

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 اليبوطبية
Le pilote national de la recherche dans le domaine biomédical et en santé

TOME 1

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

TOME 1



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 FŒTALES ET NEONATALES ALLO-IMMUNES : DEPISTAGE SYSTEMATIQUES DES GROSSESSES A RISQUE D'ALLO-IMMUNISATION.....	165
DETERMINATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE 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 RATTUSNORVEGICUS.....	204
POUVOIR ANTIOXYDANT ET ANTICANCEREUX DES EXTRAITS DU CYCLAMEN AFRICANUM.....	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 LA CREATION D'UNITE HOPITAL DU JOUR EN CHIRURGIE DE LA MAIN DANS LES WILAYAS DE SKIKDA, 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 L'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 AGES A L'HOPITAL :Le cas de CHU de SIDI BEL ABBES.....	80
REPOSE 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.....	120
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.....	141
ACTIVITES BIOLOGIQUE DES EXTRAITS DE PLANTES MEDICINALES LOCALES:CLEMATIS FLAMMULA ,FRAXINUS ANGUSTIFOLIA ET PISTACIA LENTISCUS.....	152
EFFETS DU LYCOPÈNE SUR LE TISSU HÉPATIQUE ET CARDIAQUE CHEZ LE RAT WISTAR SOUMIS A UN RÉGIME SUPPLÉMENTÉ EN MÉTHIONINE.....	162
VALORISATION DES DECHETS LIGNOCELLULOSIQUES PAR FERMENTATION SUR SUBSTRATS SOLIDES.....	180

**CYTOKINES ET MONOXYDE D'AZOTE : MECANISMES IMMUNO
INFLAMMATOIRES ET ACTION THERAPEUTIQUE DANS L'UVEITE DE BEHÇET.**

BELGUENDOZ H.¹, RAFA H.¹, AMRI M.¹, BELKHELFA M.¹, MEZIOUG
D.¹, TOUIL-BOUKOFFA C.¹

*Equipe «Cytokines et NO Synthases : immunité et pathogénie», LBCM, USTHB,
Alger*

Code N°: 43-ANDRS2011

Introduction : Les pathologies inflammatoires chroniques représentent un ensemble de maladies ayant un lourd impact socio-économique. Dans notre projet, nous avons situé l'engagement des voies immunitaires Th1, Th2, Th17/Treg dans la régulation des NOS2 au cours des phases actives des MICI et de l'uvéite Behçet, atteinte pouvant conduire à la cécité. Dans le présent travail, nous nous sommes focalisés sur le rôle régulateur des cytokines sur le système NOS/ Arginase au cours de l'uvéite Behçet. Patients et méthodes : 46 patients suivis au niveau des services d'ophtalmologie et de médecine interne des CHU Mustapha Bacha et Bab El Oued d'Alger ont été inclus dans cette étude. Nous avons mesuré l'expression des marqueurs des LBPs par cytométrie en flux (CD5, CD19, CD38, TLR4) ainsi que l'effet *ex vivo* de différents effecteurs cytokiniques (TNF- α , IFN- γ), métaboliques et/ou immuno-modulateurs (LPS, HSP...etc.) sur l'activité des NOS et des arginases dans les cultures des PBMCs, des PBLs et des MDMs des patients et sur culture d'explants oculaires bovins. Résultats : Nous avons observé des modifications significatives des taux de cytokines et des métabolites de la L-Arginine *in vivo* et *ex vivo* en fonction des phases des maladies et des effecteurs utilisés. L'analyse phénotypique a montré une activation cellulaire accrue (CD38⁺) sous l'effet des plasma des patients.

Conclusion : Notre étude a indiqué l'engagement des cytokines dans la régulation du métabolisme de la L-Arginine au cours de l'uvéite. Ces données situent de manière non négligeable l'implication de l'interface «immunité/métabolisme» dans l'induction, le maintien et la chronicité des réponses inflammatoires caractérisant les phases évolutives de la pathologie. Nos résultats ouvrent des perspectives prometteuses dans l'immuno-surveillance des patients et la mise en place de stratégies bio- thérapeutiques dans l'uvéite Behçet.

Abreviations : PBMCs : cellules mononucléées du sang périphérique; LBP : Lymphocytes B périphériques ; MDMs : macrophages dérivés des monocytes, PBL : leucocytes du sang périphérique= Peripheral Blood Leucocytes.

Mots clés : Cytokines, L-Arginine, NOS, Uvéite, Behçet, phase clinique

Introduction :

La maladie de Behçet est une maladie systémique, inflammatoire, chronique et considérée comme une vascularite [1]. Elle est caractérisée par une inflammation intraoculaire (uvéïte), des ulcérations orales et génitales, des lésions cutanées ainsi que de nombreuses atteintes viscérales évoluant par poussées [2]. Bien que son étiologie demeure incertaine, des composantes infectieuses, génétiques et auto-immunes ont été mises en évidence [3]. Les mécanismes physiopathologiques de la maladie impliquent surtout les réponses immunitaires à médiation cellulaire [4]. En effet, l'uvéïte est caractérisée par une infiltration cellulaire locale, ce qui implique une réponse immunitaire contre les structures oculaires [5]. De plus, les taux élevés d'immunoglobulines dirigées contre les protéines oculaires sont en faveur de la présence d'une réponse auto-immune [5]. L'antigène S (AgS) ou arrestine visuelle est une protéine soluble localisée principalement au niveau des photorécepteurs rétiniens où il intervient dans la photo-transduction lumineuse. Il a été impliqué dans de nombreuses pathologies intraoculaires [6].

Durant l'uvéïte, de nombreux types cellulaires infiltrant ou résidents peuvent participer à l'initiation et l'exacerbation de la réponse inflammatoire locale et systémique. En effet, la composition de l'infiltrat cellulaire est hétérogène et comporte tous les types cellulaires [7,8]. Les cellules impliquées dans la réponse immunitaire peuvent agir directement ou par le biais de médiateurs solubles tels que les cytokines et les anticorps. En effet, certaines études ont montré une augmentation de la production de nombreuses cytokines telles que l'IL-2, l'IL-6, l'IL-8, l'IL-12 et le TNF- α [9, 10, 11]. Dans une étude antérieure, notre équipe a pu mettre en évidence l'augmentation de la production de NO associée à un profil Th1/Th2 chez des patients atteints de la maladie de Behçet et présentant une uvéïte active [12]. D'autres travaux ont révélé la présence de quantités significatives de NO dans les larmes des patients atteints de cette affection [13]. Le NO apparaît comme une biomolécule agissant dans la phase effectrice mais également dans la régulation des réponses cellulaires [14]. Il est généralement synthétisé par la NOS2 (NO Synthase inductible) au cours des réponses immunitaires sous l'action essentielle de l'IFN- γ . Sa synthèse peut être amplifiée suite à la régénération du substrat des NOS, la L-arginine via le cycle du NO à partir de la L-citrulline. Cette dernière, co-produit du NO, peut être également synthétisée à partir de l'ornithine, produit des arginases à partir de l'arginine formant le cycle de l'urée [15].

Notre travail a porté essentiellement sur l'étude du rôle des cytokines Th1, Th2, Th17 et Treg, des dérivés du métabolisme de l'arginine et de l'AgS dans les mécanismes de pathogénèse de l'uvéïte Behçet. Dans le même contexte, nous avons exploré les réponses toxiques tissulaires et cellulaires locales en réponse aux différentes molécules considérées au préalable chez les patients et sur les explants oculaires bovins.

Patients et méthodes :**Patients :**

Notre étude a porté sur une cohorte de 87 patients atteints de la maladie de Behçet et de 65 sujets sains. Les patients étaient suivis au niveau des services d'ophtalmologie des CHU Mustapha Bacha, Nafissa Hamoud et Bab Eloued ainsi que des services de médecine interne des CHU Mustapha Bacha et Bab Eloued.

Yeux de bœuf :

Les yeux de bœufs ont été utilisés comme modèle expérimental du fait de la présence de similitudes structurales entre l'œil humain et l'œil bovin. L'étude a porté sur plus de 300 yeux fraîchement énucléés au niveau des abattoirs d'Alger. Après avis du vétérinaire, tout œil présentant une anomalie a été exclu de l'étude.

Méthodes :

Séparation des PBMC et des Lymphocytes B :

Les cellules mono-nucléées du sang périphérique (PBMC) ont été obtenues par gradient de densité sur ficoll-hypaque. Les lymphocytes B du sang périphérique (LBP) ont été obtenus à partir des PBMC suite à une séparation par test de rosettes suivie d'une séparation sur billes magnétiques.

Préparation des explants et des cellules oculaires :

Les explants rétiens, iridiens, cornéens ainsi que les explants oculaires des parties antérieures et postérieures ont été séparés par dissection.

Culture cellulaire :

Les différentes populations cellulaires ont été mises en culture à 37°C dans une atmosphère humide pendant 24h ou 48h. Les milieux de cultures utilisés pour les PBMCs sont : le RPMI 1640 additionné de 5% de SVF et de 2mM de Glutamine, le MEM additionné de 10% de SVF, le DMEM additionné de 10% de SVF ou les plasma (des patients et des sujets sains). Les lymphocytes B périphériques ou amygdaliens ont été mis en culture dans du RPMI 1640 additionné de 10% de SVF et de 2mM de glutamine. Pour les explants et les cellules oculaires, seuls le MEM ou le DMEM additionnés de 10% de SVF ont été utilisés. Tous les milieux de culture contenaient des antibiotiques (streptomycine à 100UI/ml, gentamycine à 10mg/ml, ampicilline à 100UI/ml ou pénicilline à 200mg/ml).

Les différentes cultures ont été traitées par les différents effecteurs mitogéniques (PHA), antigéniques (extrait rétinien brut, AgS), métaboliques (acides aminés), pharmacologiques (NMMA, BH4), cytokiniques (IFN α , IL-18, IL-6, IL-10) ou anti-cytokiniques (anti- TNF α , anti-IFN α , anti-IL-4, anti-IL-6, anti-IL-10). Selon les protocoles expérimentaux, ces différents traitement ont été donnés séparément ou en association.

Dosage des cytokines :

Les différentes cytokines (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- γ , BAFF, TGF- β) ont été dosées par ELISA sandwich selon les recommandations des fabricants. Les seuils de détection étaient tous inférieurs à 1pg/ml.

Dosage des nitrites résiduels et totaux :

Les concentrations du NO dans les plasma et les surnageants de culture a été estimée par le dosage de ses dérivés physiologiquement stables : les nitrites et les nitrates. Les nitrites résiduels ont été mesurés par la méthode de Griess modifiée. Les nitrites totaux (nitrites+nitrates) ont été obtenus après réduction bactérienne des nitrates en nitrites par la souche *Pseudomonas oleovorans* (ATCC 8062) [16].

Dosage de l'urée :

Le dosage de l'urée dans les plasma et les surnageants de culture a été effectué par la méthode colorimétrique enzymatique de «Berthelot» modifiée : L'urée est hydrolysée par l'uréase en produisant de l'ammoniaque. Les ions d'ammonium se transforment à l'aide de salicylate et d'hypochlorite en formant un colorant vert dont l'absorbance à 580nm.

Analyse des lymphocytes B par cytométrie en flux :

Les LBP mis en culture ont été analysés par cytométrie en flux avant culture pour vérifier leur pureté (marquage CD5, CD19). Après culture, les LBP ont subi un quintuple marquage (CD19, CD5, IgD, CD38, TLR-4, BR3). Les iso-types anti-souris spécifiques à chaque molécule ont été utilisés comme contrôle négatif.

Etude histochimique et immuno-histochimique des explants oculaires :

Les explants oculaires mis en culture en présence ou pas de l'AgS (10 et 20 μ g/ml) ont fixés avec du formol tamponné à 10% après 48h d'incubation. Après déshydratation et imprégnation, les explants ont été inclus dans la paraffine puis des coupes ont été réalisées à 4 μ m. Après déparaffinage, les lames ont été colorées avec la coloration topographique H&E ou avec la coloration de Mallory.

La détection des NOS ou de l'apoptose au niveau des différentes structures a été réalisée par immuno-histochimie.

Analyse des transcrits de l'IFN γ par RT-PCR:

Les PBMC des patients, mis en culture pendant 24h dans du RPMI 1640 additionné de 10% de SVF et de 2mM de L- Glutamine en présence ou en absence d'IL-10 à 200pg/ml. Les ARN ont été extraits à partir des PBMC avec du RNazol B suivi d'une transcription reverse en utilisant des hexamères randomisés et la transcriptase reverse SuperScript II (Invitrogen) selon le protocole du fabricant. 40 cycles de PCR ont été réalisés après la dénaturation initiale (95°C, 5min) avec les paramètres suivants : dénaturation à 95°C pendant 15 min; hybridation à 60°C pendant 15s; élongation à 72°C pendant 35s, avec des vitesses de transition de température de 20°C/s. les amorces utilisés pour l'IFN- γ et la β -actine sont les suivants :

IFN- γ directe :

ATGAAATATACAAGTTATATCTTGGCTTT, IFN- γ inverse
: ACGACAAAGCTCCAGCTTCTCGTAG;

β -actine forward: TTGCCGACAGGATGCAGAA;

β -actine reverse: GCCGATCCACACGGAGTACT.

Les produits de la PCR ont été visualisés sur un système d'imagerie chemidocXRS (Bio-Rad) après électrophorèse sur gel et marquage au bromure d'éthidium. La taille des produits a été estimée après comparaison à des marqueurs de PM de 500pb (Invitrogen).

Résultats et discussion :

- 1- Concentrations cytokiniques *in vivo* chez les patients atteints d'uvéite Behçet et chez les sujets sains :

Le dosage des cytokines au niveau des plasma des patients atteints de l'uvéite Behçet a montré une augmentation significative des taux de toutes les cytokines testées comparés aux taux retrouvés chez les sujets sains. En effet, les cytokines marqueurs de la voie Th1 (IL-12, IFN- γ et IL-18), Th2 (IL-4) et Treg (IL-10 et TGF β) ont montré des concentrations supérieures à celles retrouvées chez les témoins (figure 01). Ces résultats reflètent l'état d'activation immunitaire rencontrée chez les patients atteints de l'uvéite Behçet. Ils suggèrent la présence d'une réponse lymphocytaire T hétérogène (Th1/Th2/Treg) probablement dirigée contre une multitude d'auto-antigènes. De plus, l'IL-6 et l'IL-8, cytokines marqueurs de l'inflammation aigue et/ou chronique, ont également montré une augmentation significative pendant la phase active de la maladie (figure 1). L'augmentation de l'IL-8 pourrait être responsable de l'activation des polynucléaires neutrophiles (PNN) retrouvée au cours de la maladie de Behçet. Elle peut également servir de boucle

d'amplification puisque l'IL-8 peut être sécrétée par les PNN eux même contribuant ainsi à maintenir le statut inflammatoire au cours de la maladie. Par ailleurs, l'IL-6, de part son importante action pléiotropique, intervient autant dans les processus inflammatoires aigue que chronique en orientant les réponses cellulaires vers un profil Th17 et en favorisant la différenciation des lymphocytes B. L'augmentation simultanée des taux de l'IL-6 et du TGF- β est en faveur de la présence d'une réponse Th17, elle même caractérisée par une activation accrue des PNN en plus de l'activation de la réponse cellulaire. Ces deux réponses, rencontrées au cours de la maladie de Behçet, sont en accord avec cette hypothèse. La cytokine BAFF, molécule clé dans la survie, la prolifération et la différenciation des lymphocytes B, a également montré une augmentation significative au cours de l'uvéite Behçet (figure 01). Elle pourrait également être impliquée dans la physiopathologie de la maladie par son aptitude à induire des réponses de type Th1.

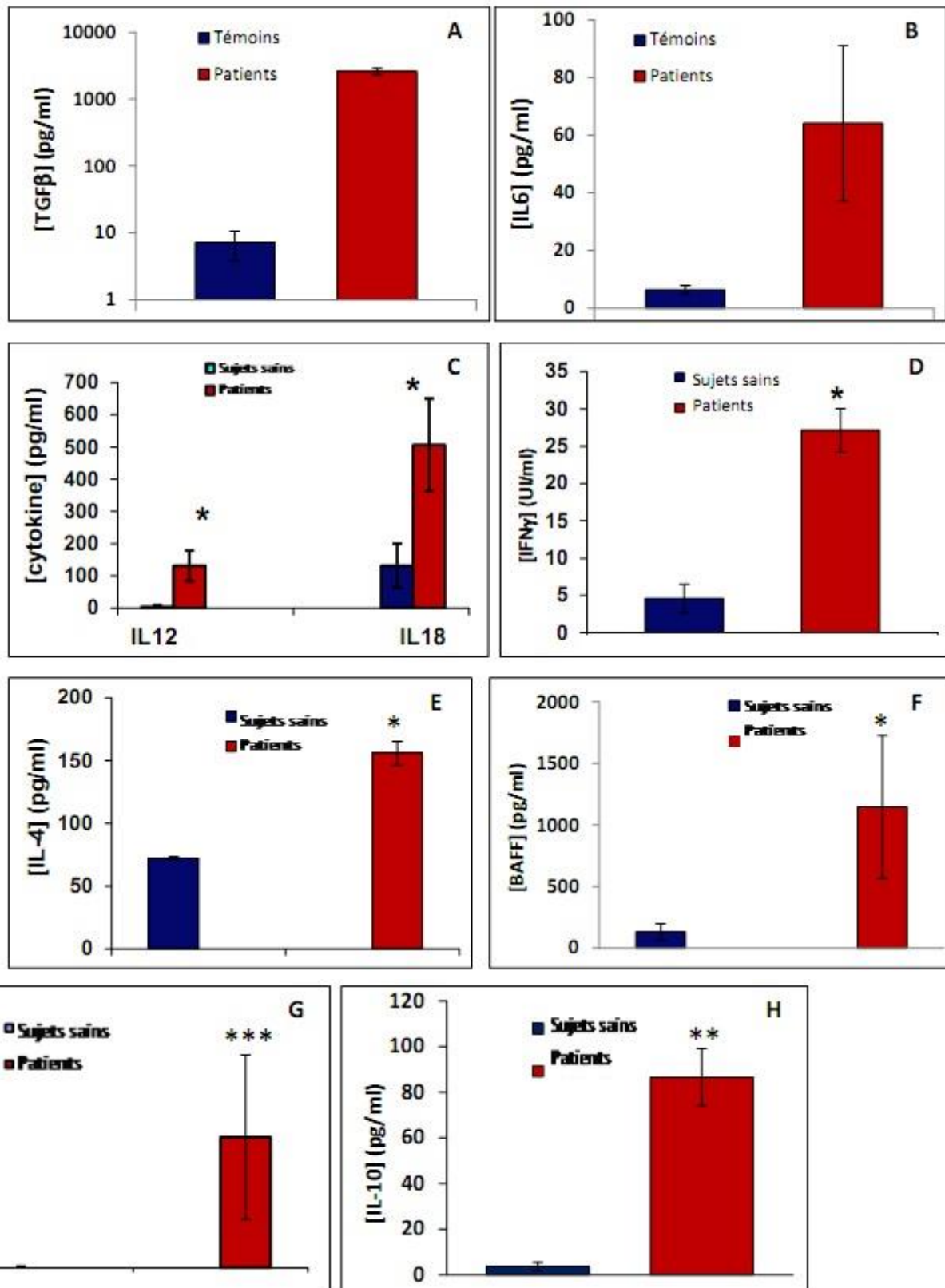


Figure 01 : Concentration plasmatique des différentes cytokines chez les patients atteints d'uvéite Behçet et les sujets sains (A : IL-6, B : TGF-β, C : IL-12 et IL-18, D : IFN-γ, E : IL-4, F : BAFF, G : IL-8, H : IL-10)

2- Concentrations *in vivo* du NO et de l'urée chez les patients atteints d'uvéite Behçet et chez les sujets sains :

L'étude de la production du monoxyde d'azote et de l'urée, dérivés majeurs du métabolisme de l'arginine, a montré une augmentation des taux des deux molécules au niveau des plasma (figure 02). En effet, les taux des obtenus sont plus élevés chez les patients atteints d'uvéite Behçet que chez les sujets sains. Ces résultats reflètent l'augmentation de l'activité des NOS et des arginases. La NOS₂, ou NOS inducible, peut être induite par de nombreuses cytokines telles que l'IFN- γ et le TNF- α . Ces deux cytokines sont augmentées au cours des phases aiguës de la maladie de Behçet. De même, les arginases I et II, peuvent être induite par les cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et TNF- α) ou par les cytokines des voies Th2 (IL-4) et des T reg (IL-10 et TGF- β). Nous avons montré que ces cytokines sont également significativement élevées au cours de la maladie de Behçet. Cependant, l'augmentation des taux de nitrites étaient plus importante que celle de l'urée.

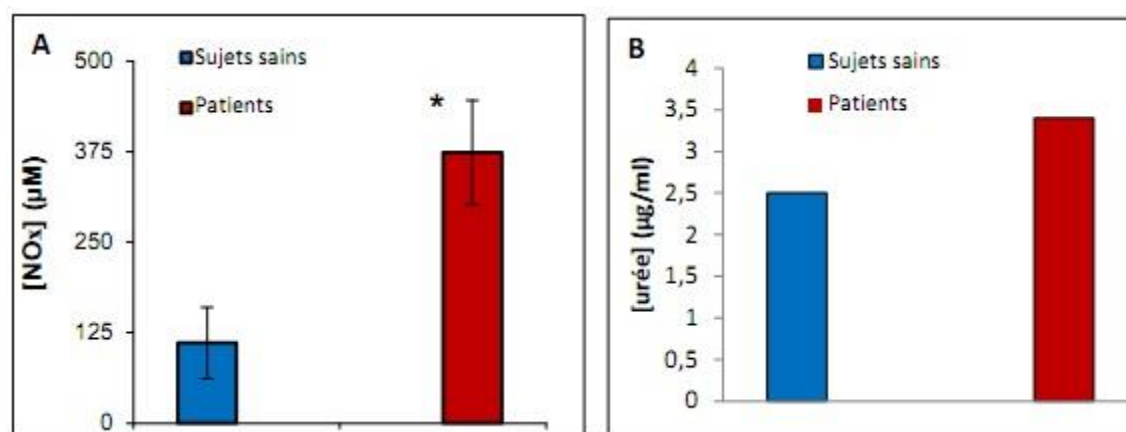


Figure 02 : Taux plasmatiques des nitrites totaux (A) et de l'urée (B) chez les patients atteints d'uvéite Behçet et chez les sujets sains

3- Effet immuno-modulateur des plasma des patients atteints d'uvéite Behçet :

a. Effet immuno-modulateur des plasma sur la production du NO et de l'urée :

Le traitement des PBMCs en culture par les plasma des patients a induit une augmentation des taux du NO et de l'urée (figure 03). Cette augmentation était proportionnelle à la quantité de plasma ajouté. En effet, l'addition des plasma (à 20%) dans les milieux de culture des PBL et des PBMC a induit une augmentation des taux des deux molécules. Cette augmentation serait due à l'effet des différents facteurs présents au niveau plasmatique chez les patients et plus précisément à l'effet des cytokines dont les taux augmentent *in vivo*. Par ailleurs, les valeurs retrouvées dans les surnageants des cultures des PBMC des patients sont supérieures à celles retrouvées au niveau des surnageants des cultures des sujets sains lorsqu'elles sont traitées avec les mêmes plasma. Ces résultats reflèteraient un état de pré-activation cellulaire chez les patients atteints d'uvéite « Behçet » qui pourrait lui-même être du à la présence des cytokines dans l'environnement cellulaire *in vivo* ou intégrant des mécanismes physiopathologiques en relation au dysfonctionnement cellulaire associé à une hyper- réactivité cellulaire vis-à-vis des facteurs environnementaux. Cette dernière hypothèse est en accord avec plusieurs études portant sur les dysfonctionnements cellulaires touchant les lymphocytes T et les cellules productrices de NO et/ ou d'urée (macrophages et polynucléaires).

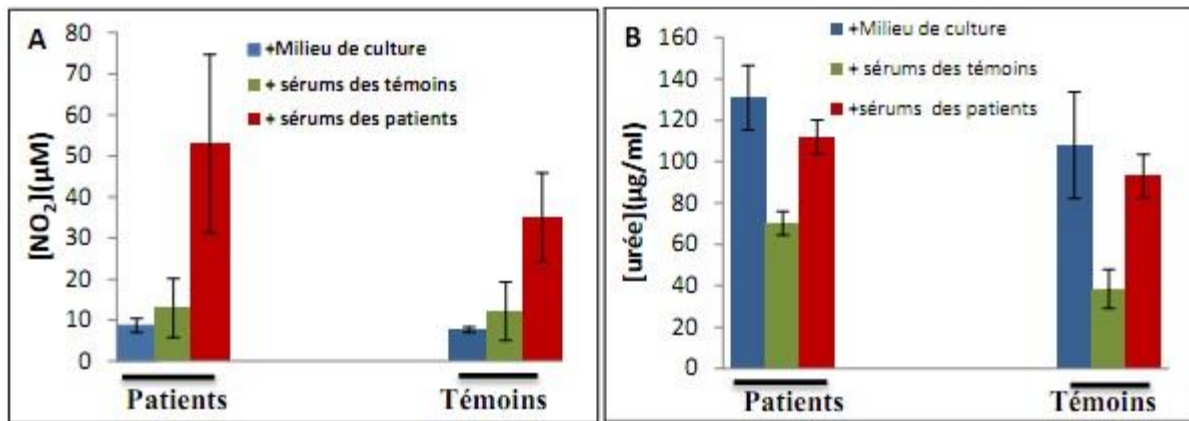


Figure 03 : Concentrations des nitrites résiduels (A) et de l'urée (B) dans les surnageants des cultures de PBMC traités ou pas avec les sérums des sujets sains ou des patients.

b. Effet immuno-modulateur des plasma des patients sur les LBP :

Le traitement des cultures des LBP par les plasma des patients a induit une modification significative de la répartition des sous populations cellulaires. En effet, les plasma des patients ont induits des réponses cellulaires en fonction du stade d'activité et du taux de cytokine présents dans le plasma.

L'addition des plasma des patients aux cultures des LBP n'a pas induit de modification dans l'expression de l'IgD. Par contre, pour le CD38, marqueur d'activation cellulaire, nous avons noté des réponses hétérogènes en fonction du sujet. En effet, certains plasma de patients n'ont pas montré de différences avec les cultures témoins alors que d'autres ont induit une augmentation significative dans la proportion des cellules « IgD⁻, CD38⁺ » (figure 04 A, B). L'analyse de l'expression du CD5 en fonction de la sous population cellulaire a montré des différences significatives en de l'expression de l'IgD. En effet, les sous populations IgD⁻ ont montré une augmentation significative de l'expression du CD5 alors que celles qui sont IgD⁺ n'ont montré qu'une très légère élévation (figure 04 C-F).

L'analyse de l'expression du Br3, récepteur de la cytokine BAFF, et du TLR4, récepteur des Hsp 60, sur les LBP a montré un effet modulateur négatif significatif des plasma sur les deux récepteurs. Ce résultat pourrait être du à une internalisation des molécules suite à leur liaison à leurs ligand spécifiques ; en effet, nous avons noté la présence de taux élevés de BAFF chez les patients. de plus, des taux élevés de Hsp 60 circulante ont été retrouvé au cours des phases actives chez les patients atteints de la maladie de Behçet.

Très peu d'études ont porté sur l'exploration phénotypique des LB dans la maladie de Behçet. Cependant, il a été noté qu'il existait un état d'activation cellulaire en dépit d'une absence dans les proportions des populations cellulaires. Nos résultats sont en accord avec ces travaux. Les modifications observées dans les profils d'expression des différents marqueurs suggèrent un effet modulateur des plasma des patients sur les différentes sous populations des LBP. Cet effet pourrait être causé par les différentes molécules solubles présentes dans le plasma. En effet, les patients présentent des taux élevés de cytokines impliquées dans la régulation de l'activité des LB telles que les cytokines IL-4, IL-6, IL-10 et BAFF. De plus, les LB peuvent être régulés positivement via l'activation des TLRs dont le TLR4.

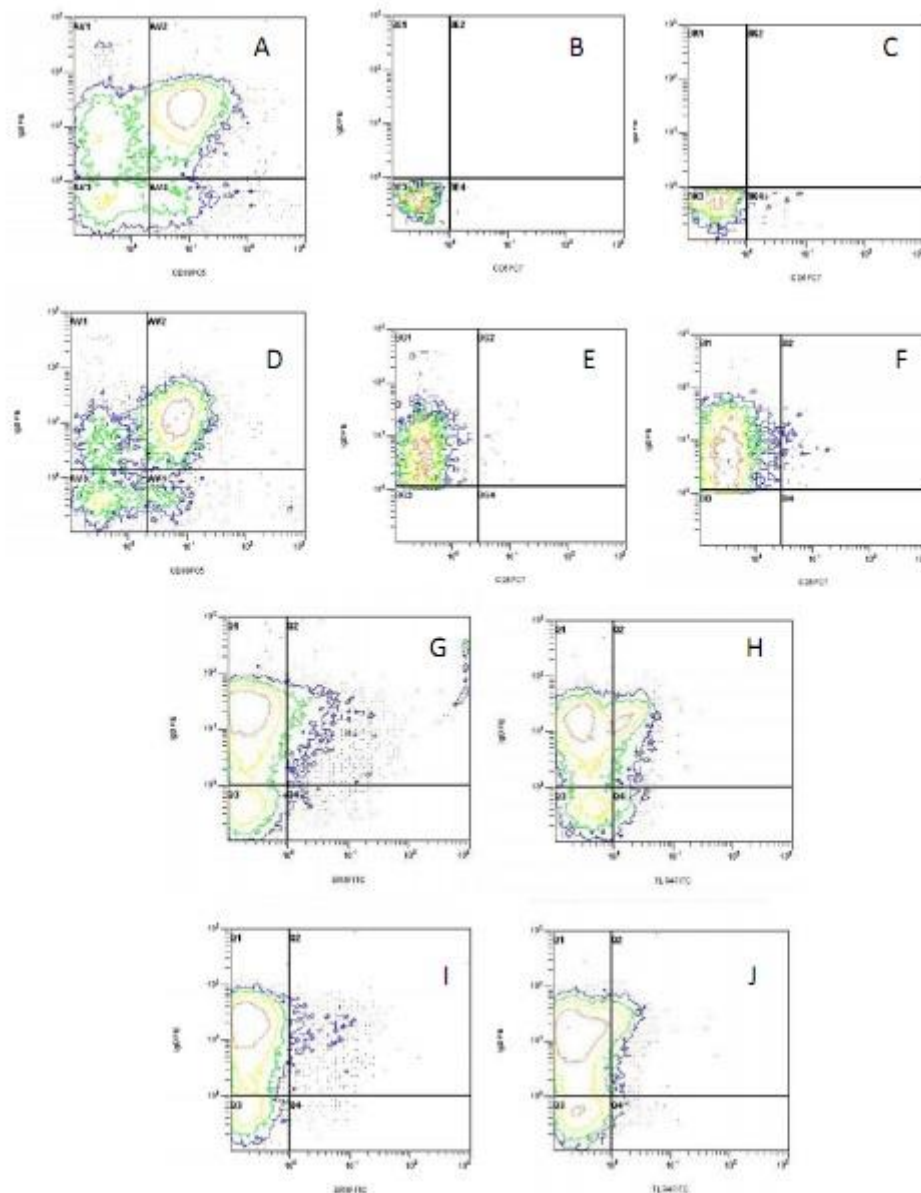


Figure 04: Effet des plasma des patients sur l'expression des différents marqueurs cellulaires (IgD, CD38, CD5, Br3 et BAFF) sur les LBP témoins (A,D : IgD; B,C,E,F : CD5; G,I :Br3; H,J :TLR4)

4- Etude des réponses cytokiniques au cours de la maladie de Behçet :

a. Modulation antigénique et mitogène de la production des cytokines:

Le traitement des cultures des PBMCs des sujets sains et des patients atteints d'uvéïte Behçet par la PHA, un agent mitogène, a induit différentes réponses chez les deux catégories de sujets (figure 5). En effet, la PHA a induit une augmentation de toutes les cytokines testées (IL-8, IL-12, IL-18 et IFN- γ) chez les sujets sains. Par contre, chez les patients, la PHA a induit une augmentation significative des taux de l'IL-8, de l'IL-18 et de l'IFN- γ alors que les taux de l'IL-12 sont restés inchangés. Ces différences, également suggèrent des modes de régulation différents entre l'IL-12 et les autres cytokines étudiées. En effet, quoique l'IL-8, l'IL-12 et l'IL-18 soient produites par les cellules du système monocyte/macrophage, elles peuvent être induites par des mécanismes différents.

Contrairement aux résultats obtenus avec la PHA, le traitement par l'AgS n'a induit aucune réponse significative chez les sujets sains. Par contre, chez les patients atteints d'uvéite Behçet, nous avons noté une augmentation significative des concentrations de l'IL-8, de l'IL-12 et de l'IFN- γ . Ces résultats montrent la présence de cellules auto-réactives chez les patients et que l'AgS induit une réponse de type Th1. Nous avons préalablement montré la présence d'un profil mixte Th1 :Th2 au cours de l'uvéite Behçet. L'un des auto-antigènes induisant le profil Th1 serait, selon nos résultats l'AgS. D'autres travaux ont préalablement montré la présence d'une réponse Th1 dirigée contre l'AgS notamment au cours des uvéites expérimentales auto-immunes induites par l'AgS. Nos résultats corroborent ces données.

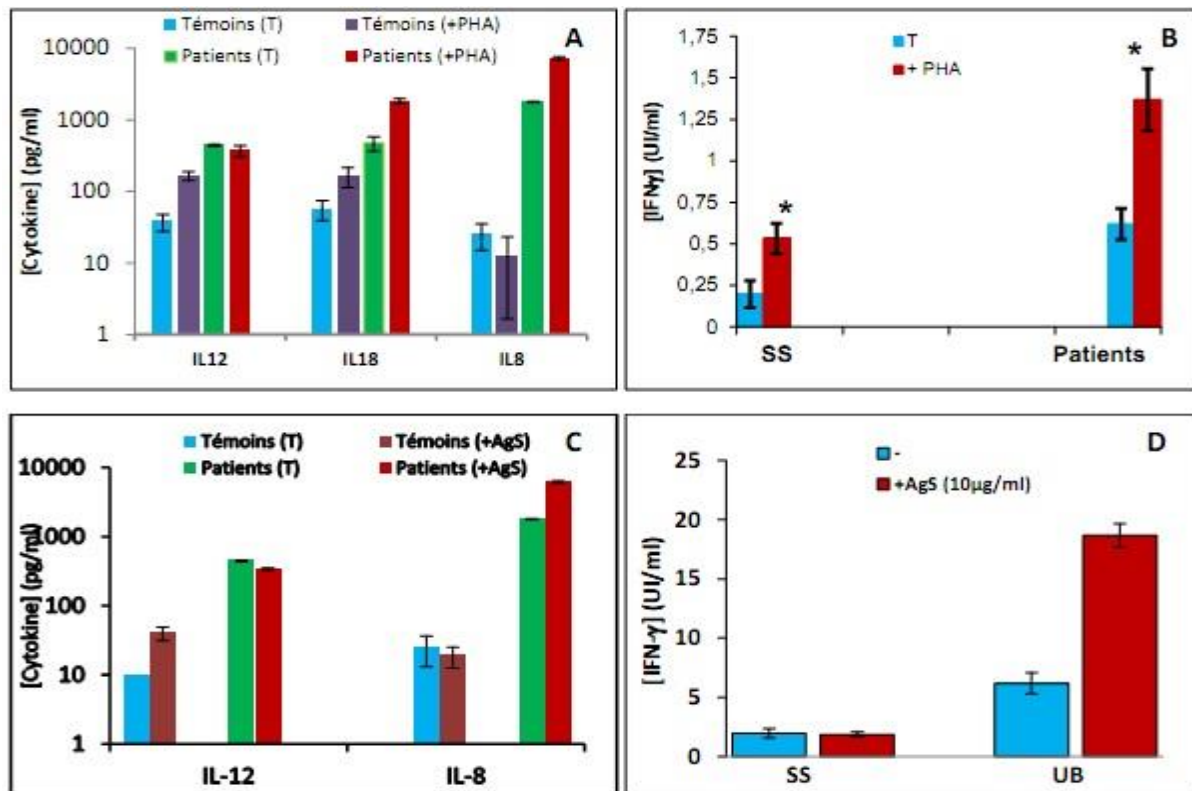


Figure 05 : Concentrations des cytokines dans les surnageants des cultures de PBMC des patients atteints d'uvéite Behçet (UB, patients) ou des sujets sains (SS, témoins) avec ou sans traitement avec la PHA à 10 μ g/ml (A : IL-8, IL-12 et IL-18 ; B : IFN- γ) ou avec l'AgS à 10 μ g/ml (C : IL-8, IL-12 et IL-18 ; D : IFN- γ).

b. Modulation du réseau cytokinique au cours de la maladie de Behçet :

Le traitement des différentes cultures par les cytokines et/ ou anti-cytokines a montré différentes réponses en fonction du type cellulaire considéré, de la molécule étudiée et de l'effecteur utilisé. En effet,

i. Modulation de l'IFN- γ :

L'analyse de la production de l'IFN- γ par les PBMC des patients atteints d'uvéite Behçet a montré des différences significatives en fonction des effecteurs utilisés. En effet, chez les patients, l'IFN- γ a montré une production spontanée supérieure à celle retrouvée chez les sujets sains (figure 06). Cette production était corrélée à une augmentation des taux d'ARNm au niveau moléculaire (figure 07). De même, la neutralisation de l'IL-4, de l'anti-TNF- α ou de l'IL-10 a induit une augmentation significative de la production de l'IFN- γ (figure 06).

Par contre, l'addition de l'IL-10 au milieu de culture a induit une diminution significative de sa production (figure 06). Cette diminution a été retrouvée au niveau transcriptionnel avec une réduction des taux des ARNm (figure07).

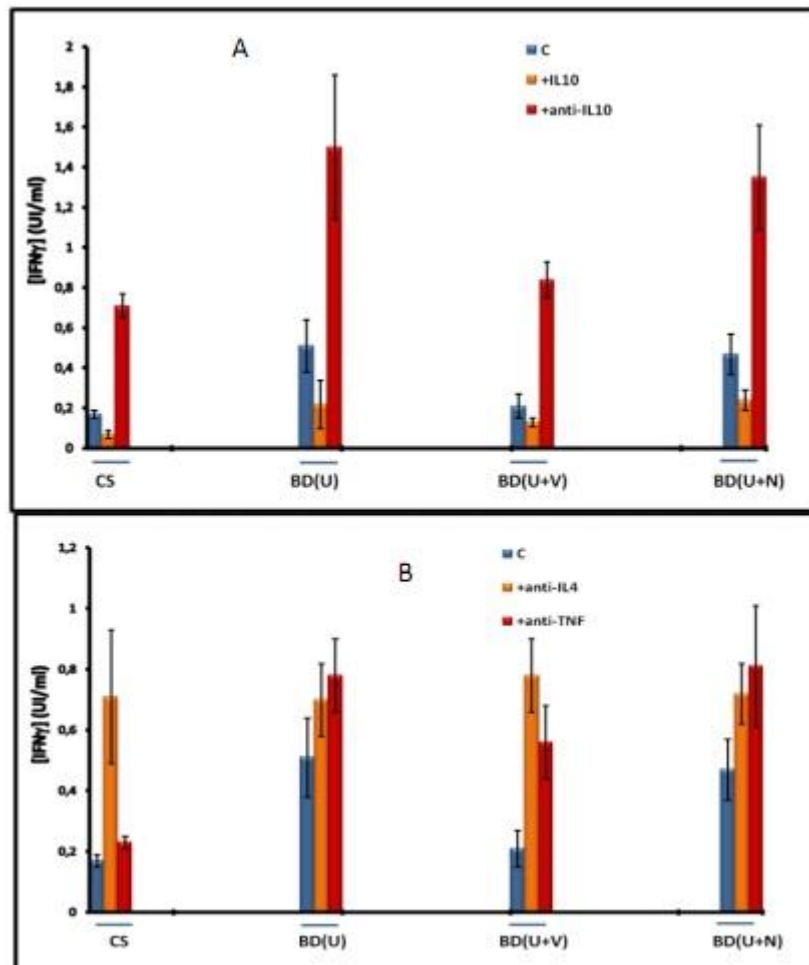


Figure 06: Concentration de l'IFN- γ au niveau des surnageants de culture des PBMC des patients atteints d'uvéite Behçet et des sujets sains en présence ou en absence des différents effecteurs (A : IL-10, anti-IL10 ; B : anti-IL4, anti-TNF- α)

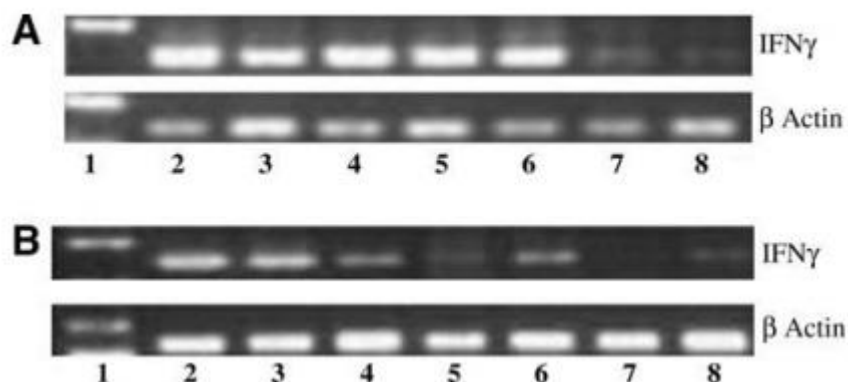


Figure 07 : Expression des ARNm de l'IFN- γ au niveau des PBMC des patients atteints d'uvéite Behçet en phase active (2-6) ou inactive (7) et des sujets sains (8) (A : sans traitement, B : traités à l'IL-10)

5- Modulation antigénique et mitogénique de la production du NO *in vitro* chez les patients atteints d'uvéite Behçet et chez les sujets sains :

La stimulation des cultures des PBMC des patients et des sujets sains par la PHA et l'AgS à 10µg/ml a montré un profil similaire à celui obtenu avec l'IFN-γ (figure 08). L'augmentation des taux de NO serait due à l'induction de la NOS₂ suite à l'activation cellulaire par l'AgS ou à la stimulation mitogénique des LT CD₄⁺. En effet, l'IFN-γ est un des inducteurs les plus puissants de la NOS₂. Sa production pourrait être en partie responsable de l'augmentation des taux du NO.

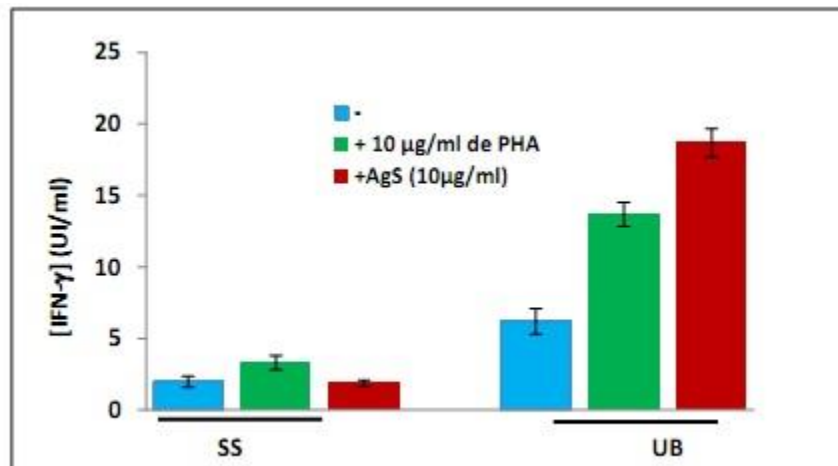


Figure 08 : Concentrations des nitrites résiduels dans les surnageants des cultures de PBMC des patients atteints d'uvéite Behçet (UB) ou des sujets sains (SS) après ou sans traitement avec la PHA à 10µg/ml ou avec l'AgS à 10µg/ml

6- Modulation cytokinique de la production du NO et de l'urée *in vitro* chez les patients atteints d'uvéite Behçet et chez les sujets sains :

L'étude de la production du NO dans les surnageants de culture des PBMC des patients atteints de la maladie de Behçet et chez les sujets sains a montré différents profils en fonction des molécules additionnées au milieu de culture. En effet, la neutralisation du TNF-α ou de l'IFN-γ a induit une réduction importante des taux de NO. Ce résultat reflète la production endogène de ces cytokines par les cellules en culture et leur rôle dans la modulation positive de la NOS₂. Cet effet est confirmé par l'augmentation des concentrations en nitrites résiduels observée lors de l'addition de l'IFN-γ. Par contre, l'addition de l'IL-10 a induit une réduction de la production du NO confirmée par l'effet observé avec l'anti-IL-10 (figure 09). Le rôle immuno-modulateur de l'IL-10 est retrouvé également dans la modulation de la synthèse du NO. Ce rôle pourrait être exercé directement sur la NOS au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel mais est également retrouvé indirectement via l'inhibition transcriptionnelle de l'IFN-γ.

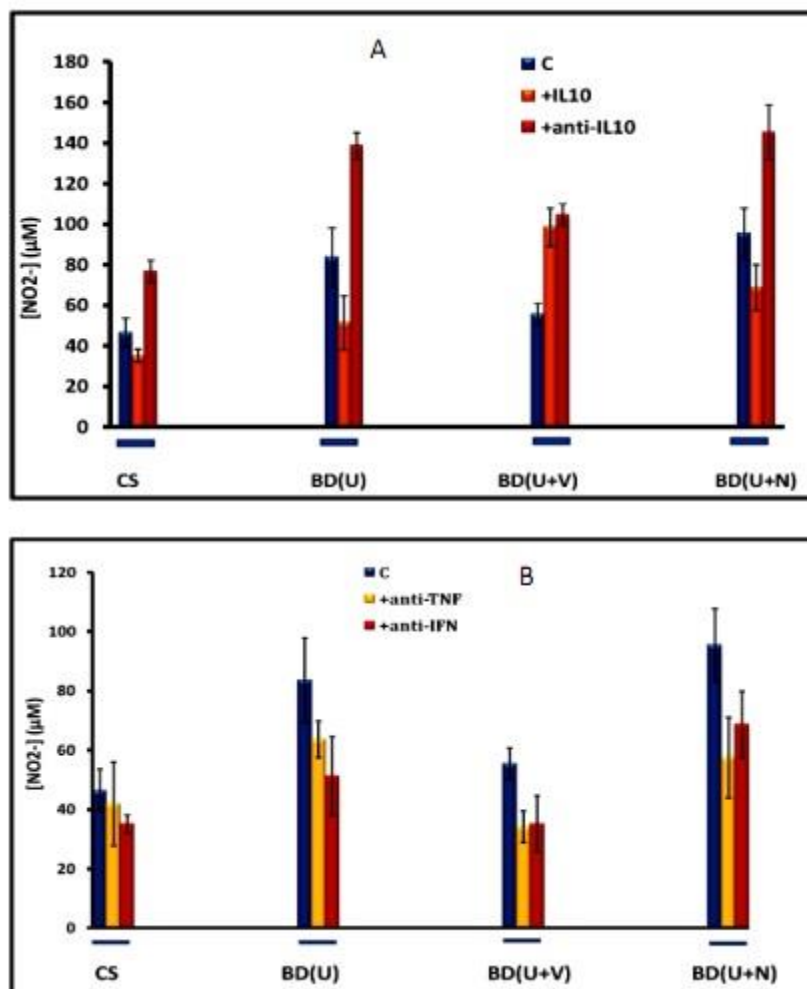


Figure 09 : Concentration des nitrites totaux au niveau des surnageants de culture des PBMC des patients atteints d'uvéite Behçet et des sujets sains en présence ou en absence des différents effecteurs (A : IL-10, anti-IL10 ; B : anti-IFN- γ anti-TNF- α)

7- Modulation pharmacologique et métabolique du cycle du NO chez les patients atteints d'uvéite Behçet et chez les sujets sains :

Le traitement des cultures des PBMC des patients et des sujets sains avec le L-NMMA, un inhibiteur des NOS a induit une réduction des taux de nitrites résiduels contre une augmentation des taux de l'urée. Par contre, l'addition du BH₄, cofacteur des NOS, a induit l'effet inverse. Ce résultat met en évidence la présence d'une balance NOS/arginase par compétition pour le substrat. De même, au niveau transcriptionnel, l'inhibition de l'IFN- γ a induit une réduction des taux de nitrites contre une augmentation des taux de l'urée (figure 10).

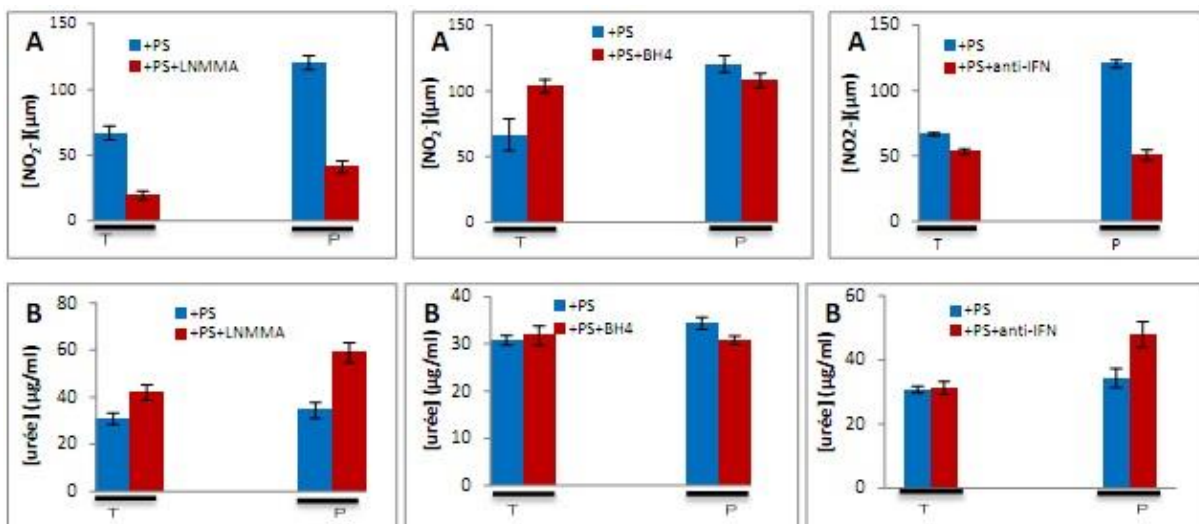


Figure 10 : Concentrations des nitrites résiduels (A) et de l'urée (B) dans les surnageants des cultures de PBMC traités ou pas avec le LNMMA, le BH4 ou l'anti-IFN- γ .

8- Etude de la réponse oculaire locale aux auto-antigènes rétiens :

Afin d'étudier l'effet des auto-antigènes rétiens sur les structures locales, nous avons réalisé des cultures d'explants oculaires en présence de l'extrait rétinien soluble total ou en présence de l'AgS purifié. Ces cultures ont été incubées pendant 24h ou 28h dans différents milieux de culture en présence ou en absence de différents modulateurs.

a. Effet de l'AgS sur la production du NO :

Après incubation des explants oculaires en présence de l'antigène S purifié à 10 $\mu\text{g/ml}$ pendant 24, nous avons observé une production significative de NO associée à des altérations tissulaires et cellulaires. L'augmentation des taux de NO a été accompagnée d'une élévation de l'expression des NOS au niveau des différentes structures. Nous n'avons pas observé de modifications histologiques notables lors de l'augmentation de la concentration de l'Ag S ou de la durée d'incubation (figure11).

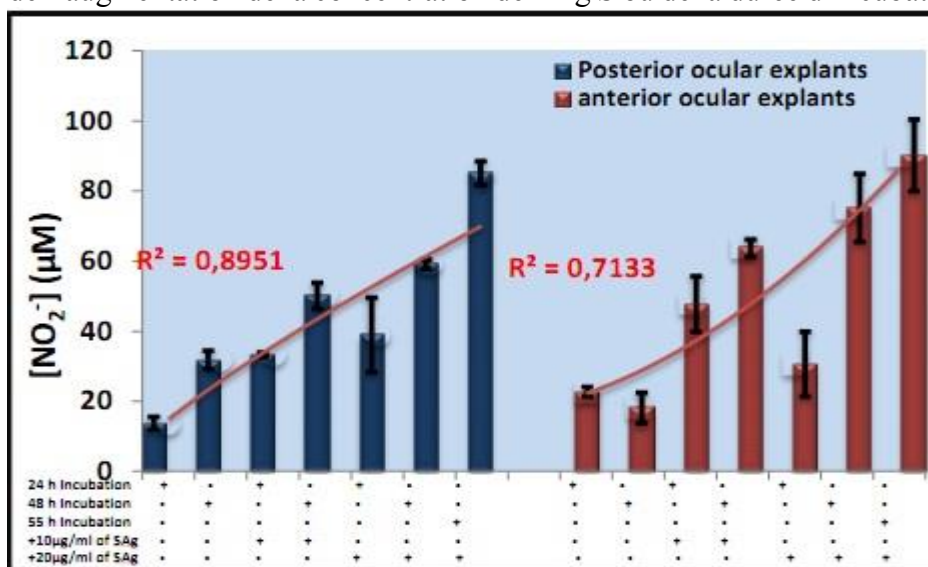


Figure 11 : Taux des nitrites résiduels au niveau des surnageants de culture des explants oculaires antérieurs et postérieurs bovins traités ou non avec l'AgS

b. Analyse histologique de l'effet de l'AgS sur les explants oculaires :

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

L'étude de l'effet de l'Ag-S sur les différents explants a montré des effets des effets étaient très importants qui affectent toutes les structures oculaires. Les effets de l'Ag- S, au niveau de la partie antérieure, montrent un décollement de l'épithélium cornéen sans que les cellules ne soient altérées (Figure 12). L'iris garde une structure plus ou moins intact où les parois vasculaires se montrent très épaissies et une densité cellulaire est observée au niveau du tissu conjonctif remplissant son centre (Figure 12). Les procès ciliaires perdent la continuité de leur couche épithéliale non pigmentaire et présentent une vasodilatation tout aussi bien que l'iris et le corps ciliaire (Figure 12).

Sous l'effet de l'induction faite avec l'antigène S, la rétine est totalement déstructurée et montre une vasodilatation importante. La choroïde présente un épaississement considérable accompagné d'une vasodilatation intense (Figure12). Ce dernier effet est retrouvé également au niveau de la sclérotique. La présence de cellules en pleine activité cellulaire jouerait un rôle dans l'immunité à travers l'action des macrophages ou des cellules dendritiques. Ces derniers seraient sollicités à l'échelle locale par l'antigène S. Toutefois, une étude par immuno-marquage (simple ou double marquage) apporterait de plus amples informations. L'observation portant sur l'activation cellulaire en particulier les macrophages et les cellules dendritiques serait probablement liée à la stimulation par l'antigène S. Ces cellules auraient un rôle non négligeable dans le dysfonctionnement immunitaire local à savoir l'auto-immunité.

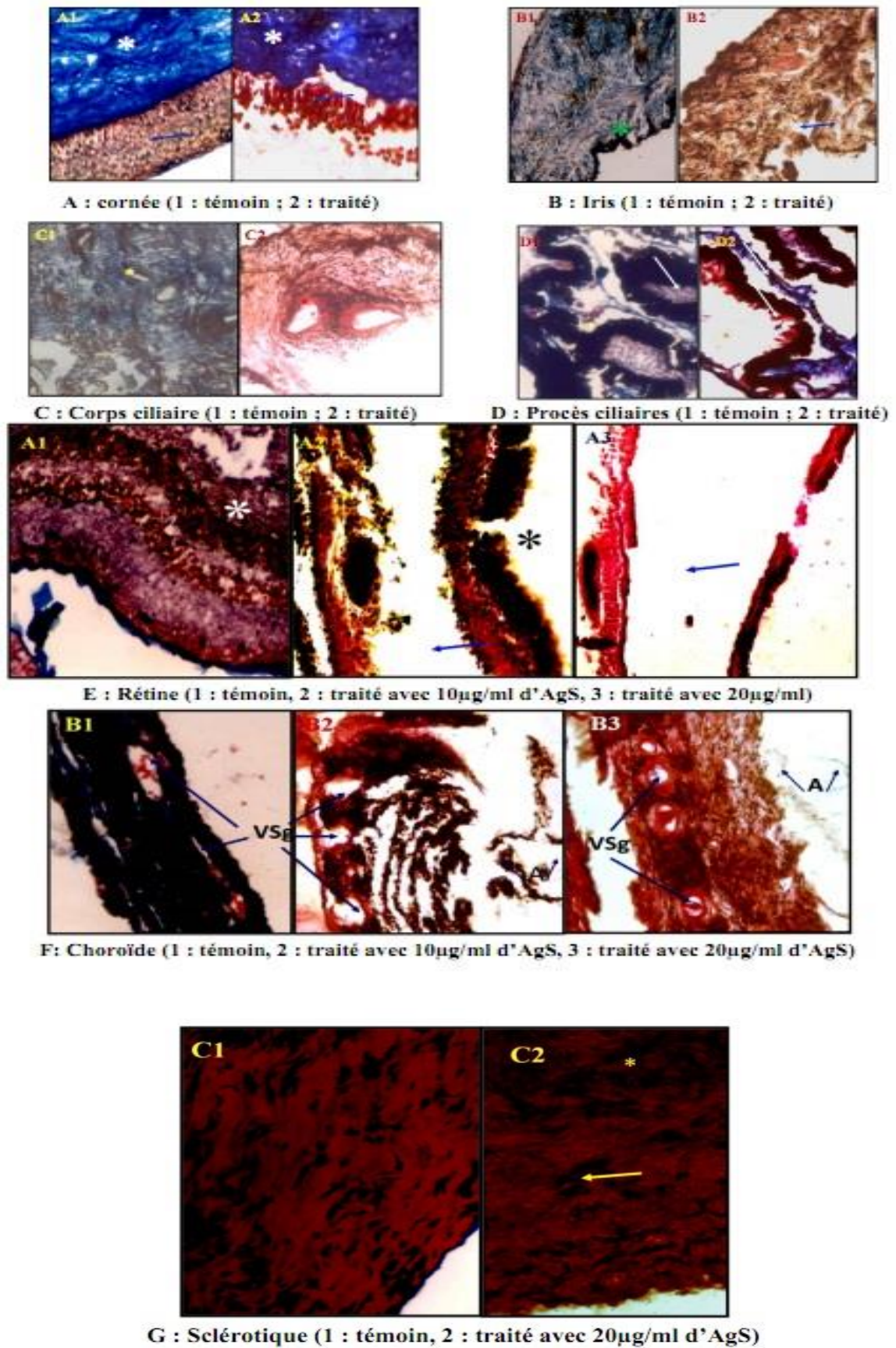


Figure 12 : étude histologique des explants oculaires antérieurs (A-D) et postérieurs (E-G) mis en culture en présence ou en absence d'AgS (coloration de Mallory, Gx430)

c. Analyse immuno-histochimique de l'expression des NOS au niveau des explants oculaires traités par l'AgS :

La mise en évidence des NOS au niveau des différentes structures des explants a montré la présence locale des NOS au niveau des différents tissus (Figure 14). Les tissus exprimant fortement la NOS sont essentiellement l'iris, le corps ciliaire et la choroïde. Les cellules correspondaient essentiellement aux cellules endothéliales et aux fibroblastes. Ces tissus correspondent à l'uvée, très vascularisée. De plus, le corps ciliaire régule partiellement le tonus oculaire via la production du NO. Le traitement des explants avec l'Ag S a induit une augmentation de l'expression des NOS au niveau de toutes les structures oculaires (Figure13). Ces NOS induites correspondraient à la NOS II. De plus, la répartition des NOS n'est pas homogène dans toutes les structures. En effet, quoique toutes les structures aient montré une expression des NOS, seul l'épithélium cornéen les a exprimé fortement (Figure 13). Au niveau des structures uvéales, nous avons noté la présence de cellules activées allongées (fibroblastes) ou étoilées (cellules macrophagiques ou dendritiques). De plus, les cellules endothéliales et les péricytes au niveau des vaisseaux sanguins ont fortement exprimé la NOS (Figure13). La rétine a montré une importante expression des NOS correspondant probablement aux NOS constitutives (I et III) et à la NOS II. En effet, les cellules gliales (astrocytes, microglies, cellules de Muller) et les cellules nerveuses (cellules ganglionnaires, cellules bipolaires) peuvent exprimer les différentes isoformes des NOS.

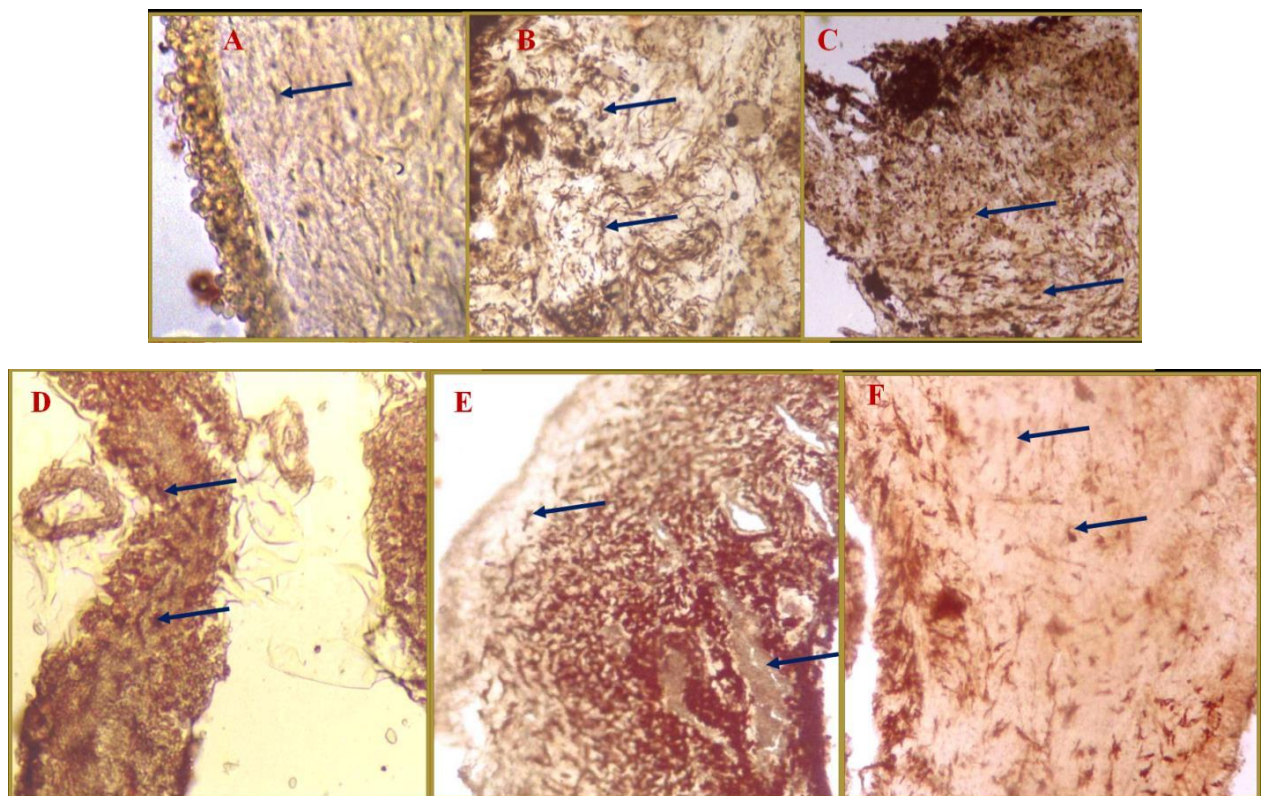


Figure 13 : Détection immuno-histochimique des NOS au niveau des explants traités avec l'AgS à 10µg/ml (A : cornée, B : iris, C : corps ciliaire, D : rétine, E : choroïde, F : sclérotique) (Gx210)

d. Analyse de l'apoptose cellulaire au niveau des explants oculaires traités à l'AgS :

La recherche des cellules apoptotiques par la méthode immuno-histochimique de TUNEL au niveau des explants oculaires traités avec l'AgS à 10µg/ml a montré la présence de cellules apoptotiques au niveau des différentes structures. En effet, ces cellules ont été retrouvées au niveau des explants antérieurs dans le corps ciliaire (figure 14 A). dans les explants postérieurs, les cellules apoptotiques ont été observées au niveau de la choroïde (B) et de la rétine (C). Ces résultats suggèrent que l'AgS induit une réponse immunitaire locale responsable de la mort cellulaire par apoptose au niveau des trois structures citées précédemment. Les altérations observées au niveau des autres structures seraient dues à une nécrose cellulaire et/ou tissulaire.

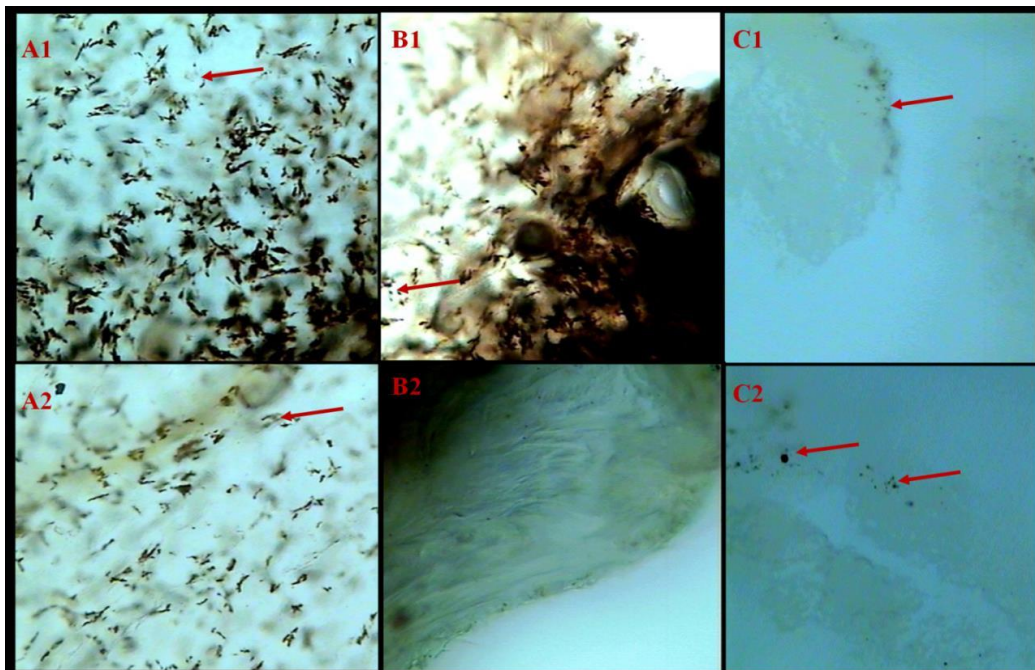


Figure 14 : Détection des cellules apoptotiques par la méthode de TUNEL au niveau des explants oculaires bovins mis en culture en présence ou en absence de l'AgS à 10µg/ml (A1&B1 : Gx210 ; A2,B2 &C2 : Gx 430

e. Modulation du cycle du NO par les auto-antigènes réiniens au niveau des explants oculaires :

L'étude de l'effet des acides aminés sur la production du NO par les tissus oculaires antérieurs et postérieurs en présence et en absence des auto-antigènes a montré une augmentation significative des taux de nitrites résiduels au niveau des surnageants de culture lors de l'addition de la L-arginine, substrat des NOS (figure 15). Par contre, l'addition de la L-lysine, inhibiteur compétitif du transport de la L-arginine au niveau membranaire, a induit une importante réduction de la production du NO. De même, les concentrations de nitrites résiduels obtenus suite à l'addition de la L-glutamine, inhibiteur de la régénération de la L-arginine via le cycle du NO, étaient sensiblement inférieures à ceux des cultures témoins. Notons qu'au niveau des explants oculaires antérieurs, la réponse à la L-glutamine était supérieure à celle observée pour les explants oculaires postérieurs suggérant une induction des argininosuccinates synthétases par les auto-antigènes réiniens au niveau des structures de la partie antérieure de l'œil.

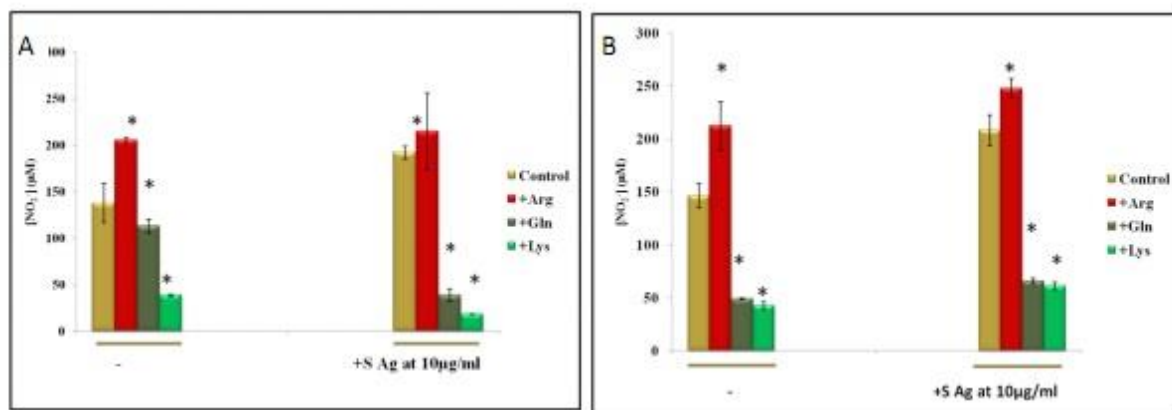


Figure 15: Taux des nitrites résiduels au niveau des surnageants de culture des explants oculaires antérieurs et postérieurs bovins traités ou non avec l'AgS
Conclusion :

Au cours de notre étude, nous avons montré l'implication des cytokines marqueurs des différentes voies de différenciation des lymphocytes CD4⁺ dans la modulation des réponses immunitaires observées au cours des manifestations oculaires de la maladie de Behçet en particulier au niveau des phases actives. L'IFN γ semble jouer un rôle clé notamment dans la régulation positive des NOS₂, enzymes responsables de l'importante augmentation des taux de NO. Ce dernier pourrait être impliqué dans la genèse et l'évolution des lésions oculaires à travers l'activation des cellules immunitaires auto-réactives par les auto-antigènes. Dans le même contexte, nous avons montré l'existence d'une balance « NOS/arginase » qui serait également régulée par les cytokines des voies Th1/Treg (IFN- γ /IL-10). En effet, l'IL-10 jouerait un rôle majeur dans l'immuno-régulation des différentes réponses cellulaires agissant dans l'initiation et le maintien des processus de rémission. Nos travaux ont également situé l'implication non négligeable des NOS exprimées dans les cellules oculaires locales. L'activité de ces enzymes serait tributaire de l'environnement cytokinique initial. Leur action s'exercerait à différents niveaux, dans l'initiation des réponses auto-immunes et dans l'amplification ou l'inhibition de l'inflammation conduisant à la mort cellulaire responsable des lésions tissulaires oculaires.

Références bibliographiques :

- [1] : Hirohata S. & Kikuchi K. (2003). Behçet's disease. *Arthritis Res Ther* 5(3):139–146.
- [2] : Direskeneli H. (2001). Behçet's disease: Infectious aetiology, new autoantigens, and HLA- B51. *Ann Rheum Dis* 60(11):996–1002.
- [3] : Barnes C.G. & Yazici H. (1999). Behçet's syndrome. *Rheumatology* 38(12):1171–1174.
- [4] : Kaneko F., Oyama N., Yanagihori H., Isogai E., Yokota K., Oguma K. (2008). The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behçet's Disease. *Eur J Dermatol* 18(5):489–498.
- [5] : Nussenblatt R.B. (1997). Uveitis in Behçet's disease. *Int Rev Immunol* 14(1):67–79.
- [6] : de Smet M.D., Dayan M. (2000). Prospective determination of T-cell responses to S-antigen in Behçet's disease patients and controls. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41(11):3480–3484.
- [7] : Canete J.D., Celis R., Noordenbos T., Moll C., Gomez-Puerta J.A., Pizcueta P., Palacin A., Tak P.P., Sanmartín R. and Baeten D. (2009). Distinct synovial immunopathology in Behçet disease and psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther* 11(1): R17.
- [8] : Jae K., Hyeong G., Hum C., Yeung G.P. (2006). Intraocular cytokine environment in active Behçet Uveitis. *Am J Ophthalmol* 142:429–434.
- [9] : Sakane T., Suzuki N., Nagafuchi H. (1997). Etiopathology of Behçet's disease: Immunological aspects. *Yonsei Med J* 38(6):350–358.
- [10] : Hamzaoui K., Hamzaoui A., Guemira F., Bessioud M., Hamza M., Ayed K. (2002). Cytokine profile in Behçet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol* 31(4):205–210.
- [11] : Ilhan F., Demir T., Turkçuoğlu P., Turgut B., Demir N., Goekmerdan A. (2008). Th1 polarization of the immune response in uveitis in Behçet's disease. *Can J Ophthalmol* 43(1):105–108.
- [12] : Guenane H., Hartani D., Chachoua L., Lahlou-Boukoffa O.S., Mazari F., Touil-Boukoffa C. (2006). Production of Th1/Th2 cytokines and nitric oxide in Behçet's uveitis and idiopathic uveitis. *J Fr Ophtalmol* 29(2):146-152.
- [13] : Ertugrul-Mirza G., Karakuçuk S., Er M., Gungormus N., Karakuçuk I., Saraymen R. (2001). Tear nitrite and nitrate levels as nitric oxide end products in patients with Behçet's disease and non- Behçet's uveitis. *Ophthalmic Res* 33: 48-51.
- [14] : MacMicking J., Xie Q-W., Nathan C. (1997). Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol* 15:323–350.
- [15] : Husson A., Brasse-Lagnel C., Fairand A., Renouf S. and Lavoigne A. (2003). Argininosuccinate synthetase from the urea cycle to the citrulline–NO cycle. *Eur. J. Biochem.* 270:1887–1899
- [16] : Touil-Boukoffa C., Bauvois B., Sancéau J., Hamrioui B., Wietzerbin J. (1998). Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis: Relationship between nitrite production and interferon - γ levels. *Biochimie* 80(8-9): 739-744.

VIEILLESSE ET MALADIES CHRONIQUES : LES USAGES SOCIAUX DU CORPS

BENAOUM F Z^{1*}, CHERB D^{2*}, AZZOUZ N^{3*}, LAYADI K^{4*}.

Université de Mascara¹, Université d'Oran², Université de Mostaganem³, service de rééducation fonctionnelle CHU Oran⁴.

**Unité de recherche en sciences sociales et santé Université d'Oran.*

Code : 157

Introduction

L'objectif de ce travail est de comprendre et d'analyser, du dedans, l'expérience du corps social (Mauss M, 1934) de la personne âgée face à la maladie chronique. Ici, le corps ne se réduit pas à un ensemble d'organes. En effet, les pratiques corporelles les plus ordinaires (soins et entretien du corps, la marche, etc.) ne sont pas naturelles. Elles sont construites socialement. Autrement dit, les personnes âgées déploient des logiques sociales liées à leur expérience et à leur histoire sociale. Nous souhaitons montrer que le patient âgé est aussi un «corps sujet» (Le Breton D, 1985). En effet, il nous semble important de déconstruire la notion de vieillesse souvent interprétée dans la société par les termes de dépendance, d'incapacité ou de passivité en référence uniquement à l'âge de ces personnes. Appréhender le sens attribué à l'expérience corporelle de cette catégorie de patients face aux maladies chroniques nous permettra de mettre en évidence les différents besoins et attentes de ces patients. Le but est d'élaborer des stratégies et de créer des institutions socio-sanitaires adaptées à ces personnes âgées.

Méthodologie

Nous privilégions l'approche qualitative (entretiens et observations). Cette approche méthodologique est pertinente pour accéder aux façons de dire et de faire des acteurs. L'enquête de terrain s'est effectuée dans deux espaces : le service de rééducation fonctionnelle au CHU d'Oran ainsi qu'aux domiciles des enquêtés. La population d'enquête concerne 10 personnes âgées de plus de 60 ans, hommes et femmes, issues de milieux sociaux et culturels diversifiés et atteintes de plusieurs maladies chroniques.

Résultats

1-Le rapport à la structure de soins : Le service de rééducation fonctionnelle, un espace social avant tout.

L'analyse des données nous amène à appréhender l'expérience corporelle du patient âgé comme une construction sociale. Cette expérience est rattachée aux espaces socioculturels de sa manifestation. En effet le corps se révèle comme une « réalité complexe qu'il est impossible de traiter sur le seul mode de la physiologie » (Le Breton D, 1985 : 100).

L'analyse de ces expériences dans leur diversité, met en exergue la complexité des logiques construisant le rapport de la personne âgée avec son monde social.

Le rapport à l'espace sanitaire apparaît comme une dimension pertinente dans l'expérience corporelle du patient âgé. L'espace de soins est envisagé comme une donnée sociale avant tout. En effet, le service de rééducation fonctionnelle et plus particulièrement, la salle de rééducation est perçue par les personnes âgées, comme un espace social « privilégié ». Dans l'absence des espaces de loisir pour cette catégorie d'âge ; la salle de rééducation devient une structure de socialisation de première importance.

La relation d'échange élaborée dans cette structure met en exergue la prégnance de la

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

"dimension spatiale des rapports sociaux" (Pailhé J, 1983 :150).
Lors d'une observation effectuée dans cet espace, nous notons:

«Une malade âgée est assise sur une chaise en faisant ses exercices de rééducation. Elle est accompagnée par un membre de sa famille. Une fille. En face d'elle, il y a une autre malade âgée qui accompagne son fils malade. Les deux femmes âgées mènent une discussion qui paraît intense. La fille de la première intervient de façon continue, rappelant à sa mère son exercice. Elle lui répond : laisse-moi parler, راني نقلع في الضيقة».

Les relations d'échange caractérisant la salle de rééducation permettent aux patients âgés de continuer de vivre socialement. En effet, l'espace domestique, désigné par le patient âgé par l'expression «monde d'intérieur» est souvent défini comme un espace d'isolement. Le recours au service de rééducation permet au patient âgé «de sortir et de voir le monde». Il est souvent un lieu de dévouement pour lui.

Le rapport des patients âgés aux activités de soins de rééducation s'opère dans une dynamique socio sanitaire complexes et pertinente. Elle met en exergues les différentes logiques et interprétations des différents acteurs de l'espace sanitaire (professionnels et patients). Il est important de souligner la prégnance de ces logiques diversifiées dans la construction du rapport du patient âgé aux structures de soins publiques disponibles.

2- Rapport à la famille : La famille, cet acteur «invisible» dans le travail de soins

La maladie chronique est loin d'être un désordre purement organique. Elle s'inscrit dans une dynamique sociale caractérisée par un réaménagement et réajustement relationnel prégnant de la vie sociale du patient âgé. Dans l'entourage familial du patient âgé, une restructuration des rôles familiaux s'opère. Les activités quotidiennes de chaque membre sont reconstruites autour de la maladie et sa prise en charge. Cette restructuration des activités quotidiennes n'est pas sans effet sur le statut de la personne âgée malade dans l'espace familiale. Le statut de chef de famille assignant une autorité au père ou à la mère est en redéfinition permanente dans le processus de la gestion de la maladie chronique :

«Après avoir être toujours le décideur (celui qui décide) dans la famille maintenant je me contente de regarder sans dire un mot..... » (Elhadje kada,70ans).

Il est important de souligner que la gestion de la maladie chronique d'un parent âgé s'opère dans un véritable travail de redéfinition de l'espace familiale. Elle met en exergue les différentes logiques employées dans la reconstruction de l'espace familiale ainsi que les rôles attribuées à chaque membre.

Nous soulignons ici, la prégnance de l'implication active de la famille dans le processus de gestion de la pathologie chronique. Le soutien informationnel apparaît comme dimension pertinente de l'implication active de la famille dans le processus de soins. Les membres de la famille constituent une ressource sociale de première importance dans le recours aux soins de leurs proches âgés.

Les enfants apparaissent comme des acteurs au cœur du processus de soutien du patient âgé.

Le soutien affectif est considéré comme la forme la plus importante des ressources mobilisées dans la gestion de la maladie. Il est appréhendé comme une dimension centrale dans la restructuration des relations interfamiliales. Le processus de soutien familial du patient âgé semble s'inscrire dans une logique d'échange de services. En effet, le réseau familial fonctionne sur un modèle de réciprocité.

On est conduit à relativiser la notion de solidarité « naturelle ». Elle est souvent appréhendée comme la caractéristique principale dans la définition du lien de parenté et les

échanges familiaux¹. Cette aide ne peut être considérée comme « naturelle ». Elle est véhiculée par des attentes réciproques entre le patient âgé et son entourage familial (en premier lieu les enfants) (Benaoum F Z, 2010).

3- Rapport au corps dans la maladie chronique : une autre image de la vieillesse.

Face au double effet de l'avancé en âge et de la maladie, la personne âgée est contrainte de faire face à un bouleversement biographique affectant son identité sociale. Le rapport au corps est au cœur de ce bouleversement. Il faut souligner l'importance de la notion de rupture biographique²

Dans l'analyse de l'expérience corporelle du patient âgé. La dimension relationnelle semble être un élément majeur dans la transition identitaire du patient âgé. Le changement identitaire est perçu avant tout dans une dimension corporelle.

Il est important de souligner que ce changement corporel est loin d'être appréhendé dans sa seule dimension organique. En effet, le dysfonctionnement corporel est vécue comme une désorganisation de la vie quotidienne de la personne âgée dans sa totalité. « c'est quand le corps ne répond plus à toutes les exigences de la vie quotidienne que les malades se tournent vers les interrogations de l'esprit. Ils réinterprètent certains aspects de la vie, et en fonction de cette interprétation, ils envisagent leur place dans cette vie d'une façon différente de celle qu'ils avaient avant la maladie » (Foucart, 2003 :159).

L'interprétation profane de la douleur apparaît comme un élément central dans la perception des sensations corporelles chez le patient. Ces derniers sont loin d'être des données extra-sociales.

En effet, les symptômes et les sensations corporelles sont perçues d'une manière très variable, en fonction du sens qui leur sera attribué par la culture, ou de celui qui se construit au cours des interactions sociales (Herzlich, 1994).

Le patient âgé invente au quotidien ces propres façons d'agir contre l'avance en âge et les aléas de la maladie chronique. Ces dernières sont appréhendées comme des stratégies d'adaptation et de résistance. L'investissement corporel du patient âgé ne peut être réduit à la dimension organique des mouvements mais il a une extension sociale importante. Cette dernière va déterminer le rapport de la personne âgée à son monde social.

En outre, cette étude a pu montrer que la vieillesse « ne se réduit pas à ce processus linéaire de rétrécissement et d'affaiblissement de la vie, même si le sens commun définit le vieillissement d'abord comme une série de pertes » (Mallon I. 2007 : 58). Au contraire, la vieillesse représente un monde social complexe.

Conclusion

L'analyse des données a mis en évidence l'importance de la dimension sociale du corps. En effet, les façons de faire et d'agir du patient âgé dans le processus de gestion de sa pathologie mettent en exergue le travail de réorganisation et d'adaptation élaboré par cet acteur dans les différentes phases de sa vie. Ces pratiques corporelles, dans leur diversité, sont appréhendées comme des stratégies de socialisation du patient. Elles sont chargées de sens et de significations. Elles sont élaborées dans une logique de résistance à l'effet de l'avance en âge et de la maladie. Ces formes d'investissement corporel du patient âgé nous amènent à relativiser la notion de dépendance appréhendée souvent comme un élément central dans la définition de la vieillesse et de la maladie chronique.

¹ Il faut souligner ici, que les échanges au sein des réseaux de parenté prennent différentes formes. Elles peuvent être : affectifs, financières ainsi qu'informationnelles et que " la dimension affective constitue le fondement du lien familial " (De Singly F 1993)

² La rupture biographique est définie comme «point de bifurcation dans la carrière d'un acteur social et qui, de manière plus ou moins totale et plus ou moins institutionnalisée, constitue un moment décisif, révélé par un incident, dans la conception de soi » (Michaël Voegtli, 2004 :148).

Bibliographie

1. Aiach P, Kaufmann A E, Waissman R. 1989. Vivre une maladie grave analyse d'une situation de crise. Paris, édit Méridiens Klincksieck.
2. Adam P, Herzlich C. 1994. Sociologie de la maladie et de la Médecine, Paris, édit, Nathan.
3. Baszanger I. 1986. « Les maladies chroniques et leur ordre négocié », *Revue française de sociologie*, XXVII, 1, 3-27.
4. Benaoum FZ. 2008. « Personnes âgées et recours au soins : l'élaboration de la décision profane dans la maladie chronique, *Journal Algérien de Médecine (JAM)*, Mai- juin. Volume 16 , N°03. P 90- 94.
5. Benaoum FZ. 2010, La construction de la réputation du médecin chez les personnes âgées atteintes d'une maladie chronique. Mémoire de Magister. L'Université d'Oran.
6. Bloch F, Buisson M. 1994, « La circulation du don entre générations, ou comment reçoit-on? », *Communication*. N° 59. P 55-71.
7. Caradec V. 2001, Sociologie de la vieillesse et du vieillissement, Paris. Edit Nathan.
8. Chrmaz M, 2000. « Experiencing chronic illness », in G Albrecht, R Fitzpatrick et C Scrimshaw (dir), *Handbook of social studies in health and medicine*. Thousand oaks, sage, p277-292.
9. Collin J. 2003, « Médicament et vieillesse. Trois cas de figure ». in Desclaux A, Lévy J-J (eds), *Anthropologie et Sociétés, Cultures et médicaments*, 27,2, édit l'Harmattan. P 119-137.
10. Combessie JC. 1996, La méthode en sociologie, Paris, édit, la Découverte.
11. Corbin J, Strauss A, 1985. “ Managing chronic illness at home: three lines of Work”. *Qualitative Sociologie*, 8, (3), pp 224-27.
12. Corin E Al. 1983, Le fonctionnement des systèmes de support naturel des personnes âgées, vol 1, Québec, Laboratoire de gérontologie sociale, Université Laval (miméo).
13. Coudin G. 2005, « La vieillesse n'est pas une maladie », *Sciences Humaines, la santé des maux et des hommes*, N° 48, mars –avril- mai. P 20-22.
14. De Certeau M, 1990, l'invention du quotidien, Arts de faire, Paris, Gallimard, 349 P.
15. De Singly F. 1993, Sociologie de la famille contemporaine, Paris, édit Nathan.
16. Donfut AC. 1995, Les solidarités entre générations : vieillesse -famille- Etat. Paris, édit, Nathan
17. Donfut CA.1988, Sociologie des Générations: L'empreinte du Temps. Paris, édit, Presses Universitaires de France (PUF).
18. Elias N. 1993, Engagement et distanciation. Contributions à la sociologie de la connaissance, Paris, édit, Fayard.

19. Formarier M. 2003, « Approche du concept d'accueil, entre banalité et complexité », *Recherche en soin infirmiers*, N° 75-décembre. P15-20
20. Foucart, Jean. 2003, *Sociologie de la souffrance*, Éditions de Boeck, Université Bruxelles.
21. Godbout JT. 2000, *Le don, la dette et l'identité*, Montréal et Paris, édit, Boréal et La Découverte.
22. Hérin R., 1986, Une géographie des rapports sociaux, *L'Espace Géographique*, n° 2, pp. 108-110.
23. Herzlich C, Pierret J 1990. *Malades d'hier, malades d'aujourd'hui*. Paris Payot, 313P.
24. Hess R, 2003. *Produire son œuvre : le moment de la thèse*, Paris. Edit Téraédre,
25. http://actualite.elannabi.com/article.php3?id_article=1379.
26. Jaffré Y. 1990, « Comprendre les mots du malade », in Fassin D et Jaffré Y, (eds) *Société, Développement et Santé*, Paris, édit, Ellipses/AUPELF. P126-133
27. Janzen John M, avec la collaboration du Dr Arkininstall W. 1995, *La quête de la thérapie au bas-zair*, Paris, édit, Karthala.
28. Kirchgassker K et E Matt, 1987. « La fragilité du quotidien : les processus de normalisation dans les maladies chroniques ». *Sciences sociales et santé*, 5,1,p 93-114.
29. [Kourta Djamilia](#). 2005, *Maladies cardiovasculaires en Algérie. Première cause de mortalité*. //A:\m.cardiovasculaires%20algérie.htm
30. Layadi K et col, 2008. « Evaluation du pronostic fonctionnel chez les hémiplegiques par Accident Vasculaire Cérébral (AVC) », *le Journal de Réadaptation Médical* ; édit Elsevier Masson ; 28. P97-101.
31. Le Breton D 1985. *Corps et société, Essai de sociologie et d'anthropologie du corps*, paris, Méridien, Klincksiek, p 19.
32. Le Breton D, 1990. *Anthropologie du corps et modernité*, Paris, édit PUF.
33. Lesmann F, Martin C. 1993, « Solidarité familiale et politiques sociales », in : Lesmann F, Martin C, *Les personnes âgées : dépendance, soins et solidarités familiales, comparaisons internationales*, Paris, édit la Documentation Française. P13-23.
34. Lesmann F, Nahmiash D. 1993, « Logiques hospitalières et pratiques familiales de soins (Quebec) », in : Lesmann F, Martin C, (eds), *Les personnes âgées, dépendance, soins et solidarités familiales ; comparaisons internationales*, Paris, édit, la Documentation Française. P162-169
35. Mallon I. 2007, le « Travail de vieillissement » en maison de retraite. *Retraite et société, le vieillissement au grand âge*. Caisse Nationale d'Assurance Vieillesse. Paris .N° 52, 40-58.
36. Martin C, Lesmann F, 1993. *Les personnes âgées : dépendance, soins et solidarités familiales, comparaisons internationales*, Paris, édit la Documentation Française.
37. Mauss M, 1925. « Essai sur le don. Forme et raison de l'échange dans les sociétés archaïques », *Année sociologique* n.s. 1 [Sociologie et anthropologie, pp. 143-279].
38. Mauss M. 1934, « Les techniques du corps », *Sociologie et Anthropologie*, Paris, PUF.

39. Mebtoul M. 1994, Une anthropologie de la proximité les professionnels de la santé en Algérie, Paris, édit L'Harmattan, (p, 22)
40. Mebtoul M. 1998, « Pour un regard anthropologique sur la santé publique en Algérie », *Santé publique et sciences sociales*. N°1, juin.
41. Mebtoul M. 2001, « Les acteurs sociaux face à la santé publique :médecins,Etat et usagers »,in : Hours B (eds), *Systèmes et politiques de santé, de la santé publique à l'anthropologie*, Paris, édit Karthala. P103-116.
42. Michaël V, 2004. « Du Jeu dans le Je : rupture biographique et travail de mise en cohérence » *Lien social et Politiques*, RIAC, *Engagement social et politique dans le parcours de vie*. n° 51, p. 145-158.
43. Amir N, 2010. « Protection des personnes âgées. Les députés regrettent le flou qui caractérise le texte de loi ». 222333
44. [Ancet P](#), 2010. Le corps vécu chez la personne âgée et la personne handicapée, edit [Dunod](#), Paris Collection : Action sociale Vieillesse, handicap <http://www.mollat.com/comptes/index.html>
45. Pin S. 2005, «Personnes âgées : prise en charge et accompagnement. Prévention et vieillissement : éléments de réflexion sur les programmes de prévention et de promotion de la santé à destination des personnes âgées », in : Chauvin P, Parizot I, Revet S, (eds), *Santé et expériences de soins, de l'individu à l'environnement social*, Paris, édit, Librairie Vuibert. P15-37.
46. Pitrou A. 1978, *Vivre sans famille ? Les solidarités familiales dans le monde d'aujourd'hui*. Toulouse.Edit Privat.
47. Pochet P. 1997, *Les personnes âgées*, Paris, édit, La Decouverte.
48. Feillet R, 2012. *Corps, vieillesse et identité : entre préservation et présentation de soi. Place des activités physiques et sportives. Pratiques gérontologiques*. Edit érés, Toulouse. France.
49. Ripon A. 1992, *Eléments de gérontologie sociale*, Toulouse, édit, Privat.
50. Simmel G. 1991, *Secret et sociétés secrètes*, Strasbourg, édit, Circé.
51. Stimpson G, Webb B.1975, *Going to see the doctor: the consultation process in general practice*, London, edit, Routledge and kegan Paul.
52. Strauss A. 1992, *La trame de la négociation, sociologie et interactionnisme*, textes présentés par Baszanger, Paris, édit, L'Harmattan.
53. STRAUSS, A L. et Barney G. Glaser, 1975, « Chronic illness and the quality of life », *Saint-Louis*, C.V. Mosby Co, pp. 54-65.
54. Tahar A.O. 2006. « L'Algérie vieillit : plus de vieux, moins de jeunes », *La voix de L'Oranie mercredi 12 juillet*.
55. Trincaz J, 2002 « Vincent Caradec, Sociologie de la vieillesse et du vieillissement, Paris, Nathan, 2001, 128 p. (« Sociologie ») », *L'Homme*, 163 | juillet-sptembre 2002, [En ligne], mis en ligne le 10 juillet 2007. URL : <http://lhomme.revues.org/index12731.html>. Consulté le 04 octobre 2010.

56. Vant A., 1986, « À propos de l'impact du spatial sur le social », In F. Auriac et R. Brunet (dir.), *Espaces, jeux et enjeux*, Paris, Fayard, pp. 97-111.
57. Watier P. 1996, *La sociologie et les représentations de l'activité sociale*, édit, Méridiens, Klincksieck.
58. Weber F. « Le recours aux soins et l'aide et la mobilisation de l'entourage familial : approche sociologique », Ecole normale supérieure Paris.
[4http://www.sante.gouv.fr/drees/seminaire/qad/seance4/fweber.ppt](http://www.sante.gouv.fr/drees/seminaire/qad/seance4/fweber.ppt)

**PREVALENCE DE L'OBESITE CHEZ LES ENFANTS ET LES ADOLESCENTS
SCOLARISES DANS L'OUEST ALGERIEN**

**THE OBESITY PREVALENCE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS ENROLLED
IN THE WEST ALGERIEN**

BENALLAL K^{1&}, HAMZA-CHERIF F^{2&}, BENHAMZA M^{3&}, BELGHOUL S²,
BOUHADIBA H², KHODJA K², BENDAHMANE M^{2&}.

¹ Faculté de médecine UDL de Sidi Belabbes

² Faculté des sciences UDL de Sidi Belabbes

³ Faculté des sciences université de Naama

& Laboratoire de recherche Lres UDL de Sidi Belabbes

Résumé

Introduction.

L'obésité est considérée par l'OMS comme un problème de santé public. Sa prévalence chez l'enfant et l'adolescent est en augmentation à l'échelle mondiale, principalement dans les pays en développement.

L'objectif de notre travail, est d'évaluer la prévalence de l'obésité chez les enfants et les adolescents scolarisés âgés de 6 à 15 ans, et de rechercher les éventuels facteurs de risque.

Matériel et Méthodes :

Notre étude conduite entre Avril 2012 et Septembre 2012 a concerné un effectif global de 1845 enfants 883 filles 962 garçons (sex ratio=1,08), dans 19 différents établissements scolaires (primaire et moyen) dans les régions de Sidi Belabbes, Oran, Saida et Naama. Cette étude prospective descriptive s'est basait sur les références de *l'international obesity taske force* (IOTF) de l'OMS.

Résultats :

Les résultats obtenus, indiquent que la prévalence de la surcharge pondérale (surpoids et obésité) est de 14,9% chez ces enfants (12,8-16,4), elle est plus importantes dans la tranche d'âge 8-10 ans ($p=0,03$), et chez les filles 17% vs 13% chez les garçons ($p=0,01$). Une association a été remarquée avec certains facteurs, comme la sédentarité (80% des enfants passent plus de temps devant les écrans et ne pratiquent aucune activité physique encadrée), les habitudes alimentaires comme le gouter matinal sauté par les enfants en surpoids et le grignotage fréquent, ainsi que les antécédents familiaux de surpoids.

Conclusion :

La prévalence de l'obésité chez l'enfant n'est actuellement pas alarmante, cependant, le changement du mode de vie associé à une modification des habitudes alimentaires pourrait changer ces données.

Mots clés : obésité, surpoids, prévalence, enfant, adolescent, facteurs de risque

Summary

Introduction:

Obesity is considered by OMS as a public health problem, its prevalence in children and adolescents is increasing worldwide, mainly in developing countries. The aim of our work is to assess the prevalence of obesity among children and adolescents in school aged 6 to 15 years and look for possible risk factors.

Materials and Methods:

Our study conducted between April 2012 and September 2012 involved a total effectif of 1,845 children 883 girls 962 boys (sex ratio = 1.08), in 19 different schools (primary and middle) in the regions of Sidi Belabbes , Oran, Saida and Naama. This prospective descriptive study was based on the references of the international obesity taske Force (IOTF) of OMS.

Results:

The results reveal that the prevalence of overweight (overweight and obesity) was 14.9% in these children (12.8 to 16.4), it is more important in the age range 8 - 10 years ($p = 0.03$) and females 17% vs. 13% for boys ($p = 0.01$). An association was noted with factors such as physical inactivity (80% of children spend more time in front of screens, and do not practice any physical activity), food habits like frequent snacking and family history of overweight.

Conclusion:

The prevalence of childhood obesity is currently not alarming, however, the change of life style associated with a change in eating habits could change the data.

Keywords: *Obesity, overweight, Children, prevalence, adolescents, risk factors*

Introduction

L'obésité est définie comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle ayant des conséquences sérieuses sur la santé et expose les personnes concernées à de nombreuses pathologies cardiovasculaires, métaboliques, ainsi qu'à une augmentation de la mortalité (1). Chez l'enfant et l'adolescent les déterminants de l'obésité sont multiples, et leur interaction est complexe. Au delà des facteurs biologiques ou génétiques individuels, l'obésité est liée au mode de vie et est due à la diminution de l'activité physique et a des facteurs environnementaux. L'ensemble de ces facteurs contribuent a un déséquilibre entre apport et dépenses d'énergie et a un impact sur la prise de poids (2). L'obésité à l'adolescence est un facteur prédictif pour l'obésité à l'âge adulte et s'accompagne alors de risques de morbidité et de mortalité accrus chez les sujets ayant été en surpoids à l'adolescence, même chez ceux qui rejoindront un poids normale à l'âge adulte (3). Prévenir l'obésité de l'enfant est actuellement un souci de santé publique. La prévention et la prise en charge doivent être entreprises des le plus jeune âge. Pour ce faire, une attention particulière doit être portée au dépistage et à la prise en charge des enfants et des adolescents présentant les premiers signes de la maladie (4).

L'objectif de notre travail, est d'évaluer la prévalence de l'obésité chez les enfants et les adolescents scolarisés âgés de 6 à 15 ans, et de rechercher les éventuels facteurs de risque.

Patients et méthodes

Il s'agit d'une enquête transversale réalisée dans l'Ouest Algérien dans les wilayas de Sidi Belabbes, Saida, Oran et Naâma. L'étude a été faite entre Avril et Septembre 2012, elle a concerné 19 établissements scolaires (écoles et collèges) choisis par tirage au sort après autorisation des directeurs des académies et des établissements scolaires. Notre échantillon global est constitué de 1845 enfants âgés de 6 à 15 ans (moyenne d'âge = $10,23 \pm 0,06$), dont 883 filles 962 garçons (sex ratio=1,08), répartis d'une manière plus ou moins égale dans les différentes tranche d'âge (figure 1).

Les élèves ont été pesés debout, immobiles, sans appui, les pieds nus, dans des bonne conditions tenue à l'aide d'un pèse (en kilogramme) personne de la marque *Terraillon*, et La taille a été mesurée à l'aide d'une toise en bois graduée en centimètres, les pieds joints et nus, les bras pendants le long du corps, les genoux bien en extension, le dos, les fesses et les talons appliqués contre le montant vertical de la toise. La tare des instruments était faite tous les jours avant le début de la prise des constantes. Un questionnaire a été rempli par les enquêteurs pour chaque sujet dans lequel on a posé une série de questions concernant l'état civil, et les facteurs associés au surpoids et l'obésité dont l'alimentation et l'activité physique.

L'IMC a été calculé selon la formule poids (kg)/taille² (m). Cette étude prospective descriptive s'est basait sur les références de *l'international obesity taske force* (IOTF) de l'OMS.

La saisie des données à été faite sur le logiciel Excel et SPSS 22, la comparaison de deux moyennes a été faite par le test T de Student, la comparaison des pourcentages et des proportions a été faite par le test de Chi². Les résultats ont été considérés statistiquement significatifs pour un risque inférieur ou égal à 5% ($p \leq 0,05$).

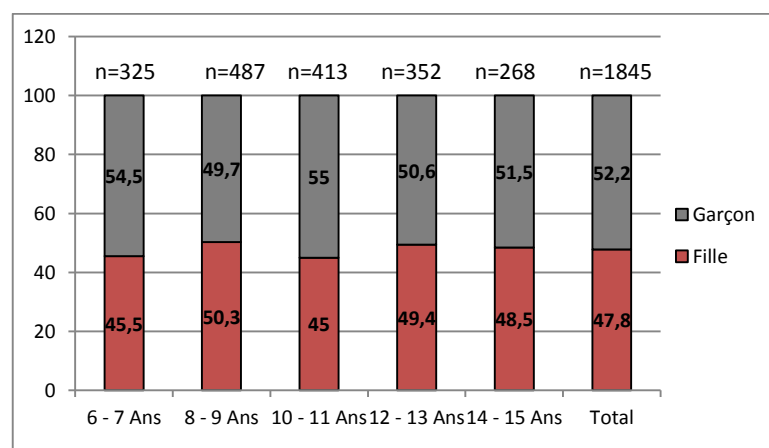


Figure 1 : répartition des élèves en fonction de leur tranche d'âge et le sexe**Résultats**

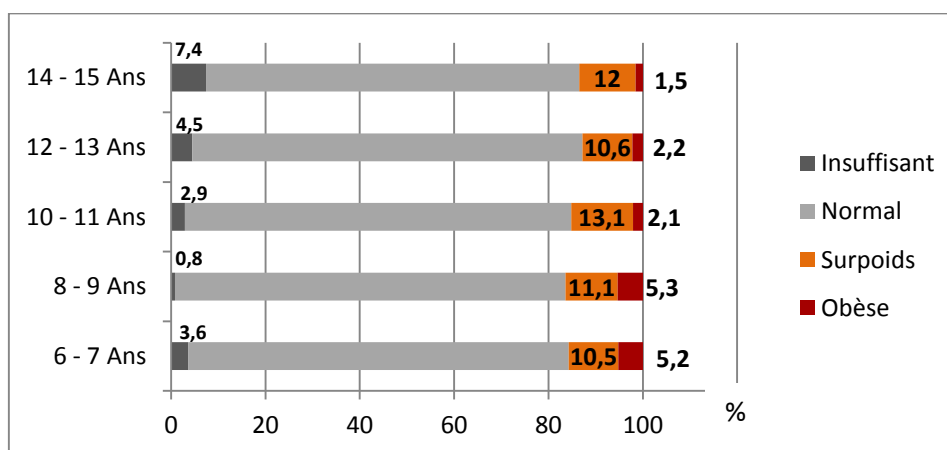
L'indice de masse corporelle

L'IMC moyen est de 17,64 kg/m², il est de 17,73 kg/m² chez les filles avec des extrêmes de 10,5- 33,31 kg/m², et de 17,56 kg/m² chez les garçons avec des extrêmes de 10- 34,02 kg/m² (NS). La corpulence était normal (3^e ≤ IMC < 97^e percentile) chez 81,6% des élèves, une Insuffisance pondérale (< 3^e percentile) chez 3,5%, un surpoids (poids ≥ 97 percentile sans obésité) a été mis en évidence chez 11,4% et une obésité (≥ seuil IOTF-30) chez 3,5%.

Prévalence du surpoids et de l'obésité

La prévalence du surpoids et de l'obésité (poids ≥ 97 percentile incluant obésité) est de 14,9% tous âges confondus, elle est de 17% chez les filles vs 13% chez les garçons ($p=0,03$).

La prévalence du surpoids dont obésité est plus importante dans la tranche d'âge 8-9 ans (16,4%), suivie de la tranche d'âge 6- 7 ans (15,7%), puis la tranche d'âge 10- 11 ans (15,2%) et enfin les tranches d'âge 14- 15 ans et celle de 12 -13 ans (13,7 et 12,8%) ($p=0,03$) (figure2). La prévalence du surpoids dont obésité est plus marquée chez les filles que chez les garçons ($p=0,01$) (figure 3).

**Figure 2** : corpuence des élèves en fonction des tranches d'âge

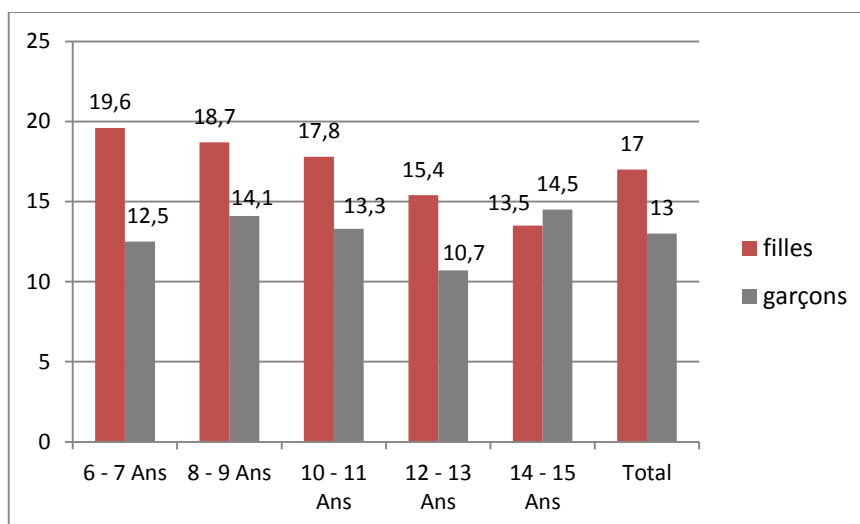


Figure 3 : Prévalence de l'obésité en fonction du sexe et de la tranche d'âge

Habitudes alimentaires

Parmi les facteurs de risque de surpoids et de l'obésité on a étudié les habitudes alimentaires des élèves, on a mis en évidence une corrélation entre le surpoids et l'obésité avec, l'absence de prise régulière du petit déjeuner, la consommation de pain et de gâteaux au petit déjeuner, le grignotage, la consommation de soda, l'absence de prise régulière de fruits. Par contre on n'a pas trouvé de relation avec la prise du goûter du matin et celui de l'après midi. (Tableau 1).

Tableau 1 : Relation entre certaines habitudes alimentaires et la corpulence des élèves

Habitudes alimentaires		Groupe de référence N=1570		Surpoids dont Obésité N=275		Total		p
		N	%	N	%	N	%	
Le petit déjeuner	régulier	1135		188		1323	71,7	0,004
	parfois		61,6		10,2	349	18,9	
	Non	304	16,5	45	2,5	173	9,4	

		131	7,1	42	2,3			
Composition du petit déjeuner	Pain	oui	821		131	1052	57	0,002
		non	49,9		9,1	793	43	
	Biscuits	oui	649		144			0,02
		non	35,1		7,8	1171	63,5	
	Lait et dérivés	oui	1017		154			0,003
		non	55,1		8,3	1301	70,5	
	Fruits	oui	553	30	121	544	29,5	0,008
		non	1125	61	6,5	331	18	
			444	24,2	176	1514	81,9	
			278	15,1	99	5,4		
		1292	70	53	2,9			
				222				
				11,9				
Grignotage Quotidien	Régulier	460		82	4,4	542	29,3	0,009
	Parfois	24,9		36	1,9	266	14,4	
	Rare/Jamais	230		157	1037	56,3		
		12,5		8,5				
		880						
		47,8						

L'activité physique

L'estimation de l'activité physique régulière est un facteur qui a été recherché au près de notre échantillon en étudiant, le moyen utilisé pour partir à l'école (à pieds, par moyen de transport à moteur), on s'est intéressé à l'activité sportive et aux jeux à l'extérieur, sans oublier la durée passée quotidiennement devant un écran de télévision et la pratique de jeux vidéo. On pu mettre en évidence une relation positive entre l'obésité et le manque d'activité physique régulière comme partir à l'école à pieds et de jouer à l'extérieur, cependant la pratique d'un sport cadré n'est pas mis en cause dans notre contexte, ainsi la pratique de jeux vidéo régulièrement représente un facteur de risque d'obésité (Tableau 2).

Tableau 2 : Relation entre l'activité physique des élèves et leurs corpulences

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

Activité physique		Groupe de référence N=1570		Surpoids dont Obésité N=275		Total		p
		N	%	N	%	N	%	
Le moyen de transport/ l'école	A pieds	1260	68,2	189	10,2	1449	78,5	0,000
	Véhicule à moteur	310	16,8	86	4,6	396	21,4	
Sport	Oui	434	23,6	87	4,8	521	28,4	0,15
	Non	1136	61,6	188	10,2	1324	71,8	
Jeux vidéo	Oui	381	20,6	92	5	473	25,6	0,009
	Non	1189	64,4	183	9,9	1372	74,3	

Antécédents familiaux d'obésité

Ce paramètre a été étudié pour évaluer les causes familiales de l'obésité, ainsi sur les 275 enfants et adolescent présentant un IMC supérieur à 97^e percentile, on a retrouvé la notion d'un parent obèse (père ou mère) chez 131 d'entre contre 692 enfants et adolescent présentant un IMC inférieur à 97^e percentile ($p=0,002$).

Discussions

L'évaluation de la prévalence de l'obésité chez les enfants et les adolescents dans l'ouest Algérien a été effectuée grâce à des mesures anthropométriques réalisées le jour de l'enquête chez des enfants et adolescents âgés de 6 à 15 ans scolarisés dans 19 établissements scolaires choisis au hasard, dont l'effectif total égal à 1845 (962 garçons et 883 filles) constitue un échantillon représentatif.

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

Les autres informations étudiées ont été recueillies au travers d'un questionnaire individuel rempli par des enquêteurs formés, à partir des réponses données par les enfants. Le questionnaire comportait de nombreux choix de réponses de type qualitatif. La réponse à ce type de question, qui fait appel à la mémoire de l'enfant, comporte une part de subjectivité qu'il faut prendre en compte dans l'interprétation des résultats de cette étude.

Les résultats de notre enquête transversale montrent que le sexe ratio filles/garçon est de l'ordre de 1,08 et que la prévalence de la surcharge pondérale, selon les références de l'IOTF, est égale à 14,9 % dont 3,5% correspondant aux enfants obèses. Nous constatons avec ces résultats, que la prévalence de l'obésité est en constante augmentation dans les pays en développement tel que l'Algérie, ainsi la surcharge pondérale (obésité incluse) était de 12.2% dans la même région de l'Ouest Algérien (5), et de 21.5% (5,6% obèses) à l'Est du pays (6). Cette progression touche également plusieurs pays dans le monde, ainsi par exemple la surcharge pondérale est de 8,7% en Tunisie (7), de 15% en France, et environ 30% en Amérique (8).

Dans notre enquête la prévalence de la surcharge pondérale était plus marquée chez les filles que chez les garçons (17% vs 13%) comme il a déjà été mis en évidence dans certaines études dont celle faite à Khroub en Algérie (9).

Le lien entre les habitudes alimentaires et le statut pondéral des enfants a été également étudié dans notre enquête. Concernant la prise du petit déjeuner, 72,2% des enfants ayant une corpulence normale ont déclaré respecter ce repas, alors que 31,6% des enfants obèses ne le prennent pas régulièrement. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux de la littérature, qui a démontré que l'obésité est associée à des apports énergétiques plus faibles au petit déjeuner et que les enfants en surpoids ou obèses sont moins nombreux (15.7%) à respecter ce repas (10). L'étude Shundt (11) a également démontré que la consommation régulière d'un petit déjeuner contribuait à étaler la prise alimentaire journalière et à diminuer la consommation impulsive et incontrôlable d'aliments de haute valeur énergétique.

Pour ce qui est de la composition du petit déjeuner, l'enquête nous a permis de mettre en évidence des différences entre les deux groupes d'enfant obèse et non obèse dans la consommation du pain, des gâteaux, des laitages et des fruits. Cependant nous prenons ces résultats avec réserve sachant que les questions étaient qualitatives non quantitatives et que les réponses des enfants sont subjectives, ce qui serait intéressant, est de lancer une enquête alimentaire qualitative et quantitative grâce à un semainier fait au près des parents.

Les enfants et les adolescents obèses sont souvent sujets à des troubles du comportement alimentaire tel que l'hyperphagie prandiale, la compulsions alimentaires, et le grignotage. Selon une étude récente ces troubles étaient présents chez 91% des enfants, avec une prédominance pour le grignotage (78.8% des cas) (12). Les résultats de notre enquête nous ont permis d'apprécier ce fait, les enfants obèses étaient plus nombreux à avoir déclaré grignoter régulièrement (52,2%) vs (29,2%) des enfants non obèses.

La sédentarité excessive entretenue par le nombre d'heures passées devant la télévision constitue un facteur de risque de l'obésité chez l'enfant en effet une étude française réalisée au près de 85 enfants a montré une relation positive entre les heures passées devant la télévision et l'IMC (13).

D'autres auteurs (14) ont montré que les enfants obèses comparés aux enfants normaux pondéraux présentaient une diminution significative du nombre de séances d'activité physique et ont évalué la sédentarité par l'intermédiaire du temps passé devant la télévision. Cette étude a conclu en une diminution de 10% du risque de survenue d'une obésité par heure d'activité physique quotidienne et en l'augmentation de 12% par heure passée devant la télévision (15). Notre enquête a mis en évidence une prévalence de l'obésité plus importante chez les enfants de moindre activité physique journalière comme partir à l'école en véhicule, pas ou peu de jeu régulier à l'extérieur, et la pratique régulière des jeux vidéos.

Cependant on n'a trouvé de différence entre les deux groupes obèse et non obèse dans la pratique d'une activité sportive cadrée régulière, cela s'explique probablement par la présence d'une minorité d'enfants qui pratique régulièrement une activité sportive cadrée.

Au-delà des facteurs de risques liés à la croissance staturo-pondérale de l'enfant, les caractéristiques staturo-pondérales parentales semblent également impacter sur le risque d'obésité chez l'enfant. Ainsi, les données disponibles indiquent que le risque de surpoids chez l'enfant augmente avec l'IMC des parents (16) (17), notamment celui de la mère (18). Il semblerait que les IMC du père et de la mère aient une influence différente sur l'IMC de l'enfant : l'IMC de la mère serait plus déterminant sur l'IMC de l'enfant et **de l'adolescent**, alors que celui du père influencerait davantage la répartition de la masse adipeuse (19).

En effet, la recherche d'antécédents de surpoids chez les enfants scolarisés, a été révélée chez 131 obèses.

Conclusion

L'obésité touche 14,9% des enfants et adolescents scolarisés dans l'ouest Algérien.

L'inégalité des prévalences de l'obésité observées chez les garçons et les filles, a été mise en évidence dans la plupart des études où la prévalence féminine est plus élevée. Elle est plus marquée dans la tranche d'âge 8 - 9 ans. Parmi les facteurs de risque liés à la prédisposition au surpoids et à l'obésité, on a pu mettre en évidence certaines variables alimentaires comme le

grignotage et le fait de sauter le petit déjeuner qui est considéré comme un repas essentiel de la journée pour les enfants ainsi que les antécédents d'obésité dans la famille de l'enfant. Cependant, Les autres éléments familiaux liés au niveau socioéconomique, culturels, génétiques, et/ou d'habitudes de vie, n'ont pas pu être mis en avant dans cette étude. Enfin, une relation positive entre l'activité physique, la sédentarité et le surpoids (obésité incluse) a été mise en relief.

Ces résultats confirment la transition nutritionnelle que traverse notre pays et d'autres pays en développement. L'intérêt de surveiller la population scolaire semble évident en Algérie où le taux de scolarisation avoisine les 90 %. Les UDS sont un lieu privilégié pour un système de surveillance nutritionnelle des enfants et des adolescents, afin de proposer des stratégies de prévention adaptées et efficaces (20).

CONFLIT D'INTERET : AUCUN

Références bibliographiques

1. Organisation mondiale de la Santé (OMS) Obésité : prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale. Rapport d'une consultation de l'OMS. Série de Rapports techniques 2003 N°894, Genève, Organisation mondiale de la Santé, 284 p.

2. Allam F, Sais Z, Ouchfoun A, Atek M, Smati L, Boudinar F, Bouchriet G, Boukhari S. 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 Bouzareah. Publication INSERM. Paris 2011.
3. Guo S.S, Wu W, Chumlea W.C, and A. F. Roche. Predicting overweight and obesity in adulthood from body mass index values in childhood and adolescence. *Am J Clinical Nutrition* 2002.
4. HAS « Haute autorité de santé », Prise en charge de l'obésité de l'enfant et de l'adolescent, rapport du service des recommandations professionnelles. Anaes 2003.
5. Diaf M. Etude de la prévalence de l'obésité chez les enfants et les adolescents scolarisés dans la ville de Sidi-Bel-Abbes. *Memoir de Magister* 2009.
6. Oulamara H, Agli AN, Freulut ML. Alimentation activité physique et surpoids chez les enfants de l'Est algérien. *Cahier de Nutrition et de Diététique* 2006 Vol-41, N°1,46-54.
7. Regaeig S, Charfi N, Masmoudi L, Mnil F, Rebai H, Rekik N, Abid M. Prévalence de l'obésité chez des enfants de 9 a 12 ans de la ville de Sfax Tunisie. Edition Elsevier Masson 2010 p.296.
8. Charles MA. L'obésité infantile en France et dans le monde. *Soins pédiatrie* 2007, Vol 28 N°239 ; 16-19.
9. C.C. Mekhancha-Dahel, D.E. Mekhancha, N. Bahchachi, L. Benatallah, L. Nezzal. Surpoids, obésité : signes de la transition nutritionnelle chez des enfants et des adolescents scolarisés au Khroub, Algérie. *Rev Epidemiol Santé Publique*, 2005, 53 : 569-576
10. Bellisle F, Rolland-Cachera MF, Deheeger M, and Guilloud-Bataille M. Obesity and food intake in children: Evidence for a role of metabolic and or behavioral daily rhythms. *Appetite* 1988; 11:111-8.
11. Schundt DG, Hill JO, Sbrocco T, Pope-Cordle J, Sharp T. The role of breakfast in the treatment of obesity: a randomized clinical trial. *J Clin Nutr* 1992; 55:645-51.
12. Khelifi N, Boumeffteh S, Bhouri S, Amrouche C, Jammoussi H, Berriche O, et al. Les troubles du comportement alimentaires chez l'enfant et l'adolescent obèse. *Diabetes and Metabolism* 2012:Vol38, N° S2.p264.
13. Lehingue Y, Picot MC, Millot L, Fassio F. Accroissement de la prévalence de l'obésité chez les enfants de 4-5 ans dans un département français entre 1988 et 1993. *Revue Epidem Santé* 1996 ; 44 :37-46.
14. Trost SG, Kerr LM, Ward DS, Pate RR. Physical activity and determinants of physical activity in obese and non-obese children. *Int J Obese Relat Metab Disord* 2001; 25:822-9.
15. Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: Public health crisis, common sense cure. *Lancet* 2002; 360:473-82.
16. Moschonis G, Grammatikki E, Manos Y. Perinatal predictors of overweight at infancy and preschool childhood: the genesis study. *Int J Obbes* 2007.
17. Reece EA, Perspectives on obesity, pregnancy and birth outcomes in the United States: the scope of the problem. *J Obstet gynecol* 2008;198:23-27.
18. Persons TJ, Power C, Manor O. Fetal and early life growth and body mass index from birth to early adulthood in 1958 British cohort: longitudinal study. *BMJ* 2001; 323:1331-1335.

19. Heude B, Kettaneh A, Rakotovao R, Bresson JL, Borys JM, Ducimetiere P, Charles MA. Anthropometric relationships between parents and children throughout childhood: the Fleurbaix-Laventie Ville Santé Study. *Inte J Obes* 2005; 29:1222-1229.
20. Grangaud JP, Kermani S. La santé des enfants algériens. Différences et inégalités. *JAM* 1996 ; VI, 3 : 131-6.

DETECTION AVANCEE DU CANCER DU SEIN PAR IMAGERIE MICRO-ONDES

MERIAH.S.M, MERAD.L, CHOUITI.S.M.

Laboratoire de Télécommunications de Tlemcen, Faculté de Technologie,

Université de Tlemcen, BP 230 Chetouane, Tlemcen 13 000

Code: 32 /2011

Email chef de projet : meriah_m@yahoo.com

Résumé

Le cancer du sein est très fréquent chez la femme, une détection à temps donne plus de chance de survie. Les méthodes conventionnelles pour la détection de tumeurs telles que la mammographie et l'imagerie par résonance magnétique IRM ne permettent pas en général de dépister les petites masses tumorales. En plus des inconvénients relatifs aux rayonnements néfastes pour le corps et le prix élevé. L'imagerie micro-ondes nous permet de dépasser les limites de ces méthodes en assurant une détection plus précise des tumeurs, plus de confort pour le malade et un prix moins important. Un tel système repose sur la transmission et la réception d'ondes électromagnétique par le biais d'antennes. Notre objectif dans ce projet PNR est de concevoir des systèmes ULB (Ultra Large Bande) permettant la détection et la localisation de cellules cancéreuses de petite taille par imagerie micro-ondes.

1. Introduction

L'objectif scientifique de ce projet est de réaliser un système d'imagerie micro-ondes, basé sur deux approches : la méthode tomographique micro-ondes TMO et la méthode confocale, dans un cadre d'application à la détection et localisation des tumeurs du cancer du sein. Autrement dit, de proposer à la fois un montage de mesures basé sur des antennes Ultra Large Bande (UWB) et différents algorithmes de détection, de localisation des tumeurs, et de reconstruction de l'image en 3D. L'accent est davantage mis sur le choix du type d'antennes (Fractale, Bowtie, vivaldi, etc....) et sur les aspects algorithmiques.

Au cours de ce projet PNR, nous avons pu développer l'essentiel des tâches définies dans notre projet PNR. En effet, nous avons conçu plusieurs types d'antennes ULB fonctionnant dans la bande 3.1 à 10.6 GHz, dont trois antennes de tailles miniatures. Ces antennes sont destinées à être exploiter dans la phase de conception du système ULB. La recherche bibliographique a été très riche en informations, ce qui nous a permis de définir un modèle fantôme du sein. Ces travaux, nous ont alors permis de concevoir deux systèmes d'imagerie microondes Ultra Large Bande ULB, basée sur l'approche TMO dite tomographie micro-ondes et l'approche confocale dite aussi Radar. Dans un premier temps nous avons utilisé deux antennes : une antenne à l'émission et une antenne à la réception ; puis en intégrant plusieurs antennes dans le système d'imagerie micro-ondes. Le nombre d'antennes reste lié au nombre de points de mesures. La simulation a été réalisée sous le logiciel CST studio. Ce dernier est un logiciel puissant permettant la conception de circuits Radio

fréquences RF, basé sur des outils de calcul très rigoureux que soit dans le domaine fréquentielle ou le domaine temporel. Les résultats de simulations obtenus constituent alors une base de données aux logiciels de traitement. L'ensemble des algorithmes développés sont programmés en langage Matlab.

Nous avons aussi développé un outil rapide de diagnostic permettant la détection et la localisation de la tumeur, ceci en utilisant les réseaux de neurones [5] [6]. Ce travail a été réalisé selon une dimension (1D) et deux dimensions (2D), puis une extension au 3D est en cours de réalisation.

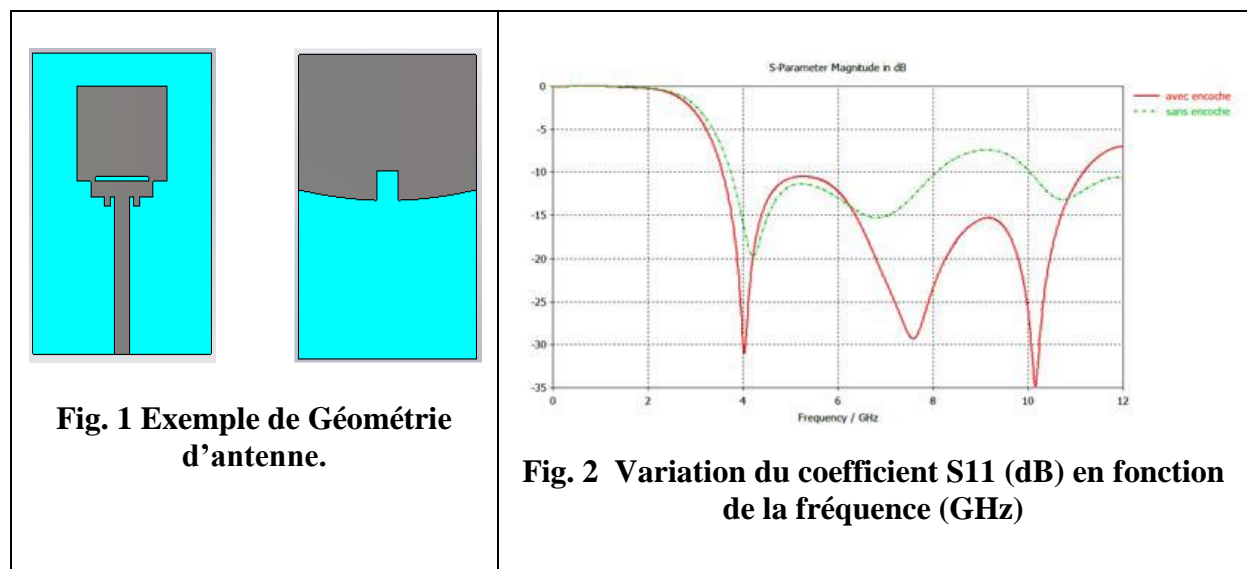
L'ensemble des travaux réalisés au cours de ce projet PNR ont fait l'objet de plusieurs communications et publications internationales.

Notons aussi que le système que nous voulons proposer peut être considéré comme un prototype ouvrant une nouvelle industrie nationale dans le domaine de l'imagerie médicale.

Nous souhaitons à travers ce projet d'aider les médecins spécialistes à détecter et localiser le cancer du sein, surtout au début d'apparition des tumeurs (cas des tumeurs de petites tailles).

// Résultats et discussions

Un exemple d'antenne micro ruban utilisée dans le système est représenté sur la figure 1 [1]. La figure 2 représente l'adaptation de l'antenne à son domaine fréquentiel.



Avant de lancer la recherche sur les différentes techniques de détection et de localisation de la tumeur, il est important de trouver un modèle adéquat représentant les propriétés diélectriques des tissus humains, principalement les tissus mammaires.

Les tissus mammaires des femmes ont été étudiés, avec un accent sur la détection de cancer du sein. Des tests biologiques ont été mis en place en dehors de l'organisme (Mesure Ex

vivo) des tissus mammaires humains malins et normaux, et ont été réalisés par plusieurs groupes de chercheurs. Nous avons alors utilisé les données déduites de l'article [2]. Les propriétés diélectriques sont données dans le tableau suivant, où σ est la conductivité des tissus en (siemens / mètre) et ϵ_r est la permittivité relative.

	Conductivité σ (S/M)	Permittivité ϵ_r
Peau	1.49	37.9
Graisse	0.14	5.14
Poitrine	1.85	53.5
Tumeur	1.20	50

Tableau 1: Propriétés diélectriques des paramètres du modèle

Dans la littérature, plusieurs modèles du sein ont été utilisés à savoir : les modèles sphériques, cylindriques, etc. Le choix du modèle dépend de l'application visée. Dans notre cas, nous avons choisis un modèle donné par « S. A. AlShehri et S. Khatun » [3], ayant la forme hémisphérique et les dimensions données dans le tableau 2. Dans la littérature, le rayon de la tumeur varie de 0,2 cm à 1,5 cm.

Partie de Modèle	Taille en (cm)
Diamètre du sein	10
Hauteur du sein	6
Epaisseur de la peau	0.2
Epaisseur de la poitrine	2

Tableau 2: Dimensions des paramètres du modèle

Une recherche bibliographique importante nous a permis de réaliser une description générale des différentes techniques et algorithmes réalisées jusqu'ici dans ce domaine de recherche. Une des approches utilisée est basée la méthode radar ou confocale. Cette technique d'imagerie micro-onde utilise un système de radar mono-statique composé d'une antenne placée à différentes positions XY et qui transmet des micro-ondes dans une large bande de fréquences [4].

Deux ensembles de signaux S11 de chaque position XY de cette antenne sont enregistrés dans deux fichiers. Dans nos simulations, X et Y parcourent une grille de 7 par 7 (49 positions). $E_{XY}(f)$ représentant l'ensemble des fréquences et des signaux récupérés de l'environnement sans l'objet cible et $EC_{XY}(f)$ représentant l'ensemble des fréquences et des signaux récupérés de l'environnement avec l'objet cible. Afin de transformer ces signaux rétrodiffusés en image bidimensionnelle traçant la forme de la tumeur, nous sommes passés par les étapes indiquées dans notre diagramme de la figure 4.

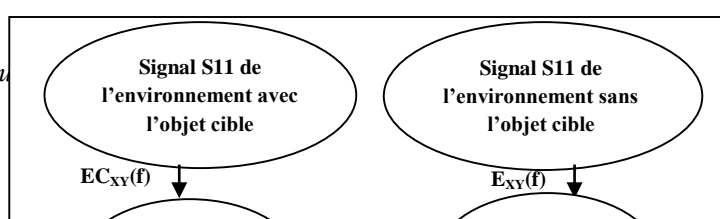
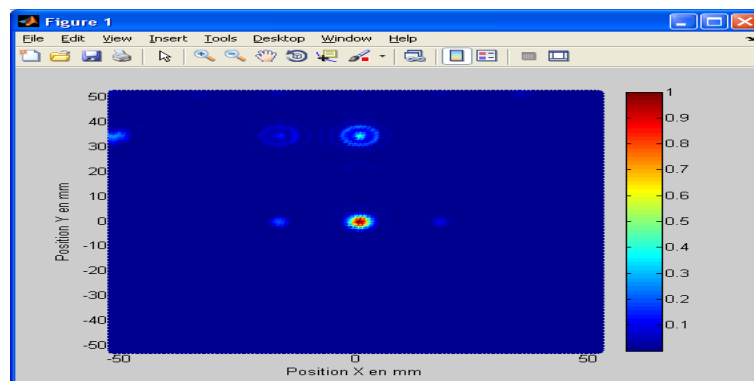
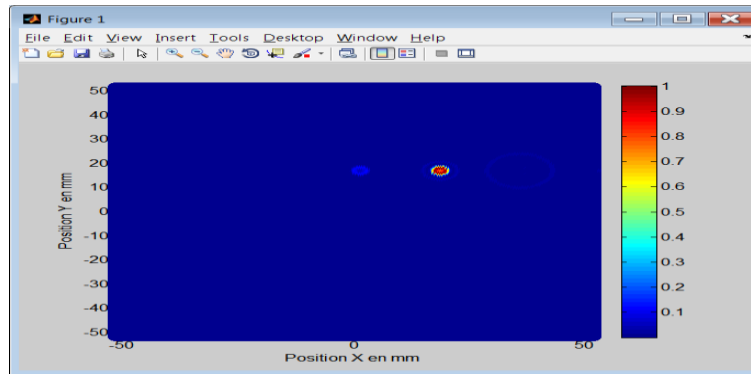


Figure 4. Diagramme représentant les étapes de l'algorithme confocale

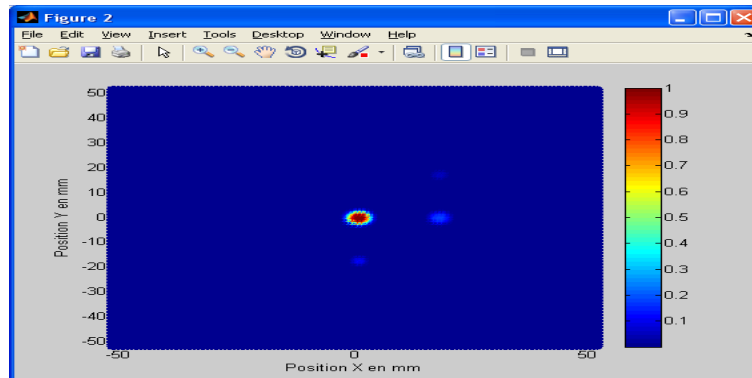
Nous avons implémenté l'algorithme d'imagerie confocale micro-onde sous l'environnement Matlab. Après exécution de ce programme, nous avons obtenu les résultats représentés par les figures 5.a, 5.b et 5.c. Nous avons pu détecter et localiser plusieurs tumeurs dans un même sein. Nous avons réussi à localiser correctement une tumeur précoce de rayon 2 mm. Cependant, ces images étaient accompagnées de bruits que nous tentons de supprimer.



(a)



(b)



(c)

Figure 5. Zones de formation de la tumeur

- (a) Cas d'une tumeur avec un rayon de 5 mm
- (b) Cas d'une tumeur avec un rayon de 2 mm
- (c) Cas de trois (03) tumeurs

III. Conclusion

Ce projet PNR a permis à notre équipe de recherche d'acquérir un savoir-faire important et une maîtrise du sujet de recherche. Les résultats de simulation obtenus sont très encourageants. La phase de réalisation et d'expérimentation sur des patients cancéreux au niveau du CHU de Tlemcen sera réalisée au cours d'un futur projet de recherche.

Références

[1] S. A. AlShehri and S. Khatun, “uwb imaging for breast cancer detection using neural network”, **Progress In Electromagnetics Research C**, Vol. 7, 79–93, 2009

[2] Y. Wang, and A. E. Fathy, “Micro-Doppler signatures for intelligent human gait recognition using a UWB impulse radar,” in *IEEE AP-S Int. Symp. Antennas and Propag.*, Spokane, WA, Jul. 2011.

[3] N.Seladji-Hassaine, F.Z. Maariuf, L. Merad, S.M. Meriah , et al.

Antenne microruban miniature ultra large bande pour imagerie micro-ondes, *Revue Méditerranéenne des Télécommunications*, Vol. 3, N°1, February 2013

[4] S.M. Chouiti, L. Merad, S.M. Meriah

Implémentation d’une technique d’imagerie confocale micro-onde pour la détection d’objets à travers un mur. 6^{ème} Séminaire Sur Les Systèmes De Détection: Architectures Et Technologies DAT’2014, 17 - 19 Février 2014, Alger.

[5] A Miraoui, L. Merad, S.M. Meriah, A.Taleb-Ahmed, M. Bousahla, N. Hassaine, N. Benahmed et B. Belarbi, “Imagerie micro-ondes quantitative pour la détection et la localisation d’objets », **Congres Méditerranéen des Télécommunications CMT 2012, 22-23 -24 mars 2012, Fès – maroc**

[6] A Miraoui, L. Merad, S.M. Meriah, A.Taleb-Ahmed, M. Bousahla, N. Hassaine, N. Benahmed et B. Belarbi, “Microwave Imaging for Breast Cancer Detection Using Artificial Neural Network”, *International Congress on Telecommunication and Applications’12*, 11-12 April 2012, Bejaia

EXTRACTION DE CONNAISSANCES RELATIVES AUX FACTEURS DE RISQUE DU CANCER DU SEIN INFLAMMATOIRE ET NON INFLAMMATOIRE

TIGHIOUART.B¹, AOURAS.H²

¹ Laboratoire LRI. Université Badji Mokhtar - Annaba

² CHU Ibn ROCHD - Annaba

Code : 18/U23/1584

Résumé

Le cancer inflammatoire du sein est une forme rare de cancer qui peut se développer et se propager rapidement, même dès les premiers stades de la maladie. Le présent travail a été conduit dans l'objectif de dégager et d'évaluer les facteurs de risques liés au cancer du sein inflammatoire par rapport au cancer non inflammatoire sur une population cible de l'Afrique du nord où la proportion d'atteinte de cancers inflammatoires est sensiblement plus élevée relativement aux pays occidentaux. Cependant, l'étude et le suivi médical de ce type d'atteintes, engendrent le cumul d'une grande quantité de données issues de différentes modalités d'acquisitions (résultats d'analyses, scanner, radiographie, ...) et qui sont de différentes natures (quantitatives ou qualitatives). Dans ce sens outre l'étude univariée, des techniques de « fouilles de données » et d'extraction de connaissances ont été utilisées dans l'objectif de faciliter le développement de l'outil logiciel pour dégager des indices qui aboutiront à l'adoption d'autres formes de représentations standard, de gestion du dossier du malade et d'autres stratégies thérapeutiques ne prenant en charge que les critères déterminés.

L'approche a porté sur la confrontation de deux populations vis-à-vis d'un ensemble de paramètres sans introduction d'aucune hypothèse possible.

I- Introduction

Les cancers inflammatoires du sein sont un sous-groupe d'intérêt spécial en raison de son pronostic très défavorable. C'est la forme la plus mortelle de cancer du sein et les facteurs de risque sont encore mal élucidés. Sa fréquence est rare dans les pays occidentaux où il représente (1 à 6%) de tous les cancers alors qu'en 'Afrique du Nord sa fréquence est sensiblement plus élevée (10% à 15%) [1],[5], malgré l'absence d'une définition consensuelle de cette forme clinique de cancer du sein et le nombre relativement restreint de patientes.

Plusieurs caractéristiques du cancer du sein inflammatoire sont apparues grâce à des études basées sur la population et qui sont généralement concordante sur certains aspects essentiels de la maladie. Plusieurs facteurs de risque sont incriminés dans le développement du cancer du sein inflammatoire et certains semblent être différents de celui des facteurs de risque de développer un cancer du sein en général.

L'objectif de ce travail à la lumière de ces données, est de dégager les facteurs de risques associés à la survenue du cancer du sein inflammatoire de nos patientes.

II- Matériel&Méthodes

1. Participantes

Nous avons opté pour une étude cas témoins avec appariement sur le caractère inflammatoire du cancer du sein.

31 cas représentés par les femmes atteintes d'un cancer du sein inflammatoire nouvellement diagnostiquées et 59 témoins représentés par les femmes atteintes de cancer du sein non inflammatoire prise en charge dans le même centre hospitalier ont participé à l'étude. Ainsi

- 25 variables actives réparties en 67 modalités, avec un nombre moyen de 2,68 modalités par variables ($2 \leq \text{nb. modalités} \leq 5$) caractérisent les patientes.
- Individus et modalités sont affectés d'un poids identique égal à 1 (pas de pondération)

Les 25 variables ont été regroupées en 3 groupes:

- les caractéristiques socio-économiques: 4 variables (âge, niveau d'éducation, niveau socio-économique, profession de la femme) réparties selon 16 modalités.
- les caractères épidémiologiques et histologiques : 11 variables (nbre. d'enfants, allaitement, contraception hormonal, âge à la première grossesse, ménopause, ménarchie, antécédent familiaux, anapath, SBR, Récepteur hormonaux) réparties selon 32 modalités.
- les caractères relatifs aux facteurs de risques : 10 variables (effort physique, sucre, farine, viande rouge, viande blanche, poisson, sel, légume, lait profil psychologique) réparties selon 20 modalités.

2. Traitements

Deux techniques multidimensionnelles de traitement de données ont été utilisées:

- ✓ L'une descriptives « *Analyse factorielle des Correspondances Multiples* » [17], [18] dont le but ultime est d'obtenir des graphiques permettant d'accélérer considérablement l'interprétation des données d'un tableau $T(i,j)$ de n observations et p variables nominales. Ces graphiques rendent compte des liaisons multiples et complexes entre les deux familles d'objets (observations / modalités des variables). On étudie alors les regroupements ou éloignements d'objets par classes d'objets (individus entre eux, modalités entre elles, liaisons entre modalités et facteurs); l'interprétation peut également porter simultanément sur les deux nuages, mettant en avant les liaisons fortes entre individus et modalités qui les caractérisent majoritairement, partant du principe que « la modalité k est placée au barycentre des individus qui la possèdent » [15].

La méthode d'interprétation se basera sur deux approches complémentaires :

- Une première approche, consistant en l'interprétation des axes significatifs, susceptibles de révéler certains caractères synthétiques en tenant compte des paramètres d'aide à l'interprétation adéquats. L'inertie totale du nuage des modalités est déterminée uniquement par le nombre total de modalités p et le nombre de variables q . Plus précisément, l'inertie totale du nuage des modalités vaut : $I = \sum I(X_j) = (p-q)/q$ avec $I(X_j) = (p_j - 1)/q$. où p_j est le nombre de modalités de la variable X_j . Autrement dit, l'influence d'une variable dépend seulement du nombre de ses modalités. Pour éviter que certaines variables prennent une importance excessive, ou au contraire soient peu présentes dans l'analyse, il faut donc éviter des différences trop marquées entre les nombres de modalités des variables à analyser. L'inertie expliquée par axe est égale à (valeur propre/I).

- La décroissance des valeurs propres est beaucoup moins rapide que dans le cas de l'AFC, et il est difficile d'énoncer un critère relatif au nombre d'axes factoriels à conserver. De fait, il arrive fréquemment qu'on se limite à l'étude du premier plan factoriel [21]. Contrairement à ce qui est le cas en AFC, les % d'inertie ne sont pas interprétables en terme de qualité de la représentation, seul élément important pour l'utilisateur de la méthode. Greenacre et al [22] ont proposé d'utiliser une inertie ajustée, plus proche de la réalité.
- Une deuxième, qui fera abstraction des facteurs et de leur signification, dans laquelle nous considérerons individus et modalités dans leur configuration multidimensionnelle, pour déceler les liaisons remarquables.

Il est à signaler [14] que :

- une inertie faible du nuage entraîne un nuage concentré autour du centre de gravité tandis qu'une inertie forte donne un nuage dilaté. L'indépendance des variables donne une forme sphérique au nuage, ce qui entraîne aucune direction privilégiée pour les axes, l'inertie des axes est donc dans ce cas faible. Au contraire l'existence d'une dépendance provoque un étirement du nuage dans une direction donnée.
- Le centre du graphique (origine du repère) correspond aux valeurs moyennes du tableau, c'est-à-dire aux profils les plus souvent rencontrés ; les profils originaux (rares) se trouvant éloignés du centre.
- L'identification de chaque axe, permet de cerner pour les premiers facteurs les tendances dominantes de l'organisation des données, et donc d'identifier les caractères significatifs de la typologie des individus étudiés. Les modalités ayant influencé le plus la construction des axes sont celles dont les contributions [13], [19] sont les plus élevées. Sa valeur est < 1 . « la contribution d'une variable à l'axe est la somme des contributions de ses modalités ».
- Dans l'analyse des graphiques, il est important de se méfier des effets de perspective ; l'analyse des cosinus carrés permet d'éviter des erreurs d'interprétation dues à des effets de projection. Si les cosinus carrés associés aux axes utilisés sur un graphique sont faibles, on évitera d'interpréter la position de l'observation ou de la variable en question.
- ✓ Et l'autre explicative à base « *des arbres de décision* » qui consiste en une représentation graphique d'un ensemble de règles permettant de prédire l'appartenance d'un individu à une classe en fonction de ses caractéristiques [20]. Les arbres de décision sont des classificateurs pour des instances représentées dans un formalisme attribut/valeur :
 - Les nœuds de l'arbre testent les attributs
 - Il y a une branche pour chaque valeur de l'attribut testé
 - Les feuilles spécifient les catégories (classes)

À chaque étape on calcule parmi les attributs restant pour la branche en cours, l'attribut qui maximisera le gain d'information. ainsi $\text{Gain}(X; a_j) = H(X) - \sum n_i/n. H(X_{a_j=v})$ avec

$$H(X) = - \sum p_i \cdot \log_2 p_i \quad i=1, \dots, k \text{ et } H(X_{a_j=v}) = - \sum p_i \cdot \log_2 p_i$$

C'est-à-dire l'attribut qui permettra le plus facilement de classer les exemples à ce niveau de cette branche de l'arbre. La qualité de l'arbre obtenu est estimée à l'aide du coefficient « Kappa » pour mesurer le degré de concordance entre la classe réelle et la classe déterminé par l'arbre ; Il prend sa valeur dans l'intervalle $[-1, 1]$. Le Kappa est bon s'il est ≥ 0.61 . Le Kappa est moyen s'il appartient à $[0.41, 0.60]$. A partir de l'arbre représenté on peut extraire des règles diagnostics en se basant sur le parcours des différentes branches de l'arbre.

III- Résultats

1. Analyse des correspondances multiples

La représentation simultanée des lignes et des colonnes permet une interprétation aisée des projections. Ainsi la position relative de deux points d'un même ensemble (observation ou modalité), s'interprète en tant que distance. La position d'un point d'un ensemble et tous les points d'un autre ensemble s'interprète en tant que barycentre.

a. caractéristiques socio-économiques

Inertie totale du nuage de points : 3

	F1	F2	F3
Valeur propre	0,57	0,41	0,36
% Inertie cumulé	19,11	32,73	44,76
% Inertie ajustée cumulé	55,92	69,38	75,96

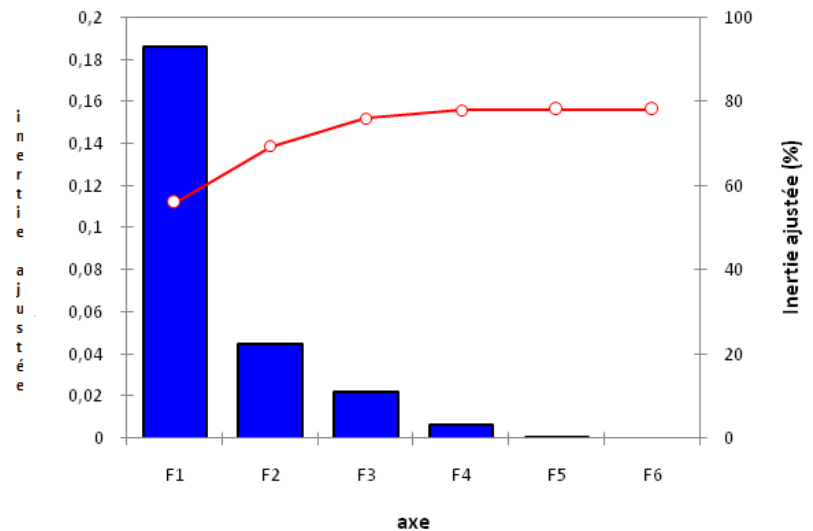


Fig1 : graphe des valeurs de l'inertie

Tab1 : valeurs propres et inerties

Les trois premiers axes (F1, F2, F3) résument l'information avec un taux global de 75,96%. Le graphe suivant représente les projections des observations et des modalités dans l'espace R^3 des axes afin de déceler les différentes associations.

b. Caractéristiques épidémiologiques et histologiques

Inertie totale : 1,727

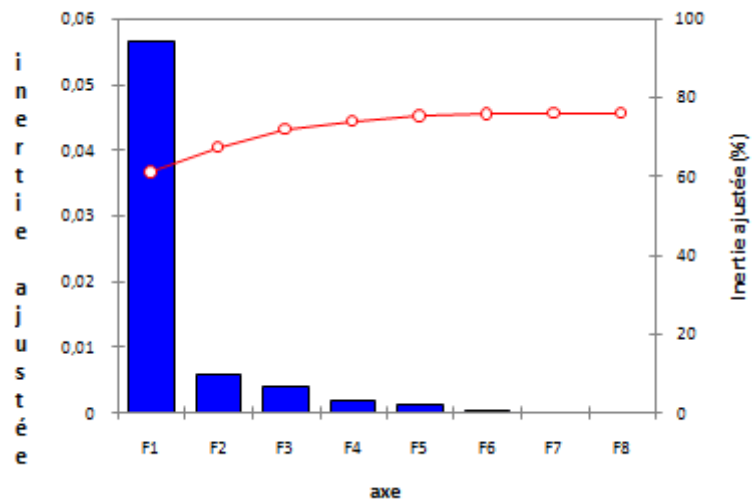


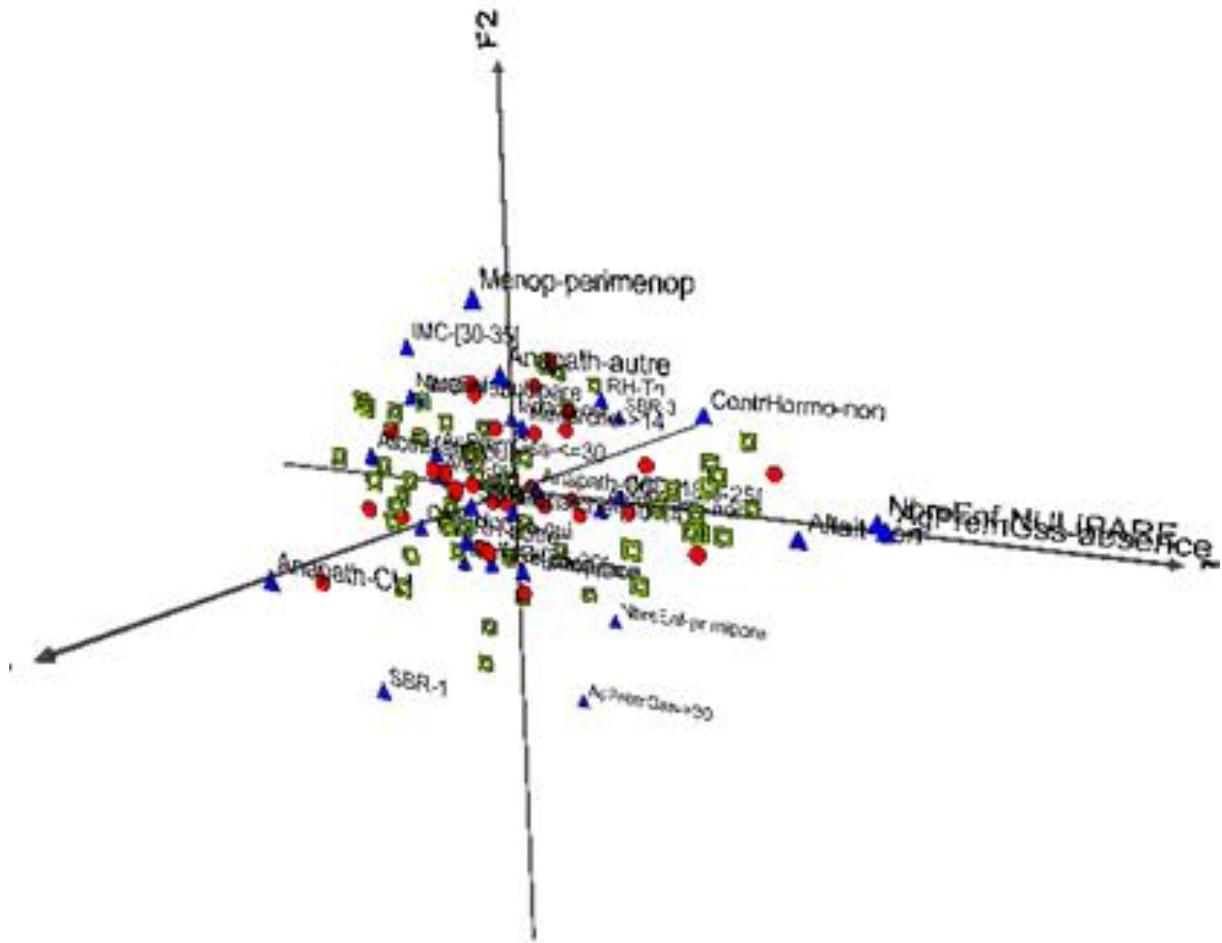
Fig2: graphe des valeurs de l'inertie

	F1	F2	F3
Valeur propre	0,31	0,16	0,15
% Inertie cumulé	17,79	27,11	35,71
% Inertie ajustée cumulé	61,14	67,54	71,87

Tab2 : valeurs propres et inerties

Le graphe suivant représente les projections des observations et des modalités dans l'espace R^3 des axes (F1, F2, F3) afin de déceler les différentes associations.





Grphe2 : projection des observations (patientes) et modalité

Le graphe fait ressortir :

- une évidence à savoir l'association entre les modalités nullipare, absence de grossesses puis pas d'allaitement.
- Une association entre l'indice de masse corporelle ($IMC > 30$) et multipares
- Une association entre une ménarchie > 14 ans et récepteur hormonaux triple négatif (RH-Tn).

Cependant la forme du nuage (cas et témoins) ne permet pas de déceler une différence importante entre les deux populations.

c. Caractéristiques relatives aux facteurs de risque

Inertie totale = 1

	F1	F2	F3
Valeur propre	0,17	0,15	0,13
% Inertie cumulé	16,55	31,13	43,93
% Inertie ajustée cumulé	33,66	50,07	56,46

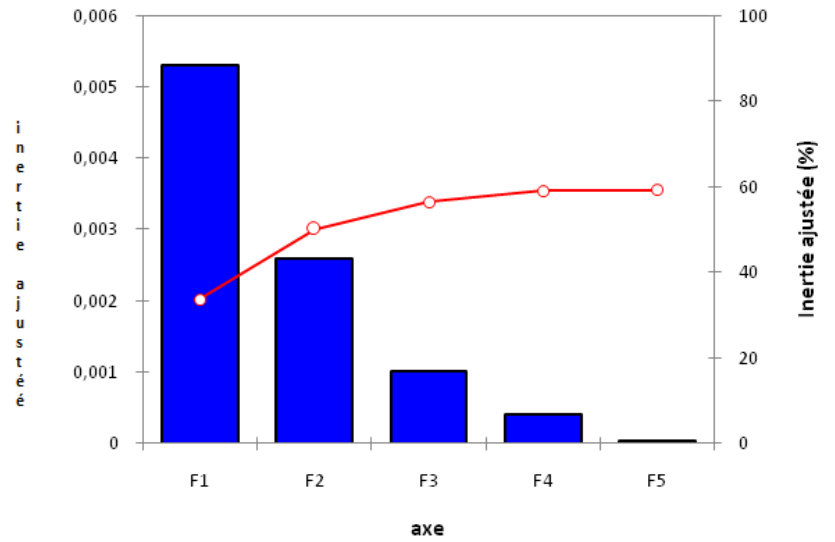
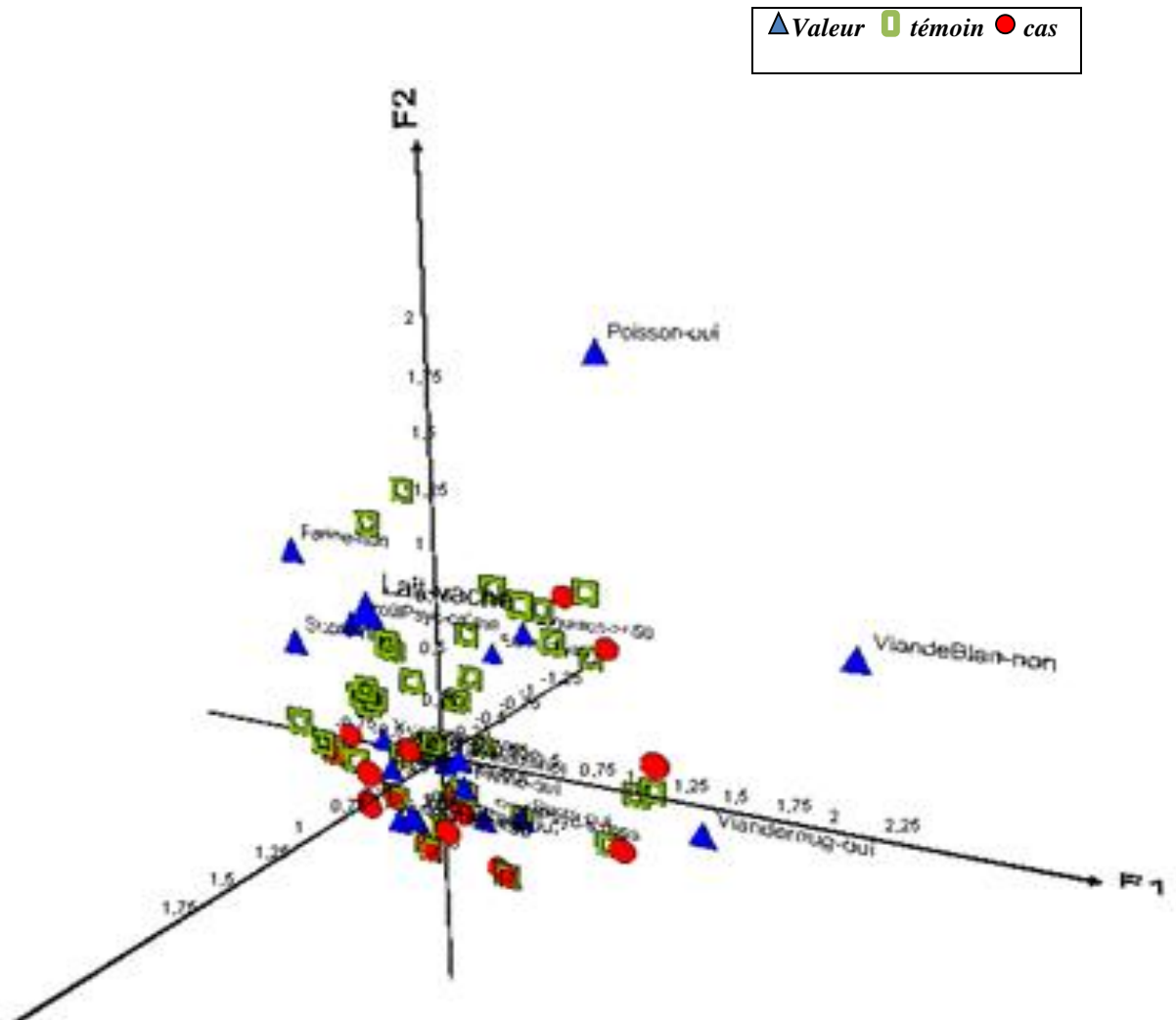


Fig3 : graphe des valeurs de l'inertie

Tab3 : valeurs propres et inertie

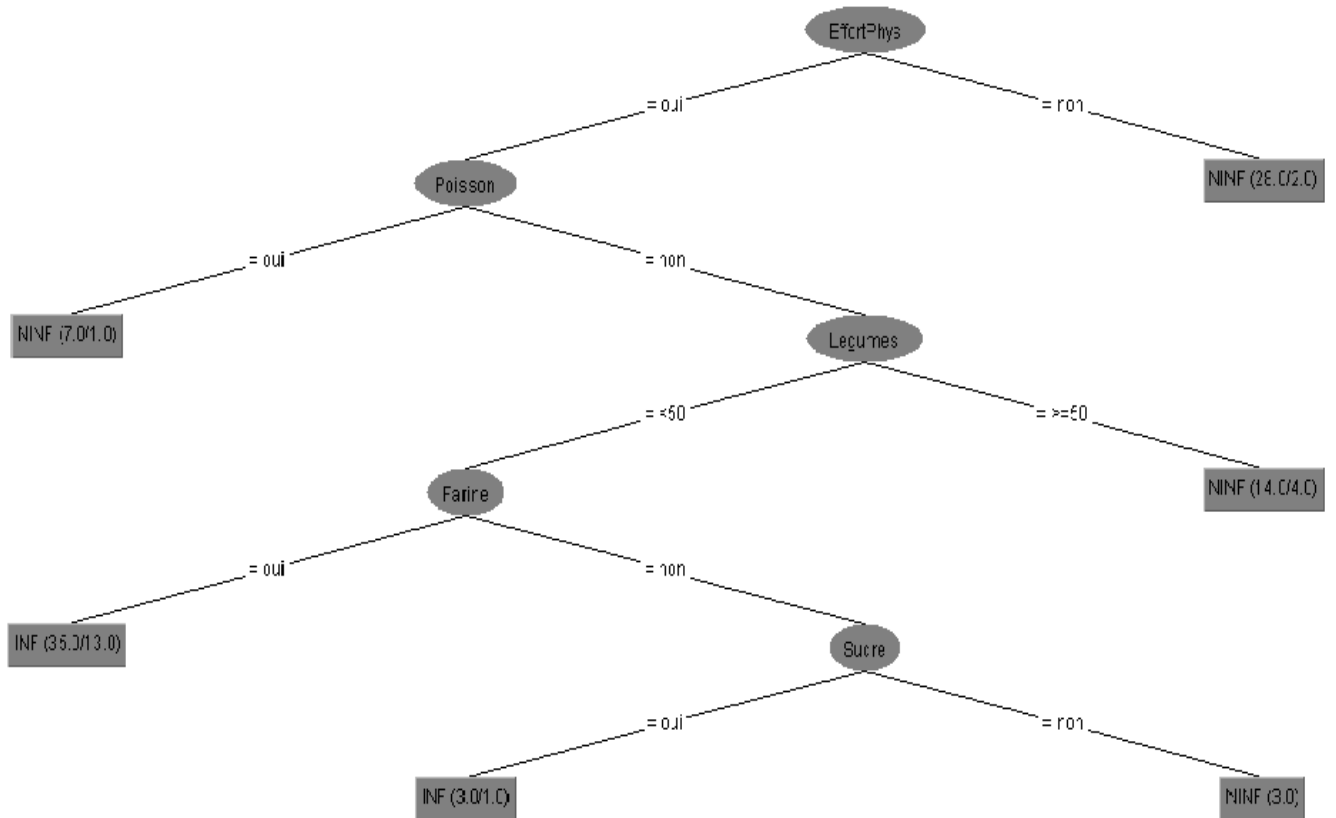


Graphe3 : projection des observations (patientes) et modalités

Le graphe suivant représente les projections des observations et des modalités dans l'espace R^3 des axes (F1, F2, F3) afin de déceler les différentes associations. Le graphe fait ressortir une association entre un profil psychologique (calme) et un régime pauvre en sucre et inversement. Une lecture des différents plans fait ressortir que pour certains cas, un cancer inflammatoire est strictement associé à un régime faible en légume et à un effort physique.

2. Arbre de décision :

Le Schéma de l'arbre de décision obtenu dans le cas des caractéristiques relatives aux facteurs de risques ainsi que des éléments qui serviront à d'interprétation et à la critique des résultats sont présentés dans ce qui suit :



Graphe4 : schéma de l'arbre

Matrice de confusion

TYPE	Non-Inflammatoire	Inflammatoire	total
Non-Inflammatoire	45	14	59
Inflammatoire	7	24	31

Mesures de précision

Type	Taux de vrais positifs	Taux de faux positifs
Non-Inflammatoire	0,763	0,226
Inflammatoire	0,774	0,237

Nombre total d'exemples : 90 Nombre d'exemples bien classés : 69 taux de bon classement : 76.66 %

Nombre d'exemples mal classés : 21 taux de mauvais classement : 23.33 % Coefficient Kappa : 0.51

Une première lecture de l'arbre a permis de relever qu'un risque d'évolution vers un cancer inflammatoire du sein dans les cas où la catégorie effort physique=oui associé à un régime pauvre en poisson et pauvre en légume et riche en farine dans une proportion de 70,77% des cas.

IV- Discussion & conclusion :

Dans notre échantillon global (90 cas) :

- La moyenne d'âge était de $46,91 \pm 10,50$ ans avec des extrêmes, un minimum de 22 ans et un maximum de 84 ans. La tranche d'âge la plus dominante était celle entre 40 et 50 ans qui représentait 44,44% de l'ensemble des cas. Le poids moyen est de 71.82 Kg avec des extrêmes entre 50 et 167kg. 40 % des femmes avait une IMC moyenne 27,39 avec des extrêmes entre 12 et 68,6 en surpoids.
- La ménarchie moyenne est de $13,56 \pm 1,52$ avec des extrêmes entre 10ans et 18ans. La majorité des femmes avaient un âge à la première grossesse inférieur à 30 ans soit 74,4%. La parité moyenne était de $2,99 \pm 2,15$ avec des extrêmes entre 1 et 11 enfants, 42,22 % des femmes était multipares, les nullipares représentaient 18.8% des cas.
- 61.42% étaient allaitantes et la durée d'allaitement était supérieur ou égale à 2 ans dans 47.7% des cas, la durée moyenne de l'allaitement est $36,02 \pm 42,52$ avec des extrêmes de 1 et 240 mois.
- Enfin 66,6% des cas prenaient des contraceptifs oraux ; la durée de la contraception hormonale dépassait 5 ans dans 34.48 %. avec une durée moyenne de contraception de 7,5 ans $\pm 4,5$ ans avec des extrêmes entre 1 et 25 ans. 40 % des femmes étaient ménopausées au moment du diagnostic.
- Quant au niveau d'instruction, il était faible dans 48.88% des cas, seule 16% des femmes avaient une profession dont 3.3% étaient cadre supérieur.
- Aucune corrélation significative entre Les antécédents personnels de lésion mammaire antérieure OR=0.8 2 avec un P= 0.08, ou d'antécédents familiaux de cancer du sein OR= 0.84 avec P= 0.18 et la survenue du cancer du sein n'a été retrouvée dans notre échantillon. En effet, ce sont essentiellement les hyperplasies atypiques qui majorent le risque ultérieur de cancer du sein avec un risque relatif variable suivant les séries publiées mais toujours significatif. Ce risque est souvent Plus important Chez les femmes avant la ménopause. L'adénofibrome, survient essentiellement chez l'adulte jeune et classiquement n'augmente pas le risque ultérieur de faire un cancer du sein.
- Pour les caractéristiques histologiques de la tumeur, le cancer lobulaire du sein semble favoriser la survenue du cancer du sein inflammatoire avec un OR 1.14 avec un P=0.03. par contre le grading SBR et l'étude immuno-histopathologique, n'a révélé aucune différence significative entre les deux groupes.

Pour les habitudes alimentaires de nombreux arguments militent pour un rôle des facteurs alimentaires dans la genèse du cancer du sein et notamment pour un régime riche en calories d'origine lipidique, riche en farine blanche et viande et pauvres en légumes et fruits. En effet, nous avons trouvé un OR=1.07 pour un régime riche en farine blanche avec un P =0.04 et riche en viande blanche "poulet" OR 1.04 avec un P= 0.02. Ces résultats ne sont pas vraiment représentatif vu la taille réduite de notre population. Par ailleurs, de nombreuses études cas témoins ont été menées pour tenter de trouver des corrélations entre la consommation de fruits, de légumes et le cancer du sein. Les résultats sont généralement en faveur d'un effet protecteur, notamment pour les crudités. Pour notre étude la majorité de nos patientes avaient un régime contenant moins de 50% de légumes. Pour les conditions de vie quotidienne des femmes, l'activité sportive qui semble être un facteur protecteur n'est retrouvée que chez 2cas. de même pour les habitudes tabagiques ou nous avons trouvés seules 2 femmes qui fument Bien que les données des études sont contradictoires et ne permettent pas d'obtenir des certitudes, pour certains le tabac avance l'âge de la ménopause et serait responsable d'hypo-ostéogénie et

donc pourrait avoir un rôle protecteur. Il ne semble pas à ce jour [23], [24] exister de corrélation entre cancer du sein et intoxication.

Bibliographie

1. Soliman et al.: Inflammatory breast cancer in North Africa: Comparison of clinical and molecular epidemiologic characteristics of patients from Egypt, Tunisia, and Morocco. *Breast Dis.* 2012 Sep 21. [Epub ahead of print] PMID: 23001584
2. D. Alamargot: L'acquisition des connaissances. In C. Golder & D. Gaonac'h (Eds.). *Coll. Profession Enseignant*. Hachette Education. (2001)
3. WF. Anderson and all: Inflammatory breast carcinoma and noninflammatory locally advanced breast carcinoma: distinct clinicopathologic entities. *J Clin Oncol* 2003;21.
4. I. Bairati and all : *Determinants of delay for breast cancer diagnosis Cancer Detection and Prevention* 31 (2007) 323–331
5. H. Boussen et al.: Inflammatory Breast Cancer in Tunisia: Reassessment of Incidence and Clinic pathological Features, *Seminars in Oncology*, Vol.35, No 1, Feb. 2008, pp17-24
6. L. Gallicchio and all: *Body mass, polymorphisms in obesity-related genes, and the risk of developing breast cancer among women with benign breast disease Cancer Detection and Prevention* 31 (2007) 95–101
7. I. Kalan and all: Clinical and pathological characteristics of breast cancer patients with history of cesarean delivery Letter to the editor / *The Breast* 19 (2010) 67–68
8. G. Monique and all: Are risk factors for breast cancer similar in women with inflammatory breast cancer and in those with non-inflammatory breast cancer? *The Breast* (2006) 15, 355–362.
9. S. Roussel: *Intelligence Artificielle*. 3^{ème} édition (Pearson Education). 2006.
10. C. Tarpin, P. Viens : Cancer du sein inflammatoire Individual Book Chapter ; Springerlink 2007, Part 8, 393-412, DOI: 10.1007/978-2-287-71478-8_38
11. PA. Wingo and all: *Population-based statistics for women diagnosed with inflammatory breast cancer. Cancer Cause Control* 2004; 15:321–8.
12. Chang S, Parker SL, Pham T, Buzdar AU, Hursting SD. Inflammatory breast carcinoma incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results program of the National Cancer Institute. *Cancer* 1998;82:2366–72.
13. T. Foucart: *L'Analyse Des Données Mode d'Emploi*, 180 p., Presses Universitaires de Rennes. (1997)
14. Jean de Lagarde ; *INITIATION A L'ANALYSE DES DONNEES*. 3^{ème} édition 1998
15. Escoffier B., Pagès J. 1998, *Analyses factorielles simples et multiples*, Paris, Dunod, 3^{ème} éd., 284 p.
16. T. Hastie, R. Tibshirani, Jerome Friedman *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction; Second Edition*. February 2009
17. http://www.statelem.com/analyse_des_correspondances_multiples.php
18. *Multivariate Analysis: Future Directions 2* (Eds: C.M. Cuadras and C.R. Rao), Elsevier Science, Amsterdam. 327-340. 1993.
19. *L'analyse de données Polycopié de cours ENSIETA - Réf. : 1463*. Arnaud M. Sept . 2004.
20. <https://www.lri.fr/~antoine/Courses/ENSTA/Tr.%20Cours%20ID3x9.pdf>.
21. <http://geai.univ-brest.fr/~carpenti/2004-2005/PSRS83B-3.pdf>
22. M. J. Greenacre et al. Distributional equivalence and subcompositional coherence in the analysis of contingency tables, ratio scale measurements and compositional data. 2005.
23. London et al.: Prospective study of relative weight, height and risk of breast cancer. *J. Am. Med Assoc.*, 262, 2853-2858. (1989).
24. Braga, C et al.: Fertility treatment and risk of breast cancer. *Hum. Reprod.*, 11, 300–303. (1996)

**LA PRISE EN CHARGE INSTITUTIONNELLE DES FEMMES ATTEINTES D'UN
CANCER DU SEIN ET DU COL**

AZZOUZ.N¹, MEBTOUL.M², BENAOU.M.F.Z³, MIDOUN.N⁴

¹ *université de Mostaganem*

² *université d'Oran*

³ *université de Mascara*

⁴ *université d'Oran*

Code : 164

Résumé :

L'objectif de cette étude est de mettre en exergue tous les actes socio- sanitaires déployés par les professionnels de la santé dans la prise en charge des femmes atteintes d'un cancer du sein et du col. On se base sur l'approche qualitative et les techniques de l'entretien et de l'observation afin d'objectiver le discours et les pratiques des professionnels dans le service de gynécologie obstétrique.

La prise en charge des malades est caractérisée par des discontinuités techniques et sociales multiples. Les médecins semblent être dans une logique constante d'adaptation aux conditions de travail dont ils n'ont pas la maîtrise. Les ruptures sont à l'origine de conflits entre les professionnels et les malades. Elles affectent considérablement la relation des malades avec les professionnels de la santé. Cette situation contraint les patients à s'inscrire dans une logique de dépannage pour se procurer les traitements nécessaires pour la chimiothérapie. Les professionnels de la santé et essentiellement le personnel paramédical n'ayant pas suivi une formation spécialisée en oncologie évoquent les difficultés éprouvées en travaillant avec des personnes atteintes d'un cancer. Les formations médicale et paramédicale ne semblent pas inclure toutes les dimensions de la pratique médicale.

Introduction :

En Algérie, la situation épidémiologique est caractérisée ces dernières années par l'augmentation de la prévalence des maladies chroniques et non transmissibles, notamment le cancer. Chaque année 40.000 nouveaux cas sont enregistrés selon les sources de l'institut national de santé publique. Les cancers du sein, du colon, des poumons, du col de l'utérus et de la prostate, demeurent les plus répandus en Algérie, avec un taux de prévalence de 50%, pour une moyenne d'âge de 59 ans chez l'homme et 51 ans chez la femme. A Oran, le cancer du sein enregistre entre 1.000 et 1.500 nouveaux cas de cancer du sein sont détectés chaque année.³ Pour le cancer du col, 05 nouveaux cas et 02 décès sont signalés quotidiennement avec des disparités entre les différentes régions du pays. 1 200 à 1 600 nouveaux cas de cancer du col de l'utérus sont enregistrés annuellement en Algérie, selon les statistiques de l'Institut national de santé publique⁴.

La lourdeur et le coût de cette maladie place l'institution hospitalière en premier rang dans la prise en charge des personnes atteintes d'un cancer. Elle implique d'une part d'importants moyens techniques et des traitements coûteux (radiothérapie, chimiothérapie, actes chirurgicaux) et d'autre part, l'intervention de différents acteurs socioprofessionnels.

L'objectif :

Le présent travail tente de comprendre comment s'organise au quotidien le travail de la prise en charge des personnes atteintes d'un cancer d'identifier les contraintes auxquelles font face les professionnels de la santé et les malades. Il nous a donc semblé important d'investir de l'intérieur l'institution hospitalière. Nous avons choisi le service de gynécologie obstétrique du CHU d'Oran qui prend en charge les femmes atteintes d'un cancer du sein et du col.

Il s'agit d'identifier les raisons profondes des discontinuités dans la prise en charge de femmes atteintes d'un cancer du sein et du col dans un service de gynécologie obstétrique du CHU d'Oran. On suivra les professionnels de la santé dans leur activité quotidienne, et l'on observera la façon dont ils évoquent leurs expériences socioprofessionnelles.

La méthodologie :

Nous nous appuyons sur l'approche qualitative et ethnographique pour objectiver le discours et les pratiques des professionnels. Dans un premier temps, nous avons réalisé un travail exploratoire en nous appuyant sur des discussions et des entretiens informels avec les acteurs du service hospitalier de gynécologie du CHU d'Oran par la médiation du journal d'enquête qui nous a permis de noter les premières données du terrain. L'observation in situ permet d'un côté de recueillir des données relatives au déroulement du travail en situations naturelles. D'un autre côté, elle permet de s'adapter au milieu étudié et d'instaurer une relation de confiance avec les professionnels de la santé et les patientes. Ce premier moment a contribué d'une part à affiner

³ Il s'agit des résultats d'une enquête réalisée dans la wilaya durant la période 2000-2009 et menée par le service d'épidémiologie et de médecine préventive au Centre hospitalo-universitaire d'Oran, en collaboration avec l'Établissement Hospitalo-Universitaire (EHU) 1er Novembre d'Oran.

⁴ Baiche.Lamia, Cancer du col de l'utérus : la vaccination reste la meilleure solution – « Horizons – Algérie » le 17 Avril 2011.

nos orientations de recherche, d'autre part à construire notre guide d'entretien et notre grille d'observation.

Dans un deuxième temps, nous avons mobilisé l'observation in situ. La technique de l'observation est un outil qui permet de mieux comprendre le fonctionnement de cet espace sanitaire, les multiples interactions entre les professionnels et les malades et la façon dont sont prises les décisions par les acteurs de la santé. Pour décrypter ces différentes dimensions, nous avons assistés aux consultations, aux séances de chimiothérapie et aux réunions de programmation des actes chirurgicaux.

Nous avons également réalisé une dizaine d'entretiens approfondis et semi-directifs avec le personnel de la santé détenteur de statuts professionnels diversifiés (médecins, infirmiers, psychologue). Ces entretiens sont axés sur leurs expériences professionnelles auprès des patientes atteintes d'un cancer.

Les résultats :

Le temps institutionnel dominé par les discontinuités:

La discontinuité dans la prise en charge due aux pénuries répétitives de médicaments pour la chimiothérapie et des drogues pour l'anesthésie provoquent des retards et mettent la vie des patientes en péril. La pénurie conduit à une révision de la programmation. Tout le travail médical est mis en défaut. Les médecins fixent un autre rendez-vous tout en n'étant pas sûres de la disponibilité du traitement. Ils semblent être dans une logique constante d'adaptation aux conditions de travail dont ils n'ont pas la maîtrise.

Un médecin disait :

« On s'adapte aux conditions de travail. Quand les drogues sont disponibles, on fait la chimiothérapie pour tous les malades sans exception. Quand il y a une rupture, on ne peut rien faire. C'est déprimant. »

En effet, nous avons observé à plusieurs reprises des ruptures des médicaments, conduisant les médecins à reporter la date des séances de chimio. Cette situation est vécue péniblement par les professionnels et les malades. Renvoyer un malade à cause du manque de médicaments représente un facteur qui entrave la réussite du traitement. En outre l'état de santé de la malade s'aggrave et peut imposer le renouvellement du traitement depuis le début. L'enjeu du traitement pour réaliser la chimiothérapie est essentiel. Son absence produit nécessairement, et particulièrement pour les patients anonymes, une rupture dans leur prise en charge avec tous les effets dramatiques sur la vie du malade.

Les ruptures sont aussi à l'origine de conflits entre les professionnels et les malades ou leurs proches particulièrement ceux qui résident dans les autres wilayas. Elles affectent considérablement la relation des malades avec les professionnels de la santé. Pour atténuer le conflit, les infirmières leur demandent leurs coordonnées ou donnent leur numéro de téléphone pour les informer de la disponibilité des médicaments ou des traitements de chimiothérapie.

Cette situation contraint en parallèle les patients à s'inscrire dans une logique du dépannage pour se procurer les traitements nécessaires pour la chimiothérapie. La rareté du traitement à l'hôpital met en branle des stratégies qui permettent aux malades et à leurs proches parents de privilégier un cheminement informel, grâce à leur capital relationnel, pour acquérir le fameux traitement. C'est bien une course contre la montre qui semble indiquer que le traitement peut aussi « pénétrer » par d'autres voies déployées par les patients. On peut, nous semble-t-il évoquer les stratégies de survie des patients contraints à quémander un médicament.

Une confrontation brutale avec le cancer :

Travailler avec des cancéreux semble susciter chez les professionnels de la santé un réel travail d'adaptation à la maladie et aux conditions de travail. Il est également un terrain d'apprentissage au quotidien. Ce travail s'effectue essentiellement durant les premières années de leur exercice. Certains utilisent le mot « d'auto-formation » pour désigner leurs expériences de travail auprès de personnes atteintes d'un cancer.

Les professionnels de la santé considèrent l'expérience de travail avec les malades et en particulier avec les cancéreux comme étant un terrain d'apprentissage. Le travail avec les cancéreux nécessite un investissement et une prise en considération de la nature de la maladie. Prenons l'exemple des infirmières responsables de la chimiothérapie aux malades. Elles considèrent le début de leur exercice auprès de ces femmes comme étant difficile et éprouvant et aussi comme une opportunité d'apprentissage et de découverte de l'importance de l'aspect relationnel dans le travail médical.

Une infirmière disait :

« Le début était difficile, ce n'était pas facile, travailler avec les cancéreux... on a peur pour sa santé, et peur d'être atteint de cette maladie. Je faisais des palpations. J'avais vraiment peur... Justement on n'était pas préparé. Nous avons besoin d'une assistance, moi j'ai décidé d'aller chez une psychologue. »

Leur discours traduit la non préparation préalable au travail avec les cancéreux. Ces infirmières n'ont pas suivi de formation spécialisée en oncologie, elles ont été encadrées durant un mois par les médecins qui leur ont appris les actes techniques concernant les types de traitements et à l'admission des traitements de chimiothérapie. Cependant, cette formation a omis la spécificité du travail avec les cancéreux qui a été difficilement vécu par les infirmières. Le sentiment de peur d'être atteintes d'un cancer du sein ou du col principalement chez les infirmières durant les deux premières années de leur expérience de travail auprès des femmes atteintes d'un cancer a été prédominant.

L'expérience des infirmières traduit les difficultés d'adaptation au travail avec les cancéreux. Elles insistent sur le travail personnel réalisé par chacune d'elles. La nature de la maladie produit un imaginaire négatif à l'égard de la maladie. La confrontation brutale avec la maladie a nécessité le recours à des solutions individuelles (psychologue, soutien, etc.).

La formation techniciste des professionnels de la santé n'est pas suffisante. L'expérience de travail avec les personnes atteintes d'un cancer constitue un élément fondamental dans l'apprentissage du métier. C'est la confrontation avec les malades qui leur a permis d'acquérir un savoir faire face aux multiples situations quotidiennes. Elle a aussi atténué leur peur à l'égard du cancer.

Les lacunes de la formation professionnelle :

Les formations médicale et paramédicale ne semblent pas inclure toutes les dimensions de la pratique médicale. Seule leur expérience de travail leur offre l'opportunité d'apprendre comment parler, se comporter, choisir les mots appropriés en prenant en considération la spécificité de la personne malade. C'est durant les premières années de leur exercice, que les professionnels de la santé tentent de s'adapter à des situations auxquelles ils n'ont pas été préparés ou formés.

Un médecin disait :

« Au fur et à mesure on apprend comment parler aux malades on apprend avec le temps, c'est l'autoformation, on apprend ce qu'il faut dire ou ne pas dire, les gestes qu'il ne faut pas faire devant une malade en lisant son dossier ».

Le travail quotidien permet aux professionnels de bricoler, de juger et d'évaluer les différentes situations. Ils donnent plus d'importance à l'aspect relationnel avec les malades. C'est la restauration d'une relation de confiance peut assurer la continuité du traitement.

C'est pareil pour la psychologue. Elle considère que la formation dont elle a bénéficié en psychologie clinique ne fournit pas les connaissances indispensables pouvant lui faciliter le travail avec les cancéreux.

Elle disait :

« L'enseignant nous fait un cours sur quelques maladies ensuite nous allons voir ces cas à l'hôpital pendant la durée d'un mois, une fois par semaine, c'est très insuffisant... tous les psychologues te diront la même chose. Notre formation ne nous apprend pas la pratique ».

La psychologue a une expérience de 03 ans dans le service, elle a été recrutée dans le cadre du pré-emploi. Elle considère qu'elle a beaucoup appris durant ces années. Les premiers temps, en s'adressant aux malades atteintes d'un cancer elle ne savait pas quoi dire, ni quelles questions leur poser, ni comment leur parler de leur maladie. Elle a même connu des moments de peur et de stress.

Les séquelles de la chimiothérapie « du monde des morts au monde des vivants »

Les conditions de travail semblent être meilleures pour la réalisation de la chimiothérapie. Les fauteuils plus confortables ont remplacé les lits.

Les potences sont aujourd'hui disponibles. Tous ces éléments matériels ont permis une réduction de la charge de travail des infirmières.

Le nombre des malades a diminué parce que les autres régions ont mis en place des services d'oncologie. Leur nombre peut atteindre dix à vingt malades par jour. La contrainte est située dans le manque en personnel paramédical et l'inexistence d'infirmiers spécialisés en oncologie.

La réalisation des séances de chimio commence par l'installation de la patiente sur un fauteuil long. Le traitement est admis par voie veineuse. Les séances se déroulent dans le calme. Les malades parlent peu. On observe le va et vient des infirmières. Elles préparent les injections, et contrôlent le processus du médicament.

Une infirmière disait :

« Durant la séance de chimio, je ne laisse pas les malades discuter et parler parce que chacune d'elles présente un cas différent de l'autre et elles risquent de donner des informations fausses à l'autre, elles n'utilisent pas le téléphone. Le genre de discussion que je permets sont celles qui parlent d'autres choses comme des blagues par exemple mais on ne parle pas de la maladie ».

Les infirmières interdisent aux malades l'échange d'informations sur la maladie. La crainte est la diffusion de données erronées et fausses sur le cancer. Pourtant avant la séance de chimio, les malades discutent et échangent leurs expériences. La chimiothérapie est ici l'affaire des infirmières contraintes à une attention soutenue à l'égard du malade. Elles sont tenues de respecter les doses prescrites par les médecins, de rester dans la salle pendant la durée de la chimio. Certaines malades peuvent faire des chocs et des allergies aux médicaments administrés. C'est un espace fermé qui ne leur permet pas une liberté d'action, devant assurer une présence continue auprès des malades.

L'expérience de la chimiothérapie est très mal vécue par les malades. Certaines patientes opérées évoquent l'étape du traitement préopératoire avec douleur, surtout celle de la chimiothérapie et ses effets secondaires.

L'une d'elle, âgée de 53 ans, venue de la wilaya de Nâama, atteinte d'un cancer du sein nous disait :« A chaque fois que je faisais la chimio c'était comme si j'appartenais au monde des morts et par la suite quand je commençais à me sentir mieux je revenais au monde des vivants, je ne pouvais plus manger, j'avais des nausées, j'étais très fatiguée, je n'avais plus envie de quoi que ce soit....dès je commençais à retrouver l'appétit et me sentir mieux il fallait refaire une autre séance....qu'est ce que je peux te dire je ne le souhaite à personne, c'est dur, dur. »

La chimio thérapie est déstabilisante. Elle affecte la vie des malades dans toutes ses dimensions psychologique, corporelle et sociale. Les sensations de fatigue, de douleurs, de manque

d'appétit, d'incapacité sont dominantes. Certaines malades affirment vouloir abandonner le traitement à cause des souffrances endurées. Devant le découragement ou la peur des malades ou bien même le refus de subir ce genre de traitement, les professionnels de la santé (médecins et infirmiers) ont recours au discours religieux pour convaincre les malades de l'obligation de ce genre de traitement. En comparant le fait d'abandonner le traitement de chimio à un suicide. Ce type de discours semble apporter son appui dans l'obtention de l'accord et la collaboration des malades dans leur propre traitement.

Une infirmière disait :

« Si une malade refuse de faire la chimio, nous arrivons toutes les trois à la convaincre. Nous la ramenons malgré elle. Tu sais ce qu'on fait, c'est avec les paroles. On lui dit : « si tu ne fais pas ce traitement, c'est ta vie qui est en jeu. C'est un suicide. ; C'est vrai, c'est un suicide. Et des fois, la malade fait la chimio, et elle croit que c'est un autre traitement. Elle ne sait pas que c'est la chimio »

Les résistances des femmes à la chimio semblent donc montrer les craintes et la peur de certaines d'entre elles face à ce type de traitement. Pour briser ces résistances, l'alternative des infirmières est de leur montrer les risques sur leur vie en ne faisant pas la chimio. Ne pas faire la chimio, c'est la mort progressive et une forme de suicide.

Ne pas tout dire aux malades :

La prise en charge se focalise sur les aspects médicaux et techniques au détriment des aspects biographiques (Véga, 2012) de la personne malade. La patiente a un statut de dépendance face au pouvoir médical. Dans son étude Anne Véga⁵ met l'accent sur les divergences entre les attentes des malades et les aspirations des professionnels de la santé. Les patientes sont soumises à la logique médicale « savante ». Leurs expériences, leurs histoires individuelles et sociales s'inscrivent dans le registre de la subjectivité. Les patientes ne peuvent pas participer activement à leur traitement. Elles sont dans l'obligation de suivre les recommandations des médecins si elles veulent guérir. Cela explique le peu d'informations communiquées aux malades tout au long de leur traitement. L'information est transmise aux patientes pour assurer la réussite du traitement et d'une façon sélective.

Un médecin disait :

« je préfère dire la vérité au malade mais des fois quand tu dis la vérité au malade tu le perds ».

Les informations fournies aux malades se caractérisent par des non dits et les médecins axent leur discours sur l'obligation de la patiente de suivre le traitement prescrit. La patiente a un

⁵ Anne Vega, « La mort, l'oubli et les plaisirs », Anthropologie et santé [En ligne], 4 | 2012, mis en ligne le 28 mai 2012, consulté le 23 décembre 2012. URL : <http://anthropologiesante.revues.org/861>.

statut de dépendance à l'égard du médecin. Sa participation consiste à obéir et à appliquer ses recommandations. Pour les médecins, dire la vérité ou donner des explications pouvant dévoiler aux patientes la gravité de leur état de santé peut entraver la réussite du traitement. Les patientes peuvent abandonner le traitement.

Conclusion :

Notre étude permet de soulever certains points importants caractérisant la prise en charge institutionnelle des femmes atteintes d'un cancer du sein et du col utérin au sein du service de gynécologie obstétrique:

-La prise en charge est caractérisée par les discontinuités et l'incertitude autour du travail médical (la programmation des actes chirurgicaux, la réalisation des séances de chimiothérapie). Les professionnels de la santé ne maîtrisent pas les zones d'incertitudes liées aux ruptures fréquentes des médicaments. Cela produit des interruptions du cheminement « normal » de la prise en charge en mettant la vie des patientes en péril.

-Le temps institutionnel dominé par des discontinuités techniques et sociales multiples contraste avec le temps du cancer qui impose des actes médicaux et chirurgicaux dans l'urgence.

-La rareté du traitement à l'hôpital met en branle des stratégies qui permettent aux malades et à leurs proches parents de privilégier un cheminement informel et souvent grâce à leur capital relationnel afin d'acquiescer leur traitement.

-L'information des patientes est caractérisée par les non-dits. Elle reste limitée au traitement. L'information est transmise aux patientes pour assurer la réussite du traitement et d'une façon sélective

-La reconnaissance de l'importance du soutien psychologique par les professionnels de la santé dans la prise en charge des personnes atteintes d'un cancer. Cependant le travail fourni par la psychologue du service n'est pas du tout reconnu par les professionnels.

-Les formations médicale et paramédicale ne prennent pas en compte toutes la complexité de la pratique médicale. Seule leur expérience de travail leur offre l'opportunité d'apprendre comment gérer au quotidien les différentes situations face au cancer. Ces formations sont axées essentiellement sur les actes techniques du travail médical.

- Le service est caractérisé par le flou organisationnel où seul le rôle du chef de service semble réguler l'ensemble des activités de soins. Il n y a pas de confrontation entre le personnel médical. Cela montre bien la prise en charge éclatée qui a pour effet pervers de produire la solitude du malade qui semble livré à lui-même.

Bibliographie

Adam.PH, Herzlich.C., 1994, Sociologie de la maladie et de la médecine, Édition Nathan, Paris.

- Aïach.P, Kaufmann.A, Waissman.R., 1989, Vivre une maladie grave, Édition Méridiens Klincksieck, Paris.
- Becker .Howard S., 2004 Écrire les sciences sociales, éditions Economica.
- Bouvier.P, "Pour une anthropologie de la quotidienneté du travail", Cahiers internationaux de sociologie, vol LXXIV, 1983, pp. 133-142.
- Carricaburu. D, Ménoret. M, 2004, Sociologie de la santé, Édition Armand Colin.
- Crozier.m, E.Freidberg, 1977, l'acteur et le système, Édition du Seuil, Paris
- Dubar.C ; Tripier.P ; 1998, Sociologie des professions, Paris, Armand Colin.
- Freidson.E, 1984, La Profession Médicale, Édition Payot, Paris.
- Goffman.E, 1968, Asiles, études sur la condition sociale des malades mentaux et autres reclus, Paris, Minuit.
- Goffman.E, la mise en scène de la vie quotidienne, les relations en publique, éditions de minuit, le sens commun, 1998.
- Jaffre.Y ; Olivier De Sardan JP, 2002, « *les dysfonctionnements des systèmes de soins* », rapport du volet socio- anthropologique, enquête sur l'accès aux soins » dans cinq capitales d'Afrique de l'Ouest, projet « santé urbaine », UNICEF-Coopération française.
- Maffesoli.M, 2004, La Conquête Du Présent, pour une sociologie de la vie quotidienne, Éditions Economica.
- Mebtoul.M, 1994, Une anthropologie de la proximité, les professionnels de la santé en Algérie, Paris, l'Harmatan.
- Mebtoul.M, 2002, « La profession médicale peut-elle se construire dans un espace social banalisé et déprécié », Santé Publique et Sciences Sociales, 8-9 : p 145-170.
- Mebtoul.M, 2003, « Logiques des acteurs sociaux et système de santé en Algérie » ; Correspondances, n°75 ; p3-7.
- Mebtoul.M, 2005, Médecins et Patients en Algérie, Édition Dar El Gharb.
- Mebtoul.M, 2007, Sociologie des acteurs sociaux « ouvriers, médecins, patients ».
- MÉNORET M, 2007, (1999). Les temps du cancer. Paris, Le Bord de l'Eau.
- Moisdon. J-C, 2002, « *L'hôpital entre permanences et mutation* », in Quelle médecine voulons-nous ? Sous la direction De Bazanger-I, Bungener-M, Paillet-A, Édition La dispute.
- Olivier De Sardan.JP, 1995, « *La politique du terrain* » sur la production des données en anthropologie, in Enquête, Anthropologie, Histoire, Sociologie, n° 1, Les terrains de l'enquête, p71-112.

Olivier De Sardan.JP, Blundo.G, « *Observation et Description en socio-anthropologie* », in *Pratique de la Description, enquête*, édition EHESS, 2003, p13-39.

Peneff.J, 1992, *L'hôpital en urgence*, Paris, Métailié.

Salleron. L., 1980, *Le Pouvoir dans l'entreprise*, Paris, Club du livre civique.

Strauss. A, 1992, *La trame de la négociation*, textes réunis par Bazanger.I, Paris, Édition l'Harmattan

EXPOSITION AU STRESS PSYCHOSOCIAL EN MILIEU PROFESSIONNEL

KANDOUCI.C¹, BELHADJ.Z¹,KANDOUCI.A.B¹

¹Laboratoire de recherche en environnement et santé
Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbès(Algérie)

Code PNR : 153/ANDRS/2011

Résumé :

Objectif: Il s'agit d'évaluer l'importance de la souffrance psychique des employés du secteur tertiaire d'une ville de l'Ouest Algérien, et, de déterminer les facteurs et les modérateurs qui interviennent dans la modification du risque de cette souffrance afin de mettre au point une prévention de fond efficace.

Population et méthode: Des questionnaires standardisés ont été soumis à 753 employés du secteur tertiaire. Ces questionnaires comprennent 3 rubriques :

1. Une fiche socio professionnelle (21items),
- 2.Maslach Burn out Inventory : MBI (22items),
- 3.Job Personal Interaction Scale JPIS: 35 questions portant sur la perception de l'environnement de travail par l'individu réparties en 6 rubriques. Les données recueillies étaient anonymes et confidentielles. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS, en univariée (chi-deux de Pearson, corrélations) et en multivariée (régression logistique).

Résultats: Le taux de réponse est de 78,75%, l'âge moyen 38,42±8,26, sexe ratio 1,1 (prédominance féminine). Du Burn out est retrouvé dans 23,6% des employés. Après régression logistique et parmi les principaux déterminants sociaux de la souffrance psychique, seule la prise de médicaments pour

calmer les douleurs ($p=0,0002$) est restée significative. Concernant les déterminants « professionnels », le contact fort avec le public, le mode partiel de travail et l'ancienneté de plus de vingt et un ans dans la fonction, étaient significatifs avec respectivement ($p= 0,002$; $0,004$ et $0,02$). Pour les modérateurs de stress, l'analyse multivariée retenait deux sous échelles défavorables : la formation ($p<0,01$) et les conflits de valeurs et valeur perçue ($p=0,02$).

Conclusion: Les actions de prévention pour réduire ou éliminer les facteurs d'impact identifiés toucheront directement l'environnement et la source de travail : formation plus adaptée, amélioration de l'organisation de travail (en particulier le parasitisme des tâches) et la reconnaissance du travail effectué.

Mots clefs : Risques, santé mentale, Sidi Bel-Abbès.

INTRODUCTION :

Durant les 20 dernières années, les médecins du travail ont été confrontés à un nombre croissant d'employés en situation de stress [1] [2]. Au niveau des pays en développement, on constate le faible pourcentage de recherches scientifiques sachant que ce sont ces pays qui souffrent le plus d'insuffisance en personnel qualifié et en ressources matérielles ainsi que de problèmes liés à la performance et au rendement.

Depuis une dizaine d'années l'Algérie évolue dans un contexte économique nouveau avec l'installation de multinationales et d'entreprises étrangères. Elle est soumise aux impératifs de la mondialisation, des exigences de la compétitivité et de la concurrence. Cela contribue à mettre à rude épreuve l'organisation et les conditions de travail au sein même des entreprises. Ces dernières mettent les salariés dans des situations contraignantes qu'ils devraient supporter et subir afin de préserver leurs postes ce qui aboutirait à la genèse d'états de stress chronique [3][4] [5].

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la prévalence du stress en milieu professionnel par analyse du concept de l'épuisement professionnel (Burn-out) dans le secteur tertiaire de la ville de Sid Bel-Abbès et d'identifier les facteurs associés au risque de burn-out en vue d'apporter aux chefs d'institutions des éléments de réflexion pour l'élaboration de plans d'action de prévention.

SUJETS ET METHODES :

Il s'agit d'une étude descriptive de type transversal et analytique , réalisée sur 753 salariés appartenant à des institutions publiques et privées du secteur tertiaire de la daïra de Sidi Bel-Abbès sur une période d'une année, de Janvier 2010 à Janvier 2011.

Nous avons inclus dans l'étude tous les salariés du secteur tertiaire pris en charge par le service de Médecine du travail du CHU de Sidi Bel-Abbès appartenant aux institutions suivantes : les assurances, les banques, les télécommunications et les services publics et services commerciaux.

Les salariés de la population d'étude étaient répartis en trois groupes :

Groupe1 : agent technique, liquidateur, directeur d'agence et assistante sociale,

Groupe2 : secrétaire, chef de service, comptable et cadre,

Groupe3 : caissier, guichetier, chargé de clientèle, appariteur, vérificateur et agent administratif.

Nous avons exclu de l'étude tous les salariés en arrêt de travail lors de l'enquête, ceux refusant de répondre au questionnaire et ceux qui déclarent prendre un traitement pour une pathologie psychiatrique franche.

Le support de l'enquête est un auto-questionnaire anonyme comportant deux parties :

La première partie correspondait au recueil des données sociodémographiques (21items),

La deuxième partie, de l'auto-questionnaire, correspondait aux deux instruments :

MaslachBurnInventoryMBI(22items) dans sa version française adaptée à toutes les activités professionnelles. Les seuils établis par Maslach permettent de quantifier chacun des trois axes du syndrome d'épuisement professionnel en niveau de risque faible(0), moyen(1) ou élevé(2).Des niveaux élevés d'épuisement émotionnel et de dépersonnalisation, associés à un faible niveau d'accomplissement personnel, correspondent à un risque élevé d'épuisement professionnel (risque global 6) [6] [7] [8] .

EVPI (35items) : L'échelle du vécu professionnel par l'individu(EVPI) est la version

française adaptée et validée de la Job Person Interaction Scale (JPIS).

L'EVPI quantifie l'interaction de la personne avec ses multiples stressors qui peuvent le conduire à un niveau de stress très élevé, jusqu'à atteindre le « syndrome d'épuisement professionnel au moyen de six sous échelles:

- Charge de travail et imprévisibilité (10items)
- Contrôle (3items)
- Récompenses, reconnaissance et équité au travail (5items)
- Support social (7items)
- Conflits de valeurs et valeur perçue au travail (7items)
- Formation (3items)

L'utilisation conjointe du MBI et de la JPIS permet d'identifier le plus précisément possible lesquels des domaines d'interactions entre personne et environnement professionnel sont positivement ou négativement corrélés au phénomène de Burn-out[9].

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS (version 11.5). Une analyse univariée a été réalisée (Chi-deux de Pearson, le test de corrélation R et les Odds Ratio et leur intervalle de confiance), le risque choisi est 0,005 ainsi qu'une analyse multivariée (régression logistique).

Etant donné que la seule référence disponible à ce sujet avec laquelle vont porter nos comparaisons est l'étude de Fannello, faite dans les pays de la Loire, où il a fixé le seuil de MBI ≥ 5 ; nous avons trouvé commode de choisir ce même seuil au lieu de MBI ≥ 6 tel qu'il est défini par Christina Maslach.

RESULTATS :

Sur les 753 questionnaires envoyés, 593 salariés ont répondu, soit un taux de réponse de 78,75%.

A/ L'analyse descriptive :

1- Les caractéristiques sociodémographiques et professionnelles :

Des différences notables sont observées entre l'échantillon des hommes et des femmes après ajustement **Tableau I**.

Les hommes pratiquaient plus de loisirs que les femmes, rarement célibataires, occupaient des postes de management; ils étaient plus âgés de 50ans et plus, appartenant au groupe 3 (caissier,...) jugent leur formation plus insuffisante que celle des femmes, et avaient plus de 7enfants à leur charge.

Les femmes occupaient rarement des postes de management, appartenaient à la catégorie exécution et maîtrise, bien qu'elles aient un niveau d'instruction supérieur, prenant plus de médicaments que les hommes, de préférence pour se calmer et calmer les douleurs et pour d'autres motifs non précisés. Elles étaient plus nombreuses à vivre seules que les hommes (célibataires ou divorcées).

2- L'épuisement professionnel (MBI) :

La prévalence du Burn-out est presque identique chez les deux sexes, 22,8% chez les femmes contre 24,4% chez leurs congénères.

Les scores qualitatifs des trois dimensions de MBI sont identiques chez les deux sexes : chez les femmes un niveau de risque moyen de dépersonnalisation est plus fréquent.

Dans cette étude, nous avons identifié 132 employés atteints de Burn-out soit une prévalence de 23,6%.

Cinquante-trois personnes (9,5) présentaient un risque plus élevé de Burn-out tel qu'il est défini par Christina Maslach (score global=6).

3- Les stressseurs professionnels (EVPI)

La distribution des différents stressseurs montre que la population du secteur tertiaire de notre étude souffre d'une véritable situation stressante **Figure 1**.

Les employées femmes perçoivent une charge de travail légèrement plus élevée que leurs congénères hommes, et sont moins autonomes. Les hommes ont plutôt tendance à percevoir leur formation moins suffisante (18,4 contre 12,6) $p=0,056$, et sont moins accomplis dans leur travail et moins soutenus socialement.

B/ Analyse des déterminants de l'épuisement professionnel :

a- Analyse univariée :

1- Caractéristiques sociales et professionnelles :

En analyse univariée, parmi les neuf variables socio-démographiques, seule la prise régulière de médicaments était significativement associée au risque d'épuisement professionnel ($MBI \geq 5$) dans l'échantillon total **Tableau II**; ces médicaments sont surtout consommés pour se calmer et calmer les douleurs ($p=0,0001$) et pour dormir ($p=0,051$).

Les déterminants professionnels du risque d'épuisement professionnel sont récapitulés dans le **Tableau III**.

Parmi les douze variables professionnelles, sept sont liées au risque d'augmentation du Burn-out :

- Travailler dans le domaine des télécommunications ($p=0,03$) et des banques ($p=0,001$)
- Appartenir au groupe de poste 3 ($p=0,03$), à la catégorie professionnelle exécution ($p=0,03$)
- Exerçant en mode de travail partiel ($p=0,001$)
- Ayant un fort contact avec le public ($p=0,001$)

- Ayant une ancienneté de 20ans et plus dans la fonction actuelle ($p=0,02$)

- Percevant la pénibilité du transport de faible ($p=0,03$) à très importante ($p=0,04$)

2- Les stressseurs professionnels (EVPI)

Les stressseurs professionnels associés au risque d'épuisement professionnel sont récapitulés dans le **Tableau IV**.

Un score défavorable pour la dimension « le manque de formation » était significativement associé au risque d'épuisement professionnel ($p<0,00001$) ainsi que pour la dimension « conflits de valeurs et la sous-estime de soi ($p<0,00001$).

b- Analyse multivariée :

L'objectif de cette analyse était de mesurer l'impact des stressseurs dans l'augmentation du risque de burn-out chez les 560salariés de notre population du secteur tertiaire.

Le modèle multi varié finalement retenu dans la population globale est représenté dans le **Tableau V**.

Il met en évidence plusieurs facteurs discriminants : la probabilité d'avoir un $MBI \geq 5$ augmentait significativement avec le manque de formation ($OR=3,4$), les conflits de valeurs ($OR=2,3$), la

prise de médicaments pour se calmer et calmer les douleurs ($OR=2,9$), le fait d'avoir un poste exposant à un fort contact avec le public ($OR=5,4$), de travailler en mode partiel ($OR=4,0$), et d'avoir une ancienneté dans la fonction de 20ans et plus par rapport à 10-20ans ($OR=2,0$).

DISCUSSION :

Jusqu'alors pour des raisons culturelles ou sociétales, la plupart des recommandations de prévention du stress ont envisagé de changer les individus et leur environnement professionnel, au lieu de se limiter à l'un ou l'autre exclusivement [9], [10].

Le niveau de souffrance constaté, plus précisément la prévalence (englobant les trois sous échelles), dans notre étude était de 23,6% nettement supérieure à celle de l'étude des pays de Loire (S.Fanello) estimée à 5,8%, mais ce dernier taux a été obtenu après des mesures correctrices sur l'environnement professionnel faites entre 2003 et 2006.

Sexe :

Si certains auteurs supposent que le sexe féminin est plus exposé au burn-out [1] [11][12], dans plusieurs études parmi elles celle de Fanello 2006 ainsi que la nôtre où aucune différence significative entre les deux sexes n'a été notée.

Selon Maslach et Jackson(1981) il n'existe pas de vulnérabilité particulière en fonction du sexe . Par contre, il existerait; d'après Maslach, des différences d'expression, les femmes souffrant surtout d'épuisement émotionnel et les hommes de déshumanisation et de manque d'accomplissement personnel (Maslach et Jackson 1981).

Age :

Notre étude montre qu'il n'existe pas de corrélation entre l'âge et l'épuisement professionnel.

Selon Chini, Fanello et l'association américaine de psychiatrie l'âge n'est pas un critère déterminant du Burn-out [13] [1] [14].

Certains auteurs supposent que les plus jeunes seraient soumis au choc initial de la réalité professionnelle, qu'ils manqueraient de capacité d'adaptation.

Benmessaoud [15] dans sa thèse sur le personnel soignant note un déclin du degré d'épuisement émotionnel avec l'âge. Nous n'avons pas abouti à ces observations mais une tendance inversée à la signification entre l'âge et la dépersonnalisation ce qui corrobore aux données de la littérature.

Statut marital :

Dans notre étude, nous notons qu'il n'existe pas un lien significatif entre l'épuisement professionnel et le statut marital, ni en univariée ni en multi variée.

Pourtant il aurait été licite de supposer, à la manière de (C MASLACH ,1976) cité par [16] [17], que le support social familial apporte un soutien émotionnel de bonne qualité qui diminue l'incidence du Burn-out.

L'absence d'augmentation du Burn-out chez les célibataires par rapport aux mariés pourrait s'expliquer par l'absence du soutien social que pourrait procurer la famille du salarié.

Prise de médicaments :

Il existe un lien significatif entre l'épuisement professionnel et la prise régulière de médicaments, ce sont des médicaments pour soulager les douleurs et pour se calmer.

Une étude plus fine a montré que ces médicaments sont surtout consommés chez les femmes célibataires en plus des médicaments classés dans la rubrique autre.

Les personnes consommant des neuro sédatifs(pour se calmer) sont au nombre de 13 et appartiennent surtout au groupe3.

Selon Fanello, l'auteur de l'étude des pays de la Loire, des produits neuro sédatifs sont retrouvés associés au risque de Burn-out chez une population semblable à la nôtre [18].

Canouï, Maslach et Truchot rapportent que la consommation de psychotropes est la conséquence d'un épuisement émotionnel élevé [16] [19] [20].

A partir de ces données, on peut avancer que la prise médicamenteuse est une conséquence du Burn-out et non pas une cause.

Contact avec le public :

Il est connu que les personnes engagées dans des relations d'aide sont fortement exposées à un risque de Burn-out [21].

L'appartenance au groupe 3 est significativement liée au risque d'EP: un caissier sur deux, 1/3 des appariteurs, vérificateurs, chargés de clientèle et 1/4 des agents administratifs, des guichetiers.

Rémillard classe ces postes comme groupe à haut risque [22]; 82% des hommes de la population appartiennent à ce groupe.

Il est évident que l'appartenance à ce groupe expose à un fort risque de Burn-out de par la présence entre les salariés de compétitivité de poste, en plus de la concentration et de l'attention qu'exige ce groupe à postes.

Travail en mode partiel :

Cette étude montre qu'il existe un lien significatif entre l'épuisement professionnel et le travail à temps partiel : seule 4% de la population est concernée;

Il est connu que le respect des rythmes biologiques est une condition nécessaire pour le fonctionnement physiologique de tout être humain, ainsi Franceschi remarque que le Burn-out inclut les professions qui ne tiennent pas compte des rythmes biologiques ou qui

présentent des nuisances.

Ce mode de travail traduit le malaise ressenti par les salariés socialement non acceptés surtout que le choix de ce mode est imposé par l'administration des structures.

Ancienneté dans la fonction ≥ 20 ans :

Notre étude a montré que l'épuisement professionnel serait lié positivement à une ancienneté professionnelle de plus de 20 ans mais le lien est très faible. Ceci ne corrobore pas aux données de la littérature qui mentionnent que les gens qui débutent leur carrière auraient une plus grande tendance à être sujet à l'épuisement professionnel (Maslach, Schaufeli et Leiter, 2001: 409; Truchot, 2004), aussi Delaye avance que le Burn-out n'est pas qu'une affaire de salariés expérimentés [23].

Selon Maslach, cité par Lidvan-Girault 1989 [24], on peut parler d'une "période sensible" d'incidence du Burn-out au cours de la carrière professionnelle, située entre la seconde et la sixième année de pratique, soit de 1 à 5 ans d'ancienneté professionnelle. Vu que notre étude est de type transversal, cette période d'incidence ne pourrait être déterminée ni discutée.

Si les employés les plus âgés sont parmi les plus atteints, cela suppose qu'ils ne pratiquent pas cette profession par vocation, ils ont été recrutés sur le tas et c'est durant leur carrière que leur souffrance s'est développée.

La formation :

Les incertitudes et l'angoisse engendrées par l'absence de formation appropriée sont souvent génératrices de stress intense pouvant contribuer au développement du phénomène de burn-out [9].

Fanello dans son étude sur le secteur tertiaire n'a pas constaté de lien entre le manque de formation et le risque de Burn-out aux Pays de la Loire.

Le manque de formation est le facteur principal de l'épuisement professionnel dans notre population.

En Algérie dans tous les secteurs d'activité, la formation est surtout théorique, une fois sur le terrain l'employé se heurte à maints problèmes d'où la nécessité de renforcer les stages et les travaux pratiques.

Nous pensons que le travailleur algérien reçoit une formation non appropriée au travail qu'il doit effectuer, ne se sent pas rentable et cela est une source de son stress au travail.

Conflit de valeurs et valeur perçue au travail :

Selon Maslach et Leiter (1997), les « conflits de valeurs » peuvent devenir un sérieux problème lorsqu'il existe un net décalage entre les exigences d'une fonction et les valeurs et principes moraux de l'individu [9] [25].

Notre étude a mis en relief un lien significatif entre les conflits de valeurs- valeur perçue et l'épuisement professionnel.

Un déséquilibre dans ce domaine peut être lié à des conflits, par exemple, d'ordre éthique surtout que notre société est caractérisée par une diversité culturelle.

D'un autre côté, l'employé qui ne peut pas contribuer positivement au bon fonctionnement de sa société va se retrouver frustré dans son désir de se réaliser (valeur perçue) [9].

Fanello a retrouvé uniquement le manque d'estime de soi au travail (la valeur perçue au travail) comme un déterminant de la souffrance psychique. Il serait donc préférable de dissocier les conflits de valeurs de la valeur perçue dans l'étude des facteurs de risque d'épuisement professionnel.

CONCLUSION :

Au terme de notre étude nous avons mis en évidence un niveau élevé de risque de *Burnout* chez les employés du secteur tertiaire de la daïra de Sidi Bel Abbès: 23,6.

Actuellement l'utilisation des questionnaires demeure la seule alternative pour rechercher un processus de stress. Les techniques de quantification de la souffrance psychique par les réactions neuro hormonales tel que le dosage du cortisol ne sont pas spécifiques et ne nous permettent pas de les retenir comme indice [26].

A cet effet, l'utilisation conjointe des questionnaires MBI avec la JPIS[27] [6] nous a permis de quantifier le Burn-out, d'identifier les domaines d'interaction de la personne avec son environnement professionnel et d'agir sur les domaines identifiés comme étant « dangereux » en les modifiant afin de les rendre moins stressants.

L'importance du rôle tenu par l'environnement de travail dans le développement du burnout professionnel a été particulièrement sous-estimée lors des efforts de prévention en comparaison avec l'importance assignée au rôle joué par l'individu seul : jusqu'à présent, les efforts de prévention se sont principalement portés sur l'individu et non pas sur l'environnement professionnel [9].

Suite aux résultats obtenus, les principales mesures correctrices prises au sein des différentes entreprises concernées par l'étude consisteront à traiter et à diminuer les situations de stress (23,6%).

Estimation statistique après correction de tous les facteurs:2,53%, ou à défaut un taux proche de celui obtenu après correction dans les pays de la Loire.

L'application de mesures professionnelles permettra de :

- Promouvoir la formation multiple afin d'accéder à des changements de poste ;
- Diminuer le contact avec le public par un système de rotation pour l'exécution des tâches;
- Proposer un aménagement de l'espace et de l'environnement avec développement de services internes et mise en place de service externes.
- Améliorer les conditions de travail, ou multiplier la rotation des salariés travaillant en mode partiel ;
- Dépister puis traiter ou prévenir les affections pour lesquelles certains salariés prennent des antalgiques ;
- Améliorer les performances physiques et mentales des salariés très anciens dans la fonction pour qu'ils mènent à bien les tâches qui leur incombent ;
- Prévenir les causes de stress en appliquant une meilleure répartition des tâches pour en limiter le parasitisme (management de proximité).

BIBLIOGRAPHIE :

[1]- Chini B. Evaluation quantitative du stress dans une population de salariés des régions de Haute et Basse Normandie. Arch. Mal Prof 2001; 62:536-45.

[2]- Cox T, Griffith D, Rial-Gonzalez E, editors. European Agency for Safety and Health at Work: a research on work-related stress. Luxembourg: office for official publications of the European communities; 2000.

[3]- Barth, P.S. (1990). The effects of stress at the workplace. In E.H. Yates et J.F. Burton, Jr. (dir.), International examinations of medical-legal aspects of work injuries. Scarecrow Press, 1998, pp. 93- 105.

[4]-Freudenberger HJ. Staff Burnout.*Journal of*

*Social Issues*1974; 30: 159-165.

[5]- Bressol E. : « Organisations du travail et nouveaux risques pour la santé des salariés. Avis et rapports du Conseil économique et social », République française, 2004 ; 132 p.

[6]- Taris TW , Schreurs PJG.Schaufeli WB.Contract validity of the Maslach Burnout Inventory-General Survey : a two-sample examination of its factor structure and correlates. *Work stress* 1999, 13(3) :223-237

[7]- Maslach CH, Jackson SE, LEITER MP. Maslach Burnout Inventory Manual (3rd ed.) Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press, 1996.

[8]- Dion G, Tessier R. Validation de la traduction de l'inventaire d'épuisement professionnel de Maslach et Jackson. *Can J Behav Sci* 1994; 26: 210-27.

[9]- Guéritault-Chalvin, C. Cooper .mieux comprendre le burnout professionnel et les nouvelles stratégies de prévention : un compte rendu de la littérature *Journal de Thérapie Comportementale et Cognitive* 2004, 14, 2, 59-70.

[10]- Maslach CH, Leiter MP. Prevention of burnout: New perspectives. *Appl Prev Psychol* 1998;7:63-74.

[11]- Corinne Van De Weerd, Martine Francois, Valerie Langevin.ARACT Nord-Pas-de-Calais "Stress professionnel, comprendre pour agir" 7 Novembre 2003.

[12]- Davezies , « stress, pouvoir d'agir et santé mentale », archives des maladies professionnelles et de l'environnement, volume 69, issue 2, may 2008, pages 195-203

[13]- Fanello.S, Morlier-tournelle.C, Ripault B, Parot E, Kandouci BA, David G, et al. Souffrance psychique des cadres infirmiers : étude portant sur 97 cadres d'un centre hospitalier universitaire français. *Arch Mal Prof* 2003;64:375-82.

- [14]- American Psychiatric Association :DSM-IV Manuel diagnostique et statistique. Troubles Mentaux. Paris, Masson, 1996, 1052p.
- [15]- Benmessaoud h, syndrome d'épuisement professionnel " burn out" chez le personnel infirmier de deux établissements hospitaliers : le centre hospitalo- universitaire d'alger et le centre pierre et marie curie, 2008.
- [16]- CANOUÏ P., MAURANGES A. Le burn out. Le syndrome d'épuisement professionnel des soignants. De l'analyse aux réponses. 3e éd. Paris : Masson, 2004, 228 p.14
- [17]- Catherine Franceschi-Chaix : le syndrome de BURN-OUT : étude clinique et implications en psychopathologie du travail,Recherche en soins infirmiers N° 32 _ Mars 1993.
- [18]- Fanello.S, C. Dagonne, A. Rouquette, V. Chalvin-gueritault, E. Parot-schinkel, Evaluation à trois ans de la souffrance psychique des employés d'une entreprise du tertiaire, Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement 2008;69:448-454
- [19]- Maslach C., Schaufeli WB, Leiter MP. Job Burnout. Annual Review of Psychology, 2001, 52, 1, p. 397-422.
- [20]- Truchot D. Epuisement professionnel et burn out. Concepts, modèles, interventions. Paris : Dunod, 2004, 265 p.
- [21]- Jean-Marc Weller. Stress relationnel et distance au public de la relation de service à la relation d'aide. Sociologie du travail 44 (2002) 75-97.
- [22]- Gil Rémillard. Dépression et burnout : prévention et habitudes de vie. 2e trimestre 2006
- [23]- Richard Delaye et Stéphane Boudrandi : L'épuisement professionnel chez le manager de proximité : le rôle régulateur de l'entreprise dans la prévention du Burnout, revue management et avenir NO32, p 254-269.62
- [24]- Lidvan- Girault N., Burn Out : émergence et stratégie d'adaptation. Le cas de la médecine d'urgence. Thèse de doctorat. Université René Descartes. Paris,
- [25]- Biron.L. La souffrance des intervenants : perte d'idéal collectif et confusion sur le plan des valeurs. Cahiers critiques de thérapie familiale et de pratiques de réseaux 2006/1 (n°36), 209-224.
- [26]- Poyen D. La mesure du stress professionnel. Archives de Maladies Professionnelles, volume 52, n°4, 1991 :266-270.
- [27]- Parot. E, Gueritault-Chalvin. V, Fanello. S. Validation de la version française du Job-Person Interaction Scale (JPIS) ou Echelle de vécu professionnels par l'individu (EVPI). Rev Epidemiol Santé Pub 2006;554:2

ANNEXES:**Tableau I : Différences sociodémographiques et professionnelles entre employés hommes et femmes après ajustement**

Facteur distinctif	Homme	Femme	P
Age	entre 50-60ans	Age 30-40 ans	0,006
Etat civil	Marié	célibataire ou divorcé	0,03
Loisirs	plus de loisirs	moins de loisirs	0,00001
Nombre de personne à charge	>7 personnes	< 6 personnes	0,05
Médication	cardio vasculaire et digestion	se calmer et calmer les douleurs	0,013
		Autres médicaments	0,01
Niveau d'études	moins supérieur	Niveau d'études supérieur	0,008
Groupe professionnel	Groupe 3	groupe1	0,02
Poste de management	Management	Subordonné	0,00001
Catégorie professionnelle	Cadre	Exécution ou maîtrise	0,001
Formation pour le métier	Manque de formation	Normale	0,02

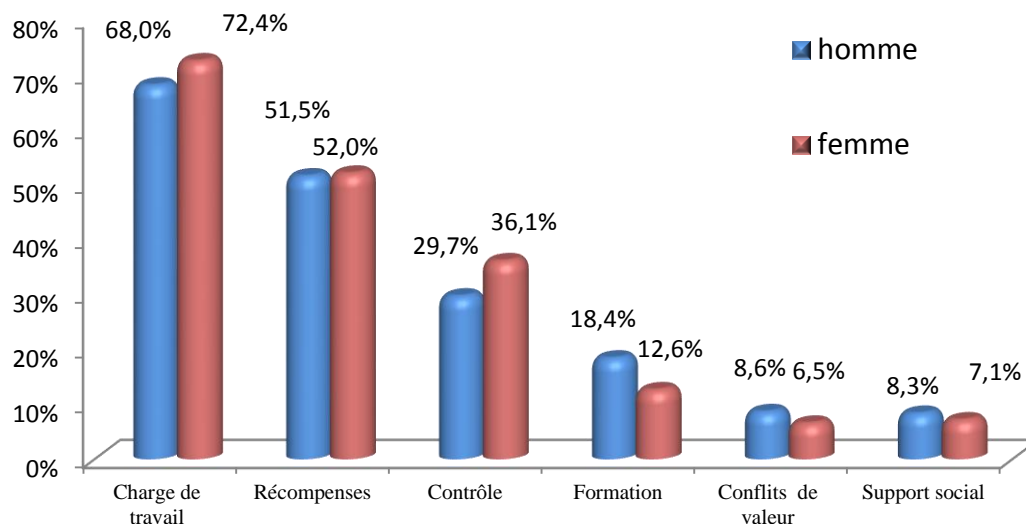
**Figure 1 : Distribution de la fréquence des stressors (score défavorable) selon le sexe (266 employés hommes et 294 employées femmes)**

Tableau II: Déterminants sociodémographiques du risque d'épuisement professionnel. Echantillon total

	N	MBI \geq 5	P	ORb
Prise de médicaments				
Non	378	18,5		1
Oui	182	34,1	0,0001	2,3[1,5-3,4]
Motifs de la médication				
Non	378	18,5		1
Pour dormir	26	34,6	0,051	2,3 [1,0-5,4]
Pour calmer les douleurs	82	36,2	0,0001	2,8 [1,7-4,7]
Cardiovasculaire	23	42,9	0,70	NS
Pour la digestion	13	30,8	0,28	NS
Autres	38	31,4	0,058	NS (0,058)

N : effectif des salariés de la modalité concernée, en % : fréquence Burn-out dans la modalité concernée, P : degrés de signification alpha, ORb : Odds-Ratio brut par rapport à la classe (1)

Tableau III: Déterminants professionnels du risque d'épuisement professionnel(MBI \geq 5) dans l'échantillon total (en univariée)

	N	MBI \geq 5 %	P	Orb
Secteur d'activité				
Assurances	172	16,3		1
Autres	143	20,3		NS
Télécommunications	81	28,4	0,03	2,0 [1,1-3,8]
Banques	164	31,7	0,001	2,4 [1,4-4,0]
Poste occupé				
Groupe 1 (agent technique...)	70	7,1		1
Groupe 2 (secrétaire...)	138	17,4	0,051	2,7 [1-7,5]
Groupe 3 (caissier...)	352	29,3	0,03	5,4[2,1-13,7]
Catégorie professionnelle				
Cadre	70	14,3		1
Maitrise	302	23,2	0,11	NS
Exécution	188	27,7	0,03	2,3[1,1-4,8]
Mode de travail				
Complet	538	22,3		1
Partiel	22	54,5	0,001	4,2[1,8-9,9]
Contact avec le public				
Contact faible	59	6,8		1
Contact moyen	148	16,9	0,07	2,8[0,93-8,4]
Contact fort	353	29,2	0,001	5,6 [2,0-16,0]
Ancienneté dans la fonction actuelle				
10-19ans	177	17,5		1
1-9ans	281	25,3	0,053	1,6[1,0-2,5]

20 et plus	102	29,4	0,02	1,9[1,1-3,5]
La pénibilité du transport :				
Nulle	141	17,0		1
Faible	147	27,9	0,03	1,9 [1,1-3,3]
Notable	192	22,9	0,19	NS
très importante	80	28,8	0,04	2,0 [1-3,8]

N : effectif des salariés de la modalité concernée, % : fréquence Burn-out dans la modalité concernée, P : degrés de signification alpha, ORb : Odds-Ratio brut par rapport à la classe de référence (1)

Tableau IV: Stresseurs professionnels et risque d'épuisement professionnel (MBI \geq 5) dans l'échantillon total (en univariée)

Stresseurs	N	MBI \geq 5%	P	Orb
Conflits de valeur et valeur perçue				
Favorable	518	21,4		1
Défavorable (<21)	42	50,0	< 0,00001	3,7 [1,9-7,0]
Formation				
Favorable	474	19,6		1
Défavorable (<9)	86	45,3	< 0,00001	3,4 [2,1-5,5]
Contrôle				
Favorable	375	21,6		1
Défavorable (<9)	185	27,6	0,12 NS	1,4 [0,9-2,1]

N : effectif des salariés de la modalité concernée, en % : fréquence Burn-out dans la modalité concernée, P : degrés de signification alpha, ORb : Odds-Ratio brut par rapport à la classe de référence (1)

Tableau V: Facteurs associés au Burn-out ≥ 5 chez les 560 salariés après ajustement

Variable	Coef, beta	P	Ora
Manque de formation	1,21	<0,0001	3,4 [2,0-5,7]
Médicaments pour se calmer et calmer douleur	1,05	0,0002	2,9 [1,6-5,0]
Contact fort	1,69	0,002	5,4 [1,9-16,0]
Mode temps partiel	1,38	0,004	4,0 [1,6-10,1]
Conflit de valeur	0,85	0,019	2,3 [1,1-4,8]
Ancienneté fonction ≥ 21 ans	0,71	0,027	2,0 [1,1-3,8]
Contact moyen	1,10	0,060	3,0
Ancienneté fonction < 10ans	0,45	0,089	1,6
Charge 7 et + 1	0,87	0,143	2,4
Autres médicaments	0,56	0,164	1,8
Médicament pour digestion	0,86	0,189	2,4
Médicament pour dormir	0,34	0,486	1,4
Médicament pour cardio vx	-0,12	0,839	0,9
Constante	-3,65	4,2E-10	0,03

P : degrés de signification alpha, **ORa** : Odds-Ratio ajusté, **Coef, bêta** : coefficient de régression

LA MALADIE DE PARKINSON ET FACTEURS DE RISQUE PROFESSIONNELS ET ENVIRONNEMENTAUX : ENQUETE CAS-TEMOINS A L'OUEST ALGERIEN.

BEGHDADLI.B¹, GHOMARIO¹, HAMIMED M.E.A¹, AZZA.A¹, EDJEKOUANE.I¹,
IDER.M², BENLAAREDJ.A², ABDIL³, TALEB.A³, BENABADJIS⁴, BARAKA.F¹,
BOUCHENAK.D⁴, KANDOUCL.B
A¹

1. Laboratoire de recherche en environnement et santé. UDL, 22000, Algérie.

2. Service de neurologie, CHU d'Oran, 31000, Algérie.

3. Service de médecine du travail, CHU de Tlemcen, 13000 Algérie.

4. Service de neurologie, CHU de Tlemcen, 13000 Algérie.

Code PNR : 140/ANDRS/2011

RESUME

La maladie de Parkinson (MP) est la plus fréquente des maladies neurodégénératives du sujet âgé après la maladie d'Alzheimer. Elle ne connaît pas d'étiologie, mais des facteurs génétiques et environnementaux sont incriminés dans la dégénérescence des neurones dopaminergiques.

Objectif :

Déterminer les facteurs environnementaux et professionnels dans la survenue de la MP.

Matériel et méthode :

Enquête cas-témoins multicentrique réalisée dans trois CHU de l'ouest algérien (Sidi Bel Abbes, Oran et Tlemcen). Les cas sont les malades atteints de la MP diagnostiqués par un neurologue ; les témoins sont des sujets indemnes de la maladie et appariés selon l'âge et le genre. L'estimation du risque est basée sur le calcul des odds-ratio avec IC95% en analyse univariée puis multivariée par régression logistique.

Résultats :

Au total, 321 cas ont été appariés à 322 témoins par l'âge et le genre. L'âge moyen de début de la maladie est de $60,24 \pm 12,12$ ans chez les hommes et de $61,39 \pm 11,04$ ans chez les femmes. En analyse univariée, l'histoire familiale de MP, la notion de traumatisme crânien dans le passé, le travail dans l'agriculture et dans l'administration publique ainsi que l'exposition aux pesticides et aux solvants sont des facteurs de risque de la MP. Après ajustement à l'âge, genre, traumatisme crânien, histoire familiale de MP, et tabac à priser, les facteurs de risque professionnels sont restés significativement liés à la MP. Le travail dans la construction était un facteur de protection.

Conclusion : le travail dans l'agriculture, l'administration publique et l'exposition aux pesticides et aux solvants augmentent le risque de la MP. D'autres investigations sont nécessaires pour déterminer le type de pesticide en cause en particulier.

Mots clés : maladie de Parkinson, pesticides, solvants, agriculture.

ABSTRACT :

Parkinson's disease is the most frequent neurodegenerative disease after Alzheimer's. Genetic and environmental factors are suspected in the degeneration of dopaminergic neurons.

Objective:

To investigate environmental and occupational risk factor in developing Parkinson's disease.

Methods:

A multicenter case-control study in three university hospitals in west Algeria (Sidi Bel Abbas, Oran and Tlemcen).

Results:

In total, 321 cases with Parkinson's disease (154, 97 and 70 cases have been diagnosed in Sidi Bel Abbas, Oran and Tlemcen respectively) and 322 controls have been adjusted for age and sex. Mean age diagnostic in men was $60,24 \pm 12,12$ years and $61,39 \pm 11,04$ years in women. Familial history of PD, head injury, work in agriculture and administrative occupation; pesticide and solvent exposure have been associated with PD with univariate analysis. In multivariate analysis, a significant association has been obtained for these occupational risk factors after adjustment for age, sex, familial history of PD, have knocked unconsciousness, mouth tobacco use. Work in construction was protective factor for PD.

Conclusion: Occupational factors as work in agriculture, pesticide and solvent exposure have been associated to PD. More investigations are necessary to identify specific neurotoxic chemicals.

Key words: Parkinson's disease, pesticide, solvent, agriculture.

INTRODUCTION

La maladie de Parkinson est une affection neuro-dégénérative affecte le sujet âgé de plus de 50 ans et occupe la deuxième place après la maladie d'Alzheimer [1]. Elle se caractérise par un tableau clinique associant des tremblements de repos, rigidité, bradykinésie et instabilité posturale et répondant favorablement à la L-dopa. Elle résulte de la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire (locus niger) avec présence de corps de Lewy. Son étiologie reste imprécise mais des facteurs de risque génétique et environnementaux (pesticides, solvants, métaux...) sont incriminés [2-4]. Dans les pays industrialisés d'Europe, la prévalence a été estimée à 1% de la population de plus de 60 ans et l'incidence à 8-18 cas /100000 personnes/an. Les facteurs génétiques représenteraient 10% des syndromes parkinsoniens [5,6]. L'incidence de la MP, dans l'Etat de Californie (Etats-Unis), a été estimée à 13.4 pour 100,000 personnes/an (IC95% : 11.4, 15.5), plus élevée chez les hommes (19.0 pour 100,000, IC95% : 16.1, 21.8), que chez les femmes (9.9 pour 100000, IC 95% : 7.6, 12.2) [7].

Une étude anatomopathologique du cerveau en post-mortem a mis en évidence que la maladie de Parkinson idiopathique représentait environ 62,2% des syndromes parkinsoniens [8].

Des facteurs environnementaux ont été étudiés, [9] et différents toxiques ont été incriminés dans la genèse de la MP. L'exposition à différentes familles de pesticides (rotenone, paraquat, organochlorés, organo-phosphorés, pyrethrinoides), aux composés polychlorés (PCB), aux solvants (trichloréthylène, perchloréthylène, tétrachlorure de carbone), aux métaux, aux polluants environnementaux ont été évoqués dans la littérature [10-11].

L'implication des pesticides a été suspectée dès 1983 par Langston et al qui ont rapporté des cas de syndrome parkinsonien suite à la consommation par des toxicomanes de 1 méthyl-1-4-phényl-1,2, 3,6 tetrahydropyridine (MPTP) [12]. Ce produit est métabolisé dans les cellules dopaminérgiques en 1-méthyl-4phényl-pyridinium (MPP+), un inhibiteur de la chaîne respiratoire mitochondriale, ayant une structure moléculaire similaire à un herbicide paraquat suggérant un risque de MP chez les agricultures utilisant ce produit. Certains facteurs pourraient avoir par contre un effet protecteur contre la MP comme le tabagisme et la consommation de café [13,14]. En Algérie, selon les données de l'*Office nationale des statistiques*, au 1^e janvier 2013, le nombre d'habitants était de 37900000 et la population âgée de plus de 60 ans est en nette augmentation et représente 8% de la population (soit près de 3 millions de personnes). Il est donc attendu une augmentation du nombre de sujets atteints de la MP. A ce jour, une étude génétique évaluant le profil psychologique et les facteurs génétiques des parkinsoniens [15] et une autre étude où plusieurs pays du bassin méditerranéen ont collaboré sur les facteurs génétiques ont été réalisées en Algérie [16]. Aucune étude n'a concerné la prévalence de la MP ou les facteurs environnementaux. A partir de ces données et de la revue de la littérature, nous avons voulu connaître les facteurs professionnels et environnementaux qui pourraient influencer la MP dans trois villes de l'ouest algérien.

MATERIEL - METHODE :

il s'agit d'une enquête de type cas-témoins multicentrique réalisée entre le mois de mai 2011 et décembre 2013, dans trois établissements hospitalo-universitaire de l'ouest algérien (Sidi Bel Abbes, Oran et Tlemcen). Le diagnostic de la maladie a été posé par un neurologue selon les critères de l'UK Parkinson's Disease Society Brain-Bank criteria [17] et présentant au moins 2 signes cardinaux de la maladie (tremblement, bradykinésie, rigidité) et répondant au traitement par la L-dopa et ayant au moins une année d'évolution. Les témoins appariés selon l'âge et le sexe ont été recrutés au niveau des services de traumatologie et d'urologie. Le recueil des données par questionnaire a été réalisé par un médecin du travail, après avoir obtenu le consentement écrit des participants. Les informations recueillies concernaient les données personnelles (âge, sexe, niveau d'études, âge de début de la maladie (pour les cas), histoire familiale de MP, notion de traumatisme crânien avec perte de connaissance ; les données professionnelles (profession, secteur d'activité, exposition professionnelle aux pesticides, métaux et solvants), les données relatives aux habitudes de vie (lieu de résidence, pratique de sport, tabagisme, tabac à priser, consommation de café, thé, alcool, consommation d'eau de puits, de source ou de rivière). Le tabac à priser a été recherché du fait qu'il est une pratique fréquente dans notre société.

Les secteurs d'activités ont été définis selon la Nomenclature Algérienne des Activités et publiée par l'Office Nationale des Statistiques. La profession considérée est celle qui a été exercée le plus longtemps et avant le diagnostic de la maladie pour les cas.

L'habitat urbain a été considéré comme tout habitat dans le Chef-lieu du Département et de la Commune ; les autres localités ont été considérées comme habitat rural. Le risque a été estimé au moyen de l'odds-ratio par la régression logistique avec intervalle de confiance à 95% et un seuil de signification à 5% par une analyse univariée puis multivariée. La variable dépendante considérée est la présence ou l'absence de la maladie, et les autres variables explicatives ont été dichotomisées (présence ou absence). Les facteurs professionnels et d'exposition aux différents toxiques ont été ajustés aux autres facteurs personnels et d'environnement. Le protocole de recherche a été soumis et approuvé par l'Agence Thématique de Recherche en Sciences de la Santé dans le cadre d'un Projet National de Recherche (2011-2013) de la Direction Générale de la Recherche Scientifique et Technologique.

RESULTATS

Les caractéristiques des cas et des témoins sont résumées dans le tableau 1.

Tableau1 : Facteurs personnels et habitudes de vie de la population d'étude.

Variable	Cas n=321 (%)	Témoins n=322 (%)
Genre		
Hommes	174 (54,2)	174 (54,0)
Femmes	147 (45,8)	148 (46,0)
Age moyen des hommes	66,67 ± 10,50 ans (âge min=38)	
Age moyen femmes	65,94 ± 9,88 ans (âge min=37)	
Age de début de la maladie		
Hommes	60,24 ± 12,12 ans	-
Femmes	61,39 ± 11,04 ans	-
Niveau d'étude		
Jamais scolarisé	204 (63,6)	207 (64,3)
1-6 ans d'études	66 (20,6)	61 (18,9)
7 ans d'études et plus	51 (15,9)	54 (16,8)
Habitat rural	141 (44,2)	142 (43,8)
Histoire familiale de MP	51 (15,9)	11 (3,4)
Antécédents de traumatisme crânien	19 (5,9)	5 (1,6)
Type d'eau consommée		
Eau de puits	139 (43,3)	132 (41)
Eau de source	117 (36,4)	106 (32,9)
Eau de rivière	51 (15,9)	45 (14,0)
Tabagisme		
Tabac à priser	44 (13,7)	56 (17,4)
Café	262 (81,6)	274 (85,1)
Thé	174 (54,2)	185 (57,5)

Le niveau d'études est similaire chez les deux populations. L'illettrisme est retrouvé chez les 63,6% des cas et 64,3% des témoins. Le niveau d'études est similaire chez les cas et les témoins. Les hommes sont atteints de la maladie à un âge inférieur à celui des femmes. La question relative à la consommation d'alcool a été supprimée du fait que les personnes étaient souvent accompagnées d'une tierce personne et gênée par cette question. Le tableau 2 montre les facteurs de risque non professionnels (OR brut IC95%). Les antécédents familiaux de MP et le traumatisme crânien dans le passé constituent des facteurs de risque avec un OR respectif de 5,340 ; IC95% [2,728-10,454] et 3,989 ; IC95% [1,471-10,817].

L'habitat rural, le café, le thé, la consommation d'eau de puits, de source et de rivière ne semblent pas être liés à la maladie.

Le tabagisme semble un facteur de protection mais non significatif (OR=0,753 [0,543-1,043], $p>0,05$). Le tableau 3 montre les facteurs de risque professionnels. Le travail dans l'agriculture représente un facteur de risque significatif de MP (OR= 2,161 ; IC95% [1,451-3,219]. L'exposition professionnelle aux pesticides et l'exposition aux solvants représentent des facteurs liés à la maladie avec des OR respectifs de 3,918 ; IC95% [2,404-6,386] et 2,937 ; IC95% [1,349-6,397]. Le tableau 4 montre les facteurs de risque professionnels après ajustement à l'âge, genre, histoire familiale de MP, notion de traumatisme crânien, tabagisme et tabac à priser. Un risque élevé a été retrouvé pour le travail dans l'agriculture et le travail dans l'administration publique respectivement des ORa=2,688 ; IC95% [1,720-4,201] et 2,156 ; IC95% [1,055-4,404]. L'exposition professionnelle aux pesticides représente le risque le plus élevé ORa = 5,123 ; IC95% [3,014-8,709] puis l'exposition aux solvants ORa=3,468 ; IC95% [1,542-7,802]. Par ailleurs, le travail dans la construction constitue un facteur de protection ORa=0,443 ; IC95% [0,245-0,801].

Tableau 2: Facteurs de risque non professionnels

	Cas n (%)	Témoin n (%)	OR IC95%	p
Habitat rural	142 (44,2)	141(43,8)	1,018 [0,746-1,390]	0,909
Histoire familiale de MP	51 (15,9)	11 (3,4)	5,340 [2,728-10,454]	0,000
Notion de traumatisme crânien dans le passé	19 (5,9)	5 (1,6)	3,989 [1,471-10,817]	0,003
Tabagisme	101 (31,5)	122 (37,9)	0,753 [0,543-1,043]	0,087
Tabac à priser	44 (13,7)	56 (17,4)	0,755 [0,491-1,159]	0,197
Café	262 (81,6)	274 (85,1)	0,778 [0,513-1,180]	0,237
Thé	174 (54,2)	185 (57,5)	0,877 [0,642-1,197]	0,407
Type d'eau consommée				
Eau de puits	139 (43,3)	132 (41,0)	1,099 [0,804-1,504]	0,553
Eau de source	117 (36,4)	106 (32,9)	1,169 [0,844-1,618]	0,347
Eau de rivière	51 (15,9)	45 (14,0)	1,163 [0,753-1,795]	0,496

Tableau 3 : Facteurs de risque professionnels et OR IC95%

	Cas n (%)	Témoins n (%)	OR IC95%	p
<i>Secteurs d'activité</i>				
Agriculture	85 (26,5)	46 (14,3)	2,161 [1,451-3,219]	0,000
Construction	22 (6,9)	43 (13,4)	0,477 [0,278-0,818]	0,006
Service aux entreprises	20 (6,2)	32 (9,9)	0,602 [0,337-1,077]	0,085
Industrie manufacturière	20 (6,2)	14 (4,3)	1,462 [0,725-2,947]	0,286
Administration publique	29 (9,0)	13 (4,0)	2,361 [1,204-4,629]	0,010
Education	11 (3,4)	8 (2,5)	1,393 [0,553-3,509]	0,480
<i>Exposition professionnelle</i>				
Pesticides	77 (24)	24 (7,5)	3,918 [2,404-6,386]	0,000
Solvants	25 (7,8)	9 (2,8)	2,937 [1,349-6,397]	0,005
Métaux	12 (3,7)	14 (4,3)	0,854 [0,389-1,877]	0,695

Tableau 4 : Facteurs de risque professionnels après ajustement (OR ajustés IC95%)

	ORa IC95%	p
Agriculture	2,688 [1,720-4,201]	0,000
Construction	0,443 [0,245-0,801]	0,007
Administration publique	2,156 [1,055-4,404]	0,035
Pesticides	5,123 [3,014-8,709]	0,000
Solvants	3,468 [1,542-7,802]	0,003

Calcul des OR avec IC95% après ajustement à l'âge, genre, notion de traumatisme crânien, histoire familiale de MP, tabagisme et tabac à priser.

DISCUSSION :

La présente enquête multicentrique réalisée à l'ouest de l'Algérie a montré une relation significative entre le risque de développer la MP et la notion de traumatisme crânien avec perte de connaissance dans le passé et l'histoire familiale de MP. Cette association a été retrouvée par d'autres auteurs [18,19]. Des facteurs liés au mode de vie peuvent influencer la survenue de la maladie de Parkinson. Le fait de résider en milieu rural n'a pas été corrélé au risque de développer la maladie, contrairement à d'autres auteurs qui ont retrouvé une association positive [20]. Le type d'eau consommée pouvait également influencer la survenue de la maladie de Parkinson. Il s'agit de la consommation d'eau de puits, qui a été corrélée positivement à la maladie par certains auteurs [21,23]. Nous n'avons pas retrouvé une telle association dans notre enquête. Une relation statistiquement significative a été retrouvée entre le travail dans l'administration publique ORa=2,156 [1,055-4,404] (sans toutefois pouvoir donner une explication) et dans le secteur de l'agriculture ORa=2,688 [1,720-4,201] et le risque de la MP. Pour cette dernière, plusieurs auteurs ont rapporté la même observation [24,25]. Une enquête réalisée dans 5 départements français a mis en évidence une augmentation de la prévalence de la MP avec le type de l'activité agricole exercée en l'occurrence la culture d'arbres fruitiers et de céréales utilisant des quantités importantes d'insecticides [26]. Une relation inverse entre le travail dans le domaine de la construction et le risque de MP a été retrouvée. L'exposition professionnelle aux pesticides a été significativement liée à la MP ORa =5,123 [3,014-8,709]. Plusieurs auteurs ont mis en évidence le rôle des pesticides dans la survenue de la MP [27-33]. Dans une étude cas-témoins réalisée dans 5 pays d'Europe (Ecosse, Italie, Suède, Roumanie et Malte), la notion de traumatisme crânien avec perte de connaissance, l'histoire familiale de MP et l'exposition aux pesticides [34]. Dans une revue de la littérature, les auteurs ont estimé que lors d'une exposition chronique aux pesticides, le risque était multiplié par 2 de développer la MP [35,36]. Différents types de pesticides ont été incriminés comme facteur étiologique de la MP. Il s'agit du rotenone et du paraquat [37], et la combinaison paraquat- maneb ou autres dithiocarbamates [38,39] Les mécanismes de cette neurotoxicité restent à déterminer [40]. Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer le rôle toxique des pesticides (stress oxydatif, interférence avec le transport de la dopamine, et le dysfonctionnement, phénomènes inflammatoires mitochondrial) [41,42]. L'exposition aux solvants a été corrélée positivement à la MP (ORa=3,468 [1,542-7,802]). Plusieurs auteurs ont rapporté cette association. Mais aucun solvant n'a été spécifiquement identifié comme facteur étiologique certain dans le développement de la MP [43]. Une étude récente réalisée chez les jumeaux a montré une association significative entre l'exposition au trichloréthylène, perchlorethylène et tétrachlorure de carbone et la MP [44]. D'autres auteurs n'ont pas mis en évidence une telle association [34]. Les limites de cette enquête cas-témoins sont liées tout d'abord au biais de mémoire, à l'impossibilité de quantifier l'exposition aux différentes substances potentiellement neurotoxiques et la méconnaissance des produits utilisés (appel à la mémoire et l'illettrisme important de la population. Aussi, dans notre population d'étude, peu de femmes exercent une activité professionnelle ce qui réduit la population exposée aux facteurs professionnels.

CONCLUSION

Dans cette enquête, les facteurs liés au mode de vie tels que le tabagisme, la consommation de café, d'eau de puits, de source ou de rivière ne jouent pas de rôle dans la MP. Cependant, une relation positive a été retrouvée entre le fait d'avoir un cas familial de MP et un traumatisme crânien dans le passé et la survenue de la MP. Concernant les facteurs professionnels, le travail dans le domaine de l'agriculture et l'exposition aux solvants ont été également corrélés positivement avec le risque de développer la MP. Mais l'exposition aux pesticides représente le facteur de risque le plus important. La MP a été reconnue ayant une origine professionnelle chez les agriculteurs en France, en raison de l'évidence de la relation de cause à effet rapportée par de nombreux auteurs. Il est nécessaire de réaliser d'autres études afin de faire reconnaître cette maladie en maladie professionnelle en Algérie et de préciser les agents spécifiques et les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la survenue de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA. Incidence and distribution of parkinsonism in Olmsted County, Minnesota, 1976–1990. *Neurology* 1999;52:1214–20.
2. Wirdefeldt K, Adami H, Cole Ph, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol* (2011) 26:S1–S58.
3. Khandhar SM, Marks WJ. Epidemiology of Parkinson's Disease. *Dis Mon* 2007;53:200 - 205.
4. Goldman SM. Environmental Toxins and Parkinson's Disease. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 2014,54 :141-164.
5. de Lau LML, Breteler MMB. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006; 5: 525–35.
6. Kiebertz K, Wunderle KB. Parkinson's Disease: Evidence for Environmental Risk Factors. *Movement Disorders*, Vol. 28, No. 1, 2013 : 8-13.
7. Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, et al. Incidence of Parkinson's Disease: Variation by Age, Gender, and Race/Ethnicity. *Am J Epidemiol* 2003;157:1015–1022.
8. Horvath J, Burkhard PR, Bouras C, Kövari E. Etiologies of Parkinsonism in a Century-Long Autopsy-Based Cohort. *Brain Pathology* 23 (2013) 28–33.
9. Elbaz A, Tranchant Ch. Epidemiologic studies of environmental exposures in Parkinson's disease *Journal of the Neurological Sciences* 262 (2007) 37–44.
10. Gorell JM., Peterson EL, Rybicki BA, Johnson ChC. Multiple risk factors for Parkinson's disease. *Journal of the Neurological Sciences* 217 (2004) 169– 174.
11. Caudle WM., Guillot TS., Lazo CR, Miller GW. Industrial toxicants and Parkinson's disease. *Review. NeuroToxicology* 33 (2012) 178–188.
12. Langston JW, Ballard PA, Tetrud JW, Irwin I. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983;219:979–80.
13. Wirdefeldt K, Adami H, Cole Ph, Trichopoulos D, Mandel J. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol* (2011) 26:S1–S58.
14. Tanner CM. Advances in environmental epidemiology. *Mov Disord* 2010;25(Suppl. 1): S58–62.
15. Belarbi S, Hecham N, Lesage S, et al. LRRK2 G2019S mutation in Parkinson's disease: A neuropsychological and neuropsychiatric study in a large Algerian cohort. *Parkinsonism and Related Disorders* 16 (2010) 676-679.
16. Lesage S, Patin E, Condroyer Ch, Leutenegger A-L, Lohmann E, Giladi N. Parkinson's disease-related LRRK2 G2019S mutation results from independent mutational events in humans. *Human Molecular Genetics*, 2010, Vol. 19, No. 10: 1998-2004.
17. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:181–4.

18. Taylor C.A, Saint-Hilaire MH, Cupples LA, et al. Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: A new England-based case control study. American Journal of Medical Genetics - Neuropsychiatric Genetics. Volume 88, Issue 6, 15 December 1999, Pages 742-749].
19. Bower J.H., Maraganore DM., Peterson BJ., McDonnell SK., Ahlskog JE., Rocca WA. Head trauma preceding PD:A case-control study. Neurology, Volume 60, Issue 10, 27 May 2003:1610-15.
20. Tanner CM. Influence of environmental factors on the onset of Parkinson's disease. Neurology 1986;36:215.
21. Nicole M. Gatto, Myles Cockburn, Jeff Bronstein, Angelika D. Manthripragada, Beate Ritz Well-Water Consumption and Parkinson's Disease in Rural California. Environmental Health Perspectives , 117, N°12, December 2009 : 1912-18.
22. Koller W, Vetere-Overfield B, Gray C, et al. Environmental risk factors in Parkinson's disease. Neurology 1990;40: 1218 –1221.
23. Wong GF, Gray CS, Hassanein RS, Koller WC. Environmental risk factors in siblings with Parkinson's disease. Arch Neurol 1991;48:287–289.
24. Tanner CM, Ross GW, Sarah A, et al. Occupation and Risk of Parkinsonism. A Multicenter Case-Control Study. Arch Neurol. 2009;66(9):1106-1113.
25. Kamel F, Tanner CM, Umbach DM, et al. Pesticide Exposure and Self-reported Parkinson's Disease in the Agricultural Health Study. Am J Epidemiol 2007;165:364–374.
26. Moisan F, Spinosi J, Dupupet J-L, et al. The Relation Between Type of Farming and Prevalence of Parkinson's Disease Among Agricultural Workers in Five French Districts. Movement Disorders, Vol. 26, No. 2, 2011 :271-9.
27. Ascherio A, Chen H, Weisskopf MG, et al. Pesticide Exposure and Risk for Parkinson's Disease. Ann Neurol 2006;60:197–203.
28. Elbaz A, Clavel J., Rathouz PJ, et al. Professional Exposure to Pesticides and Parkinson Disease. Ann Neurol 2009;66:494–504.
29. Baldi I, Lebailly P, Mohammed-Brahim B, Letenneur L, Dartigues J-F, Brochard P. Neurodegenerative Diseases and Exposure to Pesticides in the Elderly. Am J Epidemiol 2003;157:409–414.
30. Kamel F, Tanner CM., Umbach DM, et al. Pesticide Exposure and Self-reported Parkinson's Disease in the Agricultural Health Study. Am J Epidemiol 2007;165:364–374.
31. Hancock DB, Martin ER, Mayhew GM, et al. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: A family-based case-control study. <http://www.biomedcentral.com/1471-2377/8/6>.
32. Van Maele-Fabry G, Hoet P, Vilain F, Lison D. Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. Review. Environment International 46 (2012) 30–43.
33. Tanner CM., Kame F, Ross GW, et al. Rotenone, Paraquat, and Parkinson's Disease Environ Health Perspect, 119 (2011):866–872. doi:10.1289/ehp.1002839.
34. Dick FD, De Palma G, Ahmadi A, et al. Environmental risk factors for Parkinson's disease and parkinsonism: the Geoparkinson study. Occup Environ Med 2007;64:666–672.
35. Freire C, Koifman S. Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association. Review. NeuroToxicology 33 (2012) 947–971.
36. Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, Shrivarstava S. (2000). A meta-analyse of Parkinson's disease and exposure to pesticides. Neurotoxicology; 21:435-440.
37. McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. Neurobiol Dis 2002;10:119 –127

38. Thiruchelvam M, Richfield EK, Baggs RB, et al. The nigrostriatal dopaminergic system as a preferential target of repeated exposures to combined paraquat and maneb: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci* 2000;20:9207–9214.
39. Costello S, Cockburn M, Bronstein J, Zhang X, Ritz B. Parkinson's Disease and Residential Exposure to Maneb and Paraquat From Agricultural Applications in the Central Valley of California. *Am J Epidemiol* 2009;169:919–926.
40. Dick FD.. Parkinson's disease and pesticide exposures. *British Medical Bulletin* 2006; 79 and 80: 219–231.
41. Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, et al. Pesticides and Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother* 1999;53:122–130.
42. Gao HM, Hong JS, Zhang W, Liu B. Synergistic dopaminergic neurotoxicity of the pesticide rotenone and inflammogen lipopolysaccharide: relevance to the etiology of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2003;23:1228 –1236.
43. Lock EA, Zhang J, Checkoway H. Solvents and Parkinson disease: A systematic review of toxicological and epidemiological evidence. *Toxicology and Applied Pharmacology* 266 (2013) 345–355.
44. Goldman SM, Quinlan PJ, Ross GW, et al. Solvent Exposures and Parkinson Disease Risk in Twins. *ANN NEUROL* 2012;71:776-784.

**DEPISTAGE DES EPAISSISSEMENTS PLEURAUX CHEZ DES TRAVAILLEURS
EXPOSES A LA POUSSIERE DE TABAC EN ENTREPRISE.**

NAFALD¹, HAMCHAOU.F³, FISSAH.A², METICHE R.L, BOUGHRAOU4

¹: Médecin du Travail - Service de médecine du travail – CHU Bab El Oued

²: Pneumologue - Service de pneumologie - CHU Bab El Oued

³: Epidémiologiste – SEMEP - CHU Bab El Oued
⁴: Radiologue - Service de radiologie - CHU Bab El Oued

Code : 18 u 161/1607

INTRODUCTION

La fabrication du tabac comprend trois phases : Abattage de la feuille verte, préparation générale et confection. La première étape a lieu au niveau des champs de culture du tabac alors que les deux autres étapes ont lieu au niveau des unités de production. Quelque soit l'étape, le travailleur du tabac est exposé aux particules de poussière de tabac.

L'examen de la poussière du tabac montre que 62 à 75 % des particules de poussière de tabac ont un diamètre < 5 µm et 36 % ont un diamètre < 3 µm. Il est donc évident que les particules de poussière de tabac atteignent et créent des lésions à différents niveaux de l'arbre respiratoire y compris les bronchioles et les alvéoles. Cependant, la feuille de tabac séchée est aussi connue comme étant allergisante et très irritante pour les voies respiratoires et la poussière induite lors de sa transformation en tabac finement haché et séché est responsable d'asthme reconnu par la législation algérienne comme maladie professionnelle réparée au titre du tableau 75 des maladies professionnelles indemnifiables par la Caisse Nationale de Sécurité Sociale [15].

OBJECTIF

Toutefois, lors des visites préventives, la découverte fortuite, de plus en plus importante, d'épaississements pleuraux chez des travailleurs exposés à la poussière de tabac qui nous a emmené à entamer cette étude avec comme objectifs d'estimer la prévalence des épaississements pleuraux dépistés dans les unités de manufacture de tabac de Bab El Oued et de la décrire par rapport aux caractéristiques de la population de notre étude.

METHODOLOGIE

1) Type d'étude

Etude épidémiologique de type transversal auprès de 352 travailleurs de deux unités de la SNTA de la commune de Bab El Oued.

Le recrutement est fait par le médecin du travail, dans le cadre des visites préventives (visite périodique, visite de reprise, visite médicale spéciale) sur la base d'un questionnaire standardisé, après consentement éclairé, des travailleurs ayant cinq ans et plus d'ancienneté et sans antécédents pleuro-pulmonaires.

Chaque travailleur retenu bénéficie d'une radiographie standard. Chaque travailleur chez lequel un épaissement pleural est suspecté subit une deuxième visite par le pneumologue, comprenant : interrogatoire, satorométrie, examen physique et deuxième lecture de la radiographie pulmonaire standard. A l'issue, on conclue : « épaissement pleural dépisté ».

2) Critères d'exclusion

Sont éliminés de l'étude tous les travailleurs ayant un épaissement pleural d'origine évidente ou rejetée par le médecin pneumologue sur la base de la radiologie standard, notamment :

- Epaisissements pleuraux séquellaires d'infection (aspergillose, tuberculose...)
- Epaisissements pleuraux suite à un Épanchement d'origine connue
- Epaisissements pleuraux suite à un pneumothorax d'origine connue
- Epaisissements pleuraux, séquelles de traumatisme

3) Critères d'inclusion

Sont retenus tout les travailleurs ayant une ancienneté d'exposition à la poussière de tabac supérieure ou égale à 5 ans, ne présentant pas de pathologie pulmonaire antérieure à la période de recrutement, notamment : Séquelles de tuberculose, broncho-pneumopathie chronique obstructive, traumatisme thoracique, pneumonie ou pleuropneumonie...etc.

4) Analyse et tests statistiques

La saisie et l'analyse des données se feront sur le logiciel épi info version 6 et le logiciel SPSS nous permettant le calcul des fréquences, pourcentages, moyennes médianes et écart types.

Pour les variables qualitatives, on fera un test de Khi deux ou Khi deux corrigé de Yates ou test exact de Fisher selon les conditions d'application. Pour les variables quantitatives, on fait une analyse des variances, test T de Student selon les conditions d'application. Pour chaque test, le niveau de signification est fixé à 5 %. L'Odds ratio sera déterminé avec son intervalle de confiance à 95% ; Il en est de même pour l'Odds ration ajusté (ORA).

RESULTATS**CARACTERISTIQUES DES EP DEPISTES AU TELETHORAX STANDARD**

Nous avons dépisté à la radiographie pulmonaire standard 201 épaissements pleuraux (EP+) dont la majorité sont bilatérales (80,1 %), localisé (70,14 %) et avec lésions associées (86,56 %). Les syndromes interstitiels sont de loin les lésions associées les plus fréquents (Tb 51).

Tableau 51 : Caractéristiques des EP+

CARACTERISTIQUES DES EP+	EP+	%
LOCALISATION		
Pleural droit	19	9,5
Pleural gauche	21	10,4
bilatérale	161	80,1
Total	201	100
TYPE		
Localisé	141	70,14
Diffus	60	29,9
Total	201	100
LESIONS ASSOCIEES		
Sans lésion	27	13,43
Avec lésions associées	174	86,56
Total	201	100
NATURE DES LESIONS ASSOCIES		
Opacité	18	
Syndrome interstitiel	60	
Calcification nodulaire	15	
Bulle apicales	05	
Autres	13	
Emphysème	15	
Comblement des culs de sac	14	
Surélévation de l'HCD gauche	15	
Nodules	15	

1. PREVALENCE DES EPAISSISSEMENTS PLEURAUX DEPISTES

La prévalence globale des épaissements pleuraux dépistés (EP⁺) à la radiographie pulmonaire standard dans notre population d'étude est de **57,1 %** avec IC à 95% (51,74 - 62,31).

Prévalence selon les classes d'âge

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon les classes d'âge (Tb 52).

Tableau 52 : Prévalence selon l'âge des EP⁺

AGE (ans)	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
20-29	2	2	100
30-39	18	11	61,11
40-49	202	109	53,96
50-59	119	73	61,34
60-69	11	06	54,54
Total	352	201	57,1

p = 0.5 DNS

Prévalence selon le Sexe

On ne retrouve aucun cas d'épaississement pleural parmi les 03 femmes incluses dans l'étude. **OR = 1.02 (1 -1.04) p = 0.07 DNS. Test exact de Fisher.**

Prévalence selon le lieu d'habitation

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon les lieux d'habitation (Tb 53.)

Tableau 53 : Prévalence selon le lieu d'habitation des EP⁺

LIEU D'HABITATION / WILAYA	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
Wilaya d'Alger	315	177	56,19
Autre Wilaya	37	24	64,86
Total	352	201	57,1
LIEU D'HABITATION / DAIRA	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
Daïra de BEO	113	67	59,29
Daïra autre que BEO	239	134	56,06
Total	352	201	57,1

p=0.31 DNS (Wilaya) - p=0.56 DNS (Daïra)

Prévalence selon le type d'habitat

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon le type d'habitation (Tb 54).

Tableau 54 : Prévalence selon le type d'habitat des EP⁺

TYPE D'HABITAT	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
Maison individuelle	57	36	63,15
Villa	47	24	51,06
Appartement	192	111	57,81
Maison collective traditionnelle	37	16	43,24
Baraque	19	14	73,68
Total	352	201	57,1

p=0.15 DNS

Prévalence selon le statut marital

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les sujets célibataires (Tb 55).

Tableau 55 : Prévalence selon le statut marital des EP⁺

STATUT MARITAL	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
Célibataire	26	18	69,23
Marié	321	181	56,38
Veuf - Divorcé	5	02	40
Total	352	201	57,1

p = 0.006 DS

Prévalence selon le niveau d'instruction

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon le niveau d'instruction (Tb 56).

Tableau 56 : Prévalence selon le niveau d'instruction des EP⁺

NIVEAU D'INSTRUCTION	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
Analphabète	19	12	63,15
Primaire	97	59	60,82
Moyen	179	103	57,54
Secondaire	45	22	48,88
Supérieur	12	5	41,66
Total	352	201	57,1

p=0.45 DNS

Prévalence selon l'ancienneté dans l'entreprise

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon l'ancienneté dans l'entreprise (Tb 57).

Tableau 57 : Prévalence selon l'ancienneté dans l'entreprise des EP⁺

CLASSES D'ANCIENNETE	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
5 – 9	7	06	85,71
10-14	16	09	56,25
15-19	81	47	58,02
20-24	115	63	54,78
25-29	92	51	55,43
> = 30	41	25	60,97
Total	352	201	57,1

p=0.39 DNS

Prévalence selon le poste de travail

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon le poste de travail (Tb 58).

Tableau 58 : Prévalence selon le poste de travail des EP⁺

POSTE DE TRAVAIL	PT	EP ⁺	PREVALENCE %
Administration	29	18	62,06
Agent confection	29	19	65,51
Agent de sécurité	20	16	80
Agent entretien	2	00	00
Agent labo	8	5	62,5
Agent masse	52	30	57,69
Agent polyvalent	34	17	50
Agent préparation générale	40	24	60
Agent torréfaction	6	5	83,33
Clarckiste	6	2	33,33
Conducteur machine	58	31	53,44
Maintenance	57	28	49,12
Manutentionnaire	11	6	54,54
Total	352	201	57,1

p=0.07 DNS

Prévalence selon l'atelier

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs de la salle de torréfaction, les postes mobiles de sécurité, suivi de l'atelier entrepôt (Tb 59.)

Tableau 59 : Prévalence selon l'atelier des EP⁺

ATELIER	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Bloc Administration	33	19	57,5
Production	243	137	56,3
Sécurité	20	18	90
Maintenance	39	13	33,3
Torréfaction	08	08	100
Entrepôt	09	06	66,6
Total	352	201	57,1

p=0.012 DS

Prévalence selon l'ancienneté dans le poste

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon l'ancienneté dans le poste (Tb 60).

Tableau 60 : Prévalence selon l'ancienneté dans le poste des EP⁺

ANCIENNETE DANS LE POSTE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE%
5-9	120	70	58,3
10-19	136	75	55,2
20-29	84	51	60,7
30-39	12	05	41,6
Total	352	201	57,1

p=0.75 DNS

Prévalence selon l'occupation d'un ou de plusieurs Postes antérieurs dans l'entreprise

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon l'occupation de postes antérieurs dans l'entreprise (Tb 61).

Tableau 61 : Prévalence selon l'occupation de postes antérieurs dans l'entreprise des EP⁺

POSTES ANTERIEURS DANS L'ENTREPRISE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	264	154	58,3
NON	88	47	53,41
Total	352	201	57,1

p=0.41 DNS

Prévalence selon l'existence d'Antécédents professionnels en dehors de l'entreprise actuelle

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs ayant eu des antécédents professionnels en dehors de l'entreprise (Tb 62).

Tableau 62 : Prévalence selon les ATCDS professionnels en dehors de l'entreprise des EP⁺

ATCDS PROFESSIONNELS	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	211	144	68.2
NON	141	57	40.4
Total	352	201	57,1

P= 10⁻⁶ DS

Prévalence selon l'exposition à d'autres aéro-contaminants

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs ayant été exposée à d'autres aéro-contaminants que la poussière de tabac (Tb 63).

Tableau 63 : Prévalence selon l'exposition à d'autres aéro-contaminants des EP⁺

EXPOSITION A D'AUTRES AEROCONTAMINANTS	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	102	79	77,45
NON	250	122	48,8
Total	352	201	57,1

p =10⁶ DS

Prévalence selon l'occupation d'une activité extra professionnelle

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que le travailleur occupe ou pas une activité extra professionnelle (Tb 64).

Tableau 64 : Prévalence selon l'activité extra-professionnelle des EP⁺

	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	56	36	64.3
NON	296	165	55.7
Total	352	201	57,1

p= 0.23 DNS

Prévalence selon Type d'exposition à la fibre de tabac

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que l'exposition à la fibre de tabac soit directe ou indirecte (Tb 65).

Tableau 65 : Prévalence selon l'exposition à la fibre de tabac des EP⁺

EXPOSITION A LA FIBRE DE TABAC	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Directe	196	112	57.1
Indirecte	156	89	57
Total	352	201	57,1

p=0.9 DNS

Prévalence selon la durée d'exposition à la fibre de tabac

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon la durée d'exposition à la fibre de tabac (Tb 66).

Tableau 66 : Prévalence selon la durée d'exposition à la fibre de tabac des EP⁺

DUREE D'EXPOSTION A LA FIBRE DE TABAC	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
5-9	07	06	85,71
10-19	99	57	57,57
20-29	206	113	54,85
30-39	40	25	62,50
Total	352	201	57,1

p=0.56 DNS

Prévalence selon le comportement tabagique

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs qui fument ou ayant fumé du tabac (Tb 67).

Tableau 67 : Prévalence selon le comportement tabagique des EP⁺

COMPORTEMENT TABAGIQUE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Fumeur et Ex Fumeur	241	147	60,1
Non Fumeur	111	54	48,6
Total	352	201	57,1

p=0.03 DS

Prévalence des "Ex fumeurs" selon la durée du sevrage

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante selon la durée du sevrage chez les ex fumeurs, notamment lorsqu'elle est entre 5 – 10 ans (Tb 68).

Tableau 68 : Prévalence selon la durée du sevrage chez les fumeurs et ex fumeurs

DUREE DU SEVRAGE (ANS)	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
< 5	23	11	47.8
5-10	40	32	80
>10	67	33	49.2
Total	130	76	58.4

p=0.03 DS

Prévalence des fumeurs et ex fumeurs selon la consommation de tabac

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon l'importance de la consommation du tabac aussi bien chez les fumeurs que chez les ex fumeurs (Tb 69).

Tableau 69 : Prévalence selon la consommation de tabac des EP+

DUREE DU SEVRAGE (ANS)	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
< 1P/j	34	64	61,5
1 P/j	158	53	60,9
>1P/j	49	30	60
Total	241	147	60,9

p= 0.98 DNS

Prévalence selon la consommation d'autres produits

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante selon que le travailleur consomme d'autres produits notamment le narguilé ou Cannabis/ Haschich (Tb 70).

Tableau 70 : Prévalence selon la consommation d'autres produits que le tabac fumé

PRODUIT CONSOMME EN DEHORS DU TABAC	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Cannabis / Haschich	12	10	83,3
Tabac à chiquer	96	68	70,8
Tabac à prisé	8	5	62,5
Narguilé	2	2	100
Autres	12	10	83,3
Pas d'autres produits	222	106	47,74
Total	352	201	57,1

p=10⁻⁶ DS

Prévalence selon le tabagisme passif en milieu de travail

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs exposés au tabagisme passif en milieu de travail (Tb 71).

Tableau 71 : Prévalence selon le tabagisme passif en milieu de travail des EP+

TABAGISME PASSIF EN MILIEU DE TRAVAIL	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	289	172	59,5
NON	63	29	46,1
Total	352	201	57,1

P= 0.05 DS

Prévalence selon le tabagisme passif en milieu de familial

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que le travailleur soit exposé ou pas en milieu familial (Tb 72).

Tableau 72 : Prévalence selon le tabagisme passif en milieu familial des EP+

TABAGISME PASSIF EN MILIEU FAMILIAL	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Jamais à la maison	344	196	56.9
La même pièce	3	2	66.6
Balcon / Loggia	5	3	60
Total	352	201	57,1

p=0.79 DNS

Prévalence selon l'existence d'ATCDs médico-chirurgicaux personnels autres que respiratoires

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que le travailleur ait ou pas des antécédents médico-chirurgicaux personnels autres que respiratoires (Tb 73).

Tableau 73 : Prévalence selon l'existence d'ATCDs médico-chirurgicaux personnels

ATCDs MEDICO-CHIRURGICAUX PERSONNELS AUTRES QUE RESPIRATOIRES	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	262	155	56.5
NON	90	46	58.9
Total	352	201	57,1

p=0.70 DNS

Prévalence selon l'existence d'ATCDs respiratoires non inclus dans les critères

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que le travailleur ait ou pas des antécédents respiratoires non inclus dans nos critères (Tb 74).

Tableau 74 : Prévalence selon l'existence d'ATCDs respiratoires

ATCDs MC RESPIRATOIRES NON INCLUS DANS LES CRITERES	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	31	21	67.7
NON	321	180	56.1
Total	352	201	57,1

p=0.21 DNS

Prévalence selon la nature des premiers symptômes respiratoires ressentis

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs qui ont préalablement senti des symptômes respiratoires notamment de l'éternuement/rhinorée, toux et dyspnée (Tb 75).

Tableau 75 : Prévalence selon la nature des premiers symptômes respiratoires ressentis

PREMIERS SYMPTOMES RESPIRATOIRES RESSENTIS	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE%
Aucun symptôme	296	168	56.7
Eternuement et rhinorée	15	11	73.3
Toux	05	3	60
Dyspnée	24	12	50
Dysphonie	03	1	33.3
Autres	09	6	66.6
Total	352	201	57,1

p=0.001 DS

Prévalence selon la symptomatologie générale actuellement ressentie

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que le travailleur ait ou pas des symptômes généraux actuellement ressentis (Tb 76).

Tableau 76 : Prévalence selon la symptomatologie générale actuellement ressentie

SYMPTOMATOLOGIE GENERALE ACTUELLE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Fièvre	01	1	100
Asthénie	21	15	71,4
Amaigrissement	10	7	70
Pas de symptômes	320	178	55,6
Total	352	201	57,1

P=0.076 DNS

Prévalence selon la pression de saturation de l'oxygène (PS)

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que la pression de saturation de l'oxygène des travailleurs soit normale ou pathologique (Tb 77).

Tableau 77 : Prévalence selon la pression de saturation de l'oxygène des EP⁺

SATURATION DE L'OXYGENE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Normale	342	195	57
Pathologique	10	6	60
Total	352	201	57,1

p=0.85 DNS

Prévalence selon l'examen clinique

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs ayant un examen clinique anormal (Tb 78).

Tableau 78 : Prévalence selon l'examen clinique des EP+

EXAMEN CLINIQUE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Normal	339	190	56,04
Anormal	13	11	84,61
Total	352	201	57,1

p=0.041 DS

Prévalence selon la présence d'un hippocratisme digital

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon la présence ou pas chez le travailleur d'un hippocratisme digital (Tb 79).

Tableau 79 : Prévalence selon la présence d'un hippocratisme digital des EP+

HIPPOCRATISME DIGITAL	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
OUI	7	6	85,7
NON	345	195	56,5
Total	352	201	57,1

p=0.1 DNS

Prévalence selon l'examen respiratoire

La prévalence des EP⁺ est significativement plus importante parmi les travailleurs présentant des signes pathologiques à l'examen pulmonaire (Tb 80).

Tableau 80 : Prévalence selon l'examen respiratoire des EP+

EXAMEN RESPIRATOIRE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Normal	337	187	55,48
Anormal	15	14	93,33
Total	352	201	57,1

p=0.0036 DS

Prévalence selon l'examen cardiovasculaire

La prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que les travailleurs présentent ou pas des signes pathologiques à l'examen cardiovasculaire (Tb 81)

Tableau 81 : Prévalence selon l'examen cardiovasculaire des EP+

EXAMEN CARDIAQUE	EFFECTIF	EP ⁺	PREVALENCE %
Normal	341	193	56,6
Anormal	11	08	72,72
Total	352	201	57,1

P=0.14 DNS

DISCUSSION

Les épaissements dépistés

Nous avons dépisté à la radiographie pulmonaire standard 201 épaissements pleuraux (EP⁺) dont la majorité sont bilatéraux, localisés et avec lésions associées. Parmi les lésions associées retrouvées, les syndromes interstitiels sont de loin les plus fréquents. Outre les épaissements pleuraux qui n'ont pas fait l'objet d'études aussi bien nationales qu'internationales, nos résultats rejoignent ceux décrits dans la radiographie du poumon du travailleur du tabac par Olade [13] qui peut montrer dit-il une fibrose progressive associée à une perte du volume du lobe supérieur ou des infiltrations réticulaires diffuses dans une exposition chronique. En cas d'exposition aigüe, les infiltrations sont généralement plus marquées dans les lobes inférieurs.

La prévalence des épaissements pleuraux dépistés (EP⁺)

Dans notre étude, La prévalence globale des épaissements pleuraux dépistés (EP⁺) à la radiographie pulmonaire standard est de 57,1 %. On ne retrouve aucun cas d'épaississement pleural parmi les 03 femmes incluses dans l'étude bien que les données récentes décrites par Zenz cité par Olade [13] montrent que les travailleurs du tabac de sexe féminin sont plus sujettes aux symptômes respiratoires et aux troubles pulmonaires.

La prévalence spécifique des EP⁺ chez les travailleurs dépistés, bien qu'elle soit particulièrement élevée parmi les célibataires alors que les travailleurs mariés prédominent dans notre population d'étude, ne montre pas de différence significative selon l'âge. Ces résultats rejoignent l'analyse d'Olade [13] concernant le poumon du travailleur du tabac, pour qui, ce dernier survient chez les adultes en âge de travailler indépendamment de l'âge.

Dans notre étude, La prévalence spécifique des EP⁺ chez les travailleurs dépistés ne montre pas de différence significative selon le lieu d'habitation, le type d'habitation, le niveau d'instruction.

Sur le plan professionnel, La prévalence ne montre pas de différence significative selon l'ancienneté dans l'entreprise ou dans le poste de travail, selon les ateliers ou les postes de travail, selon que l'exposition à la fibre de tabac soit directe ou indirecte ni selon la durée de l'exposition de cette dernière, selon l'occupation ou pas de postes antérieurs dans l'entreprise, et même selon que le travailleur fait ou pas une activité extra professionnelle. Ces résultats s'expliquent par le fait que nous avons retenu dans le cadre du dépistage que les travailleurs ayant une ancienneté supérieure à 5 ans. Ces résultats rejoignent ceux décrits par Rom cité par Olade [13], pour qui une ancienneté à une exposition à la poussière de tabac de plus de 10 ans est deux fois plus susceptible de provoquer la maladie, comparativement à celle de moins de 5 ans.

Toutefois, il a été intéressant de remarquer que la prévalence des EP⁺ soit importante parmi les travailleurs occupant les postes mobiles de sécurité, de la salle de torréfaction et de l'entrepôt, parmi ceux ayant eu des antécédents professionnels en dehors de l'entreprise et ceux ayant été exposés à d'autres aéro-contaminants que la poussière de tabac (fer, bois, chrome...etc.)

La relation avec le tabac fumé et à d'autres produits consommés est importante à signaler puisque, la prévalence des EP⁺ est significativement élevée parmi les travailleurs qui fument ou ayant fumé du tabac, parmi les ex fumeurs dont la durée du sevrage est comprise entre 5 et 10 ans, parmi ceux ayant consommé d'autres drogues comme le Cannabis/Haschich ou narguilé et parmi les travailleurs exposés particulièrement au tabagisme passif en milieu de travail.

Ces résultats rejoignent ceux décrits par MUSTAJBEGOVIC ET COL. [12] et YANEV [23] pour qui le tabagisme peut potentialiser les effets de la poussière de tabac.

Enfin, la prévalence des EP⁺ ne montre pas de différence significative selon que le travailleur ait ou pas des antécédents médico-chirurgicaux personnels autres que respiratoires, des antécédents respiratoires non inclus dans nos critères, des symptômes généraux actuellement ressenti par les travailleurs, une pression de saturation d'oxygène pathologique, un hippocratisme digital ou un examen cardiovasculaire anormal ??.

Sur le plan fonctionnel, la prévalence des EP⁺ est élevée parmi les travailleurs qui ont préalablement ressenti des symptômes respiratoires notamment de l'éternuement/rhino-ée, toux et dyspnée, parmi ceux présentant un examen clinique anormal, particulièrement des signes pathologiques à l'examen pulmonaire. Cette symptomatologie est décrite dans la maladie du poumon du travailleur du tabac qui selon Olade [13] dans sa forme chronique peut présenter une toux insidieuse, dyspnée d'effort, fatigue et perte de poids ainsi que des séquelles respiratoires irréversibles dues à la fibrose pulmonaire survenant tardivement au cours de la maladie.

CONCLUSION

L'importance des épaissements pleuraux dépistés au telethorax standard associés fréquemment à des lésions parenchymateuses et le retentissement clinique nous emmène à déduire qu'on est devant une alvéolite allergique extrinsèque communément appelée « le poumon du travailleur du tabac ».

Le PTT est décrit par plusieurs auteurs comme étant une pathologie causée par l'inhalation de poussière de tabac chez les personnes qui travaillent dans les champs de tabac et les usines de fabrication de cigarettes et que l'augmentation de l'humidité joue un rôle majeur dans le développement et la croissance des moisissures hautement incriminées comme cause du PTT. Cet état de fait recommande une éviction radicale et sans délai des travailleurs à l'exposition aux poussières de tabac. Toutefois, notre partenaire socio-économique, s'avérant être l'employeur des unités de l'entreprise dans lesquelles notre étude a été réalisée, est conscient de la répercussion des résultats de notre enquête ; C'est pourquoi, ces unités sont en voie d'être délocalisées et installées loin des zones urbaines dans des locaux hautement performants en matière d'hygiène et de sécurité au travail.

Par ailleurs, il est important pour nous de déclarer les travailleurs atteints de PTT en maladie à caractère professionnel, de saisir la commission des maladies professionnelles afin d'inclure le PTT dans le tableau n° des alvéolites allergiques extrinsèques et à défaut de pouvoir interdire la production de tabac, inciter les employeurs, outre délocaliser les unités des zones urbaines, à investir dans les procédés de fabrication en vas-clos.

BIBLIOGRAPHIE

1. AMEILLE J. et col. : Affections pleurales. encyclopédie médicochirurgicale de pathologie professionnelle et de l'environnement, 2007.
2. COMMISSION EUROPEENNE : Réglementation - Normes européennes en matière de pollution : Valeurs limites, seuils d'alerte et niveaux critiques.
<http://www.airparif.asso.fr/reglementation/normes-europeennes>
3. DALPHIN J. : Alvéolite allergique extrinsèque en milieu professionnel : Maladies respiratoires d'origine professionnelle. Ed Masson, 2^e éd p93-103, 1999.
4. ETEMADINEJAD S, MOHAMMADIAN M, et al: Pulmonary function in workers exposed to tobacco dust. Indian Journal of Med Sci, n° 63, pp: 543-548, 2009.
5. FADDEN E.R., et al.: Reduction in maximum mid expiratory flow rate. A spirometric manifestation of small airway disease. Am. J. Med, n°52, pp: 727-737, 1972.
6. GLEICH GJ.ET AL.: Allergy to tobacco: An occupational hazard. N Engl J Med; n° 302, pp: 617-619, 1980.

7. KJAERGAARD SK, ET AL.: Respiratory disease and lung function in a tobacco industry. Arch Environ Health, n° 44, pp: 164-170, 1989.
8. LANDER F., GRAVESEN S. : Respiratory disorders among tobacco workers. Br J Ind med n°45, pp: 500-502, 1988.
9. LAUWERYYS R, Haufroid V, Hoet P, Lison D : Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Masson 5^{ème} édition, 2007, p1176.
10. Mc CORMICK WE et al.: A study of the health hazards of the tobacco stemming and redrying industry. J industry Hyg Toxicol n°32, pp: 43-52, 1948.
11. MAAMIR N, NAFAI D: Epaissement pleuraux chez des travailleurs exposés aux poussières de tabac. Mémoire de fin d'étude de résidanat en médecine du travail, CHU BEO - Université Alger 1, 2009.
12. MUSTAJBEGOVIC J, ZUSKIN E, et al.: Respiratory Findings in Tobacco Workers <http://Chestjournal.chestpubs.org/content/123/5/1440.full.html>, Chest2003.
13. OLADE ROGER B et al. : Tobacco Worker's Lung. emedicine.medscape.com/article/302379-overview, 2012
14. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (OMS): Recommandation des valeurs guides de la qualité de l'air. <http://www.airparif.asso.fr/reglementation/recommandations-oms>
15. REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE : Décret exécutif n°93-120 du 15/05/1993 relatif à l'organisation de la médecine du travail et l'arrêté interministériel du 05 mai 1996 fixant la liste des maladies présumées d'origine professionnelle.
16. REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE : Décret exécutif n° 06-02 du 07 /01/2006 définissant les valeurs limites, les seuils d'alerte et les objectifs de qualité de l'air en cas de pollution atmosphérique (particules fines en suspension).
17. REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE : Décret exécutif n° 02-427 du 07/12/2002 relatif aux conditions d'organisation, de l'instruction, de l'information et la formation des travailleurs dans le domaine de la prévention des risques professionnels.
18. REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE : Décret exécutif n° 05-09 du 08 /01/2005 relatif aux commissions paritaires et aux préposés à l'hygiène et à la sécurité en milieu de travail.
19. REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE : Arrêté interministériel du 09/06/1997 fixant la liste des travaux où les travailleurs sont fortement exposés aux risques professionnels.
20. ROOS. F, GUINOR. M : Pathologie dues à l'amiante ; encyclopédie médicochirurgicale de pathologie professionnelle et de l'environnement 2007.
21. SEKEROVA N.: Temporary disability to work caused by diseases of the upper respiratory tract in the tobacco industry of Plovdiv. Folia Med (Plovdiv) n°11, pp: 46-54, 1969.
22. VALIC F., BERITIC D. et al.: Respiratory response to tobacco dust exposure. Am Rev Respir Dis, n° 302, pp: 617-619, 1980.
23. YANEV I., KOSTIANEV S.: Respiratory Findings in Tobacco Industry Workers. Chestjournal n°125 (2), p: 802 (abstract), 2004.
24. ZHANG Y. et al.: The Dose-Response relationship between Pulmonary Function and Cumulative Dose of Tobacco Dust Exposure among Tobacco Processing Workers. Journal of Occupational Health, n° 51, pp: 164-165, 2009.
25. ZHANG Y., et al.: Environnemental Mycological Study and allergic Respiratory Disease among Tobacco Processing Workers. Journal of Occupational Health, n° 47, pp : 181-187, 2005.x

26. ZUSKIN E, MUSTAJBEGOVIC J, et al.: Immunological and Respiratory Changes in Tobacco Workers. American journal of industrial medicine n° 45, pp: 76-83, 2004.

**EVALUATION DE LA PENIBILITE AU TRAVAIL ET CONTRAINTES
ENVIRONNEMENTALES CHEZ LES CORONARIENS APRES LEUR
REINSERTION PROFESSIONNELLE.**

DJAZOULI M.A¹ , TEBBOUNE C.B¹, BENABDI .K¹, HAMMOU.L²

(1)Service de Médecine du Travail, CHUO/Faculté de Médecine d'Oran.

(2) Service de Cardiologie , CHUO/Faculté de Médecine d'Oran.

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

Code projet PNR : 179

Résumé :

Cette étude concerne le retour et le maintien dans l'emploi des personnes ayant présentées des syndromes coronariens aigus.

Ce thème représente un véritable enjeu sociétal actuel en posant la question du maintien dans l'emploi de la personne ayant présenté ce type de pathologie avec l'analyse des conséquences individuelles et également les conséquences économiques.

De manière originale, cette étude permet d'intégrer à la fois des éléments plus classiques qui peuvent être individuels, professionnels et non professionnels par des questionnaires mais également une évaluation des personnes ayant repris un travail. Des paramètres intégrant des caractéristiques des postes de travail ainsi que les mesures de fréquences cardiaques relatives à la charge physique réalisée au travail ont été intégrés.

Ce travail s'est heurté à des difficultés méthodologiques de terrain, surtout rencontrées dans le cadre du suivi des coronariens qui hésitent à participer à ce type d'enquête et dans le cadre des accès aux entreprises.

Pour autant la méthodologie en soi, la dynamique inscrite dans cette démarche et les résultats obtenus sont tout à fait intéressants et pertinents.

Mots clés : Syndrome coronaire aigu, réinsertion professionnelle, contraintes au travail.

I- Introduction : Les maladies cardiovasculaires se traduisent souvent par des événements aigus mettant en jeu le pronostic vital. En cas de survie, il s'agit de maladies chroniques. Le retour au travail est un enjeu important de ces maladies et des cardiopathies ischémiques en particulier, aussi bien pour l'équilibre physique, mental et social du patient que pour la communauté. Les patients coronariens ont longtemps été considérés comme des invalides, mais les idées largement répandues sur l'incapacité physique de ces patients sont à présent révolues. En effet, la réadaptation cardiaque a changé le pronostic de la maladie. Il est à présent démontré que la reprise des activités physiques a un effet bénéfique sur la récupération. La reprise du travail est donc possible et souhaitable dans la majorité des cas. De plus, certaines études [18] ont pu montrer que la reprise du travail est elle-même bénéfique dans le cadre d'une prise en charge globale du sujet par un programme de réadaptation multidisciplinaire.

En théorie, la question du retour au travail après cardiopathie ischémique ne devrait donc plus soulever de difficulté. Toutefois, en pratique, lorsqu'il s'agit de cardiopathies ischémiques, les choses ne sont pas aussi simples et il subsiste des craintes et des réticences du côté des patients et de leur famille, mais aussi du côté des médecins. Le taux moyen de retour au travail n'est généralement que de 70 à 80% après réadaptation, et 60% sans réadaptation [2, 17]. Le processus de retour au travail est en fait complexe, quelle que soit la cause de l'arrêt de travail, et fait intervenir de nombreux acteurs et de nombreuses considérations, physiques, mais aussi professionnelles et psychologiques.

Il existe des données sur les facteurs de retour au travail après infarctus du myocarde. Certains facteurs de gravité comme l'âge, les résultats de l'épreuve d'effort, la survenue de complications en phase aiguë, la présence d'un angor résiduel ont été identifiés, mais ils n'expliqueraient que 20% des non reprises. Certains facteurs non liés à la maladie interviendraient aussi dans le processus de retour au travail, en particulier certaines caractéristiques socioprofessionnelles, comme le type et le secteur d'emploi, le niveau d'étude, la catégorie socioprofessionnelle, la charge de travail, mais aussi des facteurs psychologiques, l'anxiété, la dépression, la perception de la maladie. Il y a cependant peu d'études sur les délais de retour au travail, bien qu'on sache [1] qu'une reprise rapide est aussi importante pour le patient et son estime de soi, que pour

l'entreprise et les assurances publiques ou privées. Au plan économique, l'entreprise subit un manque à gagner lié à l'absentéisme et à l'augmentation du coût financier relatif aux soins médicaux des agents d'où l'intérêt d'une prévention fondée sur l'identification des facteurs de risque, des campagnes de sensibilisation et de promotion de la santé chez les groupes à risque.

A cet effet et pour établir une approche descriptive sur la situation réelle de la réinsertion professionnelle en Algérie, des sujets coronariens, nous avons mené une étude sur la variation des paramètres physiologiques (la pression sanguine et de la FC) au cours de différentes activités au poste du travail après la réinsertion professionnelle de ces sujets.

II-Objectifs de l'étude :

- Décrire le profil des coronariens remis au travail.
- Evaluer l'astreinte cardiaque chez les sujets coronariens remis au travail (par la mesure de la pression artérielle et la fréquence cardiaque).

Le but recherché est d'améliorer la prévention et la prise en charge des sujets coronariens lors de la réinsertion professionnelle pour éviter toutes complications cardiovasculaires et d'encourager la reprise au travail.

III-Matériel et méthodes:

1-Type d'enquête :

C'est une étude épidémiologique descriptive transversale d'une population de travailleurs coronariens qui ont repris leur poste de travail dans les différents secteurs d'activités.

L'étude s'est étalée sur une période de 10 mois.

2-Population :

L'échantillon de notre étude se compose de 63 salariés, coronariens qui ont repris le travail, occupant des postes dans différents branches d'activités et secteurs dont l'agriculture, le bâtiment et travaux publics, l'industrie, les activités libérales et le secteur tertiaire. Les sujets ont été recrutés à partir de deux services : - Service de cardiologie du CHU d'Oran et le - Service de médecine du travail.

- Le SCA (syndrome coronaire aigu): regroupe l'infarctus du myocarde (IDM) et l'angor instable : Un sujet est considéré comme atteint d'un infarctus de myocarde s'il a au moins deux des éléments suivants :

- Douleur angineuse typique au repos pendant au moins 30 min ;
- Élévation du segment ST ≥ 0.1 mV dans deux dérivations contiguës frontales ou ≥ 0.2 mV dans deux dérivations précordiales contiguës à l'ECG ;
- Apparition d'une onde Q de nécrose au décours de la douleur ;
- Élévation des enzymes cardiaques (CPK ou Troponine) à plus de 2 fois la normale.

2-1- Critères d'inclusion pour l'étude :

Tous les sujets des deux sexes, ayant des antécédents de pathologies coronariennes, et /ou mis sous traitement pour SCA, et qui occupe un poste de travail dans un des secteurs d'activités de la ville d'Oran (industriel, agricole, bâtiment et travaux publics ou tertiaire).

2-2- Critères d'exclusion :

- Travailleur âgé moins de 18 ans.
- Sujets qui sont en congé de longue durée pour des raisons de santé et qui n'ont pas encore repris leur poste de travail.
- Sujets retraités.

- Sujets coronariens non salariés.
- Sujets refusant de participer à l'enquête.

3-Méthodologie :

Après recueil des données à partir des dossiers de médecine du travail et/ou de cardiologie, chaque sujet est soumis à un questionnaire comportant deux parties et des mesures physiologiques.

3-1 Passation de questionnaire :

- **La première partie :** a permis de recueillir les éléments suivants :
 - Les caractéristiques sociodémographiques du sujet : l'âge, le sexe, la situation matrimoniale et le niveau d'instruction.
 - Les caractéristiques professionnelles à savoir le type d'activité, le poste actuel, ancienneté à ce poste, ancienneté dans l'entreprise, la qualification professionnelle, le rythme de travail, la notion d'exposition au bruit, et les exigences physiques du travail qui ont été auto-évaluée sur une échelle de 10 points numérique de l'EVA.
 - Les habitudes de vie (la pratique alimentaire, le statut tabagique, la consommation d'alcool antérieur et actuelle, la notion de tabac passif au travail, la pratique sportive, la prise médicamenteuse, drogue).
 - Les antécédents personnels d'hypertension artérielle, de diabète, de dyslipidémie, d'autres cardiopathies.
 - les antécédents cardiovasculaires familiaux chez les apparentés du premier degré.
- **La deuxième partie :** a permis de recueillir les éléments suivants :
 - La reprise au travail : durée d'arrêt du travail, rechute après la reprise du travail, reprise au niveau du même poste ou poste aménagé ou bénéficiaire d'éventuel changement de son poste.
 - Mesure de la fréquence cardiaque :
 - FC de repos : a été mesurée après 10 mn de repos avant la prise du travail, en position assise, dans un endroit calme et peu lumineux.
 - FC de travail : a été mesurée pendant le travail et sur le lieu de son poste du travail. Deux mesures ont été prises : FC 1de travail, et FC 2de travail.
 - FC de récupération : C'est celle que l'on mesure dans les minutes qui suivent l'arrêt du travail selon le protocole de BROUHA.
 - Fréquence cardiaque maximale théorique (FMT) : $FMT = 220 - \text{âge}$.
 - Fréquence cardiaque moyenne (FCM) : correspond à la moyenne des mesures effectuées pendant la durée de l'examen.
 - Coût cardiaque absolu (CCA) : $CCA = FC_w - FC_o$
 - Coût cardiaque relatif (CCR) : $CCR = [FC_w - FC_o / FMT - FC_o] \times 100$
 - L'indice ΔFc : qui correspond à la différence entre la FCM et la fréquence cardiaque maximale. Un ΔFc supérieur à 30 correspond déjà à un effort dont la pénibilité est excessive.
 - Coût cardiaque relatif au 99^{ème} percentile (CCR₉₉) : qui correspond à une appréciation de la pénibilité professionnelle de crête ; ce qui correspond au niveau de FC dépassée pendant 1% du temps de travail.
- **Analyse statistique :** après avoir saisi les données anamnestiques, cliniques et fonctionnelles recueillis, sur le logiciel excel 2007, l'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SPSS.
- Pour l'analyse univariée, les résultats sont exprimés en pourcentage pour les variables qualitatives et en moyenne \pm écart type pour les variables quantitatives.
- La comparaison des pourcentages a été faite deux à deux par le test de Chi 2 de Pearson. Lorsque l'un des effectifs calculés est inférieur à 5, c'est la formule de chi 2 corrigé de Yates ou le test exact de Fischer qui ont été utilisés.

- La comparaison des moyennes a été faite selon l'analyse de variance et de moyenne (Anova : post-Hoc), qui n'est utilisé qu'en cas de loi normale de même variance. Si les variances sont différentes, c'est le test non paramétrique de Kruskal Wallis et le test pairé qui sont utilisés.
- Le seuil de signification retenu est 0,05 pour un intervalle de confiance à 95%.

IV-Les résultats :

1-Caractéristiques générales de la population d'étude :

1.1.En fonction des paramètres sociodémographiques :

L'étude a porté sur un échantillon de 63 sujets majoritairement de sexe masculin (95.2% versus 4.8%) avec une moyenne d'âge de 51,06(± 8.48) ans dont la tranche d'âge prédominante est supérieure à 45 ans avec (79.4%). Cette population se caractérise par un nombre important des sujets qui sont mariés (92.1%) et 39.7% des cas avec un niveau d'instruction bas (analphabète et primaire). On relève également que 22.2% de notre population sont obèses. (Voir tableau 01 en annexe)

1.2. En fonction des antécédents médicaux :

- Parmi les ATCDS médicaux retrouvés chez les coronariens de notre population, on note que la dyslipidémie, HTA et le diabète sont les plus rapportés avec respectivement (82%), (54%) et (46%). La pathologie gastrique à savoir l'ulcère gastrique 3.17% et gastrite chez 6.34% des cas, les lésions dermatologiques tel que le psoriasis chez 3.17%, les maladies néoplasiques tel que le cancer du sein chez 1.58% et le goitre thyroïdien chez 1.58%. (Voir tableau 02 en annexe)

1.3.En fonction des principales habitudes de vie :

Notre population est essentiellement constituée de sujets non fumeur(81%) et (81%) non buveurs. (17.46%) des coronariens gardent toujours de mauvaises habitudes à savoir le tabac plus de 10 cig /j. Deux tiers des sujets utilisent un moyen de transport pour rejoindre leur poste de travail. (Voir tableau 03 en annexe)

2-Caractéristiques professionnelles :

2.1. Etude des conditions de travail avec recensement des différents postes de travail occupés par les travailleurs coronariens :

- Secteur des bâtiments et travaux publics BTP : Manœuvre, Maçon, Entrepreneur
- Secteur Industriel : Technicien maintenance, Directeur d'administration, Agent de sécurité, Ecouleur (Fonderie), Mécanicien
- Secteur libéral : Imprimeur, Notaire, Commerçant, Couturier, Vendeur, pointeur des chauffeurs, Dentiste en cabinet privé, Comptable.

- Secteur tertiaire : Officier de police, Femme de ménage, Commissionnaire (hôpital), Magistrat, Caissier, Agent de bureau, Enseignant, médecin généraliste
- Secteur agro-alimentaire : Gardien, Jardinier.

- Exemple : d'un sujet coronarien après sa réinsertion professionnelle dans un poste de couleur comme ouvrier dans une fonderie (photos prise en mois novembre 2011).



Image n°1



Image n°2

Son activité consiste à faire fondre le métal et à surveiller sa fusion dans un four. Il est chargé de couler le métal en fusion (1200⁰ C et 1600⁰ C) dans des moules. La poche de coulée remplie de métal liquide est acheminée vers les moules au moyen d'un portique. Il s'agit de faire basculer la poche. Les déplacements des couleurs sont fréquents, la posture principale est la station debout prolongée avec une posture plus contraignante qui est la posture debout, tronc incliné latéralement à 30⁰-45⁰ pour observer la coulée du métal dans les châssis de moule.

2.2. Classification professionnelle :

On note que les branches d'activité les plus représentatives sont les activités libérales 39.7% et tertiaires (41.3%). Par ailleurs plus de 60% des sujets exercent comme ouvriers. On observe également que l'ancienneté au poste est relativement élevée (18.97 ±11.64ans).

On observe que 93.7% des sujets n'exercent pas un travail posté. La position dominante au cours de l'exercice de la profession est la station debout (41.3%).

On remarque que la pénibilité ressentie par les travailleurs est considérée modérée dans la moitié de notre population.

	Population d'étude N=63
Travail posté :	
• Oui	04(6.3%)
• Non	59(93.7%)
Position dominante :	
• Assise	17(27%)
• Debout	26(41.3%)
• Mixte	10(15.9%)
• Marche-déplacement	10(15.9%)
Pénibilité au travail :	

<ul style="list-style-type: none"> • Faible • Modérée • Forte 	19(30.2%) 31(49.2%) 13(20.6%)
Formation professionnelle :	21(33.3%)

Tableau 05 : Facteurs de risque professionnel

3. Profil des sujets coronariens :

On trouve que 31.7% de l'échantillon déclarent le stress en milieu de travail comme facteur déclenchant de la crise coronarienne, ceci est corroboré avec nos résultats qui nous montre que 33.3% ont fait leur crise sur les lieux de travail. Environ 80% des sujets ont fait un seul séjour à l'hôpital. On remarque que la reprise au travail avec retour au même poste concerne la presque totalité (84.1%) de notre population.

3.1. Dans la population générale de l'étude:

L'analyse des caractéristiques professionnelles de la population d'étude montre que presque tous les paramètres hémodynamiques TAS, TAD, TAM, TAP sont significativement plus élevés au travail par-rapport au repos.

	Population d'étude		Δ TA	P
	Au repos N=63	Au travail N=63		
TAS (mmHg)	110.95± 17.75 (Min: 90 - Max: 160)	120.16± 18.06 (Min: 90 - Max : 160)	9.2	0.000
TAD (mmHg)	69.21± 11.78 (Mi: 50 - Max: 100)	73.41± 12.53 (Min: 50 - Max : 100)	4.2	0.000
TAP (mmHg)	41.74 ±13.35 (Min: 10 - Max: 80)	46.74± 12.86 (Min: 10 - Max : 75)	5.0	0.000
TAM (mmHg)	82.98 ±12.55 (Min: 3.2 -Max:113.2)	88.83 ±13.28 (Min: 63.2 - Max : 119.8)	5.8	0.000

Tableau 06: Comparaison des variations journalières des chiffres tensionnels.

3.2. Variation des paramètres hémodynamiques entre repos/travail uniquement chez les cadres :

On note une variation hémodynamique tensionnelle élevée chez les cadres lors d'un travail statique par rapport au repos avec une différence statistiquement significative.

Test pairé	Catégorie (Cadre) N=13				P
	TADrepos	TADw	TASrepos	TASw	
TAD :					

Repos / Travail	72.3±13.6	74.2±12.8***			0,000
TAS :					
Repos / Travail			114.6±16.1	120.3±15.8***	0,000

Tableau7 : Variation des paramètres hémodynamiques entre repos/travail uniquement chez les cadres. Test païré *<0.000 ** <0.00.**

3.3. En analysant les indices du deuxième paramètre de l'astreinte physiologique mesurés au repos et au travail, on a trouvé que la fréquence cardiaque moyenne au travail FCM est plus élevée chez les coronariens que celle mesurée au repos.

Ainsi que le coût cardiaque relatif CCR (%) calculé chez ces travailleurs est de 16±7,53 et le coût cardiaque relatif au 99^{ème} percentile (CCR99) est élevé (39.80%).

La pénibilité chez les coronariens qui ont repris leurs travail dans les différents secteurs d'activités selon la grille de pénibilité de MEUNIER, permet de dire les profils type I (CCR<20 et CCR99<50), pénibilité acceptable prédomine.

	Population N=63	
	Moy ± écart-type	Min - Max
Fc repos (bpm)	70,10±9,22	47 - 96
FCM au travail (bpm)	86,63±9,87	60 - 105
FMT (bpm)	168,93±8,48	152 - 198
CCA (bpm)	16,53±7,65	1,00 - 39,00
CCR (%)	16.73 ± 7,53	1.08 - 40
L'indice Δ Fc (bpm)	2,38±5,11	-8 - 13,00
CCR 99 ^{ème} (%)	39.80	

Tableau 8: Evaluation du Coût cardiaque.

Discussion :

L'infarctus du myocarde affecte une population active de plus en plus jeune. La reprise du travail après infarctus du myocarde reste un problème important reposant sur la connaissance des variables médicales, sociales et économiques qui l'influencent. L'identification de ces facteurs pourrait permettre de prédire tôt le devenir du patient et contribuer à une prise en charge médicale et sociale afin de faciliter sa réinsertion professionnelle.

- Notre étude a mis en évidence une différence statistique fortement significative entre les chiffres tensionnelles de la tension artérielle systolique, diastolique, moyenne et la tension artérielle pulsée au travail par rapport au repos confirmée par le test de student lors de la comparaison de leurs moyennes.

Les données de nombreuses études de cohortes ont démontré que les chiffres tensionnelles de la pression systolique et diastoliques sont plus élevés au travail par rapport au repos surtout pour les travaux qui exige un effort physique ou mental.

Une récente étude prospective, multicentrique Starlet en 2006 qui a étudié la variation de la pression artérielle chez la population active allemande avec 3448 participants âgés en moyenne de 44 ans et travaillant dans différents domaines d'activité dont les mesures ont été effectuées sur une durée allant jusqu'à 5 ans, ont confirmés que 64% des participants avaient des chiffres de la pression artérielle systolique du travail plus élevés. En plus, par rapport aux personnes ne se plaignant pas de stress professionnel, les individus qui s'estimaient soumis à un fort stress présentaient non seulement une pression artérielle augmentée mais étaient aussi plus souvent victimes d'événements cardiovasculaires ou cérébro-vasculaires. [3,21].

Une étude cas-témoins réalisée par Gaudemaris et Lang 2011 [5] regroupant plus de 20.000 sujets initialement normo tendus a montré, après ajustement sur tous les facteurs de risques connus d'HTA, que **le fait de devenir hypertendu à deux ans était associé de façon significative au fait d'avoir une forte demande et une faible latitude de décision au travail** chez les hommes et de façon plus nette chez les femmes.

- En comparant les indices du deuxième paramètre de l'astreinte physiologique mesuré au repos et au travail, nous avons constaté que la fréquence cardiaque moyenne FCM, le coût cardiaque absolu CCA et le ΔFc confirment que la pénibilité cardiovasculaire chez les sujets coronariens est augmentée lors des efforts fournis au travail par rapport au repos. Ce qui est conforme avec les données de la littérature. M. INOUE, T. FUJIMURA [17] en 2003. Afin de déterminer la variabilité des paramètres hémodynamiques pendant le travail, ils ont comparé la fréquence cardiaque, la pression artérielle de 12 travailleurs dans une usine de pâtes à papier. Six travailleurs ont été sélectionnés à partir de la section de fabrication du papier (groupe 1) et six travailleurs de la section des produits chimiques (groupe 2). La fréquence cardiaque moyenne pendant le travail était significativement plus élevée pendant le travail que pendant le repos dans les deux groupes, à savoir pour le groupe 1 (FCM pendant le travail : 85.8 b/m tandis que la FCM au repos 75.3 b/m) et groupe2 (FCM pendant le travail 87,9 b/m, alors que la FCM au repos est de 83,1 b/m). Il en est de même pour une diminution non significative en valeur de la tension artérielle systolique mais entre le groupe 1 par rapport à celui du groupe 2[24].

De même pour le travail de T. Vrijkotte et L .Doornen en 2000 avec 109 participants (âge : $47,2 \pm 5,3$ ans) qui ont été suivis sur deux journées pour la pression artérielle, le rythme cardiaque et la variabilité du rythme cardiaque.

Dans une autre étude faite par K.Karlsson, P. Niemelä en 2010 dans le but d'examiner si le travail dans une ambulance professionnelle génère une excitation physiologique prolongée qui peut être mesurée par la fréquence cardiaque dans différentes situations. Vingt participants ont effectué une impulsimétrie sous la forme d'une montre-bracelet, mesurée en continu et stockés leur rythme cardiaque 24 heures par jour pour une période de sept jours. L'analyse des données de l'étude ont indiqué une augmentation significative de la fréquence cardiaque .Cette augmentation du rythme cardiaque a été remarqué pendant toute la mission et il n'était pas liée à la durée de l'expérience du personnel. En outre, une tendance non significative a suggéré que les alarmes impliquant profondément les enfants malades conduit à une augmentation encore plus élevée de la fréquence cardiaque.

-Nous avons également retenu le coût cardiaque relatif au 99^{ème} percentile (CCR99) qui correspond à une appréciation de la pénibilité professionnelle de crête ; ce qui correspond au niveau de Fc dépassé pendant 1% du temps de travail et qui correspond à des activités lourdes

ou très lourdes chez les sujets coronariens après la reprise du travail. L'analyse du CCR99 chez nos sujets coronariens est de 39.80%.

On s'est trouvé souvent devant des profils type I (CCR<20 et CCR99<50), qui correspond à des activités dont le type de pénibilité chez ces sujets coronariens qui ont repris le travail est de type acceptable.

VI-Conclusion :

Cette étude menée sur un échantillon des coronariens qui ont repris leurs activités professionnelles dans différents secteurs d'activité a révélé des effets indépendants des exigences du travail physique et psychosocial sur la pénibilité au travail mais elle montre qu'il est possible pour la majorité de ces sujets, de pouvoir accéder à un niveau d'activité physique minimal, voire modéré. Le développement d'aptitudes aérobies (tolérance à l'effort) grâce à des programmes individualisés devrait être proposé, permettant ainsi l'entretien de la santé et de l'autonomie domestique.

Par ailleurs, dans une perspective de recherche, il serait intéressant de compléter ce travail sur les indices hémodynamiques comme prédicteurs de pénibilité au travail dans le cadre une étude longitudinale et grâce au matériel que nous venons d'acquérir.

Ces résultats soulignent la nécessité d'une prise de conscience accrue de ces facteurs de risque au travail et de l'importance particulière des travailleurs coronariens lors de la réinsertion professionnelle.

« Une reprise rapide est aussi importante pour le patient et l'estime de soi, que pour l'entreprise et les assurances, publiques ou privées. »

La prévention primaire doit constituer l'une des priorités de l'activité du médecin au sein de l'entreprise par :

- Le dépistage des sujets à risque de pathologie coronarienne,
- La prévention du stress professionnel,
- L'éducation sanitaire orientée vers la lutte contre les autres facteurs de risque tels que l'hypercholestérolémie, le tabagisme (passif et actif), le bruit et la sédentarité.

Bibliographie :

1. Jung-Jung Chang, Chi-Ming Chu, Po-Chang Wang, Yu-Sheng Lin, Kuo-Li Pan, Shih-Jung Jang, Shih-Tai Chang. **Differences in Prevalence and Severity of Coronary Artery Disease by Three Metabolic Syndrome Definitions. Canadian Journal of Cardiology , Volume 28, Issue 2, March–April 2012, Pages 208–214.**
2. Puttonen S, Viitasalo K, Härmä **The relationship between current and former shift work and the metabolic syndrome. Scand J Work Environ Health ; 38(4):343-348, 2012.**
3. Hélène Bazex
[Les facteurs et les effets du stress chez les juges des enfants](#), **Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique, Volume 170, Pages 127-131, Issue 2, March 2012.**

4. [Wehrens SMT](#), [Hampton SM](#), [Skene DJ](#)
Heart rate variability and endothelial function after sleep deprivation and recovery sleep among male shift and non-shift workers .*Scand J Work Environ Health* ; [38\(2\)](#):171-181, 2012 .
5. Leah K. Bauer, MD, Mario A. Caro, Scott R.
Effects of Depression and Anxiety Improvement on Adherence to Medication and Health Behaviors in Recently Hospitalized Cardiac Patients .*The American Journal of Cardiology*, [Volume 109, Issue 9](#), Pages 1266–1271, 1 May 2012.
6. [Järholm B](#)
How should methods for return to work be evaluated ? *Scand J Work Environ Health* ; [38\(2\)](#):89-91, 2012.
7. Telle-Lamberton M., LE Barbier M., Bensefa -Colas L., Faye S., et coll. **Pathologies recensées par le réseau national de vigilance et de prévention des pathologies professionnelles entre 2001 et 2009 (RNV3P)**. Document pour le médecin du travail N°129, 1^{er} trimestre 2012.
8. Robert J. Mentz, Mona Fiuzat, PharmD, Linda K. Shaw, MS, Harry R. **Comparison of Clinical Characteristics and Long-Term Outcomes of Patients With Ischemic Cardiomyopathy With Versus Without Angina Pectoris (from the Duke Databank for Cardiovascular Disease)**. *The American Journal of Cardiology*, ScienceDirect, [Volume 109, Issue 9](#), Pages 1272–1277, 1 May 2012.
9. Rosemarie M. Bowler, Matthew Harris, Jiehui Li , Vihra Gocheva, Steven D. **Longitudinal mental health impact among police responders to the 9/11 terrorist attack**. *American Journal of Industrial Medicine*, [Volume 55, Issue 4](#), pages 297–312, April 2012.
10. John M. Violanti, Desta Fekedulegn, Michael E. Andrew, Luenda E. Charles, Tara A. Hartley, Bryan Vila and Cecil M. Burchfiel. **Shift work and the incidence of injury among police officers**. *American Journal of Industrial Medicine*, [Volume 55, Issue 3](#), pages 217–227, March 2012.
11. Weixian Xu, Juan Hang , Lijun Guo , Yiming Zhao, Zhaoping Li **Plasma fibrinogen: A possible link between job stress and cardiovascular disease among Chinese workers** *American Journal of Industrial Medicine*, [Volume 55, Issue 2](#), P: 167–175, February 2012.
12. Kerem Shuval, PhD, Carolyn E. Barlow, Karen G. Chartier, Kelley Pettee Gabriel **Cardiorespiratory Fitness, Alcohol, and Mortality in Men: The Cooper Center Longitudinal Study**. *American Journal of Preventive Medicine*, [Volume 42, Issue 5](#), May 2012, Pages 460–467.
13. Mathieu Gayda, Martial G. Bourassa, Jean-Claude Tardif, Annik Fortie, Martin Juneau, Anil Nigam. **Heart Rate Recovery After Exercise and Long-term Prognosis in Patients With Coronary Artery Disease**. *Canadian Journal of Cardiology*, [Volume 28, Issue 2](#), March–April 2012, Pages 201–207.
14. Severine Sabia, Aline Dugravot, Mika Kivimaki, Eric Brunner, Martin J. Shipley, and Archana Singh-Manoux. **Effect of Intensity and Type of Physical Activity on Mortality: Results From the Whitehall II Cohort Study**. *American Journal of Public Health*, [Vol 102, No. 4](#). April 2012.

15. Witschger.O, LE Bihan.O, Reynier .M, **Préconisations en matière de caractérisation des potentiels d'émission et d'exposition professionnelle aux aérosols lors d'opérations mettant en œuvres des nanomatériaux.** INRS, 1^{er} trimestre 2012, 226-55
16. Chamoux A., J.P Houppe, B. Pierre. **Cœur et travail ou comment concilier maladie cardiaque et activité professionnelle.** Edition Frisson Roche , mai 2012.
17. Dutheil F., Boudet G. **Utilisation de la variabilité sinusale pour le repérage, de situations professionnelles stressantes chez des médecins urgentistes.** Edit ELSEVIER MASSON, Archives des maladies professionnelles et de l'environnement vol 73, Juin 2012.
18. K. Rouffiac G. Boudet. **Détection des sujets à haut risque cardiovasculaire :bilan de sept années de dépistage actif et stratégie d'actions en milieu de travail.** Edit ELSEVIER MASSON, Archives des maladies professionnelles et de l'environnement vol 73, Pages 339-43, Juin 2012.
19. Pierre B. **la baisse spectaculaire de la morbi-mortalité cardiovasculaire depuis 30ans : le rôle essentiel de la prévention primaire et de l'implication du médecin du travail.** Edit ELSEVIER MASSON, Archives des maladies professionnelles et de l'environnement vol 73, Pages 349- 350, Juin 2012.
20. Agrossa Boiteux M C. **Reprise du travail après accident cardiaque,** Edit ELSEVIER MASSON, Archives des maladies professionnelles et de l'environnement vol 73, Pages 351-53, Juin 2012.

21. Chamoux A., Malaville Y.
Pathologies cardiovasculaires professionnelles. Edit Elsevier Masson SAS. 16-531-A-10, 2011
22. Aboa-Éboulé C. , C. Brisson, E. Maunsell, R. Bourbonnais, M. Vézina, A. Milot.**Effort-Reward Imbalance at Work and Recurrent Coronary Heart Disease Events : A 4-Year Prospective Study of Post-Myocardial Infarction Patients.** American Heart Journal, 2011
23. François A., D.Waltisperger, S.Fanello. **Exposition aux contraintes psychosociales en milieu de travail : résultats de l'enquête Sumer 2003 dans les pays de la Loire.** Archives des maladies professionnelles, Septembre 2011.
24. Gaudemaris R., T. Lang. **Hypertension artérielle et travail.** La Revue du Praticien, Médecine générale, vol. 25, n°860, pp.340-341-2011

25. Yolande Esquirol, Bertrand Perret, Jean,Bernard Ruidavetse, Jean Claude Marquie, Eloi, Dienneh, Michel Niezborala, Jean Ferrieres
Shift work and cardiovascular risk factors: New knowledge from the past decade. Elsevier Masson, Archives of Cardiovascular Disease 104, 636- 68-2011.
26. Eloi Diène, Aurélie Fouquet, Yolande Esquirol. **Cardiovascular diseases and psychosocial factors at work.**Elsevier Masson, Archives of Cardiovascular Disease - October 2011

« Annexe »

Tableau 01 : Distribution des caractéristiques générales de la population d'étude.

Variables	Population d'étude
-----------	--------------------

	N=63
Age (ans) :	51.1 (± 8.48) [Min : 22 - max : 68]
Classe d'âge (ans) :	
• < 45	13(20.6 %)
• > 45	50(79.4 %)
Sexe :	
• Masculin	60 (95.2%)
• Féminin	3 (4.8%)
Statut matrimonial :	
• Marié	58 (92.1%)
• Célibataire	4 (6.3%)
• Divorcé / Veuf	1 (1.6%)
Niveau d'instruction :	
• Analphabète	8 (12.7%)
• Primaire	17 (27%)
• Moyen	14 (22.2%)
• Secondaire	13 (20.6%)
• Universitaire	11 (17.5%)
IMC (Kg /m ²) :	26.29 (± 4.34) [Min : 19.38 - max : 39.38]
Classes IMC (Kg /m ²) :	
• <25	28 (44.4%)
• 25 ≤ IMC <30	21 (33.3%)
• ≥ 30	14 (22.2%)

Tableau 02: les antécédents médicaux personnels de la population d'étude.

Variables	Population d'étude N=63
ATCDS PERSONNELS :	
• Diabète (+)	29 (46%)
• Dyslipidémie (+)	52 (82%)
• Cardiopathie (+)	

• HTA (+)	13 (20.6%)
• Maladies gastriques (+) :	34 (54%)
• Ulcère gastrique (+)	7 (11.1%)
• Gastrite (+)	2 (3.2%)
• Maladies dermatologiques (+) :	4 (6.3%)
• Psoriasis (+)	3 (4.8%)
• Maladies néoplasiques (+):	2 (3.2%)
• Néo du sein (+)	1 (1.6%)
• Goitre thyroïdien (+)	1(1.6%)
• TMS (+)	1(1.6%)
• Maladies respiratoires (+)	7 (11.1%)
	2 (3.1%)

Tableau 03: Répartition des principales habitudes de vie de la population.

Variables	Population d'étude N=63
Tabac :	
• Non fumeur	51(81%)
• Ex fumeur	6 (9.5%)
• Fumeur	6 (9.5%)
Nombre de cig /j :	04±9.42
• <10	52 (82.6%)
• 10 à 20	7 (11.1%)
• >20	4 (6.4%)

Tabac passif : <ul style="list-style-type: none">• Poste de travail	46(73%)
Alcool : <ul style="list-style-type: none">• Non buveur• Ex-buveur• Buveur	51 (81%) 11 (17.5%) 1 (1.6%)
Activité sportive : <ul style="list-style-type: none">• Jamais• Régulière	55 (87.30%) 8 (12.69%)
Moyen de transport : <ul style="list-style-type: none">• Véhicule• Bus-taxi• A pied	23 (36.5%) 18 (28.6%) 22 (34.9%)

MATHEMATICAL MODELING OF HTA, HTP AND ARRHYTHMIA IN THE CARDIOVASCULAR SYSTEM

LARIBI.B¹, SAHMADI.B¹, AIT AMRANE¹

¹Univewrsité de Khemis Milian, FIMA Laboratory
Route de Theniet El Had, 44225, Khemis Miliana

Code: 19/ANDRS/2011

Introduction

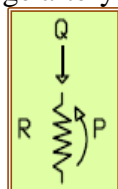
Mathematical modeling applied in the health has become an indispensable tool for practitioners. Indeed, many models are developed by researchers to analyze the health status of a patient before surgery. Several studies were made both in the treatment of aneurysms, James (2006), Alessandro and al (2006), the distribution of shear stress along the arteries, John and al, and other diseases of the cardiovascular system. Also several mathematical models have been developed with reference to an electrical analogy thus treating aneurysms and stenosis, Karman and al (2007). We can also cite studies numerical and experimental diagnostics of hemodynamic in coronary artery stenosis reached, Rupak (2008), Sandor and al (2004). Further simulations were made for predicting the effects of flow rate and the size of the vessels in the treatment of hyperthermia, Huang and al (2010).

Our paper presents a mathematical model of three conditions leading to a high mortality rate in the world. The model allows identifying a patient with hypertension, pulmonary hypertension and cardiac arrhythmia. The model used is obtained from an electrical analogy of the cardiovascular system. The results are validated with those obtained in the literature and good agreement is obtained. The results presented in this paper clearly show the three diseases by comparing the aortic pressure of a healthy patient with the three cases cited.

Method

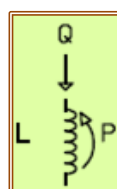
George and al (2008) compare the heart to pump and the arterial system to a closed hydraulic circuit, consisting of a tube and a resistor. The air chamber is the walls of the aorta and large elastic arteries and resistance represents the losses that occur in peripheral vessels. This model highlights the fact that the walls store energy during the ejection phase, due to the high systolic pressure, and they restore this energy retracts during diastole phase, which will allow the blood flow to continue to grow.

Using an electrical analogy to describe this kind of model, blood flow is represented by an electric current, the pressure drop by a potential difference, the dissipative effects related to the viscosity of the blood by a resistor, and the elasticity of the walls by a capacitor. The simplest model becomes: a resistor, modelling the smaller arteries, and a capacitor connected in parallel, modelling the large artery elasticity.



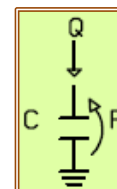
(a) Resistance

$$P = R \cdot Q$$



(b) Inductance

$$P = L \cdot dQ/dt$$



(c) Compliance

$$Q = C \cdot dP/dt$$

Figure 1. Basic Element and its equation of Model

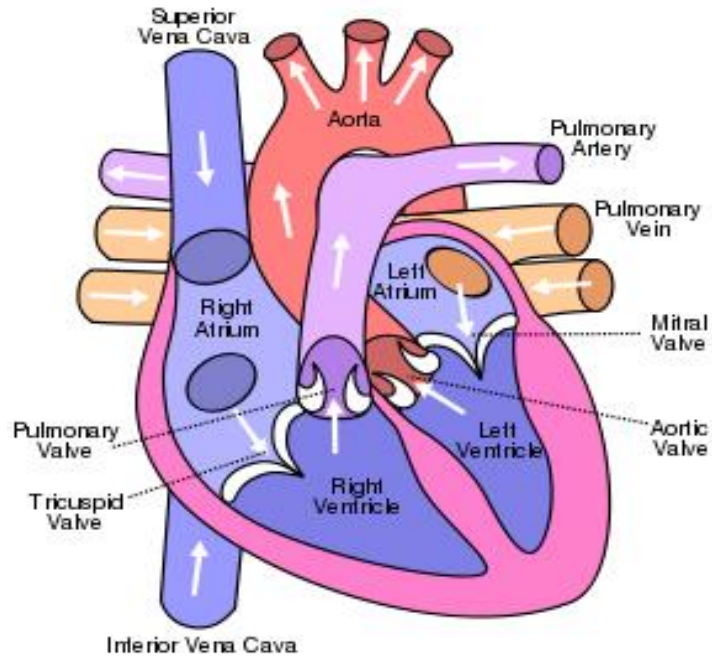


Figure 2. Heart components

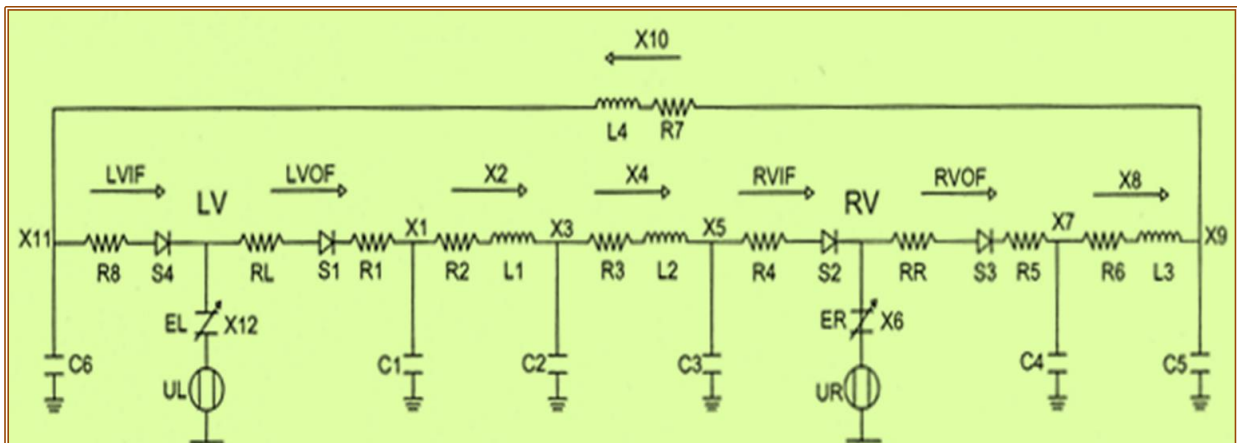


Figure 3. Electrical analogy model for cardiovascular system simulation

The basic equations are obtained from the equivalent equations of continuity and pressure drop. The electrical analogy is obtained from the Ohm laws as follow. The Runge-Kutta 4th order is used for the resolution of the system equations.

	Systemic circulation	Pulmonary circulation
Pressure loss between Two nodes	$C_1 dX_1 = \frac{S_1 - Z_1}{R_L + R_1} - X_2$ $C_2 dX_3 = X_2 - X_4$ $X_4 dX_5 = X_4 - \frac{S_2 Z_2}{R_4}$	$C_4 dX_7 = \frac{S_3 Z_3}{R_R + R_5} - X_8$ $C_5 dX_9 = X_8 - X_{10}$ $C_6 dX_{11} = X_{10} - \frac{S_4 Z_4}{R_8}$
Equilibrium of flow rates in the nodes	$L_1 dX_2 = X_1 - R_2 X_2 - X_3$ $L_2 dX_4 = X_3 - R_3 X_4 - X_5$	$L_3 dX_8 = X_7 - R_6 X_8 - X_9$ $L_4 dX_{10} = X_9 - R_7 X_{10} - X_{11}$

	Left ventricle	Right ventricle
Flow rate equilibrium	$dX_{12} = \frac{S_4 Z_4}{R_8} - \frac{Z_1}{R_L + R_1}$	$dX_6 = \frac{S_2 Z_2}{R_4} - \frac{Z_3}{R_R + R_5}$

Results and discussion

The value of the average rate on a cycle is around 120 cm³/s, which corresponds to the values found in the literature, Avanzolini and al (1988). For the inlet flow rate, same figures, it reaches a peak at the time when the valves are opened, ie, as soon as the diastolic phase begins. The peak is more pronounced for the left ventricle corresponding to high pressure for the systemic circulation. Figure 4.

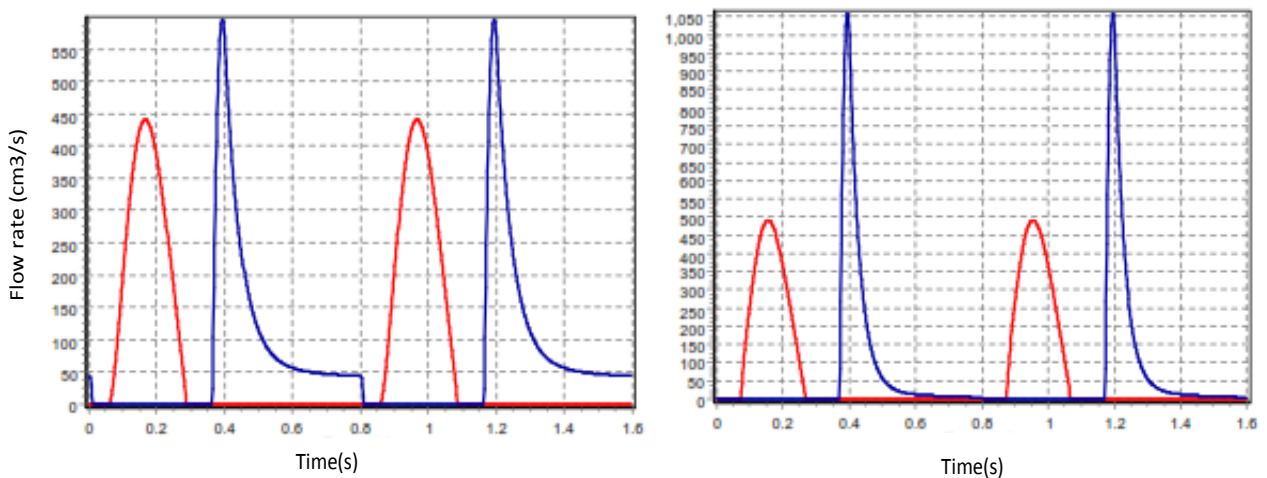


Figure 4. Flow rate for Right and Left Ventricles

Figure 5 shows the aorta pressure pour a healthy adult where the pressures are about 112 and 68 mmHg respectively for systolic and diastolic phases.

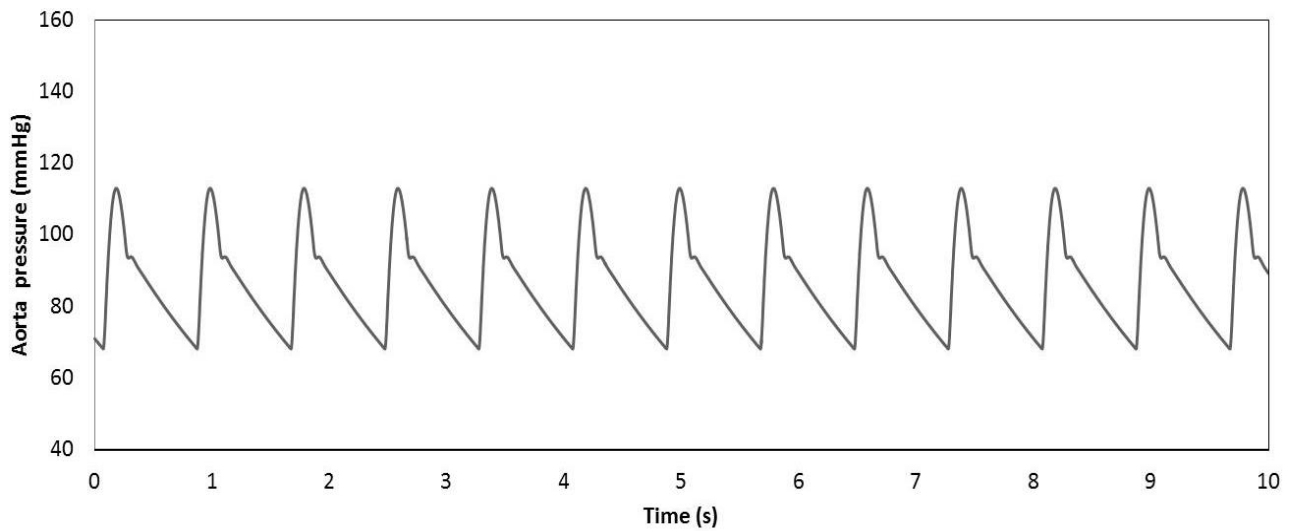


Figure 5. Aorta pressure for healthy adult

Figure 6 shows a patient who suffers from HTA, where the aorta pressure is about 152.5 and 125 mmHg respectively in systolic and diastolic phases.

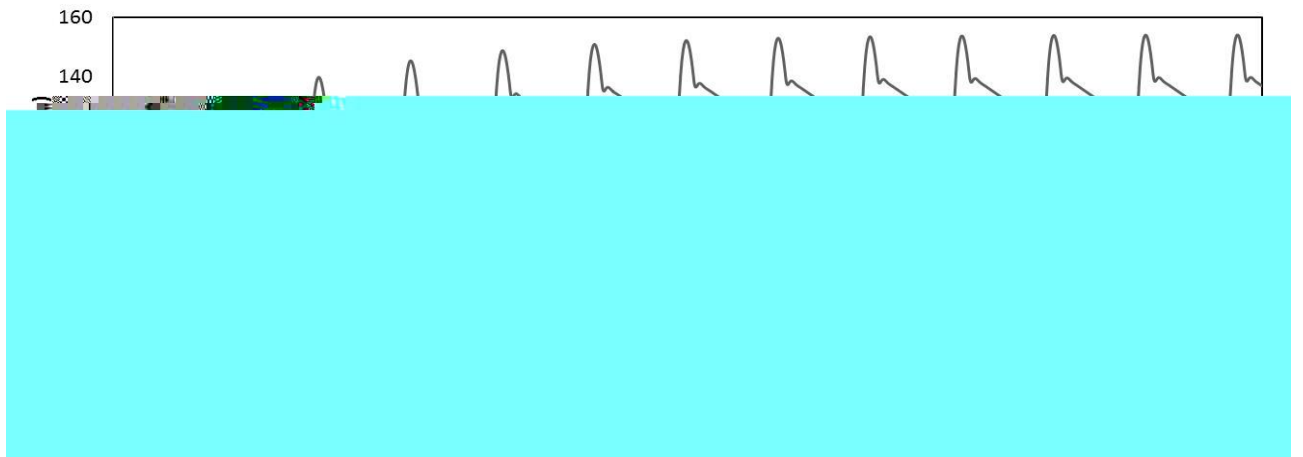


Figure 6. Aorta pressure for patient suffer from HTA

Figure 7 shows a patient who suffers from HTP, where the aorta pressure is about 96 and 50 mmHg respectively in systolic and diastolic phases.

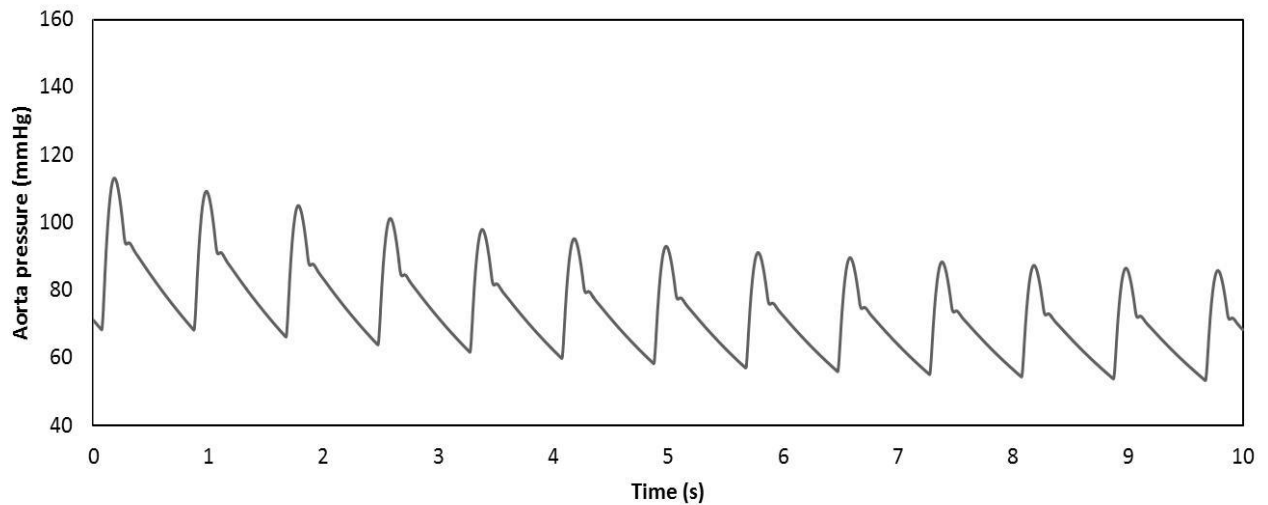


Figure 7. Aorta pressure for patient suffer from HTP

Figure 8 Shows a patient who suffers from arrhythmia, where the aorta pressure for three periods with four cycles each were recorded four cycles is about 90 and 36 mmHg respectively in systolic and diastolic phases.

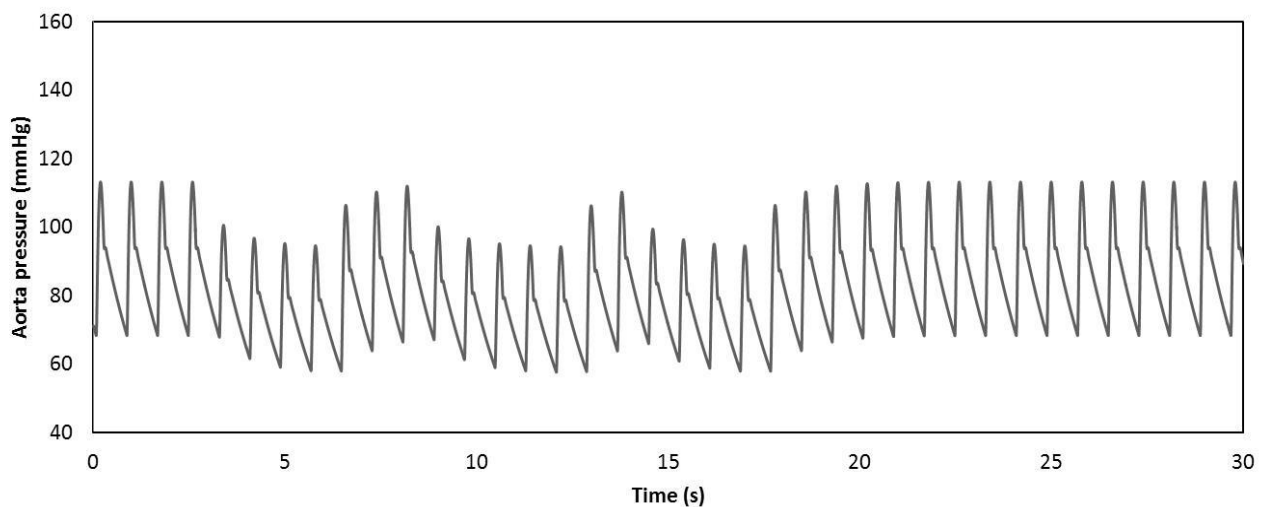


Figure 8. Aorta pressure for patient suffer from arrhythmia

This perturbation in pressure can cause a major disorder in the functioning of the vascular system and causing death.

Conclusion

The value of the average rate on Mathematical model with graphical user interface for the simulation of the cardiovascular system is developed. The 0D model developed is based on an electrical analogy of the Windkessel model. It can simulate the cardiovascular system with components such as the heart with valves and vessels. The results were validated by simulation of the cardiovascular system with results obtained from a healthy men and the simulation for a patient with hypertension, pulmonary hypertension and arrhythmia.

The results were very close to the reality with those appearing for a healthy patient.

References :

Alessandro Borghi, Nigel B Wood, Raad H Mohiaddin and X Yun Xu, 2006, 3D geometric reconstruction of thoracic aortic aneurysms. *BioMedical Engineering OnLine*. doi:10.1186/1475-925X-5-59. <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/5/1/59>

Avanzolini G, Barbini P, Cappello A, Cevenini G., CADCS simulation of the closed-loop cardiovascular system. *J. Biomed Comput*, 22(1988) 39-49. *Elsivier Scientific Publishers Ireland Ltd.*

George Stouffer. 2008, Cardiovascular Hemodynamics for the Clinician. *Edition 1. Blackwell publishing.*

Huang-Wen Huang, Tzu-Ching Shih, Chihng-Tsung Liauh, 2010, Predicting effects of blood flow rate and size of vessels in a vasculature on hyperthermia treatments using computer simulation. *BioMedical Engineering OnLine*. <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/9/1/18>

James H Leung, Andrew R Wright, Nick Cheshire, Jeremy Crane, Simon A Thom, Alun D Hughes and Yun Xu, 2006, Fluid structure interaction of patient specific abdominal aortic aneurysms: a comparison with solid stress models. *BioMedical Engineering OnLine*. doi:10.1186/1475-925X-5-33. <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/5/1/33>.

Kamran Hassani, Mahdi Navidbakhsh and Mostafa Rostami, 2007, Modeling of the aorta artery aneurysms and renal artery stenosis using cardiovascular electronic system. *BioMedical Engineering OnLine* . doi:10.1186/1475-925X-6-22<http://www.biomedical-engineering-online.com/content/6/1/22>

Rupak K Banerjee, Koustubh D Ashtekar, Tarek A Helmy, Mohamed A Effat, Lloyd H Back and Saeb F Khoury, 2008, Hemodynamic diagnostics of epicardial coronary stenoses: *in-vitro* experimental and computational study. *BioMedical Engineering OnLine*. doi:10.1186/1475-925X-7-24. <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/7/1/24>

Sandor Ianos Bernad, Romeo Susan-Resiga, Elena Bernad, Dan Gaita, Gheorghe I. Mihalas, Ioan Munteanu, 2004, Computerized study of the blood flow in arterial stenosis. *TMJ*, Vol. 54, No2.

EVALUATION DE LA SENSIBILITE DE LEISHMANIA MAJOR A LA N METHYL GLUCAMINE (GLUCANTIME) EN ALGERIE.

HARRAT.Z¹, EDDAIKRA.N¹, BOUDRISSA.A¹, KHERACHI.I¹, BENBETKA.S¹,

BOUIBA.L¹, MEKADEMI.S², ARAB.A³, RAHALI.S³, BAROUCHE.O³.

(1)- Service d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations. Institut Pasteur d'Algérie.

(2) Département de Biologie. Université Saad Dahleb. Blida

(3) Département de Biologie. USTHB. Alger

Code: contrat n°8/ANDRS/2011

Résumé.

Les Leishmanioses représentent une cause importante de morbidité et de mortalité dans plus de 88 pays à travers le monde. En l'absence de vaccin, le seul moyen possible pour la prise en charge de ces affections est l'utilisation de médicaments. L'antimoine pentavalent, comme la N-méthyl (Glucantime®) est le médicament de première ligne pour traiter les leishmanioses en Algérie et dans beaucoup de pays endémiques. Cependant, la résistance de Leishmania aux dérivés de l'antimoine continue à émerger dans différents foyers dans le monde. En Algérie, l'échec au traitement a été rapporté dans le passé et beaucoup de praticiens continuent de signaler une non-réponse au traitement chez les patients. L'objectif principal de l'étude est d'évaluer la sensibilité à antimoine de Leishmania major, agent de la leishmaniose cutanée, in vitro et in vivo, et d'étudier le comportement des souches sensibles et résistantes in vivo chez la souris Balb / C.

Dans cette étude, nous avons évalué la sensibilité de 35 isolats de L major obtenus à partir des lésions actives chez patients atteints de leishmaniose cutanée et gerbilles sauvages de différents foyers endémiques.

Test de sensibilité in vitro forme amastigotes : les cellules THP1 sont maintenues dans du milieu RPMI à 37 ° C, dans un incubateur à CO₂ à 5 % et 95 % d'humidité relative. Les lames sont incubées dans des chambres de culture cellulaire de type LabTek . Les parasites ont été ajoutés à des cellules THP1 activés avec rapport de 10 cellule parasites/ 1 cellule THP1. Après 24 h, l'antimoniote de méglumine (Glucantime®) à des concentrations de 0 , 7.5 , 15, 30, 45 et 60 µg / ml a été ajouté aux cultures. De nouvelles préparations de Glucantime® sont rajoutées après 48 h d'incubation, puis le milieu est éliminé, les lames lavées, et colorées avec une solution Giemsa . La dose létale 50% (DL50) est déterminée comme la concentration Glucantime® qui réduit la survie des cellules de Leishmania par moitié . Les isolats cliniques avec une DL50 > 45 µg/ml sont considérés comme résistants.

La virulence du parasite a été déterminée par le phénotype exprimé in vivo chez des souris Balb / C infectées expérimentalement par une souche sensible et une autre résistante. Les caractéristiques cliniques associées à la virulence sont: inflammation, induration, diamètre des lésions et la charge parasitaire. Le taux de NO a été déterminé in vivo et in vitro après l'administration de Glucantime®.

Nos résultats ont montré que la résistance à l'antimoine a été trouvé dans 40% des 20 isolats testés, parmi lesquels, une souche isolées de l'hôte réservoir Psammomys obesus. À notre connaissance, c'est le premier rapport de la résistance naturelle primaire observée chez les rongeurs sauvages. Nous avons observé une concordance de la virulence du parasite avec des niveaux de sensibilité des souches, la charge parasitaire et la production de NO dans les macrophages.

Le traitement des leishmanioses par les dérivés stibiés est remis en question du fait de l'émergence croissante des souches résistantes, de la toxicité des médicaments antimoniés et, de la durée assez long du traitement. Nos résultats confirment ce qui est observé sur le terrain et démontrent que, la virulence de la souche résistante est liée à sa charge parasitaire et à la production du NO dans les macrophages parasités. Nos résultats concordent avec ceux rapportés par plusieurs auteurs dans ce domaine.

L'exploration de la réponse immunitaire associée à la cette résistance aux antimoniés permettrait une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans ce phénomène et la sélection de molécules d'intérêt vaccinal.

Mots clés : *Leishmania major*, Résistance, virulence , N-methylglucamine. Algérie

INTRODUCTION

Les leishmanioses cutanées à *L. major* regroupent elles seules la quasi-totalité des cas des leishmanioses algériennes (Harrat et al,1995) (Harrat et al,1996). Ces zoonoses ont connu un regain d'intérêt au début des années quatre vingt, suite à l'épidémie survenue à M'sila et qui a affecté plus de 8000 cas en deux ans (Belazzoug, 1982). La prise en charge des leishmanioses comporte entre autres, le traitement curatif des cas diagnostiqués, et la prophylaxie. Le traitement curatif comprend les médications classiques représentées principalement par les dérivés de l'antimoine qui constituent la première ligne de traitement et seuls médicaments utilisés dans notre pays. Cependant la non réponse à ces dérivés chez les patients atteints de leishmaniose cutanée a déjà été rapportée dans le passé (Belazzoug et Neal , 1986). Par ailleurs, certains auteurs ont signalé l'émergence aussi bien de souches cutanées et viscérales résistante au Glucantime®, (Hadighi R et al., 2006 ; Sundar et al., 2000 ; Faraut-Gambarelli et al., 1997). Pour évaluer l'activité leishmanicide des drogues utilisées, des tests variés peuvent être effectués. Certains auteurs utilisent des formes promastigotes des *Leishmania*, d'autres, des formes amastigotes (Berman & Wyler , 1980). Le model d'étude de la sensibilité des souches de leishmania in vitro avec les formes intracellulaires (amastigotes), utilisant les cellules Thp1 est plus adaptée à l'analyse de la sensibilité, comparée à celle utilisant les formes promastigotes en milieu liquide, car elle est plus proche des phénomènes qui se produisent au cours de l'infestation de l'hôte (Grogue M, 1989). Elle présente l'intérêt d'étudier l'action du Glucantime® sur les formes amastigotes du parasite car pour être efficace le Glucantime® doit agir sur les formes intracellulaires.

La résistance aux médicaments est l'un des problèmes les plus redoutés dans le contrôle des maladies infectieuses. Dans le cas de la leishmaniose, il constitue un problème sérieux dans beaucoup de zones d'endémie (Murray et al , 2005). Pour cette raison l'étude de la résistance à l'antimoine chez *Leishmania* fait partie des priorités de l'OMS (Ouellette, 2003).

Il a été démontré que chez les parasites résistants à l'antimoine, il existe des mécanismes de résistance, on cite par exemple : L'immunosuppression, la susceptibilité individuelle au traitement, le nombre de cures etc.. (Croft SL, 2001), (Ouellette et, 2004)

Le traitement des leishmanioses reste difficile, en raison d'une part de la multiplicité des espèces de *Leishmania*, et d'autre part du nombre restreint de produits disponibles qui sont en plus toxiques et coûteux. Des espoirs sont aujourd'hui placés dans l'Aminosidine sulfate (Paromomycine) sous forme pommade, qui semble très efficace sur *Leishmania major*, mais elle n'est pas encore disponible sur le marché (Bensalah A et al 2013). Cette drogue pourrait à terme représenter un traitement peu coûteux pour de nombreux pays en voie de développement. Reste cependant à évaluer l'ampleur du phénomène de résistance aux drogues usuelles et connaître l'importance des souches émergentes résistantes au Glucantime, c'est ce que nous proposons d'étudier à travers ce travail.

MATERIELS ET METHODES

MATERIEL

Les souches : 35 souches de *Leishmania major*, 31 isolées chez des patients présentant des lésions cutanées actives et 04 isolées de rongeurs réservoir, conservées dans la banque de souches dans notre laboratoire ont été analysées par le test de sensibilité *in vitro* au Glucantime®. Afin de d'établir le phénotype externe et interne de la sensibilité et de la résistance au Glucantime®, nous avons étudié l'infection de 2 souches *in vivo* chez la souris Balb/c (lipa 100 et lipa 175). Par ailleurs, la sensibilité à l'antimoine pentavalent et trivalent de 3 souches isolées de malades avant et après traitement ont été aussi étudiées *in vivo* et *in vitro*. Les cellules THP1 : Il s'agit d'une lignée cellulaire dérivée des monocytes du sang humain obtenus d'une leucémie aigue monocyttaire, fournies par NIBSC, Centre of the Health Protection Agency UK. Elles sont entretenues au laboratoire par des repiquages tous les 4 jours dans du milieu RPMI1640 avec 10% de SVF + peni-Strepto à 37°C, humidité 95% et 5% de CO₂

Souris Balb / C : sont issues de l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Algérie. 200 souris femelles non pleines, âgées de 6 semaines avec un poids moyen de 18 g ont été utilisées.

Drogues : meglumine antimoniate (Aventis, France), et Arsenic trivalent (SbIII) Sigma obtenu gracieusement de l'IRD.

METHODES

Test de sensibilité *in vitro* des amastigotes au N methyl Glucamine(Glucantime®) : Le protocole utilisé est celui décrit par Faraut-Gambarelli (Faraut-Gambarelli et al, 1997). Il fait appel à une technique de culture cellulaire basée sur la propriété d'adhérence des cellules THP1 au verre. Les chambres de culture «Lab-Tek chamber slide" ont été utilisées. La suspension cellulaire (THP1) est déposée dans les cupules de la chambre de culture. Le Phorbol Myristate Acetate (PMA) (Sigma) est ajouté à raison de 16µl pour 10 ml de suspension cellulaire. On laisse incuber pendant 48 heures à 37°C en atmosphère contrôlée à 5% de CO₂. Les cellules subissent deux lavages successifs avec RPMI puis mises en contact pendant 24 heures à 37°C avec 0,5 ml de solution parasitaire à (4x10⁶ parasites/ml) par cupule, à raison d'un rapport de 10 leishmanies/cellule THP1 (10/1). Les promastigotes non phagocytés par les cellules sont soigneusement éliminés par deux lavages successifs au RPMI.

Après 24 heures de contact avec les parasites, la phagocytose des promastigotes est appréciée sur une lame témoin (témoin 24 heures), lavée une fois de plus puis colorée au Giemsa. La sensibilité ou la résistance des souches au Glucantime® est étudiée à partir d'une série de dilutions de ce médicament. Une lame est réservée au témoin sans glucantime (témoin 5 jours). Le Glucantime® a été ajouté à quatre concentrations (15, 30,45, et 60µg/ml). Les chambres de culture sont ensuite incubées pendant 48 heures. Après ce délai, du Glucantime frais, aux mêmes concentrations, est ajouté. Les lames sont incubées pendant 72 h supplémentaires. A la fin du test, les lames sont fixées et colorées au Giemsa. Pour chaque concentration de Glucantime®, le nombre des leishmanies survivantes dans 100 cellules Thp1, comparé au témoin cinq jours cultivés dans les mêmes conditions sans Glucantime® est déterminée par comptage au microscope photonique. Les résultats sont reportés sur une échelle semi-logarithmique pour extrapoler La DL50. La souche LEM 75 isolée d'un enfant et une souche sensible au Glucantime®, elle est utilisée comme témoin.

Test de sensibilité *in vitro* des promastigotes à l'antimoine trivalent : La suspension parasitaire ajustée à 2x10⁶ parasite/ml a été cultivée sur milieu RPMI 1640 + SVF 10% pendant 48 heures à 25°C, en présence de SbIII à des concentrations de 50, 25, 12,5 et 6,25 µg/ml sur une plaque de culture cellulaire de 96 puits. Chaque dilution a été réalisée en quadriplate. La révélation a été effectuée à l'aide du sel de Tetrazolium ou MTT (Sigma). Ce dernier met en évidence les parasites vivants après réduction en bleu de formazan détectable au

spectrophotomètre sous l'action de la succinate tetrazolium réductase présente dans la chaîne respiratoire mitochondriale des cellules métaboliquement active. Un volume de 10 µl de MTT à 10mg/ml, est ajouté dans chaque puits. Après une incubation à 37°C pendant 4 heures, 100 µl d'Isopropanol 50%-SDS 50% sont ajoutés, Les plaques sont incubées sous agitation pendant 30 min. Le mélange d'isopropanol-SDS confère aux protéines parasitaires une charge négative, qui permet une bonne lecture au spectrophotomètre à 550nm (Sereno et al., 1998).

Test de sensibilité in vivo chez la souris Balb/c de souches de référence sensible et résistante au Glucantime® : C'est une étude comparative de la sensibilité au Glucantime® d'une souche sensible à l'antimoine (LIPA 100) et d'une souche résistante (LIPA 175) chez la souris Balb/c. Le travail a été fait sur 5 lots de souris, chaque lot est composé de 25 souris femelles. Les souris distribuées en deux groupes ont été utilisées pour suivre l'infestation in vivo par la souche sensible et la souche résistante, et chaque groupe a été divisé en lots.

Une injection de 103 parasites métacycliques a été réalisée en intradermique pour la souche résistante LIPA 175/11 et sensible LIPA 100/09, au niveau du pavillon de l'oreille gauche des souris BALB/c. Pour l'ensemble des lots traités des infiltrations au Glucantime® à la dose thérapeutique de 20µg de SbV/g de poids, ont été faites à raison de 2 fois par semaine pendant 2 semaines, au niveau du site d'inoculation. Un suivi hebdomadaire de l'infestation des souris infectées (lot traité et non traité) ainsi le lot témoin a été effectué pendant 14 semaines à partir de l'infestation. Le monitoring a consisté en la pesée des animaux et la mesure des indurations (épaisseur de l'oreille), diamètre des rougeurs et des lésions à l'aide d'un pied à coulisse électronique. Pour déterminer la charge parasitaire dans les organes, nous avons utilisé la méthode de microtitration fondée sur la culture pour la quantification des parasites (Buffet et al, 1999). Pour le dosage du NO par la réaction de Griess, le plasma a été préparé à partir du sang prélevé par ponction intracardiaque, des souris anesthésiées avec l'éther. Le plasma a été ensuite conservé à -80°C pour le dosage de NO (Kharazi et al, 2003).

Test de sensibilité in vitro et in vivo de 3 souches isolées chez des malades avant et après traitement : Etude de la sensibilité in vivo et in vitro à l'antimoine de 3 souches de *Leishmania major* isolées avant et après traitement des patients.

Dans un premier temps, nous avons étudié la sensibilité à l'antimoine trivalent et pentavalent des formes promastigotes et amastigotes de ces souches.

Dans un deuxième temps, ces souches ont été inoculées en intradermique oreille, à des souris Balb/c. Un suivi hebdomadaire pendant 6 semaines du phénotype externe a été réalisé par la pesée des animaux et la mesure des indurations (épaisseur de l'oreille), diamètre des rougeurs et des lésions. Les animaux ont été sacrifiés à la sixième semaine pour le dosage du NO.

Etude statistique : Afin de déterminer la différence significative entre l'infectivité par la souche sensible LIPA 100/09 et la souche résistante à l'antimoine LIPA 175/11, avec et sans traitement, les données ont été analysées par une ANOVA à un facteur et par le test de Student. Toutes les analyses ont été faites sur Excel 2010.

RESULTATS

Résultats du test de sensibilité in vitro de la forme amastigote au Glucantime®

Au total 20 souches ont été testées à l'antimoine pentavalent (Glucantime®) : Seize souches décongelées isolées de patients atteints de leishmaniose cutanée et quatre souches isolées de rongeurs réservoir de la LC P obesus capturés à M'sila.

Parmi les souches humaines, neuf proviennent de M'sila, 03 souches de Biskra, 02 souches de Ouargla et enfin 02 souches de Barika (Batna) (tab 1).

Tableau 1 : Résultats obtenus par le test de sensibilité des amastigotes à l'antimoine pentavalent (SbV)

Code	Zymodème	Origine	DL ₅₀ (µg/ml)	Résultats in vitro
------	----------	---------	--------------------------	--------------------

LIPA 21 (Témoin Sensible)	<i>L.infantum</i> MON 1	Homme	21,86	Sensible
LIPA1051/99	<i>L. major</i> MON-25	Homme (Biskra)	89,33	Résistante
LIPA 1234	<i>L. major</i> MON-25	Homme (M'sila)	68 ,02	Résistante
LIPA 27/06	<i>L.major</i> MON 25	Homme (M'sila)	30,26	Sensible
LIPA29/06	<i>L. major</i> MON-25	Homme (Ouargla)	70,15	Résistante
LIPA31/06	<i>L. major</i> MON-25	Homme (Biskra)	63,04	Résistante
LIPA35/06	<i>L. major</i> MON-25	Homme(Biskra)	54,34	Résistante
LIPA 36/06	<i>L. major</i> MON-25	Homme (M'sila)	90,20	Résistante
LIPA96/09	<i>L.major</i> MON 25	Homme (Ouargla)	26,45	Sensible
LIPA 97/09	<i>L.major</i> MON 25	Homme (M'sila)	51,72	Résistante
LIPA 98/09	<i>L.major</i> MON 25	Homme (M'sila)	25,20	Sensible
LIPA100/09	<i>L.major</i> MON 25	Homme (M'sila)	20,44	Sensible
LIPA 102/09	<i>L.major</i> MON 25	Homme (M'sila)	44,42	Sensible
LIPA 104/09	<i>L.major</i> MON 25	Homme (M'sila)	20,21	Sensible
LIPA 128/09	<i>L. major</i> MON-25	Homme (M'sila)	33,40	Sensible
LIPA129/09	<i>L. major</i> MON-25	Homme (Batna)	29,55	Sensible
LIPA 130/09	<i>L. major</i> MON-25	Homme (Batna)	36,32	Sensible
LIPA 2019 /03	<i>L.major</i> MON 25	Rongeur <i>P. obesus</i>	35,72	Sensible
LIPA 2021/03	<i>L.major</i> MON 25	Rongeur <i>P. obesus</i>	22,14	Sensible
LIPA 2022/03	<i>L.major</i> MON 25	Rongeur <i>P. obesus</i>	22,43	Sensible
LIPA 32/06	<i>L.major</i> MON 25	Rongeur <i>P. obesus</i>	90,01	Résistante

Sur les vingt isolats analysés huit (40%) étaient résistants au Glucantime . Parmi les souches isolées de patients, 2 provenaient de malades immunodéprimés : la LIPA 29/06 (LC+HIV) et la LIPA 1051/99 provenant d'un sujet âgée présentant une LC diffuse ayant reçu 5 cures de Glucantime sans guérison. D'autres souches résistantes provenaient de patients ayant des lésions multiples (LIPA 31/06 et LIPA 35/06). La particularité de LIPA 1234 est la rechute du patient .Nos résultats ont aussi démontré pour la première fois une résistance naturelle de la souche isolé chez le rongeur (LIPA 32/06), et qui de plus est fortement infectante (Fig 2)

Forme promastigote : Sensibilité à l'Antimoine trivalent (SbIII)

Les résultats de la sensibilité à l'antimoine SbIII de 15 souches de *L. major* (tableau 3), ont montré que 5 souches se sont révélées résistantes, 7 souches ont eu une sensibilité intermédiaire, et seulement 3 souches étaient franchement sensibles.

Le test de sensibilité a révélé que la souche LIPA 100/09 était la plus sensible de tous les isolats testés à l'antimoine trivalent in vitro avec une IC50 de 10,76 μ g/ml, contrairement à la souche

LIPA 137/10 qui se présente comme la plus résistante au SbIII avec un IA (indexe d'activité) de 6,46 et une IC50 de 69,52 µg/ml. La souche LIPA 175/11 qui est résistante au SbV, a donné un profil résistant au SbIII.

Tableau 3 : Résultats obtenus par le test de sensibilité des promastigotes à l'antimoine Trivalent (SbIII)

Souche	IC ₅₀ (µg/ml)	coefficient de corrélation R ²	AI	
LIPA 100/09	10,76	0,869	1,00	S
LIPA 102/09	16,40	0,893	1,52	S
LIPA 103/09	19,47	0,897	1,81	S
LIPA 134/10	24,80	0,899	2,30	I
LIPA 99/09	25,64	0,876	2,38	I
LIPA 97/09	26,07	0,935	2,42	I
LIPA 104/09	29,20	0,959	2,71	I
LIPA 138/10	30,00	0,855	2,79	I
LIPA 96/09	30,42	0,963	2,83	I
LIPA 175/11	31,89	0,974	2,96	R
LIPA 135/09	34,14	0,936	3,17	R
LIPA 98/09	35,24	0,942	3,28	R
LIPA 32/06	39,35	0,941	3,66	R
LIPA 136/10	42,49	0,982	3,95	R
LIPA 137/10	69,52	0,923	6,46	R

Résultats de la Sensibilité de *L. major* à l'antimoine in vivo chez la souris Balb/c

Phénotype externe : Afin de mettre en évidence l'évaluation des inflammations et lésions au niveau du site d'inoculation par les deux souches de *L. major* (souche résistante LIPA 175/11 et sensible LIPA 100/09), les indurations, le diamètre des rougeurs, le diamètre des lésions ont été mesurés chaque semaine.

Les indurations. Le premier signe d'infestation par *L. major* inoculé dans les oreilles des souris BALB/c se manifeste sous forme d'indurations. On remarque l'apparition de ces dernières dès la 3ème semaine pour la souche résistante (LIPA 175/11). En revanche, les indurations de la souche sensible (LIPA 100/09), ne sont apparues que vers la quatrième semaine et étaient moins importantes (figure 1). On note également que le traitement n'a pas d'effet évident sur les indurations de la souche sensible entre S5 et S14. Les courbes d'indurations sont presque similaires. Le traitement réduit très significativement les indurations avec un risque de 1%. Le phénotype résistant au Glucantime® de la souche ressort en fin de traitement à S8, où les indurations sont pratiquement les mêmes entre les lots traités et non traités. Alors qu'à S9, il existe une différence significative entre les 2 lots, avec des indurations plus importantes pour le lot traité.

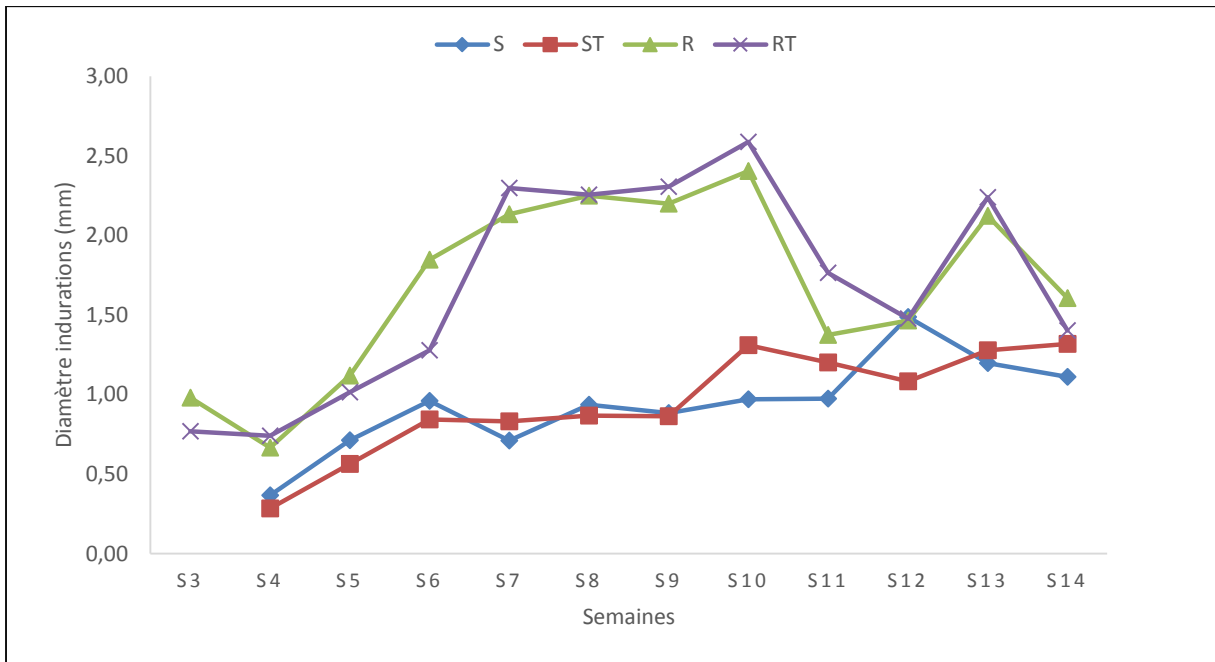


Figure 1 : Distribution des indurations du pavillon de l'oreille au site d'inoculation induites par *L. major* sensible et *L. major* résistantes avant traitement et après traitement par le Glucantime®, en fonction du temps. (S : souche sensible, ST souche sensible traitée, R : souche résistante, RT : souche résistante traitée)

Les lésions externes de l'oreille

Les lésions externes sont apparues en même temps que les rougeurs chez la souche résistante.. Tandis que celles de la souche sensible sont apparus plus tardivement à la cinquième semaine de l'infestation et elles ont une allure moins importante en comparaison avec la souche résistante (figure 2).

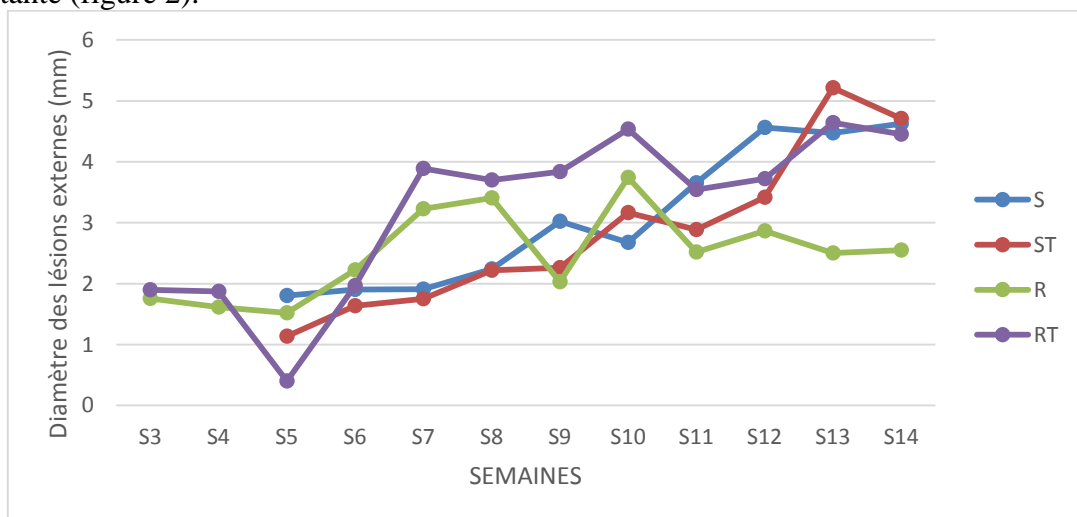


Figure 2 : Distribution des lésions externes du pavillon de l'oreille au site d'inoculation induites par *L. major* sensible et *L. major* résistantes avant et après traitement par le Glucantime®, en fonction du temps (S : sensible, ST sensible traitée, R : résistante, RT : résistante traitée)



Fig 3 : lésion sur l'oreille de souris BALB/c infectée par une souche L major résistante au Glucantime® apparue 4 semaines après inoculation.

Phénotype interne

Charges parasitaires au niveau du site d'inoculation

La charge parasitaire au niveau du site d'inoculation est présentée sous forme d'histogramme pour les deux souches sensible et résistante (figure 6). On remarque que cette charge est presque identique pour les deux souches avant le traitement à S4. Après traitement, la souche sensible à l'antimoine montre une légère diminution de la charge parasitaire qui débute à partir de la 8ème semaine et qui devient plus importante à S12. Cette baisse de la charge parasitaire est aussi observée pour la souche résistante avant et après traitement, mais toujours avec une augmentation de la charge parasitaire. Une comparaison statistique par le test de Student montre une différence très significative entre le lot infectés par la souche sensible et lot sensible traité à partir de S12 et jusqu'à S14. Le traitement semble plus efficace sur la charge parasitaire au niveau du site d'inoculation bien après la fin du traitement. Alors que pour la souche résistante une légère diminution de la charge parasitaire avec une différence significative est observée à S8 à la fin du traitement. Cette différence n'est pas significative à S12 (figure 4).

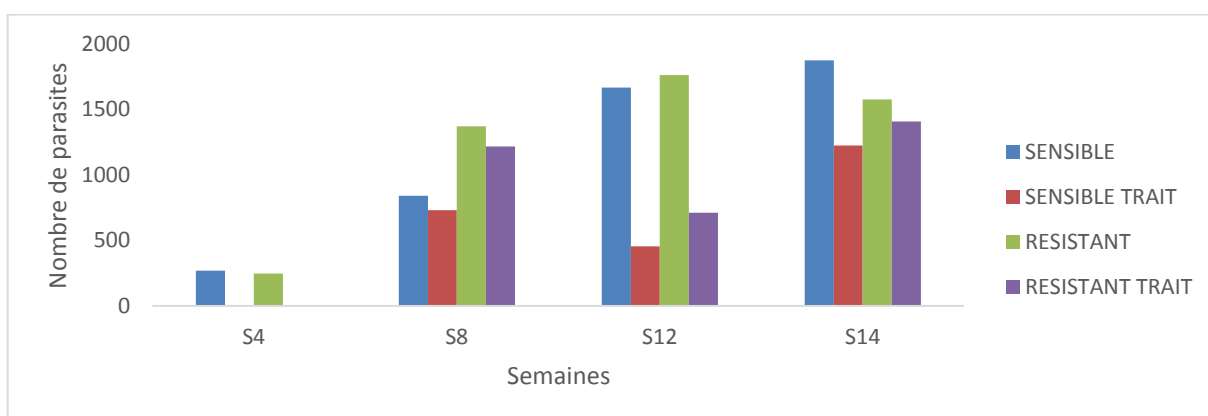


Figure 4 : Distribution des charges parasitaires au niveau du pavillon de l'oreille au site d'inoculation induites par L. major sensible et L. major résistantes avant et après traitement par le Glucantime®, en fonction du temps.

La charge parasitaire a été évaluée au niveau du site d'inoculation (OG), puis comparée au diamètre des lésions mesurées sur les différents lots de souris. On observe une corrélation

positive entre la progression du diamètre des lésions et le nombre de parasite existant pour les deux souches étudiées LIPA 175/11 et LIPA 100/09 traitées et non traitées.

Dosage Nitrites in vivo

Afin de suivre la réponse des macrophages à l'infestation par la souche de *L. major* sensible et résistante, nous avons effectué le dosage du NO dans le plasma à S8, S12 et S14 (Figure 5).

La production en nitrites est plus faible que celle du témoin à S8, sauf pour LIPA 175, la souche résistante traitée qui montre une valeur significativement élevée en nitrites à la fin du traitement démontrant une activation du macrophage.

A S12, quatre semaines après la fin du traitement, les valeurs en nitrites sont plus importantes que celle du témoin, pour la souche sensible, résistante et résistante traitée ; alors que la sensible traitée montre des valeurs plus faibles que celle du témoin.

Huit semaines après la fin du traitement, nous remarquons un retour à la normale en nitrites pour les souches traitées au Glucantime®. Pour les souches non traitées, les nitrites sont en dessous de la normale, et sont en concordance avec une reprise de l'infection de la LIPA 100 et la LIPA 175.

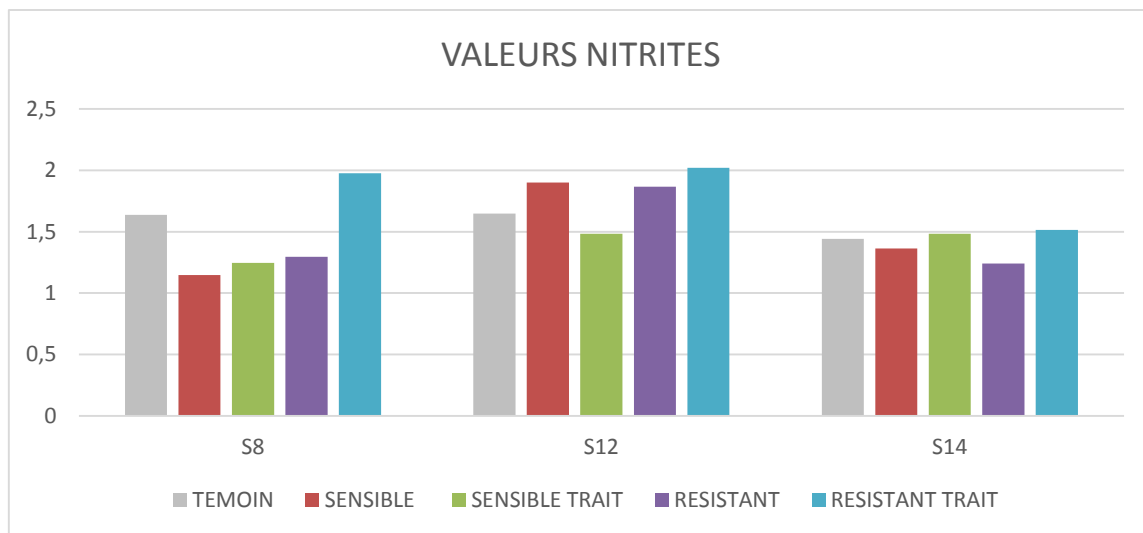


Figure 5: Histogramme de la concentration des nitrites par souche et par semaine.

DISCUSSION

Les cas de résistance de la leishmaniose cutanée au Glucantime® sont de plus en plus fréquents en Algérie. Depuis les travaux de Belazzoug en 1982, qui a rapporté des cas de résistance de la LC à l'antimoine, il n'existe aucune donnée sur la sensibilité de *L. major*.

Dans un premier temps et afin de déterminer la résistance naturelle de *L. major* en Algérie, nous avons testé la sensibilité à l'antimoine pentavalent de la forme amastigote de 20 souches de *Leishmania major* Zymodème MON 25, puis dans un deuxième temps, nous avons testé la sensibilité à l'antimoine trivalent la forme promastigote de 15 souches isolées dans le laboratoire d'éco-épidémiologie parasitaire de l'institut Pasteur d'Algérie

Bien que la plupart des mécanismes responsables de la résistance aux médicaments antileishmaniens soient liés à la forme promastigote qui existe chez le vecteur, la sensibilité aux dérivés stibiés des formes promastigotes de *Leishmania* diffère de celle des amastigotes. Cette

différence se traduit par une variété de réactions biochimiques, y compris la sensibilité à l'oxyde nitrique et des activités enzymatiques telles que celles des protéases déshydrogénases. Par ailleurs, la forme promastigote est très peu sensible au SbV (Croft et al., 2006).

Les résultats de la sensibilité des souches de *L. major* au SbIII, ont révélé différents profils de sensibilité qui vont de l'extrêmement sensible (LIPA 100/09) à l'extrêmement résistant (LIPA 137/10). Les résultats de sensibilité des amastigotes ont montré que 40 % des souches étaient résistantes à l'antimoine pentavalent (Glucantime®).

La sensibilité de la forme amastigote de *L. major* in vitro a donné des IC50 beaucoup plus importante par rapport au SbV que celles que nous avons obtenues avec le SbIII. La souche sensible LIPA 100/09 avait une IC50 de 20.44µg/ml au SbV et 10.76 µg/ml au SbIII. Alors que pour la souche résistante LIPA 32/06, l'IC50 au SbV était de 90.01µg/ml et au SbIII 39.35 µg/ml. Bien que le SbIII soit fortement toxique sur les formes promastigotes de *L. major*, il n'a que très peu d'effet sur les souches de profil résistant (Da Silva et Sacks, 1987). Cette différence de sensibilité entre le SbIII et le SbV est due au fait que le SbV doit être réduit in vivo en SbIII, puis accumulé dans les macrophages infectées afin d'inhiber la croissance des amastigotes intracellulaires. Cette différence de sensibilité est aussi retrouvée chez d'autres espèces de *Leishmania* (Ashutosh et al., 2007)

De plus, le SbIII s'accumule dans les amastigotes et les promastigotes. La différence d'accumulation du SbIII et du SbV, dans les deux stades du parasite suggère que ces deux formes d'antimoine ne pénètrent pas par la même voie. Fait intéressant, l'accumulation de SbIII est compétitivement inhibée par le métal lié à l'AsIII, alors que l'accumulation de SbV ne l'est pas. Cela suggère fortement que le SbIII et l'AsIII entrent dans la cellule par la même voie (Ashutosh et al., 2007).

Nos résultats confirment l'hypothèse proposée par Ashutosh et al. (2007), Croft et al. (2006) et Faraut-Gambarelli et al. (1997) que les dérivés antimoniés pentavalent SbV doivent être réduits en antimoine trivalent SbIII, forme réellement active sur le parasite à de faibles concentrations, tandis que les SbV sont actifs à des concentrations beaucoup plus importantes.

Nos résultats ont aussi démontré que le phénomène de résistance aux dérivés stibiés ne concerne pas uniquement les souches isolées de malades traitées auparavant avec le glucantime, mais aussi isolées de rongeurs réservoirs de parasite de la LCZ (*P. obesus* et *M. schawi*) dans notre pays. La souche LIPA 32/06 isolée à partir d'un rongeur, qui montre une résistance primaire vis-à-vis de la N-méthyl Glucamine. Ce qui suggère que certaines souches de *L. major* en Algérie sont génétiquement résistantes à l'antimoine. Le risque de propagation de telles souches chez les humains aura des conséquences néfastes pour la santé publique.

Etude de la sensibilité de *L. major* à l'antimoine in vivo

Le derme de l'oreille a été choisi comme site d'inoculation, car en plus d'être un site commun chez les rongeurs réservoirs lors de l'infestation naturelle, il offre l'avantage que tous les événements dynamiques qui se produisent sur le site de l'infection ainsi que dans les compartiments interconnectés de l'épiderme et des ganglions lymphatique peuvent être facilement suivis et évalués (Belkaid et al., 1998, Belkaid et al., 1996).

A travers les résultats du phénotype externe obtenu, on remarque que le phénotype virulent de la souche résistante est plus marqué que celui de la souche sensible et se traduit par une apparition précoce de l'inflammation dès la troisième semaine après l'inoculation. Après administration du traitement, on observe d'une part, une diminution significative de l'inflammation, de l'induration et des lésions chez le lot de souris infectée par la souche sensible, ce qui correspond avec les résultats de sensibilité au SbIII de cette souche obtenus in vitro.

Afin d'étudier la croissance tissulaire spécifique des 2 souches sensible et résistante à l'antimoine à *L. major* chez des souris BALB/c, nous avons déterminé la charge parasitaire

dans l'oreille à différents intervalles après l'infection. Nos résultats ont montré une bonne corrélation entre le diamètre des lésions et la charge parasitaire ce qui nous a permis de démontrer que la taille des lésions est un facteur révélateur de la charge parasitaire.

La comparaison du phénotype externe et interne des 2 souches sensible et résistante, montre que l'intensité de la charge parasitaire ainsi que la dissémination du parasite sont liés au caractère virulent de la souche.

La persistance de parasites a été mise en parallèle avec une expression soutenue de l'oxyde nitrique par l'enzyme NO synthase (iNOS), et le traitement des souris avec un inhibiteur sélectif de l'iNOS entraîne une réplication massive des parasites dans les tissus et provoque une recrudescence de la leishmaniose cutanée selon Nicolas et al., (2000).

Les pics de charges parasitaires correspondaient aussi aux valeurs les plus faibles de NO. Chez l'homme et au cours d'une LC expérimentale, le développement d'une immunité protectrice dépend de la capacité d'activation des macrophages infectés à exprimer l'oxyde nitrique synthétase inductible (iNOS), et de la formation de NO afin d'éliminer le parasite via la voie du NO (Hollzmuller et al., 2002). La chute des valeurs de NO que nous avons enregistré correspond à une faible activation des macrophages qui diffère entre *L. major* sensible et résistante au Glucantime®. Le NO est un mécanisme effecteur contre le parasite intracellulaire *L. major*, et il est produit à des taux importants dans les macrophages des murins. Alors qu'une réponse de type TH2 limite la fonction TH1 qui désactive le macrophage et la production de NO, ce qui aide la croissance intracellulaire du parasite et la progression de la maladie (Scott, 2005, Stebut, 2007). Il est intéressant de noter qu'au cours de la leishmaniose, le macrophage a un double jeu puisqu'il constitue un habitat sûr pour le parasite, et lorsqu'il est activé, il produit du NO qui est une molécule puissante contre la leishmanie intracellulaire (Kharazi et al., 2003)

CONCLUSION

La chimiothérapie actuelle de la leishmaniose est loin d'être satisfaisante et est mise en question par l'émergence généralisée de la non-réponse de la drogue, par le coût, et par la longue durée du traitement. De plus, des molécules tel que l'antimoine pentavalent, la pentamidine, l'amphotéricine B et la miltefosine, ont comme inconvénients des administrations répétées en voie parentérale et leur toxicité. La variation de l'efficacité du traitement peut être due à des facteurs tels que l'interaction médicament-hôte la réponse immunitaire, la différence dans la pharmacocinétique des médicaments, et la variation intrinsèque de la sensibilité de *Leishmania* spp. à ces médicaments. La présente étude, a fourni des informations précieuses concernant les modèles de sensibilité aux médicaments dans le contexte de la sensibilité naturelle des isolats algériens de *L. major* par rapport au Glucantime® in vivo et in vitro.

L'étude de la sensibilité in vitro de *L. major* à l'antimoine trivalent et pentavalent, nous a permis de classer les souches en 3 catégories : sensible, intermédiaire et résistante. Nous n'avons retrouvé que 20% des souches qui étaient sensibles au SbIII, et sachant que la sensibilité au SbV est plus importante que celle au SbIII. On peut supposer que la résistance au glucantime® est importante chez *L. major* en Algérie. Par ailleurs, la sensibilité des formes amastigotes à l'antimoine pentavalent a révélé 60% de sensibilité.

L'étude de la sensibilité à l'antimoine, in vivo chez la souris BALB/c, nous a permis de caractériser l'infection des souches de *L. major* naturellement sensibles et résistante au SbV. Notre travail nous a permis de déterminer la virulence comme facteur sélectif de résistance et de sensibilité au glucantime.

Des paramètres tels que l'apparition précoce des symptômes (rougeurs, indurations, lésions et poids), leur intensité, ainsi que la dissémination rapide du parasite à partir du site d'inoculation vers les différents organes (ganglions drainant et rates) chez les souches résistantes, sont fortement liés à la sensibilité à l'antimoine. De plus, la comparaison du phénotype externe et interne des 2 souches sensible et résistante, montre que l'intensité de la charge parasitaire ainsi que la dissémination du parasite sont liés au caractère virulent de la souche.

Le traitement par le Glucantime® sur notre modèle animal, semble très peu efficace sur la souche résistante. La dissémination du parasite est ralentie, mais la progression de la maladie semble plus rapide après l'arrêt du traitement. La souche sensible répond plus rapidement au traitement. Ce dernier diminue significativement la charge parasitaire au niveau du site d'inoculation, mais reste non curatif. Cette résistance au traitement pourrait s'expliquer par une durée insuffisante du traitement, par l'utilisation de monothérapie ou bien serait due à l'utilisation de molécules de mauvaise qualité.

A travers les résultats que nous avons obtenus sur l'étude de la sensibilité de *L. major* in vitro et in vivo, il ressort que la résistance au Glucantime® est très importante en Algérie. L'utilisation trop systématique de cette molécule a favorisé la sélection de souches résistantes. Cette proportion grandissante de résistance aux traitements est actuellement alarmante, il est donc nécessaire d'améliorer la compréhension des mécanismes biologiques responsables de l'infection et de la sensibilité ou résistance de *L. major* à l'antimoine, d'autant plus que nos résultats ont montré un lien entre la virulence et la résistance au Glucantime®.

L'exploration de la réponse immunitaire associée à cette résistance, et la recherche de l'expression de molécules de virulence, permettrait une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires de résistance à l'antimoine, et la sélection de molécules d'intérêt vaccinal.

Références:

Ashutosh., Sundar. S., Goyal. N.. Molecular mechanisms of antimony resistance in *Leishmania*. *J Med Microbiol*. 2007.56: 143-53.

Belazzoug et Neal , , Failure of meglumine antimoniate to cure cutaneous leishmaniasis due to *L. major* in Algeria. *Trans. R.Soc Trop.Med Hyg*. 1986.4.701

Belazzoug S. . Une épidémie de leishmaniose cutanée dans la région de M'sila (Algérie). *Bull. Soc. Path. Exot*. 1982.75, 497-504

Belkaid, Y., Kamhawi, S., Modi, G., Valenzuela, J., Noben-Trauth, N., Rowton, E., Riberio, J., Sacks, DL. (1998). Development of natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effect of vector saliva and saliva pre-exposure on the long term outcome of *Leishmania major* infection in the mouse ear dermis. *J. Exp. Med.*, 188: 1941-1953.

Bensalah A et al . Topical paomomycine with or without Gentamycin for cutaneous leishmaniasis . *N Eng. J M* .2013. 368: 66, 524-532.

Berman JD, Wyler DJ. An in vitro model for investigation of chemotherapeutic agents in leishmaniasis. *J Infect Dis*. 1980. 142: 83–86

Buffet P.A, Sulahian A, Garin Y.J.F, Nassar N, Derouin, F..Culture Microtitration: a Sensitive Method for Quantifying *Leishmania infantum*. in Tissues of Infected Mice. 1999 39 (9): 2167–2168

Croft S.L, Sundar S, Fairlamba H. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev*. 2006.19: 111-26.

Croft SL Monitoring drug resistance in leishmaniasis. *Trop Med Int Health* .2001 6: 899–905.

Faraut-Gambarelli F, Piarroux R, Deniau M, Giusiano B, Marty P, Michel G, Faugère B, Dumon H. *In vitro* and *in vivo* resistance of *Leishmania infantum* to meglumine antimoniate:

a study of 37 strains collected from patients with visceral leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997.41: 827-30

Grogle M Leishmania spp. Development of Pentostam –Resistant clones in vitro by discontinuous drug exposure . *Exp. Parasitology.*1989. 69,78-90.

Hadighi R, Mohebbali M., Boucher P., Hajjaran H., Khamesipour A., Ouellette M. unresponsiveness to Glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to Drug-resistant *Leishmania tropica* parasites ; *Plos Medecine* . 2006. 3. 659-667.

Harrat Z., Hamrioui B., Belkaid M., Tabet-Derraz O. 1995 : Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie. *Bull Soc. Path. Exot.* , 88,180 -184

Harrat Z., Pratlong F., Belazzoug S., Dereure J., Deniau M., Rioux J.-A., Belkaid, M. & Dedet J.P. *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria *Trans. R.Soc.Trop.med. Hyg.* 1996, 90: 625-629

Holzmuller, P., Sereno, D., Cavaleyra, M., Mangot, I., Daulouede, S.Vincendeau, P., Lemesre, J. Nitric oxide mediated proteasome dependent oligonucleosomal DNA fragmentation in *Leishmania amazonensis* amastigotes. *Infect. Immunol.* 2002.70 : 3727-35.

Kharazi SH., Zavarani Hsseini A., Tiraihi T. The role of over production of nitric oxide in apoptosis of BALB/c mice macrophage infected with *Leishmania major* in vitro. *Ianian J. Allerg. Asthm. Immunol.*, . 2003. 2 : 209-214

Murray HW, Berman J, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005.366: 1561–1577

Nicolas, L., Sidjanski, S., Colle, JH., Milon, G. *Leishmania major* reaches distant cutaneous sites where it persist transiently while persisting durably in the primary dermal site and its draining lymph node : a study with laboratory mice. *Infect. Immun.* 2000, 68 (12):6561-6566.
Ouellette M, Drummelsmith J, Papadopoulou B. Leishmaniasis: Drugs in the clinic, resistance and new developments. *Drug Resist Update* 2004.7: 257–266.

Scott PH. Immunologic memory in cutaneous leishmaniasis. *Cell Microbiol.* 2005,7. 1707-13.
Stebut E. Immunology of cutaneous leishmaniasis : the role of the mast cells, phagocytes and dendritic cells for protective immunity. *Eur. J. Dermatol.* 2007., 17:115-122.

Sundar S, More DK, Singh MK, Singh VP, Sharma S, et al. Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: Report from the Center of the Indian Epidemic. *Clin Infect Dis.* 2000.31: 1104–1107.

**ELABORATION OF PROSTHETIC COATINGS
BASED ON HYDROXYAPATITE DOPED BY
AGENTS ANTIBACTERIAL**

KHIREDDINE.H^a, BIR.F^a, SIDANE.D^a, YALA.S^a, DJELLALIN^b,
BENYAHIA.A^a

^a *Laboratoire de Génie de l'Environnement, Département de Génie des Procédés, Faculté de Technologie, Université de Bejaia, Algérie.*

^b *Laboratoire de polymères et biocomposites, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Boumerdes, Algérie.*

Email: khiredine.hafit@gmail.com

Code: 73/ANDRS/2011

Abstra:

In some cases, the metallic implants such as 316L stainless steels causing failure between bone and implant. Hydroxyapatite (HA: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) coating provides protection to the substrate against corrosion in the biological environment [1, 2]. Often, bacterial attachment and colonization on the implants surface lead to infection [3]. In the present study, the effect of antibacterial included into fluorohydroxyapatite (FHA) is explored. The FHA coatings doped with ions Zn^{2+} , Cu^{2+} and Ag^+ were prepared by adding 100 ppm of ZnCl_2 (99% purity), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (99% purity and AgNO_3 (99.5% purity)) into the electrolyte (0.042 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 0.025 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + 0.012 M NH_4F + H_2O_2 2.5%). The concentrations of different reagents were chosen to maintain the atomic ratios (Ca+M)/P fixed at 1.67, where M = Cu, Zn and Ag. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, CIP 7025), Gram-positive bacterium can cause serious infections and has been chosen as model microorganism in this study.

The analysis of XRD, SEM and EDX showed that the electrodeposition technique is very effective to make deposits of calcium phosphates. The films obtained were dense, uniform and pure, correspond to the data sheets ASTM. Chemical analysis shows that the copper, zinc and silver ions fully incorporated into doped FHA coatings structure and were distributed homogeneously on the surface of layers. The evaluation tests of antimicrobial efficiency of the deposits against *S. aureus* bacterial gave very promising results.

Key words: electrodeposition, Fluorohydroxyapatite, antibacterials.

I.Introduction

Metallic implants such as 316L stainless steels in the orthopedic and dental prostheses have gained significant advantages in the recent years due to their immense mechanical features that match with the human bone, their biocompatibility and corrosion resistance [1-5]. In some cases, these implants eventually weaken the surrounding bone, causing failure between bone and implant. In order, to enhance the biocompatibility of these kinds of materials, they are often coated with osteointegrating and/or osteoconductive biomaterials such as calcium phosphate ceramics. Among these biomaterials, hydroxyapatite (HA: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) seems to have been to be the most investigated biomaterial during the last decade [1, 6-14]. It has been established that HA coating can promote more rapid fixation and stronger bonding between the host bone and the implant [1, 9, 15, 16]. In addition, HA coating provides protection to the substrate against corrosion in the biological environment, and acts as a barrier against the release of metal ions from the substrate into the environment (from prosthesis to tissues) [1, 9, 15, 17].

Compared to conventional preparation methods, such as hot spraying or laser cladding, the structure of Ca-P coatings formed in solution is closer to that of the bone minerals [1, 9]. Electrochemical deposition technique, has recently attracted considerable attention due to: (1) a relatively low process temperature, (2) the ability to deposit on non-line-of-sight, porous or complex shapes of substrate, (3) the convenience to control the coating properties such as morphologies and compositions of Ca-P coatings, (4) the possible improvement of the substrate/coating bond strength, and (5) the availability and low cost of equipment [1, 8, 9, 12, 15].

However, the host-metal implant response was not always favorable, particularly under the long-term implantation situation [15, 18]. The major causes of implant failure were:

- Aseptic loosening that results at the bone/device interface [15, 19] and also due to the high dissolution rate of HA in the biological environment. This could especially happen for implant made by plasma spraying as it contains a high concentration of amorphous phase [2,

5, 15]. The high dissolution may lead to coatings disintegration and hinder the fixation of implant to the host tissue [15].

- Bacterial attachment and colonization on the implants surface lead to infection [13, 14, 19],

that (This attachment consist of a biofilm of protect...) form a biofilm protecting bacteria against host defenses and antibiotics [13, 20], and frequently persist until the removal of the implant which remains the standard therapy [14, 21].

In order to enhance the bioactivity and decrease the risk of bacterial infection, the implants were subjected to surface modification where the properties such as chemical nature and morphology were controlled [19]. The strategy consists on the impregnations to the HA crystal structure the bioactive molecule such as Fluor, zinc, copper, silver...etc [13-15, 21,

22], by substituting OH^- groups with F^- ions and Ca^{2+} with Zn^{2+} , Cu^{2+} and Ag^+ ions [13-15,21, 22].

Recently, many researchers [12, 15] have focused on the application of FHA

as bioactive coatings to provide both early stability and long-term performance. In comparison with HA coating, FHA coatings could provides lower dissolution, better apatite-like layer deposition, better protein adsorption, comparable or better cell attachment and improved alkaline phosphatase activity in cell culture [15,16].

Therefore, several *in vitro* studies reported that the silver, copper and zinc ions in the implant coatings play an important role in preventing or minimizing initial bacterial adhesion [13, 14, 23-27]. Small amounts of copper and zinc ions are essential for various metabolic processes in most of the living organisms, while higher amounts in are potentially toxic. In addition, zinc has also a stimulatory effect *in vitro* and *in vivo* on bone formation [13, 14, 22-27].

Until now, there are many researches about HA coatings prepared using electrochemical deposition [1-12, 32, 33, 37, 42, 44]. But FHA composite coatings directly fabricated by electrodeposition are hardly reported. The objective of this work is to deposit FHA coatings on 316L stainless steels substrates by electrochemical deposition technique at different temperature. Furthermore, a development of an antimicrobial system at the bone-implant interface to reduce the microbial-induced infections and degradations is also realized.

The coats are doped with inorganic ion such as (Zn^{2+} , Cu^{2+} and Ag^{+}) by co-precipitation and

ion-exchange methods. Investigations have been carried out by using experimental techniques including X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), X-ray microanalysis (EDX). In addition, their antimicrobial activity in liquid media was carried out.

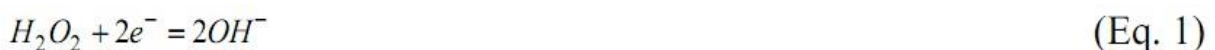
2. Materials and Methods

2.1. Deposition equipment and procedure

The coating deposition protocol used in this work has been largely reported in literature [1, 13, 14, 15, 23, 28, 29, 30]

The rectangular samples of 316L stainless steel were polished mechanically on SiC abrasive papers and diamond paste to obtain a mirror-polished surface, then cleaned ultrasonically to remove particles from the sandpaper and dried in air at room temperature.

The used electrolyte was prepared by mixing 0.042 M $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (98% purity), 0.025 M $(NH_4)_2HPO_4$ (98% purity) and 0.012 M NH_4F (96% purity). Hydrogenoperoxide H_2O_2 2.5% was added to enhance the deposition of dense coatings by the release of H_2 gas and production of only OH^- ions as presented in the following equation:



The mixture was dissolved in double-distilled water, the concentration of each mixture is selected to obtain a Ca/P ratio of about 1.67. The pH value of the electrolyte was adjusted to 4.6 at room temperature by hydrochloric acid (HCl) (37.5% purity).

The coating process was carried out at different temperatures (65, 45, 35, 27 and 20°C) in a

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

three-electrode cell fitted with a platinum plate as the counter-electrode (anode), the 316LS substrate as the working electrode (cathode) and a saturated calomel electrode (SCE) as reference electrode. The cathode current density is kept constant at a value of 1 mA/cm² for 30 min using a PGZ 301 potentiostat/galvanostat (Radiometer Analytical) controlled by PC equipped with Volta Master 4 Software.

After deposition process, the specimens were rinsed in double-distilled water to remove residual electrolyte and dried in air for 24 h, then they were hydrothermally treated at 125 °C at pH 7 in an autoclave for 4 h to convert the brushite, precursor phase (DCPD) (CaHPO₄·2H₂O), electrodeposited into pure Hydroxyapatite based on the following reaction [1, 9]:



Finally, the obtained samples were calcined at 400 °C for 1 h to increase the crystallinity, purity and bonding strength of the apatite coatings.

2.2. Ions

impregnation

The flexibility of the electrodeposition allows the development of phosphate coatings doped with ions such as zinc, copper or silver. Therefore (hence), this part is devoted to the synthesis and physicochemical characterization of coatings of fluorohydroxyapatite doped by copper, zinc, mixed copper/zinc and silver ions (noted Cu-FHA, Zn-FHA, Cu/Zn-FHA and Ag-FHA). All these experiments were carried out at 27 °C.

The FHA coatings doped with inorganic ions Zn²⁺ and Cu²⁺ were prepared by adding

100 ppm of ZnCl₂ (99% purity) and CuCl₂·2H₂O (99% purity) into the electrolyte with previous reagents, whereas the sample doped with Ag⁺ ions was obtained using ion-exchange method. The coating of FHA was immersed in 100 ppm AgNO₃ (99.5% purity) solution at room temperature for 30 min to promote the exchange reaction of ions between Ag⁺ and Ca²⁺.

The concentrations of different reagents were chosen to maintain the atomic ratios

(Ca+M)/P fixed at 1.67, where M = Cu, Zn or Ag.

2.3. Coatings

characterization

2.3.1. Scanning electron microscopy and elemental analysis (SEM-EDX)

The morphology of the coatings was characterized with SEM (FTI QUANTA 200). Energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) (detector SUTW-SAPPHIRE, resolution: 135.25) was used to identify the stoichiometric composition of deposited FHA (Ca/P and

F/Carati
o).

2.3.2. X-ray diffraction (DRX)

The crystal structures of coatings were characterized by X-ray diffraction Expert prof analytical type MPD/system vertical θ/θ . The range of 2θ was from 10° to 70° using CuK α

radiation. The phases were identified in comparison with the reference file JCPDS-ICDD (International Center for Diffraction Data).

2.4. Antimicrobial activity test

Staphylococcus aureus (*S. aureus*, CIP 7025), Gram-positive bacterium can cause serious infections and has been chosen as model microorganism in this study.

From a young culture on agar, a dense bacterial suspension (corresponding to 10^6 CFU cells/ml) is prepared for *S. aureus* by dissociating 3-5 colonies in 5 ml of sterile saline solution, the density of the suspension was measured using a spectrophotometer (Schimadzu UV mini 1240).

The samples of FHA-coated without and with Zn, Cu, Zn/Cu and Ag treatment were immersed into the saline solution containing the microorganism and stir at room temperature for 24 h. The saline solution contained about 10^6 UFC cells/ml *S. aureus*. The treated saline solution (0.1 ml) was inoculated in the 20 ml Mueller Hinton agar to cultivate the microorganisms at 37 °C for 24 h. After that the number of colonies was counted. All glass wares were sterilized in the autoclave at 120 °C for 20 min before the experiments.

3. Results and discussions

3.1. Cathodic reaction and mechanism of deposition

The mechanisms of formation of calcium phosphate coating by electrochemical process are complex because they involve several chemical species and several types of reactions (electrochemical and chemical). In this case, three types of chemical reactions can be distinguished: electrochemical reactions, acid-base reactions and precipitation reactions [31] [32].

i. The electrochemical reactions mainly imply water and phosphate ions depending on the cathodic potential and the pH value at the vicinity of the cathode [5, 15, 31, 32]:



These reactions lead to the production of hydroxyl ions and hydrogen gas through the reduction of water [5, 15, 31]. The increase in the concentration of hydroxyl ions results in a local increase in pH around the surface of cathode [15, 31].

ii. Acid-base reactions involve phosphate ions and hydroxide ions produced by reactions Eq.

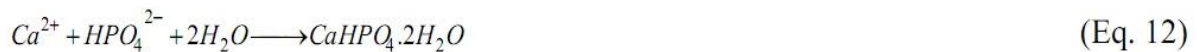
(3) and Eq. (4) (reduction of water) at the vicinity of the cathode [31, 32, 33]:



iii. Precipitation reactions lead to several kinds of calcium phosphates which can be formed on the surface of the cathode as following [31]:

- Brushite (Dicalcium phosphate dehydrate; DCPD):

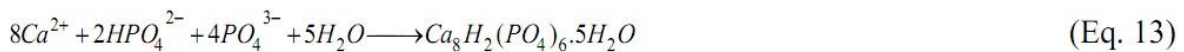
In the case of acidic electrolyte (such as pH ~ 4.6) a substantial amount of acid phosphate groups are produced such as HPO_4^{2-} species, because the OH^- ions are not much enough to transform HPO_4^{2-} at PO_4^{3-} and increase the pH up to 7 or more, then HPO_4^{2-} species combine with Ca^{2+} (ions that migrated to cathodic substrate [11]) to produce a $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ precipitation according to the following reaction [5, 15, 31]:



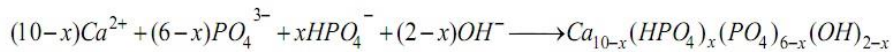
DCPD is stable in the range of pH lower than 5 [5].

- Octacalcium phosphate (OCP):

Generally, at higher acidic solution, DCPD and OCP were often precipitated as a precursor for HA. OCP could be co-precipitated according to the following empirical formula [5, 31], $Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$:



- Calcium deficient hydroxyapatite (Ca def-HAP; CDHA):



- Hydroxyapatite (HA)

When the pH of the electrolyte increases (such as pH 6.0) the acid phosphate groups are effectively transformed to PO_4^{3-} species and stoichiometric hydroxyapatite can be directly deposited on the cathodes according to the following reaction (15) [15]:



3.2. Characterizations of electrodeposited FHA coatings at different temperature

There are three factors that affected the precipitation and crystal growth: current density (I_c), deposition time (t) and temperature (T) followed in a slightly dependency on the current density [35].

In this work, the effect temperature synthesis on the surface of FHA coatings has been studied at different temperatures (65, 45, 35, 27 and 20 °C). Indeed, no layer of calcium phosphate has been observed on the substrates surface at 65 °C and 45 °C. This could be explained by the solubility of the coated layer of fluorohydroxyapatite which varies according to the temperature and pH [9]. Yang et al. [9] demonstrated that the high synthesis temperatures and the alkali electrolyte solution will lead to the dissolution of the coatings

during the electrodeposition.

Various morphology with different microporosity and chemical compositions of the

FHA coatings are obtained at 20 °C, 27 °C and 35 °C, they are represented in Fig. 1 and Fig.

2. The SEM results showed that the morphology of the coatings changes according to the synthesis temperature.

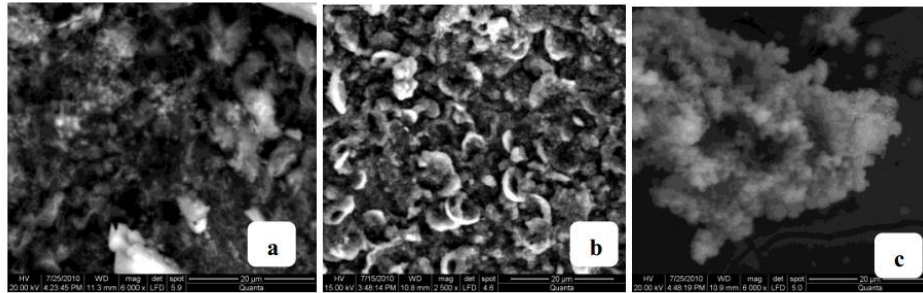


Fig. 1. SEM micrographs of apatite coatings prepared at different temperature: (a) at 20 °C, (b) at 27 °C, (c) at 35 °C

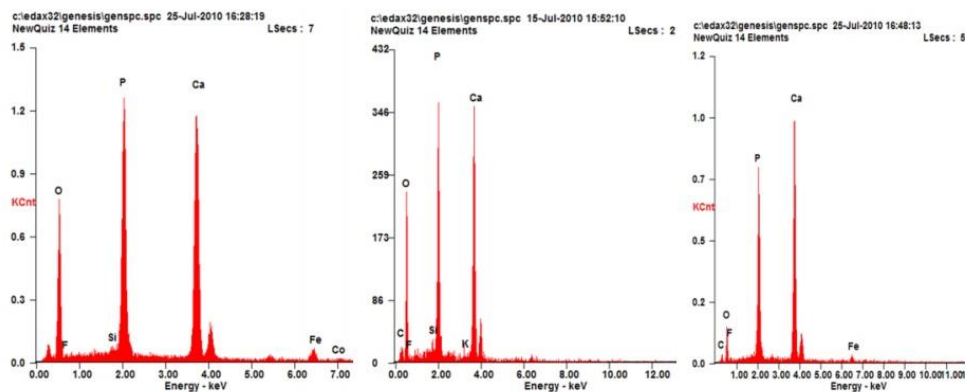


Fig. 2. EDX spectra of electrodeposited FHA coatings as function of temperature. (a) : at 20 °C, (b) : at 27 °C, (c) : at 35 °C.

The coating prepared at 20 °C (Fig. 1(a)) has a rough and dense microporous structure with an irregular arrangement of particles. There are a large grain crystals deformed and compacts of calcite deposited on the coating, which may be due to the dissolution of CO₂ from the air into the solution, the same results are obtained by N. Damlie et al. [32] where they have showed that the presence of calcium carbonate in the deposit has no affect on its biocompatibility with bone cells; the crystals disappear progressively with time and convert into calcium phosphate when it is in contact with the biological environment. A.C.

Derrien et al. [36] showed that calcium carbonate permitted to evaluate the kinetics of mineralization of implants after implantation. On the one hand N. Damlie et al. [37] have found that the presence of carbonate ions promotes the formation of carbonated apatite which is thermodynamically more stable than the stoichiometric hydroxyapatite. However, in order to prevent the formation of calcite on large amount, the injection of nitrogen in the work cell before and during the electrodeposition process is highly recommended [1, 29].

The deposit synthesized at 27 °C (Fig. 1(b)) consists of agglomerates of particles such

as platelets and large calcite crystals. However, the coating produced at 35 °C (Fig. 1(c)) shows that white precipitates with a cotton-like structure distributed on the deposit which has many cracks probably due to the difference in thermal expansion coefficient between the coating layer and the substrate during sintering and cooling [38]. These cracks negatively affect the adhesion of the layer on the substrate.

On the other hand, the comparison of the morphology of the three deposits reveals that the deposit prepared at 27 °C appeared sharply different, it was much denser, smoother and uniform than that synthesized at 20 °C and 35 °C.

Fig. 2 shows the EDX spectra for the three deposits. The EDX analysis revealed the presence of calcium, phosphorus, oxygen and fluorine constituents a fluoroxyapatite. It can also be noted that the presence of carbon may be attributed to the amount of calcite precipitated in the deposits and remnants of grain sandpaper (SiC). The presence of potassium (Fig. 2(b)) mainly referred to working conditions and also iron and cobalt content from the substrate.

The stoichiometry of the layers (Ca/P ratio) has an important effect on the final product phases. Therefore, it was interesting to study the effect of synthesis temperature on the chemical composition of coatings during the process of deposition, and thus on the atomic ratio Ca/P and F/Ca of the deposits.

The atomic ratios of coatings prepared at different temperatures are presented in Table

1. The results show that the atomic ratios increase with increasing synthesis temperature; these similar to the results found by Xiao et al. [8]. The ratios are slightly lower than stoichiometric hydroxyapatite (1.67), this can be attributed to non-stoichiometric [13, 23] and the presence of other phases in the coatings. It could be noticed that the deposits coatings were calcium deficient [8, 15]. Moreover, Wang et al. [15] showed that calcination under vacuum affects the surface characteristics and the chemical composition (Ca/P ratio) of coatings. However, Ca-deficient apatite (Ca/P atomic ratio between 1.33 and 1.55) could be more beneficial to induce the formation of new bone in vivo [30].

In order to determine the degree of fluoridation in the coatings, we calculated the F/Ca ratios. They remained constant and less than 0.125 which may be due to the calcination area [15, 28]. Our results are not similar with the results obtained by Wang et al. [15], when they have showed that there was a fluorine limitation in the FHA coatings deposited with electrochemical technique. These differences could be due to the operation condition (pH and synthesis temperature).

Therefore, further studies are required; such as an exploration for the detailed mechanism of electrodeposited FHA coatings under different working conditions (pH, synthesis temperature, concentration, current density and deposition time).

The XRD results (Fig. 3(a and b)) of the FHA coatings deposited at 20 °C and 27 °C show similar crystallized peaks of fluoroxyapatite (at $2\theta = 25.883, 28.921^\circ, 31.866^\circ, 32.195^\circ$ and 32.897°), monetite ($2\theta=13.093, 26.354^\circ, 30.2^\circ, 40.03^\circ, 41.8^\circ$ and 49.22°) and calcite at $2\theta=29.406^\circ$ which confirms the results obtained by SEM and EDX.

The monetite is commonly used as a component in bone cements [31], and which is obtained by wet at a temperature of 100 °C or from DCPD heated to a temperature of 80 °C [31]. These two calcium orthophosphates (Monetite and Brushite) are considered precursors of HA [4, 31, 39]. So the presence of monetite can be interpreted by incomplete transformation to HA, that may be due to the choice of working conditions of hydrothermal treatment such as pH of the water and the temperature of autoclaving. Yong Han et al. [4], Stulajterová et al. [39] described that the conditions used for hydrolysis of precursors of HA such as (pH of water: 6 to 14; adjusted with ammonia, autoclaving temperatures between 60 and 140 °C) affect their transformation into hydroxyapatite and accordingly on the Ca/P ratio.

The XRD pattern of deposit prepared at 35 °C (Fig. 3(c)) exhibiting peaks corresponding to FHA phase with no secondary phase, which confirms the purity of FHA coat.

However, it is common in electrochemical deposition for some texturing to occur that favours growth in the direction perpendicular to the substrate's surface [29]. The strong peak at a 2θ angle of 25.883° indicates that the electrodeposited FHA crystals grow with the preferred orientation of (002), which are consistent with those already available in the literature [9, 15, 29, 35]. It is also worth mentioning that the presence of monetite can be discounted by the absence of any diffraction peaks at a 2θ angle of 30.2° [29].

Peaks characterized the substrate 316LSS were observed at $2\theta = 43.541^\circ$, 44.481° and 50.662° in all coatings, which could be attributed to a porous structure of the coatings.

The substitution of fluorine in HA lattice is analysed from the shift of the FHA peaks. Therefore, the main peak position of the layer fluorohydroxyapatite is moved to a higher angle in comparison with the spectra of hydroxyapatite given by the ASTM card (from $31,766^\circ$ to $31,866^\circ$) due to the decrease in the length of the axis of hexagonal lattice. The incorporation of fluorine into the HA matrix favors the crystallinity of apatite. The increase in the crystallinity corresponds to the increase in thermal and chemical stability of the FHA ceramics as well as the incorporation of F⁻ ions in the structure reducing the size of apatite crystals which affects the coating density [15, 16, 28, 40].

The best coating developed is obtained at a temperature of 27 °C because of the homogeneity of the deposition surface; this coating also seems to adhere better than those obtained at 20 and 35°C.

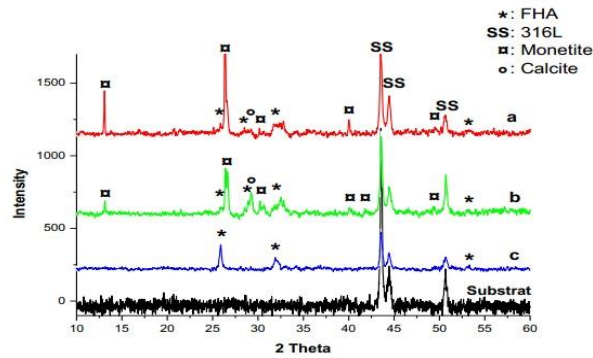


Fig. 3. DRX results of the FHA coated: (a) at 20 °C, (b) at 27 °C, (c) at 35 °C.

The process performed for the transformation of brushite into HA phase can be performed in alkaline solutions. In this work, we tried to make this treatment and have tested the samples in NaOH solutions at different conditions. For the first test, we set the concentration of solution to 1 M for 2 hours at 80 °C, according to Zhang et al. [2]. In the second test, we chose a concentration of 0.1 M for 48 hours at 60 °C, conditions set by Wang et al. [15] used in his work.

The first test leads to the chipping of the coating which may be due to the high concentration (1 M) of the alkaline solution, and the second, after calcination at 400 °C for 1h, leads to oxidate the samples after a few minutes of contact with air.

This type of treatment should be carried out at a vacuum calcination.

3.3. Characterizations of FHA coatings doped with Cu^{2+} , Zn^{2+} and Ag^+ synthesized at 27 °C

Fig. 4 shows the surface coatings of samples Cu-FHA, Zn-FHA, Cu/Zn-FHA and Ag-FHA. All the coatings are uniform and dense, no observable cracks were found. Note that the three coatings Cu-FHA, Zn-FHA, Cu/Zn-FHA have a morphology almost identical to that of FHA developed at 27 °C (Fig. 1(b)), they show small rounded particles collected in the form of agglomerates which are generally close to each other. We also note the presence of calcite crystals dispersed on the surface of the coatings.

In the deposit of Cu/Zn-FHA, we observe the presence of some larger agglomerates (marked in the white square in Fig. 4(e)) composed of fine grains of a microporous structure as observed by S. K. Yen et al. [41].

For the sample Ag-FHA, a surface coating appears porous and homogeneous. It consists of a network of large plate-like crystals in the form of thin lamellar plates in the form of olive leaves, developed perpendicularly to the substrate. Fig. 4(g) show that the rough and regular plate-like structure appears diverging from the centre toward periphery in different dimensions (marked in the white circle in Fig. 4(g)), the same results were obtained by Song et al. [12], and Kuo et al. [11]. According to H. Benhayoune et al. [1] and Z. Zhao et al. [6], the variation in crystal size is an important effect on the properties of this deposit because it improves the chemical interaction with the biological environment[1].

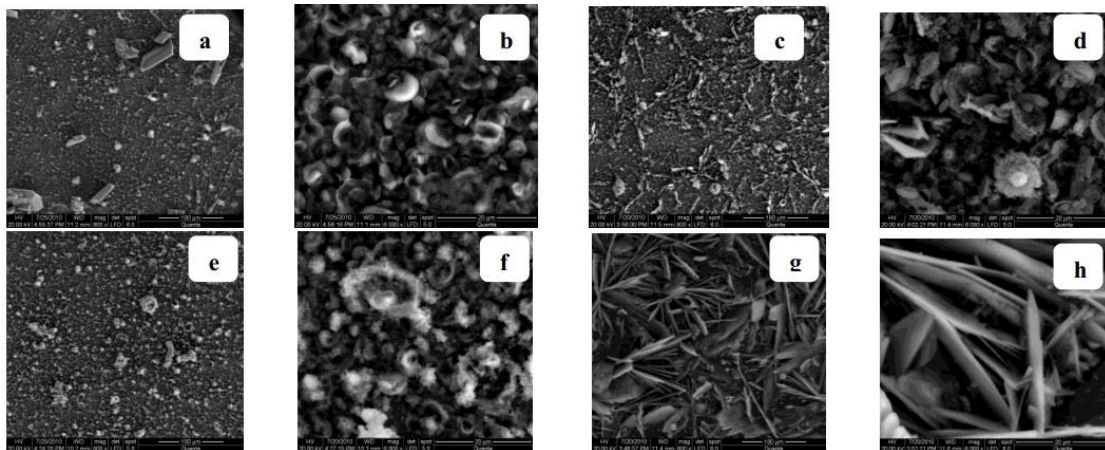


Fig. 4. SEM micrographs of FHA coatings prepared at 27 °C and doped with inorganic ions: (a, b): Cu-FHA, (c, d): Zn-FHA, (e, f): Cu/Zn-FHA and (g, h): Ag-FHA.

Metal ions (copper, zinc and silver) embedded in the FHA coatings decrease the a and c lattice parameters of the crystals and inhibit their growth. So they contribute to the formation of a thin and homogeneous layer of calcium phosphate [42]. This explanation is consistent with the SEM images obtained (Fig. 4) and confirmed by Lopez-Heredia et al. [35], Stanic et al. [23].

The EDX spectra analysis indicates that the coatings contain several elements such as fluoride, calcium, phosphorus and oxygen. These results have been used to calculate the atomic ratios $(Ca+M)/P$ and $F/(Ca+M)$ of the coatings developed and the results are shown in Table 2.

Table 2

Atomic molar ratios of coatings FHA prepared at 27 °C and doped with inorganic ions.

Coatings	Atomic ratios		
	$(Ca+M)/P$ ratios	$F/(Ca+M)$ ratios	$M/(Ca+M)$ ratios
Cu-FHA	1.23	0.106	0.040
Zn-FHA	1.24	0.156	0.159
Cu/Zn-FHA	1.38	0.109	0.0120
Ag-FHA	1.03	0.046	0.028

For Cu^{2+} ions

$M = Cu ; Zn ; Ag.$

0.0628

For Zn^{2+} ions

The metal elements Cu, Zn, Ag are also detected by X-rays in different quantities. There is a rate of Cl^- ions in the coating of Zn-FHA coming from the electrolyte solution or ions embedded in the pores of the substrate surface.

The results show that the atomic ratios $(Ca+M)/P$ of the coats are lower than those of a stoichiometric hydroxyapatite (1.67), which indicate that the deposits have a calcium deficiency site.

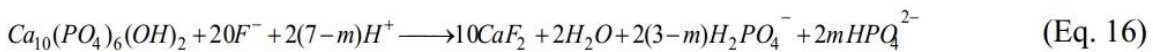
The phases of apatite coatings are rich in metal ions (Cu^{2+} , Zn^{2+}). It could be noticed, the
Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

high concentration of Zn^{2+} in both Zn-FHA and Cu/Zn-FHA coatings, this may be explained by the ease substitution of Zn^{2+} with Ca^{2+} compared with Cu^{2+} which due to the difference of the properties of these ions. El Mhammedi et al. [41] have showed that the substitution of Ca^{2+} by Cu^{2+} in the synthetic hydroxyapatite is very limited. Several studies have reported that the amount of zinc ions incorporated into HA much depends on the method and synthesis conditions [23].

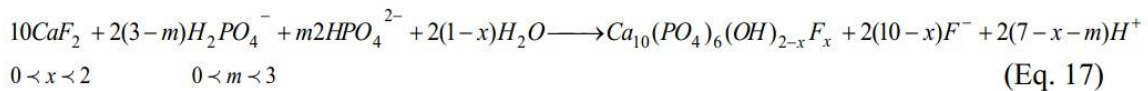
This phenomenon can also interpret by the difference in cation affinity for the exchange sites, which is dependent on several factors such as: the load, the hydrated radius and kind of the cation. According to Coulomb's law, the affinity of exchange increases with the valence of the ion; to load equal the cation with the largest no-hydrated radius is preferentially adsorbed. More no-hydrated radius of cation is low, more its hydrated radius is strong because it attracts water molecules more strongly. A same valence it are a large cations to be fixed preferentially [43].

For the deposition of Ag-FHA, the silver ions were adsorbed and immobilized in the coating of FHA by ion exchange mechanism. We observed a low tenure of Ag^+ ions in the coating witch may be due to the short immersion time (30 min) in the $AgNO_3$ solution. In addition, at room temperature the diffusion of calcium in a well crystallized fluorohydroxyapatite seems much slower [43].

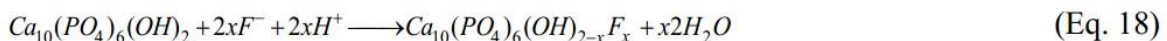
Several studies [9, 15, 34] have been made on the mechanism of formation of fluorohydroxyapatite by electrodeposition. Wang et al. [15] described this mechanism as follows: after F^- ions are added into the electrolyte, Ca^{2+} ions rapidly consume F^- ions in the electrolyte to form CaF_2 , which can be expressed as [15]:



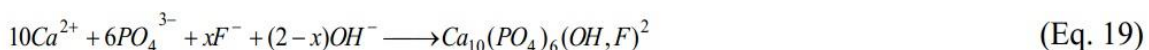
Then, CaF_2 particles further react with HPO_4^{2-} or $H_2PO_4^-$ in the solution to form fluorohydroxyapatite precipitations [15]:



Combining reaction (Eq. 16) and (Eq. 17), we assume that the mechanism of FHA precipitation in our study may be as follows [15]:

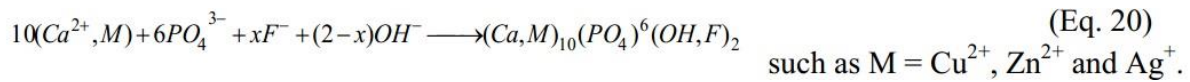


Song et al. [9] showed that the desired FHA coating structure is constructed with the assistance of the cathodic current. Electron transfer at the substrate/electrolyte interface promotes the dissociation of $H_2PO_4^-$ (Eq. 7, 9 and 3), and FHA crystals grow directly on the substrate surface with the increased supersaturation (Eq. 19):



from the brushite DCPD (in an electrolyte solution does not contain fluoride ions) to the pure apatite (FHA) with increase of F⁻ ions concentration in the electrolyte solution.

The introduction of metal ions substitutes for calcium ions as shown by the following equation, with structure of the coatings FHA:



The technique of doping prosthetic coatings by metal ions gives thermodynamically unstable layers. These ions can accelerate their decomposition and solubilities [9, 41]. Conversely, the F⁻ ions increase the structure stability, prolongs this phase transition cycle and inhibit its decomposition, which makes this material more suitable for orthopedic applications [9].

Several studies [9, 23, 44] have reported that the amount of ions (fluorine, zinc, copper and silver) embedded in the prosthetic coatings depends on the method and conditions of synthesis, in other the coating composition can be modified by adding metal ions. But the solid phase concentrations are too small to induce significant changes in lattice parameters.

3.4. Effects of antimicrobial activity coatings

Antimicrobial activities of the samples were tested for microorganisms that can cause implant-related infection [13]. In 1033 cases of total hip and total knee prosthetic arthroplasty infections, the major ones have been found to be caused by aerobic cocci, most commonly *Staphylococcus aureus* (23%), and coagulase-negative staphylococci (25%) [45].

To evaluate the antimicrobial activity of the coatings, we performed tests with pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* the most common organism associated with the infections (*S. aureus*) [13] (belonging to the collection strains of Applied Microbiology Laboratory (AML) at the University of Bejaia).

The results of the quantitative antimicrobial tests in liquid medium are presented in Table 3. These results demonstrate that all metal-doped FHA samples show viable cells reduction in saline solution; which proved that the ions metals released from FHA have strong bactericidal effect against these organisms.

Table 3

Results of viable cell counts and percentages in the samples coated (average results of three separate tests)

Strains	No. of colonies (UFC/ml)					
	witness	FHA	Cu-FHA	Zn-FHA	Cu/Zn-FHA	Ag-FHA
<i>S. aureus</i>	10 ⁶	10 ⁶	58	15	15	> 10 ³
R (%)	0	0	99.9942	99.9985	99.9985	99.9

The percentage of microorganism reduction (R%) was calculated using the (Eq. 21)

$$R = [(C_0 - C) / C_0] * 100 \quad (\text{Eq. 21})$$

where C₀ is the number of microorganism colonies on the saline solution without sample
 Actes des 7èmes Journées Scientifiques de l'ATRSS, les 04-05 mai 2014

and C is the number of microorganism colonies on the samples.

The antimicrobial activity of samples with copper, zinc and zinc/copper was almost similar and gives good results. Several authors [13, 14, 22-27] found that the greater quantity of metal ions are mostly incorporate in the surface of hydroxyapatite particles and inhibit the crystal growth.

The coating doped by Ag^+ ions shows a low efficacy against the stump tested. In

contrast to this, the undoped coating did not show any bactericidal effect. This suggests that the copper, zinc and silver ions have a bactericidal effect against microorganisms.

Previous work [23, 24, 26] on the antimicrobial effects of silver ions showed a strong inhibitory and bactericidal effects as well as a broad spectrum of activity. For this, our results can be explained as follows:

- ✓ the concentration of Ag^+ ions absorbed and immobilized in FHA coating by an ion-exchange mechanism during the immersion of the coated plate in the solution of AgNO_3 may be insufficient to inhibit bacterial growth. This concentration can be improved if we increase the time of immersion of the sample in the solution. This has been raised by Feng et al. [14] in their work when they immersed the coating in a solution of AgNO_3 for 48 hours. So the antimicrobial action of silver ions is proportional to the bioactive silver (Ag^+) released and their willingness to interact with bacterial cell membranes [46].
- ✓ it can also be due to the solubility of Cu-FHA, Zn-FHA, Cu/Zn-FHA coatings compared to the Ag-FHA coated. Yang et al. [27] in their work showed that the storing of the powder reduces the degree of crystallinity and increases the rate of dissolution and degradation of prosthetic coatings which improves their antibacterial properties. In our work, the Ag-FHA coating is tested after a week of his development, unlike to other coatings (Cu-FHA, Zn-FHA and Cu/Zn-FHA). Dissolution studies of antimicrobial materials are a necessary step in assessing the suitability of their use.
- ✓ surface morphology of Ag-FHA coating (rough plate-like crystals) compared to the surface of other coatings which is uniform, smooth and composed of fine grains of a microporous structure, it was easier for metal ions to release from the finer surface [22].

The mechanism of influence of these ions on the strain depends on many factors [46]: The speed by which the ions are released depends on the surface area of coating particles, being higher with larger surface area. Smaller particles and nanoparticles show better results.

Another factor may be the high crystallinity of the coatings, which slows down the process

[27, 46]. Ions (Cu^{2+} , Zn^{2+} and Ag^+) are incorporated on the surface of fluorohydroxyapatite

crystals, which facilitates contact between them and the cell membrane of microorganisms and contribute to the overall reduction in the number of viable cells in liquid medium [23].

The overall results show that the chemical modification of the surface coatings by metal-ions can induce a significant decrease in bacterial adhesion.

Some of the recent reports [23, 24, 47-49] describe the mechanism of antimicrobial activity of the materials that contain metal ions (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ ... etc) by three main mechanisms. First, metal ions incorporated in the crystal surface form strong bonds with amino and carboxyl groups of microorganism membrane, proteins disable them and causing structural changes. Then a microorganism membrane with structural changes exhibits a significant increase in permeability, leaving the microorganism cells incapable of properly regulating transport through the plasma membrane. Finally, metal ions interact with nucleic acids from microorganisms preventing replication and causing cell death.

Further research at relevant human cells and in vitro studies are necessary to evaluate the safety in the use of synthesized doped hydroxyapatite samples for medical purposes.

4. Conclusion

In this study, electrochemical deposition process has been successfully used for synthesis of monophase metal ions-doped fluorohydroxyapatite coatings, which have antimicrobial properties. The analysis of XRD, SEM and EDX showed that this technique is very effective to make deposits of calcium phosphates. The films obtained were dense, uniform and pure, correspond to the data sheets ASTM. The particles of all ions-doped fluorohydroxyapatite coatings are of nano size and homogenous in composition.

It was apparent that a synthesis temperature had a significant impact on surface morphology, microstructure and calcium/phosphorus ratio (Ca/P) of the FHA coatings.

Antibacterial ions co-substituted fluorohydroxyapatite (M-FHA) was prepared by a coprecipitation and ion-exchange methods. Chemical analysis shows that the copper, zinc and silver ions fully incorporated into doped FHA coatings structure and were distributed homogeneously on the surface of layers. It was noticeable that the metal ions reduce the crystallinity of the coatings and improve the surface structure and the behavior of the material in the biological environment. The introduction of these ions gives non-stoichiometric apatites which have a Ca/P ratio less than 1.67.

The evaluation tests of antimicrobial efficiency of the deposits against *S. aureus* bacterial gave very promising results, a clear difference was observed compared to pure apatites. It can be noted, according to the results, that the antimicrobial efficiency of our biomaterials is a function of quantities and type of metal ions.

Thus, prepared ions-doped fluorohydroxyapatite coatings are promising for bone tissue engineering, so to improve the biocompatibility and the integration of the prosthesis for a long term, this work opens many perspectives we expect to achieve the following during our research:

- It confirmed that the coating composition can be modified by synthesis temperature and the addition of metal ions, it remains to show the effect of the therapeutic dose and other antimicrobial agents (such as Cerium) on the FHA coatings and on the pathogenic microorganisms;
- Studies on the frequency of antimicrobial agents release is a necessary step in evaluating the appropriateness of their use;
- In vitro studies are also envisaged

References:

- [1] H. Benhayoune, P. Laquerriere, E. Jallot, A. Perchet, L. Kilian, G. Balossier, J.L. Bubendorff, G.D. Sockalingum, Micrometer level structural and chemical evaluation of electrodeposited calcium phosphate coatings on TA6V substrate by STEM-EDXS, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 13 (2002) 1057–1063.
- [2] Y.Y. Zhang, J. Tao, Y.C. Pang, W. Wang, T. Wang, Electrochemical deposition of hydroxyapatite coatings on titanium, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 16 (2006) 633–637.
- [3] S. Kannan, A. Balamurugan. S. Rajeswari, Electrochemical characterization of hydroxyapatite coatings on HNO₃ passivated 316LSS for implant applications, *Electrochimica Acta*. 50 (2005) 2065–2072.
- [4] Y. Han, K. Xu, Morphology and composition of hydroxyapatite coatings prepared by hydrothermal treatment on electrodeposited brushite coatings, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 10 (1999) 243–248.
- [5] A. Rakngarm, Y. Mutoh, Electrochemical depositions of calcium phosphate film on commercial pure titanium and Ti–6Al–4V in two types of electrolyte at room temperature, *Materials Science and Engineering C*. 29 (2009) 275–283.
- [6] Z.W. Zhao, G. Zhang, H.G. Li, Preparation of calcium phosphate coating on pure titanium substrate by electrodeposition method, *J. Cent. South Univ. Technol.* 11 (2004) 147–151.
- [7] J.H. Park, Y.K. Lee, K.M. Kim, K.N. Kim, Bioactive calcium phosphate coating prepared on H₂O₂-treated titanium substrate by electrodeposition, *Surface & Coatings Technology*. 195 (2005) 252–257.
- [8] X.F. Xiao, R.F. Liu, Y.Z. Zheng, Characterization of hydroxyapatite/titania composite coatings codeposited by a hydrothermal–electrochemical method on titanium, *Surface & Coatings Technology*. 200 (2006) 4406–4413.
- [9] Y. Song, S. Zhang, J. Li, C. Zhao, X. Zhang, Electrodeposition of Ca–P coatings on biodegradable Mg alloy: In vitro biomineralization behavior, *Acta Biomaterialia*. 6 (2010) 1736–1742.
- [10] F. Hanna, Z.A. Hamid, Electrodeposition of biomedical hydroxyapatite coatings on titanium alloy substrate, *Pigment & Resin Technology*. 32 (2003) 319–325.
- [11] M.C. Kuo, S.K. Yen, The process of electrochemical deposited hydroxyapatite coatings on biomedical titanium at room temperature, *Materials Science and Engineering C*. 20 (2002) 153–160.
- [12] Y.W. Song, D.Y. Shan, E.H. Han, Electrodeposition of hydroxyapatite coating on AZ91D magnesium alloy for biomaterial application, *Materials Letters*. 62 (2008) 3276–3279.
- [13] V. Stanic, D. Janackovic, S. Dimitrijevic, S.B. Tanaskovic, M.M. Mirjana, S. Pavlovic, A. Krstic, D. Jovanovic, S. Raicevic, Synthesis of antimicrobial monophase silver-doped hydroxyapatite nanopowders for bone tissue engineering, *Applied Surface*

- Science. 257 (2011) 4510–4518.
- [14] Q.L. Feng, T.N. Kim, J. Wu, E.S. Park, J.O. Kim, D.Y. Lim, F.Z. Cui, Antibacterial effects of Ag-HAp thin films on alumina substrates, *Thin Solid Films*. 335 (1998) 214–219.
- [15] J. Wang, Y. Chao, Q. Wan, Z. Zhu, H. Yu, Fluoridated hydroxyapatite coatings on titanium obtained by electrochemical deposition. *Acta Biomaterialia*, 5 (2009) 1798–1807.
- [16] I. Manjubala, M. Sivakumar, S. Najma Nikkath, Synthesis and characterization of hydroxyl/fluoroapatite solid solution, *Journal of Materials Science*. 36 (2001) 5481–5486.
- [17] H. Oudadesse, G. Guibert, E. Chassot, J.L. Irigaray, S. Terver, G. Vanneuville, Y. Tessier, T. Sauvage, G. Blondiaux, Study by PIXE method of trace elements transferred from prostheses to soft tissues and organs, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 190 (2002) 445–448.
- [18] T.M. Sridhar, U. Kamachi Mudali, M. Subbaiyan, Sintering atmosphere and temperature effects on hydroxyapatite coated type 316L stainless steel, *Corrosion Science*. 45 (2003) 2337–2359.
- [19] Y.L. Jeyachandran, S.K. Narayandass, D. Mangalaraj, C.Y. Bao, W. Li, Y.M. Liao, C.L. Zhang, L.Y. Xiao, W.C. Chen, A study on bacterial attachment on titanium and hydroxyapatite based films, *Surface & Coatings Technology*. 201 (2006) 3462–3474.
- [20] G. Guerrero, J. Amalric, P.H. Mutin, A. Sotto, J.P. Lavigne, Inhibition of bacterial adhesion and prevention of biofilm formation: Use of organic self-assembled monolayers on inorganic surfaces, *Pathologie Biologie*. 57 (2009) 36–43.
- [21] G. Pavon-Djavid, G. Hélarly, V. Migonney, Biomaterials inhibiting bacterial adhesion and proliferation: a challenge to prevent infection of prosthetic materials, *ITBM-RBM*. 26 (2005) 183–191.
- [22] Q.L. Feng, F.Z. Cui, Ag-substituted hydroxyapatite coatings with both antimicrobial effects and biocompatibility, *Journal of Materials Science Letters*. 18 (1999) 559–561.
- [23] V. Stanic, S. Dimitrijevic, J. Antic-Stankovic, M. Mitric, B. Jokic, I.B. Plecas, S. Raicevic, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders, *Applied Surface Science*. 256 (2010) 6083–6089.
- [24] H. Chun, G. Jian, Q. Jiuhui, H. Xuexiang, Efficient destruction of bacteria with Ti(IV) and antibacterial ions in co-substituted hydroxyapatite films, *Applied Catalysis B: Environmental*. 73 (2007) 345–353.
- [25] I.S. Lee, C.N. Whang, K.S. Oh, J.C. Park, K.Y. Lee, G.H. Lee, S.M. Chung, X.D. Sun, Formation of silver incorporated calcium phosphate film for medical applications, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 242 (2006) 45–47.
- [26] T.N. Kim, Q.L. Feng, J.O. Kim, J. Wu, H. Wang, G.C. Chen, F.Z. Cui, Antimicrobial effects of metal ions (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+}) in hydroxyapatite, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 9 (1998) 129–134.

- [27] H. Yang, L. Zhang, K.W. Xu, Effect of storing on the microstructure of Ag/Cu/HA powder, *Ceramics International*. 35 (2009) 1595–1601.
- [28] J. Wang, C. Huang, Q. Wan, Y. Chen, Y. Chao, Characterization of fluoridated hydroxyapatite/zirconia nano-composite coating deposited by a modified electrocodeposition technique, *Surface & Coatings Technology*. 204 (2010) 2576–2582.
- [29] D.J. Blackwood, K.H.W. Seah, Electrochemical cathodic deposition of hydroxyapatite: Improvements in adhesion and crystallinity, *Materials Science and Engineering C*. 29 (2009) 1233–1238.
- [30] E.C. Meng, S.K. Guan, H.X. Wang, L.G. Wang, S.J. Zhu, J.H. Hu, C.X. Ren, J.H. Gao, Y.S. Feng, Effect of electrodeposition modes on surface characteristics and corrosion properties of fluorine-doped hydroxyapatite coatings on Mg–Zn–Ca alloy, *Applied Surface Science*. 257 (2011) 4811–4816.
- [31] D. Dumelie, Ph.D. Thesis, Université de Reims Champagne Ardenne, (2006).
- [32] N. Dumelie, H. Benhayoune, C. Rousse-Bertrand, S. Bouthors, A. Perchet, L. Wortham, J. Douglade, D. Laurent-Maquin, G. Balossier, Characterization of electrodeposited calcium phosphate coatings by complementary scanning electron microscopy and scanning-transmission electron microscopy associated to X-ray microanalysis, *Thin Solid Films*. 492 (2005) 131–139.
- [33] D.Y. Lin, X.X. Wang, Electrodeposition of Hydroxyapatite Coating on CoNiCrMo Substrate in Dilute Solution, *Surface & Coatings Technology*. 204 (2010) 3205–3213.
- [34] J. Li, Y. Song, S. Zhang, C. Zhao, F. Zhang, X. Zhang, L. Cao, Q. Fan, T. Tang, In vitro responses of human bone marrow stromal cells to a fluoridated hydroxyapatite coated biodegradable Mg–Zn alloy, *Biomaterials*. 31 (2010) 5782–5788.
- [35] M.A. Lopez-Heredia, P. Weiss, P. Layrolle, An electrodeposition method of calcium phosphate coatings on titanium alloy, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 18 (2007) 381–390.
- [36] A.C. Derrien, H. Oudadesse, S. Martin, A. Lucas-Girot, G. Cathelineau, T. Sauvage, G. Blondiaux, Mineralization kinetics of various implanted bioceramics, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 226 (2004) 281–290.
- [37] N. Dumelie, H. Benhayoune, D. Richard, D. Laurent-Maquin, G. Balossier, In vitro precipitation of electrodeposited calcium-deficient hydroxyapatite coatings on Ti₆Al₄V substrate, *Materials Characterization*. 59 (2008) 129–133.
- [38] Q. Yuan, T. Diane Golden, Electrochemical study of hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates, *Thin Solid Films*. 518 (2009) 55–60.
- [39] R. Stulajterova, L. Medvecky, Effect of calcium ions on transformation brushite to hydroxyapatite in aqueous solutions, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 316 (2008) 104–109.
- [40] Y. Chen, X. Miao, Thermal and chemical stability of fluorohydroxyapatite ceramics with different fluorine contents, *Biomaterials*. 26 (2005) 1205–1210.
- [41] S.K. Yen, C.M. Lin, Cathodic reactions of electrolytic hydroxyapatite coating on pure

- titanium, *Materials Chemistry and Physics*. 77 (2002) 70–76.
- [42] M.A. El Mhammedi, M. Achak, M. Bakasse, A. Chtaini, Physico-chemical characterization of electrochemical deposit of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ on copper surfaces, *Applied Surface Science*. 253 (2007) 5925–5930.
- [43] D. Marchat, Ph.D. Thesis, Université de Limoges, (2005).
- [44] X. Pang, I. Zhitomirsky, Electrodeposition of hydroxyapatite–silver–chitosan nanocomposite coatings, *Surface & Coatings Technology*. 202 (2008) 3815–3821.
- [45] A. Belcarz, J. Bieniaś, B. Surowska, G. Ginalska, Studies of bacterial adhesion on TiN, SiO_2 – TiO_2 and hydroxyapatite thin layers deposited on titanium and Ti6Al4V alloy for medical applications, *Thin Solid Films*. 519 (2010) 797–803.
- [46] M. Jelínek, T. Kocourek, K. Jurek, J. Remsa, J. Mikšovský, M. Weiserová, J. Strnad, T. Luxbacher, Antibacterial properties of Ag-doped hydroxyapatite layers prepared by PLD method, *Applied physics A: Materials Science & Processing*. 101 (2010) 615–620.
- [47] C. Fournet, Ph.D. Thesis, Université Paris Descartes, (2009).
- [48] G. Untereiner, Ph.D. Thesis, Institut des Sciences et Industries du Vivant et del'Environnement (Agro Paris Tech), (2008).
- [49] S. Monchy, Ph.D. Thesis, Université Libre de Bruxelles, (2007).

GENETIQUE DES AFFECTIONS NEUROMUSCULAIRES FREQUENTES EN ALGERIE

BENHASSINE.T₁, CHERRALLAH.A₂, BOUDRAHEM-ADDOUR.N₁,
HAMADOUCHE.T₃

1 Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, Bab Ezzouar, Alger

2 Faculté des Sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologiques, USDB, Blida

3 Faculté des Sciences, UMBB, Boumerdès

Les maladies héréditaires qui affectent les systèmes nerveux et musculaire sont très fréquentes chez l'homme (près de 5.000 affections génétiques connues, dont plus d'un millier affectent le système neuromusculaire). En Algérie, ces maladies héréditaires posent un grave problème de santé publique en terme de diagnostic, de prise en charge et de prévention pour les malades et leurs familles, affectant ainsi une portion importante de la population, et ce tout particulièrement en ce qui concerne les formes autosomiques récessives en raison du fort taux d'endogamie. Parmi ces affections, nous citerons notamment les neuropathies périphériques sensitivo-motrices, les motoneuropathies, les dystrophies musculaires progressives ou les maladies neurodégénératives (ataxies et maladie de Parkinson).

Nous nous sommes donc assigné plusieurs objectifs à travers nos explorations :

- l'élaboration de stratégies diagnostiques adaptées à notre pays.
- le diagnostic et la mise en place de tests génétiques rapides et fiables *in situ*.
- l'appréciation de la composante génétique de notre population par rapport à ces maladies.
- la contribution à l'effort international d'identification et de caractérisation de nouveaux loci, gènes et mutations impliqués dans les pathologies neuromusculaires.

Un réseau de collaboration extrêmement actif (généticiens, biologistes moléculaires, neurologues, neuropédiatres, neurophysiologues, anatomo-pathologistes, ...) s'est ainsi mis en place, notamment en raison de la forte demande des patients faisant face à ces maladies très invalidantes.

Les maladies neuromusculaires que nous nous sommes proposé d'explorer affectent différents compartiments du système neuromusculaire : le système musculaire (SM) en nous intéressant particulièrement aux dystrophies musculaires, le système nerveux périphérique (SNP) en nous focalisant sur les neuropathies périphériques et les moto-neuropathies, et le système nerveux central (SNC), en ciblant notamment la maladie de Parkinson.

Les moto-neuropathies ou atrophies musculaires spinales sont des maladies neuromusculaires caractérisées par une dégénérescence des alpha-motoneurones de la corne antérieure de la corde spinale, comptant parmi les maladies héréditaires létales à transmission autosomique récessive les plus fréquentes (incidence de 1/6.000 naissances) chez l'enfant. Classées en plusieurs types, dont le type I (maladie de Werdnig-Hoffmann) qui est le plus sévère en provoquant la mort du patient avant l'âge de un an, notre approche diagnostique reposait sur la recherche de l'altération moléculaire la plus fréquente : délétion homozygote d'au moins l'exon 7 du gène SMN (94-98%), mais aussi l'étendue de cette délétion (exon 8) et des événements de conversion génique (2-5%).

Les neuropathies héréditaires sensitives et motrices (HMSN ou CMT) sont caractérisées par une atteinte musculaire et sensitive avec faiblesse chronique, des déformations du pied et une perte des réflexes tendineux profonds. Ce sont les maladies neurologiques héréditaires les plus fréquentes (1/2.500) chez l'homme et elles sont caractérisées par une grande hétérogénéité clinique, électro-physiologique, anatomopathologique et génétique (tous les modes de transmission y sont rencontrés: dominant, récessif, autosomique et lié à X).

On dénombre à ce jour une soixantaine de loci/une trentaine de gènes (dont une vingtaine de loci/gènes impliqués dans les neuropathies à transmission autosomique récessive). La démarche diagnostique que nous avons suivie a été adaptée au fur et à mesure de nos analyses moléculaires et de l'expérience acquise. Sans écarter les formes dominantes fréquentes en Europe (CMT1A PMP22, CMT1B MPZ, CMTX1 CX32), nous nous sommes focalisés sur les formes autosomiques récessives en ciblant certains gènes fréquemment altérés dans notre population, tout particulièrement en recherchant la mutation fondatrice c.892C>T (p.Arg298Cys) dans le gène LMNA (CMT2B1), forme de CMT prévalente dans notre pays.

Pour ce qui concerne la maladie de Parkinson, un ensemble d'affections à composante multifactorielle complexe, une trentaine de formes génétiques ont été caractérisées à ce jour, impliquées dans des modes de transmission autosomiques dominants/récessifs de la maladie. Une forme particulière s'individualise dans notre pays par sa forte prévalence, la forme PARK8, étant donné qu'elle est incriminée chez environ 40% des patients, que la maladie soit familiale ou se manifeste au titre de cas sporadiques. Bien que plusieurs mutations pathogènes aient été décrites dans le gène responsable (LRRK2), une seule altération moléculaire, c.6055G>A (p.Gly2019Ser), est responsable de la quasi-totalité des anomalies dans ce gène chez les patients Algériens en raison d'un effet fondateur avéré. Nous avons donc mis au point une approche PCR-RSI pour la mise en évidence du statut des patients vis-à-vis de cette mutation : homozygote normal, homozygote muté ou hétérozygote, profils aisément identifiables sur gel d'agarose et que les électrophorogrammes obtenus par séquençage ont permis de valider.

Les dystrophies musculaires progressives sont des maladies héréditaires caractérisées par un déficit de la force musculaire et une atrophie des masses musculaires. Parmi ces affections, nous distinguerons : la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), myopathie la plus répandue chez l'enfant (2-3 cas/10.000 garçons à la naissance), la dystrophie musculaire de Becker (BMD), moins sévère (affectant 1 garçon sur 30.000 naissances), et les dystrophies musculaires des ceintures, qui constituent un groupe d'affections cliniquement et génétiquement très hétérogènes, touchant les muscles des ceintures (pelvienne et scapulaire). Tous les modes de transmission y sont rencontrés, avec actuellement une quarantaine de loci et une trentaine de gènes connus. Pour notre part, nous nous sommes intéressées aux formes récessives les plus fréquentes : les dystrophinopathies (DMD/BMD), en recherchant les mutations les plus fréquentes (délétions intragéniques) dans le gène DMD codant la dystrophine, et ce par PCR multiplexe, et la sarcoglycanopathie LGMD2C, en recherchant la mutation fondatrice c.525delT dans le gène SGCG, et ce par PCR-SSCP/séquençage.

A travers des approches basées sur la PCR, telles que la PCR multiplexe, la PCR-RFLP, la SSCP, l'HA, la PCR-RSI, ou le séquençage, des centaines de malades ont pu être explorés sur un plan moléculaire, montrant que près de 50% des familles ont pu bénéficier d'un diagnostic moléculaire précis, avec tout ce que cela peut entraîner en terme de dépistage d'hétérozygotes et de conseil génétique.

Ce criblage moléculaire des patients n'a pu être réalisé qu'après mise en place des tests moléculaires nécessaires aux investigations, tout autant que la mise au point d'approches d'exploration adaptées.

Nos résultats ont ainsi pu souligner la fréquence élevée de certaines des affections étudiées, mettant en évidence l'occurrence préférentielle d'altérations moléculaires, que ce soit en raison de sites mutationnelles privilégiés ou en raison d'effets fondateurs avérés.

des stratégies d'exploration rationnelles des maladies héréditaires à forte prévalence, tout autant qu'elle met à disposition des patients et de leurs médecins des diagnostics différentiels à même de caractériser le statut des malades, posant alors les bases d'un conseil génétique éclairé et précis à l'attention des familles demandeuses, et ce dans l'attente de la disponibilité d'approches thérapeutiques efficaces visant à freiner et guérir leur maladie.

Pour le reste des familles, grâce à un réseau international de collaboration, des analyses plus poussées sont également en cours :

- Analyses de liaison par "homozygosity mapping"
- Genome scan
- Génotypage sur puces (STRs, SNPs)
- Approches gènes candidats chez les familles pour lesquelles une région candidate était délimitée
- dHPLC, séquençage à haut débit, RT-PCR, ...

et ce, en vue de localiser, d'identifier et de caractériser de nouveaux loci, gènes, mutations et mécanismes mutationnels impliqués chez les malades présentant les affections neuromusculaires choisies.

L'ensemble de notre travail, qui se poursuit encore, aura donc permis de prendre une sorte de "cliché photographique" nous renseignant sommairement sur la fréquence de certaines affections neuromusculaires dans notre pays, permettant :

- d'offrir aux patients un diagnostic moléculaire précis.
- de réaliser rapidement et en routine des tests génétiques pour un diagnostic efficace *in situ*.
- de mettre en évidence des mutations fréquentes.
- de mettre en place une approche moléculaire diagnostique rationnelle et adaptée, en prenant en considération le contexte de consanguinité prévalant en Algérie.
- de poser les jalons d'une meilleure prise en charge de ces pathologies sur un plan génétique.
- de contribuer à l'effort international d'identification et de caractérisation de nouveaux loci, gènes et mutations impliqués dans ces pathologies héréditaires.
- de contribuer à une meilleure connaissance de la physio-pathogenèse de ces maladies.
- d'élargir le panel de malades/de maladies.
- de laisser entrevoir l'espoir que les malades puissent un jour bénéficier d'une thérapie médicamenteuse/génique.

BROUK.H¹, ZERMAT.B.B¹, DJABRI.Y², FATMI.T³, OUELAA.H1

¹ Service d'Hémodiologie et Transfusion Sanguine. CHU Annaba. Faculté de Médecine d'Annaba. Université Badji Mokhtar d'Annaba

² Service de Gynécologie. CHU Annaba. Faculté de Médecine d'Annaba. Université Badji Mokhtar d'Annaba

³ Service de Pédiatrie. EHS ElBouni Annaba

RESUME :

Introduction :

Les thrombopénies fœtales et néonatales allo-immune TFNAI peuvent avoir des conséquences délétères en cas d'hémorragie intracrânienne. La récurrence de l'atteinte fœtale est très élevée et sa sévérité est amplifiée lors des grossesses ultérieures. De nouveaux programmes récemment adoptés ont mis en évidence que le dépistage systématique est une option de santé publique et permet de réduire la morbidité et la mortalité. Ce screening permettra un diagnostic précoce chez les femmes à risque.

Matériel et méthodes :

952 femmes enceintes sont incluses. Le diagnostic des TFNAI est réalisé par MAIPA. Le phénotypage HPA-1 est réalisé par kit ELISA et les génotypages HPA-1 et HLA-DRB3*0101 par PCR-SSP.

Résultats et Discussion:

55 cas de phénotype HPA-1a négatif semblent être à un risque d'allo-immunisation plaquettaire. Le génotypage HPA-1 réalisé sur une première série de 26 femmes a révélé 13 cas HPA-1bb (2.9%), en Algérie la fréquence génotypique représente 2.29%. Des mutations du gène ITGB3 décrites expliquent les discordances phénotype/génotype HPA-1b. Sur les 13 femmes HPA-1bb, 03 soit (23.07%) sont HLA-DRB3*0101. la présence de cet allèle augmente le risque de sévérité de la TFNAI et réduit l'efficacité du traitement par IGIV. Trois thrombopénies néonatales ont été recensées chez ces femmes HPA-1bb sans détection d'anticorps anti-HPA-1a aux MAIPA. Cette négativité sérologique (littérature~70%) peut être expliquée par plusieurs hypothèses telles que le titre faible des Ac.

Conclusion :

Les observations tirées de ces études bénéficiant de programme de screening et d'intervention montrent qu'on peut prévenir approximativement 80% des décès et de séquelles liés aux TFNAI.

1. INTRODUCTION :

Le Dépistage et la prise en charge des femmes à risque de Thrombopénie fœtale/néonatale allo-immune (TFNAI) ainsi que des enfants atteints nécessitent une collaboration multidisciplinaire entre hématologistes, obstétriciens et néonatalogistes, appuyée et soutenue par les prestations et les services de médecine transfusionnelle et des laboratoires spécialisés d'immunologie plaquettaire [1]. La TFNAI est considérée comme l'équivalent plaquettaire de la maladie hémolytique du nouveau né MHNN; cependant plusieurs éléments l'en distinguent dont l'atteinte possible du premier enfant. Elle est le résultat de l'immunisation maternelle vis-à-vis d'antigènes plaquettaires fœtaux « human platelet antigen HPA » provenant du père et dont la mère en est dépourvue [2]. Cette allo-immunisation est à l'origine de la destruction des plaquettes fœtales par les immunoglobulines (Ig) de type G qui traversent le placenta dès 14 semaines de gestation [3][4]. Cette atteinte, dont l'incidence a été estimée à 1 cas pour 1000 – 2000 naissances vivantes [5] est responsable de la survenue des accidents hémorragiques, le risque majeur demeure prénatal avec la possibilité d'apparition des hémorragies cérébrales avant 20 semaines de gestation. Le nouveau né peut présenter des accidents hémorragiques dont les plus graves sont les hémorragies intracrâniennes HIC à l'origine de séquelles neurologiques (15-20%) [6] ou de décès (10%) [7]. Chez les caucasiens l'anticorps anti-HPA-1a est reconnue responsable dans approximativement 80% des cas sévères de TFNAI [8][1][9]. Le phénotype HPA-1a est prédominant chez la population caucasoïde et la réponse allo-immune dans le système HPA-1 est étroitement liée à l'expression du phénotype HLA-DRB3*0101 [10]. Les fréquences de ces deux phénotypes dans la population Algérienne sont très proches de celles observées chez les caucasiens [11][12]. La mise en œuvre d'un dépistage systématique des TFNAI permet une évaluation du risque d'allo-immunisation dans le système HPA-1 afin de prévenir leurs complications. Ce screening permettra un diagnostic très précoce par l'identification des allo anticorps anti HPA-1a chez les femmes phénotypées HPA-1bb durant la première grossesse ; une évaluation du risque d'allo-immunisation plaquettaire fœto-maternelle et une réduction de la mortalité et les infirmités néonatales liées à cette atteinte. Ce screening permettra une application d'éventuelles options supplémentaires dans le but d'améliorer le management des TFNAI [13].

2. MATERIEL ET METHODES :

2.1. Patients et échantillons biologiques :

Deux prélèvements sanguins de 5 à 10ml sur tube EDTA et Sec ont été réalisés chez 952 femmes en deuxième ou troisième trimestre de gestation. Les prélèvements ont été acheminés en respectant les conditions optimales de conservation au Service d'hémobiologie et Transfusion sanguine du CHU d'Annaba. Un prélèvement de 2 ml sur tube EDTA a été réalisé chez les nouveaux nés des femmes à risque de TNAI incluses dans ce programme de screening (HPA-1bb).

2.2. Méthodes :

a. HPA-1 Phénotype :

Le typage des plaquettes dans le système HPA-1 est réalisé par une technique immuno-enzymatique en une seule : Polymorphisme HPA-1a/b sur la glycoprotéine GP IIb/IIIa (HPA-1a Typing Assay kit. BIO-RAD).

b. Extraction de l'ADN :

La micro méthode Qiagen a été utilisée pour l'extraction de l'ADN à partir du sang total (QIAamp DNA Blood Mini kit) selon les instructions du fabricant.

d. HPA-1 and HLA DRB3*0101 Génotype :

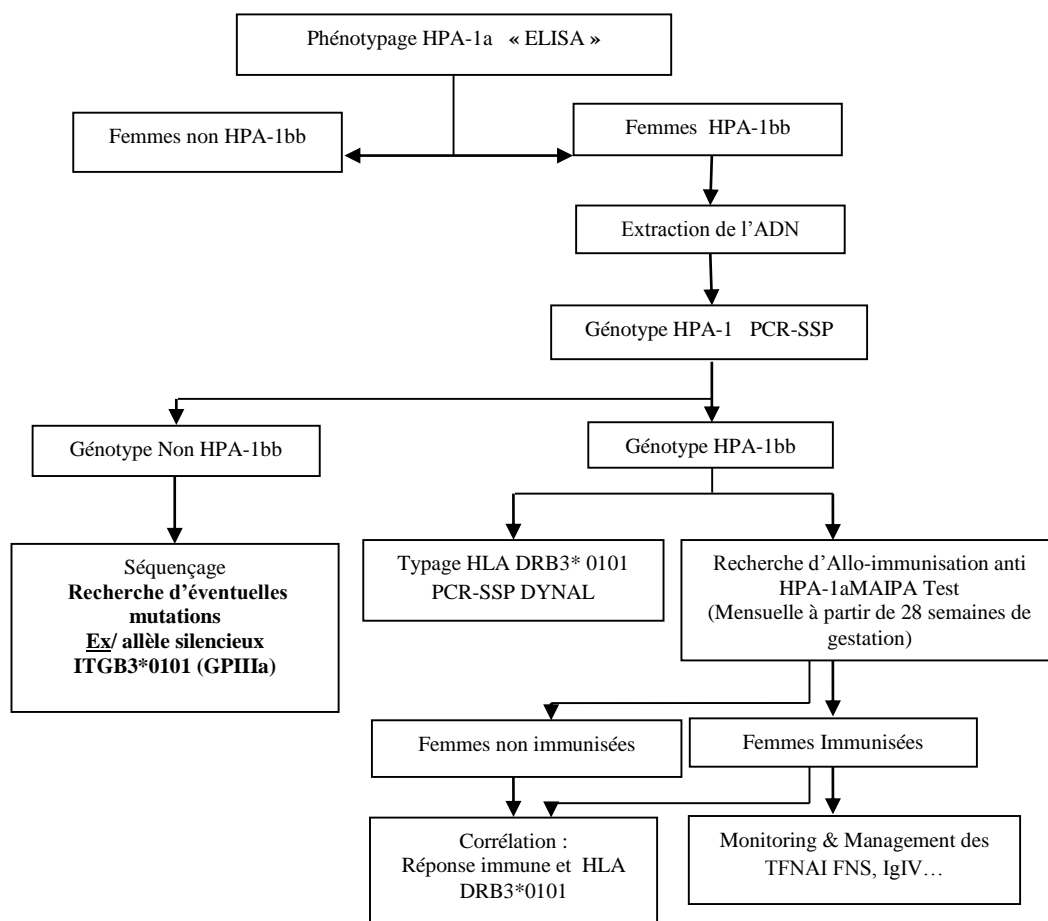
Le génotypage plaquettaire pour les systèmes HPA-1, -2, -3 et -5 a été déterminé par polymérase chain reaction sequence specific primer (PCR-SSP) utilisant Gene Amp PCR System 9600 (Perkin Elmer AB Applied Biosystems)

d. Numération plaquettaire :

Les nouveaux nés des femmes à risque d'allo-immunisation (HPA-1bb) ont bénéficié d'une numération formule sanguine sur HMX Beckman Coulter.

e. Détection et identification des anticorps anti-HPA :

la recherche des anticorps anti-HPA est réalisée par le Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen (MAIPA) utilisant 10 µL d'anticorps monoclonaux (anti-GPIaIIa clone P16 ; anti-GPIIbIIIa clones PL1-64 and PL2-46; anti-GPIbIX clone GRP ; anti-HLA class I clone B1G6 anti B2-microglobuline) et 30 µL de plaquettes typées dans les systèmes HPA-1,-3 et -5 (Kiefel et al., 1987) [14].



3. RESULTATS :

Sur 952 prélèvements sanguins de femmes enceintes : 897 femmes (soit 94.22%) ayant un phénotype HPA-1a positif étaient exclus de l'étude. 55 cas (soit 5.77%) de phénotype HPA-1a négatif semblent avoir un risque d'allo-immunisation plaquettaire dans le système HPA-1. Sur 447 échantillons ; 13 cas étaient confirmés HPA-1bb par PCR-SSP soit une fréquence de 2.9%. Les autres cas HPA-1a négatif restant soit 29 cas feront l'objet d'un génotypage ultérieur.

Tableau N°01 : Résultats du phénotypage HPA-1a par ELISA

	HPA-1a positif	HPA-1a négatif	Total
Nombre	897	55	952
Pourcentage	94.22	05.77	100

Tableau N°02: Résultats du génotypage HLA par PCR SSP DYNAL des femmes HPA-1bb

HLA DRB3	0202	0301	0101	0202 + 0101	NUL	Total
Nombre	4	4	1	2	2	13
Pourcentage	38.78	38.78	7.68	15.38	15.38	100

Tableau N°03 : Répartition des femmes HPA-1bb HLA DRB3*0101

	HPA-1bb HLA DRB3*0101	HPA 1bb HLADRB3*0101 nég	Total
Nombre	03	10	13
Pourcentage	23.07 %	96.93%	100 %

Graphe N°01: Répartition des femmes à risque d'allo-immunisation selon les complications de la grossesse

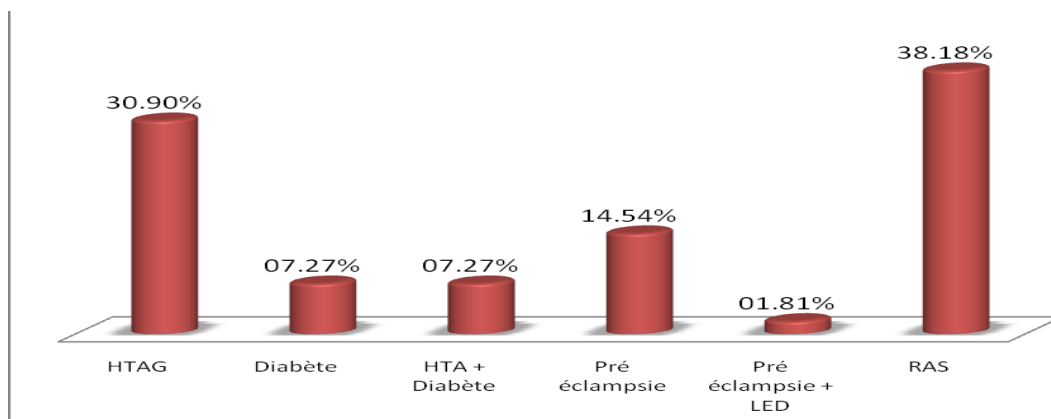


Tableau N° 04: Répartition des nouveau-nés selon le taux de plaquettes

Taux Plq	50 à 80 G/L	>150 G/L	Total
Nombre	04	38	42
Pourcentage	9.52	90.48	100

Tableau N°05: Répartition des nouveau-nés selon l'évolution

Evolution	Décès	Favorable	Total
-----------	-------	-----------	-------

Nombre	03	39	42
Pourcentage	7.1	92,9	100

Tableau N°06: Résultats de la recherche des allo-anticorps anti-HPA-1a chez les femmes HPA-1bb HLA DRB3*0101 par MAIPA.

	Présence Ac anti-HPA-1a	Absence Ac anti-HPA-1a	Total
Nombre	00	03	3
Pourcentage	00	100	100

Tableau N°07: Fréquences alléliques et génotypiques des donneurs de sang réguliers d'Annaba

Système HPA-1 ; Nombre = 92		
Fréquence alléliques	1a	0.793
	1b	0.207
Fréquences génotypiques	1a1a %	63.05
	1a1b%	32.60
	1b1b%	4.35

4. DISCUSSION :

Le typage des femmes enceintes dans le système HPA-1 semble être la première étape logique du dépistage. Les femmes trouvées, par des techniques immuno-enzymatiques, HPA-1a positif seront exclues de l'enquête. La confirmation du phénotype chez les femmes retrouvées séronégatives ou les femmes dont le phénotype est douteux se fait par une étude génotypique par PCR-SSP.

Selon le tableau 1 ; 94,22% des cas sont porteur de l'antigène HPA-1a. En effet Contreras et al. en Grande Bretagne, Decary et al. au Canada, Soulier et al. en France et Shibata et al. au Japon ont respectivement trouvé : 98,24%, 98,17%, 97,58% et 100%. En réalité le phénotype HPA-1a est cosmopolite, non spécifique d'une race donnée [15].

Plusieurs études ont démontré l'intérêt de déterminer le typage plaquettaire par des méthodes complémentaires afin d'éviter toute erreur en lien avec un polymorphisme génétique à l'origine de discordance de génotypage. La fiabilité du typage plaquettaire sera ainsi meilleure lorsque le phénotypage et le génotypage sont conjointement réalisés, ou bien lorsque deux méthodes de génotypages différentes sont utilisées [16].

Le génotypage partiel a révélé 13 cas HPA-1bb (13/447 soit 2,9%) et 05 cas hétérozygotes HPA-1ab. Cette fréquence rejoint celle décrite dans la population Algérienne selon Brouk et al. en 2010 [11] soit (2,29%). Les discordances constatées entre les phénotypes et génotypes peuvent être liées à un allèle rare et silencieux ITGB3*0101 (GPIIIa) selon Smith G.A. et al. [17] Les techniques immuno-enzymatique sont d'une grande utilité dans les programme de screening de TFNAI, cependant les cas considérés comme étant à risque de TFNAI doivent être confirmé par un génotypage HPA-1 afin d'éviter les investigations immunologiques inutiles.

La présence chez ces femmes HPA-1a négatif de L'antigène HLA DR3*0101 constitue un facteur majeur favorisant la réponse immunitaire antiplaquettaire. Il est nécessaire dans le programme de dépistage d'associer la recherche de ce phénotype HLA classe II chez ces femmes à risque par des techniques de génotypage.

Selon les tableaux 2 et 3 ; Sur les 13 femmes HPA-1bb une seule femme est HLA DRB3*0101 et 2 femmes ont une association HLA DRB3*0101 et HLA DRB3*0202. Les femmes gestante HPA-1bb HLA DRB3*0101 ont une fréquence de 23,07 %. La fréquence de l'antigène HLA DRB3*0101 trouvée dans la population algérienne est de 17,92% [12]. Elle est similaire à celle

observée dans la population tunisienne (18%) [18] et supérieure à celle de la population marocaine (14,3%) [19]. Dans ces populations, la fréquence de tel antigène (HLA DRB3*0101) accroît le risque d'allo-immunisation. La molécule HLA DRB3*0101 pourrait être impliquée dans la présentation de l'Ag HPA-1a aux CPA stimulant ainsi la production de l'anticorps anti-HPA-1a. L'Antigène HLA DRB3* 0101 possède 3 poches : P1 (tryptophane en position 25), P4 (ac aspartique en position 28) et P9 la plus impliquée dans cette allo-immunisation (leucine en position 33). Les résultats d'études rétrospectives et prospectives ont montrées que 90% des femmes phénotype HPA -1bb allo immunisées sont HLA DRB3*0101 positives. Selon *Loewenthal R et al.* ; la présence de l'allèle HLADRB3*0101 augmentent le risque de sévérité de la TNAI et réduit l'efficacité du traitement par IGIV [20].

Selon le graphe 1 ; Presque 2/3 des grossesses étaient compliquées (61.82%). L'HTA gravidique est la complication la plus fréquente (38.17%); 14.54% des gestantes étaient diabétiques. Dans les TNAI, la thrombopénie est souvent isolée. Cependant les associations ne doivent pas être méconnues telles que la coexistence d'une infection ou d'une auto-immunité maternelle [16]. Selon C. Kaplan, une association avec d'autres causes avait été retrouvée dans 14 % des cas [21].

Selon le tableau 4 et 5 ; 9.52% des cas ont présenté une thrombopénie modérée. Les numérations plaquettaires n'étaient pas réalisées de façon systématique en absence de signes hémorragiques. Sur les quatre décès ; une mort est survenue in utero à la 34ème Semaine d'aménorrhée et l'hémorragie intracrânienne était suspectée pour deux cas.

D'après le tableau 6 ; aucun anticorps n'a été détecté. Selon la littérature on s'attendait à un cas positif. Des études ont montré que 30% des femmes HPA-1bb HLA DR B3*0101 développent une allo-immunisation anti-HPA-1a. Husebekkk A et al. ont trouvé, dans le cadre du dépistage des Ac anti-HPA-1a chez les femmes HPA-1a négatives, que 2.1% des femmes sont HPA-1bb dont 10.6% d'entre elles ont développées une allo-immunisation [22]. Lorna M. Williamson et al. ont détecté chez 46 cas des Ac anti-HPA-1a sur les 385 femmes HPA-1bb (12%) et ont trouvé l'association des allo anticorps maternels anti-HPA-1a avec l'allèle HLA DRB3*0101 chez 43 femmes (valeur prédictive positive = 35%). Un seul cas d'allo immunisation chez une femme négative pour cet allèle était observé. Selon la même étude, la TFNAI à anti-HPA-1a est apparue dans approximativement 1 sur 350 grossesses, ce qui correspond à 11.4% des femmes HPA-1a négatives. D'autres études ont trouvé : 0% (Panzer S et al.); 1.4% (Doughty HA. et al.); (6%, Blanchette VS et al.); 10% (Durand-Zaleski I et al.) [23].

G. Bertrand et al. (2011), dans une étude similaire, n'ont trouvé aucune corrélation significative entre la présence de l'allèle HLA-DRB3 et la concentration des allo-anticorps maternels à l'accouchement ou le taux de plaquettes à la naissance. Par contre, ils confirment dans la même étude qu'une concentration élevée des allo anticorps maternels mesurés avant la 28 semaine d'aménorrhée et avant tout traitement immunomodulateur est corrélée avec une thrombopénie fœtale sévère. Ils concluent que la concentration des allo anticorps maternels pendant la grossesse peut être un paramètre prédictive de la thrombopénie fœtale et aussi un facteur pronostic de la réponse thérapeutique. Ce paramètre est important pour guider la décision du traitement non invasif [24].

La négativité des tests MAIPA réalisés peut être aussi expliquée par:

- ✓ anticorps de faible affinité et/ou de faible titre, difficilement détectables, (compétition qui peut se produire entre les anticorps humains et les anticorps monoclonaux, mais

également en raison de l'étape de lyse qui peut fragiliser les complexes trimoléculaires) ^[16]

- ✓ présence d'un Ac dirigé contre un Ag rare ou privé ^[25]
- ✓ sensibilisation maternelle lors de l'accouchement (immunisation mise en évidence dans le post-partum) ^[21]
- ✓ incompatibilité antigénique sans Ac présents chez la mère ^{[15] [25]}
- ✓ absence d'incompatibilité mère/nouveau né ^[21]

Dans ces cas difficiles, il est nécessaire de compléter les investigations avec de nouveaux prélèvements, retester à distance raisonnable de l'accouchement (environ 1 à 2 mois) en raison de l'évolution variable de l'anticorps maternel dans le post-partum et mettre en œuvre des techniques plus complexes. [25]

Afin de prendre en charge à temps certains cas de TFNAI, suivies dans le cadre de ce programme de screening et nécessitant des transfusions compatibles, un génotypage plaquettaire dans le système HPA-1 des donneurs de sang réguliers est en cours de réalisation (tableau 7 : résultats préliminaires). L'objectif est de constituer un panel de donneurs de sang de génotype plaquettaire HPA-1bb pour optimiser la prise en charge précoce des cas de TFNAI à anticorps anti-HPA-1a par des transfusions de concentrés de plaquettes séro-compatibles et éviter ainsi le risque d'hémorragies intracrâniennes avec ses conséquences délétères. Cette démarche est inscrite dans le cadre du renforcement des mesures d'accompagnement de certaines options thérapeutiques (Ex : Césarienne programmée...) et ce pour un maximum d'efficacité. Ce travail sera poursuivi sur un nombre d'échantillons plus représentatif associant les critères cliniques prédictifs de la TNAI et les examens biologiques nécessaires pour assurer le screening, confirmer le diagnostic, prendre en charge des TFNAI et mieux comprendre le mécanisme physiopathologique de la réponse allo-immune. Les forums internationaux ont montré qu'il n'y a pas de standardisation dans la prise en charge de ces grossesses. Cependant les protocoles évoluent vers une réduction sensible des gestes invasifs en raison de leurs risques inhérents. De ce fait, un projet complémentaire collaboratif sur les quantifications en allo-anticorps anti HPA-1a chez les femmes HPA-1bb serait nécessaire. Les résultats issus de ces travaux pourront contribuer à affiner au mieux les protocoles de suivi et de prise en charge des femmes enceintes à risque d'immunisation pour le système HPA-1.

CONCLUSION :

La TFNAI est une pathologie parfois méconnue ayant des conséquences gravissimes. En raison du risque majeur d'hémorragie intracrânienne, le diagnostic biologique est indispensable pour prendre en charge les patients atteints et suivre les grossesses ultérieures. Des études collaboratives sur le screening et l'étude de la réponse allo-immunes sont nécessaires pour répondre aux questions en suspens sur la physiopathologie et le management des TFNAI. Certains pays ont adoptés de nouveaux et vastes programmes de screening et d'interventions au cours des grossesses, dans le but de réduire la morbidité et la mortalité des TFNAI. Ce screening permettra un diagnostic très précoce par l'identification des allo anticorps anti HPA-1a, responsables des thrombopénies sévères chez les femmes phénotypées HPA-1bb durant la première grossesse, et une application d'éventuelles options supplémentaires pour améliorer le management des TNAI. Les observations tirées des études bénéficiant de programme de screening et d'intervention montrent qu'on peut prévenir approximativement 80% des décès et de séquelles liés aux TFNAI.

REFERENCES:

- [1]: Donald M. Arnold, James W. Smith, and Jhon G. Kelton. **Diagnosis and management of neonatal alloimmune thrombocytopenia.** *Transfusion Medecine Reevews* 2008. Vol22,n°4 :255-267
- [2]: Kaplan C. **Les thrombopénies foetales et néonatales allo-immunes: problems en suspens.** *Transfusion clinique et biologique* 2005 ;12 :131-134
- [3]: Bertrand G ; Martageix C ; jally v ; Vitry F ; Kaplan C ; **predictive value of sequential maternal anti-HPA-1a antibody concentrations for the severity of fatal allo immune thrombocytopenia.** *J Thromb Hamost* 2006.
- [4]: Kaplan C., Morel-Kopp MC., Verdy E., Pron B., Tchernia G., et al. **Thrombopénies fœtales et néonatales immunes.** *La presse médicale*, 31 octobre 1992, 21, n°36 : 1717-1724.
- [5]: Bussel James B., Primiani Andrea. **Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: progress and ongoing debates.** *Blood Reviews* 2008. 22:33-52.
- [6]: Radder CM, De Haan MJJ, Brand A, Stoelhorst GMSJ, Veen S, Kanhai HHH. **Follow up of children after antenatal treatment for alloimmune thrombocytopenia.** *Early Human Development* 2004; 80:65-76.
- [7]: Bessos Hagop, Seghatchian J. **What's happening? The expanding role of apheresis platelet support in neonatal alloimmune thrombocytopenia: current status and future trends.** *Hagop Bessos. Transfusion and apheresis science* 2005; 33:191-197
- [8]: Kjeldsen-Kragh J, Husebekk A, Killie MK, Skogen B. **Is it time to include screening for neonatal alloimmune thrombocytopenia in the general antenatal health care programme?.** *Transfusion and Apheresis Science* 2008; 38:183-188
- [9]: Davoren A, Curtis BR, Aster RH, et al. **Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia.** *Transfusion* 2004; 44:1220-1225
- [10]: Valentin N, Vergracht A, Bignon JD, et al. **HLA- DRw52a is involved in alloimmunization against PL-A1 antigen.** *Hum Immunol* 1990: 27: 73-79.
- [11]: Brouk H, Halle L, Bertrand G, Neche FZ, Ouelaa H & Kaplan C. **Human platelet antigen allele frequencies in different Algerian populations.** *Tissue Antigens* 2010;75(6):673-678.
- [12]: Arnaiz-Villena A, Benmamar D, Alvarez M et al. **HLA allele and haplotype frequencies in Algerians. Relatedness to Spaniards and Basques.** *Hum Immunol* 1995: 43: 259-68.
- [13]: Murphy MF, Williamson LM. **Antenatal screening for fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: an evaluation using criteria of the UK National Screening Committee.** *British Journal of Haematology* 2000; 111:726-732
- [14] : Kiefel et al : **Platelet Antibody Detection Using Monoclonal Antibodies (MAIPA assay).** *Blood* 1987; 7:1722-1726

- [15] : Anani L. Bigot A. Latoundji S. Halle L. Adeichan O. Zohoun I. Kaplan C. **L'incompatibilité foeto-maternelle antiplaquettaire, à propos de 238 gestantes à Cotonou.** *Journal de la société de biologie clinique* 2005 ; 9 : 10-15
- [16] : Bertrand G. Kaplan C. **Les thrombopénies fœtales et néonatales alloimmunes.** *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2013 ; 28,5-6 :335-342
- [17] : Smith GA et al. **Severe fetomaternal alloimmune thrombocytopenia due to anti-human platelet antigen (HPA)-1a in a mother with a rare and silenced ITGB3*0101 (GPIIIa) allele.** [Vox Sang](#) 2007. ; 93(4):325-30.
- [18] : Ayed K, Ayed-Jendoubi S, Sfar I, Labonne MP, Gebuhrer L. **HLA class-I and HLA class-II phenotypic, gene and haplotypic frequencies in Tunisians by using molecular typing data.** *Tissue Antigens*: 64: 520 – 32, 2004
- [19] : Oumhani K, Canossi A, Piancatelli D et al. **Sequence-based analysis of the HLA-DRB1 polymorphism in Metalsa Berber and Chaouya Arabic-speaking groups from Morocco.** *Hum Immunol* 2002; 63: 129 – 38.
- [20] : Loewenthal R, Rosenberg N, Kalt R, Dardik R, Landau M, Yahalom V, Avishai O, Frenkel O, Gazit E, Steinberg DM, Lipitz S, Salomon O. **Compound heterozygosity of HLA-DRB3*01:01 and HLA-DRB4*01:01 as a potential predictor of fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia.** *Transfusion* 2013;53(2):344-52
- [21] : Kaplan C. Alloimmunisation antiplaquettaire et diagnostic biologique. *RFL Rev* 2012 ; 439 : 49-54
- [22] : Husebekk A. El Ekiaby M. et al. **Foetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in Egypt; human platelet antigen genotype frequencies and antibody detection and follow up in pregnancies.** *Transfusion and apheresis science* 2012;47(3): 277-282
- [23] : Williamson LM. Et al. **The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet specific antigen HPA-1 (PLA1, Zwa) as determined by antenatal screening.** *Blood* 1998; 92(7):2280-87
- [24]: Bertrand G, Drame M, Martageix C, Kaplan C. **Prediction of the fetal status in noninvasive management of alloimmune thrombocytopenia.** *Blood.* 2011; 117(11):3209-3213.
- [25]: Kaplan C. **Incompatibilités sanguine plaquettaires maternofoetales.** *EMC Pédiatrie* 2005 ;2 :58-64.

DETERMINATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES SOUS-TYPES MOLECULAIRES EN CARCINOLOGIE MAMMAIRE DES UNE POPULATION DE L'OUEST ALGERIEN.

Phenotypic evaluation of molecular subtypes breast cancer in a population of west Algerian.

BEKKOUCHE.Z*, GUEDOUAR.Y *, BEN ALI.F**, EL KEBIR.F.Z*.

**Université d'Oran. Faculté des Sciences. Département de Biologie. Laboratoire de Biologie du Développement et de la Différenciation.*

*** Laboratoire d'Histopathologie. 32 Bd Benzerdjeb, Oran.*

Email : zbekkouche@hotmail.fr

Résumé :

En Algérie, le cancer du sein est actuellement la tumeur maligne la plus fréquente et la première cause de mortalité par cancer chez la femme. C'est une maladie complexe et hétérogène. Cette hétérogénéité se retrouve au niveau histologique, phénotypique et moléculaire. Les classifications anatomopathologiques sont prises en défaut dans un certain nombre de cas, ce qui est source de traitements inappropriés. Perou et Sorlie (2000) ont proposé une classification moléculaire basée sur le profil génomique des cancers mammaires en cinq principaux sous-types parmi les carcinomes infiltrants : Luminal A, Luminal B, HER2, Basal-like et Normal-like.

L'objectif de notre étude est d'effectuer l'évaluation phénotypique en immunohistochimie de ces sous-types en précisant leur proportion relative, leurs caractéristiques biologiques. Le pronostic de chaque sous-type est défini en corrélation avec les données de la littérature.

Cette étude, menée de Janvier 2011 à Janvier 2013, intéresse 240 patientes porteuses d'un carcinome invasif. L'âge est compris entre 23 et 78 ans (âge moyen : $47 \pm 1,7$ ans). Le carcinome canalaire infiltrant prédomine (78,33%).

L'analyse des caractéristiques phénotypiques des sous-types est réalisée par immunohistochimie à l'aide d'anticorps spécifiques des récepteurs hormonaux et de l'oncoprotéine HER2. Le groupe Luminal comporte le sous-type Luminal A retrouvé dans 25, 83% et le Luminal B dans 10%. Le sous groupe HER2 est recensé dans 28, 75%. Les carcinomes du sous-type Triple-négatif sont observés dans 25% des cas et parmi eux 17,5% sont des Triple-négatif/Basal-like exprimant les CK5/6.

La caractérisation de ces tumeurs et l'établissement d'un pronostic ont permis d'améliorer significativement la prise en charge thérapeutique et la survie des malades.

Mots clés : Carcinomes mammaires, sous-types moléculaires, Immunohistochimie.

Abstract:

Breast cancer is currently the most common malignant tumor and the leading cause of cancer death in women in Algeria. This is a complex and heterogeneous disease. This heterogeneity is found at histological, phenotypic and molecular level. The pathological classifications are at fault in a number of cases, which is source of inappropriate treatment.

Perou and Sorlie (2000) proposed the molecular classification of invasive breast carcinomas into five main subtypes based on the genomic profile of breast cancers: Luminal A, Luminal B, HER2, Basal-like and Normal-like.

The aim of this study is to conduct a phenotypic assessment of these subtypes through immunohistochemical analysis and the identification of their relative proportion, characteristics and prognosis.

This study has been carried out from January 2011 to January 2013; it involved 240 patients with invasive carcinoma. The age range is between 23 and 78 years (mean age 47 years). The Infiltrating ductal carcinoma is dominant (78.33%).

The analysis of the phenotypic characteristics of the subtypes is performed by immunohistochemistry, which consists of using antibodies specific for hormonal receptors and the HER2 oncoprotein. The Luminal main type comprises the Luminal A subtype found in 25.83% and the Luminal B subtype in 10%. HER2 is the subtype identified in 28.75%. Carcinomas of the Triple-negative subtype were observed in 25% of the cases with 17.5% being Triple-negative/Basal-like expressing CK5/6.

The characterization of these tumors and the establishment of a prognosis have significantly improved the therapeutic management and patient survival.

Keywords: breast carcinoma, molecular subtypes, Immunohistochemistry.

Introduction

Le cancer du sein est fréquent et concerne toutes les populations mais avec des variations importantes selon les pays. En Algérie, le cancer du sein occupe le premier rang par sa fréquence et sa mortalité. Il constitue une préoccupation majeure en santé publique en raison de l'augmentation de son incidence avec un taux d'incidence standardisée de 34,9 pour 100 000 selon les données du registre des cancers d'Oran (2010).

La notion très répandue d'hétérogénéité des cancers du sein est liée à leurs différents aspects morphologiques traduits par 35 types histologiques mentionnés dans la classification OMS, mais également par une évolution et des réponses thérapeutiques très variables. De plus il existe, à côté des principaux types décrits par les classifications cliniques et histologiques, de nombreux variants caractérisés par l'expression phénotypique des marqueurs biologiques tels les récepteurs estrogéniques RE, les récepteurs progestéroniques RP ou l'oncoprotéine HER2 [1,2].

Cette hétérogénéité intra et inter-tumorale est renforcée par la mise en évidence d'une hétérogénéité précisée à l'aide d'analyses moléculaires des profils d'expression transcriptomique des carcinomes infiltrants [3,4]. La classification moléculaire a permis d'ordonner les sous-types, connus par les pathologistes, selon leur profil génomique [5]. La préoccupation majeure de cette classification est de déterminer les paramètres pronostiques et prédictifs de ces sous-types [6].

Les premières publications des travaux de Perou et Sorlie (2000) ont proposé une classification moléculaire des cancers du sein en cinq principaux sous-types moléculaires parmi les carcinomes infiltrants : luminal A, luminal B, HER2, basal-like et normal-like.

Chaque sous-type est défini selon son degré d'agressivité et donc son pronostic [7]. Ces catégories moléculaires ont des pronostics différents ce qui apporte un intérêt majeur dans le traitement des cancers du sein [8].

L'identification morphologique de ces sous-types moléculaires en immunohistochimie (IHC) est possible avec l'utilisation des marqueurs biologiques précis [9]. L'objectif de notre étude est l'évaluation de ces classes moléculaires par les caractéristiques immunophénotypiques.

Dans la pratique, le dénombrement de ces sous-groupes moléculaires permet de prendre conscience de l'hétérogénéité de la carcinologie mammaire nécessitant une prise en charge spécifique.

Objet de l'étude

Notre objectif est l'identification morphologique des sous-types moléculaires en IHC et la détermination de leur proportion relative. L'analyse des données permet de définir les caractéristiques et le pronostic des sous-types recensés.

Patientes et Méthodes

Notre étude prospective, menée de janvier 2011 à janvier 2013, est réalisée au niveau du laboratoire d'histopathologie du Dr Benali et au laboratoire de Biologie du Développement et de la Différentiation. Elle comporte 240 patientes porteuses d'un nodule palpable dont le diagnostic de malignité est confirmé par cytoponction positive. Les données clinico-histopathologiques sont répertoriées sur une fiche standardisée et seuls les carcinomes invasifs ont été retenus.

L'analyse des prélèvements tissulaires (tumorectomie ou mastectomie) est effectuée à l'aide de la technique histologique standard et coloration à l'hémalun-éosine.

La technique IHC, sur tissu fixé et inclus en paraffine, est réalisée à l'aide d'anticorps spécifiques. Pour les Récepteurs Estrogéniques RE, nous avons utilisé les anticorps primaires Dako 1D5 code 1575 et PgR 636 code 16360 pour les Récepteurs Progestéroniques RP. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules tumorales invasives marquées en tenant compte de l'intensité du marquage estimée sur une échelle de 0 à 3.

Pour l'oncoprotéine HER2, nous avons employé l'anticorps polyclonal Dako C-erB2 A0485. Le résultat est exprimé par un score (0, 1, 2, 3) prenant en considération le pourcentage des cellules carcinomateuses infiltrantes marquées, l'intensité du marquage et le caractère continu ou discontinu du marquage membranaire.

Pour les cytokératines CK5/6, nous avons utilisé l'anticorps Dako clone DC 10.

L'analyse immunohistochimique IHC permet l'identification du profil phénotypique des différents sous-types, elle est basée sur une méthode fiable, économique et plus accessible que l'analyse génomique réalisable uniquement dans les centres spécialisés.

Résultats

Analyse clinique, histologique et biologique des 240 carcinomes

Age des patientes

L'âge est un facteur pronostique clinique important aussi bien pour les récurrences locales que pour l'évolution métastatique. Les âges extrêmes sont 23 et 78 ans, avec une moyenne de 47 ans. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 40 et 50 ans (46,25%), (Fig. 1).

Taille tumorale pT

La taille de la tumeur est liée à l'évolution de la maladie : plus la tumeur est volumineuse, plus faible est le taux de survie sans rechute. La taille prédominante est pT2 (48,75%), (Fig. 2).

Type histologique

Dans notre série, seuls les carcinomes invasifs ont été retenus. L'étude macroscopique révèle la présence d'un nodule bien circonscrit (Fig.3A) ou d'un nodule irrégulier sans limite nette (Fig.3B). L'analyse histologique des prélèvements permet d'observer deux entités, le carcinome canalaire infiltrant CCI et le carcinome lobulaire infiltrant CLI (Fig.4). Cette étude montre une prédominance des carcinomes canauxaires infiltrants (78,33%) par rapport aux carcinomes lobulaires infiltrants (21,66%), (Fig. 5).

Degré de différenciation G

Le degré de différenciation est basé sur la ressemblance du tissu tumoral avec le tissu normal qui lui a donné naissance. Plus les tumeurs sont indifférenciées, plus elles sont agressives. Nos tumeurs sont peu différenciées dans 32,91% des cas et indifférenciées dans 23%, (Fig. 6).

Index mitotique IM

L'activité mitotique est déterminée par le nombre de mitoses par champs observé en périphérie au grossissement 400. L'index mitotique IM2 est dominant (41,66%) suivi de IM3 (34,16%), (Fig. 7).

Grade histopronostique de Scarff-Bloom-Richardson (SBR)

Le grade SBR permet d'apprécier l'agressivité tumorale, il regroupe à la fois le degré de différenciation (formation des tubes), l'anisocaryose et l'activité mitotique. Notre analyse montre 65,41% de tumeurs de grade SBRII, 24,58% de grade SBRIII et 10% de grade SBRI, (Fig. 8).

Envahissement ganglionnaire axillaire pN

L'étude du curage axillaire montre l'absence d'envahissement pN- dans 61,16% et la présence pN+ dans 38,84%, (fig. 9). De plus, le nombre de ganglions envahis revêt un intérêt pronostique essentiel pour l'évolution métastatique et nos observations montrent l'envahissement de plus de 10 ganglions axillaires dans 32% des cas.

Caractéristiques biologiques des 240 tumeurs

Notre analyse IHC porte sur les paramètres biologiques RE, RP et HER2.

L'étude des récepteurs hormonaux, réalisée à l'aide d'anticorps spécifiques, permet de répertorier la présence des récepteurs Estrogéniques RE+ dans 40,50% des cas et l'absence RE- dans 59,50%, (fig.10). Les Récepteurs Progestéroniques RP+ sont retrouvés dans 39,84% et les RP- dans 60,16%, (fig.11). La gradation du marquage immunohistochimique des RE a une signification pour le pronostic et pour la prédiction de la réponse à l'hormonothérapie, (fig. 12). Plus l'intensité du marquage est importante, plus le pronostic est meilleur.

La présence du récepteur hormonal oestrogénique et/ou progestéronique au niveau des noyaux des cellules tumorales invasives est un élément important de bon pronostic.

En considérant les cellules carcinomateuses infiltrantes marquées, la surexpression de l'oncoprotéine HER2+ est retrouvée dans 47,50% pour le score 3+. Le score 2+ est recensé dans 6% des cas et l'absence d'expression est observée dans 46,50% avec le score 0-1, (fig. 13). La surexpression de HER2 est corrélée à un pronostic péjoratif en termes de survie et constitue un facteur d'agressivité.

Evaluation phénotypique des sous-types moléculaires

Ce travail s'inscrit dans la suite de l'étude consacrée à l'analyse des tumeurs triple-négatives, [10].

Proportion relative

Parmi les 240 carcinomes invasifs analysés, nous avons répertorié 4 sous-types morphologiques: 35,83% de type luminal dont 25,83% de profil luminal A et 10% luminal B; 28,75 % de phénotype HER2 ; 25% de triple négatifs dont 17,5% de profil basal-like et 7,5% non basal-like (fig. 14).

10,41% des tumeurs de notre série sont restées non classées.

Caractéristiques biologiques des sous-types :

L'analyse IHC des 240 carcinomes de notre série, révèle la répartition des sous-types selon l'expression des paramètres biologiques étudiés : RE, RP, HER2 et CK5/6.

Sous-type Luminal :

Le sous-type LUMINAL, majoritairement RE+ , comprend deux groupes luminal A et luminal B selon l'intensité du marquage des RE. La présence du Luminal A est retrouvée dans 25,83% des cas avec marquage nucléaire intense des récepteurs estrogéniques et absence d'expression de HER2. Le phénotype est : RE++, RP+, HER2- (fig. 15). La proportion du sous-type Luminal B est de 10% caractérisée par l'expression faible à modérée des RE et un profil : RE+, RP+/- , HER2-, (fig. 16).

Sous-type HER2 :

Ce groupe de carcinomes, caractérisé par une forte expression de HER2 et une négativité des RE, est observé dans 28,75 % des cas. Le phénotype est HER2+, RE-, RP- (fig.17).

Sous-type Triple-négatif :

Les Triple-négatifs sont un sous-type particulier au sein des carcinomes mammaires caractérisé par l'absence d'expression des RE, RP et HER2. Les triple-négatifs représentent 25% des carcinomes infiltrants étudiés et parmi eux 17,5% sont de type basal-like avec expression des cytokératines de haut poids moléculaire CK5/6. Le phénotype des Triple-négatifs/Basal-like est RE-RP-HER2- CK5/6+, (fig. 18).

Le groupe Basal-like est le mieux identifié par les différentes études génomiques.

Discussion

Analyse des caractéristiques des 240 tumeurs

L'âge est un facteur de risque majeur du cancer du sein lié à l'état hormonal. Dans notre série, l'âge médian du diagnostic est de 47ans alors que de nombreux travaux rapportent en France un âge moyen de 60ans avec une incidence maximale entre 60 et 69ans [11]. La majorité de nos patientes sont jeunes, et 66,25 % ont moins de 50 ans. Les formes plus agressives sont observées chez les plus jeunes avec un risque de récurrence locale plus élevé [12].

La taille tumorale anatomique pT est un facteur pronostic ayant une utilité clinique prouvée. Parmi les 240 tumeurs étudiées, 46.13% des pT sont comprises entre 2 et 5 cm et 25% ont une taille supérieure à 5 cm. Au total, 71,13% sont des tumeurs de grande taille ce qui souligne l'idée selon laquelle les tumeurs étudiées seraient en majorité de mauvais pronostic [13]. Nos résultats montrent la prédominance des carcinomes canaux infiltrants, ce qui concorde avec ceux de la littérature, [8].

L'analyse des paramètres intrinsèques de la tumeur primaire confirme l'existence d'un pronostic majoritairement défavorable : tumeurs peu ou indifférenciées (66%), index mitotique élevé (34%), grade SBRII (65%), SBRIII (25%). La présence d'envahissement ganglionnaire

(28.84%) signe également le pronostic péjoratif et nous retrouvons dans 32% des cas l'atteinte de plus de 10 ganglions axillaires, [13].

L'analyse des paramètres biologiques des 240 tumeurs montre l'absence des récepteurs hormonaux RE- (59.50%) et RP- (60.16%) et la présence de HER2 score3+ (47.50%) et ces résultats sont corrélés à un pronostic péjoratif, [14,15]. L'ensemble de ces données suggère que la population de l'ouest algérien étudiée présente un profil sombre pour la majorité des paramètres histopathologiques et biologiques analysés.

Analyse des sous-types morphologiques

L'identification des sous-groupes moléculaires a permis la définition de leur profil phénotypique,[16].

Profil Luminal :

Il concerne les patientes présentant une réceptivité hormonale importante. Ce groupe comprend des tumeurs RE+ dont l'expression génique est proche des cellules épithéliales luminales et se caractérise par des tumeurs de faible grade.

L'identification du sous type luminal revêt une signification particulière car la dégradation du marquage IHC des RE est retrouvée par les analyses génomiques et donc au niveau de la classification moléculaire avec la distinction de 2 entités selon expression du récepteur aux œstrogènes: Luminal A (RE++ RP+ HER2-) et Luminal B (RE+ RP+/- HER2-).

Les tumeurs luminales A (LA) sont fortement RE + et de faible prolifération alors que les tumeurs luminales B (LB) ont une expression faible à modérée des RE et une forte prolifération. La conséquence est importante, les tumeurs LA hormonosensibles pures sont de meilleur pronostic que les tumeurs LB qui devraient bénéficier d'un complément thérapeutique [8].

Profil HER2

Ce groupe est le plus souvent défini comme incluant toutes les tumeurs HER2+ quelque soit leur expression des récepteurs hormonaux (RH). Le phénotype est HER2+ RH- et il comprend les tumeurs canalaire infiltrantes de grade II et III : leur pronostic est défavorable, [17].

Profil basal

Les tumeurs de type basal ou basal-like sont caractérisées par l'expression des gènes identiques à ceux exprimés par les lignées de cellules myoépithéliales, [18]. Ce groupe est le mieux identifié par les différentes études génomiques, [19,20]. Ces tumeurs ont un phénotype particulier et reproductible : RE- RP- HER2- CK5/6+ (expression d'au moins un marqueur de cellules basales), [21]. Le type TN-basal-like est majoritairement RE- RP- HER2- d'où le raccourci utilisé « triple-négatif », [22,23].

Dans notre série, la proportion des carcinomes Triple-Négatifs (25%) est supérieure à celle rapportée par la plupart des auteurs (18%) et les carcinomes TN-Basal représentent 17,5% contre moins de 15% cités dans la littérature, [6]. Leur pronostic est particulièrement sombre avec des options thérapeutiques limitées dues à l'absence d'expression des RH et de HER2. Compte tenu de leurs caractéristiques biologiques, ces carcinomes ne répondent ni à l'hormonothérapie ni à un traitement anti-HER2, [19].

Conclusion

La classification moléculaire a eu pour conséquence un classement des carcinomes en sous-types selon leur phénotype (RE, RP, HER2) : Luminal A, Luminal B, HER2 et triple-négatifs. Ces sous-types moléculaires représentent des entités biologiques distinctes facilement identifiables en IHC et ayant une valeur pronostique et prédictive de réponse au traitement.

La comparaison entre la classification classique des pathologistes et la classification moléculaire issues des études génomiques montre un fort recouvrement. En effet, la classification des tumeurs selon le profil immunohistochimique est proche mais non superposable à la classification selon le profil d'expression génique. De plus, les marqueurs classiques restent d'actualité et le type histologique indispensable particulièrement dans le sous-type triple-négatif.

L'étude génomique a permis une meilleure connaissance des tumeurs et a clairement amélioré la compréhension de la maladie en démontrant son hétérogénéité moléculaire.

Cette analyse met l'accent sur de nouvelles dimensions thérapeutiques générées par la mise en évidence de ces sous-types conduisant à des progrès substantiels dans le domaine des facteurs pronostiques ou prédictifs.

Références bibliographiques

1. Balaton AJ et al. (1999) Recommandations pour l'évaluation immunohistochimique des récepteurs hormonaux sur coupe en paraffine dans les carcinomes mammaires. *Ann Pathol* 19 : 336-343.
2. Penault-Llorca F, Balaton AJ, Sabourin JC, Le Doussal V. (2002) Evaluation immunohistochimique du statut HER2 dans les carcinomes mammaires infiltrants : mise au point du protocole technique et de la lecture des résultats- Recommandations. *Ann Patho* 22 : 150-7.
3. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB. (2000) Molecular portraits of human breast tumours, *nature* 406: 747-52.
4. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R. (2001) Gene expression paterhns of breast carcinomas distinguish tumors subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 10869-74.
5. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J. (2003) Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 8418-23.
6. Cottu P, Vincent-Salomon A. (2010) Les carcinomes triple-négatifs du sein : aspects moléculaires, morphologiques et cliniques. *La lettre de sénologue* 50 : 8.
7. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S. (2006) Gene expression profiling in breast cancer. Understanding the Molecular Basis of histologic Grade to improve Prognosis. *J Natl Cancer inst*; 98: 262-72.
8. Mathieu M. C. (2007) Les sous-types moléculaires des cancers du sein, *La lettre du sénologue*, Octobre-novembre-décembre 38: 33-34.
9. Sotiriou C, Piccart MJ. (2007) Taking gene-expression profiling to the clinic: when will molecular signatures become relevant to patient care? *Nat Rev Cancer* 7: 545-53.
10. Bekkouche Z, Guedour Y, Benali F, El Kebir FZ (2013) Caractéristiques des carcinomes mammaires triple-négatifs dans l'ouest algérien. *J. Afr. Cancer* 5 :155-161.

11. Remontet L, Esteve J, Bouvier AM, et al. (2003) Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev Epidemiol Sante publique* 51: 3-30.
12. Grosclaude P, Colonna M, Hedelin G et al. (2001) Survival of women with breast cancer in France: variation with age, stage and treatment. *Breast Cancer Res Treat* 70: 137-43.
13. Contesso G, Bertin F, Mathieu MC, Terrier P. (1991) Encyclopédie médico-chirurgicale (EMC), 865 B10 : 1-17.
14. Bekkouche Z, Kahia-Tani. S, Bendib A. (2000) Etude immunohistochimique des récepteurs hormonaux dans les carcinomes mammaires. *JAM* 10 (5) : 242-247.
15. Bekkouche Z, Kahia-Tani. S, Ben Ali F. (2007) Evaluation du statut HER2 dans les carcinomes mammaires. XXVIIème Forum de cancérologie de la société française du cancer- EUROCANCER Paris-2007.
16. Charafe-Jauffret E. Chaffanet M, Bertucci F, et al. (2007) Les cancers du sein. Vers un modèle cellulaire et moléculaire intégré. *Med Sci* 23 : 626-32.
17. Sorlie T. (2007) Molecular classification of breast tumors: toward improved diagnostics and treatments. *Method Mol Biol* 360: 91-114.
18. Rakha EA, Reis-filho JS, Ellis IO. (2008) Basal-like breast cancer a critical review. *J clin Oncol*; 26: 2568-81.
19. Livasy CA, Karaca R. (2006) Phenotypic evaluation of the basal-like sub-type of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 19: 264-71.
20. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. (2010) Triple negative breast cancer. *N engl J Med* 363 (2): 747-48.
21. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C et al. (2008) Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 14: 1368-76.
22. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. (2008) Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2 -negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer* 2007; 109: 1 721 –8.
23. Irvin WJ Jr, Carey LA. What is triple-negative breast cancer? *Eur J Cancer* 2008; 44: 2 799 –805.

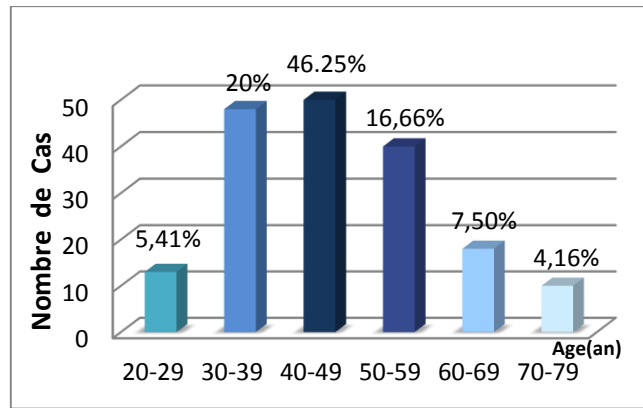


Figure 1 : Répartition des patientes par tranche d'âge.

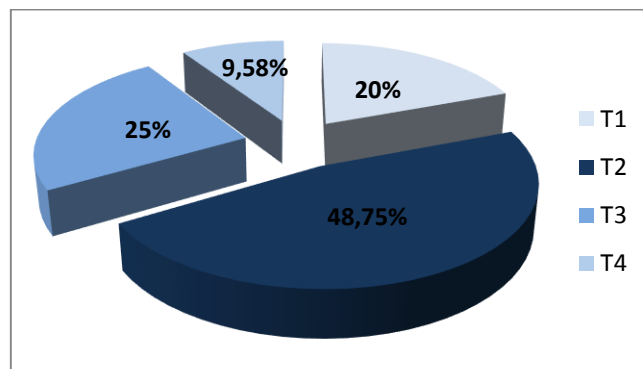


Figure 2 : Répartition des tumeurs selon la taille pT.

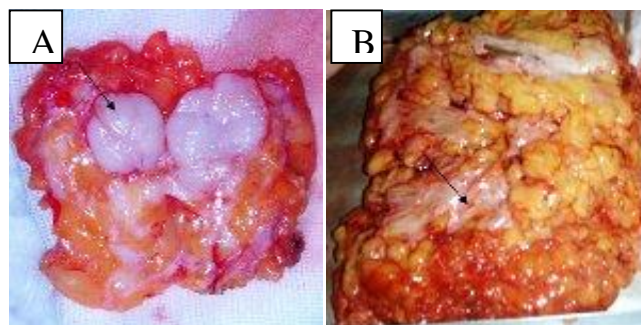


Figure 3 : Aspect macroscopique des carcinomes infiltrants.

A : Nodule à contours nets bien circonscrit.

B : Nodule à contours irréguliers sans limite nette.

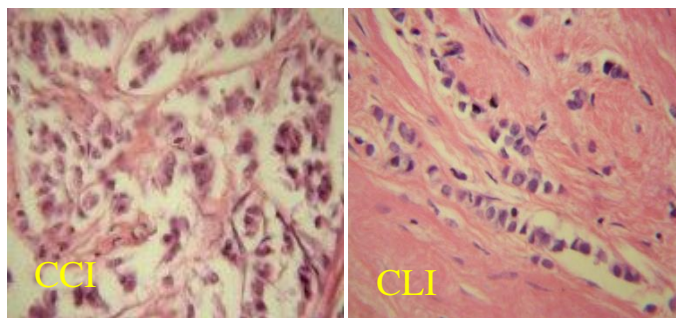


Figure 4 : Aspect microscopique des Carcinomes infiltrants.

CCI : carcinome canalaire infiltrant.

CLI : carcinome lobulaire infiltrant.

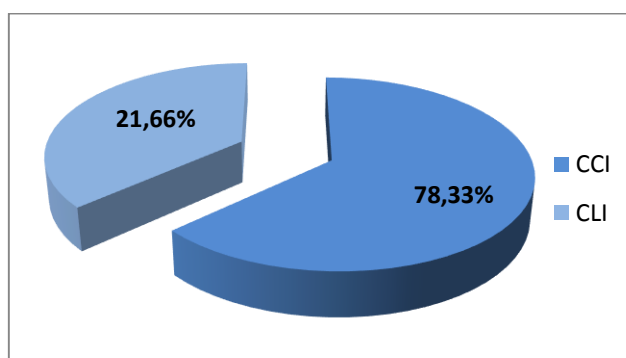


Figure 5 : Répartition selon le type histologique.

CCI : carcinome canalaire infiltrant

CLI : carcinome lobulaire infiltrant

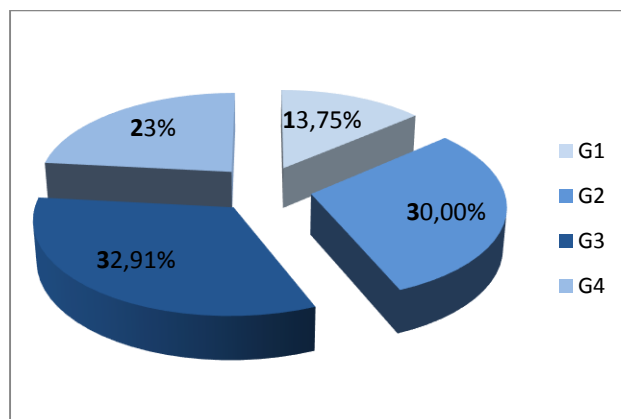


Figure 6 : Répartition selon le degré de différenciation.

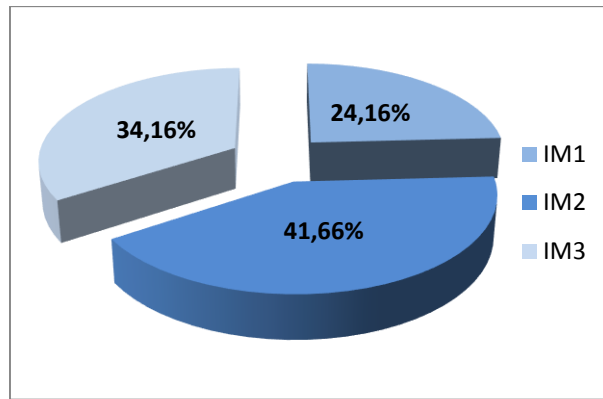


Figure 7 : Répartition selon l'index mitotique.

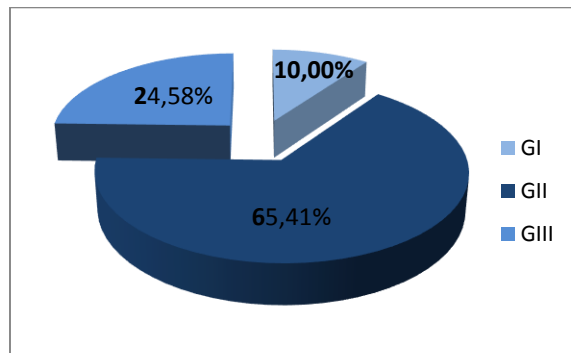


Figure 8 : Répartition selon le grade SBR.

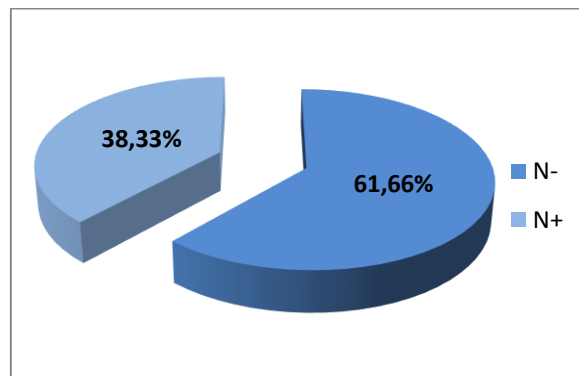


Figure 9 : Répartition selon l'envahissement axillaire.

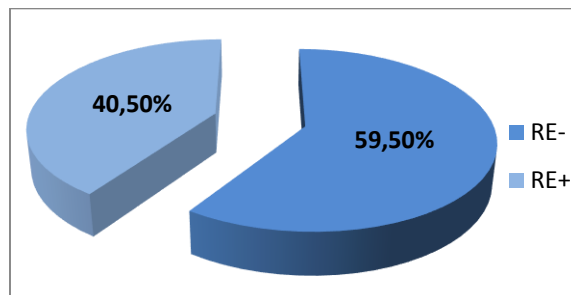


Figure 10: Répartition selon l'expression des Récepteurs Estrogéniques RE.

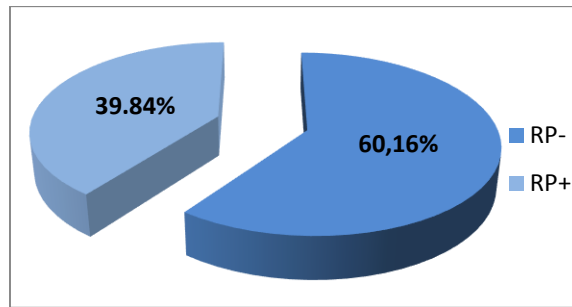


Figure 11: Répartition selon l'expression des Récepteurs Progéstéroniques RP.

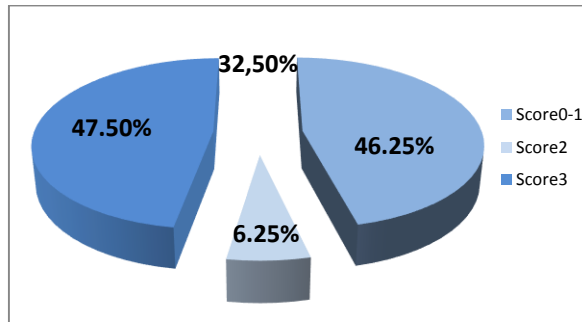


Figure 13: Répartition selon l'expression de l'oncoprotéine HER2.

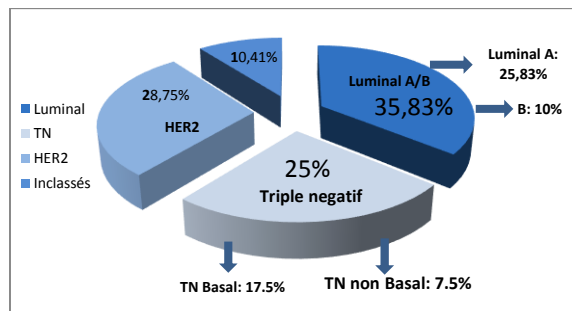


Figure 14: Proportion relative des 4 sous-types.

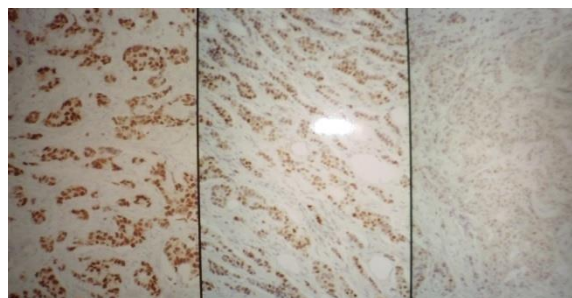


Figure 12: RE+ Différentes intensités de marquage.

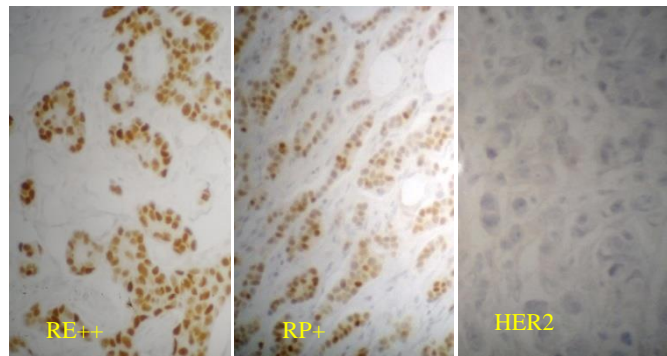


Figure 15: Profil phénotypique du Sous-type luminal A.

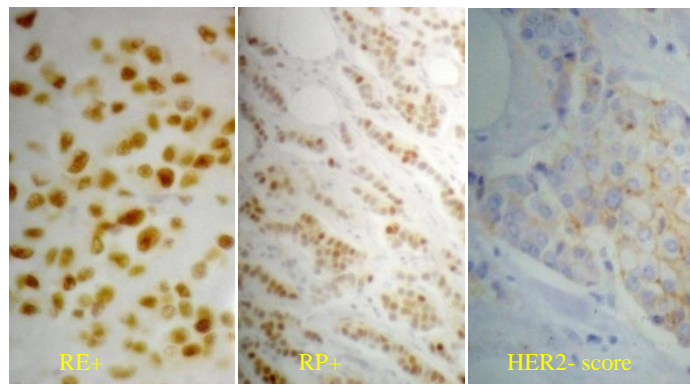


Figure 16: Profil phénotypique du sous-type luminal B.

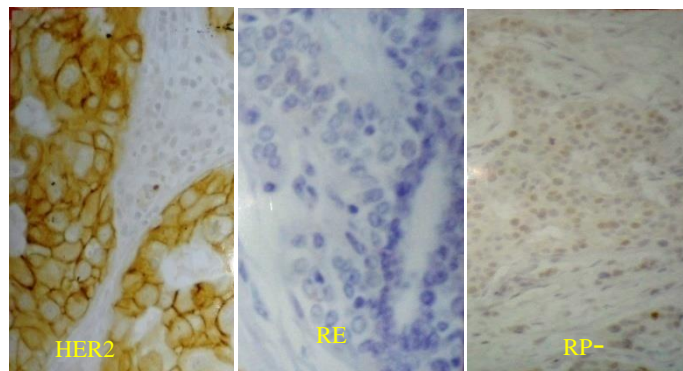


Figure 17: Profil phénotypique du Sous-type HER2.

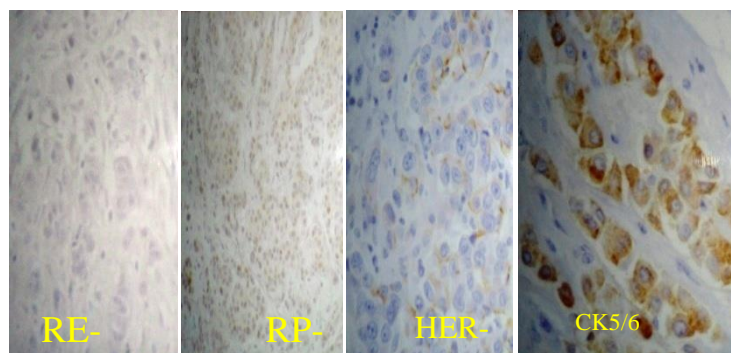


Figure 18: Profil phénotypique du sous-type Triple Négatif Basa

EFFET THERAPEUTIQUE DE L'EXTRAIT DE POLYPHENOLS DE GLOBULARIA LYPUM SUITE A UNE GLUCOTOXICITEE SUR LES CARDIOMYOCYTES DE RATTUS NORVEGICUS

BERDJA.S¹, SMAIL.L¹, NEGGAZI.S¹, BOUMAZA.S¹, BENAZZOUG.Y², KACIMI.G³,
BOUDARENE.L⁴, AOUICHAT-BOUGUERRA.S¹.

(1)PPCM, (2) BRME, FSB, USTHB ; (3) LAB DE BIOCH. HCA, ALGER, (4)
CHIMIE, USTHB.

Projet : ATRSS Code 271

INTRODUCTION

L'Algérie n'échappe pas à l'épidémie du diabète, celle-ci répond pratiquement aux mêmes changements de conditions de vie constatées dans le monde. En effet, le changement de mode de vie, l'importance de l'exode rural, la sédentarité et le changement du mode alimentaire, sont des facteurs favorisant l'augmentation de la prévalence du diabète. L'estimation la plus récente a indiqué une prévalence de 7,4 % en 2010 pour la tranche d'âges 20-79 ans (Hamza., 2011).

De nombreuses plantes utilisées en Algérie sont réputées posséder une action antidiabétique avec un usage fréquent dans une grande partie de la population. Parmi ces plantes, certaines ont un effet déjà mis en évidence telles que : *Zygophyllum album*, *Urtica dioica* (Bnouham *et al.*, 2002 ; Hamza, 2011),

Dans le cadre de notre travail de recherche, nous nous sommes intéressées aux effets de l'extrait polyphénolique de *Globularia lypum* (GF) et suite à une glucotoxicité induite sur les cardiomyocytes en culture de *Rattus norvigecus*

EXPERIMENTATION

Les cardiomyocytes sont repartis en 4 lots

- Lot témoin incubé en présence de DMEM 10% SVF pendant 48h
- Lot expérimenté soumis au glucose à 0,6% incubées en présence de DMEM 10% SVF pendant 48h
- Lot traité soumis au glucose à 0,6% incubées en présence de DMEM 10% SVF pendant 48h et traitées à l'extrait de polyphénols de *Globularia alypum* (GF)

Dans ce cadre plusieurs aspects ont été étudiés notamment :

- L'évaluation de la prolifération cellulaire par comptage sur cellule de Mallassez
- L'évaluation du statut redox par le dosage de
 - MDA
 - Protéines carbonylés
 - Catalase

RESULTATS :

La glucotoxicité induite *in vitro* par des doses élevées de glucose à raison de (0,6%) sur les cardiomyocytes de Rn a montré une diminution de la prolifération signe de perte de viabilité cellulaire, des modifications de certains paramètres biochimiques marqués par une augmentation des taux de MDA, des protéines carbonylés et une diminution des taux de la catalase dans les compartiments intra et extracellulaires.

Le traitement à l'extrait de polyphénol de *Globularia alypum* (GF) pendant 24 h des cardiomyocytes soumises à la glucotoxicité au préalable pendant 48 h ont résulté en l'augmentation de la prolifération des cardiomyocytes, une diminution des marqueurs de stress à savoir le MDA, les protéines carbonylées et une augmentation de l'activité antioxydante de la catalase.

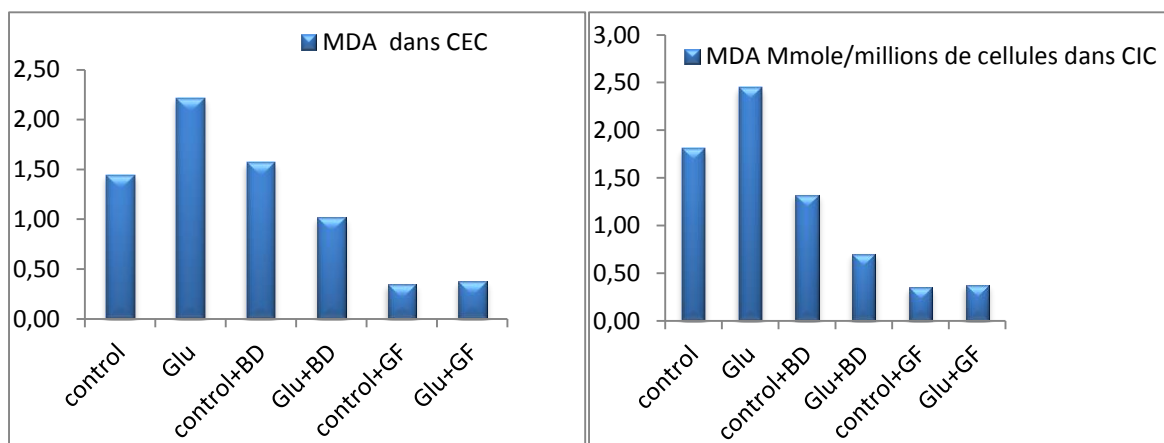
1- ÉTUDE DE LA PROLIFERATION

Tableau 1 : Evaluation de la prolifération des cardiomyocytes de *Rattus norvegicus* en culture de 48 h d'incubation, témoins, en présence de glucose et en présence de glucose puis traité à l'extrait de polyphénols de GF.

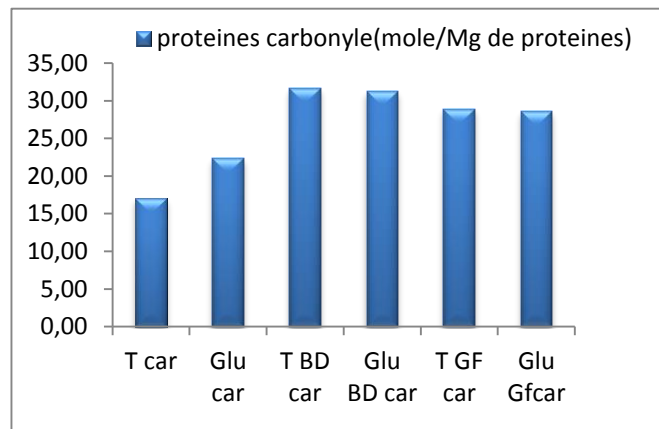
nombre de cellules $\times 10^6$ après 48 h d'incubation	
Témoin	$1,34 \pm 2,28 \times 10^6$
Glu	$1,00 \pm 0,75 \times 10^6$ ****
Témoin+GF	$1,45 \pm 1,92 \times 10^6$ ****
Glu+GF	$1,40 \pm 1,64 \times 10^6$ ****

2- EVALUATION DU STATUT REDOX :

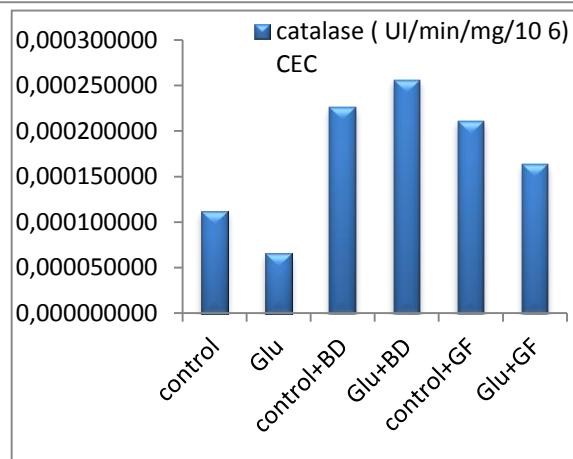
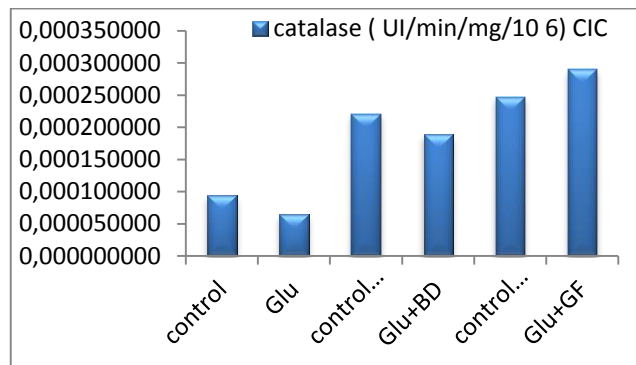
2-1-DOSAGE DU MDA



2.2- DOSAGE DES PROTEINES CARBONYLEES DANS LE COMPARTIMENT INTRACELLULAIRE



2-2- DOSAGE DE LA CATALASE



DISCUSSION

Nos résultats ont montré une diminution hautement significative du taux de prolifération des cardiomyocytes de *Rattus norvegicus* après 48 h d'incubation en présence de glucose, par rapport à leurs témoins (T) correspondants. Par ailleurs, le traitement par les polyphénols (GF) pendant 24 h augmente le taux de prolifération des cardiomyocytes par rapport aux cardiomyocytes soumis au glucose à 0,6%.

Nos résultats rejoignent les travaux de **Takako et al., (2007)**, qui ont montré que l'exposition des cellules LLC-PK (une ligné de cellules rénales épithéliales) à des concentration élevée de glucose (30 mM) mène à la perte de viabilité cellulaire. Le traitement avec (10 µg/ml) de HMPPP (high molecular persimmon peel *polyphenol*) et le LMPPP (low molecular persimmon peel *polyphenol*) augmente significativement la viabilité cellulaire.

Nos résultats ont montre une augmentation du MDA et des protéines carbonylées après 48 h d'incubation en présence de glucose. Le traitement à l'extrait de polyphénol (GF) pendant 24 h, ont diminues les marqueurs de stress oxydatif.

Nos résultats rejoignent ceux de Dinakaran et al., (2012) qui ont constaté que les cellules de mouton RBS (sheep red blood cells) soumises à une forte concentration de glucose (45 mM) présentent une augmentation du taux de TBARS indiquant l'augmentation de peroxydation lipidique, mais le traitement par le polyphénol FSE (Fenugreek Seed extract) diminue significativement le taux de TBARS donc une réduction de la peroxydation lipidique. De même, les travaux de You Jung et al., (2010), ont mentionné une diminution du taux de TBARS suite à un traitement des cellules épithéliales tubulaire rénales au gravinol (10µg /ml), après une augmentation induite par 30 mM de glucose.

Nos résultats rejoignent ceux de Takako et al., (2007), qui ont montré une augmentation des maqueurs de stress oxydatif dans les cellules LCCpK₁ soumise à de haute concentration de glucose (30 mM) et diminution de ce taux quand les cellules sont traitées aux HMPPP et LMPPP suite au piégeage de l'anion superoxydes O^{•2} et NO. You Jung et al., (2010) ont observé une augmentation des marqueurs de stress oxydatif dans les cellules épithéliales tubulaires rénales sous l'effet de fortes concentrations de glucose, et le traitement au gravinol (10 µg /ml), un prothocyanidine de pépins de raisins, régresse ce taux.

Selon Chis et al., (2009), la peroxydation lipidique est une caractéristique du diabète et elle est un processus induit par les radicaux libres conduisant à la dégradation par oxydation des acides gras polyinsaturés. Les composés phénoliques des plantes médicinales ont une activité anti oxydante par l'inactivation des radicaux lipidiques libres ou par la prévention de la décomposition de l'hydropéroxyde en radicaux libres.

Nos résultats ont montré une diminution importante de taux de la catalase dans le compartiment intracellulaire des cardiomyocytes de *Rattus norvegicus* après 48h d'incubation en présence de glucose (0 ,6%), par rapport à leurs témoins correspondants, alors que les cardiomyocytes incubés pendant 48h en présence de glucose puis soumis au traitement des extraits de polyphénols (GF) pendant 24h ont présenté une augmentation hautement significative du taux de la catalase comparativement à leurs témoins correspondants.

Selon Movahed et al., (2012) , les cardiomyocytes soumis à l'effet oxydant de H₂O₂, similaire à celui induit par l'hyperglycémie, présentent une perte significative de l'activité des deux enzymes clés à savoir la catalase et la superoxyde dismutase. Cette activité est ramenée à la normale suite au traitement des cardiomyocytes au résveratrol.

CONCLUSION

- Le traitement à l'extraits de polyphénol de *Globularia alypum et* pendant 24 h suite à une Glucotoxicité ont montré des effets antioxydants, anti inflammatoires qui peuvent jouer un rôle important dans la prévention des complications cardiovasculaires suite au diabète.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Dinakaran Vasudevan., Subhashree Sridharan.,Latha Periyasamy and Sankaramoorthy Sudha Rani. (2012).*In vitro* antioxidant effects of *Trigonella foenum graecum* (L.) Fenugreek seed extract on sheep red blood cells. *J. Medi. Plants Res.* 6 : 5119-5127.
- 2- HAMZA Nawel. (2011).Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « *high fat* » chez la souris C57BL/6J. *Inst Nut alim Tech agro-alim.*
- 3- Chis IA., Marius I. Ungureanu., Adriana Marton., Ramona Simedrea., Adriana Muresan., Ion-Dan Postescu and Nicoleta Decea. (2009).Antioxidant effects of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus *Diab Vasc Dise Rese*; 6: 200-204
- 4- Movahed A., L. Yua., S.J. Thandapilly., X.L. Louis., T. Netticadan. (2012).Resveratrol protects adult cardiomyocytes against oxidative stress mediated cell injury. *Archives of Biochem and Biophys* ; 527 : 74–80.
- 5- Takako Y., Young A K., Hyun Y K., Young A L, Gen-ichiro N. (2007).Protective effect of persimmon peel polyphenol against high glucose –induced oxidative stress in LLC-PK₁ cells. *Foo. Chim .Toxi* ; 45 : 1979-1987.
- 6- You Jung Kima., Young Ae Kimb., Takako Yokozawab. (2010).Attenuation of oxidative stress and inflammation by gravinol in high glucose-exposed renal tubular epithelial cells. *Toxi.* ; 270 : 106–111

**EVALUATION DE L'EFFET ANTIDIABETIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX D'UNE
PLANTE MEDICINALE UTILISEE EN MEDECINE TRADITIONNELLE
ALGERIENNE :RUBUS FRUTICOSUS**

OUAZOUAZ.M^(*), BOUASLA.A^(*), DERRADJ.M^(*), HENCHIRI.C^(*)

* *Laboratoire de biochimie et de microbiologie appliquée, Département de biochimie,
Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.*

E-mail 1 : meryouazouaz@gmail.com

E-mail 2 : asmabouaslauniv@yahoo.fr

E-mail 3 : meriem.derradj@gmail.com

E-mail 4 : CHERIFA_HENCHIRI@yahoo.fr

Résumé

Introduction : Cette étude visait à démontrer l'effet antidiabétique supposé de l'extrait aqueux des baies de *Rubus fruticosus*, une espèce botanique de la famille des Rosacées. Les expériences ont été réalisées sur des rats Wistar diabétiques induit à l'alloxane.

Matériels et méthodes : 30 rats mâles ont été divisés en six groupes de cinq rats: un groupe témoin sain et un groupe diabétique non traité, ont reçu de l'eau distillée, un groupe diabétique traité avec le glibenclamide (3mg/kg), deux groupes diabétiques traités oralement avec l'extrait aqueux à 200 et 400 mg/kg de poids corporel et un lot de rats sains qui reçoit 400 mg/kg de l'extrait, les traitements sont administrés aux animaux deux fois par jour, pendant 21 jours. Afin de caractériser les principaux constituants chimiques présents dans ces feuilles, une étude phytochimique préliminaire a été également effectuée.

Résultats et discussion : Les résultats de l'analyse biochimique a montré: une hyperglycémie, une hypercholestérolémie et une hyper-triglycémie accompagnées d'une augmentation de l'activité enzymatique des AST, ALT et de la phosphatase alcaline chez les diabétiques non traités. L'histologie des pancréas de ces animaux a montré une atrophie dans les îlots de Langerhans, caractérisée par une nécrose. L'administration de l'extrait aqueux a provoqué une diminution dose-dépendante de la glycémie, une régulation des taux de cholestérol total et des triglycides ainsi que des activités des transaminases et de la phosphatase alcaline. Les résultats obtenus par la dose 400 mg/kg p.c. de l'extrait sont similaires à ceux obtenus par le médicament (glibenclamide). Le screening phytochimique a révélé la présence des tannins, des flavonoïdes, des saponines.

Mots clés: *Rubus fruticosus* - Diabète - alloxane - Plantes médicinales - antidiabétique.

Introduction

Actuellement le diabète sucré est un problème de santé publique dont le poids humains et économique va croissant. En 1995, l'OMS estimait à 150 millions le nombre de personnes qui souffraient du diabète et au rythme de la progression de l'incidence de cette affection, 300 millions de personnes dans les mondes seront diabétiques en 2025 [1].

La gravité du diabète provient essentiellement de ses complications à long terme, source de handicap pouvant altérer la qualité de vie et générer de lourdes dépenses de santé. En effet ses complications en font une maladie dont la morbidité et mortalité sont fortement accrues chez les diabétiques par rapport à la population générale [2].

Le traitement actuelle du diabète vise à corriger les anomalies métaboliques, l'obtention d'un contrôle glycémique satisfaisant dans le but de prévenir les complications liées au diabète nécessite en général, en plus de l'activité physique et le régime hygiéno-diététique, le recours à des agents antidiabétiques (insuline ou hypoglycémiant oraux). Les thérapies modernes offrent un large spectre sur le plan de leur mécanisme d'action, mais ces agents chimiques possèdent un certain nombre de contre indications et d'effets secondaires [3].

L'essor récent de la phytothérapie offre une opportunité pour trouver des molécules naturelles susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur la régulation du métabolisme en évitant les effets secondaires des molécules synthétiques [4].

En Algérie, l'utilisation des plantes reste empirique; les patients diabétiques les consomment sans avis médical, sans étude expérimentale et sans posologie.

C'est pour cela que nous nous sommes proposés d'étudier l'effet antidiabétique d'une plante médicinale *Rubus fruticosus* sur des rats Wistar diabétiques à l'alloxane. Pour évaluer les effets de l'extrait, nous avons déterminé quelques paramètres biochimiques ainsi que des coupes histologiques au niveau des pancréas des animaux. Un screening phytochimique a été également réalisé sur les feuilles de la plante pour mettre en évidence les principes bioactifs.

Matériel et méthodes

1. Animaux et régime

Cette étude a été réalisée sur 30 rats mâles Wistar albinos provenant de l'institut Pasteur d'Alger de poids compris entre 180 ± 20 g. Ces rats sont mis dans des cages en polyéthylène tapissées d'une litière composée de copeaux de bois qui est changée tous les jours.

Pour leur acclimatation, ils ont été maintenus dans les conditions ambiantes de température, d'hygrométrie et de photopériode naturelle, ayant un accès ad libitum à l'eau et à un régime standard pour rat (UAB: Unité d'Aliment de Bétail. Bejaia). Les expérimentations ont été réalisées selon les directives du Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [5].

2. Matériel végétal

Les parties utilisées dans ce travail sont les feuilles de *Rubus fruticosus*. Elles sont récoltées dans la région d'El-Kala wilaya d'El-Taref (Nord Est d'Algérie) entre la fin du mois d'Avril et le début de mois de Mai.

Les feuilles récoltées on été lavées puis séchées à l'ombre, à l'abri de la lumière et à température ambiante jusqu'à poids constant. Après séchage, les feuilles ont été broyées pour obtenir une poudre fine qui a été conservée dans des boites hermétiques ; elle va servir à la préparation des extrais et au screening phytochimique.

Les extraits ont été préparés par décoction à 100 C° de la poudre fine dans de l'eau pendant 15 minutes.

3. Screening phytochimique

Un criblage chimique sera effectué sur l'échantillon afin de mettre en évidence la présence des Alcaloïdes, Flavonoïdes, Triterpènes et Stéroïls, Tanins et Saponosides, d'après les méthodes décrites par Bruneton [6].

4. Etude biologique

4.1. Induction de diabète

L'induction du diabète a été réalisée par injection unique intrapéritonéale de 150 mg/kg p.c. d'alloxane monohydrate dissous dans de l'eau distillée stérile [7]. 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 [8].

4.2. Protocole expérimental

Les 30 rats ont été répartis en six lots de cinq rats chacun, selon le protocole suivant :

Lot TS: Témoin sain reçoit 0,5 ml d'eau distillée.

Lot DNT: Diabétique non traité reçoit 0,5 ml d'eau distillée.

Lot DTM: Diabétique traité par le Glibenclamide (un antidiabétique) à 3mg/kg p.c.

Lot D-200: Diabétique traité par l'extrait de la plante à une dose de 200 g/kg p. c.

Lot D-400: Diabétique traité par l'extrait de la plante à une dose de 400g/kg p.c.

Lot S-400: Sain traité par l'extrait aqueux de la plante à une dose de 400g/kg p.c.

4.3. Suivi avant sacrifice

Les traitements ont été administrés quotidiennement aux rats par voie orale, deux fois par jour, pendant 21 jours. Les rats ont été pesés et leurs glycémies ont été mesurées à l'aide d'un glucomètre Accu-check tous les cinq jours, pendant toute la période du traitement.

4.4. Sacrifice des animaux et prélèvement sanguin

A la fin de l'expérimentation, les 30 rats à jeun sont sacrifiés le matin à l'aide d'un bistouri stérile. Le sang a été collecté dans des tubes héparinés puis centrifugé à une vitesse de 3000 tours/min pendant dix minutes. Le sérum récupéré sert à réaliser les dosages suivants : glycémie, cholestérol total et triglycérides, AST, ALT, phosphatases alcalines selon les fiches techniques des kits SpinReact.

4.5. Etude histologique

Les coupes histologiques des pancréas sont réalisées selon la technique classique de Houlot [9].

4.6. Etude statistique des résultats

Les résultats obtenus sont présentés par les moyennes plus ou moins les écarts types ($M \pm SE$). Les résultats sont analysés par le test de l'ANOVA suivi par le test de Tukey, les différences sont considérées : significatives à $p \leq 0,05$; hautement significative à $p \leq 0,01$; très hautement significative à $p \leq 0,001$. Ces calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (Version15).

Résultats et discussion

1. Etude phytochimique

Les tests phytochimiques montrent que les feuilles du *Rubus fruticosus* sont riches en Tanins (ayant un pouvoir antihyperglycémiant en diminuant la résistance à l'insuline, antioxydant et antimicrobien), en Saponosides (possède une activité antioxydante et reconstructive) et Flavonoïdes (antihyperglycémiants, anti-inflammatoires, antioxydants) [10], la présence des Stérols et Terpènes mais en faible quantité et l'absence des Alcaloïdes (Tab.I).
Tableau I : Tableau récapitulatif de la composition chimique du *Rubus fruticosus*

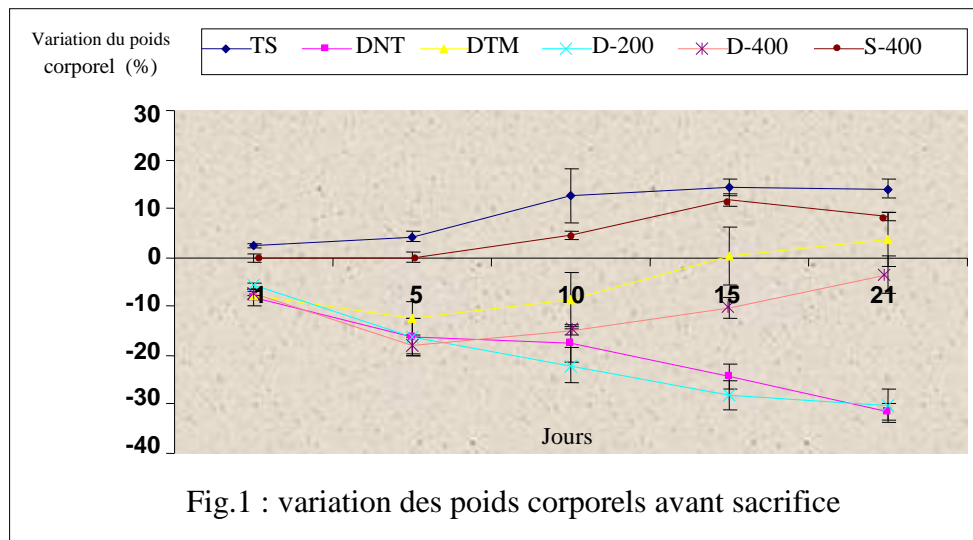
Flavonoïdes	Saponosides	Tanins	Stérols et Terpènes	Alcaloïdes
++	++	+++	+	-

(-) : absence, (+) : présence en faible quantité, (++) : Présence en quantité moyenne, (+++) : Présence en quantité importante.

2. Etude biologique

2.1. Poids et glycémies avant sacrifice

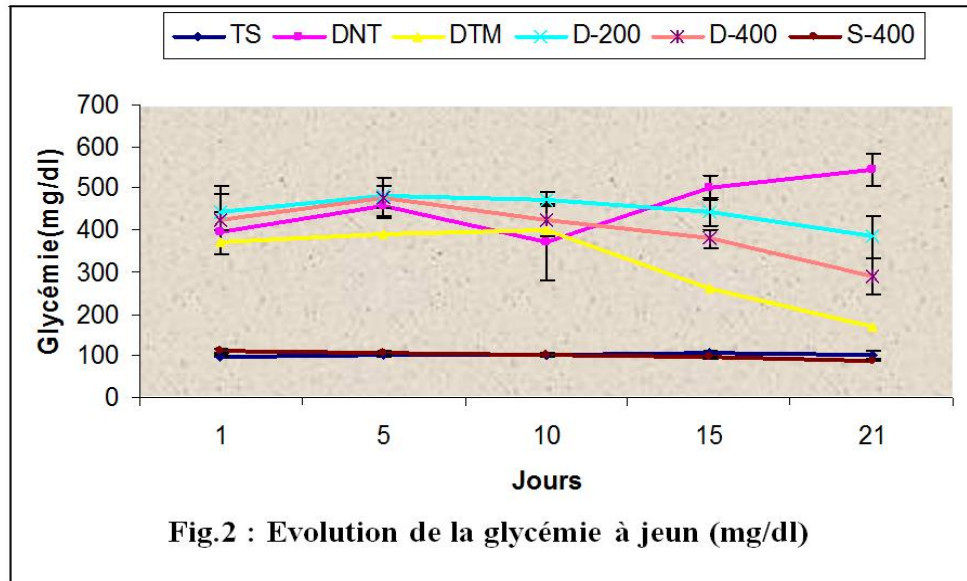
- Variation des poids corporels



Nous avons noté une diminution des poids corporels chez les rats diabétiques non traités (DNT) comparés aux témoins sains (TS), ce qui pourrait être due à un manque d'insuline; conduisant à une augmentation du catabolisme des lipides et des protéines [11]. Parallèlement, l'administration de l'extrait aqueux augmente le gain du poids corporel graduellement chez les rats diabétiques traités par le glibenclamide et ceux traités par 400 mg/kg de l'extrait. Ces résultats sont en accord avec ceux de Farnier qui a rapporté que le poids corporel s'améliore après traitement par les extraits de plantes antidiabétiques [12].

- Variation des glycémies à jeun

-

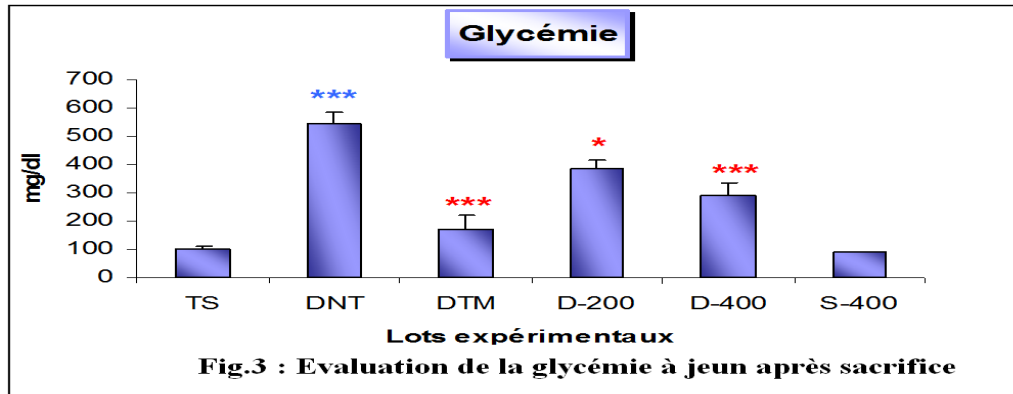


Une augmentation significative de la glycémie a été enregistrée chez les lots DNT, DTM, D-200, D-400 comparés aux TS, témoignant de l'installation du diabète. La glycémie des DNT ne cesse d'augmenter jusqu'à la fin de l'expérimentation, ce qui serait lié au diabète non traité [13]. A partir du 10ème jour du traitement une baisse graduelle de la glycémie est observée chez les lots traités par l'extrait aqueux aux deux doses. Cette baisse persiste jusqu'au 21ème jour, elle devient plus importante chez le lot D-400 que celle du lot D-200, montrant ainsi un effet antihyperglycémiant dose-dépendant. Malgré les restaurations obtenues par l'extrait, le traitement par le glibenclamide a donné un effet meilleur. Ces résultats sont en accord avec ceux de Jouad et al qui ont montré un effet similaire chez des rats diabétiques [14].

Selon d'autres travaux, l'effet antihyperglycémiant de cette espèce, pourrait être dû à une augmentation de la sécrétion de l'insuline [15].

La mesure de la glycémie tout au long de l'expérimentation n'a montré aucune différence significative entre les lots TS et S-400, révélant l'absence d'effet hypoglycémiant de l'extrait.

2.2. Glycémie après sacrifice



Les résultats montrent une augmentation de la glycémie très hautement significative chez les rats diabétiques non traités par rapport aux rats sains, qui pourrait être lié à la maladie [16]. L'administration de l'extrait aqueux à 200 mg/kg a provoqué une baisse significative de la glycémie alors que cette baisse est très hautement significative chez les lots traités par l'extrait aqueux à 400 mg/kg ainsi que par le glibenclamide par rapport aux rats non traités.

2.3. Cholestérol total et Triglycérides après sacrifice

Les résultats montrent une augmentation des taux de cholestérol total ainsi que des triglycérides chez DNT comparés aux TS (Fig.4), ce qui pourrait être expliqué par une lipolyse intense au niveau des adipocytes accompagnée d'une forte activité de la lipase hormono-sensible [17]. L'hypertriglycéridémie observée est essentiellement liée à une augmentation des VLDL et à moins degré des IDL. Cet accroissement du pool des lipoprotéines riche en triglycérides s'explique d'une part par une augmentation de la production hépatique des VLDL et d'autre part par un ralentissement de leurs catabolisme [18].

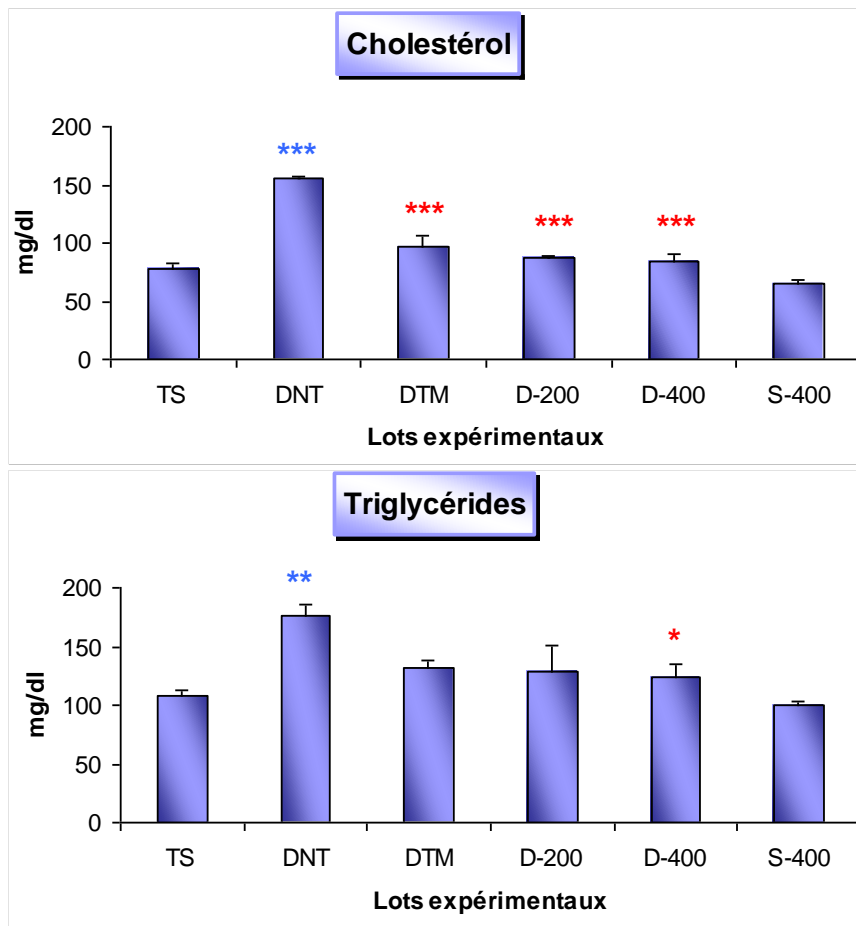


Fig.4 : Evaluation des taux du cholestérol total et des triglycérides

Ces perturbations biochimiques ont été normalisées par l'extrait aqueux; en effet le traitement des rats diabétiques par cet extrait à raison de 400 mg/kg a provoqué une baisse significative des taux sériques du cholestérol total ainsi que des triglycérides. Cette baisse peut être due, d'après plusieurs auteurs, à l'effet des Saponosides, Flavonoïdes, Triterpènes qui peuvent agir comme inhibiteurs de certaines enzymes telles que les lipases [19].

2.4. Activités enzymatiques

Les résultats montrent une augmentation très hautement significative des activités enzymatiques des AST (TGO) et ALT (TGP) chez le lot DNT par rapport au TS.

Parallèlement l'administration du glibenclamide ainsi que l'extrait aqueux à raison de 200 et 400mg/kg a provoqué une baisse très hautement significative des activités, comparés aux rats DNT. Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les lots TS et S-400 (Fig.5).

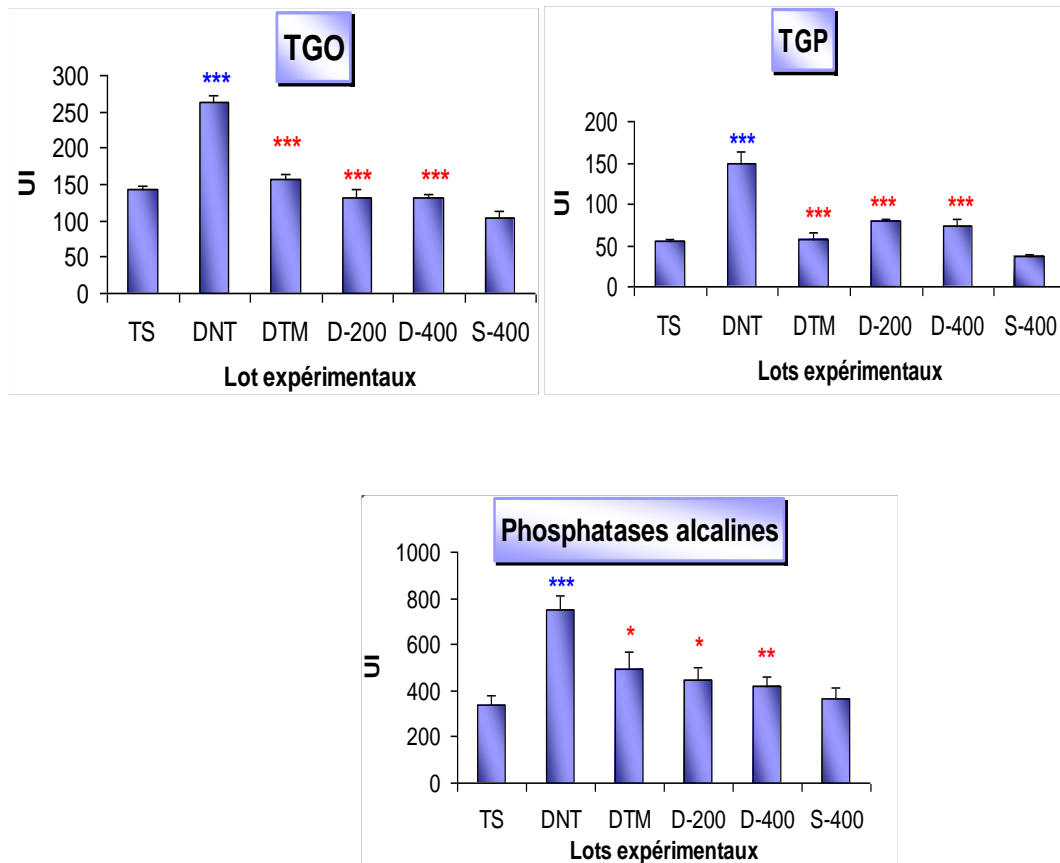


Fig.5 : Evaluation des activités enzymatiques des transaminases et phosphatase alcaline

Une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline est observée chez le lot DNT par rapport au TS. Cependant le traitement des rats diabétiques a entraîné une baisse significative chez les lots DTM et D-200, et hautement significative chez le lot D-400 comparé au DNT. Aucune différence significative n'apparaît entre les lots TS et S-400.

L'augmentation des activités des aminotransférases et de la phosphatase alcaline est un indicateur d'une altération tissulaire [20]. L'élévation de ces activités chez les rats diabétique non traités pourrait être signe d'une altération hépatique [21], elle serait également liée à effet hépatotoxique de l'alloxane [22], ou selon d'autres auteurs elle pourrait être expliquée par l'accumulation des acides aminés provenant de la dégradation des composés protéiques en absence d'insuline [23].

Le traitement des rats par l'extrait aqueux du *Rubus fruticosus* aux deux doses a entraîné une atténuation de l'activité de ces enzymes qui se traduit par une diminution de l'altération hépatique causée par l'alloxane.

Cet extrait posséderait donc une activité cytoprotectrice vis-à-vis des cellules hépatiques [14].

2.5. Coupes histologiques des pancréas

La figure 6 montre les coupes histologiques des pancréas des rats témoins et des rats diabétiques non traités et traités par différents traitements (x400).

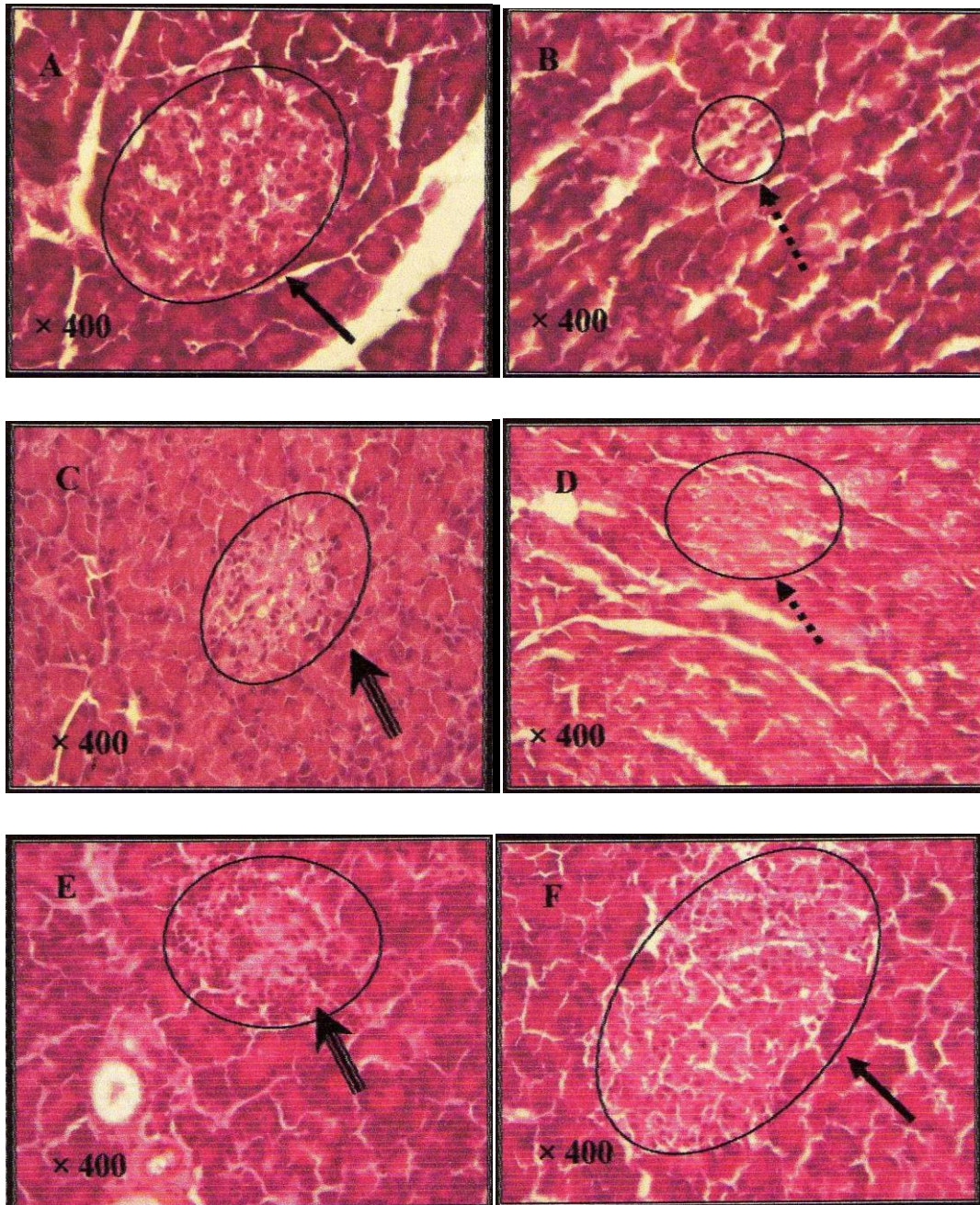


Fig.6 : Coupes histologiques des pancréas (x400).

(A): témoin sain; (B): diabétique non traité; (C): diabétique traité par le glibenclamide; (D): diabétique traité par D-200; (E): diabétique traité par D-400; (F): sain traité par S-400.

Les coupes histologiques des pancréas montrent une importante altération des cellules β des îlots de Langerhans chez les diabétiques non traités (Fig.6 (B)) comparés aux rats témoins (Fig.6 (A)). Ceci peut être expliqué par l'effet cytotoxique de l'alloxane sur ces cellules. Cet agent diabétogène induit plusieurs processus ayant pour résultat une destruction des cellules β qui entraîne une défaillance insulinaire à l'origine de diabète [23, 24]. Par contre, une protection partielle de ces cellules est observée chez les rats diabétiques traités par le glibenclamide (C) et

ceux traité par la dose D-400 de l'extrait aqueux. Ce qui pourrait être expliqué par l'effet antioxydant de l'extrait exercé au niveau du tissu pancréatique [25].

Conclusion

L'administration intrapéritonéale de 150 mg/kg d'alloxane aux rats provoque des perturbations métaboliques et des atteintes d'organes surtout au niveau pancréatique entraînant un diabète. Le traitement des rats diabétiques pendant 21 jours a amélioré ces perturbations. L'ensemble des effets observés sont :

Une récupération des poids corporels chez les diabétiques traités par le médicament ou par l'extrait comparés aux rats non traités.

Une augmentation de la concentration plasmatique du glucose, cholestérol, triglycérides chez les animaux diabétiques non traités ; par contre le traitement des rats par l'extrait a abaissé significativement ces valeurs, prouvant ainsi son effet antihyperglycémiant et hypolipidémiant.

Une augmentation de l'activité enzymatique des TGO, TGP, ainsi que des phosphatases alcalines. En revanche, les traitements ont atténué ces activités avec efficacité.

L'étude histologique réalisée au niveau des pancréas a permis de confirmer les résultats précédents en révélant des nécroses chez les rats diabétiques non traités alors que chez les diabétiques traités, ces nécroses sont atténuées.

Le screening phytochimique a mis en évidence la richesse de la plante en Tanins, Flavonoïdes et Saponosides, substances connues pour leurs activités antioxydantes, qui pourraient être responsables des effets observés.

Remerciements

Ce travail a été soutenu 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] International Diabetes Federation, 2006; *Diabetes Atlas*, 3rd ed.

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

- [2] Stumvoll M., Goldstein BJ. & Van Haeften TW., 2005; **Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy.** *Lancet*; **365**, 1333–1346.
- [3] Barnett AH., 2008; **New treatments in type 2 diabetes - a focus on the incretin-based therapies.** *Clinical Endocrinology (Oxf)*, **70**, 343–53.
- [4] Bnouham M., Ziyat A., Mekhf H., Tahri A. & Legssyer A., 2006 ; **Medicinal plants with potentiel antidiabetic activity - A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000).** *Diabetes & metabolism*, **14**, 1-25.
- [5] National Research Council, 2010; **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition.** pp: 1-248. ISBN: 0-309-15401-4.
- [6] Bruneton J., 1999; **Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales.** Edition Technique et Documentation, 1120 pp.
- [7] Matteucci E. & Giampietro O., 2008; **Proposal open for discussion: defining agreed diagnostic procedures in experimental diabetes research.** *Journal of Ethnopharmacology*, **115**, 163–72.
- [8] 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.
- [9] Houlot R., 1984; **Techniques d'histopathologie et de cytopathologie.** Ed. Maloine, pp : 19-21, 225-227.
- [10] Ojewole JAO., 2005; **Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract.** *Journal of Ethnopharmacology*, **99**, 13–19.
- [11] [Virally M.](#), [Blickle JF.](#), [Girard J.](#), [Halimi S.](#), [Simone D.](#) & [Guillausseau PJ.](#), 2007; **Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives.** *Diabetes & Metabolism*. **33, 4** : 231-244.
- [12] Farnier M., 2002 ; **Dyslipémié du diabétique.** Ed Jhon Libbey, Paris, 21- 22.
- [13] Rigalleau V., Lang J. & Gin H. 2007, **Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2.** *Endocrinologie-Nutrition*. [10-366-D-10]. Doi:10.1016/S1155-1941(07)46586-6
- [14] Jouad H., Maghrani M. & Eddouks M., 2002; **Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats.** *Journal of Ethnopharmacology*, **81**, 351-356.
- [15] Alonso R., Cadavid I. & Calleja JM., 1980; **A preliminary study of hypoglycemic activity of *Rubus fruticosus*.** *Journal of medicinal plants research*, **97**, 447-452.
- [16] Prabhakar PK. & Doble M., 2008, **A target based therapeutic approach towards diabetes mellitus using medicinal plants.** *Current Diabetes Review*, **4**, 291-308.
- [17] Karaca M. & Magnan C., 2013; **Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique.** *Endocrinologie-Nutrition*, [58044]. Doi: 10.1016/S1155-1941(13)58044-9.
- [18] Vergès B., 1998, **Traitement des hyperlipoprotéïnémies au cours du diabète.** *Sang Thrombose Vaisseaux*. **10, 3**, 151-157.

- [19] Perez GRM., Zavala SMA., Perez GS. & Perez GC., 1998; **Antidiabetic effect of compounds isolated from plants.** *Phytomedicine*, **5**, 55-75.
- [20] Alarcon-Aguilar FJ., Calzada-Bermejo F., Hernandez-Galicia E., Ruiz-Angeles A. & Roman-Ramos R., 2005; **Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonorae* root extracts.** *Journal of Ethnopharmacology*, **97**, 447-452.
- [21] Eidi A., Eidi M., & Sokhteh M., 2007; **Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) seeds on serum parameters in normal and streptozotocin-induced diabetic rats.** *Nutrition research*, **27**, 728-733.
- [22] Lenzen S. & Panten U., 1988; **Alloxan: history and mechanism of action.** *Diabetologia*, **31**, 337-342.
- [23] Almdal TP and Vilstrup H., 1988, **Strict insulin treatment normalizes the organic nitrogen contents and the capacity of urea-N synthesis in experimental diabetes in rats.** *Diabetologica*, **31**: 114-118.
- [24] Szkudelski T., 2001; **The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β Cells of the rat pancreas,** *physiology Research*, **50**, 536-546.
- [25] Burads S. & Oleszek W., 2001; **Antioxydant and antiradical activities of flavonoids.** *Journal of Agriculture and Food chemistry*, **49(6)**, 2774-82.

EFFET DE *NIGELLA SATIVA* SUR LE DIABETE ALLOXANIQUE CHEZ *RATTUS NORVEGICUS*

BENSIAMEUR-TOUATI.K⁽¹⁾, KHELIFATI.L⁽¹⁾, ZERIFLA.A⁽¹⁾, BERDJA.S⁽¹⁾, KACIMI.G⁽²⁾,
AOUICHAT-BOUGUERRA.S⁽¹⁾.

1 : Laboratoire de Physiologie et Physiopathologie Cellulaire et Moléculaire, FSB, USTHB.
2 : Laboratoire de Biochimie, HCA, Ain-Nadja.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Nigella sativa L., généralement connue sous le nom de cumin noire ou sanoudj en Algérie, est une plante herbacée annuelle de la famille des Renonculacées (Piras et al., 2013), elle pousse dans les pays méditerranéens et les pays d'Asie (Mathur et al., 2011).

Pendant des milliers d'années, cette plante a été utilisée dans de nombreux pays comme agent de conservation d'épices et de nourriture, ainsi que comme un remède protecteur et sanitaire en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies (Gali-Muhtasib et al., 2006).

Durant les années 1960 et depuis, de nombreux travaux ont porté sur l'étude de *Nigella sativa*, en particulier sur les effets dus aux extraits de la graine, ainsi qu'à ses principaux constituants, notamment la thymoquinone (TQ) (Toparlan, 2012).

Plusieurs propriétés biologiques de *N. sativa* ont ainsi été rapportées dans la littérature (Salem, 2005, Gali-Muhtasib et al., 2006, Guler et al., 2006, Hosseinzadeh et al., 2007, Najmi et al., 2012, Aftab et al., 2013, Najmi et al., 2013 et Sengupta et al., 2013).

- **Effet antioxydant**
- Effet hypolipémiant
- Effet sur la tension artérielle et la coagulation sanguine
- Effet anti-inflammatoire
- Effet sur le système nerveux central
- Effet antiallergique
- Autres effets rapportés par la littérature scientifique: effet hépato protecteur en capturant les espèces radicalaires produites, stimulation du système immunitaire, effet anti cariogène, activité insecticide, activité antimicrobienne sur une large gamme de microorganismes aussi bien Gram+ que Gram-, effet dermatologique dans le traitement de psoriasis et d'acné rosacée, etc.

L'effet hypoglycémiant et antidiabétique de *N.sativa* a également été constaté par les nombreuses études scientifiques réalisées *in vivo* et *in vitro* (Benhaddou-Andaloussi et al., 2011). Il a en effet été montré que le traitement avec diverses préparations de *Nigella sativa* L. entraîne systématiquement une diminution de la glycémie chez différents modèles animaux. (Benhaddou- Andaloussi, 2009 et Toparlan, 2012).

L'objectif de notre travail a été donc de rechercher l'effet antidiabétique de l'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa* sur le diabète alloxanique induit chez des rats wistar « *Rattus norvegicus* », sachant que l'alloxane est un agent diabétogène utilisé pour induire un diabète expérimental par nécrose sélective des cellules β pancréatiques des îlots de Langerhans.

MATERIEL ET METHODES

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

1. Préparation des lots d'étude

21 rats de l'espèce *Rattus norvegicus* variété wistar ont été répartis en trois lots d'étude comme suit:

- un lot de rats témoins sains, (T)
- un lot de diabétiques témoins (DT)
- un lot de rats diabétiques traités à l'extrait aqueux de la nigelle (DNS).

Chez les deux derniers lots, le diabète a été induit par une injection unique d'alloxane à raison de 200 mg/Kg de poids corporel. Les rats sont considérés comme diabétiques après une glycémie de 120mg/dl, ce qui est confirmé trois semaines après l'injection.

Le lot DNS fera ensuite l'objet d'une administration quotidienne par gavage de l'extrait aqueux durant deux mois.

2. Préparation de l'extrait aqueux

150g de poudre de nigelle sont portés à 95°C dans 500 ml d'eau distillée pendant 12 heures.

Puis on procède à la filtration de la solution et on soumet le filtrat à 90°C pendant 8 heures jusqu'à évaporation de l'eau.

L'extrait aqueux obtenu fera l'objet de l'étude et sera administré per os à raison de 2 g/kg de poids corporel au lot 3 : DNS

3. Dosages biochimiques, sériques et tissulaires

La glycémie et le poids corporel étaient mesurés chaque semaine.

A T0, S3 (après instauration du diabète et avant le début du traitement), S4t (1 mois après traitement), et à S8t (à la fin des deux mois de traitement) : les prélèvements sanguins ont servi au dosage du cholestérol total, au c-LDL, c-HDL, aux triglycérides, au MDA sérique et érythrocytaire et aux enzymes ALAT et ASAT.

A l'issue des 2 mois de traitement, les rats ont été sacrifiés par anesthésie à l'uréthane 20% à raison de 0.4 ml/100g. Le foie, le pancréas et le tissu adipeux ont été prélevés et ont permis d'évaluer les paramètres tissulaires suivants :

- Glycogène, MDA, lipides totaux et triglycérides dans le foie.
- MDA dans le tissu adipeux et dans le pancréas.

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Le poids corporel

L'alloxane n'a pas induit une diminution notable du poids chez les lots diabétiques. Au contraire le lot de rats traités à l'extrait aqueux de la graine de nigelle a même montré une augmentation du poids les deux dernières semaines de traitement, ce qui peut s'expliquer par une augmentation de la sécrétion d'insuline et la reprise de la lipogenèse.

2- La glycémie

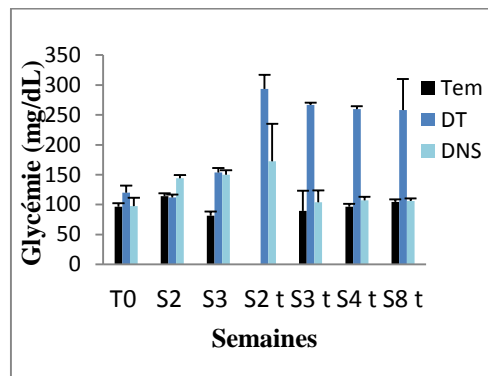


Fig. 1 : Evaluation de la glycémie chez les rats témoins, diabétiques alloxanisés et les rats diabétiques soumis à la graine de nigelle (N. s.) pendant deux mois.

Une augmentation hautement significative de la glycémie a été remarquée après alloxanisation s'expliquant comme l'avancent Benhaddou-Andaloussi et al. (2011) par une probable destruction de cellules β des îlots de Langerhans. Par contre le traitement par l'extrait aqueux de nigella sativa a induit une remarquable baisse de la glycémie à partir de la 3ème semaine de traitement ne pouvant être due qu'à une augmentation de la sécrétion d'insuline.

3- Les triglycérides plasmatiques

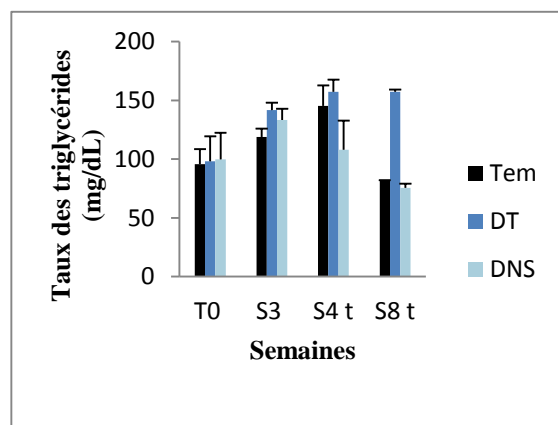


Fig. 2 : Evaluation des triglycérides (mg/dL) chez rats témoins, diabétiques alloxanisés et diabétiques soumis à la graine de nigelle (N. s.) pendant deux mois.

Une augmentation des triglycérides est remarquée après alloxanisation chez les deux lots de rats diabétiques suivie d'une diminution significative des TG sériques chez des rats diabétiques soumis au traitement par la nigelle. De telles constatations avaient déjà été rapportées par Fararh et al. (2010) suite à l'utilisation de la Thymoquinone.

4- Le cholestérol total

Après l'augmentation du taux de cholestérol total remarquée après induction du diabète par l'alloxane, une diminution significative a été remarquée après déjà un mois traitement à l'extrait aqueux de *Nigella sativa*.

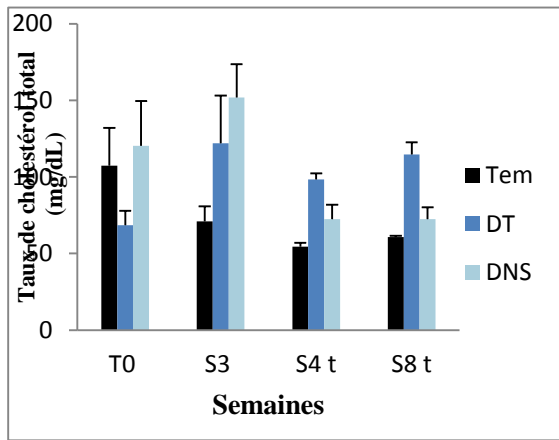


Fig. 3 : Evolution du taux de cholestérol total sérique chez les trois lots de rats.

5- Profil des lipoprotéines plasmatiques par électrophorèse horizontale sur gel d'agarose

- Chez le rat témoin, il y a prédominance des VLDL suivie des LDL puis du HDL.
- Chez le rat diabétique, les VLDL et LDL augmentent en parallèle à une diminution du HDL.
- Chez les rats traités à l'extrait aqueux de *Ns*, nous remarquons une diminution des taux de LDL et VLDL connues pour leurs propriétés athérogènes et ce après 1 mois de traitement, suivie d'une augmentation des HDL, lipoprotéines cardioprotectrices, après deux mois de traitement,

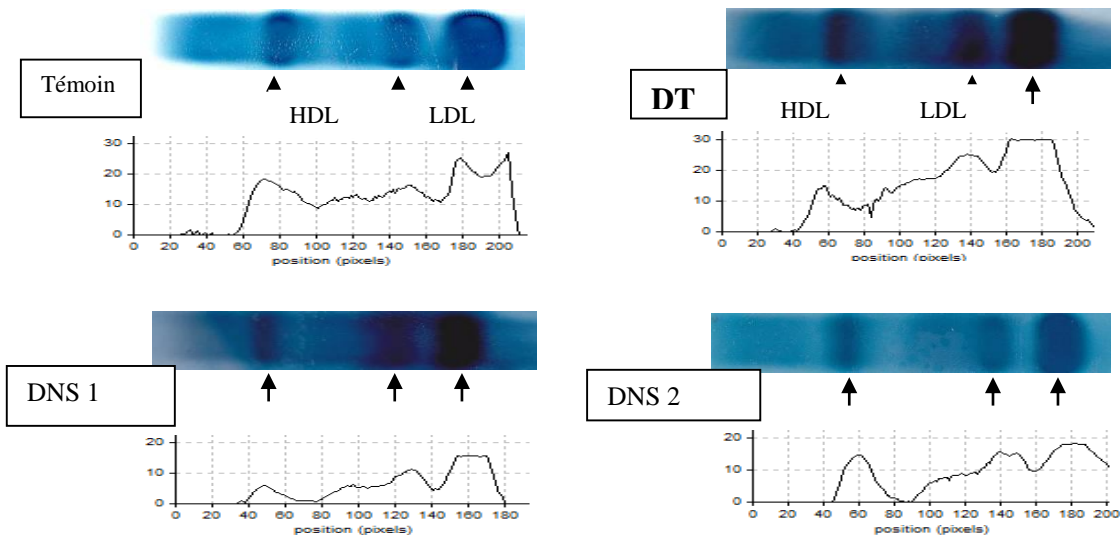


Fig. 5 : Séparation des lipoprotéines de séra de rats témoins, diabétiques, diabétiques traités par NS pendant un mois et diabétiques traités à NS pendant 2 mois, par électrophorèse horizontale sur gel d'agarose.

6- MDA sérique et érythrocytaire

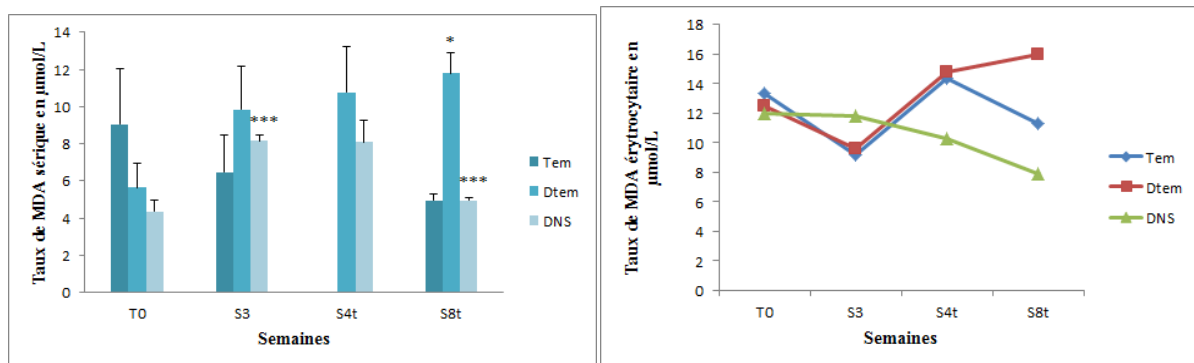


Fig. 6 : Détermination du taux de MDA sérique et érythrocytaire chez les trois lots de rats de laboratoire (témoins, diabétiques alloxanisés et diabétiques soumis à la graine de nigelle).

Si une augmentation des taux de MDA est remarquée aussi bien dans le sang que dans les érythrocytes chez les deux lots de rats diabétiques, nous constatons également une diminution particulièrement importante à l'issue des deux mois de traitement s'expliquant par la présence de composés antioxydants dans la graine de nigelle et retrouvés dans son extrait aqueux.

7- Paramètres tissulaires

- Le glycogène hépatique

L'alloxane a diminué le taux de glycogène dans le foie alors que *Nigella sativa* a provoqué son augmentation.

Nigella sativa exerce donc un effet favorable sur la glycogénogénèse en augmentant l'utilisation du glucose périphérique (l'insuline favorise la glycogénogénèse et réduit la glycogénolyse)

- Les lipides totaux et les triglycérides hépatiques

La réduction de la sécrétion d'insuline suite à l'injection d'alloxane a induit une grande activité lipolytique au niveau du tissu adipeux augmentant les triglycérides hépatiques.

Nigella sativa a réduit le taux de TG, ce qui s'explique par la diminution de l'activité lipolytique dans le tissu adipeux c'est-à-dire par une augmentation de la sécrétion d'insuline.

- Le MDA hépatique, pancréatique et adipeux

L'alloxanisation a provoqué l'augmentation du MDA dans l'ensemble des tissus analysés probablement du fait des dommages causés par l'alloxane qui est un agent oxydant fort favorisant la formation de radicaux superoxydes.

Une diminution du taux du MDA tissulaire a cependant été remarquée dans le foie et le pancréas chez le groupe d'animaux traité par l'extrait aqueux de *Nigella sativa*.

L'effet antioxydant de la thymoquinone avait déjà été rapporté lors de l'utilisation du principe actif de la graine, la thymoquinone, qui selon Abdelmeguid et al., (2011) diminue la génération des substances réactives à l'oxygène (ROS) et augmente l'activité de la superoxyddismutase (SOD).

- **Marqueurs hépatiques**

Une augmentation des enzymes hépatiques plasmatiques est souvent le signe d'une hépatotoxicité, ce que nous avons constaté après alloxanisation. Cependant, et cela est surtout remarquable pour l'ALAT (Fig. 7), le traitement à la nigelle à réduit remarquablement les taux de l'enzyme probablement grâce à la richesse de *Nigella sativa* en antioxydants lesquels pourraient inhiber les dommages du foie causés par l'alloxane.

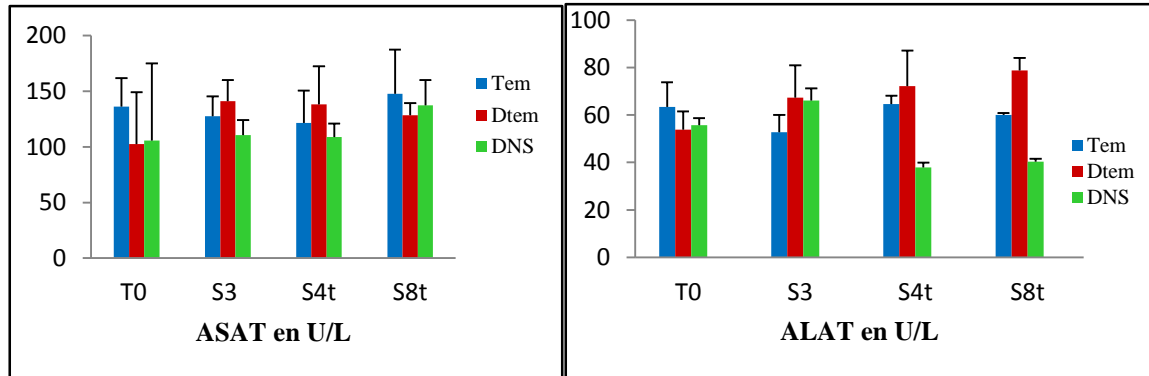


Fig. 7 : Détermination des taux d'ASAT et d'ALAT chez les trois lots de rats de laboratoire (témoins, diabétiques alloxanisés et diabétiques soumis à la graine de nigelle).

CONCLUSION

- Les résultats obtenus à l'issue de cette étude ont montré que l'administration quotidienne d'un extrait aqueux de *Nigella sativa* à des rats alloxanisés induit une activité antihyperglycémiant, une activité hypolipémiante et un pouvoir antiradicalaire et antioxydant.
- De même, l'estimation des enzymes hépatiques ASAT/ALAT qui ont augmenté suite à l'injection d'alloxane et diminué suite à l'action de *Nigella sativa* suggère une implication de l'ALAT notamment, dans la protection du foie et du pancréas contre les dommages causés par l'alloxane.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 7- Abdelmeguid E.N., Fakhoury R., Kamal S.M. et Al Wafia R.J.(2010).Effects of *Nigella Sativa* and Thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -Cells of Streptozotocin –induced diabetic rats. *J Diabet*, 2, 256–266
- 8- Aftab A., Asif H., Mohd M., Shah A.K., Abul K.N., Nasir A.S, Zoheir A.D., Firoz A. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*, a miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed*; 3(5): 337-352
- 9- Benhaddou- Andaloussi A., (2009). Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa*: Sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de doctorat PhD, *Université de Montréal, Département de pharmacologie, Faculté de médecine*.
- 10- Benhaddou-Andaloussi A., Martineau L. ,Vuong T., Meddah B., Madiraju P. , Settaf A., et Haddad P.S. (2011). The in vivo antidiabetic activity of *Nigella sativa* is mediated through activation of the AMPK pathway and increased muscle Glut4 content.*Evidence-Based ComplAltern Med* , Vol.2011, Art ID 538671; 9 pages
- 11- Fararh M.K., Ibrahim A.K. , Elsonosy A.Y. (2010). Thymoquinone enhances the activities of enzymes related to energy metabolism in peripheral leukocytes of diabetic rats.*Res Vet Sc*88 ; 400–404.
- 12- Gali-Muhtasib H., El-Najjar N., Schneidre-Stock R.(2006). The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components. *L Mol N Pro*; 133-153.
- 13- Guler T., Dalkılıç B., Ertas O.N. et Çiftçi M. (2006) .The effect of dietary black cumin seeds (*Nigella Sativa L.*) on the Performance of Broilers.*Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2006. Vol 19, No. 3 : 425-430
- 14- Hosseinzadeh H., Moghim F.F. et Taghi Mansouri S.M.(2007). Effect of *Nigella Sativa* seed extracts on ischemia reperfusion in rat Skeletal Muscle.*Pharmacologyonline*2: 326-335
- 15- Mathur M.L., Gaur J., Sharma R ., Haldiy K .R.(2011). Antidiabetic Properties of a spice plant *Nigella sativa*.*J. Endo. Metab* .2011;1(1):1-8
- 16- Najmi A., Mohammad N., Rahat A. K., Shahzad F. H. (2012). Therapeutic effect of *Nigella Sativa* in patients of poor glycemic control. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* , Vol 5, Suppl 3, 224-228
- 17- Najmi A., Mohammad N., Rahat A. K., Shahzad F. H.(2013) Indigenous herbal product *Nigella Sativa* proved effective as an antihypertensive in metabolic syndrome .*Asian J. Pharm. Clin. Res.* , Vol 6, Issue 1, 61-64.
- 18- Piras A., Rosa A., Marongiu B., Porcedda S., Falconieri D., Dessì M.A., OzcelikBetKoca U.(2013).Chemical composition and in vitro bioactivity of the volatile and fixed oils of *Nigella sativa L.* extracted by supercritical carbon dioxide. *Ind Crops Prod* 46; 317– 323.
- 19- Salem M. L. (2005). Immunomodulatory and Therapeutic Properties of the *Nigella sativa L.* seeds. *Inter Immunopharm* 5; 1749–1770
- 20- Sengupta M., Mondal P., Saha M., Paul S. et Gupta M.(2013). Evaluation of anti-ulcer activity of aqueous extract of black cumin Seeds (*Nigella Sativa L*) on experimental albino rats . *J. D. D. & Ther*; 3(1), 25-28
- 21- Toparlsan C. (2012). À propos de *Nigella sativa L.* Thèse de doctorat en pharmacie. *Université de lorraine, faculté de pharmacie*.

**POUVOIR ANTIOXYDANT ET ANTICANCEREUX DES EXTRAITS DU
CYCLAMEN AFRICANUM**

**ANTIOXIDANT AND ANTICANCER POWER OF SOLVANT EXTRACTS FROM
CYCLAMEN AFRICANUM**

MAZOUZ.W¹, DJEDDI.S²

¹Laboratoire des Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes, Département des Sciences de La Nature et de La Vie, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de La Nature et De La Vie, Université de L'Arbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi, BP 358, 04000, Algérie
E-mail :wissamm528@gmail.com

Tel : +231 32 55 22 87

²Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Badji Mokhtar Annaba, 23000 Algérie.

*Auteur de correspondance

Dr. Samah DJEDDI

Tel: 06 97 19 21 43

Email: samah.djeddi@univ-annaba.dz

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude des activités biologiques des extraits bruts du *Cyclamen africanum* Boiss & Reut une espèce endémique à l'Afrique du Nord.

Le potentiel antioxydant des différents échantillons a été évalué en utilisant la méthode de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que certains extraits pouvaient agir en tant que piègeurs de radicaux libres et cela s'est traduit par le changement de couleur (du violet au jaune). L'extrait méthanolique a témoigné une forte activité antioxydante atteignant les $70.44 \pm 1.6\%$ avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 429.21 mg.l⁻¹, cependant l'extrait DCM a montré une activité antioxydante beaucoup moins importante de l'ordre de $22.04 \pm 4.3\%$ avec une valeur d'IC₅₀ égale à 9.30×10^7 mg.l⁻¹.

L'activité anticancéreuse des différents extraits étudiés a été évaluée à l'aide de la technique colorimétrique de réduction du MTT vis-à-vis des cellules cancéreuses mammaires BT-484 et MDA-MB-231 et des cellules épithéliales mammaires MCF-10A. Seul l'extrait MeOH s'est révélé le plus actif avec une valeur IC₅₀ de 134.14µg/ml.

Un screening relatif à l'activité antimicrobienne des différents extraits étudiés a été réalisé in vitro contre sept souches bactériennes pathogènes et une seule souche de levure en employant la méthode de diffusion sur milieu solide. Les résultats obtenus ont montré que l'ensemble des extraits étudiés s'avèrent inactifs contre toutes les souches testées.

Mots clés : *Cyclamen africanum* Boiss & Reut, activité antioxydante, activité anticancéreuse.

1. Introduction

L'objectif principal que nous nous sommes fixé a été l'identification des substances bioactives qui peuvent contribuer à l'amélioration de la santé publique, sachant que l'investigation in vitro des activités biologiques des substances naturelles est l'objectif principal des recherches réalisées au département de biologie de l'université d'Annaba.

Dans ce contexte, une Primulacée "Cyclamen africanum Boiss & Reut" a été choisie pour faire l'objet de l'investigation de ces potentielles activités biologiques. Les plantes appartenant au genre *Cyclamen* sont vivaces et caractérisées par de grosses tiges tubéreuses circulaires et aplaties d'où naissent les racines [1].

Figure 1 : *Cyclamen africanum* Boiss & Reut

Égyptiens, Grecs et Romains connaissaient déjà les cyclamens et les utilisaient en médecine [2], préconise que les adeptes de l'homéopathie utilisent l'essence homéopathique du tubercule frais récolté au printemps, contre toute une série de maux : douleurs de tête et d'oreilles, coryza, maux de dents, troubles de la digestion (météorisme), crises de coliques, chlorose liée à l'aménorrhée, douleurs rhumatismales et goutteuses sans manifestations fébriles, certaines névroses du cœur, teigne aménorrhée, dysménorrhée, crampes de membres inférieurs, diverses maladies de peau.

Dans la littérature, peu de travaux scientifiques ont été dédiés aux activités biologiques des espèces appartenant au genre *Cyclamen*, parmi les espèces étudiées *Cyclamen mirabile* Hildebr récolté en Turquie, dont l'extrait de feuille a montré une forte activité antioxydante [3], cependant selon les travaux de Speroni et al. [4] réalisés sur les tubercules du *C. repandum* S. et S. il s'avère que ces derniers possèdent des potentiels anti-inflammatoires et anti-nociceptifs grâce à la présence de saponines triterpéniques.

Les travaux d'Emre et al. [5] ont mis en évidence l'activité larvicide des extraits de tubercules isolés à partir de deux espèces de *Cyclamen*: *C. mirabile* Hildebr et *C. alpinum* Dammann ex Sprenger contre *Culex pipiens* L.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique et extraction

La récolte du *Cyclamen africanum* Boiss & Reut a été réalisée aléatoirement dans son habitat naturel au niveau la région de Maouna (Wilaya de Guelma, Est d'Algérie) en Mai 2013, avant la période de floraison. L'identification du *Cyclamen* d'Afrique a été réalisée par Mr Benabdelrezzak Saleh, Ingénieur à la conservation des forêts de Guelma. Les parties aériennes de l'espèce récoltée, ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Elles ont été ensuite pesées, broyées grossièrement et conservées dans des sacs propres.

L'extraction a été effectuée selon la méthode décrite par Dall'Acqua et al. [6], où 200 g du matériel végétal a subi une extraction par solvants organiques, cette dernière est effectuée par épuisement successif du matériel végétal, en utilisant trois solvants à polarité croissante: éther de pétrole, dichlorométhane, méthanol, ainsi que le mélange hydro-alcoolique méthanol-eau, ces extractions ont été répétées trois fois. L'extraction a été effectuée à température ambiante durant 72 heures. Après filtration, le résidu a été ensuite concentré par évaporation rotative à l'aide un rotavapeur.

Un screening phytochimique a été réalisée afin de mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques (huiles volatiles, stérols & terpènes,...etc) au niveau de la plante, à cet effet nous nous sommes référées aux techniques décrites par Zellagui et al. [7], également un dosage des polyphénols a été réalisé au niveau de l'Institute de Chimie-physique, N.C.S.R. «Démocritos», Athènes, Grèce.

2.2. Activités biologiques

2.2.1. Activité antioxydante

Ce test a été réalisé selon les recommandations de Bounatirou et al. [8]. L'activité antioxydante des différents échantillons testés a été estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = [\text{Abs blanc} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs blanc}] \times 100.$$

Les résultats ont été également exprimés par la moyenne de trois mesures séparés \pm écart type. Le paramètre IC50 est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité.

2.2.2. Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse du *C. africanum* a été évaluée selon la méthode colorimétrique du MTT décrite par Tu et al. [9], au Centre d'excellence pour la recherche sur le cancer, l'Université médicale de Taipei, Taiwan.

➤ Lignées cellulaires et milieux de culture

Nous avons utilisé des cellules suivantes:

MCF-10A cellules épithéliales mammaires (ATCC, Manassas, USA).

BT-483 cellules cancéreuses mammaires (Hôpital universitaire de Taipei, Taiwan).

MDA-MB-23 cellules cancéreuses mammaires (Hôpital général de Cathay, Taiwan).

Toutes les cellules ont été cultivées dans un milieu approprié Mediatech (Carlsbad, CA, USA) contenant 10% de sérum de veau fœtal et un mélange de pénicilline et streptomycine. Les cellules sont maintenues à 37°C dans une atmosphère de 5% de CO₂.

2.2.3. Activité antimicrobienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des différents extraits nous avons utilisé la méthode de la diffusion des disques en milieu gélosé. Cette technique a été réalisée niveau du laboratoire microbiologie de l'université d'Oum Bouaghi.

- **Souches testées** : Les extraits ont été testés vis-à-vis de plusieurs souches antimicrobiennes:
 - ✓ Souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Staphylococcus aureus* ATCC 252923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 (les souches ATCC proviennent du laboratoire de bactériologie, Hôpital universitaire de Constantine);
 - ✓ Souches isolées cliniquement: *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* sp (isolées de coproculture), *Sterptococcus* sp (isolées d'ECBU) ;
 - ✓ Souche fongique: la levure *Candida albicans* (isolées d'ECBU).

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats phytochimiques

L'identification ou bien la détection des groupes chimiques à partir de la partie aérienne du *C. africanum* a été effectuée, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 1 :

Tableau 1 : **Familles chimiques identifiées du *C. africanum***

Dosage des polyphénols totaux

L'étude quantitative des extraits bruts, obtenus à partir du *C. africanum*, au moyen du dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux. Une droite d'étalonnage a été tracée à cet objectif (Fig. 2) qui a été réalisée avec une solution d'étalon à différentes concentrations.

Figure 2: Droite d'étalonnage des polyphénols totaux

Les quantités des polyphénols totaux ont été rapportées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/gr) et déterminées par l'équation de type:

$$y = a x + b$$

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu [10]. L'acide gallique a été utilisé comme étalon.

Tableau 2: Teneur en polyphénols totaux dans les extraits du *C. africanum*

L'extrait MeOH-H₂O représente la teneur la plus élevée en polyphénols: 377.4 (mg GAEs/gr d'extrait), ce résultat atteste de la grande richesse de la partie aérienne du *Cyclamen africanum* en substances polyphénoliques, en comparaison avec la teneurs des polyphénols dans l'extrait DCM qui représente une teneur faible en polyphénols totaux avec 53.04 (mg GAEs/gr d'extrait). Cela est dû du fait que les composés phénoliques sont extraits souvent en quantités plus élevées dans des solvants plus polaires [11], [12], [13]. Plusieurs recherches antérieures confirme cette hypothèse et ont montré que le MeOH-H₂O est le solvant le plus efficace pour extraire les composés phénoliques du *Lysimachia laxa*, *Gymnocladus assamicus* [11], les feuilles du *Aloe barbadensis* [14] et les feuilles du *Moringa oleifera* [15].

Ces tendances sont en accord avec de nombreux résultats issus de la littérature, pour lesquels la quantité de composés phénoliques n'est pas favorisée dans le cas d'extraits utilisant des solvants purs, mais le sont par l'emploi de solvants mixtes. La présence d'eau dans ces derniers augmenterait la perméabilité des tissus végétaux et favoriserait le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction [16].

3.2. Évaluation des activités biologiques

3.2.1. Activité antioxydante

Les différentes valeurs d'IC₅₀ sont représentées dans le tableau ci-dessous, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ces IC₅₀ sont calculés à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de ces extraits.

Tableau 3 : IC₅₀ des extraits bruts et des standards

Les résultats obtenus montrent que les extraits polaires du *C. africanum* ainsi que les standards utilisés possédaient une activité antioxydante significative avec des valeurs IC₅₀ comprises entre 6.19 x 10⁻¹⁷ et 429.21 mg .l⁻¹. Cependant l'extrait apolaire a montré une faible activité 9.30 x 10⁷.

L'extrait MeOH possède l'activité antioxydante la plus élevée (IC₅₀: 429.21 mg.l⁻¹) suivi de l'extrait MeOH- H₂O et finalement l'extrait DCM (9.30 x 10⁷ mg .l⁻¹) qui a montré le potentiel antioxydant le plus bas, mais l'activité antioxydante des extraits reste légèrement inférieure à celle des standards utilisés.

Cette activité peut être due surtout à la présence de composés polyphénoliques présents en teneurs élevée dans les deux extraits.

Les capacités de piégeage du radical sont classées dans l'ordre : Acide gallique > BHT > MeOH > MeOH-H₂O > DCM

Selon Rezaire [16] l'influence de la polarité du solvant dans un milieu acidifié (ou non), et en présence (ou non) d'une étape de délipidation met en évidence que l'utilisation de solvant mixte de polarité intermédiaire permet d'aboutir à une activité antioxydante significative si on la compare à celle du composé de référence testé.

Des résultats similaires ont été obtenus lors d'études réalisées sur d'autres espèces du genre *Cyclamen*, mené par Sarikurkcü [3] où le chercheur a évalué le potentiel antioxydant des feuilles du *Cyclamen mirabile* les résultats obtenus ont montrés que l'extrait méthanolique était le plus actif avec une valeur égale à 88.25%.

Le coefficient linéaire entre la teneur en polyphénols dans les extraits et leur potentiel antioxydant est $r = -0.987$.

3.2.2. Activité anticancéreuse

L'activité inhibitrice de la croissance des cellules cancéreuse des extraits DCM, MeOH et MeOH-H₂O obtenus à partir de *Cyclamen africanum* a été évaluée, au moyen du test colorimétrique MTT, sur des cellules de cancer du sein BT-484 et MDA-MB-231 et des cellules épithéliales mammaires MCF-10A.

Les résultats représentés dans le tableau 4 et les figures 3, 4 et 5 montrent que seule l'extrait DCM montre une activité cytotoxique vis-à-vis les deux lignées cancéreuses, alors que les extraits MeOH et MeOH-H₂O ont montré seulement une activité contre la lignée cancéreuse MDA-MB-231.

Tableau 4: Évaluation de la cytotoxicité *in vitro* des extraits bruts du *C. africanum*

Le pourcentage de la viabilité des cellules testées avec les différents extraits est représenté dans les figures 3, 4 et 5:

Figure 3 : Activité cytotoxique de l'extrait DCM sur les lignées cellulaires testées

Figure 4 : activité cytotoxique de l'extrait MeOH sur les lignées cellulaires testées

Figure 5 : activité cytotoxique de l'extrait MeOH-H₂O sur les lignées cellulaires testées.

L'extrait MeOH est l'extrait le plus actif contre la lignée cellulaire cancéreuse MDA-MB-231 (IC₅₀: 134.14 µg/ml) et les cellules épithéliales mammaires MCF-10A (IC₅₀: 180.01 µg/ml) suivie par l'extrait DCM pour la lignée MDA-MB-231 (IC₅₀: 437 µg/ml).

Une étude récente a montré que les extraits du *Cyclamen persicum* ont une efficacité cytotoxique contre les lignées cellulaires cancéreuse PC3 et Raw164-7 avec des concentrations inhibitrices virantes entre 62.5 et 500 µg/ml [17].

Quelques travaux antérieurs ont prouvés que les espèces *Ganoderma lucidum* [18], *Emblica officinalis* et *Vernonia anthelmintica* [19] ont montrés une activité inhibitrice contre la lignée cellulaire MDA-MB-231.

Plusieurs études ont montré que certains extraits végétaux ont une activité anticarcinogénique reconnue, nous pouvons cité comme exemple: le saffron (*Crocus sativus* L) [20], les fruits du *Terminalia chebula* (contre le cancer du sein et le cancer de la prostate) [21], les racines du *Platycodon grandiflorum* [22], *Abutilon hirtum* (contre le cancer du sein) [23], *Cynodon dactylon* [24], *Punica granatum* contre les lignées cellulaires cancéreuses A375, HCT116 et HepG2 [25], *Pandanus amaryllifolius* contre le cancer du sein [26], *Salvia officinalis* contre trois lignées cellulaires de mélanome humain: A375, M14, et A2058 [27] et les deux espèces *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L contre le cancer du la vessie humaine RT112, carcinome du larynx humain Hep2 et la leucémie myéloïde humaine K562 [28].

Une corrélation linéaire significative a été observée ($r = 0.3627$) entre le pouvoir antioxydant et anticancéreux des extraits. Tandis que la corrélation entre la teneur en polyphénols des extraits et leur pouvoir anticancéreux est $r = -0.209$.

Les résultats de la vidéomicroscopie sont représentés dans la figure 6.

3.2.3. Activité antimicrobienne

Les résultats présentés dans les tableaux 6 et 7 ont montré que l'extrait méthanolique n'a présenté aucune activité antimicrobienne contre les souches testés, l'extrait dichlorométhanique et méthanol-eau ont montré une faible activité contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Tous ces extraits sont considérés comme inactifs par rapport au contrôle positif qui a une forte activité contre toutes les souches bactériennes testées.

Les résultats des zones d'inhibitions des microorganismes vis-à-vis de l'antibiotique gentamicine sont regroupés dans le tableau 5.

Tableau 5: Activité antibactérienne de la gentamicine exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition en mm

La sensibilité aux différentes souches a été classée par le diamètre de la zone d'inhibition comme se suit [29]:

- Diamètre moins de 8 mm: non sensible;
- Diamètre de 9-14 mm: sensible;
- Diamètre 15-19 mm: très sensible;
- Diamètre supérieur à 20 mm: extrêmement sensible.

Tableau 6: activité antimicrobienne du l'extrait DCM du *C. africanum* exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition en mm

Tableau 7: Activité antimicrobienne du l'extrait MeOH- H₂O du *C. africanum* exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition en mm

Podolak et al. [30] ont montré que les pigments quinoïdes isolés du *Lysimachia vulgaris* L. (*Primulaceae*) ont une activité significative contre la levure *Candida albicans*.

Une autre étude a prouvée que les extraits dichlorométhanique et éthyl acétate d'*Anagallis foemina* Miller et *Anagallis arvensis* (deux espèces appartiennent à la famille des *Primulaceae*) peuvent inhiber la croissance du *Rhizopus stolonifer* [31].

La période de la récolte de la plante peut influencer l'activité antimicrobienne des extraits bruts. Bounatirou et al [8] ont prouvé que l'huile essentielle du *Thymus capitatus* n'a aucune activité antibactérienne en période de pré-floraison, alors qu'elle présente une activité antibactérienne plus élevée pendant la période de floraison.

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne peut aussi influencer les résultats, Natarajan et al. [32] et Fazeli et al. [33] ont constaté que la méthode de diffusion des puits est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques de l'*Euphorbia fusiformis* et hydro-éthanoliques de *Rhus coriaria* et *Zataria multiflora*, en comparaison avec la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Conclusion

Puisque l'activité anticancéreuse de la plante est élevée, celle-ci pourrait être un candidat intéressant pour le l'identification de molécules actives.

L'ensemble de ces résultats montre que les sources naturelles peuvent être un véritable réservoir de molécules originales susceptibles d'être proposées comme modèle pour des travaux de chimie médicinale.

Références

- [1] Bruneton J, Plantes Toxiques, Végétaux Dangereux Pour L'homme et Les Animaux, Tec & Doc Lavoisier, 2005 : 461 ;
- [2] Fournier P, Plantes Médicinales et Vénéneuses de France: Consoude à Melon, Connaissances et Mémoires Européennes- Société nationale d'horticulture de France, 1999 : 33-34-35;

- [3] Sarikurkcu C, Antioxidant Activities of Solvent Extracts from Endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. Tubers and Leaves, African Journal of Biotechnology, 2011: 831-839;
- [4] Speroni E, Cervellati R, Costa S *et al*, Analgesic and anti-inflammatory activity of *Cyclamen repandum*, Phytother Res, 2007: 684-689;
- [5] Emre O, Koc S, Dusen O D, Mammadov R, Cetin H, Larvicidal Activity of *Cyclamen* (Myrsinaceae) Extracts Against The larvae of West Nile Virus Vector *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae), Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2013: 449-452;
- [6] Dall'Acqua S, Castagliuolo I, Brun P, Ditadi F, Palù G, Innocenti G, Triterpene Glycosides With *In Vitro* Anti-Inflammatory Activity from *Cyclamen repandum* Tubers, Carbohydrate Research, 2010: 711 ;
- [7] Zellagui A, Gherraf N, Kaabache M, Rhouati S, Phytochemical and Biological Survey From Two Endemic Species: *Genista microcephala* Coss et Dur and *Filago pomelli* Batt et Trab, Plant Sciences Feed, 2011: 190-193;
- [8] Bounatirou S, Smiti S, Miguel M G, Faleiro L, Rejeb M N, Neffati M *et al*, Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oils Isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff.et Link. Food Chemistry, 2007: 146–155;
- [9] Tu S H, Chang C C, Chen C S, Tam K W, Wang Y J, Lee C H, Lin H W *et al*, Increased Expression of Enolase α In Human Breast Cancer Cells, Breast Cancer Res Treat, 2010: 539-553 ;
- [10] Nikokavoura A, Christodouleas D, Yannakopoulou E, Papadopoulos K, Calokerinos A C, Evaluation of antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic compounds in edible oils by a novel fluorimetric method, Talanta, 2011: 874-880 ;
- [11] Gupta S, Sarma S, Mao A A, Seal T, Antioxidant Activity of Different Parts of *Lysimachia laxa* and *Gymnocladus assamicus*, A Comparison Using Three Different Solvent Extraction Systems, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2013: 33-40 ;
- [12] Seal T, Pillai B, Chaudhuri K, Effect of Solvant Extraction System on The Antioxidant Activity of Some Selected Wild Leafy Vegetables of Meghalaya State in India, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2013: 1046-1051;
- [13] Seal T, Chaudhuri K, Pillai B, Antioxidant Activity of Some Selected Wild Edible Fruits of North. Eastern Region in India and Effect of Solvent Extraction System, Global Journal of Environmental Research, 2012: 84-90;
- [14] Sultana B, Anwaret F, Ashraf M, Effect of Extraction Solvent/Technique on The Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts, Molecules, 2009: 2167-2180;
- [15] Siddhuraju P, Becker K, Antioxidant Properties of Various Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera lam.*) leaves. J. Agric. Food Chem, 2003: 2144-2155;
- [16] Rezaire A, Activité Anti-oxydante, et Caractérisation Phénolique du Fruit de Palmier Amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa), Thèse de Doctorat Université des Antilles et de la Guyane, 2012: 215;
- [17] Bsharat M M M, *In Vitro* Cytotoxic and Cytostatic Activities of Plants Used in Traditional Arabic Herbal Medicine to Treat Cancer In Palestine, Thèse de Master, Université de Nablus (Palestine), 2013;
- [18] Lee J W, Hwang W I, Lim S T, Antioxidant and Anticancer Activities of Organic Extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle Roots, Journal of Ethnopharmacology, 2004: 409–415 ;
- [19] Lambertini E, Piva R, Khan M T H *et al*, Effects of Extracts from Bangladeshi Medicinal Plants on *In Vitro* Proliferation of Human Breast Cancer Cell Lines and Expression of Estrogen Receptor α Gene, Intrenational Journal of Oncology, 2013: 419-423
- [20] Abdullaev F I, Riverón-Negrete L, Caballero-Ortega H *et al*, Use of *In Vitro* Assays to Assess The Potential Antigenotoxic and Cytotoxic Effects of Saffron (*Crocus sativus* L.), Toxicology in Vitro, 2003: 1-6 ;

- [21] Saleem A, Husheem M, Härkönen P, Pihlaja K, Inhibition of Cancer Cell Growth by Crude Extract and the Phenolics of *Terminalia chebula* retz. Fruit, Journal of Ethnopharmacology, 2002: 327-336;
- [22] Lee J W, Hwang W I, Lim S T, Antioxidant and Anticancer Activities of Organic Extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle Roots, Journal of Ethnopharmacology, 2004: 409-415 ;
- [23] Wesley P S, Devi B C, Moin S, Shibu S, *In Vitro* Phytochemical Screening, Free Radical Scavenging Activity And Anticancer Activity Of *Abutilon hirtum* (Lam.) Sweet (Malvaceae), International Journal of PharmTech Research, 2013: 155-161;
- [24] Khelifi D, Hayouni E A, Valentin A, LC-MS Analysis, Anticancer, Antioxidant and Antimalarial Activities of *Cynodon dactylon* L. extracts, Industrial Crops and Products, 2013 : 240-247 ;
- [25] Joseph M M, Aravind S R, George S K, Varghese S, Sreelekha T T, A Galactomannan Polysaccharide from *Punica granatum* Imparts *In Vitro* and *In Vivo* Anticancer Activity, Carbohydrate Polymers, 2013: 1466-1475;
- [26] Ghasemzadeh A, Jaafar H Z E, Profiling of Phenolic Compounds and Their Antioxidant and Anticancer Activities in Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Extracts from Different Locations of Malaysia, BMC Complementary and Alternative Medicine, 2013: 341;
- [27] Russo A, Formisano C, Rigano D et al, Chemical Composition and Anticancer Activity of Essential Oils of Mediterranean Sage (*Salvia officinalis* L.) Grown in Different Environmental Conditions, Food and Chemical Toxicology, 2013: 42-47;
- [28] Khelifi D, Sghaier R M, Amouri S, Laouini D, Hamdi M, Bouajila J, Composition and Antioxidant, Anti-cancer and Anti-inflammatory Activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L, Food and Chemical Toxicology, 2013: 202-208 ;
- [29] Ponce A G, R. Fritz, C. Del Valle and S.I. Roura, Antimicrobial Activity of Essential Oils on the Native Microflora of Organic Swiss Chard. LWT-Food Science and Technology, 2003: 679-684;
- [30] Podolak I, Elas M, Cieszka K, *In Vitro* Antifungal and Cytotoxic Activity of Triterpene Saponosides and Quinoid Pigments from *Lysimachia vulgaris* L, Phytotherapy Research, 1998 : 70-73 ;
- [31] López V, Akerreta S, Casanova E, García-Mina J, Cavero R, Calvo M, Screening of Spanish Medicinal Plants for Antioxidant and Antifungal Activities, Pharmaceutical Biology, 2008: 602-609;
- [32] Natarajan D, John Britto S, Srinivasan K, Nagamurugan N, Mohanasundari C, Perumal G, Anti-Bacterial Activity of *Euphorbia fusiformis*-A Rare Medicinal Herb, *J. Ethnopharmacol.*, 2005: 123-126;
- [33] Fazeli M, Amin R, Ahmadian-Attari G, Ashtiani M M, Jamalifar H, Samadi N, Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control*, 2007: 646-649.

**PRODUCTION DE PLANTS MYCORHIZES PAR LES TRUFFES DU DESERT :
ESSAI D'APPLICATION DE LA TERFEZICULTURE DANS LES ZONES
ARIDES ET SEMI-ARIDES**

FORTAS Z., Zitouni F. E. H., Kermani I., Aibèche C., Dib-Bellahouel S., Neggaz S.

*Laboratoire de Biologie des microorganismes et de Biotechnologie,
Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences, Université d'Oran (Algérie).*

Les truffes du désert ou terfez sont des champignons mycorhiziens hypogés comestibles (Ascomycètes). Ecologiquement, ils établissent une association symbiotique (mycorhizienne) avec les racines de plantes hôtes annuelles ou pérenne de la famille des Cistacées surtout du genre *Helianthemum*. En Algérie, ils se développent dans les régions semi-arides littorales, steppiques et sahariennes.

Ces champignons sont très appréciés par les populations du Maghreb et du Moyen Orient pour leur valeur alimentaire (richesse en protéines, acides aminés, fibres, acides gras, minéraux et sucres) (Fortas, 1980 et 1990; Bokhary *et al.*, 1987, Bokhary et Parvez 1993; Hussain et Al-Ruqaie, 1999 ; Dabbour et Takruri, 2002a et b; Murcia *et al.* , 2003; Yildiz *et al.*, 2005 ; Slama *et al.*, 2010 et 2012). Ils contiennent des composés thérapeutiques à caractères inflammatoires, immunosuppresseurs, antimutagènes et anti-cancérigènes (Hannan *et al.*, 1989), des enzymes à intérêt médical et industriel (Pérez- Gilabert *et al.*, 2005) et des substances antimicrobiennes chez certaines espèces de terfez (Rougieux, 1963 ; Chellal et Lukasova, 1995; Janakat *et al.*, 2004 et 2005, Dib-Bellahouel et Fortas, 2011; Neggaz et Fortas, 2013).

Le projet a pour objectif principal :

- la production en serre de plants mycorhizés par les truffes du désert ou terfez, en conditions contrôlées,
- et leur expérimentation sur le terrain en régions arides afin d'envisager une terfeziculture en Algérie sur le même mode que celui pratiqué en Europe pour la culture de la truffe (trufficulture) qui est bien maîtrisée grâce aux techniques de production de plants truffiers internationalement commercialisables.

Or cette expérimentation sur le terrain nécessite d'abord l'étude des paramètres écologiques de ce champignon.

Au cours de la première année du projet, des tournées de prospections effectuées par les chercheurs ont permis de localiser 12 stations à terfez dans diverses régions de l'Ouest algérien dont deux stations situées en région semi-aride littorale (Wilayas de Mostaganem et d'Oran) ; deux stations situées dans la steppe centrale (Ksar Chellala , Wilaya de Tiaret) et 8 stations situées en région saharienne (Wilaya de Béchar) .

Dans chaque station à terfez, différents paramètres écologiques ont été étudiés : pédo-climatiques, récolte des ascocarpes de terfez et des plantes hôtes naturelles des terfez et leurs racines.

Des analyses physico-chimiques des échantillons de sol prélevés dans les 12 stations à terfez ont été effectuées dans différents laboratoires d'analyse des sols privés ou publics à Oran, Relizane , Tiaret , Adrar et de Béchar.

Les résultats de ces analyses ont montré que les sols sont de texture sablo-limoneuse, sablo-argilo-limoneuse, alcalins (pH=8) , calcaires, Ils sont pauvres en matière organique et en phosphore assimilable et bien pourvus en K⁺ et Mg⁺.

Le suivi des paramètres climatiques (Température et Pluviométrie) dans ces stations, (recueillies auprès de diverses stations météorologiques: ONM d'Oran, INSID d'Alger, Institut Hydrométéorologique de Béchar) indique que le développement de ces champignons est étroitement lié aux conditions climatiques en particulier la densité et la répartition des précipitations au cours de l'année agricole. L'exploitation de ces données ont permis de déterminer non seulement les années de bonne production des ascocarpes de terfez et les années

creuses mais aussi la période favorable pour la transplantation sur le terrain des plants inoculés par les terfez et cultivés en serre.

Les ascocarpes de terfez récoltés ont été identifiés sur la base des caractéristiques morphologiques des corps fructifères, des asques et des ascospores (sous la loupe stéréoscopique, au microscope photonique et au microscope électronique à balayage). Cinq espèces de terfez ont ainsi été identifiées : *Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *Tirmania pinoyi*, *T. nivea* et *Picoa juniperi*.

Des relevés floristiques ont été effectués dans les 12 stations d'étude afin de connaître la phytosociété accompagnatrice des plantes hôtes naturelles des terfez au cours de la période de fructification du champignon. Chaque station est caractérisée par une diversité d'espèces végétales formant une strate herbacée et des groupements arbustifs. Les plantes hôtes naturelles des terfez sont *Helianthemum ledifolium*, *H. hirtum*. *H. lippii* a été choisi comme partenaire végétal des terfez pour produire des plants mycorhizés qui seront transplantés expérimental sur le terrain.

La morphologie des mycorhizes naturelles a été étudiée sur des fragments de racines naturelles d'*H. ledifolium*, *H. hirtum* et *H. lippii* préalablement traités selon les méthodes de Phillips et Hayman (1970) et de Wubert *et al* (2003) et colorés au bleu Trypan. Les résultats des observations microscopiques révèlent la présence des endomycorhizes terfézoïdes typiques (hyphes intracellulaires formant des pelotons dans les cellules corticales).

Les synthèses mycorhiziennes ont été réalisées en conditions gnotoxéniques sur substrat naturel en associant *H. ledifolium* ou *H. lippii* au 4 espèces de terfez *Terfezia boudieri*, *T. claveryi*, *Tirmania pinoyi* et *T. nivea*. L'inoculation des plants a été effectuée avec des suspensions sporales, selon la technique utilisée pour la production de plants mycorhizés par le *Tuber melanosporum* (Chevalier *et al.*, 1973 et Chevalier et Grente, 1979) et par des espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie (Fortas et Chevalier, 1992 a et b, Zitouni *et al.*, 2014). Les plants inoculés et témoins sont élevés en serre.

L'analyse statistique des résultats des paramètres de la croissance des plants âgés de 6 mois (hauteur et biomasse fraîche et sèche des parties aériennes) indique que les espèces végétales réagissent fortement à la mycorhization quelle que soit l'espèce fongique. Les plants inoculés ont un bon développement tandis que les témoins sont chétifs, chlorotiques et poussent peu. Le taux d'infection mycorhizienne (F) estimé par la méthode de Trouvelot *et al* (1986) est très élevé quelle que soit la plante hôte : il est de 75 - 90% et de 80 à 100% respectivement chez *H. lippii* et chez *H. ledifolium* et *H. hirtum*. Ces résultats indiquent que cette association mycorhizienne est très importante pour le développement de la plante hôte. L'examen des racines des plants inoculés a révélé la présence d'endomycorhizes terfézoïdes caractéristiques des mycorhizes à terfez comme celles observées dans les conditions naturelles.

Conclusion sur les travaux effectués au cours de la 1^{ère} année du projet

Les résultats obtenus au cours de la 1^{ère} année du projet (caractéristiques physico-chimique du sol, paramètres climatiques, plantes hôtes naturelles, les espèces de terfez, la morphologie des mycorhizes) sont très importants et indispensables pour entreprendre les travaux de la deuxième année du projet.

Au cours de la deuxième année du projet, nous avons essayé de transplanter sur un terrain expérimental à Béchar des plants d'*H. lippii* mycorhizés par deux espèces de *Tirmania* (*T. pinoyi* et *T. nivea*) obtenus en conditions contrôlées et cultivés en serre comme précédemment

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

. Les plants d'*H. lippii* mycorhizés par *T. pinoyi* et *T. nivea* et âgés de 8 mois ont été transportés à Béchar par voie terrestre et transplantés en Juin 2013 dans une parcelle expérimentale préalablement aménagée à cet effet. 150 plants d'*H. lippii* mycorhizés dont 75 plants associés à *T. pinoyi* et 75 plants à *T. nivea* ont été transplantés et les résultats de cet essai sont en cours.

Conclusion générale

Les résultats de ce projet montrent que la mycorhization en conditions contrôlées des plantes hôtes naturelles des terfez est maintenant bien maîtrisée et qu'il est possible de produire en serre, à grande échelle, des plants mycorhizés par les terfez. Dans notre essai de transplantation, nous avons pris en considération tous les facteurs essentiels pour réussir à cultiver ces champignons. La réussite notre essai de transplantation sur la parcelle expérimentale à Béchar permettra non seulement de préserver ces espèces fongiques et leurs plantes hôtes naturelles, de lutter contre la désertification et envisager l'application de la terfeziculture en région saharienne sur le même modèle que celui de la trufficulture.

Les résultats obtenus dans ce projet ont fait l'objet de :

- 4 publications internationales,
- 10 communications nationales et internationales
- et des soutenances d'une thèse de Doctorat, 07 Mémoires de Magister et 04 mémoires de Master .

Thèse , Mémoires Magister et Master soutenus :

- Dib ép. Bellahouel Soulef. **Etude du pouvoir antimicrobien et mycorhizien de deux especes de Terfez : *Tirmania pinoyi* (Maire) Malençon et *Terfezia leptoderma* Tul.** Thèse Doctorat d'état, **282p.** Soutenue en Mai 2012 , Univ. Oran.

-Bouazza Fatima . **Mycorhization en conditions contrôlées du pin d'Alep et du chêne vert par un Ascomycète hypogé (*Terfezia leptoderma* Tul.)** . Magister Soutenu en Mai 2013, Univ. Oran

-Kermani Ismahen .**Production de plants d'une Cistacée pérenne mycorhizée par deux Ascomycètes hypogés et comestible (*Tirmania pinoyi* et *Tirmania nivea*) du sud ouest algérien.** Magister Soutenu Mai 2013 , Univ. Oran

-Zemri Rahma . **Mycorhization en conditions contrôlées de deux espèces ligneuses (*Pinus* et *Quercus*) par la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum*)** . Master Soutenu Juin 2013 , Univ. d'Oran

-Bendahou Halima . **Ecologie des terfez dans la région Nord-Est de la W. de Béchar».** Magister soutenu en Juin 2013, Univ. Béchar.

-Mokkadem Karima. **Caractéristiques pédoclimatiques et phytosociologiques des Terfez de la région Sud- Est de la Wilaya de Bechar.** Magister soutenu en Juin 2013, Univ. Béchar

-Roukbi Rachid .**Etude écologique des Terfez de la région Nord Ouest de Béchar.** Magister soutenu en Juin 2013 , Univ. Béchar

-Aroui Seddik **Etude des sols à Terfez et de leurs plantes associées et accompagnatrices de la région sud-ouest de la Wilaya de Béchar.** Magister soutenu en Juin 2013, Univ. Béchar

-Semsar Mériem. **Mise en évidence des activités antimicrobiennes des extraits de truffes du désert.** Mémoire de Master soutenu en juin 2012, Univ. Oran.

-Beghafor Assia .**Etude d'une association mycorhizienne entre *Cistus incanus* (Cistacée) et une espèce de terfez d'Algérie, *Tirmania pinoyi*, en conditions contrôlées.** Mémoire de Master soutenu en juin 2012, Univ. Oran.

-Ammar Seraie Aicha .**Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits de *Terfezia claveryi* Chatin et *Tirmania pinoyi* (Maire) Malençon.** Mémoire de Master soutenu en juin 2013, Univ. Oran.

-Ras El Gherab Fatima Zohra. **Etude de l'association mycorhizienne *Helianthemum lippii* (L.) Pers. /*Tirmania sp.*** Mémoire de Master soutenu en juin 2013, Univ. Oran

Publications internationales

-Dib-Bellahouel S., Fortas Z., 2011. **Antibacterial activity of various fractions of ethyl acetate extract from the desert truffle, *Tirmania pinoyi*, preliminarily analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).** *Afr. J. Biotechnol.*, 10(47): 9694-9699.

-Awatef Slama , Mustapha Gorai , Zohra Fortas, Abdellatif Boudabous, Mohamed Neffati, 2012. **Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin** .*Saudi Journal of Biological Sciences* 19, pp. 25–29 www.ksu.edu.sa ; www.sciencedirect.com

-Neggaz S., Fortas Z., 2013. **Tests of antibiotic properties of Algerian Desert Truffles against bacteria and fungi.** *Journal of Life Sciences, Journal of Life Sciences*, 7 (3): 259-266 . www.davidpublishing.com

-Fatima El-Houaria Zitouni-Haouar, Zohra Fortas, Gerard Chevalier, 2014. **Morphological characterization of mycorrhizae formed between three *Terfezia* species (desert truffles) and several *Cistaceae* and Aleppo pine.** *Mycorrhiza*, 24:397–403 DOI 10.1007/s00572-013-0550-Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014.

Communications internationales et nationales (10)

-Fortas Z., 2011. **Caractérisation de quelques phases du cycle biologique des terfez d'Algérie.** 6th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM6), April 6th – 10th, Held at Faculty of Sciences, Rabat, Morocco.

- Bouregba- Benazza M. et Fortas Z., 2011. **Diversité des champignons ectomycorhiziens comestibles dans la forêt de M'sila, au Nord Ouest algérien.** 6th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM6), April 6th – 10th, Held at Faculty of Sciences, Rabat, Morocco.

- Zitouni-Haouer F.E. H. et Fortas Z., 2011. **Associations mycorhiziennes à Terfez des zones arides et semi-arides d'Algérie.** Premier Séminaire International d'Etude Agriculture Biologique et Développement Durable (AGROBIO Algérie 2011), 13-14 Février 2011,

-Fortas Z., 2011. **Rétrospective sur les terfez d'Algérie et les associations mycorhiziennes avec leur plantes hôtes.** Premier Colloque International « Nouvelles Espèces Végétales et Microbiennes décrites en Algérie de 1962 -2010, 18-20 Octobre 2011, Oran (Les Andalouses).

- Dib – Bellahouel S. et Fortas Z., 2011. **Position taxonomique des terfez d'Algérie dans la classification actuelle des truffes.** Premier Colloque International « Nouvelles Espèces Végétales et Microbiennes décrites en Algérie de 1962 -2010, 18-20 Octobre 2011, Oran (Les Andalouses).

- Kermani I. et Fortas Z., 2011. **Identification et répartition géographique de différentes espèces en Algérie.** Premier Colloque International « Nouvelles Espèces Végétales et Microbiennes décrites en Algérie de 1962 -2010, 18-20 Octobre 2011, Oran (Les Andalouses).

- Neggaz S., Fortas Z. et Chenni M., 2012. **Antifungal activity of algerian truffle : *Tirmania pinoyi* against *Candida albicans*.** International Congress on Aromatic and Medicinal Plants CIPAM 2012, May 8th -10th 2012, Sidi Bel-Abbes (Algeria).

-Zitouni-Haouer F.E. H. et Fortas Z., 2012. **Effet de la mycorhization des plants de *Pinus halepensis* Mill., en pépinière.** Journées Internationales de Biotechnologie 2012, 19-22 Décembre 2012., Mahdia (Tunisie).

-Zitouni-Haouar F.E.H.,Fortas Z, 2013. **Essais de préservation de plantes des écosystèmes à terfez en zones arides par leur mycorhization en conditions contrôlées,** ENSA, Alger.

Zitouni-Haouar F. E-H. et Fortas Z., 2013. **Mycorhization contrôlée du pin d'Alep : un outil précieux de lutte contre la désertification dans les régions steppiques.** Séminaire National sur la Gestion Durable des Ressources Naturelles, les 7 et 8 Mai 2013, Saida.

Références bibliographiques

- Bokhary H.A., Parvez S., 1993. **Chemical composition of desert truffle *Terfezia claveryi*. J. food Composition and analysis, 6 (3): 285-293.**

-Bokhary H.A., Suleiman A.A.A., Basalah M.O., Parvez S., 1987. **Chemical composition of desert truffles from Saudi Arabia. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 20: 336-341.**

-Chellal A., Lukasova E., 1995. **Evidence for antibiotics in the two Algerian truffles *Terfezia* and *Tirmania*. Pharmazie, 50 (3): 228–229.**

-Chevalier G., Grente J., Pollacsek A., 1973. **Obtention de mycorhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques et à partir de cultures pures de mycélium en conditions axéniques et gnotoxéniques.** Ann. Phytopathol., 5: 107- 108.

-Chevalier G., Grente J. ,1979. **Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne : production à grande échelle de plants mycorhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.).** Mushroom Sci. 10: 483–505.

Dabbour I.R., Takruri H.R., 2002a. **Protein digestibility using corrected amino acid score method (PDCAAS) of four types of mushrooms grown in Jordan.** Plant Foods Hum. Nutr., 57 (1): 13-24.

Dabbour I.R., Takruri H.R., 2002b. **Protein quality of four types of edible mushrooms found in Jordan.** Plant Food. Hum. Nutr. 57: 1-11.

Dib-Bellahouel S., Fortas Z., 2011. **Antibacterial activity of various fractions of ethyl acetate extract from the desert truffle, *Tirmania pinoyi*, preliminarily analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).** Afr. J. Biot., 47 (10): 9694-9699.

Fortas Z., 1980. **Contribution à l'étude physiologique du Terfes *Terfezia leonis* Tul.** Thèse Doctorat 3^{ème} cycle, Univ. Oran, Es-Sénia, 61p.

-Fortas Z., 1990. **Etude de trois espèces de terfez : caractères cultureux et cytologie du mycélium isolé et associé à *Helianthemum guttatum*.** Thèse de Doctorat d'état, Univ. d'Oran Es-sénia (Algérie), INRA de Clermont-Ferrand (France), 166 p.

-Fortas Z., Chevalier G., 1992 a. **Caractéristiques de la germination des ascospores de *Terfezia arenaria* (Moris) Trappe, récoltée en Algérie.** Cryptogamie, Mycol., 13: 21-29.

- Fortas Z., Chevalier G., 1992 b. **Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l'*helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmamia* d'Algérie.** Can. J. Bot., 70: 2453-2460.

- Fortas Z., Bellahouel-Dib S., 2007. **Extraction des substances bioactives des terfez d'Algérie et mise en évidence de leur activité antimicrobienne.** Revue des régions arides, 1: 280-282.

. Hannan MA, Al-Dakan AA, Aboul-Enein HY, Al-Othaimen AA (1989). **Mutagenic and antimutagenic factor(s) extracted from a desert mushroom using different solvents.** Mutagen, 4: 111-114.

-Hussain G., Al- Ruqaie I.M., 1999. **Occurrence, chemical composition and nutritional value of truffles: An overview.** Pak. J. Biol. Sc., 2 (2): 510-514.

Janakat S., Al-Fakhiri S., Sallal A.K., 2004. **A promising peptide antibiotic from *Terfezia claveryi* aqueous extract against *Staphylococcus aureus* in vitro.** Phytotherapy research, 18: 810-813.

Janakat S.M.,Al-Fakhiri S.M., Sallal A.K.J., 2005. **Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia claveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*.** Saudi Med. J., 26: 952-955.

- Murcia M.A., Martínez-Tomé M., Vera A., Morte A., Gutiérrez A., Honrubia M., Jiménez A.M., 2003. **Effect of industrial processing on desert truffles *Terfezia claveryi* Chatin and**

***Picoa juniperi* Vittadini): proximate composition and fatty acids. J. Sci. Food Agric., 83: 535-541.**

-Neggaz S., Fortas Z., 2013. Tests of **antibiotic properties of Algerian Desert Truffles against bacteria and fungi. Journal of Life Sciences, 7 (3): 1855- 1864.**

-Pérez-Gilabert M., Morte A., Honrubia M., Garcia-Carmona F., 2005. **Purification and Characterization of Two Enzymes Involved in the Quality of Desert Truffles: Tyrosinase and Lipoxygenase. M.C.F.A. Annals, 4: 1-6.**

-Phillips I.M., Hayman D.S., 1970. **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., 55: 158–161.**

- Quezel P., Santa S., 1963. **Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2. Ed. C. N. R. S., Paris, France, 2426p.**

-Rougieux R., 1963. **Actions antibiotiques et stimulantes de la truffe du désert (*Terfezia boudieri* Chatin). Ann. Inst. Pasteur, Paris, 105: 315-318.**

- Slama A., Fortas Z., Boudabous A., Neffati M., 2010. **Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). African Journal of Microbiology Research, 4 (22): 2350-2356.**

- Slama A., Gorai M., Fortas Z., Boudabous A., Neffati M., 2012. **Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffle *Terfezia boudieri* Chatin. Saudi Journal of Biological Sciences, 19: 25-29.**

- Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V., 1986. **Mesure du taux demycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant unesignification fonctionnelle. In : les Mycorhizes : physiologie et génétique. 1er SEM, Eds. V.Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, INRA, Paris, 217-221.**

-Wubet T., Kottke I., Teketay D., Oberwinkler F., 2003. **Mycorrhizal status of indigenous trees in dry Afromontane forests of Ethiopia. Forest Ecol. Manag., 179: 387-399.**

-Yildiz A, Yesil OF, Yavuz O, Karakaplan M, 2005). **Organic elements and protein in some macrofungi of south east Anatolia in Turkey. Food Chem. 89: 605-609.**

INDEX AUTEURS

A

ABDELMALEK M.	30T2	BOUDARENE L.	187T1
ABDI L	84T1	BOUDRAHEM-ADDOUR N.	162T1
ADI-BESSALEM SONIA	92T2	BOUDRISSA A	130T1
AIBECHÉ 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
BAROUCHE O	130T1
BEGHDADLI B	84T1
BEHAILIL T.	5T2
BEKKOUCHE Z	174T1
BELGHOUL S	31T1
BELGUENDOZ H.	5T1
BELHADJ Z.	71T1,68T2
BELHAMICHE N	184T1
BELKHELFA M.	5T1
BELKHRESSAT R.	80T2
BENABADJI S	84T1
BENABDI.K	110T1
BENALI F	174T1
BENALLAL K	34T1
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	180T2

C

CHERB DALILA	24T1
CHERIFI M	162T2
CHERRALLAH A.	162T1
CHETTOUM A.	120T2
CHOUTRI H.	62T2
CHERB DALILA	24T1
CHERIFI M	162T2
CHERRALLAH A.	162T1

D

DERRADJ M.	192T1,141T2
DIB-BELLAHOUEL S.	216 T1
DINA ATMANI	152T2
DJABRI YACINE	162T1
DJAZOULI. M.A	107T1
DJEBBAR ATMANI	152T2

E

EDDAIKRA N	127T1
EDJEKOUANE	5T1
EL KEBIR FZ .	171T1
ELHOUARI D.	80T2
EZZINE A.	80T2

F

FACI H.	120T2
FATMI TAREK	162T1
FISSAH A.	90T1
FORTAS Z.	216T1
FRIH H.	120T2
FACI H.	120T2

G

GHOMARI O	81T1
GUEDOUAR Y	171T1
GUEDRI K.	120T2
GHOMARI O	81T1

H

HAMADOUCHE T.	159T1
HAMANI MEDJAOU Imane	106T2
HAMCHAOUI F.	90T1
HAMDI MR.	5T2
HAMIMED ME	81T1
HAMZA-CHERIF F	31T1
HARRAT Z.	127T1
HENCHIRI C.	189T1,141T2
HENEB A	162T2
HERMANT Xavier	106T2

I

IDER M	81T1
--------	------

K

KACIMI G.	184T1,201T1
KANDOUCL.A.B	68 T1,81T1,68T2
KANDOUCL.C	68T1,68T2
KARIMA AYOUNI	152T2
KECHA M	180T2
KERMANI I.	216T1
KHELIFATI LOUBNA	201T1
KHERACHI I	127T1
KHIREDDINE .H	140T1
KHODJA K	31T1

L

LADJADJ Y.	15T1
LAMRAOUI AMEL	93T1
LAOUAMRI S.	15T1
LARABA-DJEBARI FATIMA	93T2,99T2
LARDJAM HETRAF Sarah Aicha	106T2
LARIBI B.	121T1
LAYADI KHALED	24T1

M

MAZOUZ W.	208T1
MEBTOUL MOHAMED	58T1,42T2
MEDIENE BENCHEKOR Sounnia	106T2
MEGHLAOU I F.	30 T2
MEKADEMI S	127T1

MEKHALFIA L.	162T2
MENADI A.	5 T2
MENIGUED F.	5 T2
MERAD L.	40T1
MERIEB BERBOUCHA	154T2
MEROUFEL Djabaria Naïma	106T2
MERIAH S.M.	40T1
METAÏ A.	120T2
METTICHE A.	90T1
MEZIOUG D.	5T1
MIMOUNI NABILA	30T2
MOHAND ZINE AIT MEZIANE	152T2

N

NAFAÏ D.	90T1
NAÏMA SAÏDENE	152T2
NEGGAZ S	184T1
NEGGAZI SAMIA.	184T1

O

OTHMANI K	162T2
OTMAN A	162T2
OUAZOUAZ M.	189T1,141T2
OUELAA HANIFA	162T1
OUHAÏBI DJELLOULI H.	106T2

R

RAFA H.	5T1
RAHALI S	127T1

S

SAHMADB. I	121T1
SALEMI OUASSILA	42T2
SID S.	5T2
SMAIL LEÏLA.	184T1
SOUALILI Z.	15T2,62T2

T

TAHRAOUI A.	120T2
TALEB A	81T1
TEBBOUNE.CB	107T1
TIGHIOUART B.	46T1
TOUABTI S.	15T2
TOUIL-BOUKOFFA C	5T1

Y

YAHOUICHE N.	5 T2
YEFSAH-IDRES A	162T2

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

INDEX MOTS CLES

A

activité anticancéreuse	211T1
activité antioxydante	204T1
activité antioxydante	211T1
adolescent	34T1
agriculture	84T1
Algérie	130T1
alloxane	192T1
antibacterials	143T1
Anticorps neutralisants	99T2
antidiabétique	192T1
Anti-inflammatory	152T2

B

Behçet	5T1
--------	-----

C

Carcinomes mammaires	174T1
Chirurgie de la main	7T2
clinique	5T1
Comportement	120T2
contraintes au travail	110T1
Cyclamen africanum Boiss & Reut	211T1
Cyclosporine	120T2
cytokines	5T1

D

Dépression	120T2
Diabète	192T1
diabète	42T2
diabète expérimental	141T2
diuretic	152T2

Dépression	120T2
------------	-------

E

économie de santé	7T2
effet hypoglycémiant	204T1
effet hypolipémiant	204T1
electrodeposition	143T1
enfant	31T1
enfant	42T2
Evaluation métrologique	68T2
Exposition professionnelle au perchloréthylène	68T2

F

facteurs de risque	31T1
Fluorohydroxyapatite	143T1

G

Glimépiride	141T2
Globularia alypum	187T1
Glucotoxicité	187T1

H

Homocystéine	162T2
hospitalisation du jour	7T2
hypouricemic	152T2

I

Immunohistochimie	174T1
Immunoprotection	99T2
innovation	42T2
Irradiation gamma	99T2

L		Réponse inflammatoire	99r2
L-Arginine	57r1	Résistance	130r1
Leishmania major	130r1	Risques	71r1
lipides	162r2	Rubus fruticosus	192r1
lycopène	162r2	S	
M		santé mentale	71r1
maladie de Parkinson	84r1	Sidi Bel-Abbès	71r1
MDA	187r1	solvants	84r1
mères, savoir d'expérience	42r2	sous-types moléculaires	174r1
N		Stress de contention	120r2
Nigella sativa	204r1	stress oxydatif	187r1
N-methylglucamine	130r1	surpoids	31r1
NOS	57r1	Syndrome coronaire aigu	110r1
obésité	31r1	T	
P		test psychométrique	68r2
peroxydation lipidique diabète expérimental	204r1	U	
pesticides	84r1	Uvéite	57r1
phase	57r1	V	
Plantes médicinales	192r1	Venin d'Androctonus australis hector	99r2
Plantes médicinales	141r2	virulence	130r1
polyphénols	187r1	X	
prévalence	31r1	xanthine oxidoreductase	152r2
prise en charge	42r2	Z	
protéines carbonylées	187r1	Zygophyllum cornutum Coss	141r2
R			
rats	162r2		
Rats	120r2		
réinsertion professionnelle	110r1		