'homocystéine plasmatique (méthode PFIA), le profil lipidique (cholestérol, LDLc, HDLc et triglycérides, par méthode enzymatique colorimétrique), les transaminases (ASAT et ALAT par méthode enzymatique colorimétrique), de la protéine C réactive ultra sensible (CRPus) sur Cobas intégra et du fibrinogène par la méthode du crochet.

2.3. Méthodes analytiques

Après 12 semaines d'expérimentation, les rats sont sacrifiés, le sang ainsi que le foie et le cœur sont prélevés et immédiatement congelé à -80°C jusqu'au moment de l'utilisation.

2.3.1. Dosage de l'homocystéine

Les taux plasmatiques de l'homocystéine totale ont été déterminés par une technique de dosage immuno-enzymatique par polarisation de fluorescence (FPIA) utilisant le système Imx Homocysteine system des laboratoires ABBOTT (Shipchandler et Edwin, 1995). Le dosage nécessite au moins 100µL de plasma contenant 3,8% de citrate de sodium à 1/10. Toutes les formes oxydées de l'homocystéine sont réduites par un traitement au dithiothréitol (DTT). L'homocystéine est ensuite transformée en S-adénosylhomocystéine (SAH) par une SAH hydrolase bovine, en présence d'adénosine qui est l'autre substrat de la réaction.

Un anticorps primaire monoclonal de souris anti-SAH est ajouté au mélange et le complexe SAH-anticorps anti-SAH sera détecté par un anticorps secondaire marqué à la fluorescéine. Le mélange réactionnel est aussi incubé avec la S-adénosylcystéine qui entrera en compétition avec la SAH sur les sites de liaison de l'anticorps primaire anti-SAH. L'intensité de la fluorescence est mesurée par le système FPIA, tandis qu'une courbe d'étalonnage est établie pour six valeurs d'homocystéine (0, 2.5, 5, 10, 20 et 50 µM).

2.3.2. Dosage des lipides totaux

- La détermination du cholestérol plasmatique est faite selon la technique enzymatique colorimétrique de Young (2001).
- La concentration du LDL cholestérol est calculée sur la base de la concentration du cholestérol total, de la concentration de HDL cholestérol et de la concentration de triglycéride selon Freidewald *et al.* (1972).
- Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) présentes dans l'échantillon, précipitent en présence de phosphotungstate et d'ions magnésium. Le surnageant de la centrifugation contient les lipoprotéines de densité élevée (HDL), dont le cholestérol est quantifié spectrophotométriquement.
La lecture se fait à une longueur d'onde égale à 500 nm.

- L'évaluation des triglycérides plasmatiques se fait à l'aide de kit Biomaghreb par une technique colorimétrique enzymatique (Fossati et Prencipe, 1982)

2.3.3. Dosage de la protéine C réactive ultra sensible (CRP_{us}) :

La CRP ultrasensible est déterminée automatiquement par la cassette Cobas Intégra C-Reactive Protein (Latex) (CRPLX) qui contient des réactifs de diagnostic *in vitro* destinés à la détermination immunologique quantitative de la protéine C-réactive dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus, par la méthode turbidimétrique à 552 nm.

Principe

La CRP réagit dans une réaction d'agglutination avec les particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-CRP. Le précipité est mesuré par méthode turbidimétrique à 552 nm (Eda S et al., 1998).

Protocole

Les sérums doivent être placés à l'air ambiant avant de procéder au dosage. Ensuite, 50 µl de sérum et 200 µl d'eau distillée sont déposés dans les tubes des échantillons codés.

Les tubes sont soumis ensuite à une agitation puis placés dans l'automate afin d'obtenir la concentration de la CRP_{us}.

2.3.4. Dosage du fibrinogène

Principe

En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma préalablement dilué est inversement proportionnel à la quantité de fibrinogène plasmatique. Le sang est prélevé sur citrate trisodique liquide 0,11 M (1 volume de citrate pour 9 volumes de sang). Il est centrifugé pendant 10 minutes à 4000 tr/min (2500g) ou laisser sédimenter. Le test est réalisé de préférence dans les 6h qui suivent le prélèvement. Le dosage est réalisé selon les instructions du Kit Biomaghreb (Andrew et al., 1987)

2.3.5. Étude histologique

Au terme de l'expérimentation (3 mois), les animaux sont sacrifiés, après anesthésie par injection intra péritonéale d'uréthane à 25%, à raison de 0,4 ml/100 g de poids corporel. Le foie et le cœur sont prélevés, fragmentés, fixés dans le Bouin aqueux, coupés (3 µm), colorés au trichrome de Masson (variante de Goldner) et observés au microscope photonique.

2.4. Méthodes statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées par une analyse de la variance à un facteur (one- way ANOVA) suivie par un test de Student non appariés en utilisant le logiciel Statview. Les résultats sont exprimés par la moyenne affectée de son écart type. Les données sont considérées comme significatives pour $P < 0.05$.

3. Résultats.

3.1. Evolution du poids corporel(g) des rats après 12 semaines de supplémentation

Les pesées hebdomadaires effectuées pendant 3 mois ont permis le suivi du poids des rats témoins (NaCl) et soumis à une administration per os de méthionine seule (Met) et méthionine et lycopène simultanément (Met/Lyc). Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

Le tableau 1, montre une augmentation significative du poids corporel chez les rats de tous les lots.

Tableau 1 : Evolution pondérale (g) des Rats témoins et traités.

<i>L</i> <i>ots</i>	<i>P</i> <i>oid</i> <i>s</i> <i>ini</i> <i>tial</i>	<i>P</i> <i>oid</i> <i>s</i> <i>fin</i> <i>al</i>	<i>G</i> <i>ain</i> (%)
<i>N</i> <i>aCl</i>	2 45. 33 ± 6,7 2	3 10. 5 ± 14, 05	2 6%
<i>M</i> <i>et</i>	2 69. 9 ± 11, 79	3 07. 23 ± 16. 18	1 4%
<i>L</i> <i>yc</i>	2 53. 31 ± 2.2 8	2 85. 85 ± 16, 18 *	1 3%
(<i>Met</i> / <i>Lyc</i>)	2 45. 6 ± 2,3	2 88. 6 ± 12,	1 7%

	6	26	
		*	

Ces valeurs correspondent aux moyennes du poids affectées de l'écart type. Met et met/Lyc vs NaCl : * $P < 0.05$

En effet, cette augmentation est de 14% et 17% chez les animaux soumis à la méthionine (Met et met/Lyc) respectivement. Par contre les témoins (NaCl) ont enregistré un pourcentage plus important, de l'ordre de 26 %.

3.2. Effet de la supplémentation en lycopène sur l'homocystéine plasmatique des rats

L'administration d'une dose de méthionine pendant trois mois a provoqué une augmentation de la concentration plasmatique en homocystéine (Hcy) de 165% chez les rats soumis à la méthionine (Met) vs témoins NaCl et une diminution de 144% après le prétraitement au lycopène vs rats témoins (Fig.1). Une moyenne de 7.93 et 7.29 $\mu\text{mol/L}$, est respectivement enregistrée chez les rats témoins et ceux traités au lycopène à la fin de l'expérimentation.

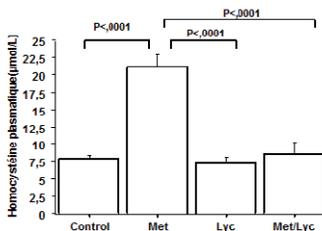


Figure : Evolution de l'homocystéine plasmatique chez les rats Témoins et ceux soumis aux différents traitements

3.3. Effet du lycopène sur les lipides plasmatiques des rats hyperhomocystéinémiques

Les valeurs obtenues montrent que l'administration de méthionine engendre une augmentation des lipides plasmatiques en l'occurrence le cholestérol et les triglycérides. Chez les rats soumis à la méthionine une augmentation de la cholestérolémie de 38.85 % ($P < 0.0005$) est enregistrée (Fig.2A). Le prétraitement au lycopène a normalisé le taux de cholestérol plasmatique des rats Met/Lyc, ($P < 0.0014$) comparés aux rats du groupe Met.

Quant au dosage des triglycérides sanguins, il a permis d'obtenir les résultats rapportés dans la figure 2B. Les triglycérides ont augmenté de 162% en fin d'expérimentation chez les rats

hyperhomocystéinémiques (Met), comparativement aux rats Témoins. Pour les rats Met/Lyc, la triglycéridémie a diminué d'environ 28% vs rats Met.

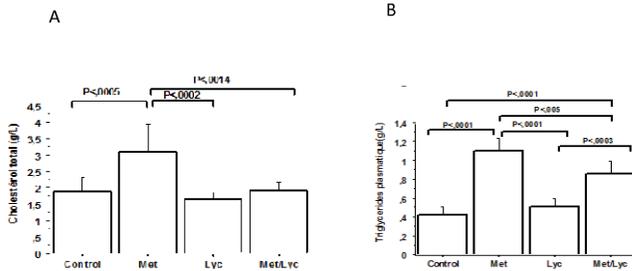


Figure 2 : Evolution de la cholestérolémie (A) et triglycéridémie (B) plasmatique chez les rats Témoins et ceux soumis aux différents traitements

La figure 3A, nous montre que l'augmentation de la fraction athérogène du cholestérol, à savoir le LDLc est de 99% chez les rats Met ($P < 0.0022$), vs LDLc des rats Témoins. Le prétraitement au lycopène des rats Met/Lyc, a normalisé le taux des HDLc ($P < 0.011$) comparativement aux rats ayant reçu un régime enrichi en méthionine (Fig. 3B).

Le taux de lipoprotéines HDLc enregistré est de 0.251g/L chez les rats soumis à la méthionine, et de 0.462 g/L chez les rats soumis à la méthionine et au lycopène simultanément. Par contre ceux traités au lycopène seul, une augmentation d'un facteur 2 de ce taux est notée.

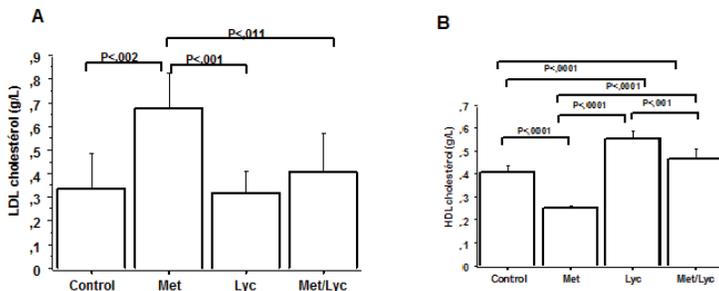


Figure 3 : Evolution des LDLc (A) et HDLc (B) chez les rats Témoins et ceux soumis aux différents traitements

3.4. Effet du lycopène sur les transaminases des rats

hyperhomocystéinémiques

Les dosages effectués indiquent une augmentation des ALAT, enzyme spécifique du foie, des rats hyperhomocystéinémiques de 78% par rapport aux Témoins, (Fig. 4B). Néanmoins La concentration moyenne de cette enzyme diminue de 60%, chez les rats Met/Lyc, comparés aux Témoins.

La concentration moyenne de l'aspartate aminotransférase (Fig 4A), est de 242.200g/L chez les rats soumis à la méthionine, alors que pour le lot Met/Lyc, une réduction de 68 % est observée.

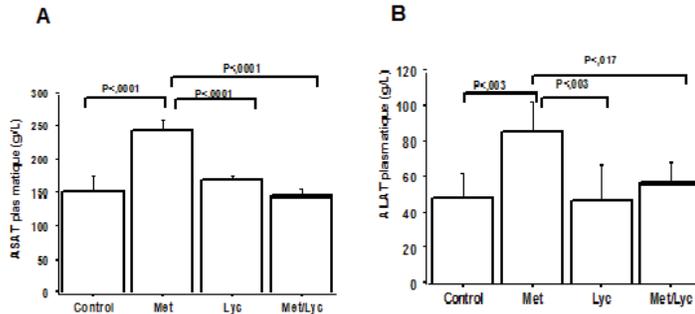


Figure 4 : Evolution des ASAT (A) et ALAT (B) plasmatique chez les rats Témoins et ceux soumis aux différents traitements

3.4. Effet du lycopène sur le fibrinogène et la CRPus des rats hyperhomocystéinémiques

Nous avons remarqué que l'administration chronique de 500mg de la D-L méthionine engendre une augmentation du fibrinogène plasmatique (Fig. 5A) atteignant en fin d'expérimentation, une valeur de 3.088g/L ($P < 0.0021$). Les rats du lot Met/Lyc présentent un taux de fibrinogène plasmatique de 1.906 g/l soit une diminution de 62% par rapport aux rats Met ($P < 0.0025$). Notons qu'il n'y a aucune différence significative entre les lots Témoins et Lycopène.

La CRPus des rats soumis à la méthionine (Fig. 5B) est de 6.139 mg/dl, celle du lot Met/Lyc est de 4.182 mg/dl, mettant en évidence une diminution de 67% ($P < 0.045$). Chez les rats prétraités aux lycopène (Lyc), la valeur moyenne de la CRPus obtenue (3.62 mg/dl) deux fois moins importante que celle des rats Met.

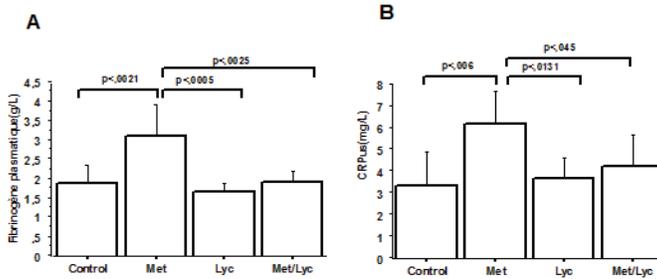


Figure 5 : Evolution du fibrinogène (A) plasmatique et de la CRPus (B) des rats Témoins et ceux soumis aux différents traitements

3.5. Effet du lycopène sur les changements histopathologiques de la structure hépatique et cardiaque des rats hyperhomocystéinémiques

L'Hyperhomocystéinémie induite chez les rats par administration chronique de la D-l méthionine a engendré des modifications de la matrice extracellulaire. En effet, la conséquence de ce processus est l'altération de l'architecture normale du foie, constituée par le lobule hépatique avec l'espace porte à sa périphérie et la veine hépatique au centre. Ces altérations sont essentiellement marquées par un dépôt de collagènes mettant en évidence l'installation d'une fibrose.

La micrographie de la figure 6 a et b représente la structure d'un parenchyme hépatique des rats Témoins. En effet ce parenchyme semble normal, est constitué essentiellement par les hépatocytes (H), organisés en travées hépatocytaires séparé par des capillaires sinusoides(S). La micrographie b, représente un espace porte formé de trois structures principales. Une branche de la veine porte (VPH), les branches de l'artère hépatique (AH) et les canaux biliaires collecteurs(CB), de taille variable, et revêtus par un épithélium simple cubique ou cylindrique. Les figures c, d et e, montrent les altérations touchant le parenchyme hépatique des rats soumis à la méthionine (Met). En effet, les hépatocytes ont perdu leur agencement radiaire (c, d et e), certains présentent des noyaux pycnotiques (NP) et les sinusoides sont dilatés. L'alternance espaces portes/veines centrolobulaires a disparu (Fig. 6 c, d). L'espace porte est agrandi par une fibrose (en bleu), sans ponts porto-portaux. Ces derniers sont cernés par une fibrose qui est le siège d'un infiltrat inflammatoire de type mononucléée dense diffus riche en plasmocytes pénétrant les nodules de régénération.

Une structure normale du parenchyme hépatique chez les rats traités au lycopène est observé dans les figures 6f et g. Tous les éléments constituant le parenchyme hépatique sont normaux.

La micrographie de la figure 6, h et i, représente l'aspect histologique d'un parenchyme hépatique des rats soumis à la méthionine et prétraité au lycopène (Met/lyc). L'organisation tissulaire des hépatocytes et de leurs noyaux est normale. Nous avons observé une diminution de

la dilatation des capillaires sinusoides(s) et une réduction du collagène autour de la veine centrolobulaire (VCL). Le parenchyme hépatique semble se régénérer pour ensuite redevenir normal

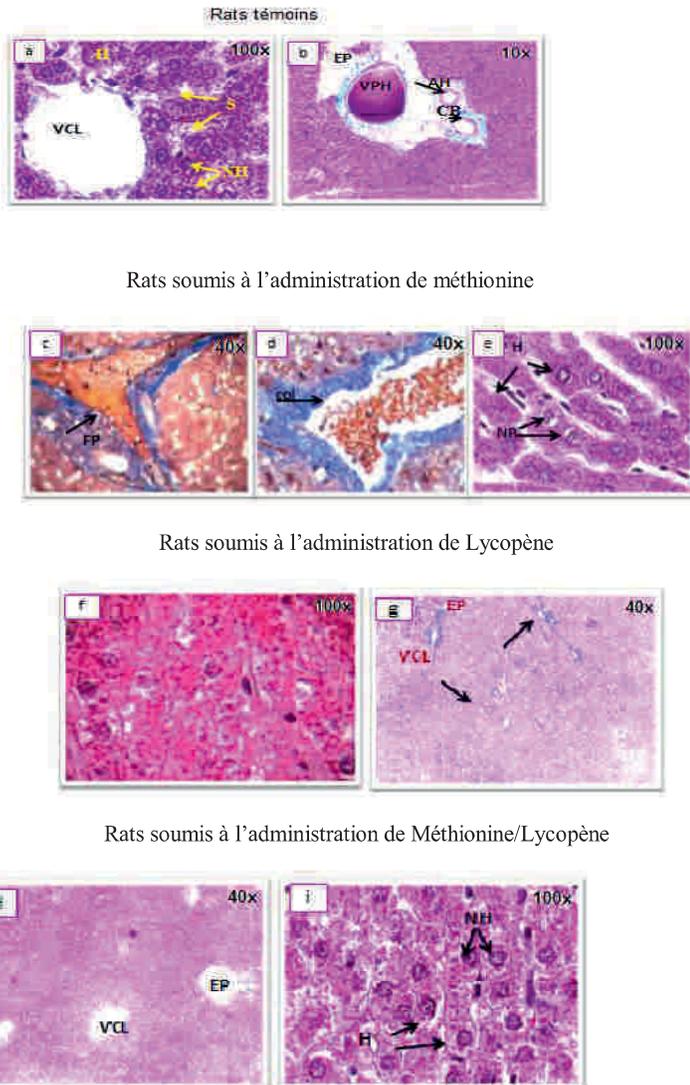


Figure 6: Aspect histologique du parenchyme hépatique chez les rats des différents lots

Coloration Trichrome de Masson

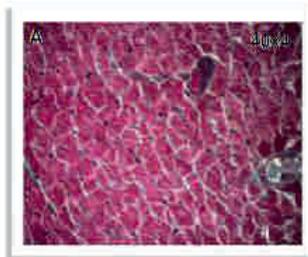
De même l'Hyperhomocystéinémie a engendré des altérations au niveau de la structure cardiaque des rats Wistar, soumis à un régime supplémenté avec 500mg/Kg/PC /J de méthionine (Met). Nous avons enregistré des altérations touchant aussi bien les cardiomyocytes que la matrice extracellulaire et la vascularisation cardiaque.

Les micrographies des rats témoins (Fig. 7A) et lycopène (Fig. 7 B) nous révèlent une structure normale, avec des Cardiomyocytes bien individualisés, une vascularisation normale, abondante et un tissu conjonctif très réduit.

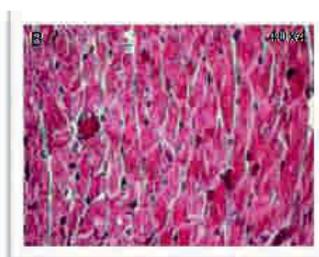
Des altérations vasculaires, cellulaires et matricielles caractérisent l'état histopathologique de la structure myocardique des rats hyperhomocystéinémiques du Lot Met (Fig.7C, D). En effet, on observe une altération de la matrice marquée par une fibrose interstitielle et péri vasculaire (D), une importante vascularisation myocardique, des dilatations des capillaires (Fig. 7E), une désorganisation cellulaire, la présence de noyaux qui semblent apoptotiques et le myocarde semble être le siège d'un début d'inflammation (Fig. 7D).

L'association Met/Lyc (Fig. 7G et H) montre une structure du myocarde avec des collagènes moins abondant et des espaces intercellulaires réduits. Le lycopène semble réduire les altérations cellulaires et matricielles (absence d'infiltrations, d'inflammations et de fibrose).

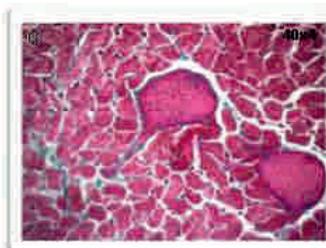
Rat Témoin



Rat traité au Lycopène



Rat soumis à l'administration de méthionine



Rat soumis à l'administration de méthionine



Rat soumis à l'administration de Méthionine/Lycopène

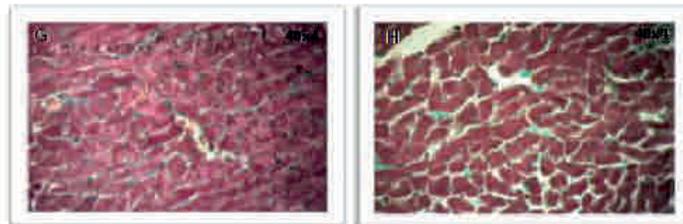


Figure 7: Aspect histologique du myocarde chez les rats des différents lots

Coloration Trichrome de Masson

5. Discussion

Environ la moitié des décès sont dus à des maladies cardio-vasculaires ou à leurs complications. L'homocystéine est un produit intermédiaire soufré du métabolisme de la méthionine, un acide aminé essentiel.

A partir d'un taux d'homocystéine de 10 $\mu\text{mol/l}$ environ, une augmentation du risque selon une relation dose-effet linéaire sans seuil spécifique est constatée. Des facteurs de risque supplémentaires (tabagisme, hypertension artérielle, diabète et hyperlipidémie...) peuvent majorer le risque global de façon additive ou de façon synergique et hyper proportionnelle par interaction avec l'homocystéine. L'Hyperhomocystéinémie entraîne, outre des modifications de la morphologie vasculaire, une perte de la fonction endothéliale anti thrombotique et l'induction d'un milieu pro coagulant. La plupart des altérations connues sont attribuées à un stress oxydatif. L'altération de la matrice extracellulaire aboutit à une modification des propriétés mécaniques de la paroi artérielle et l'altération du métabolisme lipidique conduit à l'accélération du développement de l'athérosclérose, facteur de risque majeur de l'infarctus du myocarde. L'accumulation du cholestérol circulant au niveau des tissus du myocarde est également associée à ces mêmes maladies.

Cette étude montre que l'administration de la méthionine a augmenté de façon significative (165% en fin d'expérimentation), l'homocystéinémie (Hcy). Le taux de cholestérol, de triglycérides et des LDLc, ont aussi atteint respectivement des taux de 38.85%, 162% et 99% en fin d'expérimentation.

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

Le lycopène, antioxydant naturel retrouvé abondamment dans la tomate, présente une capacité antioxydante inégalee (Heber, et Lu, 2002 ; Rao, 2002). Il préserve les cellules et les tissus des radicaux libres (Rao et *al.* 2006 ; Stahl, 2006).

Selon Markovits et *al.* (2009), la consommation du lycopène améliore le statut antioxydant et inhibe la peroxydation lipidique, prévient les dommages oxydatif des biomolécules comme les lipides, le cholestérol, les protéines et L'ADN (Southon, 2001). Nos résultats sont conformes à la littérature. L'utilisation de lycopène chez ce modèle de rats soumis à un régime enrichi en méthionine, induit une réduction significative des paramètres étudiés à savoir l'homocystéine, le cholestérol, les triglycérides et les LDLc (respectivement $P < 0.0001$; $P < 0.0014$; $P < 0.005$ et $P < 0.011$). La concentration plasmatique élevée en LDL-cholestérol constitue un facteur de risque des maladies cardio-vasculaires par contre les HDL cholestérol a un effet protecteur via le transport inverse du cholestérol ainsi que par ses propriétés anti-inflammatoires directs (Navab et *al.*, 2005). Wang et *al.* (2003), ont montré que le taux des lipides plasmatique est élevé chez des rats hyperhomocystéinémiques. Nous pouvons ainsi dire que l'altération de l'homéostasie plasmatique est influencée par le régime alimentaire et vice versa (Chin- Shiu et *al.*, 2013). Pour ce faire nous avons utilisé le lycopène, en supplémentation pour pallier à toutes ces maladies.

Il a été aussi démontré par des études épidémiologiques et prospectives, que la CRP, lorsqu'elle est mesurée avec une haute sensibilité (CRPus), prédit fortement et indépendamment le risque d'infarctus du myocarde et des accidents vasculaires cérébraux, même chez des individus apparemment sains (Ridker et *al.*, 2001 ; Albert et *al.*, 2002). Cette observation suggère que l'augmentation de la CRPus, ne reflète pas simplement la présence de ces maladies mais indique plutôt une augmentation pré pondérale des perturbations des maladies thrombotiques en l'occurrence la fibrose (Burke et *al.*, 2002). Il apparaît que ce paramètre évolue de la même manière que l'homocystéinémie. Ce résultat rejoint les travaux de Hrira et *al.* (2010); ils ont montré que les taux de la CRPus obtenus chez les témoins comparés à la population Hyperhomocystéinémique sont de l'ordre de $3,96 \pm 1,67$ mg/L vs $5,06 \pm 3,04$ mg/L. Alors que la supplémentation alimentaire avec le lycopène, même pendant une semaine a augmenté les niveaux de lycopène plasmatique et réduit les niveaux endogènes de l'oxydation des lipides, des protéines, des lipoprotéines et de l'DNA (Rao et Agarwal, . 1998).

L'étude histopathologique a révélée que l'hyperhomocystéinémie est responsable des lésions hépatiques et vasculaires par cytotoxicité endothéliale liée au stress oxydatif avec formation de radicaux libres. En effet les préparations histologiques du foie mettent en évidence une accumulation du tissu conjonctif caractérisée essentiellement par une accumulation de collagènes au niveau des espaces intercellulaires et péri vasculaires. Cette accumulation peut être expliquée par une augmentation de la synthèse des macromolécules de la matrice extracellulaire ou une diminution de leur dégradation (Bescond et *al.*, 1999). Nous avons aussi observé une dilatation des capillaires sinusoides chez les rats soumis à un régime enrichi en méthionine. Un résultat similaire a été observé chez le rat (Raaf et *al.*, 2010) et chez les souris CBS (Noll et *al.*, 2009). Nous avons observé une altération spectaculaire de l'architecture hépatique avec la disparition de l'alternance espaces portes / veines centrolobulaire.

L'espace porte est élargi par une fibrose sans ponts porto-portaux. Le foie des rats hyperhomocystéinémiques est le siège d'une fibrose hépatique. L'installation de la fibrose dans le tissu hépatique n'est pas un processus statique, mais un processus dynamique avec une balance entre la synthèse et la dégradation des composants de la matrice extracellulaire. Remkova et Remko (2009) suggèrent que les sujets hyperhomocystéinémiques présentant des altérations hépatiques vont développer une stéatose accompagnée ou pas d'une fibrose hépatique. Selon **Sozio et al. (2010)**, les différents mécanismes cellulaires possibles par lesquels l'élévation de l'homocystéine favorise la stéatose peuvent être de différente nature : stress oxydant, altération du métabolisme de l'homocystéine et suralimentation. Shivashangari et al. (2006); Sevtap et al. (2012) ont confirmé qu'une supplémentation en lycopène (10mg/Kg de poids corporel) assure une protection du foie. Le prétraitement au lycopène a conduit à la réduction des altérations structurales de la matrice extracellulaire, suggérant ses potentialités protectrices vis-à-vis des affections engendrées par l'hyperhomocystéinémie, comme le montrent clairement nos observations.

Pour ce qui est du tissu cardiaque, nous avons aussi observé une altération du myocarde ainsi que de l'épicarde. Chez les rats soumis à un régime enrichi en méthionine, nous avons remarqué une altération de la matrice caractérisée par une accumulation de collagènes aboutissant à l'installation d'une fibrose interstitielle et péri vasculaire ainsi qu'une richesse en capillaires qui sont dilatés. Kumar et al. (2008) ont également enregistré une accumulation de collagènes au niveau des artères coronaires de souris C β S hyperhomocystéinémiques.

La présence de collagènes entre les cardiomyocytes est également observée par Zhou et al. (2001) et Joseph et al. (2003). Une synthèse de collagènes a été aussi observée lors d'une Hyperhomocystéinémie par Iris et al. (2004). Le prétraitement au lycopène a conduit à la réduction de ces altérations matricielles.

CONCLUSION

Cette étude suggère que l'administration de lycopène aux rats Wistar, hyperhomocystéinémiques, doit être pris en considération dans le traitement des complications liées à la perturbation du métabolisme lipidique dans l'hyperhomocystéinémie.

La supplémentation par Le lycopène est capable de réduire les taux d'homocystéine ainsi que les marqueurs biochimiques et hépatiques due à l'hyperhomocystéinémie.

6. REFERENCES

Albert, CM., MA G, Rifai, N, Stampfer, MG and ridker, PM., 2002. Prospective study of CRP, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation.*, **105**: 2595 - 2599.

Bescond, A., Augier, T., Chareyre, C., Garçon, d., Hornebeck, W and charpiot, P., 1999. Influence of homocystéine on matrix metalloproteinase-2: Activation and activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **263**, 498-503.

Burke AP, Tracy RP, Kolodziec F., Malcom JT, Zieske, A, Kutys, R., Pestaner, J, Smialek, J and Virmani, R., 2002. Elevated C-reactive protein values and atherosclerosis in sudden coronary death: association with different pathologies. *Circulation*. **105**: 2019-23.

Brown, A.A., and Hu, F.B., 2001. Dietary modulation of endothelial function: Implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.*, **73**, 973-86.

Chin- Shiu, Huang, Cheng-Hung, Chuang Tsue-Feng, Lo., 2013. Anti-angiogenic effects of lycopene through immunomodulation of cytokine secretion in human peripheral blood mononuclear cells. *J. Nutri. Biochem.*, **24(2)** : 428-34

Den Heijer, M., Koster, T., Blom, H.J., Bos, GM., Briet, E., Reitsma, P.H., Vandenbroucke. J.P and Rosendaal FR.1996. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med.*, **334**, 759-62.

DiMascio, P., Kaiser, S., and Sies H. 1989. Lycopene as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys.*, **274**, 532-38.

Eda, S., Kaufmann, J., Roos, W and Pohl S., 1998. Development of a New Microparticle-Enhanced Turbidimetric Assay for C-reactive Protein with Superior Features in Analytical Sensitivity and Dynamic Range. *J Clin Lab Anal.*, **12**:137-44.

Finkelstein, J.D and Martin J.J. 2000. Homocystéine, *Int J Biochem Cell Biol*, **32** (4), 385-389.

Ueland, P.M., Refsum, H., Beresford, S.A.A., and Vollset SE., 2000. The controversy over homocystéine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr.*, **72** : 324-32.

Fossati P et principe I., 1982. *Clin. Chem.* **28**, 2077.

Halliwell, B.F., 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet.* , **344** : 1220-24.

Heber, D and Lu Q.Y., 2002. Overview of mechanisms of action of lycopene, *Exp Biol Med.*, **227(10)**, 920- 23.

Heller, F.R., Descamps, O and Hondekjær, J.C. 1998. LDL oxidation: therapeutic perspectives. *Atherosclerosis.*, **137**, S25 – S31.

Iris, S., Sampfer, M.J., Ma, J., Manson, J.E., Hankinson, S.E., Cannuscio, C., Curhan, G and Rimm EB., 2004. Homocysteine as a risk factor for coronary heart diseases and its association with inflammatory biomarkers, lipid and dietary factors. *Atheroscl.*, **177** : 375-81

Joseph, J., Joseph, L., Shekhawat, N.S., Devi, S.S., Wong, J., Melchert, R.B., Hauer-Jensen, M and Kennedy R.H., 2003. Hyperhomocysteinemia leads to pathological ventricular hypertrophy in normotensive rats. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **285** : H686-H688

Kinsell, L.W., Harper, H.A., Barto, H.C., Michaels, G.D and Weiss, H.A., 1947. Rate of disappearance from plasma of intravenously administered Méthionine in patient with liver damage. *Science.*, **106** : 589-90

Lambert, D., Benhayoun ., Adjalla, C., Gélot, M.M., Renkes, P., Gérard, P., Felden, f., Belleville, F., Gaucher, P., Guéant GL and Nicolas, J.P., 1997. Alcoholic cirrhosis and cobalamine metabolism. *Digestion.*, **58(1)** : 64-71

Kumar, M., Tyagi, N., Moshal, K.S., Sen, U., Kundu, S., Mishara, P.K., Givvmani, S and Tyagi S.C., 2008. Homocysteine decreases blood flow to the brain due to vascular resistance in carotid artery. *Neurochem. Intern.*, **53** : 214-19

Lenz, S.R., 2001. Does homocystéine promote atherosclerosis? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **21**, 1385-1386.

Witztum, J.L. 1994. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet.*, **344** : 793-95.

Parthasarathy, S., Steinberg, D and Witztum, J.L. 1992. The role of oxidized lowdensity lipoproteins in pathogenesis of atherosclerosis. *Annu Rev Med.*, **43**: 219-25.

Markovits, N., Amotz, A. B and Levy Y., 2009. “The effect of tomatoderived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity,” *Israel Med Ass J.*, **11 (10)** : 598- 601.

Morris, D.L and Kritchevsky, Davis, C.E., 1994. Serum carotenoids and coronary heart disease: the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial and Follow-up Study. *J Am Med Assoc.*, **272** :1439-41.

Navab, M., Anantharamaiah, G.M., Reddy, S.T., Van Lenten, B.J., Wagner, A.C., Hama, S., Hough, G., Bachini, E., Garber, D.W., Mishra, V.K., Palgunachari, M.N. and Fogelman, A.M., 2005. An oral apoJ peptide renders HDL antiinflammatory in mice and monkeys and dramatically reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **25** : 1932-37

Noll, C., Julien, H., Ewelina, M., Jean-L. P. Delabara, J.M and Nathalie Janel, 2009. Effects of red wine polyphenolic compounds on paraoxonase-1and lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1in hyperhomocysteinemic mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* **20** : 586-596

Rissanen, T.H., S. Voutilainen, K. Nyyssonen, R. Salonen, A.K.George and Salonen T. 2003. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr.*, **77** : 133- 38.

Rao, AV and Agarwal, S., 1999. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer.*, **31**: 199-203.

Rao, AV and Agarwal S., 2000. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr.*, **19** : 563-9.

Rao, A. V. 2002. "Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. *Exp Biol Med.*, 227(10) : 908– 13.

Rao, A. V., Ray,M.R and Rao L.G. 2006. "Lycopene," *Advances in Food and Nutrition Research*,51,99–164.Pharmacologyonline

Kanchi Subramanian, Shivashangari, Vilwanathan Ravikumar., Radhakrishnan, Vinodhkumar., Sheik Abdul., Azeez, Sheriff and Thiruvengadam, Devaki., 2006. Hepatoprotective Potential of Lycopene on D-Galactosamine/Lipopolysacchari de Induced Hepatitis in Rats **2**: 151-170.

Stahl, W., Heinrich, U., Aust, O., Tronnier, H and Sies, H., 2006. "Lycopene-rich products and dietary photoprotection," *Photochem hotobiol Sc.*, 5(2), 238– 42.

Southon, S., 2001. Increased fruit and vegetable consumption: Potential health benefits. *Nut. Met. cardio Dis.*, **11** : 78-81.

Ridker, PM, Cushman, M and Rifai, N., 2001. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of Creactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral artery disease. *JAMA.*, **285**: 2481-85.

Selhub, J., 1999. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr.*, 19: 217–46.

Welch, GN and Loscalzo, J., 1987. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med.*, 338:1042–50.

Sevtap, Avdu, Mehmet Tokaç, Gökçe Taner, Ata Türker Arıkök, Halit Ziya Dündar and Alper Bilal Özkardes., 2013. Antioxidant and antigenotoxic effects of lycopene in obstructive jaundice,*J Surg Res.*, **182**(2): 285–95

Wang, H., Jiang, X., Yang, F., Gaubatz, J.W., Ma, L., Magera, M.J., Yang, X., Berger, P.B., Durante, W., Pownall, H.J. and Schafer, A.I., 2003. Hyperhomocysteinemia accelerates atherosclerosis in cystathionine betasynthase and apolipoprotein E double knock-out mice with and without dietary perturbation. *Blood.*, **101** : 3901– 07.

Zhou, J., Möller, J., Danielsen, CC., Bentzon, J., Ravn, NB., Austin, RC and Falk, E., 2001. Dietary supplementation with Methionine and Homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient Mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **21**:1470-76

VALORISATION DES DECHETS LIGNOCELLULOSIQUES PAR FERMENTATION SUR SUBSTRATS SOLIDES

BETTACHE A, BELHAMICHE N, BOUCHERBA N, KECHA M, BENALLAOUA S

*Laboratoire de Microbiologie Appliquée (L.M.A), Université de Béjaia, Targa
ouzemmour 06000 (Algérie)*

Résumé :

Le recours aux ressources renouvelables en tant qu'alternative à la chimie industrielle intéresse fortement les acteurs du développement durable et de la chimie verte. La biomasse végétale est une source abondante et renouvelable de biopolymères, parmi lesquels la cellulose, l'hémicellulose et la lignine.

Dans ce contexte, plusieurs objectifs sont engagés tel que la recherche de microorganismes producteurs de cellulases et xylanases et l'optimisation des conditions de production en testant différents déchets industriels et agricoles. Les FMS sont réalisées, pour mieux revaloriser ces déchets. Les caractéristiques des enzymes produites sont étudiées pour une application industrielle. La purification des enzymes est effectuée par des techniques chromatographiques.

L'activité cellulolytique a révélé une souche du genre *Streptomyces* qui s'avère très intéressantes, en produisant des activités élevées d'endoglucanases en présence du son de blé. Les dosages enzymatiques effectués sur FMS ont montré que la production en FPases, endoglucanases, β -glucosidases et xylanases est meilleure en FML alors que les quantités de protéines produites sont plus élevées en FMS. Ces résultats prometteurs doivent être validés à l'échelle pilote. L'enzyme produite dans le surnageant brut est active dans une large gamme de pH (5-8) et de température (40-70°C). Cinq endoglucanases de différents poids moléculaires sont révélées. L'endoglucanase purifiée possède plus d'affinité pour le CMC, avec un Km de 6.37mg/mL.

1- Introduction

Les celluloses, les hémicelluloses ou encore les lignines sont principalement présentes dans les céréales, le bois et les résidus agricoles qui présentent l'avantage d'être à la fois abondants et théoriquement inépuisables puisqu'ils sont régénérés en permanence grâce à la photosynthèse (Coughlan et al., 1993).

Des recherches de bioconversion des déchets lignocellulosiques par les cellulases et xylanases sont réalisées dans le but de les valoriser et de les transformer en un mélange de sucres plus intéressants sur le plan nutritif et gustatif, ou encore transformer ces mêmes sucres par fermentation en alcool utilisé dans différents domaines (Sudeep et al. 2001; Maeda et al. 2013).

Les bactéries actinomycétales du genre *Streptomyces*, sont les meilleurs candidats pour la production de métabolites secondaires biologiquement actifs (Oskay et al. 2004). En effet, les enzymes sont après les antibiotiques, les plus importants produits des actinomycètes (Lopes et al. 1999). Ces espèces présentent des capacités de biodégradation des molécules organiques aussi variées que récalcitrantes (Mc Carthy et al. 1992).

Ce travail s'inscrit dans la mouvance actuelle d'exploitation des déchets lignocellulosiques pour produire des enzymes cellulolytiques avec un prix de revient compétitif dans la production des biocarburants de deuxième génération.

2- *Matériel et méthodes*

2.1. Méthodes d'isolement

1g de chaque échantillon de sol est dilué dans 9mL d'eau physiologique. Les suspensions de sol sont agitées pendant 15 minutes, après décantation, une série de dilutions est réalisée jusqu'à 10⁻⁵ à partir de chaque solution mère. 200µL de chaque dilution sont ensemencés dans cinq milieux différents: WYEA, Bennett, GLM, Williams and Kuster (M2), Chitin-B vitamins.

2.2. Optimisation de la production de cellulase (Sources de carbone)

La production de cellulase est mesurée en milieu liquide au pH optimum et à la température optimale de la souche. Les sources de carbone suivantes sont utilisées séparément à une concentration de 1%: La cellulose walseth, cellobiose, avicel, glucose, carboxyméthyl cellulose, xylane de bouleau, maltose, amidon, son de blé, orge, pulpe de betterave, écorce d'orange, grignon d'olive, paille de blé, sciure du bois et canne à sucre. Après incubation l'activité endoglucanase est mesurée.

2.3. Comparaison des performances de production entre la FML et la FMS

Les activités enzymatiques, cellulases totales, endoglucanases, β-glucosidases et xylanases sont mesurées dans les deux types de fermentations (fermentation sur substrat solide, et fermentation liquide). Le dosage des sucres réducteurs est effectué selon la méthode de Miller (1959).

2.4. Caractérisation des endoglucanases (CMCases) de la souche *Streptomyces* sp.B-PNG23 dans le surnageant

• Température et pH

- La température optimale est déterminée en testant l'activité enzymatique à différentes températures : 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C et 80°C, l'activité est mesurée en incubant 250µL de l'enzyme avec 250µL de CMC à 2% pendant 30 min.

- Pour le pH, l'activité endoglucanase est déterminée par incubation d'un mélange réactionnel composé de : 250µL de carboxyméthyl cellulose à 2% et de 250µL de l'enzyme à des pH variant de 4 à 10. Trois différents tampons à 50mM sont utilisés. Le tampon citrate à des pH de 4 à 6, le tampon phosphate pour les pH de 6 à 8 et le tampon Tris-HCl pour les pH de 8 à 10.

• **Thermostabilité**

La thermostabilité est déterminée en présence du substrat à des températures de 30, 40, 50 et 60°C dans un intervalle de temps allant de 0 à 10 h, l'activité endoglucanase résiduelle est par la suite mesurée.

• **SDS- PAGE et zymogramme**

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes et non dénaturantes est réalisée par la méthode de Laemmli (1970). Un zymogramme est réalisé, il consiste en une électrophorèse sur gel en présence de SDS, ce qui permet la séparation des protéines dans un champ électrique et permet la migration des protéines uniquement selon leurs poids moléculaires. Cette technique permet de déterminer le nombre de sous-unités d'une protéine, d'obtenir des informations assez fiables sur la masse moléculaire, et d'évaluer son degré de purification.

2.5. Purification d'une endoglucanase

• **Concentration des protéines**

Les protéines sont concentrées par ultrafiltration (Système Minimate PALL), avec une membrane d'une dimension de 20cm x 3.8 cm x 1.8 cm et 10kDa de seuil de coupure.

• **Chromatographie échangeuse d'anions**

Le surnageant de culture concentré est déposé sur une colonne échangeuse d'anions (Q Sepharose HP Hi Trap Q 5mL), prête à l'emploi, tapissée avec un gel Q-sepharose à haute performance (Amersham-Pharmacia TM Biotech). La colonne est régénérée puis équilibrée avec du tampon Tris-HCl 50mM, pH 8,5 (tampon A), on injecte plusieurs fois 2mL de surnageant concentré par ultrafiltration (pression de 0,5mpa). L'élution est réalisée avec un gradient continu et croissant de NaCl à des concentrations de 0 à 1M ajouté au tampon A (tampon B). Le débit est ajusté à 4mL/min et des fractions de 2mL sont collectées. Au total 115 fractions sont obtenues pour chaque rune. Toutes les fractions sont dosées pour leurs activités endoglucanases et les protéines totales contenues dans ces fractions. Les fractions

avec une activité endoglucanase sont regroupées, concentrées et diafiltrées avec le dispositif d'ultrafiltration (SARTORIUS). Le chromatogramme est tracé instantanément sur le papier de l'enregistreur avec 5mm/mn (Amersham Pharmacia Biotech Rec 112).

2.6. Caractérisation d'une endoglucanase purifiée

• **Spécificité vis-à-vis du substrat**

La spécificité de l'endoglucanase purifiée est testée vis-à-vis des substrats suivants : le xylane de bouleau, l'avicel et le carboxyméthyl cellulose à une concentration de 2% (m/v). Les substrats sont préparés dans du tampon phosphate pH 6,0 et le mélange est incubé à 50°C pendant 30mn en présence de 100µL de l'endoglucanase pure.

• **Paramètres cinétiques**

Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

Pour déterminer les constantes cinétiques de l'endoglucanase purifié (K_m et V_{max}) le carboxyméthyl cellulose est utilisé avec différents concentrations (1 à 10 mg/mL) en conditions optimales. Pour chaque concentration de substrat, l'activité est mesurée à 50°C et à pH 6,0 toutes les 2 minutes.

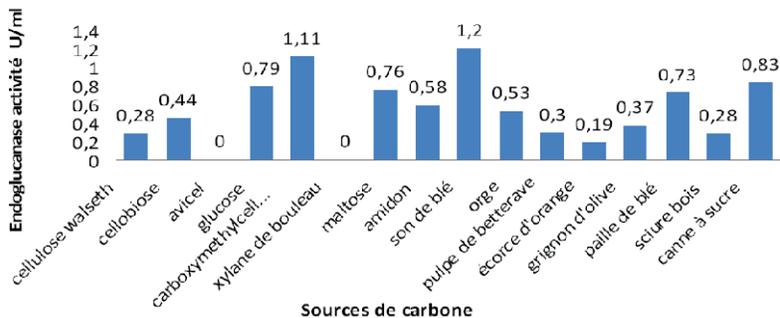
3- Résultats et discussions

3.1. Isolement et criblage

Dans cette étude 152 souches d'actinomycètes sont isolées dans les différents écosystèmes. GLM et M2 sont considérés comme les meilleurs milieux d'isolement des actinomycètes dans les environnements étudiés. 63,15% d'isolats présentent une activité endoglucanase, tandis que 36,85% des isolats étaient incapables de produire cette enzyme. Les isolats B-PNG23 et TKJ2 avec des activités d'endoglucanases respectives de 0,92 et 0,88 U/mL s'avèrent intéressants.

3.2. Effet des sources de carbone dans la production de cellulase

Les cellulases sont des enzymes inductibles et plusieurs sources de carbone sont rapportées pour favoriser la production de ces enzymes (Saeeda et al. 2013). Parmi les sources de carbone testées, le son de blé, le carboxyméthyl cellulose, canne à sucre, le glucose et le maltose s'avèrent intéressants pour la production de cellulases par la souche B-PNG23 avec des activités respectives de : 1.20, 1.11, 0.83, 0.79, et 0.76U/mL. La meilleure production est



obtenue avec le son de blé ce qui pourrait être une opportunité pour la valorisation de ce coproduit des minoteries.

Figure 01. Effet des sources de carbone dans la production de cellulases.

Dans la littérature, il est rapporté que la principale source de carbone pour la production de CMCase fongiques des espèces d'*Aspergillus* et *Trichoderma* est le son de blé (Jecu, 2000; Lee et al, 2001; Majjala et al, 2012; Gomathi et al, 2012).

Quelques espèces de *Bacillus* aérobies sont présentées pour produire les endoglucanases qui peuvent dégrader la cellulose amorphe, la plupart d'entre elles ne peuvent pas dégrader la cellulose cristalline (Bischoff et al. 2006). Plusieurs travaux ont rapporté également la carboxyméthyl cellulose comme source de carbone préférée pour la production de cellulases (Niranjane et al. 2007 ; Abou Taleb et al. 2009). Avec la canne à sucre, Grigorevski-Lima et al. (2009) ont rapporté une activité endoglucanase de 0,35U/mL en culture submergée avec une souche de *A. fumigatus* FBSPE-05.

3.3. Comparaison de production de cellulases en FMS et FML

• Production de protéines

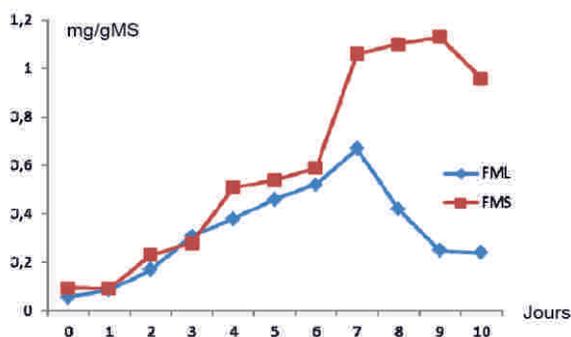
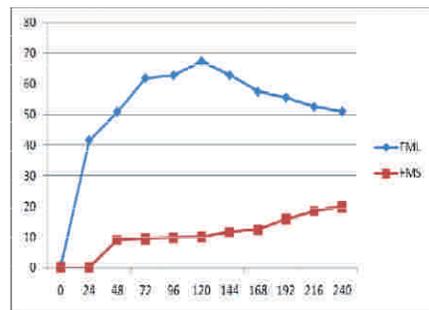
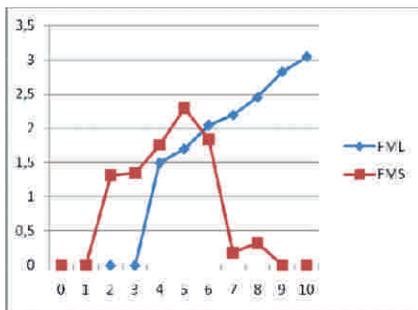
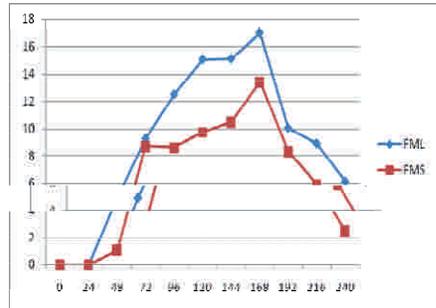


Figure 02. Comparaison de la production de protéines en FMS et FML sur SDB.

Les résultats montrent une nette évolution des protéines en FMS contrairement à la FML, on observe une chute des protéines à partir du 7ème jour d'incubation. Par ailleurs, le taux de protéines engendrés en FMS est supérieur à celui de la FML. Des études ont rapporté que des quantités de protéines secrétées en FMS sont de 30 fois supérieures à celles produites en FML. Parmi les protéines secrétées en FMS, on retrouve : endo- 1,3- β -glucanase, cellobiose deshydrogenase, endo-1,4- β -xyylanase, β -xylosidase, feruloyl esterase B (Li et al. 2013). Maeda et al. (2004) attribuent l'expression élevée d'enzymes en milieu solide à l'absence de répression catabolique due à la faible quantité de glucose libéré dans le milieu.

• Activités enzymatiques



Comparaison de la production de xylanases par la souche B-PNG23 en FML et en FMS sur son de blé.

Comparaison de la production de cellulases totales par la souche B-PNG23 en FML et en FMS sur son de blé.

Figure 03 : Activités enzymatiques en FML et FMS sur son de blé.

Les dosages enzymatiques effectués sur le son de blé ont permis de comparer les fermentations en milieu solide et liquide. Les résultats ont montré que la production en FPases, endoglucanases, β -glucosidases et xylanases est meilleure en FML tandis que les quantités de protéines produites sont plus élevées en FMS.

3.4. Caractérisation des endoglucanases dans le surnageant

•pH

L'activité endoglucanase est importante entre 5.0 et 9.0 avec un optimum à pH 6. La même valeur de pH optimal pour l'activité endoglucanase est rapportée pour un champignon thermophile *Chaetomium thermophile* var. *oprophile* (Ganju et al. 1990). Les cellulases actives entre pH 6.0 et 10.0 sont utilisées dans l'industrie du textile (Kochavi et al. 1990) et dans les détergents (Suominen et al. 1993).

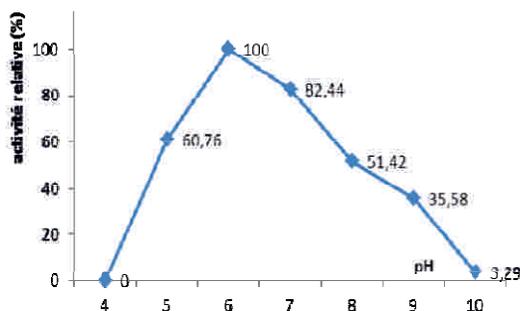


Figure 04 . Effet du pH sur l'activité endoglucanase.

• Température

La température optimale de l'activité enzymatique est de 50°C. A 60°C une activité relative de 95,84% est observée. A 80°C, l'activité relative est de 15,71%.

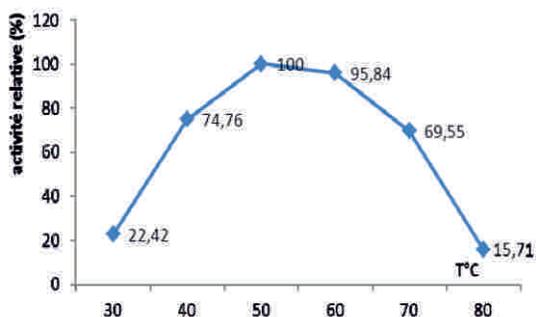


Figure 05. Effet de la température sur l'activité endoglucanase.

Des études ont rapporté des températures optimales variables, de 60 à 65°C pour les endoglucanases de *Thermococcus aurantiacus* et *Sporotrichum thermophile* (Raza et al. 2008), 50°C pour une CMCase produite par *Streptomyces* T3-1 (Jang and chen. 2003), et 55°C pour une endoglucanase de *Trichoderma reesei* (Sutanu et al. 2012).

• Thermostabilité en présence du substrat

A 30°C, l'activité est stable, il n'y pas de diminution significative de l'activité endoglucanase pendant 10h. L'enzyme est stable à 50°C, avec un temps de demi vie de 6h. L'activité des endoglucanases est sensible à 60°C et seulement une activité relative de 4,2% est observée après 5h d'incubation. Les résultats montrent nettement une stabilité thermique des endoglucanases de *Streptomyces* sp. B-PNG23 entre 30-50°C, au delà de ces températures en note une baisse de la stabilité.

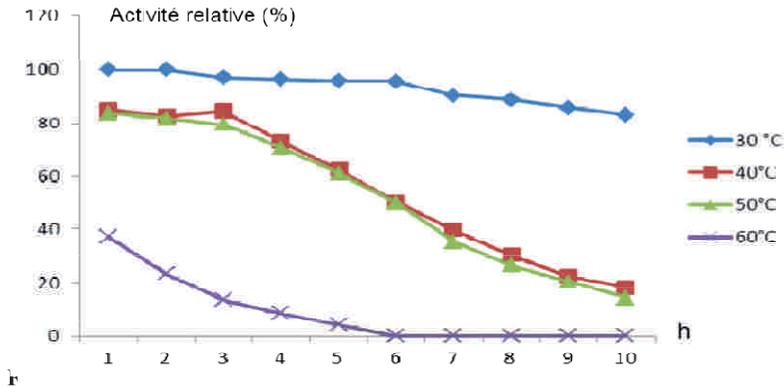


Figure 06. Profils de thermostabilité des endoglucanases de la souche B-PNG23 en absence de substrat.

• Poids moléculaire et zymogramme

Le surnageant de culture concentré contient plusieurs formes d'endoglucanases et leur séparation s'avère difficile en conditions natives vu que leur migration est fonction de la charge et de la masse moléculaire. Pour cela une électrophorèse en conditions dénaturantes avec renaturation des protéines est effectuée. La coloration au nitrate d'argent permet la visualisation de toutes les protéines du surnageant concentré. Les résultats de SDS-PAGE indiquent que la souche B-PNG 23 secrète plusieurs protéines dans le milieu de culture. Cinq endoglucanases de différents poids moléculaires sont décelées par l'analyse de zymogramme: Endo1, Endo2, Endo3, Endo4, Endo5 avec des poids moléculaires respectifs de: 97 KDa, 66 KDa, 62,5 kDa, 53 kDa et 50 kDa.

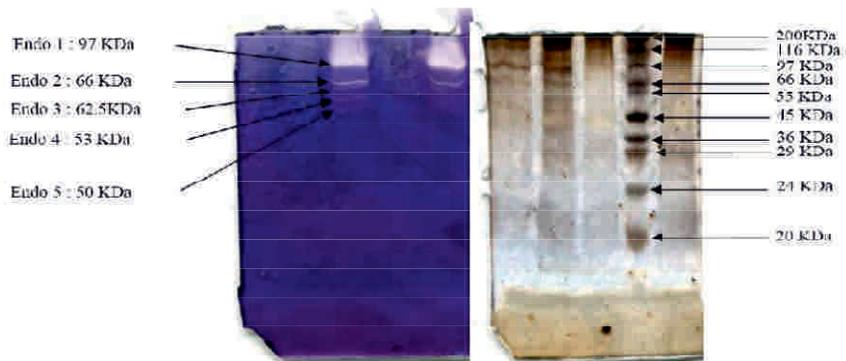


Figure 07. Profil de migration et zymogramme des protéines du surnageant concentré (SDS-PAGE)

3.5. Purification d'une endoglucanase

• Ultrafiltration

Le surnageant de culture est concentré 20 fois par ultrafiltration jusqu'à l'obtention d'un volume de 50mL. À cette étape d'ultrafiltration, les impuretés ayant une masse moléculaire égale ou inférieure à 10KDa sont éliminées. Ceci explique la diminution des protéines de 660mg dans le surnageant de culture à 22.5 mg dans le retentât. L'activité spécifique après ultrafiltration est de 23.11U/mg. Cette étape a amélioré la pureté de l'enzyme vu que son activité spécifique était de 1.81U/mg dans le surnageant brut. Le rendement de cette étape de purification est estimé à 43.3% avec un facteur de purification de 12.76.

• Chromatographie échangeuse d'anion

Le profil d'éluion de la figure 08 représente l'absorbance à 280nm en fonction du numéro des fractions. L'absorbance à 280nm caractérise la présence de matériel protéique du fait de l'absorption des UV par les acides aminés aromatiques.

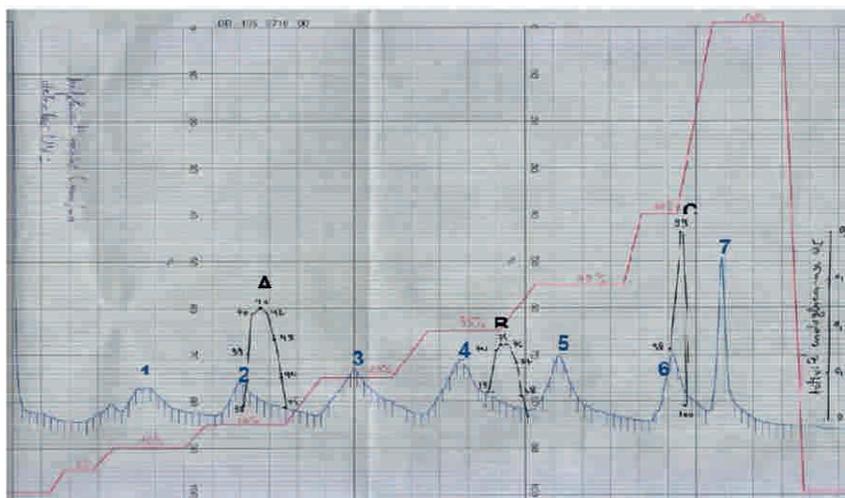


Figure 08. Profil d'éluion des protéines et d'activité endoglucanase sur Q sépharose Hi Trap 5mL.

Le chromatogramme montre 7 pics protéiques dont trois à activité endoglucanase entre 0.15 M et 0.35 M et à 0.6 M de NaCl. Toutes les protéines sont éluées une fois que le gradient de NaCl est mis en place, cela montre que les fractions protéiques sont retenues par la colonne. Les protéines chargées négativement seront retenues sur la colonne alors que les protéines neutres ou chargées positivement seront éluées les premières.

Les protéines sont chargées négativement si leur pHi est inférieur au pH de travail (pH 8.5). Dans le surnageant protéique de la culture *T.emersonii*, 4 endoglucanases sont séparées par chromatographie échangeuse d'anions (Moloney et al. 1985).

3.6. Caractérisation de l'endoglucanase purifiée

•Spécificité vis à vis du substrat

Les résultats montrent que l'endoglucanase purifiée a plus d'affinité pour le CMC avec une activité relative de 100%. Elle dégrade aussi le cellobiose avec une activité relative de 15.35%. Pour l'avicel et le xylane de bouleau l'endoglucanase ne présente aucune activité relative.

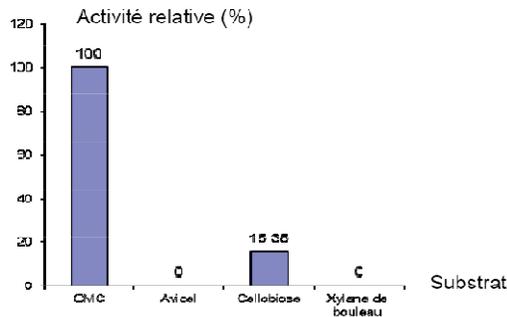


Figure 09. Spécificité de l'endoglucanase A vis-à-vis de différents substrats.

Sur la base de la spécificité du substrat et du mode d'action, les cellulases sont classées comme endoglucanases, cellobiohydrolases ou β -Glucosidases (Wood, 1992). L'utilisation d'une variété de polysaccharides confirme que l'enzyme purifiée dans la présente étude est une endoglucanase. La nature « endo » de l'endoglucanase est confirmée par son l'activité élevée sur la carboxyméthyl cellulose et l'absence d'hydrolyse de la cellulose cristalline (Béguin et Aubert, 1994). Dans certains cas, les endoglucanases peuvent hydrolyser le xylane, c'est le cas de *Fusarium lini* (Rao et al. 1986). L'endoglucanase de *Trichoderma reesei* a révélé également une activité hydrolytique sur une large gamme de substrats à savoir le β -glucane, carboxyméthyl cellulose, hydroxyéthylcellulose, xylane, méthylumbelliféryl- β -D-cellobioside et méthylumbelliféryl- β -D-lactoside (Takashima et al. 1998).

•Paramètres cinétiques

Les caractéristiques enzymatiques de l'endoglucanase A à savoir la constante de Michaelis-Menten (Km) et la vitesse maximale (Vm) sont déterminées à partir de la représentation de Lineweaver-Burk.

[S] mg/mL	0	2	4	6	8	10
(Vi) µg/mL.mn	0	2.4	3.71	4.79	4.81	4.80
(Vi) µmol/mn	0	0.013	0.0205	0.0265	0.0266	0.0266
1/ [S]	0	0.5	0.25	0.16	0.125	0.1
1/ v	0	76.92	48.78	37.73	37.59	37.59

S : Substrat

Vi : vitesse initiale

V: vitesse

Tableau 1. Données sur les vitesses obtenues à différentes concentrations de CMC.

Selon l'équation de Michaelis-Menten :

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

D'où l'équation de Lineweaver-Burk :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

A partir de la représentation graphique on déduit V_{\max} et K_m .

$$-1/K_m = -0.157 \text{ d'où}$$

$$K_m = 6.37 \text{ mg/ml}$$

$$1/V_{\max} = 17.568 \text{ d'où}$$

$$V_{\max} = 0.056 \text{ µmol/mn.}$$

L'activité endoglucanase de la souche *Streptomyces* sp. B-PNG23 est fortement influencée par la concentration en substrat. Les valeurs de K_m d'endoglucanase rapportées sont de 3,6 mg/mL pour *Pseudomonas fluorescens* (Bakare et al. 2005), 4,97 mg/mL pour la souche *Actinobacteria anitratus* et 7,90 mg/mL pour *Branhamella* sp (Ekperigin, 2007). Théberge et al. (1992) ont montré que l'endoglucanase de *Streptomyces lividans* a une V_{\max} de 24,9 U mg et K_m de 4,2 mg mL⁻¹. L'endoglucanase présentant un K_m plus faible pour la carboxyméthyl cellulose indique une plus grande affinité pour ce substrat (Lineweaver et Burk, 1934).

10µL d'enzyme à 0,45 mg/mL sont utilisées (0,0045 mg d'enzyme).

Activité spécifique = 0.056/0.0045=12.44 µmole/min mg.

$$AS = 12.44 \text{ µmole/min x mg.}$$

Constante catalytique (Kcat) :

K_{cat} = est le nombre de moles de produit formées par minute et par mole d'enzyme.

La masse molaire est de 66000 g/mol. On a $4.5 \times 10^{-6}/66000 = 68 \times 10^{-12}$ moles soit

$$68 \times 10^{-6} \text{ µmole}$$

$$V_{\max} = k_{cat} \times [E]_{\text{total}}$$

$$k_{cat} = V_{\max}/[E]_{\text{total}} = 0.056/68 \times 10^{-6} = 0.82 \times 10^3 \text{ mn}^{-1}$$

$$k_{cat} = 0.82 \times 10^3 \text{ mn}^{-1}$$

Références bibliographiques

Abou-Taleb K.A.A., Mashhoor W.A., Nasr S.A., Sharaf M.S., Abdel- Azeem H.H.M (2009). Nutritional and environmental factors affecting cellulase production by two strains of cellulolytic *Bacilli*. *Aust. J. Basic . Appl. Sci.* **3(3)**: 2429-2436.

Bakare M.K., Adewale I.O., Ajayi A., Shonukan O.O (2005). Purification and characterization of cellulase from the wild-type and two improved mutants of *Pseudomonas fluorescens*. *Afri. J. Biotechnol.* **4**: 898–904.

Béguin P and Aubert J.P (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol. Rev.* **13**:25–58.

Bischoff K.M., Rooney A.P., Li X., Liu S., S.R. Hughes (2006). Purification and characterization of a family 5 endoglucanase from a moderately thermophilic strain of *Bacillus licheniformis*. *Biotechnol. Lett.* **28**:1761–1765.

Coughlan M P (1992). Enzymatic - Hydrolysis of hemicellulose — an Overview. *Bioresour Technol.*; **39** : 107 – 115.

Ekperigin M.M (2007). Preliminary studies of cellulase production by *Acinetobacter anitratus* and *Branhamella* sp. *African. J. Biotechnol.* **6**: 28–33.

Ganju R.K., Murthy S.K., Vithayathil P.J (1990). Purification and functional characteristics of an endocellulase from *Chaetomium thermophile* var. *coprophile*. *Carbohydr. Res.* **197**: 245–255.

G.L.Miller (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal.Chem.*, **31**, 426.428

Gomathi D., Muthulakshmi C., Guru Kumar D., Ravikumar G., Kalaiselvi M., Uma C (2012). Submerged fermentation of wheat bran by *Aspergillus flavus* for production and characterization of carboxymethylcellulase. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S67–S73.

Grigorevski-Lima A.L., Da Vinha F.N.M., Souza D.T., Bispo A.S.R., Bon E.P.S., Coelho R.R., Nascimento R (2009). *Aspergillus fumigatus* thermophilic and acidophilic endoglucanases. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **155**: 321–329.

Jan H.D and Chen K.S (2003). Production and characterization of thermostable cellulases from *Streptomyces transformant* T3-1. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* **19**:263–268.

Jecu L (2000). Solid state fermentation of agricultural wastes for endoglucanase production. *Ind.Crops. Prod.* **11**:1-5.

Kochavi D., Videback T and Cedronii D (1990). Optimization processing conditions in enzymatic stone-washing. *Ann. Dyest. Rep.* **9**: 24–28.

Laemmli U.K (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* **22**: 680–685.

Lee S.M and Koo Y.M (2001). Pilot-scale production of cellulose using *Trichoderma reesei* Rut C-30 in fed-batch mode. *J. Microbiol. Biotechnol.* **11**: 229–233.

Li Y., Peng X., Chen H (2013). Comparative characterization of proteins secreted by *Neurospora sitophila* in solid-state and submerged fermentation. *J.Bioscience Bioengineer.* 1-6.

Lineweaver H and Burk D (1934). The determination of enzyme dissociation constants. *J. Americ. Chem. Soc.* **56**: 658–666.

Maeda H., Sano M., Maruyama Y., Tanno T., Akao T., Totsuka Y., Endo M., Sakurada R., Yamagata Y., Machida M (2004). Transcriptional analysis of genes for energy catabolism and hydrolytic enzymes in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* using cDNA microarrays and expressed sequence tags. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **65**: 74–83.

Maeda R.N., Barcelos C.A., Santa Anna L.M.M., Pereira N.J (2013). Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. *J. Biotechnol.* **163**: 38– 44.

Maijala P., Kango N., Szijart N., Viikari L (2012). Characterization of hemicellulases from thermophilic fungi. *Antonie van Leeuwenhoek.* **101**: 905–917.

Mc Carthy A.J. and Williams S.T (1992). Actinomycetes as agents of biodegradation. *Environm. review.* **115** (1-2): 189–192.

Moloney A.P., McCrae S.I., Wood T.M., Coughlan M.P (1985). Isolation and characterization of the 1,4-beta-D-glucan glucanohydrolases of *Talaromyces emersonii*. *Biochemical .J.* **225**: 365–374.

Niranjane A.P., Malhou P., Stevenson T.W (2007). The effect of carbohydrate carbon sources on the production of cellulase by *Phlebia gigantea*. *Enzyme. Microbial Technol.* **40**:1464 – 1468.

Oskay M., Tamer A., Azeri C (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J. Biotechnol.* **3** (9): 441– 446.

Raza M.A and Ue-Rehmane S (2008). Production and characterization of endo- β (1-4) glucanase from thermophilic fungus. *Afr. J. Biotechnol.* **8** (14): 3297– 3302.

Saeeda B., Shah A., Ul Q., Afsheen A., Mohammad NS., Kamran D (2013). High production of cellulose degrading endo-1,4- β -d-glucanase using bagasse as a substrate from *Bacillus subtilis* KIBGE HAS. *Carbohydr Polym.* **91**: 300 – 304.

Sudeep P.G., Absar A., Mala B.R (2001). Studies on carboxymethyl cellulase produced by an alkalothermophilic actinomycete. *Bioresour. Technol.* **77**: 171– 175.

Suominen P., Mäntylä A., Karhunen T., Hakola S., Nevalainen H (1993). High frequency one-step gene replacement in *Trichoderma reesei* II.EVect of deletion of individual cellulase genes. *Mol. Gen. Genetics.* **241**: 523– 530.

Takashima S., Iikura H., Nakamura A., Hidaka M., Masaki H., Uozumi T (1998). Isolation of the gene and characterization of the enzymatic properties of a major exoglucanase of *Humicola grisea* without a cellulose-binding domain. *J Biochem.* **124**:717– 25.

Theberge M., Lacaze P., Shareck F., Morosoli R., Kluepfel D (1992). Purification and characterization of an endoglucanase from *Streptomyces lividans* 66 and DNA sequence of the gene. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 815– 820.

Wood TM (1992). Fungal cellulases. *Biochem. Soc. T.* **20**: 45–53.

INDEX MOTS CLES

A			
activité anticancéreuse	211T1	Dépression	120T2
activité antioxydante	204T1	E	
activité antioxydante	211T1	économie de santé	7T2
adolescent	34T1	effet hypoglycémiant	204T1
agriculture	84T1	effet hypolipémiant	204T1
Algérie	130T1	electrodeposition	143T1
alloxane	192T1	enfant	31T1
antibacterials	143T1	enfant	42T2
Anticorps neutralisants	99T2	Evaluation métrologique	68T2
antidiabétique	192T1	Exposition professionnelle au perchloréthylène	68T2
Anti-inflammatory	152T2	F	
B			
Behçet	5T1	facteurs de risque	31T1
		Fluorohydroxyapatite	143T1
C			
Carcinomes mammaires	174T1	G	
Chirurgie de la main	7T2	Glimépiride	141T2
clinique	5T1	Globularia alypum	187T1
Comportement	120T2	Glucotoxicité	187T1
contraintes au travail	110T1	H	
Cyclamen africanum Boiss & Reut	211T1	Homocystéine	162T2
Cyclosporine	120T2	hospitalisation du jour	7T2
cytokines	5T1	hypouricemic	152T2
D			
Dépression	120T2	I	
Diabète	192T1	Immunohistochimie	174T1
diabète	42T2	Immunoprotection	99T2
diabète expérimental	141T2	innovation	42T2
diuretic	152T2	Irradiation gamma	99T2

L		Réponse inflammatoire	99T2
L-Arginine	5T1	Résistance	130T1
Leishmania major	130T1	Risques	71T1
lipides	162T2	Rubus fruticosus	192T1
lycopène	162T2	S	
M		santé mentale	71T1
maladie de Parkinson	84T1	Sidi Bel-Abbès	71T1
MDA	187T1	solvants	84T1
mères, savoir d'expérience	42T2	sous-types moléculaires	174T1
N		Stress de contention	120T2
Nigella sativa	204T1	stress oxydatif	187T1
N-methylglucamine	130T1	surpoids	31T1
NOS	5T1	Syndrome coronaire aigu	110T1
obésité	31T1	T	
P		test psychométrique	68T2
peroxydation lipidique diabète expérimental	204T1	U	
pesticides	84T1	Uvéite	5T1
phase	5T1	V	
Plantes médicinales	192T1	Venin d'Androctonus australis hector	99T2
Plantes médicinales	141T2	virulence	130T1
polyphénols	187T1	X	
prévalence	31T1	xanthine oxidoreductase	152T2
prise en charge	42T2	Z	
protéines carbonylées	187T1	Zygophyllum cornutum Coss	141T2
R			
rats	162T2		
Rats	120T2		
réinsertion professionnelle	110T1		

INDEX AUTEURS

A

ABDELMALEK M.	30T2	BOUDARENE L.	187T1
ABDI L	84T1	BOUDRAHEM-ADDOUR N.	162T1
ADI-BESSALEM SONIA	92T2	BOUDRISSA A	130T1
AIBECHE C.	219T1	BOUGHRAOU RL.	93T1
AIT AMRANE ABDELLAZIZ	124T1	BOUHADIBA H	31 T1
AIT YAHIA S.	62T2	BOUIBA L	130T1
AMRI M.	5T1	BOUKHRIS N.	120T2
AOUICHAT-BOUGUERRA S.	189T1,204T1,162T2	BOUKORTT C.	93 T1
AOURAS H.	49T1	BOULENOUAR Houssam	107T2
ARAB A	130T1	BOUDARENE L.	187T1
ARAB M	162T2	BOUMAZA SALIHA.	187T1
ASSAM S.	30T2	BOUSSAG-ABIB LILA	99T2
ATTOU M.	80T2	BROUK HACENE	165T1
AZZOUZ NAOUEL	24T1,61T1		

B

BARAKA F	84T1	CHERB DALILA	24T1
BAROUCHE O	130T1	CHERIFI M	162T2
BEGHDADLI B	84T1	CHERRALLAH A.	162T1
BEHAILIL T.	5T2	CHETTOUM A.	120T2
BEKKOUCHE Z	174T1	CHOUTRI H.	62T2
BELGHOUL S	31T1	CHERB DALILA	24T1
BELGUENDOZ H.	5T1	CHERIFI M	162T2
BELHADJ Z.	71T1,68T2	CHERRALLAH A.	162T1
BELHAMICHE N	181T2		
BELKHELFA M.	5T1	DERRADJ M.	192T1,141T2
BELKHRESSAT R.	80T2	DIB-BELLAHOUEL S.	216 T1
BENABADJI S	84T1	DINA ATMANI	152T2
BENABDI.K	110T1	DJABRI YACINE	162T1
BENALI F	174T1	DJAZOULI. M.A	107T1
BENALLAL K	34T1	DJEBBAR ATMANI	152T2
BENALLAOUA S	162T2		
BENAOUM F/Z	24T1,61T1		
BENAZZOUG Y	187T1,162T2		
BENBETKA S	130T1		
BENDAHMANE M	31T1		
BENHAMZA M	31T1		
BENHASSINE T.	162T1		
BENLAAREDJ A	84T1		
BENMANSOUR ZAKARIA	65 T2		
BENSIAMEUR-TOUATI K.	204 T1		
BENYAHIA H.	143 T1		
BOUCHENAK D	84T1		
BOUCHERBA N	181T2		

C

D

E

F

G

GHOMARI O	81T1	MEKHALFIA L	162T2
GUEDOUAR Y	171T1	MENADI A.	5 T2
GUEDRI K.	120T2	MENIGUED F.	5 T2
GHOMARI O	81T1	MERAD L.	40T1

H

HAMADOUCHE T.	159T1	MERIE M BERBOUCHA	154T2
HAMANI MEDJAOUI Imane	106T2	MEROUFEL Djabaria Naïma	106T2
HAMCHAOU F.	90T1	MERIAH S.M.	40T1
HAMDI MR.	5T2	METAÏ A.	120T2
HAMIMED ME	81T1	METTICHE A.	90T1
HAMZA-CHERIF F	31T1	MEZIOUG D.	5T1
HARRAT Z.	127T1	MIMOUNI NABILA	30T2
HENCHIRI C.	189T1,141T2	MOHAND ZINE AIT MEZIANE	152T2

N

HENEB A	162T2	NAFAÏ D.	90T1
HERMANT Xavier	106T2	NAIMA SAIDENE	152T2
		NEGGAZ S	184T1
		NEGGAZI SAMIA.	184T1

I

IDER M	81T1
--------	------

K

KACIMI G.	184T1,201T1	OTHMANI K	162T2
KANDOUCL.A.B	68 T1,81T1,68T2	OTMAN A	162T2
KANDOUCL.C	68T1,68T2	OUAZOUAZ M.	189T1,141T2
KARIMA AYOUNI	152T2	OUELAA HANIFA	162T1
KECHA M	180T2	OUHAIBI DJELLOULI H.	106T2
KERMANI I.	216T1		
KHELIFATI LOUBNA	201T1		
KHERACHI I	127T1		
KHIREDDINE .H	140T1		
KHODJA K	31T1		

O**L**

LADJADJ Y.	15T1	RAFA H.	5T1
LAMRAOUI AMEL	93T1	RAHALI S	127T1
LAOUAMRI S.	15T1		
LARABA-DJEBARI FATIMA	93T2,99T2		
LARDJAM HETRAF Sarah Aïcha	106T2		
LARIBI B.	121T1		
LAYADI KHALED	24T1		

R**S****M**

MAZOUZ W.	208T1	SID S.	5T2
MEBTOUL MOHAMED	58T1,42T2	SMAIL LEILA.	184T1
MEDIENE BENCHEKOR Sounnia	106T2	SOUALILI Z.	15T2,62T2
MEGHLAOUI F.	30 T2		
MEKADEMI S	127T1		

T**Y**

TAHRAOUI A.	120T2	YAHOUICHE N.	5 T2
TALEB A	81T1	YEFSAH-IDRES A	162T2
TEBBOUNE.CB	107T1		
TIGHIOUART B.	46T1		
TOUABTI S.	15T2		
TOUIL-BOUKOFFA C	5T1		

Z

ZENATI A	162T2
ZERGOUN D.	68T2
ZERIFI AMINA	201T1
ZERMAT BESMA BEHIA	162T1
ZITOUNI F. E. H.	216T1
ZOUAK N.	15T2

NB :

T1 \Leftrightarrow TOME1

T2 \Leftrightarrow TOME2